

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-537493

(P2004-537493A)

(43) 公表日 平成16年12月16日(2004.12.16)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
A61K 9/12	A61K 9/12	4C076
A61K 31/7105	A61K 31/7105	4C084
A61K 31/711	A61K 31/711	4C085
A61K 38/00	A61K 39/00	4C086
A61K 38/21	A61K 39/395	G
		A
審査請求 有 予備審査請求 有 (全 63 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2000-589164 (P2000-589164)	(71) 出願人	501120627
(86) (22) 出願日	平成11年12月16日 (1999.12.16)		ジェネレクス ファーマシューティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成13年6月21日 (2001.6.21)		インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/CA1999/001233		GENEREX PHARMACEUTICALS INC.
(87) 国際公開番号	W02000/037053		カナダ国 エム5ジェイ 2ジー2 オンタリオ, トロント, ハーバー スクエア 33, 202
(87) 国際公開日	平成12年6月29日 (2000.6.29)	(74) 代理人	100066728
(31) 優先権主張番号	60/113, 242		弁理士 丸山 敏之
(32) 優先日	平成10年12月21日 (1998.12.21)	(74) 代理人	100100099
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 宮野 孝雄
(31) 優先権主張番号	09/397, 701	(74) 代理人	100111017
(32) 優先日	平成11年9月16日 (1999.9.16)		弁理士 北住 公一
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 エアロゾル化された膜ミメティック両親媒性物質を用いた大分子薬物の送達システム

(57) 【要約】

【課題】

【解決手段】 多重ラメラ小胞を有する混合リポソーム薬学的調製物は、蛋白質性薬剤、水、濃度が調製物全体の1～10wt. / wt. %であるアルカリ金属ラウリルサルフェート、少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質、及び少なくとも1種のリン脂質を含んでいる。膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質は、各々が、調製物全体の1～10wt. / wt. %であり、膜ミメティック両親媒性物質とリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満である。調製物は定量エアロゾルディスペンサーを用いて口腔内に投与される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

多重ラメラ小胞を有するエアロゾル薬剤調製物であって、該調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるアルカリ金属C8-C22アルキルサルフェート、iv) 少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも1種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるフェノール及び、vii) C1-C2ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

10

膜ミメティック両親媒性物質は、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドDEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パントニル、ココミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

20

リン脂質は、ホスホリピドGLA(グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1~10wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満である、エアロゾル薬剤調製物。

## 【請求項 2】

アルカリ金属C8-C22アルキルサルフェートはラウリル硫酸ナトリウムである請求項1に記載の調製物。

30

## 【請求項 3】

膜ミメティック両親媒性物質は2種以上存在する請求項1に記載の調製物。

## 【請求項 4】

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩及びその混合物からなる群から選択され、これら吸収促進化合物の濃度は約1~約5wt. / wt. %である請求項1に記載の調製物。

## 【請求項 5】

ラウリル硫酸ナトリウムと、(i)セラミド及びステアロアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド；並びに(ii)ボレージアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド及びレシチンからなる群から選択される組合せを含んでいる請求項1に記載の調整物。

40

## 【請求項 6】

薬剤は、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルゲン(hirugen)、ヒルロス(hirulos)、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、ホルモン、細菌性トキソイド、成長ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子(IGF)、グルカゴン様ペプチド(GLP-1又はGLP-2)、ステロイド、レチノイド、注入可能な大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、

50

DNA、遺伝子治療剤、RNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、オピオイド、麻酔剤 (narcotics)、鎮痛薬 (analgesics)、NSAIDS、ステロイド、麻酔薬 (anaesthetics)、催眠剤及び鎮痛剤 (pain killers) からなる群から選択される請求項 1 に記載の調製物。

【請求項 7】

薬剤はインスリンである請求項 6 に記載の調製物。

【請求項 8】

薬剤組成物を作る方法であって、高速剪断ミキサーの中で、蛋白質性薬剤、水、濃度が調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % であるアルカリ金属ラウリルサルフェート、少なくとも 1 種の膜ミメティック両親媒性物質及び少なくとも 1 種のリン脂質を混合することを  
10

含んでおり、  
膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミド DEA、ガンマリノレン酸、ルリヂサ油、マツヨイグサ油、モノオレイン、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリアルラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリアルラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドン  
20

リノレイルホスホリピド、トリヒドロキシ - オキソ - コラニルグリシン、トリヒドロキシ - オキソ - コラニルグリシンのアルカリ金属塩、及び、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、ポリデカノール X - ラウリルエーテル (但し、X は 9 ~ 20)、ポリデカノール X - オレイルエーテル (但し、X は 9 ~ 20) からなる群から選択され、  
リン脂質は、ホスホリピド GLA、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、レシチン、飽和レシチン及びライソレシチンからなる群から選択され、  
30

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の 50 wt. / wt. % 未満であり、

混合は、組成物が多重ラメラ小胞の形態になるまで続けられ、

フェノール、メチルフェノール及びその混合物からなる群から選択されるフェノールを添加し、

生じた調製物をエアロゾル容器に分配し、該容器に噴射剤を充填することを含んでいる薬剤組成物の調製方法。

【請求項 9】

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩及びその混合物からなる群から選択され、このような吸収促進化合物の濃度は約 1 ~ 約 5 wt. / wt. % である請求項 8 に記載の方法。  
40

【請求項 10】

アルカリ金属ラウリルサルフェートは、ラウリル硫酸ナトリウムである請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

噴射剤は、水素含有クロロフルオロカーボン、水素含有フルオロカーボン、ジメチルエーテル及びジエチルエーテルからなる群から選択される請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

蛋白質性薬剤は、インスリン、ヘパリン、いわゆる低分子量ヘパリン、低分子量ヘパリン  
50

、ヒルゲン、ヒルロス、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、細菌性トキソイド、ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子 ( I G F )、グルカゴン様ペプチド ( G L P - 1 又は G L P - 2 )、大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、RNA、遺伝子治療剤、アンチセンスオリゴヌクレオチド、オピオイド、麻酔剤 ( n a r c o t i c s )、鎮痛薬 ( a n a l g e s i c s )、NSAIDS、ステロイド、麻酔薬 ( a n a e s t h e t i c s )、催眠剤及び鎮痛剤 ( p a i n k i l l e r s ) からなる群から選択される請求項 8 に記載の方法。

【請求項 13】

蛋白質性薬剤はインスリンである請求項 8 に記載の方法。

10

【請求項 14】

混合方法は、高速乱流混合又は高速剪断混合方法である請求項 8 に記載の方法。

【請求項 15】

( i ) 液状のリン脂質を、膜ミメティック両親媒性物質の水相の中へ、少なくとも 1 つのノズルを通じて高速で注入すること、( i i ) 液状の膜ミメティック両親媒性物質を、リン脂質の水相の中へ、少なくとも 1 つのノズルを通じて高速で注入すること、( i i i ) 液状のリン脂質と液状の両親媒性物質を、夫々、少なくとも 1 つのノズルを通じて、混合チャンパーへ高速で注入すること、からなる群から選択され、

アルカリ金属ラウリルサルフェートは、リン脂質又は膜ミメティック両親媒性物質のどちらか一方と共に存在する請求項 14 に記載の方法。

20

【請求項 16】

リン脂質及び両親媒性物質の液体は、直径 0 . 5 ~ 1 . 0 m m のノズル孔を、0 ~ 15 m / s の速度で通過する請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

膜ミメティック両親媒性物質水溶液対リン脂質溶液の比は、約 5 対 1 乃至約 20 対 1 である請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

膜ミメティック両親媒性物質水溶液対リン脂質溶液の比は、約 5 対 1 乃至約 20 対 1 である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 19】

多重ラメラ小胞を有するエアロゾル薬剤調製物が容れられた定量エアロゾルディスペンサーであって、前記調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の 1 ~ 10 w t . / w t . % であるアルカリ金属 C 8 - C 22 アルキルサルフェート、iv) 少なくとも 1 種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも 1 種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の 1 ~ 10 w t . / w t . % であるフェノール及び、vii) C 1 - C 2 ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

30

膜ミメティック両親媒性物質は、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミド D E A、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジル P G - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジル P G - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジル P G - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

40

50

リン脂質は、ホスホリピドGLA（グリコール酸、乳酸）、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1～10wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満である、定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項20】

アルカリ金属C8 - C22アルキルサルフェートはラウリル硫酸ナトリウムである請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。 10

【請求項21】

膜ミメティック両親媒性物質は2種以上存在する請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項22】

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩及びその混合物からなる群から選択され、この吸収促進化合物の濃度は約1～約5wt. / wt. %である請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項23】

ラウリル硫酸ナトリウムと、(i)セラミド及びステアロアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド；並びに(ii)ボレージアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド及びレシチンからなる群から選択される組合せを含んでいる請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。 20

【請求項24】

薬剤は、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルゲン、ヒルロス、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、ホルモン、細菌性トキソイド、成長ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子(IGF)、グルカゴン様ペプチド(GLP - 1又はGLP - 2)、ステロイド、レチノイド、注入可能な大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、遺伝子治療剤、RNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、オピオイド、麻酔剤(narcotics)、鎮痛薬(analgesics)、NSAIDs、ステロイド、麻酔薬(anaesthetics)、催眠剤及び鎮痛剤(pain killers)からなる群から選択される請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。 30

【請求項25】

薬剤はインスリンである請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項26】

多重ラメラ小胞を有するエアロゾル薬剤調製物を投与方法であって、前記調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の1～10wt. / wt. %であるアルカリ金属C8 - C22アルキルサルフェート、iv) 少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも1種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の1～10wt. / wt. %であるフェノール及び、vii) C1 - C2ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホ 50

サクシネート、ステアロアミド D E A、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジル P G - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジル P G - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジル P G - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、リン脂質は、ホスホリピド G L A (グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の 1 ~ 10 w t . / w t . % の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の 50 w t . / w t . % 未満であり、投与は、定量スプレー器具を用いて、所定量の薬剤調製物を口の中にスプレーすることにより行なう、薬剤調製物の投与方法。

10

【請求項 27】

薬剤調製物は吸入することなく、人間の口腔内にスプレーされる請求項 26 に記載の薬剤調製物の投与方法。

20

【請求項 28】

薬剤は、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルログ、ヒルゲン、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、イムノグロビン、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、細菌性トキソイド、ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子 ( I G F )、グルカゴン様ペプチド ( G L P - 1 )、大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、RNA、遺伝子治療剤、アンチセンスオリゴヌクレオチド、多くの注入可能なオピオイド、麻酔剤 ( n a r c o t i c s )、催眠剤、ステロイド、鎮痛剤 ( p a i n k i l l e r s ) 及び非ステロイド抗炎症性薬物からなる群から選択される請求項 26 に記載の薬剤調製物の投与方法。

30

【請求項 29】

薬剤はインスリンである請求項 26 に記載の薬剤調製物の投与方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本願は、1998年12月21日に出願された特許出願第60/113242号の継続出願である。

【0002】

【発明の分野】

本発明は、ペプチド薬物、ワクチン及びホルモンなどの大分子 ( 高分子 ) の薬剤を投与するための送達システムの改良に関する。特に、本発明は、口又は鼻の膜を経て、又は肺を通じて投与される薬剤に関する。

40

【0003】

【発明の背景】

巨大分子 ( 蛋白質及びペプチド ) を送達する新規な方法が、依然として求められている。研究された方法の1つに、膜ミメティック両親媒性物質 ( m e m b r a n e - m i m e t i c a m p h i p h i l e s ) の使用に関するものがある。膜ミメティック両親媒性物質の研究は、20世紀の最初の10年代に遡る。物理的及び化学的な方法を用いた実験では、この様な分子は水の存在下で望ましい配列をとることが示されている。これら配列の形成は、ミセル、単一層及び二分子層を含んでおり、その駆動には、水と結合させるために、イオノゲン性又はイオノゲン性でない極性の頭部 ( h e a d g r o u p s ) を必要

50

とし、また、水から排除されるべき極性の疎水性尾部 (tails) を必要とする [Small, D; Handbook of Lipid Research, vol. 4, 1986; Tanford, J: The Hydrophobic Effect, John Wiley & Sons, 1980; Fendler, J. Membrane Chemistry, 1982]。どの構造型がとられるかは、正確には、両親媒性物質の性質、その濃度、他の両親媒性物質の存在、温度、及び水相中の塩及びその他溶質の存在に依存する。

#### 【0004】

膜ミメティック両親媒性物質は、水中で不溶解性であるが水を吸収できる分子と、限界条件下の水中でかなりの溶解性を有する分子とを含んでいる。前者の両親媒性物質は、分子が分散された水溶液を生成するものではないが、水と共にかなり膨張し、ラメラ相 (lamellar phases) を生成する。後者の両親媒性物質は、所定温度で、モノマーの分散水溶液を生成し、水中濃度が増すにつれて、モノマー溶液からミセル溶液に変化する。非リン脂質両親媒性物質によってリポソーム構造が生成されるようにすること、つまり非リン脂質リポソームの製造は、適当な時間シーケンスでの環境変数 (例えば、温度、水和性及び組成) の操作に依存する。

10

#### 【0005】

ゲビッキら (Gebicki et al.) は、オレイン酸によって囲まれた水含有小胞の生成を開示した [Nature, 243, 232, 1973; Chem. Phys. Lipids, 16, 142, 1976; Biochem. Biophys. Res. Commun. 80, 704, 1978; Biochemistry, 17, 3759, 1978]。このほかに、例えば、米国特許第4772471号及び第4830857号、及び J. Microencapsul. 4, 321, 1987 においても、ポリグリセロールの単一尾部 (single tailed) のエーテル又はエステル誘導体から脂質小胞が生成されることが開示されている。

20

これらリポソームは、化粧品に適することがわかった。ムラカミら (Murakami et al.) は、単一区画の小胞に、アミノ酸残基を含むカチオン両親媒性物質から構成される1又は2以上の二重層の壁を形成した [J. Am. Chem. Soc, 101, 1030, 1979; J. Am Oil Chem Soc. 66, 599, 1989]。ケイラーら (Kaler et al.) は、単一尾部のカチオン及びアニオン界面活性剤の適当な水性混合物は、おそらく塩の生成を通じて、単一壁の小胞を自発的に生成することを明らかにした [Science, 245, 1371, 1989]。これらのほかにも、ポウシラメラ (paucilamellar) で非リン脂質のリポソームの製造方法が開発されており、該リポソームは、リン脂質と同じ様に、様々な両親媒性物質から生成される。リポソームは、無定形のコアを取り囲む2以上の膜を有しており、各膜は、二重層配列 (bilayer array) の両親媒性分子から構成されている。コアは、小胞の大部分を占め、物質を被包している。

30

#### 【0006】

前記の非リン脂質系リポソームは、主として、モイスチャライザーの送達用、及びクリーム又はモイスチャライザーとして局所的又は外部で使用される化粧品成分の送達用として使用される。そのようなリポソームは、数種類の薬品を送達するために、軟膏として使用されることもある。前記薬品に利用される多くの成分は、体内での使用は許されないことがわかっている。このため、これらは、経口投与用や、救命治療剤として巨大分子 (蛋白質及びペプチド) を送達するための賦形剤としては、世界的に規制され、認可されていない。例えば、水性油ペイント、表面クレンザー、重工業用クレンザー、皮膚洗浄剤などのような非薬学的用途においても、その他の非リン脂質系リポソームが開発されてきた。

40

#### 【0007】

本発明の目的は、安定性に優れ、消化 (gastrointestinal; GI) 管のポア (pores) より小さい多重ラメラリポソームを生成するために、非リン脂質系両親媒性物質 (人間の薬剤用経口調製物として適当であり、所定機関により認可されたも

50

の)と特定のリン脂質との混合物からなる経口組成物を開発することである。

【0008】

ペプチドや蛋白質について、安全で効果的な経口調製物を得るという目標に関しては、ほとんど発展がないといってよい。蛋白質やペプチドの経口調製物を開発する上で大きな障害となっているものに、固有透過性 (intrinsic permeability) の不足、内腔及び細胞の酵素分解、クリアランスが速いこと、及び消化管での化学的安定性などがある。これらの障壁に取り組むための薬学的アプローチは、従来の小さな有機薬物分子に対しては成功しているが、ペプチドや蛋白質調製物に対しては容易に適用できなかった。課題は有意味であるが、特にインスリンを用いる糖尿病治療の分野において、治療の潜在的利益は依然として大きいものがある。

10

【0009】

研究者らは、蛋白質及びペプチドに関して、注射以外の様々な投与ルートを研究してきた。大分子を効果的に送達するための投与ルートとして、口、鼻、直腸、腔腔などがある。これまでは、これら4つのルートの中でも、口腔と鼻腔について最も大きな関心もたれていた。口膜と鼻膜は両方とも、その他のルートと比べて利点があるからである。例えば、これらの膜を通じて投与された薬物は、作用の発現が速く、治療的血漿レベルをもたらす、肝代謝の初回通過効果を回避し、敵対的GI環境に対する薬物の曝露を回避する。さらなる利点として、膜部位へのアクセスが容易であるので、薬物の服用、局所適用、取出しを容易に行なえることがあげられる。さらに、これらの膜を経由すると、大分子の送達時間が長くなる利点もある。

20

【0010】

経口ルートは、その他のルートよりも注目されてきた。舌下粘膜は、舌下面の膜と口腔底部を含んでおり、口腔粘膜 (buccal mucosa) は頬のライニングを構成している。舌下粘膜は、かなりの浸透性を有しているため、多くの薬物に関して吸収が速く、生物学的利用能 (bioavailability) についても許容される。さらに、薬物を舌下粘膜の所へもっていくことが容易であるので、都合が良い。この経口ルートは、大量の薬物を送達するために、臨床的に研究されてきた。

促進剤を用いて大分子を吸収させるための様々なメカニズムが提案されている。少なくとも蛋白質及びペプチド薬物に対するこれらの作用メカニズムとして、(1) 粘膜層の粘性及び/又は弾性を低下させること、(2) 膜の脂質二重層の流動性を増すことにより、経細胞輸送を容易にすること、(3) 上皮細胞層の密着結合 (tight junction) を変えることにより、細胞間隙輸送を容易にすること、(4) 酵素バリアーをなくすこと、(5) 薬物の熱力学的活性を高めること、などが挙げられる [Critical Rev. 117-125, 1992]。

30

【0011】

これまでも、多くの浸透促進剤 (penetration enhancers) が試験されてきた。その中には、大分子の薬物の粘膜投与を容易にする上で効果的なものもあった。しかしながら、浸透促進剤として市場要求レベルに達したものは殆どなかった。この理由として、刺激に関する十分な安全プロフィルの欠如、バリアー機能の低下、粘膜毛様体クリアランス (mucociliary clearance) の保護メカニズムの悪化などが挙げられる。一般的な吸収促進剤の中でも特に胆汁酸塩に関するものや蛋白質溶解剤は、極端に苦く、不快な味をもたらすことが知られている。このため、人間が毎日それらを摂取することは殆ど不可能である。胆汁酸塩の送達システムの味を改良する幾つかの提案がなされているが、人間が毎日摂取する上で商業的に満足し得るものはなかった。これまで提案されたものとして、口腔粘膜用パッチ、二層層タブレット、放出制御されたタブレット、リポソーム調製物、プロテアーゼ阻害剤の使用、口腔に適用される (buccally administered) フィルムパッチデバイス、種々のポリマーマトリクスなどがある。また、パッチは、局部的副作用により、口の中でひどい組織損傷を惹起する問題がある。

40

【0012】

50

蛋白質とペプチドの吸収は、混合ミセル形態で取り込まれた大分子が、水性ポアの中を拡散することにより、また、強固なパラ細胞結合の細胞構造の攪乱により、促進されることが考えられている。

#### 【0013】

混合ミセル調製物の浸透及び吸収は、混合ミセル調製物を噴射剤 (propellant) と混合することによって改善され、特に、定量インヘラー (定量噴霧式吸入器; Metered Dose Inhaler; MDI) 等のエアロゾル器具を介して送達 (例えば、頬粘膜に加えられる) されるときに顕著であることがわかった。この噴射剤として、例えば、テトラフルオロエタン、ヘプタフルオロエタン、ジメチルフルオロプロパン、テトラフルオロプロパン、ブタン、イソブタン、ジメチルエーテル、その他非CFC噴射剤及びCFC噴射剤が挙げられる。定量インヘラーの技術は、多くの種類の薬剤を送達する一般的な形態として立証されている。この新規な調製物及び添加剤を用いることにより、MDI調製物の品質 (吸収に関するもの)、安定性及び性能を改善することができる。調製物は、ポアを通る浸透が高められ、薬物の吸収が促進されて、血漿が治療レベルに達するように、成分が選択される。適当な調製物及び投与技術を変更することにより、調製物は、鼻腔及び口腔を通じ深肺部まで送達されることができる。

10

#### 【0014】

加圧式インヘラー (pressurized inhalers) は、広い範囲に投与され、所定の投薬効率がもたらされる。この局所送達では、服用量の95%以上が目的領域に達する。加圧式インヘラーの粒子サイズが小さいほど (4~15ミクロン)、より広範囲に口腔内へいきわたるため、投薬効果は高められる。このように広くいきわたると、インスリンのような薬物をより多く吸収するように作用する。さらに、これらの器具は自己収納式であるので、汚染の可能性は回避される。

20

#### 【0015】

##### 【発明の要旨】

本発明は、多重ラメラ小胞 (multilamellar vesicles) を有するエアロゾル薬剤調製物を提供するもので、該調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるアルカリ金属C8 - C22アルキルサルフェート、iv) 少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも1種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるフェノール、並びに、vii) C1 - C2ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、膜ミメティック両親媒性物質は、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドDEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、コカミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、リン脂質は、ホスホリピドGLA (グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びそれらの組合せからなる群から選択され、

30

40

50

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1～10wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満である。

【0016】

混合リポソーム薬学的調整物のpHは、6.0～8.0が望ましい。

膜ミメティック両親媒性物質の数は、2～5が望ましい。

リン脂質の数は、1～4が望ましい。

【0017】

一実施例において、アルカリ金属C8-C22アルキルサルフェートは、C8-C22アルキル硫酸ナトリウムであって、ラウリル硫酸ナトリウムが望ましい。

インスリンなどの蛋白質性(proteinic)薬剤と噴射剤の比は、5:95乃至25:75であることが望ましい。

さらなる実施例において、メチルフェノールはm-クレゾールである。

【0018】

他の実施例において、噴射剤は、テトラフルオロエタン、テトラフルオロプロパン、ジメチルフルオロプロパン、ヘプタフルオロプロパン、ジメチルエーテル、n-ブタン及びイソブタンからなる群から選択される。

さらに別の実施例において、混合ミセル薬剤調製物は、エアロゾルディスペンサーに収容されることが望ましい。

【0019】

望ましい実施例では、蛋白質分解酵素の作用による薬剤の分解を阻害するために、少なくとも1種のプロテアーゼ阻害剤が調製物に加えられる。既知のプロテアーゼ阻害剤の大部分は、濃度が調製物の1～3wt. / wt. %のときに効果がある。

【0020】

有効なプロテアーゼ阻害剤として、バシトラシン、大豆トリプシン、アプロチニン、及び、例えばバシトラシンメチレンジサリシレートのようなバシトラシン誘導体があるが、これらに限定されるものではない。これらの中で、バシトラシンが、1.5～2wt. / wt. %の濃度で使用される場合に最も効果的である。大豆トリプシンとアプロチニンは、調製物の約1～2wt. / wt. %の濃度で使用することができる。

レシチンは、飽和レシチンが望ましい。

【0021】

当該分野の専門家であれば、多くの薬学的調製物について、薬学的活性成分の分解と酸化を防止するために、少なくとも一種の抗酸化剤を加えることが一般的であることは理解されるであろう。当該分野の専門家であれば、着色剤、着香剤、及び治療に影響を及ぼさない量のその他化合物が、調製物の中に含まれてもよいことは理解されるであろう。

【0022】

一実施例において、抗酸化剤は、トコフェロール、メシル酸デテロキシム(deteroxime mesylate)、メチルパラベン、エチルパラベン、アスコルビン酸及びその混合物からなる群から選択される。望ましい抗防止剤は、トコフェロールである。

【0023】

薬剤は、処置される疾患に応じて、広範囲に亘る高分子量剤から選択される。選択される分子量は、一般的には、約1000以上であり、特に約1000～2000000である。本発明に有用な薬剤として、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルゲン(hirugen)、ヒルロス(hirulos)、ヒルジン(hirudin)、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、化学治療剤、ワクチン、糖蛋白、細菌性トキソイド、成長ホルモン、副甲状腺ホルモン(Parathyroid Hormone; PTH)、黄体形成ホルモン、エストロゲン、アンドロゲン、カルシトニン、インスリン様成長因子(IGF)、グルガゴン様ペプチド(GLP-1及びGLP-2)、ステロイド、レチノイド、注入可能な大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、遺伝子治療剤、RNA、アンチ

10

20

30

40

50

センスオリゴヌクレオチド、及び小分子薬剤が挙げられる。

【0024】

本発明はまた、内部に本発明のエアロゾル薬剤調製物が入れられた定量供給式エアロゾルディスペンサーを提供する。

本発明はさらにまた、定量供給式スプレー器具を用いて、所定量の薬剤調製物を口の中にスプレーすることにより、本発明のエアロゾル薬剤調製物を投与方法を提供する。

【0025】

本発明はまた、蛋白質性薬剤を人間の口腔内に投与方法を提供するものであって、多重ラメラ小胞を有する所定量のエアロゾル薬剤調製物を、吸入することなく、定量供給式スプレーディスペンサーから人間の口腔の中へスプレーすることにより行なうものであり、前記エアロゾル薬剤調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるアルカリ金属C8 - C22アルキルサルフェート、iv) 少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも1種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるフェノール及び、vii) C1 - C2ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドDEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

リン脂質は、ホスホリピドGLA(グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1~10wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満である。

【0026】

【望ましい実施例の詳細な説明】

新しい薬学的調製物を開発する際、蛋白質性薬剤及びペプチド薬剤を、口、鼻、肺、及び経皮粘膜のルートを通じて人間及び動物へ投与方法に適切な投薬形態を提供し、投与部位へ容易に接近できることが望ましい。巨大分子の薬物の局所吸収は、薬物の吸収を最大のものとするために、長い時間かけて行われることが望ましい。

さらにまた、組織の損傷をできるだけ少なくし、組織に適合できる投薬形態を提供することが望ましい。患者がどの治療についても適合し受け入れることができるように、痛みが無く、大きなフレキシビリティを以て投与されることが容易なシステムを提供することが望ましい。

【0027】

巨大分子量の薬物は、リポソーム調製物にて投与され、その場合、粒子サイズ(1~4nm)は、粘膜表面のどのポアよりも小さくなるようにしている。

10

20

30

40

50

## 【0028】

本発明は、巨大分子（高分子量）の薬剤の送達を、特に鼻、口、肺、膈又は直腸の皮膚又は膜を通じて行なう方法の改良を提供することである。送達は、口腔及び鼻腔を通じて行うことが望ましい。薬剤は、広範囲に亘り、例えば、蛋白質、ペプチド、ホルモン、ワクチンなどの薬物が挙げられる。巨大分子の薬剤の分子量は、1000以上、特に1000～2000000の範囲にあることが望ましい。

## 【0029】

本発明で投与されるホルモンの例として、ヒト成長ホルモン、副甲状腺ホルモン、卵巣刺激ホルモン、卵黄ホルモン、アンドロゲン、エストロゲン、プロストグランジン（prostograndins）、ソマトロピン、ゴナドトロピン、エリスロポエチン、インターフェロン、インターロイキン、ステロイド、及びサイトカインが挙げられる。

10

## 【0030】

本発明で投与されるワクチンとして、細菌性ワクチン及びウイルス性ワクチンがあり、これらワクチンの例として、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、インフルエンザ、結核、カナリア痘、水疱瘡、麻疹、流行性耳下腺炎、風疹、肺炎、BCG、HIV、ヘリコバクターピロリ及びAIDSが挙げられる。

## 【0031】

本発明を用いて投与することのできる細菌性トキソイドには、ジフテリア、破傷風、シュードモナスA及び結核菌が含まれる。

特異的な心臓血管又は血栓溶解の薬剤の例として、ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルゲン、ヒルロス及びヒルジンが挙げられる。

20

## 【0032】

小分子量のものについても、本発明を用いて投与することもできる。例えば、オピオイド、麻酔剤（narcotics）、鎮痛薬（analgesics）、NSAIDs、ステロイド、麻酔薬（anaesthetics）、催眠剤及び鎮痛剤（pain killers）は、本発明のエアロゾル調製物を用いて投与されることができる。

## 【0033】

インスリンを含有するその他組成物について、組成物は、胃腸管のチャンネルを開く作用を有する少なくとも一種の無機塩を含んでもよく、インスリンを放出するために追加の刺激を与えることもできる。無機塩の例として、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩及び亜鉛塩などを挙げることができ、特に、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、塩化亜鉛及び炭酸水素ナトリウムを挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

30

## 【0034】

当該分野の専門家であれば、多くの薬学的組成物について、薬学的活性成分の分解と酸化を防止するために、少なくとも一種の抗酸化剤を加えてもよいことは理解されるであろう。当該分野の専門家であれば、着色剤、着香剤、及びその他の化合物でも治療的作用をもたらさない量であれば、調製物の中に含まれてもよいことは理解されるであろう。代表的な着香剤として、メントール、その他の果実香料を挙げることができる。

## 【0035】

抗酸化剤は、トコフェロール、デテロキシムメシレート（deteroxime mesylate）、メチルパラベン、エチルパラベン、アスコルピン酸及びその混合物からなる群から選択される。望ましい抗酸化剤はトコフェロールである。

40

## 【0036】

望ましい実施例において、蛋白質分解酵素の作用による薬剤の分解を抑えるため、少なくとも一種のプロテアーゼ阻害剤が調製物に加えられる。公知のプロテアーゼ抑制剤について、最も有効なのは、濃度が調製物の1～3wt. / wr. %のときである。

## 【0037】

有効なプロテアーゼ阻害剤の例として、バシトラシン、大豆トリプシン、アプロチニン及び、例えばバシトラシンメチレンジサリシレートなどのバシトラシン誘導体を挙げること

50

ができるが、これらに限定されるものではない。これらの中でバシトラシンが、濃度 1 . 5 ~ 2 w t . / w t . % で用いられるときに、最も有効である。大豆トリプシンとアプロチニンの 2 つは、調製物の約 1 ~ 2 w t . / w t . % の濃度で使用される。

**【 0 0 3 8 】**

フェノール化合物は主として、保存剤及び、インスリンのような薬剤を安定させるための複合剤 ( c o m p l e x i n g a g e n t s ) として作用する。フェノール化合物は、安定剤や保存剤としての作用の他に防腐剤としても作用し、さらに、吸収を助ける。メチルフェノールは、o - クレゾール、m - クレゾール又は p - クレゾールであってよいが、m - クレゾールが望ましい。

**【 0 0 3 9 】**

薬剤の濃度は、疾病の治療又は予防に効果があること、また、動物又はヒトの生理学的状態を調節するのに十分な量であることは、理解されるであろう。投与される薬剤の濃度又は量は、薬剤によって決められるパラメータと、投与の方法、例えば、鼻腔、口腔、肺のどこに投与するかによって異なる。例えば、鼻へ投与される調製物では、鼻孔の刺激又は炎症を回避するため、成分によってはかなり低い濃度を要求される傾向がある。調製物を鼻から投与できるようにするには、調製物を経口投与する場合の 1 0 ~ 1 0 0 倍に希釈することが必要な場合もある。

**【 0 0 4 0 】**

非リン脂質の膜ミメティック両親媒性物質とリン脂質の混合物を生成するための望ましい方法は、脂質の両親媒性物質及びリン脂質の相の挙動に基づいている。この方法は、ターピンを用いる高速乱流混合法又は高速ノズルを用いる高速剪断混合法を使用する。膜ミメティック両親媒性物質は、例えば、ノズルを通じて、リン脂質の水相へ高速で注入される。或いはまた、膜ミメティック両親媒性物質とリン脂質は、混合チャンパー内で混合される。該混合チャンパーへは、1 又は 2 本以上のノズルを通じてリン脂質が高速で注入され、膜ミメティック両親媒性物質もまた 1 又は 2 本以上のノズルを通じて高速で注入される。その他に、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、フェノール及びノ又は m - クレゾール、プロテアーゼ阻害剤などの成分を、膜ミメティック両親媒性物質又はリン脂質のどちらかと予め混合してもよい。2 種類の液体の混合速度は、部分的には、物質の粘性及びノズルの直径に依存する。例えば直径 0 . 5 ~ 1 . 0 m m のノズル孔を通るとき、1 0 ~ 1 5 m / s である。一般的に、膜ミメティック両親媒性物質の水溶液対リン脂質溶液の比は、約 5 対 1 ~ 約 2 0 対 1 であり、混合温度は、一般的に約 1 0 ~ 2 0 である。

**【 0 0 4 1 】**

均質な水溶液を得るには、リン脂質と混合する前に、膜ミメティック両親媒性物質とその他成分を加熱することが必要になることもある。蛋白質性薬剤の性質によっては、混合が行われる温度範囲に影響を与える場合がある。混合温度は、一般的には、室温以下であるが、調製物によっては室温より高い場合もある。得られた調製物は、多重ラメラのリポソーム小胞を含んでいる。調製物が混合中に加熱される場合、多重ラメラ小胞の生成を補助するために、混合中、混合物を冷却することが望ましい場合もある。

**【 0 0 4 2 】**

本発明の方法によって生成された混合多重ラメラ小胞は、サイズが非常に小さく ( 例えば 1 0 n m よりも小さい ) 、殆どの保存条件下で安定である。

**【 0 0 4 3 】**

膜ミメティック両親媒性物質溶液は、小さな円筒型混合チャンパー内の接線方向に配置されたノズルを通じて、リン脂質溶液に注入されることが望ましい。膜ミメティック両親媒性物質溶液については、1 本又は 2 本のノズルを使用し、リン脂質溶液については、1 本又は互い違いの 2 本のノズルを使用することが望ましい。2 種類の液体のノズルへの送達は、流れ制御された容積ポンプ ( p o s i t i v e d i s p l a c e m e n t p u m p ) によることが望ましい。

**【 0 0 4 4 】**

フェノール及びノ又は m - クレゾールは、調製物を安定させ、細菌増殖から保護するため

10

20

30

40

50

に加えられる。グリセリンのような等張剤 ( i s o t o n i c a g e n t ) を加えることもできる。フェノール及びノ又はm - クレゾール、及びグリセリンは、他の成分と共に添加するよりは、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の混合後に添加するのが望ましい。

#### 【 0 0 4 5 】

薬剤調製物の生成後、該調製物は、加圧可能な容器に充填される。容器は、定量インヘラー又はアプリケータ等の定量ディスペンサーと共に使用するのに適したバイアル ( v i a l ) が望ましい。次に、バイアルに噴射剤が充填される。噴射剤がバイアルに導入される時、バイアル内に大きな乱流 ( t u r b u l e n c e ) が起こり、噴射剤と薬剤調製物は混合される。グリセリン又はポリグリセリンを含む調製物の中には、保存中に分離しない傾向を有するものがある。他の調製物は分離する。使用者の多くは、バイアルを使用前に習慣的に振るけれども、エアロゾル調製物の場合、実質的に均質であるから使用前にバイアルを振る必要がない。しかしながら、薬剤調製物の「ショット」毎の分配量が、第1回目から最終回まで確実に同じになるようにするには、バイアルを振ることが推奨される。薬剤を肺に送達するには、容器からエアロゾルスプレーが放出されるとき、使用者は深く息を吸う必要がある。息を吸わない場合、薬剤は口腔に送達される。選択された方法は、薬剤調製物の種類、エアロゾル中の濃度、要求される吸収速度などの多くの要因に依存する。

10

#### 【 0 0 4 6 】

望ましい噴射剤は、水素含有フルオロカーボン、クロロフルオロカーボン、水素含有クロロフルオロカーボン、ジメチルエーテル及びジエチルエーテルである。より望ましい噴射剤は、H F C 1 3 4 a ( 1 , 1 , 1 , 2 テトラフルオロエタン ) である。

20

#### 【 0 0 4 7 】

本発明の適用範囲は非常に広いけれども、以下では、特に糖尿病治療に使用されるインスリン及びそのアナログに関して説明する。

#### 【 0 0 4 8 】

鼻腔、口腔又は肺を通じて投与されるインスリンの場合、水緩衝溶液が最初に作られる。これは、ラウリル硫酸ナトリウムのようなアルカリ金属C 8 - C 2 2 アルキルサルフェートを粉末インスリンに加え、次に、粉末が溶解して、透明の溶液が得られるまで攪拌することによって行なわれる。ラウリル硫酸ナトリウム水溶液の典型的な濃度は、溶液中、約 3 ~ 2 0 w t . / w t . % である。溶液中に存在するインスリンの量は、一般的には、最終調製物の約 2 ~ 4 w t . / w t . % の濃度である。

30

#### 【 0 0 4 9 】

緩衝溶液は、次に、膜ミメティック両親媒性物質又はリン脂質を含む液体に、激しく混合しながら加えられ、これによって、多重ラメラのリポソーム小胞が生成される。

#### 【 0 0 5 0 】

膜ミメティック両親媒性物質は、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドD E A、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジルP G - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルP G - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルP G - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択される。

40

#### 【 0 0 5 1 】

リン脂質は、ホスホリピドG L A、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、スフ

50

インゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチンからなる群から選択される。

【0052】

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1～10wt. / wt. %の濃度で存在する。

フェノール及びノ又はm-クレゾールは、膜ミメティック両親媒性物質、リン脂質と共に添加してもよいし、混合中の任意の時間に添加してもよい。

【0053】

その他の成分を、リポソーム溶液に添加することもできる。添加する成分として、例えば、着香剤、抗酸化剤、塩、プロテアーゼ阻害剤、その他の薬学的に許容される化合物が挙げられる。

10

【0054】

一般的に、多重ラメラのリポソーム小胞の粒子サイズは、約1～10nmであり、1～5nmが望ましい。このようなサイズ分布であるので、調製物つまり薬剤は、例えば口腔又は鼻腔内の膜を通じて、効果的な吸収が確実に行われる。

【0055】

必須成分の具体的な濃度は、比較的簡単な方法によって決定することができる。鼻腔又は口腔を通じて吸収させる場合、消化管を通じて投与するのに通常必要とされる服用量の例えば2倍又は3倍に増やすのが望ましいことがある。

【0056】

調製物の各成分の量は、薬剤の種類及び適用部位に応じて異なることは理解されるであろう。

20

経口投与の場合、ラウリル硫酸ナトリウムは、それだけでは不十分であるので、巨大分子の経口吸収を促進して治療効果を得るために、少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質と少なくとも1種のリン脂質と組み合わせる必要がある。フェノール及びノ又はm-クレゾールを調製物に添加し、特に水素含有フルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤を使用することにより、エアロゾルによる巨大分子の送達効果は高められる。

【0057】

経口エアロゾル調製物は、適当なアプリケーションで送達される。

30

口又は鼻に適用される調製物として、ラウリル硫酸ナトリウムに加えて、次の(i)(ii)の組合せを含むものが望ましい：

(i) セラミド及びステアロアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド；

(ii) ポレージアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド及びレシチン。

【0058】

本発明の治療用組成物は、室温又は低温で保存することができる。蛋白質性薬物の場合、薬物の劣化を防止し、貯蔵寿命を延ばすために、例えば4の低温で保存することが望ましい。

40

【0059】

前述したように、一般的に、口、肺、皮膚及び鼻は、投与に最適な部位であるが、組成物は、直腸又は膣の粘膜に施すこともできる。生理学的に活性なペプチド又は蛋白質が使用される場合、投与形態や投与部位に応じて、具体的な投与方法を選択することができる。

【0060】

この発明の組成物は、一般的には、超微細な多重ラメラのリポソーム小胞粒子(1～10nm以下)として調製される。それは、用いられ調製方法及び組合せが膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の特性に適しているためである。

【0061】

アトマイザー又はエアロゾルスプレー装置(定量インヘラー又はネブライザー)を用いれ

50

ば、粒子サイズをさらに小さくすることができ、鼻腔又は口腔からの吸入効果を高めることができる。これにより、薬物は、特定の部位、特に肺までうまく到達して、吸収される。

【0062】


定量ディスペンサーを用いることによる具体的な利点は、調製物をかなり正確な投与量で供給できることであり、例えば、1ユニットのインスリン投与範囲内で、注入量を決定できる。調製物の液滴サイズについては、液滴が口腔粘膜にしみ込むことができるように、また深肺部の表面にまで到達できるようにするために、1～5 μmであることが望ましい。したがって、本発明は、糖尿病治療用のインスリンのような蛋白質性薬剤の送達に適している。

10

【0063】

加圧式ディスペンサーは、投与される範囲が広く、所定の投薬効率をもたらす。この送達方式では、投与量の95%以上が目的領域に達する。加圧式インヘラーを用いると小さな粒子サイズ(1～5 μm)が得られるので、肺腔内部に行き渡る範囲が広く、投薬効果は高められる。このように、インスリンのような薬剤が行き渡る範囲が広いと、薬剤はより多く吸収されることができる。さらに、これらの器具自体は自己収納式であるので、潜在汚染は回避される。

## 【国際公開パンフレット】

PCT		WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION International Bureau	
INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)			
<p>(51) International Patent Classification <sup>7</sup> : <b>A61K 9/12, 9/127</b></p>	<b>AI</b>	<p>(11) International Publication Number: <b>WO 00/37053</b></p> <p>(43) International Publication Date: 29 June 2000 (29.06.00)</p>	
<p>(21) International Application Number: PCT/CA99/01233</p> <p>(22) International Filing Date: 16 December 1999 (16.12.99)</p> <p>(30) Priority Data: 60/113,242 21 December 1998 (21.12.98) US 09/397,701 16 September 1999 (16.09.99) US</p> <p>(71) Applicant (for all designated States except US): GENEREX PHARMACEUTICALS INC. [CA/CA], 202, 33 Harbour Square, Toronto, Ontario M5J 2G2 (CA).</p> <p>(72) Inventor; and (75) Inventor/Applicant (for US only): MODI, Pankaj [CA/CA]; 519 Golf Links Road, Ancaster, Ontario L9G 4X6 (CA).</p> <p>(74) Agents: KAO, Dolly et al.; Barrigar &amp; Moss, Suite 901, 2 Robert Speck Parkway, Mississauga, Ontario L4Z 1H8 (CA).</p>		<p>(81) Designated States: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p><b>Published</b> <i>With international search report. Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i></p>	
<p>(54) Title: LARGE MOLECULE DRUG DELIVERY SYSTEM USING AEROSOLIZED MEMBRANE-MIMETIC AMPHIPHILES</p>			
<p>(57) Abstract</p> <p>A mixed liposome pharmaceutical formulation with multilamellar vesicles, comprises a proteinic pharmaceutical agent, water, an alkali metal lauryl sulphate in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.%, at least one membrane-mimetic amphiphile and at least one phospholipid. The amount of each membrane mimetic amphiphile and phospholipid is present in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and the total concentration of membrane mimetic amphiphiles and phospholipids is less than 50 wt./wt.% of the formulation. The formulation may be administered to the buccal cavity using a metered dose dispenser.</p>			

*FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY*

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GK	Greece			TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	ML	Mali	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MN	Mongolia	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MR	Mauritania	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MW	Malawi	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	MX	Mexico	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Netherlands	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	ZW	Zimbabwe
CJ	Cote d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand		
CM	Cameroon			PL	Poland		
CN	China	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakhstan	RO	Romania		
CZ	Czech Republic	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
DE	Germany	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Denmark	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
EE	Estonia	LR	Liberia	SG	Singapore		

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

## LARGE MOLECULE DRUG DELIVERY SYSTEM USING AEROSOLIZED MEMBRANE-MIMETIC AMPHIPHILES

This is a continuation of Application No. 60/113242  
5 filed December 21, 1998.

Field of the Invention

The present invention relates to an improved  
delivery system for the administration of large-molecule  
pharmaceuticals, e.g. peptidic drugs, vaccines and  
10 hormones. In particular it relates to pharmaceuticals  
which may be administered through the oral and nasal  
membranes, or by pulmonary access.

Background to the Invention

New methods of delivering large macromolecules  
15 (proteins and peptides) continue to be sought. One of  
the avenues investigated concerns the use of membrane-  
mimetic amphiphiles. A study of membrane-mimetic  
amphiphiles extends back to the first decade of the 20th  
century. Experiments using physical and chemical  
20 methods have shown that such molecules assume preferred  
arrays in the presence of water. Formation of these  
arrays, which includes micelles, monolayers and  
bimolecular layers is driven by the need of the polar  
head groups, which may be ionogenic or not, to associate  
25 with water, and the need of the polar hydrophobic tails  
to be excluded from water, (Small, D; Handbook of Lipid  
Research, vol. 4, 1986; Tanford, J: The Hydrophobic  
Effect, John Wiley & Sons, 1980; Fendler, J. Membrane  
Chemistry, 1982). Exactly which type of structure is  
30 assumed depends on upon the nature of the amphiphile,  
its concentration, the presence of other amphiphiles,  
temperature and the presence of salts and other solutes  
in the aqueous phase.

Membrane-mimetic amphiphiles include molecules that  
35 are insoluble in water but can take up water, and  
molecules that have appreciable solubility in water

under limiting conditions. The former amphiphiles do not form molecularly dispersed solutions in water but may swell considerably with water to form lamellar phases. The latter amphiphiles can, at some temperatures, form solutions of dispersed monomers in water and often undergo the following sequence as the concentration in water is increased: monomeric solution to micellar solution. The manufacture of non-phospholipid liposomes, depends on the manipulation of environmental variables (e.g. temperature, hydration and composition) in an appropriate temporal sequence so as to cause non-phospholipid amphiphiles to form liposomal structures.

Gebicki et al. (Nature, 243, 232, 1973; Chem. Phys. Lipids, 16, 142, 1976; Biochem. Biophys. Res. Commun. 80, 704, 1978; Biochemistry, 17, 3759, 1978) demonstrated the formation of water containing vesicles enclosed by oleic acid. Others, as disclosed for example in U.S. Patents 4 772 471 and 4 830 857, and in J. Microencapsul. 4, 321, 1987, have made lipid vesicles from single tailed ether or esters derivatives of polyglycerol. These liposomes were found suitable for cosmetic products. Murakami et al (J. Am. Chem. Soc, 101, 4030, 1979; J. Am Oil Chem Soc. 66, 599, 1989) formed single compartment vesicles with one or more bilayer walls composed of cationic amphiphiles involving amino acid residues. Kaler et al (Science, 245, 1371, 1989) demonstrated that appropriate aqueous mixtures of single-tailed cationic and anionic surfactants spontaneously form single-walled vesicles, presumably via salt formation. Others have developed methods for manufacture of paucilamellar, non-phospholipid liposomes that can be formed from a variety of amphiphiles as well as from certain phospholipids. The liposomes have two or more membranes surrounding an amorphous core, each membrane being composed of amphiphile molecules in

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 3 -

bilayer array. The core accounts for most of the vesicle volume and encapsulating substances.

The above-mentioned non-phospholipid based liposomes are mainly used for the delivery of 5 moisturizers and cosmetic ingredients used topically or externally as creams or moisturizers. In some cases such liposomes may be used as an ointment for delivery of some pharmaceutical products. Many ingredients utilized in the above products have been found to be 10 inadmissible in the human body and are not approved by the regulatory agencies around the world for the purpose of oral administration and as a vehicle for delivery of macromolecules (proteins and peptides) as life saving therapeutics. Furthermore, other non-phospholipid based 15 liposomes have been developed for non-pharmaceutical applications, e.g. water-borne oil paints, surface cleansers, heavy duty industrial cleansers and skin-cleansing detergents.

Certain aspects of the present invention aims at 20 the development of oral compositions consisting of mixture of certain non-phospholipid based membrane-mimetic amphiphiles (suitable and approved by the regulating agencies for oral formulation of human pharmaceutical products) in combination of specific 25 phospholipids to form multilamellar liposomes which are very stable and are smaller than the pores of the gastrointestinal (GI) tract.

Relatively very little progress has been made in reaching the target of safe and effective oral 30 formulations for peptides and proteins. The major barriers to developing oral formulations for proteins and peptides include poor intrinsic permeability, lumenal and cellular enzymatic degradation, rapid clearance, and chemical stability in the GI tract. 35 Pharmaceutical approaches to address these barriers,

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 4 -

which have been successful with traditional small, organic drug molecules, have not readily translated into effective peptide and protein formulations. Although the challenges are significant, the potential therapeutic benefits remain high especially in the field of diabetes treatment using insulin.

Researchers have explored various administration routes other than injection for proteins and peptides. These routes include administration through oral, intranasal, rectal, vaginal cavities for the effective delivery of large molecules. Out of the above four mentioned routes oral and nasal cavities have been of greatest interest. Both the oral and nasal membranes offer advantages over other routes of administration. For example, drugs administered through these membranes have a rapid onset of action, provide therapeutic plasma levels, avoid a first pass effect of hepatic metabolism, and avoid exposure of the drug to a hostile GI environment. Additional advantages include easy access to the membrane sites so that the drug can be applied, localized and removed easily. Further, there is a good potential for prolonged delivery of large molecules through these membranes.

The oral routes have received far more attention than have the other routes. The sublingual mucosa includes the membrane of ventral surface of the tongue and the floor of the mouth whereas the buccal mucosa constitutes the lining of the cheek. The sublingual mucosa is relatively permeable thus giving rapid absorption and acceptable bioavailability of many drugs. Further, the sublingual mucosa is convenient, acceptable and easily accessible. This route has been investigated clinically for the delivery of a substantial number of drugs.

Various mechanisms of action of penetration of

large molecules using enhancers have been proposed. These mechanisms of action, at least for protein and peptidic drugs include (1) reducing viscosity and/or elasticity of mucous layer, (2) facilitating  
5 transcellular transport by increasing the fluidity of the lipid bilayer of membranes, (3) facilitating paracellular transport by altering tight junction across the epithelial cell layer, (4) overcoming enzymatic barriers, and (5) increasing the thermodynamic activity  
10 of drugs (Critical Rev. 117-125, 1992).

Many penetration enhancers have been tested so far and some have been found effective in facilitating mucosal administration of large molecular drugs. However, hardly any penetration enhancing products have  
15 reached the market place. Reasons for this include lack of a satisfactory safety profile respecting irritation, lowering of the barrier function, and impairment of the mucocilliary clearance protective mechanism. It has been found that some of the popular penetration  
20 enhancers, especially those related to bile salts, and some protein solubilizing agents, impart an extremely bitter and unpleasant taste. This makes their use impossible for human consumption on a day to day basis. Several approaches were utilized to improve the taste of  
25 the bile salts based delivery systems, but none of them are commercially acceptable for human consumption to date. Approaches utilized include patches for buccal mucosa, bilayer tablets, controlled release tablets, liposome formulations, use of protease inhibitors,  
30 buccally administered film patch devices, and various polymer matrices. Further the problem is compounded because of the localized side effect of a patch which often results in severe tissue damage in the mouth.

The absorption of proteins and peptides is believed  
35 to be enhanced by the diffusion of large molecules

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 6 -

entrapped in the mixed micellar form through the aqueous pores and the cell structure perturbation of the tight paracellular junctions.

It has now been found that improvements in  
5 penetration and absorption of certain mixed micellar formulations can be achieved by mixing the mixed micellar formulation with propellants such as tetrafluoroethane, heptafluoroethane, dimethylfluoropropane, tetrafluoropropane, butane,  
10 isobutane, dimethyl ether and other non-CFC and CFC propellants, especially when delivered (e.g. applied to the buccal mucosa) through aerosol devices, e.g. metered dose inhalers (MDIs). Metered dose inhalers are a proven technology and a popular drug delivery form for  
15 many kinds of drug. The use of the present novel formulations and excipients can improve the quality (in terms of absorption), stability and performance of MDI formulations. The formulation ingredients are selected specifically to give enhancement in the penetration  
20 through the pores and facilitate the absorption of the drugs to reach therapeutic levels in the plasma. With the proper formulation changes and changes in administration technique, the formulation can be delivered to the deep lungs, through the nasal cavity  
25 and the buccal cavity.

Pressurized inhalers also offer a wide dosing range, consistent dosing efficiency. In this local delivery greater than 95% of the dose is reached to the target area. The smaller particle size (4-15 microns)  
30 of pressurized inhalers also enhances dosing due to broader coverage within the buccal cavity. In this situation, increased coverage can help more absorption of drug like insulin. Furthermore, because these devices are self-contained, the potential for contamination is  
35 avoided.

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 7 -

Summary of the Invention

Accordingly the present invention provides an aerosol pharmaceutical formulation with multilamellar vesicles, comprising i) a pharmaceutical agent, ii) water, iii) an alkali metal C8 to C22 alkyl sulphate in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, iv) at least one membrane-mimetic amphiphile, v) at least one phospholipid, vi) a phenol selected from the group consisting of phenol and methyl phenol in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and vii) a propellant selected from the group consisting of C1 to C2 dialkyl ether, butanes, fluorocarbon propellant, hydrogen-containing fluorocarbon propellant, chlorofluorocarbon propellant, hydrogen-containing chlorofluorocarbon propellant, and mixtures thereof,

wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of lauramidopropyl betain, lauramide monoisopropanolamide, sodium cocoamphopropionate, bishydroxypropyl dihydroxypropyl stearammonium chloride, polyoxyethylene dihydroxypropyl stearammonium chloride, dioctadecyldimethylammonium chloride, sulphosuccinates, stearamide DEA, sodium tauro dihydro fusidate, fusidic acid, alkali metal isostearyl lactylates, alkaline earth metal isostearyl lactylates, panthenyl triacetate, cocamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidylcholine, polysiloxo pyrrolidone linoleyl phospholipid, octylphenoxypolythoxyethanol, and combinations thereof, and

wherein the phospholipid is selected from the group consisting of, phospholipid GLA (glycolic, lactic acid), phosphatidyl serine, phosphatidylethanolamine,

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 8 -

inositolphosphatides, dioleoylphosphatidylethanolamine,  
polysiloxo pyrrolidone linoleyl phospholipid,  
sphingomyelin, ceramides, cephalin, triolein,  
unsaturated lecithin, saturated lecithin and  
5 lysolecithin, and combinations thereof, and  
wherein the amount of each membrane-mimetic  
amphiphile and phospholipid is present in a  
concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total  
formulation, and the total concentration of membrane-  
10 mimetic amphiphiles and phospholipids is less than 50  
wt./wt.% of the formulation.

Preferably the mixed liposome pharmaceutical  
formulation has a pH of between 6.0 and 8.0.

The preferred number of membrane mimetic  
15 amphiphiles are from 2 to 5.

The preferred number of phospholipids are from 1 to  
4.

In one embodiment, the alkali metal C8 to C22 alkyl  
sulphate is sodium C8 to C22 alkyl sulphate, and  
20 preferably is sodium lauryl sulphate.

Preferably, the ratio of proteinic pharmaceutical  
agent, e.g. insulin, to propellant is from 5:95 to  
25:75.

In a further embodiment, the methyl phenol is  
25 m-cresol.

In another embodiment, the propellant is selected  
from the group consisting of tetrafluoroethane,  
tetrafluoropropane, dimethylfluoropropane,  
heptafluoropropane, dimethyl ether, n-butane and  
30 isobutane.

In yet another embodiment, the mixed micellar  
pharmaceutical formulation is contained in an aerosol  
dispenser.

In a preferred embodiment at least one protease  
35 inhibitor is added to the formulation to inhibit

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 9 -

degradation of the pharmaceutical agent by the action of proteolytic enzymes. Of the known protease inhibitors, most are effective at concentrations of from 1 to 3 wt./wt.% of the formulation.

5 Non-limiting examples of effective protease inhibitors are bacitracin, soyabean trypsin, aprotinin and bacitracin derivatives, e.g. bacitracin methylene disalicylate. Bacitracin is the most effective of those named when used in concentrations of from 1.5 to  
10 2 wt./wt.%. Soyabean trypsin and aprotinin may be used in concentrations of about 1 to 2 wt./wt.% of the formulation.

Preferably the lecithin is saturated lecithin.

It will be recognized by those skilled in the art  
15 that for many pharmaceutical compositions it is usual to add at least one antioxidant to prevent degradation and oxidation of the pharmaceutically active ingredients. It will also be understood by those skilled in the art that colorants, flavouring agents and non-therapeutic  
20 amounts of other compounds may be included in the formulation.

In one embodiment the antioxidant is selected from the group consisting of tocopherol, dexteroxime mesylate, methyl paraben, ethyl paraben and ascorbic acid and  
25 mixtures thereof. A preferred antioxidant is tocopherol.

The pharmaceutical agent may be selected from a wide variety of macromolecular agents, depending on the disorder being treated, generally with molecular weights  
30 greater than about 1000 and especially between about 1000 and 2 000 000. Pharmaceutical agents useful in the present invention include insulin, heparin, low molecular weight heparin, hirugen, hirulos, hirudin, interferons, interleukins, cytokines, mono and  
35 polyclonal antibodies, chemotherapeutic agents,

WO 0037053

PCT/CA99/01233

- 10 -

vaccines, glycoproteins, bacterial toxoids, growth hormones, parathyroid hormone (PTH), leutenizing hormones, oestrogens, androgens, calcitonins, insulin like growth factors (IGF), glucagon like peptides (GLP-1 and GLP-2), steroids and retinoids, injectable large molecule antibiotics, protein based thrombolytic compounds, platelet inhibitors, DNA, gene therapeutics, RNA and antisense oligonucleotides and small molecule drugs.

10 The present invention also provides a metered dose aerosol dispenser with the aerosol pharmaceutical formulation of the present invention therein.

The present invention also provides a method for administering an aerosol pharmaceutical formulations of the present invention, by spraying a predetermined amount of the formulation into the mouth with a metered dose spray device.

The present invention also provides a method for administration of a proteinic pharmaceutical agent in a buccal cavity of a human being by spraying into the cavity, without inhalation, from a metered dose spray dispenser, a predetermined amount of an aerosol pharmaceutical formulation with multilamellar vesicles, comprising i) a pharmaceutical agent, ii) water, iii) an alkali metal C8 to C22 alkyl sulphate in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, iv) at least one membrane-mimetic amphiphile, v) at least one phospholipid, vi) a phenol selected from the group consisting of phenol and methyl phenol in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and vi) a propellant selected from the group consisting of C1 to C2 dialkyl ether, butanes, fluorocarbon propellant, hydrogen-containing fluorocarbon propellant, chlorofluorocarbon propellant,

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 11 -

hydrogen-containing chlorofluorocarbon propellant, and mixtures thereof,

wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of lauramidopropyl betain, 5 lauramide monoisopropanolamide, sodium cocoamphopropionate, bishydroxypropyl dihydroxypropyl stearammonium chloride, polyoxyethylene dihydroxypropyl stearammonium chloride, dioctadecyldimethylammonium chloride, sulphosuccinates, stearamide DEA, sodium tauro 10 dihydro fusidate, fusidic acid, alkali metal isostearyl lactylates, alkaline earth metal isostearyl lactylates, panthenyl triacetate, cocamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidyl PG- 15 diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidylcholine, polysiloxo pyrrolidone linoleyl phospholipid, octylphenoxypolythoxyethanol, and combinations thereof, and

wherein the phospholipid is selected from the group 20 consisting of, phospholipid GLA (glycolic, lactic acid), phosphatidyl serine, phosphatidylethanolamine, inositolphosphatides, dioleoylphosphatidylethanolamine, polysiloxo pyrrolidone linoleyl phospholipid, sphingomyelin, ceramides, cephalin, triolein, 25 unsaturated lecithin, saturated lecithin and lysolecithin, and combinations thereof, and

wherein the amount of each membrane-mimetic amphiphile and phospholipid is present in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total 30 formulation, and the total concentration of membrane-mimetic amphiphiles and phospholipids is less than 50 wt./wt.% of the formulation.

#### Detailed Description of Preferred Embodiments

When developing new pharmaceutical formulations, it 35 is desirable to provide dosage forms suitable for

- 12 -

administering proteinic and peptidic drugs to humans and animals through oral, nasal, pulmonary and transdermal mucosal routes and to allow easy accessibility to the sites of administration. Local absorption of macromolecular drugs is desirable over a prolonged period to maximize drug absorption. Furthermore, it is desirable to minimize tissue damage and provide acceptable tissue compatibility of the dosage form. It is preferable to provide systems which are pain free and easy to be administered with great flexibility, in order to gain high acceptance and compliance of any therapy by patients.

It has been found that macromolecular drugs may be administered in liposomal formulations in which particle sizes (1 to 4 nm) are smaller than any pores of mucosal surfaces.

The present invention provides an improved method for delivery of macromolecular (high molecular weight) pharmaceutical agents, particularly through the skin or membranes in the nose, mouth or lungs. The preferred delivery is through oral or nasal cavities or through the lungs. The pharmaceutical agents cover a wide spectrum of agents, including proteins, peptides, hormones, vaccines and drugs. The molecular weights of the macromolecular pharmaceutical agents are preferably above 1000, especially between 1000 and 2 000 000.

For example, hormones which may be administered with the present invention include human growth hormones, parathyroid hormones, follicular stimulating hormones, luteinizing hormones, androgens, oestrogens, prostoglandins, somatropins, gonadotropins, erythropoetin, interferons, interleukins, steroids and cytokines.

Vaccines which may be administered with the present invention include bacterial and viral vaccines such as

- 13 -

vaccines for hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, influenza, tuberculosis, canary pox, chicken pox, measles, mumps, rubella, pneumonia, BCG, HIV, helicobacter pylori and AIDS.

5 Bacterial toxoids which may be administered using the present invention include diphtheria, tetanus, pseudomonas A and mycobactrium tuberculosis.

Examples of specific cardiovascular or thromobolytic agents include heparin, low molecular weight heparin, hirugen, hirulos and hirudin.

10 Small molecules may also be administered using the present invention. For example, opioids, narcotics, analgesics, NSAIDS, steroids, anaesthetics, hypnotics and pain killers, may be administered with the aerosol formulation of the present invention.

For insulin-containing and some other compositions, the composition may also contains at least one inorganic salt which opens channels in the gastrointestinal tract and may provide additional stimulation to release  
20 insulin. Non-limiting examples of inorganic salts are sodium, potassium, calcium and zinc salts, especially sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, zinc chloride and sodium bicarbonate.

It will be recognized by those skilled in the art  
25 that for many pharmaceutical compositions it is usual to add at least one antioxidant to prevent degradation and oxidation of the pharmaceutically active ingredients. It will also be understood by those skilled in the art that colorants, flavouring agents and non-therapeutic  
30 amounts of other compounds may be included in the formulation. Typically flavouring agents are menthol and other fruit flavours.

The antioxidant is selected from the group

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 14 -

consisting of tocopherol, dexteroxime mesylate, methyl paraben, ethyl paraben and ascorbic acid and mixtures thereof. A preferred antioxidant is tocopherol.

In a preferred embodiment at least one protease inhibitor is added to the formulation to inhibit degradation of the pharmaceutical agent by the action of proteolytic enzymes. Of the known protease inhibitors, most are effective at concentrations of from 1 to 3 wt./wt.% of the formulation.

10 Non-limiting examples of effective protease inhibitors are bacitracin, soyabean trypsin, aprotinin and bacitracin derivatives, e.g. bacitracin methylene disalicylate. Bacitracin is the most effective of those  
15 wt./wt.%. Soyabean trypsin and aprotinin two may be used in concentrations of about 1 to 2 wt./wt.% of the formulation.

It is believed that the phenolic compounds act mainly as preservatives and complexing agents to  
20 stabilize drugs, e.g. insulin. Besides their function as a stabilizer and preservative, they may also act as antiseptic agents and furthermore may help in absorption. The methyl phenol may be o-cresol, m-cresol or p-cresol, but m-cresol is preferred.

25 As will be understood, the concentration of the pharmaceutical agent is an amount sufficient to be effective in treating or preventing a disorder or to regulate a physiological condition in an animal or human. The concentration or amount of pharmaceutical  
30 agent administered will depend on the parameters determined for the agent and the method of administration, e.g. nasal, buccal, pulmonary. For example, nasal formulations tend to require much lower

concentrations of some ingredients in order to avoid irritation or burning of the nasal passages. It is sometimes desirable to dilute an oral formulation up to 10-100 times in order to provide a suitable nasal formulation.

Preferred methods of forming non-phospholipid membrane mimetic amphiphiles and phospholipid are based on the phase behaviour of lipid amphiphiles and phospholipids. Such methods use high turbulence or high shear methods of mixing, e.g. turbines or high velocity nozzles. For example, the membrane-mimetic amphiphiles may be injected at high velocity, e.g. through nozzles, into an aqueous phase of the phospholipid. Alternatively, the membrane mimetic amphiphiles and the phospholipids may be mixed in a mixing chamber into which the phospholipids are injected at high velocity through one or more nozzles and the membrane-mimetic amphiphiles are also injected at high velocity through one or more nozzles. Other ingredients, such as sodium lauryl sulphate, phenol and/or m-cresol, protease inhibitors may be premixed with either the membrane-mimetic amphiphile or the phospholipid. The velocity and mixing of the two liquids depends in part on the viscosities of the materials and nozzle diameters, e.g. 10 to 15 m/s through 0.5 to 1.0 mm diameter nozzle apertures. Typically the ratio of the membrane-mimetic amphiphile aqueous solution to the phospholipid solution is about 5:1 to about 20:1 and the temperature of mixing is typically from about 10°C to 20°C.

It may sometimes be necessary to heat the membrane-mimetic amphiphiles and other ingredients in order to yield a homogeneous aqueous solution prior to mixing with the phospholipids. The nature of the proteinic pharmaceutical may also dictate the temperature range at which mixing may take place. The temperature of mixing

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 16 -

is typically room temperature or below, but may be higher than room temperature for certain formulations. The resulting formulation contains multi-lamellar liposomal vesicles. If the formulation has been heated during mixing, it is sometimes desirable to cool the mixture while still being mixed, in order to assist in the formation of the multi-lamellar vesicles.

Mixed multi-lamellar vesicles formed by the present process are very small in size, e.g. less than 10 nm, and are stable under most storage conditions.

Preferably, the membrane-mimetic amphiphile solution is injected into the phospholipid solution through tangentially placed nozzles in a small cylindrical mixing chamber. Preferably, one or two nozzles are used for the membrane-mimetic amphiphile solution and one or two alternating nozzles for the phospholipid solution. The two liquids are preferably delivered to the nozzles by flow-controlled positive displacement pumps.

The phenol and/or m-cresol are added to stabilize the formulation and protect against bacterial growth. An isotonic agent such as glycerin may also be added. The phenol and/or m-cresol and glycerin may be added after the membrane-mimetic amphiphile and phospholipids have been mixed, if desired, rather than with the other ingredients.

After formation of the pharmaceutical formulation, the formulation is charged to a pressurizable container. Preferably the container is a vial suitable for use with a metered dose dispenser, e.g. a metered dose inhaler or applicator. Then the vial is charged with propellant. As the propellant is introduced into the vial, there is great turbulence in the vial and the propellant and pharmaceutical formulation become mixed. Some of the formulations with glycerin or polyglycerin in them tend

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 17 -

not to separate on standing. Others may separate. For those aerosol formulations which are substantially homogeneous, it may not be necessary to shake the vial before use, although, through habit with other formulations, many users may shake the vial. Shaking the vial is recommended, however, in order to assure good accuracy of pharmaceutical dispensing from "shot" to "shot" and from the first shot to the last from the container. As is known, in order to deliver the pharmaceutical agent to the lung, it is necessary for the user to breathe deeply when the aerosol spray from the pressurized container is released. Without breathing in, the pharmaceutical agent is delivered to the buccal cavity. The method chosen will depend on a number of factors, including the type of pharmaceutical agent, the concentration in the aerosol, the desired rate of absorption required and the like.

The preferred propellants are hydrogen-containing chlorofluorocarbons, hydrogen-containing fluorocarbons, dimethyl ether and diethyl ether. Even more preferred is HFC 134a (1,1,1,2 tetrafluoroethane).

Although the present invention has such wide applicability, the invention is described hereinafter with particular reference to insulin and its analogues, which are used for the treatment of diabetes.

In the case of insulin, which is intended for administration through nasal or oral cavities or the lungs, an aqueous buffer solution may be made first by adding aqueous alkali metal C8 to C22 alkyl sulphate, e.g. sodium lauryl sulphate, to powdered insulin, and then stirring until the powder is dissolved and a clear solution is obtained. Typical concentrations of sodium lauryl sulphate in the aqueous solution are about 3 to 20 wt./wt.% in the solution. Typically, insulin is present in the solution in an amount which will give a

- 18 -

concentration of about 2 to 4 wt./wt.% of the final formulation.

The buffer solution is then added to liquid which comprises a membrane-mimetic amphiphile or a phospholipid while mixing vigorously, to form multi-lamellar liposomal vesicles.

The membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of lauramidopropyl betain, lauramide monoisopropanolamide, sodium cocoampophropionate, bishydroxypropyl dihydroxypropyl stearammonium chloride, polyoxyethylene dihydroxypropyl stearammonium chloride, dioctadecyldimethylammonium chloride, sulphosuccinates, stearamide DEA, sodium tauro dihydro fusidate, fusidic acid, alkali metal isostearyl lactylates, alkaline earth metal isostearyl lactylates, panthenyl triacetate, cocamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidylcholine, polysiloxo pyrrolidone linoleyl phospholipid, octylphenoxy polythoxyethanol, and combinations thereof.

The phospholipid is selected from the group consisting of phospholipid GLA, phosphatidyl serine, phosphatidylethanolamine, inositolphosphatides, dioleoylphosphatidylethanolamine, sphingomyelin, ceramides, cephalin, triolein, unsaturated lecithin, saturated lecithin and lysolecithin.

Each of the membrane-mimetic amphiphiles and phospholipids are present in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation.

The phenol and/or m-cresol may be added with the membrane mimetic amphiphile, the phospholipid or at any other time during mixing.

Other ingredients may be added to the liposomal

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 19 -

solution. For example, flavouring agents, antioxidants, salts, protease inhibitors or other pharmaceutically acceptable compounds may be added.

In general the size of the multi-lamellar liposomal vesicle particles is about from 1 to 10 nm, and preferably from 1 to 5 nm. Such a size distribution ensures effective absorption of the formulation, and therefore the pharmaceutical agent, through the membranes, for example the membranes in the oral and nasal cavities.

The specific concentrations of the essential ingredients can be determined by relatively straightforward experimentation. For absorption through the nasal and oral cavities, it is often desirable to increase, e.g. double or triple, the dosage which is normally required through injection of administration through the gastrointestinal tract.

As will be understood, the amount of each component of the formulation will vary depending on the pharmaceutical agent and the site of application.

For oral application, sodium lauryl sulphate is insufficient on its own and must be combined with at least one membrane-mimetic amphiphile and at least one phospholipid to promote the oral absorption of macromolecules to achieve therapeutic effects. The effect is enhanced by delivery of the macromolecules by aerosol, with the additions of phenol and/or m-cresol to the formulation and using a propellant, particularly a hydrogen-containing fluorocarbon or a hydrogen-containing chlorofluorocarbon.

The oral aerosol formulations may be delivered with a suitable applicator.

Preferred formulations oral or nasal application have the following combinations, in addition to sodium lauryl sulphate:

- 20 -

i) ceramide and stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride;

ii) borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride and lecithin;

5 The therapeutic compositions of the present invention can be stored at room temperature or at cold temperature. Storage of proteinic drugs is preferable at a cold temperature, e.g. 4°C, to prevent degradation of the drugs and to extend their shelf life.

10 As indicated hereinbefore, generally, oral, pulmonary, transdermal and nasal are the favoured sites of the administration but the composition can be applied to the rectal and vaginal mucosa. According to the physiologically active peptide or protein used, the dosage form and the site of administration a specific administration method can be selected.

The composition of this invention is generally prepared as microfine multi-lamellar liposomal vesicle particles (1 to 10 nm or less) by the virtue of its preparation methods used and combinations suitable characteristics of the membrane mimetic amphiphiles and phospholipids.

Utilization of atomizer or aerosol spray devices (metered dose inhalers or nebulizers) can be used to further reduce the particle size for effective inhalation from the nasal or oral cavity so the drug may successfully reach to the specific site, especially the lungs, and be absorbed.

A particular advantage with the use of metered dose dispensers is that the formulation can be delivered in a relatively precise dose, e.g. titratable to injection within 1 unit of insulin dose. The droplet size of the formulation preferably falls between 1-5  $\mu\text{m}$  in order for droplets to penetrate buccal mucosa or to reach to the deep lung surface. Thus, the present invention is

WO.00/37053

PCT/CA99/01233

- 21 -

suitable for delivery of proteinic drugs such as insulin for the treatment of diabetes.

The pressurized dispensers also offer a wide dosing range and consistent dosing efficiency. With such a  
5 delivery, greater than about 95% of the dose may reach the target area. The smaller particle size (1-5  $\mu\text{m}$ ) obtained using pressurized inhalers also enhances dosing due to broader coverage within the lung cavity. In this  
10 situation, increased coverage can help more absorption of a drug like insulin. Furthermore, because these devices are self-contained, potential contamination is avoided.

CLAIMS:

1. An aerosol pharmaceutical formulation with multilamellar vesicles, comprising i) a pharmaceutical agent, ii) water, iii) an alkali metal C8 to C22 alkyl sulphate in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, iv) at least one membrane-mimetic amphiphile, v) at least one phospholipid, vi) a phenol selected from the group consisting of phenol and methyl phenol in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and vi) a propellant selected from the group consisting of C1 to C2 dialkyl ether, butanes, fluorocarbon propellant, hydrogen-containing fluorocarbon propellant, chlorofluorocarbon propellant, hydrogen-containing chlorofluorocarbon propellant, and mixtures thereof,

wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of lauramidopropyl betain, lauramide monoisopropanolamide, sodium cocoamphopropionate, bishydroxypropyl dihydroxypropyl stearammonium chloride, polyoxyethylene dihydroxypropyl stearammonium chloride, dioctadecyldimethylammonium chloride, sulphosuccinates, stearamide DEA, sodium tauro dihydro fusidate, fusidic acid, alkali metal isostearyl lactylates, alkaline earth metal isostearyl lactylates, panthenyl triacetate, cocamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidylcholine, polysiloxy pyrrolidone linoleyl phospholipid, octylphenoxypolythoxyethanol, and combinations thereof, and

wherein the phospholipid is selected from the group consisting of, phospholipid GLA (glycolic, lactic acid), phosphatidyl serine, phosphatidylethanolamine, inositolphosphatides, dioleoylphosphatidylethanolamine,

- 23 -

polysiloxy pyrrolidone linoleyl phospholipid, sphingomyelin, ceramides, cephalin, triolein, unsaturated lecithin, saturated lecithin and lysolecithin, and combinations thereof, and

5 wherein the amount of each membrane-mimetic amphiphile and phospholipid is present in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and the total concentration of membrane-mimetic amphiphiles and phospholipids is less than 50  
10 wt./wt.% of the formulation.

2. A formulation according to Claim 1 wherein the alkali C8 to C22 metal alkyl sulphate is sodium lauryl sulphate.

3. A formulation according to Claim 1 wherein there  
15 are at least two membrane mimetic amphiphiles.

4. A formulation according to Claim 1 wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of hyaluronic acid, pharmaceutically acceptable salts of hyaluronic acid and mixtures  
20 thereof, the concentration such absorption enhancing compound being from about 1 to about 5 wt./wt.%.

5. A formulation according to Claim 1 which contains sodium lauryl sulphate and combinations selected from the group consisting of:

25 i) ceramide and stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride; and

ii) borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride and lecithin;

6. A formulation according to Claim 1 wherein the  
30 pharmaceutical agent is selected from the group consisting of insulin, heparin, low molecular weight heparin, low molecular weight heparin, hirugen, hirulos, hirudin, interferons, interleukins, cytokines, mono and polyclonal antibodies, chemotherapeutic agents,  
35 vaccines, glycoproteins, hormones bacterial toxoids,

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 24 -

- growth hormones, calcitonins, insulin like growth factors (IGF), glucagon like peptides (GLP-1 or GLP-2), steroids and retinoids, injectable large molecule antibiotics, protein based thrombolytic compounds,
- 5 platelet inhibitors, DNA, Gene therapeutics, RNA, antisense oligonucleotides, opioids, narcotics, analgesics, NSAIDS, steroids, anaesthetics, hypnotics and pain killers.
7. A formulation according to Claim 6 wherein the
- 10 pharmaceutical agent is insulin.
8. A process for making a pharmaceutical composition comprising:
- mixing in a high shear mixer a proteinic pharmaceutical agent, water, an alkali metal lauryl
- 15 sulphate in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, at least one membrane-mimetic amphiphile and at least one phospholipid,
- wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of hyaluronic acid,
- 20 pharmaceutically acceptable salts of hyaluronic acid, lauramidopropyl betain, lauramide monoisopropanolamide, sodium cocoamphopropionate, bishydroxypropyl dihydroxypropyl stearammonium chloride, polyoxyethylene dihydroxypropyl stearammonium chloride,
- 25 dioctadecyldimethylammonium chloride, sulphosuccinates, stearamide DEA, gamma-linoleic acid, borage oil, evening of primrose oil, monoolein, sodium tauro dihydro fusidate, fusidic acid, alkali metal isostearyl lactylates, alkaline earth metal isostearyl lactylates,
- 30 panthenyl triacetate, cocamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidylcholine, polysiloxy pyrrolidone linoleyl
- 35 phospholipid, trihydroxy-oxo-cholanlyglycine and alkali

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 25 -

- metal salts thereof, and octylphenoxy polythoxyethanol, polydecanol X-lauryl ether and polydecanol X-oleyl ether, wherein X is from 9 to 20, and
- 5 wherein the phospholipid is selected from the group consisting of phospholipid GLA, phosphatidyl serine, phosphatidylethanolamine, inositolphosphatides, dioleoylphosphatidylethanolamine, sphingomyelin, ceramides, cephalin, triolein, lecithin, saturated lecithin and lysolecithin, and
- 10 wherein the amount of each membrane mimetic amphiphile and phospholipid is present in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and the total concentration of membrane mimetic amphiphiles and phospholipids is less than 50
- 15 wt./wt.% of the formulation;
- said mixing being continued until the composition is in multilamellar vesicle form; and
- adding a phenol selected from the group consisting of phenol, methyl phenol and mixtures thereof;
- 20 dispensing the resulting formulation into an aerosol container and charging the container with a propellant.
9. A process according to Claim 8 wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group
- 25 consisting of hyaluronic acid, pharmaceutically acceptable salts of hyaluronic acid and mixtures thereof, the concentration such absorption enhancing compound being from about 1 to about 5 wt./wt.%.
10. A process according to Claim 8 wherein the alkali
- 30 metal lauryl sulphate is sodium lauryl sulphate.
11. A process according to Claim 8 wherein the propellant is selected from the group consisting of hydrogen-containing chlorofluorocarbons, hydrogen-containing fluorocarbons, dimethyl ether and diethyl
- 35 ether.

- 26 -

12. A process according to Claim 8 wherein the proteinic pharmaceutical agent is selected from the group consisting of insulin, heparin, so-called low molecular weight heparin, low molecular weight heparin, 5 hirugen, hirulos, hirudin, interferons, interleukins, cytokines, mono and polyclonal antibodies, chemotherapeutic agents, vaccines, glycoproteins, bacterial toxoids, hormones, calcitonins, insulin like growth factors (IGF), glucagon like peptides (GLP-1 or 10 GLP-2), large molecule antibiotics, protein based thrombolytic compounds, platelet inhibitors, DNA, RNA, gene therapeutics, antisense oligonucleotides, opioids, narcotics, analgesics, NSAIDS, steroids, anaesthetics, hypnotics and pain killers.
13. A process according to Claim 8 wherein the proteinic pharmaceutical agent is insulin.
14. A process according to Claim 8 wherein the method of mixing is a high turbulence or high shear method of mixing.
15. A process according to Claim 14 selected from the group consisting of i) injecting the phospholipid, in liquid form, at high velocity through at least one nozzle into an aqueous phase of the membrane-mimetic amphiphile, ii) injecting the membrane-mimetic 25 amphiphile, in liquid form, at high velocity through at least one nozzle into an aqueous phase of the phospholipid, and iii) injecting the phospholipid, in liquid form, at high velocity through at least one nozzle and the membrane mimetic amphiphile, in liquid 30 form, at high velocity through at least one nozzle into a mixing chamber; and
- wherein the alkali metal lauryl sulphate is present with either the phospholipid or membrane-mimetic amphiphile.
16. A process according to Claim 15 wherein the

- 27 -

velocity the phospholipid and amphiphile liquids is from 0 to 15 m/s through 0.5 to 1.0 mm diameter nozzle apertures.

17. A process according to Claim 14 wherein the ratio of the membrane-mimetic amphiphile aqueous solution to the phospholipid solution is about 5:1 to about 20:1.
18. A process according to Claim 15 wherein the ratio of the membrane-mimetic amphiphile aqueous solution to the phospholipid solution is about 5:1 to about 20:1.
19. A metered dose aerosol dispenser containing an aerosol pharmaceutical formulation with multilamellar vesicles, comprising i) a pharmaceutical agent, ii) water, iii) an alkali metal C8 to C22 alkyl sulphate in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, iv) at least one membrane-mimetic amphiphile, v) at least one phospholipid, vi) a phenol selected from the group consisting of phenol and methyl phenol in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and vii) a propellant selected from the group consisting of C1 to C2 dialkyl ether, butanes, fluorocarbon propellant, hydrogen-containing fluorocarbon propellant, chlorofluorocarbon propellant, hydrogen-containing chlorofluorocarbon propellant, and mixtures thereof.
- wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of lauramidopropyl betain, lauramide monoisopropanolamide, sodium cocoamphopropionate, bishydroxypropyl dihydroxypropyl stearammonium chloride, polyoxyethylene dihydroxypropyl stearammonium chloride, dioctadecyldimethylammonium chloride, sulphosuccinates, stearamide DEA, sodium tauro dihydro fusidate, fusidic acid, alkali metal isostearyl lactylates, alkaline earth metal isostearyl lactylates, panthenyl triacetate, cocamidopropyl phosphatidyl PG-

WO 00/37053

PCT/CA99/01233

- 28 -

diammonium chloride, stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidylcholine, polysiloxo pyrrolidone linoleyl phospholipid, octylphenoxy polythoxyethanol, and combinations thereof, and

wherein the phospholipid is selected from the group consisting of, phospholipid GLA (glycolic, lactic acid), phosphatidyl serine, phosphatidylethanolamine, inositolphosphatides, dioleoylphosphatidylethanolamine, polysiloxo pyrrolidone linoleyl phospholipid, sphingomyelin, ceramides, cephalin, triolein, unsaturated lecithin, saturated lecithin and lysolecithin, and combinations thereof, and

wherein the amount of each membrane-mimetic amphiphile and phospholipid is present in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and the total concentration of membrane-mimetic amphiphiles and phospholipids is less than 50 wt./wt.% of the formulation.

20. A metered dose aerosol dispenser according to Claim 19 wherein the alkali C8 to C22 metal alkyl sulphate is sodium lauryl sulphate.

21. A metered dose aerosol dispenser according to Claim 19 wherein there are at least two membrane mimetic amphiphiles.

22. A metered dose aerosol dispenser according to Claim 19 wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of hyaluronic acid, pharmaceutically acceptable salts of hyaluronic acid and mixtures thereof, the concentration such absorption enhancing compound being from about 1 to about 5 wt./wt.%.

23. A metered dose aerosol dispenser according to Claim

- 29 -

19 which contains sodium lauryl sulphate and combinations selected from the group consisting of:

- i) ceramide and stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride; and
  - 5 ii) borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride and lecithin;
24. A metered dose aerosol dispenser according to Claim 19 wherein the pharmaceutical agent is selected from the group consisting of insulin, heparin, low molecular
- 10 weight heparin, low molecular weight heparin, hirugen, hirulos, hirudin, interferons, interleukins, cytokines, mono and polyclonal antibodies, chemotherapeutic agents, vaccines, glycoproteins, hormones bacterial toxoids, growth hormones, calcitonins, insulin like growth
- 15 factors (IGF), glucagon like peptides (GLP-1 or GLP-2), steroids and retinoids, injectable large molecule antibiotics, protein based thrombolytic compounds, platelet inhibitors, DNA, Gene therapeutics, RNA, antisense oligonucleotides, opioids, narcotics,
- 20 analgesics, NSAIDS, steroids, anaesthetics, hypnotics and pain killers.
25. A metered dose aerosol dispenser according to Claim 19 wherein the pharmaceutical agent is insulin.
26. A method for administering an aerosol
- 25 pharmaceutical formulation with multilamellar vesicles, comprising i) a pharmaceutical agent, ii) water, iii) an alkali metal C8 to C22 alkyl sulphate in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, iv) at least one membrane-mimetic amphiphile, v) at least
- 30 one phospholipid, vi) a phenol selected from the group consisting of phenol and methyl phenol in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and vi) a propellant selected from the group consisting of C1 to C2 dialkyl ether, butanes,

- 30 -

fluorocarbon propellant, hydrogen-containing fluorocarbon propellant, chlorofluorocarbon propellant, hydrogen-containing chlorofluorocarbon propellant, and mixtures thereof,

5 wherein the membrane-mimetic amphiphile is selected from the group consisting of lauramidopropyl betain, lauramide monoisopropanolamide, sodium cocoamphopropionate, bishydroxypropyl dihydroxypropyl stearammonium chloride, polyoxyethylene dihydroxypropyl  
10 stearammonium chloride, dioctadecyldimethylammonium chloride, sulphosuccinates, stearamide DEA, sodium tauro dihydro fusidate, fusidic acid, alkali metal isostearyl lactylates, alkaline earth metal isostearyl lactylates, panthenyl triacetate, cocamidopropyl phosphatidyl PG-  
15 diammonium chloride, stearamidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidyl PG-diammonium chloride, borage amidopropyl phosphatidylcholine, polysiloxy pyrrolidone linoleyl phospholipid, octylphenoxypolythoxyethanol, and  
20 combinations thereof, and

wherein the phospholipid is selected from the group consisting of, phospholipid GLA (glycolic, lactic acid), phosphatidyl serine, phosphatidylethanolamine, inositolphosphatides, dioleoylphosphatidylethanolamine,  
25 polysiloxy pyrrolidone linoleyl phospholipid, sphingomyelin, ceramides, cephalin, triolein, unsaturated lecithin, saturated lecithin and lysolecithin, and combinations thereof, and

wherein the amount of each membrane-mimetic  
30 amphiphile and phospholipid is present in a concentration of from 1 to 10 wt./wt.% of the total formulation, and the total concentration of membrane-mimetic amphiphiles and phospholipids is less than 50 wt./wt.% of the formulation, by spraying a  
35 predetermined amount of the formulation into the mouth

- 31 -

with a metered dose spray device.

27. A method for administration of a pharmaceutical agent according to Claim 26 wherein the formulation is sprayed into a buccal cavity of a human being, without  
5 inhalation.

28. A method for administration of a pharmaceutical agent according to Claim 26 wherein the pharmaceutical agent is selected from the group consisting of insulin, heparin, low molecular weight heparin, hirulog, hirugen,  
10 huridine, interferons, interleukins, cytokins, mono and polyclonal antibodies, immunoglobins, chemotherapeutic agents, vaccines, glycoproteins, bacterial toxoids, hormones, calcitonins, insulin like growth factors (IGF), glucagon like peptides (GLP-1), large molecule  
15 antibiotics, protein based thrombolytic compounds, platelet inhibitors, DNA, RNA, gene therapeutics and antisense oligonucleotides and many injectable opioids, narcotics, hypnotics, steroids, pain killers and non-steroidal anti-inflammatory drugs.

20 29. A method for administration of a pharmaceutical agent according to Claim 26 wherein the pharmaceutical agent is insulin.

## 【手続補正書】

【提出日】平成12年12月18日(2000.12.18)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】発明の名称

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の名称】エアロゾル化された膜ミメティック両親媒性物質を用いた蛋白質性薬物の送達システム

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

多重ラメラ小胞を有するエアロゾル薬剤調製物であって、該調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるアルカリ金属C8-C22アルキルサルフェート、iv) 少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも1種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるフェノール及び、vii) C1-C2ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドDEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

リン脂質は、ホスホリピドGLA(グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1~10wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満である、エアロゾル薬剤調製物。

【請求項2】

アルカリ金属C8-C22アルキルサルフェートはラウリル硫酸ナトリウムである請求項1に記載の調製物。

【請求項3】

膜ミメティック両親媒性物質は2種以上存在する請求項1に記載の調製物。

【請求項4】

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩及びその混合物からなる群から選択され、これら吸収促進化合物の濃度は約1～約5wt. / wt. %である請求項1に記載の調製物。

【請求項5】

ラウリル硫酸ナトリウムと、(i)セラミド及びステアロアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド；並びに(ii)ボレージアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド及びレシチンからなる群から選択される組合せを含んでいる請求項1に記載の調整物。

【請求項6】

薬剤は、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルゲン(hirugen)、ヒルロス(hirulos)、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、ホルモン、細菌性トキソイド、成長ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子(IGF)、グルカゴン様ペプチド(GLP-1又はGLP-2)、ステロイド、レチノイド、注入可能な大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、遺伝子治療剤、RNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、オピオイド、麻酔剤(narcotics)、鎮痛薬(analgesics)、NSAIDs、ステロイド、麻酔薬(anaesthetics)、催眠剤及び鎮痛剤(pain killers)からなる群から選択される請求項1に記載の調製物。

【請求項7】

薬剤はインスリンである請求項6に記載の調製物。

【請求項8】

薬剤組成物を作る方法であって、高速剪断ミキサーの中で、薬剤、水、濃度が調製物全体の1～10wt. / wt. %であるアルカリ金属ラウリルサルフェート、少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質及び少なくとも1種のリン脂質を混合することを含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドDEA、ガンマリノレン酸、ルリチサ油、マツヨイグサ油、モノオレイン、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG-ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、トリヒドロキシ-オキシ-コラニルグリシン、トリヒドロキシ-オキシ-コラニルグリシンのアルカリ金属塩、及び、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、ポリデカノールX-ラウリルエーテル(但し、Xは9～20)、ポリデカノールX-オレイルエーテル(但し、Xは9～20)からなる群から選択され、

リン脂質は、ホスホリピドGLA、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、レシチン、飽和レシチン及びライソレシチンからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1～10wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満であり、

混合は、組成物が多重ラメラ小胞の形態になるまで続けられ、

フェノール、メチルフェノール及びその混合物からなる群から選択されるフェノールを添

加し、

生じた調製物をエアロゾル容器に分配し、該容器に噴射剤を充填することを含んでいる薬剤組成物の調製方法。

【請求項 9】

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩及びその混合物からなる群から選択され、このような吸収促進化合物の濃度は約 1 ~ 約 5 w t . / w t . % である請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

アルカリ金属ラウリルサルフェートは、ラウリル硫酸ナトリウムである請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

噴射剤は、水素含有クロロフルオロカーボン、水素含有フルオロカーボン、ジメチルエーテル及びジエチルエーテルからなる群から選択される請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

薬剤は、インスリン、ヘパリン、いわゆる低分子量ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルゲン、ヒルロス、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、細菌性トキソイド、ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子 ( I G F )、グルカゴン様ペプチド ( G L P - 1 又は G L P - 2 )、大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、RNA、遺伝子治療剤、アンチセンスオリゴヌクレオチド、オピオイド、麻酔剤 ( n a r c o t i c s )、鎮痛薬 ( a n a l g e s i c s )、NSAIDS、ステロイド、麻酔薬 ( a n a e s t h e t i c s )、催眠剤及び鎮痛剤 ( p a i n k i l l e r s ) からなる群から選択される請求項 8 に記載の方法。

【請求項 13】

薬剤はインスリンである請求項 8 に記載の方法。

【請求項 14】

混合方法は、高速乱流混合又は高速剪断混合方法である請求項 8 に記載の方法。

【請求項 15】

( i ) 液状のリン脂質を、膜ミメティック両親媒性物質の水相の中へ、少なくとも 1 つのノズルを通じて高速で注入すること、( i i ) 液状の膜ミメティック両親媒性物質を、リン脂質の水相の中へ、少なくとも 1 つのノズルを通じて高速で注入すること、( i i i ) 液状のリン脂質と液状の両親媒性物質を、夫々、少なくとも 1 つのノズルを通じて、混合チャンバーへ高速で注入すること、からなる群から選択され、アルカリ金属ラウリルサルフェートは、リン脂質又は膜ミメティック両親媒性物質のどちらか一方と共に存在する請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

リン脂質及び両親媒性物質の液体は、直径 0 . 5 ~ 1 . 0 m m のノズル孔を、0 ~ 15 m / s の速度で通過する請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

膜ミメティック両親媒性物質水溶液対リン脂質溶液の比は、約 5 対 1 乃至約 20 対 1 である請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

膜ミメティック両親媒性物質水溶液対リン脂質溶液の比は、約 5 対 1 乃至約 20 対 1 である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 19】

多重ラメラ小胞を有するエアロゾル薬剤調製物が容れられた定量エアロゾルディスペンサーであって、前記調製物は、i) 薬剤、i i) 水、i i i) 濃度が調製物全体の 1 ~ 10 w t . / w t . % であるアルカリ金属 C 8 - C 22 アルキルサルフェート、i v) 少なくとも 1 種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも 1 種のリン脂質、v i) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の 1 ~

10 wt. / wt. %であるフェノール及び、vii) C1 - C2ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドDEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

リン脂質は、ホスホリピドGLA (グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1 ~ 10 wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50 wt. / wt. %未満である、定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項20】

アルカリ金属C8 - C22アルキルサルフェートはラウリル硫酸ナトリウムである請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項21】

膜ミメティック両親媒性物質は2種以上存在する請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項22】

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩及びその混合物からなる群から選択され、この吸収促進化合物の濃度は約1 ~ 約5 wt. / wt. %である請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項23】

ラウリル硫酸ナトリウムと、(i)セラミド及びステアロアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド；並びに(ii)ボレージアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド及びレシチンからなる群から選択される組合せを含んでいる請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

【請求項24】

薬剤は、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルゲン、ヒルロス、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、ホルモン、細菌性トキシイド、成長ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子(IGF)、グルカゴン様ペプチド(GLP - 1又はGLP - 2)、ステロイド、レチノイド、注入可能な大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、遺伝子治療剤、RNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、オピオイド、麻酔剤(narcotics)、鎮痛薬(analgesics)、NSAIDS、ステロイド、麻酔薬(anaesthetics)、催眠剤及び鎮痛剤(pain killers)からなる群から選択される請求項19に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

## 【請求項 25】

薬剤はインスリンである請求項 19 に記載の定量エアロゾルディスペンサー。

## 【請求項 26】

多重ラメラ小胞を有するエアロゾル薬剤調製物を投与方法であって、前記調製物は、  
i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % であるアルカリ金属 C8 - C22 アルキルサルフェート、iv) 少なくとも 1 種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも 1 種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % であるフェノール及び、vii) C1 - C2 ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミド DEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

リン脂質は、ホスホリピド GLA (グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の 50 wt. / wt. % 未満であり、

投与は、定量スプレー器具を用いて、所定量の薬剤調製物を口の中にスプレーすることにより行なう、薬剤調製物の投与方法。

## 【請求項 27】

薬剤調製物は吸入することなく、人間の口腔内にスプレーされる請求項 26 に記載の薬剤調製物の投与方法。

## 【請求項 28】

薬剤は、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、ヒルログ、ヒルゲン、ヒルジン、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、イムノグロビン、化学療法剤、ワクチン、糖蛋白、細菌性トキシソイド、ホルモン、カルシトニン、インスリン様成長因子 (IGF)、グルカゴン様ペプチド (GLP-1)、大分子抗生物質、蛋白質基の血栓溶解化合物、血小板阻害剤、DNA、RNA、遺伝子治療剤、アンチセンスオリゴヌクレオチド、多くの注入可能なオピオイド、麻酔剤 (narcotics)、催眠剤、ステロイド、鎮痛剤 (pain killers) 及び非ステロイド抗炎症性薬物からなる群から選択される請求項 26 に記載の薬剤調製物の投与方法。

## 【請求項 29】

薬剤はインスリンである請求項 26 に記載の薬剤調製物の投与方法。

## 【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0001

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

【発明の要旨】

本発明は、多重ラメラ小胞 (multilamellar vesicles) を有するエアロゾル薬剤調製物を提供するもので、該調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるアルカリ金属C8 - C22アルキルサルフェート、iv) 少なくとも1種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも1種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の1~10wt. / wt. %であるフェノール、並びに、vii) C1 - C2ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミドDEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、ココミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

リン脂質は、ホスホリピドGLA (グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びそれらの組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の1~10wt. / wt. %の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の50wt. / wt. %未満である。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

一実施例において、アルカリ金属C8 - C22アルキルサルフェートは、C8 - C22アルキル硫酸ナトリウムであって、ラウリル硫酸ナトリウムが望ましい。

インスリンなどの薬剤と噴射剤の比は、5 : 95乃至25 : 75であることが望ましい。

さらなる実施例において、メチルフェノールは m - クレゾールである。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

本発明はまた、薬剤を人間の口腔内に投与する方法を提供するものであって、多重ラメラ小胞を有する所定量のエアロゾル薬剤調製物を、吸入することなく、定量供給式スプレーディスペンサーから人間の口腔の中へスプレーすることにより行なうものであり、前記エアロゾル薬剤調製物は、i) 薬剤、ii) 水、iii) 濃度が調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % であるアルカリ金属 C8 - C22 アルキルサルフェート、iv) 少なくとも 1 種の膜ミメティック両親媒性物質、v) 少なくとも 1 種のリン脂質、vi) フェノール及びメチルフェノールからなる群から選択され、濃度が調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % であるフェノール及び、vii) C1 - C2 ジアルキルエーテル、ブタン、フルオロカーボン噴射剤、水素含有フルオロカーボン噴射剤、クロロフルオロカーボン噴射剤、水素含有クロロフルオロカーボン噴射剤及びその混合物からなる群から選択される噴射剤を含んでおり、

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミド DEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリールラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、コカミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジル PG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択され、

リン脂質は、ホスホリピド GLA (グリコール酸、乳酸)、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミン、イノシトールホスファチド、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、スフィンゴミエリン、セラミド、セファリン、トリオレイン、不飽和レシチン、飽和レシチン及びライソレシチン、及びその組合せからなる群から選択され、

膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の各々は、調製物全体の 1 ~ 10 wt. / wt. % の濃度で存在し、膜ミメティック両親媒性物質及びリン脂質の合計濃度は、調製物の 50 wt. / wt. % 未満である。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0050

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0050】

膜ミメティック両親媒性物質は、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、ラウラミドプロピルベタイン、ラウラミドモノイソプロパノールアミド、ココアンホプロピオン酸ナトリウム、ビスヒドロキシプロピルジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ポリオキシエチレンジヒドロキシプロピルステアロアンモニウムクロリド、ジオクタデシルジメチルアンモニウムクロリド、スルホサクシネート、ステアロアミド DEA、タウロジヒドロフシジン酸ナトリウム、フシジン酸、アルカリ金属イソステアリー

ルラクチレート、アルカリ土類金属イソステアリールラクチレート、トリ酢酸パンテニル、コカミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ステアロアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルPG - ジアンモニウムクロリド、ボレージアミドプロピルホスファチジルコリン、ポリシロキシピロリドンリノレイルホスホリピド、オクチルフェノキシポリトキシエタノール、及びその組合せからなる群から選択される。

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		1. National Application No PCT/CA 99/01233
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K9/12 A61K9/127		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96 40057 A (ALLIANCE PHARMA ; TARARA THOMAS E (US); WEERS JEFFRY G (US); TREVIN) 19 December 1996 (1996-12-19) page 2, line 8 -page 2, line 12 page 2, line 19 -page 2, line 24 page 3, line 10 -page 3, line 26 page 7, line 16 -page 7, line 25	1-29
A	WO 97 42938 A (BIOZONE LAB INC) 20 November 1997 (1997-11-20) page 4, line 22 -page 5, line 2 page 5, line 15 -page 5, line 19 page 11, line 4 -page 11, line 17 ----- -/-	1-29
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 April 2000		Date of mailing of the international search report 08. 05. 00
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 6818 Patentstein 2 NL - 2280 LV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Borst, M

From PCT/ISA210 (second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/CA 99/01233

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 004 611 A (LEIGH STEVEN) 2 April 1991 (1991-04-02) column 2, line 49 -column 2, line 61 column 3, line 16 -column 3, line 26 column 4, line 39 -column 4, line 64	1-29
Y	WO 96 36352 A (CHANDARANA SUBASH ;MODI PANKAJ (CA)) 21 November 1996 (1996-11-21) page 3, line 2 -page 3, line 21	1-29
A	SCHREIER H ET AL: "PULMONARY DELIVERY OF LIPOSOMES" JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V. AMSTERDAM, vol. 24, no. 1 / 03, 1 May 1993 (1993-05-01), pages 209-223, XP000303928 ISSN: 0168-3659 page 212, right-hand column, last paragraph -page 214, right-hand column, last paragraph	1-29
P,Y	WO 99 40932 A (MODI PANKAJ) 19 August 1999 (1999-08-19) page 5, line 6 -page 5, line 26 page 7, line 14 -page 7, line 30 page 8, line 5 -page 10, line 29	1-29

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	
International application No. PCT/CA 99/01233	
<b>Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)</b>	
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1. <input checked="" type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: Although claims 26-29 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out (Rule 39.1(iv) PCT).
2. <input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. <input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
<b>Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)</b>	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
1. <input type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. <input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. <input type="checkbox"/>	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. <input type="checkbox"/>	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
<b>Remark on Protest</b>	
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.  
PCT/CA 99/01233

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9640057 A	19-12-1996	AU 704918 B	06-05-1999
		AU 6153796 A	30-12-1996
		CA 2222063 A	19-12-1996
		CN 1195981 A	14-10-1998
		EP 0833608 A	08-04-1998
		HU 9900879 A	30-08-1999
		JP 11508237 T	21-07-1999
		NO 975321 A	27-01-1998
		PL 323931 A	27-04-1998
		WO 9742938 A	20-11-1997
EP 0928189 A	14-07-1999		
US 5004611 A	02-04-1991	AT 75606 T	15-05-1992
		DE 3585967 A	11-06-1992
		EP 0158441 A	16-10-1985
		JP 7053661 B	07-06-1995
		JP 61044808 A	04-03-1986
		US 5053217 A	01-10-1991
		US 5141674 A	25-08-1992
WO 9636352 A	21-11-1996	US 5653987 A	05-08-1997
		AU 5642396 A	29-11-1996
		CA 2210996 A	21-11-1996
		EP 0813421 A	29-12-1997
WO 9940932 A	19-08-1999	US 6017545 A	25-01-2000
		AU 2505399 A	30-08-1999

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 38/22	A 6 1 K 39/395	H
A 6 1 K 38/23	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 38/26	A 6 1 K 47/06	
A 6 1 K 38/27	A 6 1 K 47/08	
A 6 1 K 38/28	A 6 1 K 47/10	
A 6 1 K 39/00	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 47/16	
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 47/18	
A 6 1 K 47/06	A 6 1 K 47/20	
A 6 1 K 47/08	A 6 1 K 47/24	
A 6 1 K 47/10	A 6 1 K 47/34	
A 6 1 K 47/12	A 6 1 K 47/38	
A 6 1 K 47/16	A 6 1 K 47/44	
A 6 1 K 47/18	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 47/20	A 6 1 P 5/10	
A 6 1 K 47/24	A 6 1 P 5/18	
A 6 1 K 47/34	A 6 1 P 5/48	
A 6 1 K 47/38	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 K 47/44	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 K 48/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 5/10	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 5/18	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 5/48	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 7/02	A 6 1 K 37/24	
A 6 1 P 19/10	A 6 1 K 37/36	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 K 37/30	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 K 37/28	
A 6 1 P 37/00	A 6 1 K 37/66	
	A 6 1 K 37/26	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CH,CN,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(74)代理人 100119596

弁理士 長塚 俊也

(72)発明者 モーディ, パンカジュ

カナダ国 エル9ジー 4エックス6 オンタリオ, アンカスター, ゴルフ リンクス ロード  
5 1 9

Fターム(参考) 4C076 AA24 BB22 BB25 BB27 BB29 BB30 CC01 CC03 CC04 CC05  
CC06 CC11 CC23 CC30 CC32 DD03 DD04 DD05 DD08 DD10  
DD14 DD15 DD19 DD34 DD35 DD37 DD39 EE37 EE53 FF12  
FF16 FF34 FF43 FF68  
4C084 AA01 AA02 AA03 AA13 AA17 BA35 BA36 BA44 CA53 DA01  
DA12 DA21 DA33 DA41 DB01 DB04 DB22 DB31 DB34 DB35

