



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0018872
(43) 공개일자 2008년02월28일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) Int. Cl.
 A61K 9/12 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
 A61K 9/00 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2007-7027567
 (22) 출원일자 2007년11월27일
 심사청구일자 없음
 번역문제출일자 2007년11월27일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2006/019443
 국제출원일자 2006년05월18일
 (87) 국제공개번호 WO 2006/125153
 국제공개일자 2006년11월23일
 (30) 우선권주장
 60/682,356 2005년05월18일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 플매트릭스 인코퍼레이티드
 미국, 메사추세츠 02139, 캠프리지, 에밀리 스트리트 12
 (72) 발명자
 와타나베, 위위크
 미국, 캘리포니아 94043, 마운틴 뷰, #9, 락 스트리트 1958
 토마스, 매튜
 미국, 메사추세츠 02140, 캠프리지, #비, 왈덴 스트리트 205
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
 강명구</p> |
|---|--|

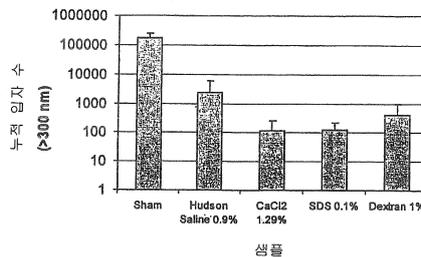
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 점막 내층의 생물물리학적 특성의 변화를 위한 제제

(57) 요약

전도성 작용제(conductive agent), 예를 들면, 염, 이온성 계면활성제, 또는 이온화 상태로 존재하거나 수성이나 유성 용제 환경 내에서 쉽게 이온화되는 다른 물질을 함유하는 전도성 제제 및 이용 방법이 개발되었다. 항바이러스제, 항생제, 소염제, 단백질 또는 펩티드와 같은 하나 이상의 활성제가 이러한 제제 내에 선택적으로 포함될 수 있다. 이러한 활성제는 제제와 함께 투여되거나 제제 내로 편입되고, 또는 전도성 제제가 투여된 이후에 투여된다. 점막 내층 액(mucosal lining fluid)에 적용되는 경우에, 이러한 제제는 점막 내층(mucosal lining)의 표면 장력(surface tension), 표면 탄성(surface elasticity), 체적 점도(bulk viscosity)와 같은 물리적 특성을 변화시킨다. 이러한 제제는 신체의 점막 내층에서 생물물리학적 특성을 변화시킬 만큼 충분한 양으로 투여된다. 이러한 제제는 여러 상이한 목적으로 투여될 수 있다: 바이러스와 세균의 전염성 질환, 예를 들면, 인간에서 SARS, 인플루엔자, 결핵, RSV 및 분지제 동물(cloven-footed animal)에서 구제역(hoof and mouth disease)의 확산을 축소시키고; 청결한 공간을 위하여 특히 중요한, 호흡(breathing), 기침(coughing), 재채기(sneezing), 또는 대화(talking) 동안 입자 형성(particle formation)에 기인한 주변 오염(ambient contamination)을 최소화시키고; 폐쇄성 수면 무호흡증(obstructive sleep apnea) 및 일부 사례의 과민성 대장 증상(irritable bowel syndrome)의 발생을 감소시키거나 예방하고; 약제 분자와 병원체의 흡수 동역학(uptake kinetics)을 통제한다.

대표도 - 도2



3 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time)에서 누적 입자 수(cumulative particle count) vs. 적용된 제제.

(72) 발명자

카트스트라, 제프리

미국, 메사추세츠 02472, 워터타운, 케이스 스트리트 40

클라케, 로버트

미국, 메사추세츠 02021, 칸톤, 킹 로드 60

특허청구의 범위

청구항 1

하전된 화합물을 함유하는 전도성 생체적합성 제제에 있어서, 인간 또는 다른 동물의 점막 내층 액(mucosal lining fluid) 또는 점막 내층(mucosal lining)에 투여되는 경우에, 손실 탄젠트(loss tangent, $\tan \delta$), 표면 장력, 또는 점도에 의해 정의되는 점막 내층 액의 표면 점탄성 특성을 변화시키는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 수용액, 건조 분말, 증기, 수성 현탁액, 비-독성 유기 용액이나 현탁액, 건조 분말 이외의 고형 제형(dosage form)에서 선택되는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 기도, 위장관, 생식 기관, 안구 영역, 인두강(oropharynx cavity) 또는 비강(nasal cavity)에서 선택되는 영역에 투여용으로 제조되는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 하전된 화합물은 염, 이온성 계면활성제, 하전된 아미노산, 하전된 단백질 또는 펩티드, 하전된 핵산, 이들의 조합에서 선택되는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 핵산, 단백질, 탄수화물, 아미노산, 무기 물질, 유기 물질에서 선택되는 활성제를 더욱 함유하는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 하전된 화합물은 염화나트륨, 아세트산나트륨, 중탄산나트륨, 탄산나트륨, 황산나트륨, 스테아르산나트륨, 아스코르브산나트륨, 벤조산나트륨, 이인산나트륨, 인산나트륨, 아황산수소나트륨, 구연산나트륨, 붕산나트륨, 염화칼슘, 탄산칼슘, 아세트산칼슘, 글루콘산칼슘, 인산칼슘, 알긴산칼슘, 스테아르산칼슘, 소르브산칼슘, 황산칼슘, 탄산마그네슘, 황산마그네슘, 스테아르산마그네슘, 삼규산마그네슘, 중탄산칼륨, 염화칼륨, 구연산칼륨, 붕산칼륨, 중아황산칼륨, 이인산칼륨, 알긴산칼륨, 벤조산칼륨, 염화마그네슘, 황산동, 염화크롬, 염화제1주석, 메타규산나트륨, 이들의 조합에서 선택되는 염인 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 7

청구항 4에 있어서, 하전된 화합물은 나트륨 도데실 설페이트(SDS), 마그네슘 라우릴 설페이트, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 트리플레이트(EDOPC), 알킬 포스포콜린 트리메스터에서 선택되는 이온성 계면활성제인 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 염수와 염화칼슘을 함유하는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 5,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 이상의 전도율을 갖는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 10,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 이상의 전도율을 갖는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 20,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 이상의 전도율을 갖는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 12

청구항 1에 있어서, δ 가 45° 이상 및 90° 이하가 되도록 점막 내층의 점탄성도(viscoelasticity)를 변화시킬 수 있는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 13

청구항 1에 있어서, δ 가 0° 이상 및 45° 이하가 되도록 점막 내층의 점탄성도를 변화시킬 수 있는 것을 특징으로 하는 전도성 생체적합성 제제.

청구항 14

개체 내에서 입자의 호기를 축소시키거나 병원체 세포내 수송을 감소시키는 방법에 있어서, 하전된 화합물을 함유하는 생체적합성 제제의 효과량을 상기 개체의 점막 내층에 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 제제는 점막 내층의 고형성(solidity)을 증가시키고, $\tan \delta$ 가 1.0 이하가 되도록 점막 내층의 점탄성도를 변화시키는 효과량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 제제는 5,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 이상의 전도율을 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

개체 내에서 약제 흡수를 증가시키는 방법에 있어서, 하전된 화합물을 함유하는 첫 번째 생체적합성 제제의 효과량을 상기 개체의 점막 내층에 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 제제는 점막 내층의 흡수와 확산 특성을 증가시키고, $\tan \delta$ 가 1.0 이상이 되도록 점막 내층의 점탄성도를 변화시키는 효과량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 제제는 활성제를 더욱 함유하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

청구항 16에 있어서, 첫 번째 제제의 투여이후 점막 내층에 두 번째 제제를 투여하는 단계가 더욱 포함되고, 여기서 두 번째 제제는 활성제를 함유하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

개체에서 폐쇄성 수면 무호흡증(obstructive sleep apnea), 과민성 대장 증상(irritable bowel syndrome), 만성 폐쇄성 폐 질환(chronic obstructive pulmonary disease, COPD), 낭포성 섬유증(cystic fibrosis), 또는 이질(dysentery)의 발생을 감소시키거나 예방하는 방법에 있어서, 하전된 화합물을 함유하는 생체적합성 제제의 효과량을 개체의 점막 내층에 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

청구항 14 내지 19중 어느 한 항에 있어서, 제제는 에어로졸 형태로 기도에 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

청구항 16 내지 18중 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 제제는 비경구, 경구, 직장, 질, 국소, 또는 흡입 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술분야

<1> 본 출원은 2005년 5월 18일자 제출된 U.S.S.N. 60/682,356, "Formulations for Alteration of Biophysical Properties of Mucosal Lining"에 우선권을 주장한다.

<2> 본 발명은 점막 표면으로부터 입자 발산(particle shedding)을 통제하고, 약제 분자와 병원체의 흡수 동역학(uptake kinetics)을 변화시키는 제제와 방법에 관계한다.

배경 기술

<3> 많은 장기는 액상 점막 내층(mucosal lining)을 보유하는데, 이의 생물물리학적 특성은 정상적인 기능을 증진하거나 방해할 수 있다. 다양한 유해한 건강 효과(health effect)가 점막 내층의 특성과 연관되었다, 가령, 정상적인 호기(exhalation) 동안 상기도 점막 내층 액(mucosal lining fluid, UAL)으로부터 발산된 입자가 생육할 수 있는 전염성 세균이나 바이러스 병원체, 예를 들면, 중증 급성 호흡기 증후군(Severe Acute Respiratory Syndrome, "SARS"), 인플루엔자, 결핵을 운반하여 흡입을 통하여 건강한 개체로 확산될 수 있다; UAL의 표면 장력은 폐쇄성 수면 무호흡증 증후군(obstructive sleep apnea syndrome)에서 일정한 역할을 수행하는 것으로 밝혀졌다; 그리고, 바이러스/마이코박테리아(mycobacteria)에 의한 장관(intestinal tract)의 점막 내층의 변화는 시간이 흐름에 따라 염증성 장 질환(inflammatory bowel disease)을 유발할 수 있다. 점막 내층의 생물물리학적 특성의 통제된 변화는 이들 유해한 건강 효과의 상당수를 효과적으로 치료/예방할 수 있다. 부가적으로, 점막 내층의 이러한 생물물리학적 특성은 병원체와 약제 분자의 체내로의 흡수에 영향을 줄 수 있기 때문에, 병원체 흡수를 차단하거나 약제 분자 흡수/생체이용효율을 개선하는데 이들 특성의 조작이 이용될 수 있다.

<4> 공기매개 전파(airborne transmission)는 병원체 전염의 주요 경로 중의 하나이다. 인간 또는 동물이 기침하거나 호흡할 때, 폐와 비강(nasal cavity)에서 기원하는 점액 액적(mucus droplet)으로 구성되는 에어로졸이 생성된다. 이들 생체에어로졸(bioaerosol)은 노출된 인간 또는 동물에 의한 흡입 이후에 질병을 전파하는 병원체를 보유할 수 있다. 이에 더하여, 상기도에서 생성된 호흡가능 병원성 생체에어로졸은 개체에 의해 재-호흡되어 악화된 질환을 초래하는 실질 감염(parenchymal infection)으로 이어질 수 있다.

<5> 바이러스와 세균 감염은 특히, 호흡에 의해 전파되는 경우에, 고도로 전염성이다. 코로나 바이러스(corona virus)에 의해 유발되는 것으로 알려져 있는 SARS와 관련된 보고는 감염이 공기 접촉을 통하여 전파되는 경우에 얼마나 급속하게 확산될 수 있는 지를 입증한다. 인플루엔자와 같은 다른 질환이 공기 접촉에 의해 전파되고 전염 비율(epidemic proportion)에 급속하게 도달하는데, 노인 집단과 면역 약화된 집단에서 치사율이 더욱 높다.

<6> 호흡기 감염의 전염병은 인간에게 국한되지 않는다. 구제역 바이러스(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)는 소, 돼지 및 다른 분지제 동물(cloven-footed animal)의 질환인 구제역(foot-and-mouth disease, FMD)의 병원체(etiological agent)이다. FMD는 감염된 동물의 혀, 코, 재갈, 관상대(coronary band) 부분에 수포(vesicle)의 형성으로 특성화된다. 여러 독특한 특징으로 인하여, 상기 바이러스는 현재 전세계적으로 가장 많은 경제적인 피해를 유발하는 질환 중의 하나이다. 감염을 개시하는 강화된 능력과 함께, 접촉과 에어로졸에 의한 전파의 용이성으로 인하여, 한 무리 내에서 비록 전체는 아니지만 대다수의 동물이 FMD에 감염된다. 특히, 냉동되는 경우에 감염된 동물의 조직과 장기 내에서 FMDV의 장기적인 생존은 식품 체인(food chain)을 통한 이의 국내와 국제 전파의 기회를 발생시킨다. 복수의 혈청형(serotype) 및 다수의 아형(subtype)이 백신의 효능과 신뢰성을 떨어뜨린다. 면역접종된 동물 및 FMD로부터 회복된 동물에서 보균체(carrier)의 발생 가능성은 새로운 아웃브레이크(outbreak)의 부가적인 잠재적 원인을 제공한다. 이들 특징은 전세계적으로 축산 업계에 상당한 경제적인 충격을 유발할 수 있는 질환을 발생시킨다. 영국 축산 업계에서 FMD 전염병은 지속적인 우려의 원인이 되고 있는데, 새로운 사례가 이전에 감염이 발생하지 않았던 지역에서 여전히 나타나고 있다(Ferguson, et al., Nature 2001 414(6861):329). 질병 확산(disease spreading)의 동적 모형(dynamic model)에서 획득된 모수 추정치(parameter estimate)는 이러한 전염병을 만족스런 수준까지 통제하기 위하여 연장된 살처분(culling) 프로그램이 필수적임을 입증하긴 하지만, 이러한 효과적인 방법이 아웃브레이크 이전에 이용되는 경우에 상기 전염병이 규모에서 실질적으로 감소될 수 있음을 증명한다.

<7> UAL로부터 전염성 에어로졸 병원체의 '발산(shedding)'을 축소하거나 예방하는 것 이외에, 체내에서 점막 내층의 생물물리학적 특성의 변화는 여러 다른 목적을 달성할 수 있다. 하나는 폐쇄성 수면 무호흡증(OSA) 발생의 통제다. OSA는 수면 동안 발생하고 상기도의 빈번한 폐쇄와 재-열림을 의미한다. OSA는 흡입동안 인후(throat)가 완전히 수축되도록 하는 수면-관련된 인후근(throat muscle)에 의해 유발되고, 특히, 좁은 인후(유전적, 또는 부종(swelling), 지방 축적 등과 같은 외부 요인에 기인)를 갖는 사람에게서 우세하게 나타난다. 항히스타민(antihistamine)과 같은 특정 알레르기 치료제 및 알코올 소비 역시 인후를 이완시켜 OSA를 유발할 수 있다. 만성 OSA는 전체 인구의 대략 4%에서 관찰되고, 야간에 빈번한 기상(waking)과 증가된 호흡 일량(work-of-breathing)을 유발하는데, 이는 일상 활동 동안 피로와 갑작스런 수면 기간(sleeping spell)을 초래할 수 있다. 마취된 토끼에서 수행된 한 연구에서, UAL의 표면 장력은 토끼의 상기도의 개방성(patency)에 영향을 주는 것으

로 밝혀졌고, UAL의 표면 특성이 OSA의 발생에서 일정한 역할을 수행할 가능성이 높은 것으로 요약되었다 (Kirkness, J. P. et al. J Physiol 2003, 547.2 pp. 603-611).

- <8> 점막 내층이 중요한 역할을 수행하는 다른 신체 부위는 위장관계(gastrointestinal system)이다. 과민성 대장 증후군(IBS)은 장 염증이고, 여러 상이한 이유로 발생할 수 있다(하지만, 정확한 원인은 아직 알려져 있지 않다). 많은 경우에, IBS의 발생은 이러한 질환에 대한 유전적 취약성(genetic susceptibility)에 기인하는 것으로 생각되긴 하지만, 최근 연구에서 특정 바이러스 또는 세균이 장의 점막 내층을 변화시킬 수 있고, 시간이 흐름에 따라 이러한 변화가 IBS의 발생을 유발할 수 있는 것으로 제안되었다(A.D.A.M., http://adam.about.com/reports/000069_1.htm, May 12, 2005). 이들 연구에서는 어린이에서 IBS의 발생과 유아기 감염, 예를 들면, 홍역의 증가된 빈도 사이의 관련을 보고하였는데, 이는 구체적으로 확인되었다. 조사 중인, 점막 내층의 특성을 변화시킬 수 있는 다른 감염성 병원체는 대장균(*Escherichia Coli*(E. Coli))과 사이토메갈로바이러스(*Cytomegalovirus*, CMV)이다. IBS에 관한 한 연구에서, 참여한 사람들 중에서 43% 이상이 CMV에 감염된 것으로 보고되었다.
- <9> 점막 내층은 신체의 많은 부위에서 면역계의 최초 스크리닝 메커니즘(screening mechanism)이고, 유익한 성분이 기초 상피층(underlying epithelial layer)으로, 그리고 이로부터 혈류로 선택적으로 이용하도록 허용하고, 유해한 병원체와 알레르기원의 흡수를 예방한다. 유해한 흡수를 차단하는 점액(mucus)의 일차 성분은 분비 면역글로불린(secretory immunoglobulin) A(IgA)인데, 이는 항바이러스, 항균, 소염, 항알레르기 활성을 나타낸다(Williams, J. E., *Alternative Medicine Review* Vol. 8, Number 9, 2003). 이는 병원체/알레르기원이 점막 층을 통과하는 것을 화학적으로 저해하고, 이들을 표면 인근에 가두는데, 여기에서 이들은 궁극적으로, 상기 시스템을 통하여 흘러가고 섬모 세포(ciliated cell)의 작용을 통하여 대변, 소변 또는 호흡기계(respiratory system)로 배출된다. 하지만, 많은 병원체는 점막 층을 침투하는 정교한 화학적 수송 체계(transport system)를 개발하고, 면역 약화된 개체는 병원체 흡수를 예방하는 정상적인 메커니즘이 손상되거나 불능화된다. 점막 내층의 생물물리학적 특성(가령, 점막 표면에서 겔화(gelation) 증가)은 점막 내층을 물리적으로 침투하는 병원체의 능력을 축소 또는 예방할 수 있다. 점막 내층 면역 반응의 부작용은 유익한 약제가 신체에 의해 유해한 것으로 인식되어 점막 내층 통과로부터 차단된다는 점이다. 점막 내층의 생물물리학적 특성의 변화는 내층을 통한 약제 분자의 투과성(permeability)을 증가시키고 약제 분자의 흡수를 개선할 수 있다. 점막을 통한 흡수 불량성 항생제와 펩티드를 효과적으로 전달하기 위하여 다양한 방법/제제가 도입되고 있다. 나트륨 라우릴 설페이트와 같은 이온성 계면활성제 및 에틸렌 디아민 테트라아세트산(EDTA)과 같은 킬레이트화제(chelating agent)는 이런 분자의 장 흡수를 증진하는 것으로 밝혀졌다. 안타깝게도, 이들 물질의 대부분은 점막에 유해한 것으로 밝혀졌다.
- <10> WO03/092654(David Edwards et al.)에서는 생체에어로졸 호기를 억제하는 계면활성제와 같은 물질을 전달함으로써 흡입된 감염의 확산을 감소시키는 방법을 기술한다. 이러한 기술은 폐 내에서 내인성 계면활성액의 표면 또는 다른 물리적 특성을 변화시키고, 따라서 생체에어로졸 입자를 더욱 적게 호기하는데 기초한다.
- <11> WO 2005/084638(Pulmatrix et al.)에서는 비-계면활성 용액을 기술하는데, 상기 용액은 내인성 계면활성액의 희석을 통하여, 폐 점막 내층 액의 표면 장력(surface tension), 표면 탄성(surface elasticity), 체적 점도(bulk viscosity)와 같은 물리적 특성을 변화시킨다. 이러한 에어로졸화된 물질은 등장성(isotonic) 염수 용액, 고장성(hypertonic) 염수 용액, 또는 삼투압 활성 물질을 함유하는 다른 용액일 수 있다. 이러한 제제는 분말로 투여되는데, 여기서 입자는 내인성 계면활성액을 희석하는 염 또는 삼투압-활성 물질로 본질적으로 구성된다. 에어로졸은 용액, 현탁액, 스프레이, 연무, 증기, 액적, 입자, 또는 건조 분말일 수 있다. 염 또는 당의 전형적인 농도는 최대 5 또는 6% 용질(solute)의 범위 내에 존재한다. 이러한 제제는 객출(expectoration)을 유발하지 않으면서 폐의 기도 내층에서 액체 내에서 표면 불안정을 감소시키는 효과량으로 투여된다.
- <12> 생체에어로졸 형성 및/또는 감염의 확산을 제한하고 추가적인 수단을 확보하는 것이 바람직하다.
- <13> 이런 이유로, 본 발명의 목적은 체내에 존재하는 점막 내층의 생물물리학적 특성을 변화시키는 방법을 제시하는 것이다.
- <14> 본 발명의 다른 목적은 체내에 존재하는 점막 내층의 생물물리학적 특성을 변화시키는 조성물을 제시하는 것이다.
- <15> 본 발명의 요약
- <16> 전도성 작용제(conductive agent), 예를 들면, 염, 이온성 계면활성제, 또는 이온화 상태로 존재하거나 수성이나 유성 용제 환경 내에서 쉽게 이온화되는 다른 물질을 함유하는 전도성 제제 및 이용 방법이 개발되었다. 항

바이러스제, 항생제, 소염제, 단백질 또는 펩티드와 같은 하나이상의 활성제가 이러한 제제 내에 선택적으로 포함될 수 있다. 이러한 활성제는 제제와 함께 투여되거나 제제 내로 편입되고, 또는 전도성 제제가 투여된 이후에 투여된다. 점막 내층 액에 적용되는 경우에, 이러한 제제는 점막 내층(mucosal lining)의 공기/액체 계면에서 겔 특성, 표면 장력(surface tension), 표면 점도(surface viscosity), 표면 탄성(surface elasticity), 체적 점도(bulk viscosity)와 같은 물리적 특성을 변화시킨다. 이러한 제제는 신체의 점막 내층에서 생물물리학적 특성을 변화시킬 만큼 충분한 양으로 투여된다. 이러한 제제는 여러 상이한 목적으로 투여될 수 있다: 바이러스와 세균의 전염성 질환, 예를 들면, 인간에서 SARS, 인플루엔자, 결핵, RSV 및 분지제 동물(cloven-footed animal)에서 구제역(hoof and mouth disease)의 확산을 축소시키고; 급성 감염(가령, 감기), 천식, 만성 기관지염(chronic bronchitis), 기종(emphysema), 기관지확장증(bronchiectasis)을 비롯한 호흡 장애에 기인한 기도 자극과 울혈(congestion)을 완화하고; 청결한 공간을 위하여 특히 중요한, 호흡(breathing), 기침(coughing), 재채기(sneezing), 또는 대화(talking) 동안 입자 형성(particle formation)에 기인한 주변 오염(ambient contamination)을 최소화시키고; 폐쇄성 수면 무호흡증(obstructive sleep apnea) 및 일부 사례의 과민성 대장 증상(irritable bowel syndrome)의 발생을 감소시키거나 예방하고; 약제 분자와 병원체의 흡수 동역학(uptake kinetics)을 통제한다.

발명의 상세한 설명

<23> 다양한 부작용이 점막 내층의 특성과 연관된다. 따라서, 점막 내층의 생물물리학적 특성을 변화시키는 능력은 질병의 치료 또는 확산 예방을 위한 귀중한 도구이다. 부가적으로, 점막 내층에 대한 생물물리학적 특성의 변화는 약제와 병원체의 흡수를 통제하는데 이용될 수 있다.

<24> 점막 내층은 복잡한 물질로 구성된다. 점막 내층에서 진행되는 교차-연결 메커니즘(cross-linking mechanism)은 이러한 내층의 표면에서 전하와 전하 분포(charge distribution)를 변화시킴으로써 변화될 수 있다. 이는 이후, 다양한 질환의 예방과 치료에 유익한, 점막 내층의 생물물리학적 변화; 호흡(breathing)/대화(talking)/기침(coughing)/재채기(sneezing) 동안 생체 에어로졸 형성의 억제(따라서, 공기매개 호흡기 감염성 질환, 예를 들면, 인플루엔자, SARS 등의 확산 최소화); 급성 감염(가령, 감기), 천식, 만성 기관지염(chronic bronchitis), 기종(emphysema), 기관지확장증(bronchiectasis)을 비롯한 호흡 장애에 기인한 기도 자극과 울혈(congestion) 완화; 약제 분자의 증가된 흡수/생체이용효율; 점막 내층을 통한 병원체 흡수의 차단을 유도한다.

<25> 점막 내층에 대한 생물물리학적 특성, 예를 들면, 점탄성도와 부피 점도는 시험관내 실험을 이용하여 결정될 수 있다. 점탄성 계수, G^* 는 실제 탄성(저장탄성) 계수, G' 과 가상 점성(손실탄성) 계수, G'' 를 포함하는 복합적 숫자로서 기재된다. 이러한 상관관계는 아래와 같이 표시될 수 있다:

$$G^* = G' + iG'' \text{ or } |G^*| = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (\text{방정식 1})$$

<26> 여기서, G^* 는 역학적 임피던스(mechanical impedance)로 알려져 있는 점탄성 계수(viscoelastic modulus)이고,

<28> G' 는 탄성 계수(elastic modulus) 또는 저장탄성 계수(storage modulus)이고,

<29> G'' 는 점성 계수(viscous modulus) 또는 손실탄성 계수(loss modulus)이다.

<30> 가해진 힘(응력)과 측정된 반응(변형) 사이에 위상 지연(phase lag)의 탄젠트(tangent)(δ 로 기재됨)는 점성 계수 대 탄성 계수의 비율에 상응한다. 이는 통상적으로, “손실 탄젠트(loss tangent)” 또는 “Tan δ ”로 지칭되고, 아래와 같이 표시될 수 있다:

<31> $Tan \delta = G''/G'$ (방정식 2)

<32>
 <33> 손실 탄젠트는 이러한 시스템의 감폭(damping)의 척도로서 이용된다. 점탄성 샘플의 경우, $0^\circ < \delta < 90^\circ$. 반-액상 샘플의 경우, $\delta > 45^\circ$ 와 $G'' > G'$. 반-고형 샘플의 경우, $\delta < 45^\circ$ 와 $G' > G''$. 가령, Tan δ 가 더욱 높을수록, G'' 가 G' 에 비하여 더욱 높다; 이런 이유로, 점성이 높을수록 물질의 에너지를 저장할 수 있는 능력이 감소한다. 완전 탄성 고체에서, Tan δ 는 0에 상응한다(즉, $G' \gg G''$). 물질의 점탄성 특성을 측정하기 위하여, 사인파 응력(sinusoidal stress)이 적용되고 사인파 응답(sinusoidal response)(변형)이 발생된다(응력을 일정량으로 지연시킴)(실시예 4 참조). 이러한 반응과 지연의 크기 모두 측정될 수 있고, 이들 측정치로부터 G' 와 G'' 가 결정될 수 있다.

- <34> 폐 점액섬모 제거(lung mucociliary clearance)는 기도가 이들을 덮고 있는 액상 필름(liquid film) 내에 존재하는 입자로부터 청결하게 유지되도록 하는 일차 메커니즘이다. 공기전달 통로(conducting airway)에는 점액층을 후두(larynx) 방향으로 이동시켜, 24시간동안 최저 점모 영역으로부터 이들 통로를 깨끗하게 하는 점모 상피(ciliated epithelium)가 내층을 이루고 있다. 액체 코팅(fluid coating)은 물, 당, 단백질, 당단백질, 지질로 구성된다. 이는 기도 상피(airway epithelium)와 점막하샘(submucosal gland) 내에서 생성되고, 인간, 쥐, 기니 피그(guinea pig)에서 이러한 층의 두께는 기관(trachea) 내에서 수 마이크로론(micron) 내지 말단 기도(distal airway) 내에서 대략 1 마이크로론이다.
- <35> 폐를 깨끗하게 유지하기 위한 두 번째로 중요한 메커니즘은 폐를 통하여 점액 코팅(mucus coating)으로 유동하는 공기로부터 운동량 전달(momentum transfer)에 의한다. 기침은 이런 운동량 전달을 증가시키고, 체내에서 과도한 점액을 제거를 보조하는데 이용된다. 이는 많은 질환 상태(disease states)와 연관된 점액 분비과다(mucus hypersecretion)에서 발생하는 것과 같이, 점액이 점모 고동(ciliary beating) 단독에 의해 적절히 제거될 수 없는 경우에 중요하다. 강제적인 기침 동안 200 m/s 정도의 높은 풍속(air speed)이 산출될 수 있다. 이런 풍속에서 점액층에서 불안정한 사인파 교란(sinusoidal disturbance)의 발생이 관찰되었다. 이러한 교란은 공기로부터 점액으로 강화된 운동량 전달을 유도하고, 결과적으로, 폐로부터 점액 제거(mucus clearance)의 속도를 가속화시킨다. 실험적으로, 이러한 교란은 풍속이 필름 두께(film thickness), 표면 장력, 점도의 함수인 일정한 임계치(critical value)를 초과하는 경우에 시작되는 것으로 밝혀졌다(M. Gad-El-Hak, R.F. Blackwelder, J.J. Riley. J. Fluid Mech. (1984) 140:257-280). 이론적 예측 및 점액-유사 필름을 이용한 실험에서는 폐 내에서 파동 교란(wave disturbance)을 발생시키는 임계 속도(critical speed)가 5-30 m/s 범위 내에 있음을 암시한다.
- <36> Papineni와 Rosenthal(J. Aerosol Med., 1997, 10(2): 105-116)은 표준 입과 코 호흡 동안, 또는 기침 동안, 정상적인 인간 개체가 수십 개 내지 수백 개의 액상 생체 에어로졸 액적을 호기하고, 호기된 생체 에어로졸 액적의 다수가 1 마이크로론보다 작은 직경을 보유한다는 것을 입증하였다. 기침은 최대수의 입자를 발생시키는 것으로 밝혀지긴 했지만, 평균 호기된 입자 크기는 1 마이크로론보다 훨씬 작았다. 이들 입자의 대다수는 대부분의 흡입된 병원체보다 크다, 다시 말하면, 150 nm보다 크다. 가령, 일부 통상적인 흡입된 병원체는 아래의 범위 내에서 특징적인 크기를 갖는다: 결핵, 1,000-5,000 nm; 인플루엔자, 80-120 nm; 홍역, 100-250 nm; 수두(chicken pox), 120-200 nm; FMD, 27-30 nm.
- <37> **I. 제제**
- <38> 본 명세서에 기술된 제제는 점막 내층의 생물물리학적 특성을 변화시키는데 효과적이다. 이들 특성에는 예로써, 점막 표면에서 겔화, 점막 내층의 표면 장력, 점막 내층의 표면 탄성, 점막 내층의 체적 점탄성도(bulk viscoelasticity)를 증가시키는 것이 포함된다. 폐의 내층 액의 생물물리학적 특성을 변화시키는데 바람직한 제제는 특정한 전하 농도와 이동도 및 이에 따른 액상 전도율(liquid conductivity)을 보유하는 제제다.
- <39> 적절한 제제에는 전도성인 수용액이나 현탁액(이후, “전도성 제제”)이 포함된다. 적절한 전도성 제제는 전형적으로, 5,000 μ S/cm 이상, 바람직하게는, 10,000 μ S/cm 이상, 더욱 바람직하게는, 20,000 μ S/cm 이상의 전도율 수치를 갖는다. 바람직한 구체예에서, 제제는 등장성 염수의 비전도율(specific conductivity) 이상의 비전도율을 갖는다. 이들 제제는 입자 호기를 억제하기 위하여 환자에 투여되는 경우에 특히 유용하다. 용액 전도율(solution conductivity)은 이온 강도, 농도, 이동도의 산물이다(2가지 후자는 제제의 전도율에 전체적으로 기여한다). 임의 형태의 이온 성분(음이온성, 양이온성, 또는 양쪽이온성)이 이용될 수 있다. 이들 전도성 물질은 예로써, 점액 내에서 교차-결합제(cross-linking agent)로서 기능함으로써 점막 내층 특성을 변화시킨다. 본 명세서에 기술된 제제 내에서 이들 이온 성분은 정상적인 기관기관지 점액(tracheobronchial mucus) 내에서, 강하게 연결된 음이온성 당단백질과 상호작용한다. 이들 상호작용은 기도 내층 액의 공기/액체 표면의 상태에 영향을 주고, 또한 수소 결합(hydrogen bonding), 소수성 상호작용(hydrophobic interaction), 정전기적 상호작용(electrostatic interaction)을 비롯한 공유와 비-공유 상호작용에 기인한 물리적 얽힘(physical entanglement)의 특성에 일시적인 영향을 준다(Dawson, M., et al., The Journal of Biological Chemistry. Vol. 278, No. 50, pp. 50393-50401 (2003)).
- <40> 선택적으로, 제제는 점액활성제(mucoactive agent) 또는 점액용해제(mucoytic agent), 예를 들면, MUC5AC와 MUC5B 점액(mucin), DNA, N-아세틸시스테인(NAC), 시스테인(cysteine), 나시스텔린(nacystelyn), 도르나제 알파(dornase alfa), 겔솔린(gelsolin), 헤파린(heparin), 헤파린 황산염(heparin sulfate), P2Y2 항진제(가령, UTP, INS365), 네도크로밀 나트륨(nedocromil sodium)을 함유한다.

<41> 제제는 특정 목적을 위하여 설계될 수 있다. 일부 구체예에서, 제제는 점막 내층을 액체에 더욱 유사하도록 하기 위하여 점막 표면에 투여되고, 다른 구체예에서, 제제는 점막 내층을 고체에 더욱 유사하도록 하기 위하여 점막 표면에 투여된다. 가령, 병원체 흡수를 최소화하거나 입자 호기를 감소시키기 위하여, 제제는 점막 내층의 고형성(solidity)을 증가시키도록, 다시 말하면, δ 가 45° 이하가 되도록 설계된다(상기 방정식 2 참조). 대조적으로, 약제 흡수(drug uptake)를 증가시키기 위하여, 제제는 점막 내층의 유동성(liquidity)을 증가시키도록, 다시 말하면, δ 가 45° 이상이 되도록 설계된다(상기 방정식 2 참조).

<42> a. 전도성 작용제(*conductive agent*)

<43> 제제는 수성이나 유성 용제 환경에서 쉽게 이온화되는 물질(이후, “전도성 작용제”), 예를 들면, 염, 이온성 계면활성제, 하전된 아미노산, 하전된 단백질 또는 펩티드, 또는 하전된 물질(양이온성, 음이온성, 또는 양쪽이온성)을 함유한다. 적절한 염에는 원소 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 알루미늄, 실리콘, 스칸듐(scandium), 티타늄(titanium), 바나듐(vanadium), 크롬(chromium), 코발트(cobalt), 니켈, 구리, 망간, 아연, 주석, 유사한 원소의 임의의 염 형태가 포함된다. 실례에는 염화나트륨, 아세트산나트륨, 중탄산나트륨, 탄산나트륨, 황산나트륨, 스테아르산나트륨, 아스코르브산나트륨, 벤조산나트륨, 이인산나트륨, 인산나트륨, 아황산수소나트륨, 구연산나트륨, 붕산나트륨, 글루콘산나트륨, 염화칼슘, 탄산칼슘, 아세트산칼슘, 인산칼슘, 칼슘 알기나이트, 스테아르산칼슘, 소르브산칼슘, 황산칼슘, 글루콘산칼슘, 탄산마그네슘, 황산마그네슘, 스테아르산마그네슘, 삼규산마그네슘, 중탄산칼륨, 염화칼륨, 구연산칼륨, 붕산칼륨, 중아황산칼륨, 이인산칼륨, 알긴산칼륨, 벤조산칼륨, 염화마그네슘, 황산동, 염화크롬, 염화제1주석, 메타규산나트륨, 유사한 염이 포함된다. 적절한 이온성 계면활성제에는 나트륨 도데실 설페이트(SDS)(일명, 나트륨 라우릴 설페이트(SLS)), 마그네슘 라우릴 설페이트, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 유사한 계면활성제가 포함된다. 적절한 하전된 아미노산에는 L-리신, L-아르기닌, 히스티딘, 아스파르트산염, 글루타민산염, 글리신, 시스테인, 티로신이 포함된다. 적절한 전하 단백질 또는 펩티드에는 하전된 아미노산을 보유하는 단백질과 펩티드, 칼모듈린(calmodulin, CaM), 트로포닌(troponin) C가 포함된다. 하전된 인지질, 예를 들면, 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-에틸포스포콜린 트리플레이트(EDOPC)와 알킬 포스포콜린 트리메스터가 이용될 수 있다. 음으로 하전된 인지질에는 포스파티딜이노시톨(phosphatidylinositol), 포스파티딜세린(phosphatidylserine), 포스파티딜글리세롤(phosphatidylglycerol)과 포스파티드산(phosphatide acid), 칼디올리핀(cardiolipin), 디알카노일 포스파티딜 글리세롤(dialkanoyl phosphatidyl glycerol)(디팔미토일 포스파티딜 글리세롤(dipalmitoyl phosphatidyl glycerol)과 디미리스토일 포스파티딜 글리세롤(dimyristoyl phosphatidyl glycerol)), 포스파티딜이노시톨 4-포스페이트(PIP), 포스파티딜이노시톨 4,5-비포스페이트(PIP2), 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine)이 포함된다. 양으로 하전된 인지질에는 디올레오일 트리메틸암모늄 프로판(dioleoyl trimethylammonium propane), 포스파티드산(phosphatidic acid)의 에스테르(가령, 디팔미토일포스파티드산(dipalmitoylphosphatidic acid), 아미노알코올(aminoalcohol)과의 디스테아로일-포스파티드산(distearoyl-phosphatidic acid)(가령, 하이드록시에틸렌디아민(hydroxyethylenediamine)이 포함된다.

<44> 바람직한 제제는 염을 함유하는 제제, 예를 들면, 염수(0.15 M NaCl 또는 0.9%) 용액, CaCl₂ 용액, 염수 용액에 담긴 CaCl₂, 또는 이온성 계면활성제, 예를 들면, SDS 또는 SLS를 함유하는 염수 용액이다. 바람직한 구체예에서, 제제는 염수 용액과 CaCl₂를 함유한다. 염 또는 다른 전도성/하전된 화합물의 적절한 농도 범위는 대략 0.01% 내지 대략 20%(전도성 또는 하전된 화합물의 중량/제제의 전체 중량), 바람직하게는, 0.1% 내지 대략 10%(전도성 또는 하전된 화합물의 중량/제제의 전체 중량), 가장 바람직하게는, 0.1 내지 7%(전도성 또는 하전된 화합물의 중량/제제의 전체 중량)이다. 바람직한 구체예에서, 제제는 고장성 염수 용액(즉, 중량으로 0.9% 이상의 염화나트륨 농도)을 함유한다.

<45> 염수 용액은 소량의 치료 활성제, 예를 들면, 베타 항진제(beta agonist), 코르티코스테로이드(corticosteroid), 또는 항생제(antibiotic)와 함께 폐로 장기적으로 전달된다. 가령, VENTOLIN흡입 용액(GSK)은 천식과 운동-유도된 기관지경련 증상(bronchospasm symptom)의 장기 치료에 이용되는 알부테롤 황산염(albuterol sulfate) 용액이다. 분무(nebulization)용 VENTOLIN용액은 1.25-2.5 mg의 알부테롤 황산염(0.25-0.5 ml의 수용액에서)을 통상의 무균 염수에 혼합하여 3 ml의 전체 부피(total volume)를 달성함으로써 제조된다(환자에 의해). 분무 시간(nebulization time)이 5분 내지 15분 범위에서 변할 수 있긴 하지만, VENTOLIN분무에 의한 염수의 폐로의 전달과 관련된 부작용은 관찰되지 않았다. 염수는 또한, 호기를 유도하기 위하여 더욱 현저한 양으로 전달된다. 빈번하게, 이들 염수 용액은 고장성(중량으로 0.9% 이상, 종종, 중량으로 5%의 염화나트륨 농도)이고, 일반적으로, 최대 20분 동안 전달된다.

<46> b. 활성 성분

<47> 본 명세서에 기술된 제제는 다양한 유기 또는 무기 분자, 특히, 소형 분자 약제, 예를 들면, 항생제를 비롯한 항바이러스제와 항균제, 항히스타민제(antihistamine), 기관지확장제(bronchodilator), 기침 억제제(cough suppressant), 소염제(anti-inflammatories), 백신, 어쥬번트(adjuvant), 거담제(expectorant)의 전달을 위한 임의의 경로로 이용될 수 있다. 거대분자의 실례에는 단백질과 대형 펩티드, 다당류와 소당류, DNA와 RNA 핵산 분자 및 치료적, 예방적 또는 진단적 활성을 갖는 이들의 유사체가 포함된다. 핵산 분자에는 유전자, 전사를 저해하기 위하여 상보성 DNA에 결합하는 안티센스 분자(antisense molecule), 리보자임(ribozyme)이 포함된다. 바람직한 약제는 항바이러스제, 스테로이드, 기관지확장제, 항생제, 점액 생산 저해물질, 백신이다.

<48> 바람직한 구체에에서, 활성제의 농도 범위는 중량으로 대략 0.01% 내지 20%이다. 더욱 바람직한 구체에에서, 활성제의 농도 범위는 0.1% 내지 대략 10%이다.

<49> II. 투여를 위한 담체와 에어로졸

<50> 제제는 용액, 현탁액, 스프레이, 연무, 포말(foam), 겔, 증기, 액적, 입자, 또는 건조 분말 형태(가령, HFA 추진제(propellant)를 보유하는 정량식 흡입기(metered dose inhaler), 비-HFA 추진제를 보유하는 정량식 흡입기, 분무기(nebulizer), 가압된 캔(pressurized can), 또는 연속 스프레이어(continuous sprayer)를 이용하여)로 전달될 수 있다. 담체는 용액 또는 현탁액(액상 제제)을 통한 투여를 위한 담체 및 입자(건조 분말 제제)를 통한 투여를 위한 담체로 구분될 수 있다.

<51> A. 상이한 점막 표면에 투여를 위한 제형(dosage form)

<52> 기도 내에 점막 표면에 투여를 위하여, 제제는 전형적으로, 용액, 현탁액 또는 건조 분말의 형태이다. 적절하게는, 제제는 에어로졸화된다. 제제는 에어로졸 발생기, 예를 들면, 건조 분말 흡입기(DPI), 분무기 또는 가압된 정량식 흡입기(pMDI)를 통하여 산출될 수 있다. 본 명세서에서, “에어로졸”은 전형적으로 10 마이크론 이하의 직경을 갖는 입자의 미세한 연무의 임의의 제조물을 의미한다. 수성 제제 에어로졸 입자에 대한 바람직한 평균 직경(mean diameter)은 대략 5 마이크론, 예를 들면, 0.1 내지 30 마이크론, 더욱 바람직하게는, 0.5 내지 20 마이크론, 가장 바람직하게는, 0.5 내지 10 마이크론이다.

<53> 협부 점막(buccal mucosa)을 비롯한 구강 점막(oral mucosa)에 투여를 위하여, 제제는 입에 투여이후 용해되고 및/또는 점막 표면에 점착(adhesion)되는 고체로서, 또는 액체로서 투여될 수 있다.

<54> 질 점막(vaginal mucosa)에 투여를 위하여, 제제는 가급적, 점성 용액이나 현탁액, 겔, 포말, 연고, 크림, 로션, 또는 좌약의 형태이다. 선택적으로, 제제는 삽입용 장치, 예를 들면, 질 고리(vaginal ring) 내에 배치될 수도 있다.

<55> 위장 점막(gastrointestinal mucosa)에 투여를 위하여, 제제는 전형적으로, 용액, 현탁액, 고형 제형(가령, 캡슐 또는 정제), 또는 건조 분말의 형태이다. 선택적으로, 제제는 생접착성(bioadhesive)이고, 하나이상의 생접착성 중합체(bioadhesive polymer) 또는 다른 부형제(excipient)를 함유한다.

<56> B. 액상 제제

<57> 기도에 치료제의 전달을 위한 에어로졸이 개발되었다(참조: Adjei, A. and Garren, J. Pharm. Res., 7: 565-569 (1990); Zanen, P. and Lamm, J.-W. J. Int. J. Pharm., 114: 111-115 (1995)). 이들은 전형적으로, 분무기를 통하여 또는 정량식 흡입기("MDI")의 이용을 통하여 압력 하에 용액 또는 현탁액을 분무함으로써 형성된다.

<58> C. 건조 분말 제제

<59> 기도의 기하학적 배열은 폐 내에서 약제 분산(drug dispersal)의 주요 장벽이다. 폐는 흡입된 외래 물질, 예를 들면, 먼지의 입자를 포획하도록 설계되어 있다. 침착(deposition)의 3가지 기초적인 메커니즘이 존재한다: 감입(impaction), 침강(sedimentation), 브라운 운동(Brownian motion)(J.M. Padfield, 1987. In: D. Ganderton & T. Jones eds. Drug Delivery to the Respiratory Tract, Ellis Harwood, Chichester, U.K.). 감입(impaction)은 입자가 특히, 기도 분지(airway branch)에서 기류(air stream) 내에 머물러 있을 수 없는 경우에 발생한다. 이들은 기관지 벽(bronchial wall)을 덮고 있는 점액층으로 흡수되고, 점액섬모 작용(mucociliary action)에 의해 청소된다. 감입은 주로, 직경 5 μm 이상의 입자에서 나타난다. 더욱 작은 입자(<5 μm)는 기류 내에 머무르고 폐 내에 심부로 수송될 수 있다. 침강은 기류(airflow)가 더욱 느린 하부 호흡기계(lower respiratory system)에서 종종 나타난다. 매우 작은 입자(<0.6 μm)는 브라운 운동에 의해 침착될 수

있다. 이러한 양식은 바람직하지 않은데, 그 이유는 침착이 폐포(alveoli)로 표적될 수 없기 때문이다(N. Worakul & J.R. Robinson. 2002. In: Polymeric Biomaterials, 2nd ed. S. Dumitriu ed. Marcel Dekker. New York).

<60> 흡입을 위한 공기역학적으로 가벼운 입자에 대한 바람직한 평균 직경은 적어도 대략 5 마이크로미터, 예를 들면, 대략 5 내지 30 마이크로미터, 가장 바람직하게는, 3 내지 7 마이크로미터이다. 이들 입자는 폐 심부 또는 상기도와 같은 기도의 선택된 영역으로 국소 전달을 위한 적절한 물질, 표면 거칠기(surface roughness), 직경, 탭 밀도(tap density)를 갖도록 제조될 수 있다. 가령, 더욱 높은 밀도 또는 더욱 큰 입자가 상기도 전달에 이용된다. 유사하게, 한 번의 투여로 폐의 상이한 영역을 표적하기 위하여, 동일하거나 상이한 치료제가 제공된 크기가 상이한 입자의 혼합물이 투여될 수도 있다.

<61> 본 명세서에서, “공기역학적으로 가벼운 입자”는 대략 0.4 g/cm³ 이하의 평균 밀도 또는 탭 밀도를 갖는 입자를 의미한다. 건조 분말 입자의 탭 밀도는 표준 USP 탭 밀도 측정으로 획득될 수 있다. 탭 밀도는 외피 질량 밀도(envelope mass density)의 표준 척도이다. 등장성 입자의 외피 질량 밀도는 입자를 둘러쌀 수 있는 최소 구 외피 용적(minimum sphere envelope volume)으로 나누어진 입자 질량으로 정의된다. 낮은 탭 밀도의 원인이 되는 외형적 특징(feature)에는 불규칙한 표면 질감(surface texture)과 다공성 구조가 포함된다.

<62> 대형 입자 크기를 갖는 건조 분말 제제(“DPF”)는 더욱 적은 응집(aggregation)(Visser, J., Powder Technology 58: 1-10 (1989)), 더욱 용이한 에어로졸화, 잠재적으로 더욱 적은 식세포작용(phagocytosis)과 같은 개선된 유동성(flowability) 특징을 보유한다. Rudt, S. and R. H. Muller, J. Controlled Release, 22: 263-272 (1992); Tabata, Y., and Y. Ikada, J. Biomed Mater. Res., 22: 837-858 (1988). 흡입 요법(inhalation therapy)을 위한 건조 분말 에어로졸은 일반적으로, 주로 5 마이크로미터 이하 범위의 평균 직경을 갖도록 생산되지만, 바람직한 범위는 공기역학적 직경에서 1 내지 10 마이크로미터이다. Ganderton, D., J. Biopharmaceutical Sciences, 3:101-105 (1992); Gonda, I. "Physico-Chemical Principles in Aerosol Delivery," in Topics in Pharmaceutical Sciences 1991, Crommelin, D. J. and K. K. Midha, Eds., Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, pp. 95-115 (1992). 대형 “담체” 입자(약제 함유하지 않음)는 다른 가능한 이점 중에서 효과적인 에어로졸화를 달성하는 것을 보조하기 위하여 치료 에어로졸과 동시-전달되었다. French, D. L., Edwards, D. A. and Niven, R. W., J. Aerosol Sci., 27: 769-783 (1996). 수초 내지 수개월 범위의 분해와 방출 시간을 갖는 입자는 기존에 확립된 방법으로 설계되고 제조될 수 있다.

<63> 입자는 전도성 작용제 단독으로, 또는 약제, 항바이러스제, 항균제, 항생제, 계면활성제, 단백질, 펩티드, 중합체, 또는 이들의 조합과 공동으로 구성될 수 있다. 대표적인 계면활성제에는 L-알파-D-포스포티딜콜린 디팔미토일(“DPPC”), 디포스포티딜 글리세롤(DPPG), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-L-세린(DPPS), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DSPE), 1-팔미토일-2-올레일포스포티딜콜린(POPC), 지방 알코올, 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르, 표면 활성 지방산, 소르비탄 트리올레이트(sorbitan trioleate)(Span 85), 글리코콜레이트(glycocholate), 설파틴(surfactin), 폴록소머(poloxamer), 소르비탄 지방산 에스테르(sorbitan fatty acid ester), 티록사폴(tyloxapol), 인지질, 알킬화된 당이 포함된다. 중합체는 아래와 같은 입자 특성을 최적화하기 위하여 맞춤될 수 있다: i) 전달이후 약제의 안정화와 활성의 보존을 제공하기 위한, 전달되는 약제와 중합체 사이의 상호작용; ii) 중합체 분해 속도 및 이에 따른 약제 방출 프로파일(drug release profile); iii) 표면 특징 및 화학적 변형(chemical modification)을 통한 표적화 능력; iv) 입자 다공도(particle porosity). 중합성 입자는 단일이나 이중 에멀전 용제 증발(emulsion solvent evaporation), 분무 건조(spray drying), 용제 추출(solvent extraction), 용제 증발(solvent evaporation), 상 분리(phase separation), 단순하거나 복잡한 코아세르베이션(coacervation), 계면 중합화(interfacial polymerization) 및 당업자에게 널리 공지된 다른 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 입자는 당분야에 공지된 마이크로구(microsphere) 또는 마이크로캡슐(microcapsule)을 제조하는 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 바람직한 제조 방법은 분무 건조(spray drying)와 냉동 건조(freeze drying)인데, 이는 전도성/전하 물질을 함유하는 용액을 이용하고, 상기 용액을 기질 상에 분무하여 원하는 크기의 액적을 형성하고, 용제를 제거하는 과정을 수반한다.

<64> **III. 전도성 제제의 용도**

<65> 임의의 가용한 경로에 의한 전달을 위하여 체내에서 점막 내층의 생물물리학적 특성을 변화시킬 수 있는 제제가 개발되었는데, 이들은 여러 상이한 목적으로 이용될 수 있다: 전염성 질환(바이러스와 세균), 예를 들면, 인간에서 SARS, 인플루엔자, 결핵, RSV 및 분지제 동물(cloven-footed animal)에서 구제역(hoof and mouth

disease)의 확산을 축소시키고; 급성 감염(가령, 감기), 천식, 만성 기관지염(chronic bronchitis), 기종(emphysema), 기관지확장증(bronchiectasis)을 비롯한 호흡 장애에 기인한 기도 자극과 울혈(congestion)을 완화하고; 청결한 공간을 위하여 특히 중요한, 호흡(breathing), 기침(coughing), 재채기(sneezing), 또는 대화(talking) 동안 입자 형성(particle formation)에 기인한 주변 오염(ambient contamination)을 최소화시키고; 폐쇄성 수면 무호흡증(obstructive sleep apnea), 일부 사례의 과민성 대장 증상(irritable bowel syndrome), 만성 폐쇄성 폐 질환(COPD), 낭포성 섬유증, 이질의 발생을 감소시키거나 예방하고; 약제 분자와 병원체의 흡수 동역학(uptake kinetics)을 통제한다.

<66> A. 약제 전달 제제의 투여

<67> 한 구체예에서, 전도성 제제는 약제 및 제제의 투여 부위에서 점막의 점탄성도를 증가시키기 위한 적절한 전도율을 보유한다. 약제가 전도성 약제이거나, 또는 제제가 약제와 전도성 작용제를 함유한다. 점액층의 생물물리학적 특성을 변화시키고 기도 세포로의 약제 전달과 확산을 강화시키기 위하여, 기관기관지 점액층의 공기/액체 계면과 상호작용하는 전도성 제제가 흡입을 통하여 투여될 수 있다. 대안으로, 제제는 다른 점막 표면과 상호작용하기 위하여 비경구, 경구, 직장, 질, 또는 국소, 또는 안구 공간(ocular space)으로의 투여에 의해 투여될 수도 있다.

<68> 일부 사례에서, 높은 타액 점탄성도가 나노입자의 더욱 다공성 수송을 유도하는 것으로 밝혀졌다(Sanders, N.N., De Smedt, S. C, Rompaey, E.V., Simoens, P., De Baets, F. & Demeester, J. (2000) Am J Respir Crit Care Med. 162, 1905-1911.). 이런 이유로, 이들 제제는 증가된 약제 흡수를 위하여 공기/액체 계면으로부터 세포를 향하여 알짜 추진(net driving) 효과 또는 구배를 발생시킨다.

<69> B. 약제 전달 전-처리 제제의 투여

<70> 전도성 제제는 약제 전달 “전-처리(pre-treatment)” 로서 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 전도성 제제가 환자에 전달되고, 이후 약제 제제가 환자에 전달된다. 약제는 항-바이러스제, siRNA 제제, 리포솜 제제를 비롯한 광범위한 범위의 약제일 수 있다. 전도성 제제가 흡입을 통하여 투여되는 경우에, 전도성 제제는 원하는 결과에 따라 탄성을 증가 또는 감소시킴으로써 기도 내층 액에 대한 계면 생물물리학적 특성을 변화시켜 후속의 약제 전달을 개선하도록 설계된다. 대안으로, 제제는 다른 점막 표면과 상호작용하기 위하여 비경구, 경구, 직장, 질, 또는 국소, 또는 안구 공간(ocular space)으로의 투여에 의해 투여될 수도 있다. 일부 사례에서, 생물물리학적 특성(표면 장력과 점탄성 특성)에서 대형 구배의 유도가 마이크로이하 Teflon 입자의 수송 또는 담금 깊이 (immersion depth)를 개선하는 것으로 밝혀졌다(Im Hof, V., Gehr, P., Gerber, V., Lee, M.M. & Schurch, S. (1997) Respir. Physiol. 109, 81-93.; Schurch, S., Gehr, P., Im Hof, V., Geiser, M. & Green, F. (1990) Respir Physiol. 80, 17-32.).

<71> C. 병원체 수송과 흡수를 변화시키기 위하여 전도성 제제의 투여

<72> 다른 구체예에서, 전도성 제제는 체내에서 병원체의 흡수 동역학을 예방 또는 감소시키기 위하여 상기 제제의 투여 부위에서 점탄성도를 증가시키거나 점막의 전하 구배(charge gradient)를 변화시키기 위한 적절한 전도율을 보유한다. 일부 사례에서, 대형 입자 구배의 유도가 미생물 병원체(microbial agent)의 수송과 점착을 개선 (참조: Goldberg, S, et al, J Bacteriology 172, 5650-5654 (1990))하고, 바이러스 진입(virus entry)을 변화 (Davis, H.E., et al, Biophys J, 86, 1234-1242 (2004))시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다.

<73> 이러한 전도성 제제는 원하는 결과에 따라 탄성을 증가 또는 감소시킴으로써 기도 내층 액에 대한 계면 생물물리학적 특성을 변화시키거나, 또는 기도 내층 액/기도 조직 계면에서 전하 상호작용(charge interaction)을 변화시키도록 설계된다. 제제는 이러한 효과를 달성하기 위하여 양이온성 또는 음이온성 분자를 함유할 수 있다. 전하 구배에서 이러한 변화는 차후에, 세포내에서 병원체의 흡수와 수송을 예방 또는 지연시키거나, 또는 복제된 병원체의 세포의 공간으로 방출을 변화시킬 것이다. 대안으로, 이러한 전하 구배는 병원체의 점착과 면역원성(immunogenicity)을 개선할 수도 있다.

<74> 전도성 제제는 전형적으로, 흡입을 통하여 투여된다. 하지만, 제제는 다른 점막 표면과 상호작용하기 위하여 비경구, 경구, 직장, 질, 또는 국소, 또는 안구 공간(ocular space)으로의 투여에 의해 투여될 수도 있다.

<75> D. 호기된 입자의 양을 감소시키기 위한 전도성 제제의 투여

<76> 다른 구체예에서, 전도성 제제는 호흡, 기침, 재채기 및/또는 대화(talking) 동안 생체 에어로졸 입자 형성을 억제 또는 감소시키기 위하여 상기 제제의 투여 부위에서 점막의 점탄성도를 증가시키기 위한 적절한 전도율을 보

유한다. 적절하게는, 제제는 폐 감염(pulmonary infection), 특히, 바이러스 또는 세균 감염의 다른 동물 또는 인간으로의 확산을 감소 또는 제한하기 위하여, 세균 또는 바이러스에 의해 감염된 한명 이상의 개체에 투여된다. 대안으로, 제제는 신체에 의한 병원체의 흡수를 예방 또는 감소시키기 위하여, 건강한 개체, 또는 면역 약화된 개체에 투여될 수도 있다.

<77> E. 기도에 투여

<78> 기도는 공기와 혈류(blood stream) 사이에서 가스 교환에 관여하는 구조이다. 폐는 가스 교환이 진행되는 폐포가 말단에 위치하는 가지 구조(branching structure)이다. 폐포 표면 부위(surface area)는 호흡기계 내에서 최대이고, 약제 흡수가 진행된다. 폐포는 섬모 또는 점액 덮개(blanket)가 없는 얇은 상피에 의해 둘러싸이고, 계면활성 인지질을 분비한다. J.S. Patton & R.M. Platz. 1992. Adv. Drug Del. Rev. 8:179-196.

<79> 기도는 인두(oropharynx)와 후두(larynx)를 비롯한 상기도(upper airway) 및 기관지(bronchus)와 세기관지(bronchioli)로 분기되는 기관(trachea)을 비롯한 하기도(lower airway)를 포괄한다. 상기도와 하기도는 공기전달 통로(conducting airway)로 불린다. 말단 세기관지는 이후, 호흡 세기관지(respiratory bronchioli)로 분할되고, 이는 궁극적인 호흡 구역(respiratory zone), 폐포 또는 폐 심부로 이어진다. 폐 심부 또는 폐포는 전신 약제 전달을 위한 흡입된 치료 에어로졸의 주요 표적이다.

<80> 제제는 전형적으로, 상기도에서 내인성 유체의 물리적 특성, 예를 들면, 표면 장력과 점도를 변화시켜 폐로의 전달을 강화하고 및/또는 기침을 억제하고 및/또는 폐로부터 소거(clearance)를 개선하는 효과량을 전달하기 위하여 개체에 투여된다. 효능은 아래에 기술된 바와 같은 시스템을 이용하여 측정될 수 있다. 가령, 염수는 정상 성체에 1 gram의 용적으로 투여될 수 있다. 이후, 입자의 발산이 측정된다. 그 다음, 용량(dose)과 입자 수 (particle number)가 최소화되도록 전달이 최적화된다.

<81> 제제는 정량식 흡입기("MDI"), 분무기, 또는 건조 분말 흡입기를 이용하여 투여될 수 있다. 적절한 장치는 상업적으로 구입가능하고, 여러 문헌에서 기술된다.

<82> 에어로졸 투약(dosage), 제조와 전달 시스템은 예로써, Gonda, I. "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract," in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6:273-313, 1990; Moren, "Aerosol dosage forms and formulations," in: Aerosols in Medicine, Principles, Diagnosis and Therapy, Moren, et al., Eds. Esvier, Amsterdam, 1985에 기술된 바와 같이 특정한 치료 적용을 위하여 선택될 수 있다.

<83> 전달은 여러 방법 중에서 한 가지, 예를 들면, HFA 추진제를 보유하는 정량식 흡입기, 비-HFA 추진제를 보유하는 정량식 흡입기, 분무기, 가압된 캔, 또는 연속 스프레이어를 이용함으로써 달성된다. 가령, 환자는 미리-현탁된 치료제의 건조된 분말을 용제와 혼합하고, 이후 이를 분무할 수 있다. 미리-분무된 용액을 이용하여 투여량(dosage administered)을 조절하고 현탁액의 가능한 손실을 예방하는 것이 더욱 바람직하다. 분무화(nebulization) 이후, 에어로졸을 가압하고 정량식 흡입기(MDI)를 통하여 이를 투여하는 것도 가능하다. 분무기는 용액 또는 현탁액으로부터 미세한 연무를 발생시키는데, 이는 환자에 의해 흡입된다. U.S. Patent No. 5,709,202(Lloyd, et al.)에 기술된 장치가 이용될 수 있다. MDI는 전형적으로, 미터 밸브(meter valve)가 달린 가압된 통(pressurized canister)을 보유하는데, 여기서 상기 통은 용액 또는 현탁액 및 추진제로 채워진다. 용제 자체가 추진제로서 기능하거나, 또는 조성물이 추진제, 예를 들면, FREON(E. I. Du Pont De Nemours and Co. Corp.)와 혼합될 수 있다. 조성물은 압력 하에 방출로 인하여 통으로부터 방출되는 경우에, 미세한 연무이다. 추진제와 용제는 압력 감소로 인하여 완전히 또는 부분적으로 증발할 수 있다.

<84> 대안적 구체예에서, 제제는 부형제 상에 또는 부형제 내에 분산되는 염 또는 다른 전도성 물질의 형태이다. 부형제는 가급적, 안전한(무해한) 생물분해성 물질이다. 전형적인 부형제에는 텍스트란, 락토오스, 만니톨이 포함된다.

<85> 치료되는 개체는 감염의 위험이 있는 개체, 바이러스 또는 세균으로 감염된 개체, 알레르기 환자, 천식 환자, 면역 약화된 환자 또는 감염된 환자와 함께 작업하는 개체 등이 포함된다.

<86> 제제는 인간, 또는 동물, 예를 들면, 경주마, 사육하는 가축, 또는 우리에 갇힌 멸종 위기 동물을 바이러스 확산에 의한 감염으로부터 보호하기 위하여 이들에게 투여될 수 있다. 이는 분무기 시스템을 관수 장소(watering station) 주변에 배치하고, 동물이 접근하거나 장소를 이탈할 때 에어로졸의 생산을 유인함으로써 달성된다. 제제는 동물이 슈트(chute) 또는 펜스(pens)를 통과하여 걸어갈 때 이들에게 살포되거나, 또는 살포 트럭(spray truck) 또는 농약 살포용 비행기(crop dusting type airplane)로부터 살포된다. 살충제를 살포하기 위하여 현재

이용되고 있는 개별 배터리 엔진 스프레이어(battery powered sprayer)가 생체에어로졸 형성 및/또는 분산을 최소화하기 위하여 이들 용액을 동물에게 투여하는데 적합하도록 개조될 수 있다.

<87> 제제는 질병이 전염병 수준까지 확산되는 것을 예방하기 위하여 바이러스 또는 세균 아웃브레이크의 시작 시점에 인간 또는 동물에 투여된다. FMD 아웃브레이크의 10-킬로미터 반경 내에 동물은 감염된 것으로 간주된다. 이들 동물은 차후에 도살되고 소독된다. 본 발명의 에어로졸 시스템은 이러한 아웃브레이크의 봉쇄를 담보하기 위하여 10-킬로미터 반경 구역 및 이러한 구역 외부의 규정된 완충 구역 이내의 동물에 즉시 투여된다. 이러한 에어로졸은 성공을 담보하기 위하여 필요한 만큼 오랫동안, 다시 말하면, 첫 번째 감염과 증상 발현(symptom expression) 사이에 통상적인 기간을 초과하여 투여될 수 있다.

<88> 제제는 폐를 충분히 치료할 만큼 충분한 기간 동안 인간과 동물이 이동하거나 체류하는 수성 환경을 산출함으로써 인간 또는 동물에게 투여된다. 이러한 환경은 분무기 또는 가습기(humidifier)의 이용으로 산출될 수도 있다.

<89> 비록 폐 투여에 관하여 주로 기술되긴 했지만, 본 발명의 제제는 흡입을 통하여; 비경구, 경구, 직장, 질 또는 국소 투여에 의해; 또는 안구 공간에 투여에 의해 개별 동물 또는 인간에 투여될 수도 있다.

<90> **IV. 점막 내층에서 전하를 변화시키는 다른 방법**

<91> 점막 내층의 생물물리학적 특성의 변화는 대안적인 방법으로 달성될 수도 있다. 한 가지 방법으로, 전극(electrode) 또는 패치(patch)가 치료되는 개체의 신체상에 배치되고, 전기장(electric field)이 발생된다. 이는 점막 내층의 전하 위치, 이온 농도 또는 이온 강도를 변화시켜, 이의 생물물리학적 특성을 변화시킨다.

<92> 본 발명은 아래의 무-제한적 실시예를 참조하면 더욱 명확하게 이해될 것이다.

실시예

<93> **시험관내 연구에 점액 모방체 제제와 방법**

<94> **점액 모방체 제제**

<95> King et al, Nurs Res. 31(6):324-9 (1982)에 기술된 것들과 유사하게, 나트륨 테트라붕산염 (Na₂B₄O₇)(J.T.Baker)으로 교차결합된 로커스트 콩 검(locust bean gum, LBG)(Fluka BioChemika) 용액을 이용하여 기관기관지 점액과 유사한 유동(rheological) 특성을 갖는 약한 중합성 겔을 제조하였다. 2% wt/vol에서 LBG는 끓는 Milli-Q 증류수에 용해시켰다. Milli-Q 증류수에서, 농축된 나트륨 테트라붕산염 용액을 제조하였다. LBG 용액을 실온으로 냉각시킨 이후, 소량의 나트륨 테트라붕산염 용액을 추가하고, 혼합물은 1분간 천천히 회전시켰다(이후, “점액 모방체(mucus mimetic)”). 이후, 비용적(specific volume)의 여전히 축축한 점액 모방체를 모형 기관(기계 트로프(trough)) 상에 위치시켜 트로프 기하학적 배열에 기초한 모의 깊이(mimetic depth)를 발생시켰다. 점액 모방체 층은 시험관내 실험의 시작에 앞서 15분간 교차결합시켰다. 나트륨 테트라붕산염의 최종 농도 범위는 1-3 mM이었다.

<96> **방법**

<97> 상이한 제제, 예를 들면, 염수, 또는 염수 용액에 담긴 염화칼슘의 효능을 조사하기 위하여 아래의 시험관내 방법이 이용되었다. 앞서 기술된 바와 같이, 점액 모방체를 모형 기관(트로프)에 적용하고 15분간 교차결합시켰다. 상기 트로프는 모의 호흡 기계(simulated respiratory machine)(King 등(M. King, J.M. Zahm, D. Pierrot, S. Vaquez-Girod, E. Puchelle, Biorheology (1989) 26:737-745)에 의한 ‘기침’ 기계의 변형)에 연결하였다. 모방체의 표면 위에서 규정된 기류의 호흡 현상(respiratory event)은 모형 트로프를 통하여 개시시켰다(이는 기관 내에 점액층 위에서 호흡을 모의하였다). 도 1은 이들 연구에 이용된 모의 호흡 기계의 개요도이다.

<98> 모방체 표면에 가해진 전단(shearing)은 기류 내에 포획되고 하류로 운반되는 에어로졸 입자의 형성을 유도하였다. 광학 입자 계수기(optical particle counter, OPC)(도 1에서 20번)(CLiMET Instruments, Redlands, CA)를 트로프의 하류에 배치하여, 산출된 에어로졸 입자를 계산하고 이들 입자의 크기를 측정하였다.

<99> 전체 시험관내 검사 시스템은 도 1에 도시된다. 구성요소는 아래와 같다:

<100> 1. 압축된 공기탱크 가압된 공기를 시스템에 공급한다.

- <101> 2. 압력 조절장치(pressure regulator)
- <102> 3. 10 nm Teflon 막 필터 - 공기가 시스템으로 들어가기에 앞서 적은 입자 수를 담보하기 위하여, 압축된 공기를 여과한다.
- <103> 4. 베이커 바이오-후드(baker bio-hood) - 공기로부터 입자의 추가를 예방한다.
- <104> 5. 안전 공기 배출 밸브(safety air relief valve) - 시스템의 과다 여압을 예방한다.
- <105> 6. 밀폐된 6.2L 가압된 용기 - 가압된 공기의 시스템으로의 통제된 방출을 제공한다(폐의 커패시턴스 능력(capacitance function)을 모방한다).
- <106> 7. LED 압력 게이지
- <107> 8. Asco 겸용 솔레노이드 밸브(solenoid valve) 가압된 공기의 트로프로의 전달을 통제하는 전자기계 스위치(electromechanical switch)
- <108> 9. 솔레노이드 밸브에 대한 열림/닫힘 스위치
- <109> 10. Fleisch No. 4 호흡유량계(pneumotachograph) 압력 변환기(pressure transducer)로 선형층류(laminar air flow)를 제공한다.
- <110> 11. Validyne DP45 압력 변환기 - 호흡유량계를 통하여 압력 강하(pressure drop)를 측정한다.
- <111> 12. Pall Conserve 필터 - 솔레노이드 밸브의 기계적 작용(mechanical action)으로 발생된 입자가 시스템으로 들어오는 것을 예방한다.
- <112> 13. Validyne CD15 신호 복조기(demodulator)/증폭기(amplifier) - 데이터 획득 시스템을 위하여 압력 변환기로부터 접수된 전기 신호(electrical signal)를 조작한다.
- <113> 14. 모형 기관(트로프) - 기관(trachea)을 모의하기 위하여 아크릴 30 cm x 1.6 cm x 1.6 cm(L x W x H)를 틀에 맞게 만든다.
- <114> 15. 조정가능 스탠드 - 트로프를 수평으로 놓는다.
- <115> 16. 드립 트랩(drip trap) - 점액 모방체의 집단적 움직임(bulk movement)이 홀딩 챔버로 들어가는 것을 예방한다.
- <116> 17. 데이터 획득용 컴퓨터
- <117> 18. 배플(baffle) - 홀딩 챔버의 과다-여압(over-pressurization)을 예방하기 위하여 시스템 내에서 압력 차이를 억제한다.
- <118> 19. 홀딩 챔버(Holding chamber) OPC에 의한 측정에 앞서 에어로졸 액적의 공기로의 이탈을 예방한다.
- <119> 20. CLiMET 500 OPC - 레이저 회절(laser diffraction)을 통하여 에어로졸 액적의 총수와 이들의 물리적 크기를 측정한다.
- <120>
- <121> CLiMET OPC는 1 CFM에서 레이저 빔의 통로를 통하여 기류를 끌어당긴다. 이러한 기류 내에 입자는 레이저 빔과 충돌하는 경우에 레이저 광의 회절을 유발하는데, 회절된 광의 강도가 측정된다. 이후, 회절의 강도와 빈도는 입자의 총수 및 이들의 물리적 크기를 산정하는데 이용된다.
- <122> 모방체 내로 통합되고, 이후 에어로졸 액적 내에서 하류로 운반되고 추가 분석을 위하여 트로프의 출구에 배치된 필터를 이용하여 수집되는 표지된 나노입자를 이용하는 대안적 방법이 이용될 수 있다.
- <123> 다양한 제제를 조사하여 점막 내층의 생물물리학적 특성, 예를 들면, 표면 점탄성도와 표면 장력에 대한 이들의 효과를 측정하였다. 각 제제는 적절한 에어로졸화 방법을 이용하여 이러한 제제를 에어로졸화시킴으로써 점액층으로 도입되었다. 용액/현탁액의 경우에, Aeroneb Go 분무기(Aerogen, Mountain View, CA)가 이용되었다. 이러한 Aeroneb Go 분무기는 용액을 에어로졸화시키는 진동 망사조직 기술(vibrating mesh technology)을 이용한다. 모든 검사에서 에어로졸화 시간(aerosolization time)은 2분으로 설정되었다. 모방체는 트로프의 입구에 배치되고, 기압(air pressure)은 기침 현상을 모방하기 위하여 3 psi로 설정되었다. 이들 조건은 모방체의 밸브/

액상 트랩(liquid trap)으로의 움직임 및 대량 모방체(bulk mimetic)의 트로프 벽으로의 튀김(splashing)을 최소화하기 위하여 상기 대량 모방체 상에서 나타나는 최적화된 탄젠트(optimized tangent)와 수직 응력(normal stress)에 기초하여 선택되었다.

<124> **실시예 1: 입자 수의 합계에 대한 상이한 제제의 효과에 관한, SRM 장치를 이용한 시험관내 연구**

<125> 4가지 제제는 앞서 기술된 SRM 장치를 이용하여 시험관내에서 조사하고, 참고(reference)로서 이용된 점액 모방체(mucus mimetic) 단독(모의)에 대하여 비교하였다. 이러한 점액 모방체 생산 및 앞서 기술된 SRM 방법이 각 실험에 이용되었다. 아래의 제제가 이용되었다: (1) 0.9% 등장성 염수, (2) 0.9% 등장성 염수 용액에 용해된 1.29% 염화칼슘(CaCl_2), (3) 0.9% 등장성 염수 용액에 용해된 0.1% 나트륨 도데실 설페이트(SDS), (4) 0.9% 등장성 염수 용액에 용해된 1% 텍스트란. 트로프(trough)에 가해지는 모의 신장(mimetic height)은 모든 검사에서, 2 mm(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume))의 일정 높이로 유지되었다. 상기 모방체는 15분간 교차-결합되었고, 각 제제는 이후, 검사에 앞서 2분 동안 Aeroneb Go(Aerogen, Mountain View, CA)를 이용하여 모방체 내로 에어로졸화되었다. 각 검사는 적어도 3회 반복하고, 평균 누적 입자 수(average cumulative particle count)와 표준 편차(standard deviation) 수치를 산정하였다. 이들 결과는 도 2에서 그래프로 도시된다.

<126> 도 2에 도시된 바와 같이, 각 제제는 1 이상의 크기 자릿수(order of magnitude)의 입자 억제(particle suppression)를 보였다. CaCl_2 를 함유하는 등장성 염수 용액은 최대 입자 억제, 다시 말하면, 3 크기 자릿수의 억제를 보인다.

<127> **실시예 2: SRM 장치를 이용한 시험관내 측정에서, 호기된 에어로졸 입자의 감소에 대한 제제(염수와 수용액에서)의 효과**

<128> 이러한 입자 억제의 기초가 되는 메커니즘을 더욱 이해하기 위하여, 제제는 탈이온화된(DI) 물과 염수 모두에서 제조하였다. 이러한 점액 모방체 생산 및 앞서 기술된 SRM 방법이 각 실험에 이용되었다. 트로프(trough)에 가해지는 모의 신장(mimetic height)은 모든 검사에서, 2 mm(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume))의 일정 높이로 유지되었다. 상기 모방체는 15분간 교차-결합되었고, 각 제제는 이후, 검사에 앞서 2분 동안 Aeroneb Go(Aerogen, Mountain View, CA)를 이용하여 모방체 내로 에어로졸화되었다. 각 검사는 적어도 3회 반복하고, 평균 누적 입자 수(average cumulative particle count)와 표준 편차(standard deviation) 수치를 산정하였다. 이들 결과는 도 3에서 그래프로 도시된다.

<129> 도 3에 도시된 바와 같이, 일정한 제제에 이용된 염수가 탈이온화된(DI) 물로 대체되는 경우에, 상기 제제의 입자 억제 능력(particle suppression performance)이 감소한다. CaCl_2 의 경우에, 염수가 DI 물로 대체되면 입자 형성을 억제하는 제제의 능력이 약간 감소하는데, DI 물 및 CaCl_2 를 함유하는 염수 제제 둘 모두 염수 단독보다 입자 억제에 더욱 효과적이었다. 하지만, SDS 또는 텍스트란을 함유하는 제제의 경우에, 염수가 DI 물로 대체되면 억제 수준이 미미해진다. 이들 결과는 염(NaCl 과 CaCl_2)이 입자 형성의 억제에서 핵심적인 역할을 수행한다는 것을 암시한다.

<130> **실시예 3: 상이한 제제의 전도율 수치 및 SRM 장치를 이용한 시험관내 측정에서, 누적 입자 수에 대한 제제 전도율의 효과**

<131> 입자 형성의 억제에 대한 제제의 전하/전도율의 효과를 결정하기 위하여, 상이한 제제의 전도율을 측정하고 누적 입자 수에 대한 도표로서 작성하였다. 아래의 10가지 제제가 이용되었다: (1) 염수 0.45%, (2) 등장성 염수 0.9%, (3) 염수 1.45%, (4) 등장성 염수에서 CaCl_2 (1.29%), (5) DI 물에서 CaCl_2 (1.29%), (6) DI 물에서 CaCl_2 (1.87%), (7) 등장성 염수에서 SDS(0.1%), (8) DI 물에서 SDS(0.1%), (9) 등장성 염수에서 텍스트란(1%), (10) DI 물에서 텍스트란(1%). 각 상이한 제제 및 점액 모방체에 대한 전도율 수치는 Brookhaven ZetaPALS 제타 사이즈(zetasizer)(Brookhaven Instruments, Holtsville, NY)를 이용하여 측정하였다. 상기 장치는 먼저, 전도율을 측정하고(가해진 전기장(electric field)의 강도를 결정하기 위하여), 이후 용액의 이동도(mobility)를 광학적으로 측정함으로써, 일정한 용액/제제의 제타전위(zetapotential)를 측정한다. 이러한 전도율은 제타 전위 측정의 개시 이전에 보고되는데, 이러한 수치는 표 1에 제시된다. 전도율은 일정한 샘플의 전기 저항(electrical resistance)의 대응물이고, 샘플 내에서 전하의 강도/농도 및 전하의 이동도에 좌우된다. 기하학적 보정 계수(geometrical correction factor)(셀(cell) 길이를 전극 범위(electrode area)로 나눔으로써 측정되는 측정 셀 상수(measurement cell constant))가 부가되는데, 이는 센티미터(centimeter)당 마이크로시멘스

(micro-Siemens)의 단위로, 비전도율로서 보고되는 전도율을 산출한다.

표 1

<132> 10가지 제제 및 점액 모방체의 전도율

샘플	비전도율($\mu S/cm$)
점액	528
염수 0.45%	12,232
등장성 염수 0.9%	23,829
염수 1.45%	33,989
CaCl ₂ 1.29%(등장성 염수)	37,586
CaCl ₂ 1.29%(DI 물)	24,931
CaCl ₂ 1.87%(DI 물)	30,187
SDS 0.1%(등장성 염수)	24,045
SDS 0.1%(DI 물)	103
텍스트란 1%(등장성 염수)	20,689
텍스트란 1%(DI 물)	60

<133> SRM 검사 및 앞서 기술된 점액 모방체 생산이 이 연구에 이용되었다. 트로프(trough)에 가해지는 모의 신장(mimetic height)은 모든 검사에서, 2 mm(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume))의 일정 높이로 유지되었다. 상기 모방체는 15분간 교차-결합되었고, 각 제제는 이후, 검사에 앞서 2분 동안 Aeroneb Go(Aerogen, Mountain View, CA)를 이용하여 모방체 내로 에어로졸화되었다. 각 검사는 적어도 3회 반복하고, 평균 누적 입자 수(average cumulative particle count)와 표준 편차(standard deviation) 수치를 산정하였다. 도 4는 상기 제제의 전도율 vs. 상기 제제에 대한 호기된 입자 수(시험관내 SRM 검사로부터)의 그래프이다.

<134> 도 4에 도시된 바와 같이, 전도율과 호기된 입자 수 사이에는 강한 상관관계가 존재한다, 다시 말하면, 전도율이 높을수록, 전체 입자 수가 낮아진다. 따라서, 더욱 높은 전도율을 갖는 제제는 더욱 높은 에어로졸 액적 저해를 결과한다.

<135> **실시예 4: 전도율 수치와 손실 탄젠트의 비교(계면 응력 유량계(interfacial stress rheometer)에 의한 측정에서)**

<136> G', G'', G*, Tan δ 에 대한 수치는 계면 응력 유량계(interfacial stress rheometer, ISR)를 이용하여, 점액 모방체 및 여러 제제(물에 용해된 0.9% NaCl(등장성 염수), 염수에 용해된 1.29% CaCl₂, 염수에 용해된 0.1% SDS, 염수에 용해된 1.0% 텍스트란) 중에서 하나가 표면으로 에어로졸화된 모방체에 대하여 획득하였다. 상기 ISR은 작은 직경 대 길이 비율(diameter to length ratio)을 갖는 자성 막대(magnetized rod)를 이용하였다(계면에서 데이터를 획득하고 집단적 효과(bulk effect)를 최소화하기 위하여). 상기 막대는 소형 트로프 내에 포함된 샘플의 표면 상에 위치시켰다. 샘플 전체에 응력으로서 진동 자기장(oscillating magnetic field)(호흡을 자극하기 위하여 0.25 Hz의 진동수 보유)을 가하여 상기 막대가 길이 방향을 따라서 이동하도록 유도하였다. 광학 카메라(optical camera)로 이러한 움직임을 포착하고, 이미지 인식 소프트웨어(image recognition software)를 이용하여 반응을 산정하였다(막대가 이동한 거리, 또는 변형). 이후, 상기 정보로부터 G', G'', G*, 손실 탄젠트(Tan δ)를 측정하였다.

<137> 도 5는 각 제제의 손실 탄젠트 vs. 전도율을 보여주는 그래프이다. 상관관계가 관찰될 수 있는데, 여기서 손실 탄젠트가 낮을수록(더욱 높은 탄성 샘플), 전도율이 높아진다. 이러한 데이터를 전도율과 호기된 입자 수 사이에 관찰되는 상관관계(실시예3)와 비교하는 경우에, 이는 전도율이 증가(전하의 증가된 강도/농도 및 이동도)하고 손실 탄젠트가 감소(점도에 비하여 증가된 탄성)하면, 호기된 입자 수가 감소하는 상관관계를 입증한다. 이는 호기된 입자 수가 억제되는 잠재적 메커니즘을 암시한다: 에어로졸화된 제제의 모방체 표면으로의 적용을 통한 전하의 부가는 모방체 표면에서 증가된 가교-결합과 화학적 결합을 통하여, 상기 모방체의 점탄성도를 변화시키고, 손실 탄젠트를 감소시키며, 표면의 기계적 강도(mechanical rigidity)(G*)를 증가시킨다.

<138> **실시예 5: 4 psi에서 전단되는 경우에, 입자 형성의 억제에 대한 상이한 전도율 수치를 갖는 상이한 제제의 효능**

<139> 상이한 제제에서 입자 억제에 대한 전도율/전하 효과를 더욱 구별하기 위하여, SRM 검사에 이용되는 압력을 3에서 4 psi로 증가시켰다. 4가지 제제, 등장성 염수, 등장성 염수에 용해된 1.29% CaCl₂, DI 물에 용해된 1.29% CaCl₂, 1.8% 염수 용액이 이들 검사에 이용되었다. 4가지 제제의 전도율 수치는 표 2에 작성된다. 각 상이한 제제에 대한 전도율 수치는 상기 실시예 3에 기술된 바와 같이 Brookhaven ZetaPALS 제타사이즈(Brookhaven Instruments, Holtsville, NY)를 이용하여 측정하였다.

표 2

<140> 검사된 제제의 전도율 수치

샘플	비전도율($\mu S/cm$)
염수 0.9%	23,829
염수 1.8%	42,201
CaCl ₂ 1.29%(등장성 염수)	37,586
CaCl ₂ 1.29%(DI 물)	24,931

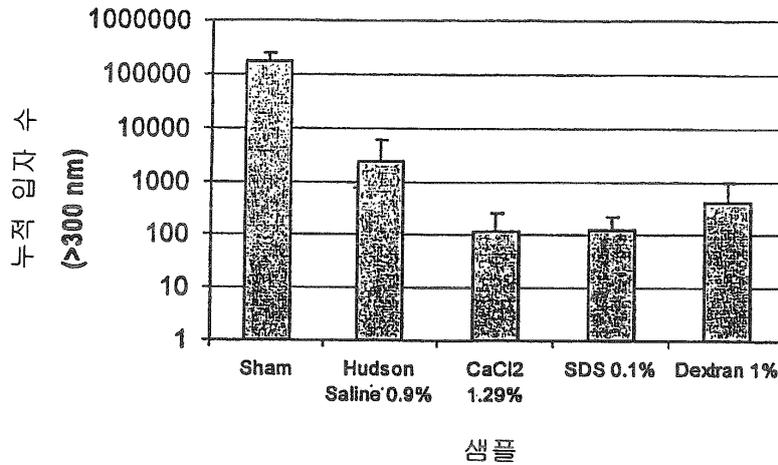
<141> 점액 모방체 생산 및 앞서 기술된 SRM 방법이 각 실험에 이용되었다. 트로프(trough)에 가해지는 모의 신장(mimetic height)은 모든 검사에서, 2 mm(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume))의 일정 높이로 유지되었다. 상기 모방체는 15분간 교차-결합되었고, 각 제제는 이후, 검사에 앞서 2분 동안 Aeroneb Go(Aerogen, Mountain View, CA)를 이용하여 모방체 내로 에어로졸화되었다. 각 검사는 적어도 3회 반복하고, 표준 점액 모방체와 비교하여 평균 누적 입자 수(average cumulative particle count)와 억제 비율(percent suppression)을 산정하고 각각, 도 6A와 6B에 요약하였다.

<142> 도 6A와 6B에 도시된 바와 같이, 제제의 전도율 수치가 더욱 높을수록 입자 억제 능력(particle suppression capability)이 더욱 높았다.

도면의 간단한 설명

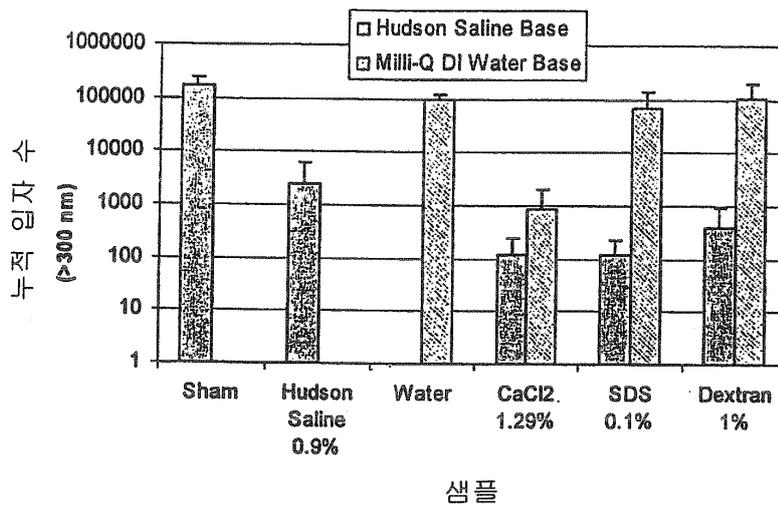
- <17> 도 1은 실시예에 이용되는 모의 호흡 기계(SRM) 장치의 개요도이다.
- <18> 도 2는 SRM 장치(3 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time))를 이용한 시험관내 측정에서, 점막 모방 층에서 상이한 에어로졸화 제제의 투여이후 누적 입자 수(cumulative particle count)(>300 nm)의 막대그래프이다.
- <19> 도 3은 SRM 장치(물과 염수에서)(3 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time))를 이용한 시험관내 측정에서, 점막 모방 층에서 물과 염수에 담긴 상이한 에어로졸화 제제의 투여이후 누적 입자 수(cumulative particle count)(>300 nm)의 막대그래프이다.
- <20> 도 4는 ZetaPALS 제타사이즈(Brookhaven Instruments Corp, Holtsville, NY)에 의해 측정된 제제 전도율(conductivity)($\mu S/cm$) vs. SRM 장치를 이용하여 시험관내 측정된 누적 입자 수(>300 nm)의 그래프이다.
- <21> 도 5는 계면 표면 유량계(Interfacial Surface Rheometer)에 의해 측정된 표면 손실 탄젠트(loss tangent, "Tan δ ") vs. SRM 장치를 이용하여 시험관내 측정된 누적 입자 수(>300 nm)의 그래프이다.
- <22> 도 6A는 SRM 장치(4 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time))를 이용한 시험관내 측정에서, 점막 모방 층에서 상이한 에어로졸화 제제의 투여이후 누적 입자 수(cumulative particle count)의 막대그래프이다. 도 6B는 도 6A에서 도시된 바와 동일한 조건 하에 동일한 제제에 대한 처리되지 않은 점액 모방체와 비교하여 입자 수의 억제 비율의 막대그래프이다.

도면2



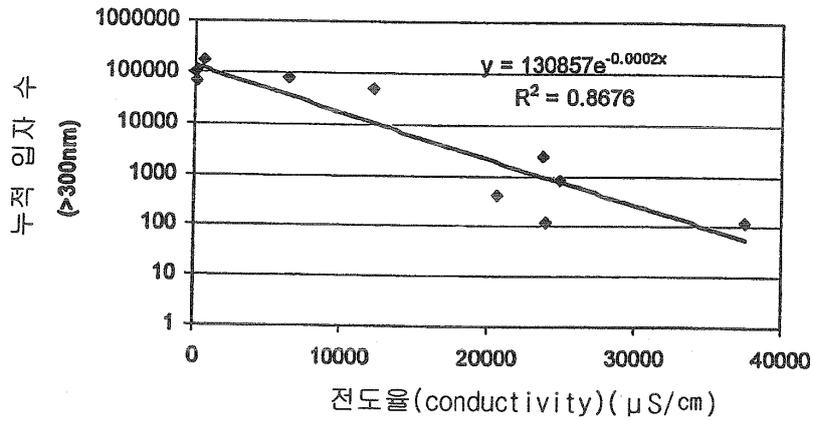
3 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time))에서 누적 입자 수(cumulative particle count) vs. 적용된 제제.

도면3



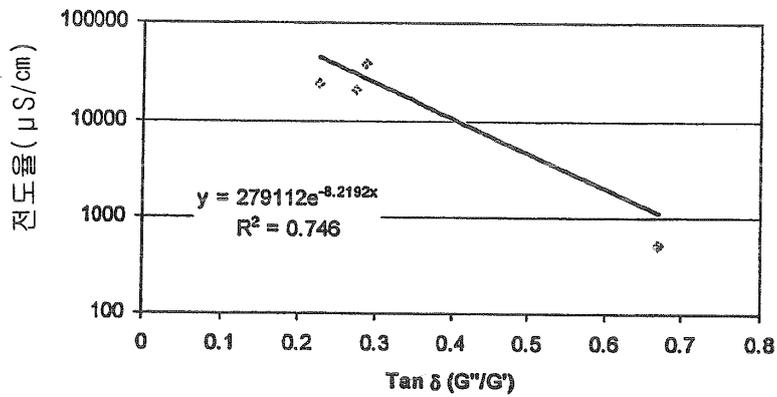
3 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time))에서 누적 입자 수(cumulative particle count) vs. 적용된 제제.

도면4



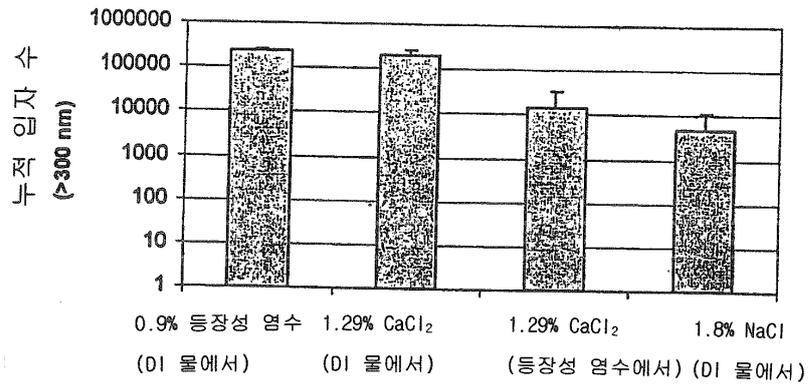
각 제제에 대한 호기된 입자 수(3 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time)에서) vs. 전도율

도면5



각 제제에 대한 전도율 수치(μS/cm) vs. Tan δ (0.25 진동수, 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time), 75분 교차-연결 시간(cross-linking time)에서)

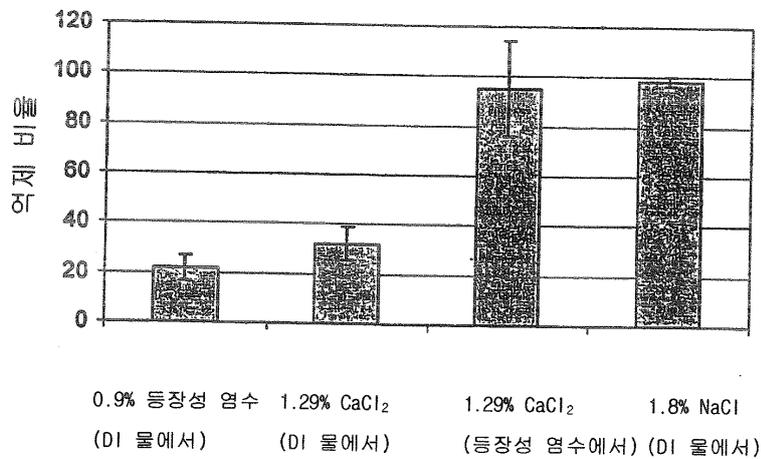
도면6a



샘플

4 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time)에서 누적 입자 수 vs. 적용된 제제

도면6b



샘플

4 psi 기압(air pressure), 2 mm 모의 신장(mimetic height)(6.4 ml 전체 모의 부피(total mimetic volume)), 2분 제제 에어로졸화 시간(formulation aerosolization time), 15분 교차-연결 시간(cross-linking time)에서 처리되지 않은 점액 모방체와 비교하여 입자 수의 억제 비율