(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0028501
(43) 공개일자 2020년03월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/16 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 47/22 (2017.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) *A61K 9/19* (2006.01)
A61M 15/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/1617 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7006566(분할)
(22) 출원일자(국제) 2010년06월11일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2019-7021859
원출원일자(국제) 2010년06월11일
심사청구일자 2019년07월24일
(85) 번역문제출일자 2020년03월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/038298
(87) 국제공개번호 WO 2010/144789
국제공개일자 2010년12월16일
(30) 우선권주장
61/186,773 2009년06월12일 미국(US)

(71) 출원인
맨카인드 코포레이션
미국, 캘리포니아, 웨스트레이크 빌리지, 러셀 랜치 로드 30930 스위트 301 (우편번호 91362)
(72) 발명자
그랜트 마샬 엘
미국 06070 코네티컷주 뉴턴 마일 힐 로드 사우쓰 53에이
스토웰 그레이슨 더블유
미국 06755 코네티컷주 게이로즈빌 필그림스 웨이 14
멘킨 폴
미국 06405 코네티컷주 브랜포드 블루베리 레인 251
(74) 대리인
김진희, 김태홍

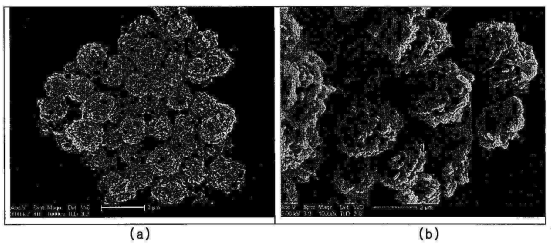
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **한정된 비표면적을 갖는 디케토피페라진 마이크로입자**

(57) 요 약

본원은 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 디케토피페라진 마이크로입자를 개시한다. 디케토피페라진 마이크로입자는 푸마릴 디케토피페라진일 수 있고 인슐린과 같은 약물을 포함할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 38/28 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 9/0075 (2013.01)
A61K 9/145 (2013.01)
A61K 9/1694 (2013.01)
A61K 9/19 (2013.01)
A61M 15/0028 (2013.01)
A61M 15/0091 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

푸마릴 디케토피페라진 포함 마이크로입자를 함유하는 폐 투여용 건조 분말로서, 마이크로입자가 35 m^2/g 내지 67 m^2/g의 비표면적 및 약 0.5 내지 약 10 마이크론의 직경을 갖는 것인 건조 분말.

청구항 2

제1항에 있어서, 사이토카인, 리포카인, 엔케펄린, 알킨, 시클로스포린, 항-IL-8 항체, IL-8 길항제, 프로스타글란딘, LTB 수용체 차단제, 트립탄, 팔미토리에이트, 인슐린 및 이의 유사체, 성장 호르몬 및 이의 유사체, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 유사체, 부갑상선 호르몬 관련 펩티드(PTHrP), 그렐린, 오베스타틴, 엔테로스타틴, 과립구 대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 아밀린, 아밀린 유사체, 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1), 클로피도그렐, PPACK(D-페닐알라닐-L-프롤릴-L-아르기닌 클로로메틸 케톤), 옥신토모듈린(OXM), 펩티드 YY(3-36)(PYY), 아디포넥틴, 콜레시스토키닌(CCK), 세크레틴, 가스트린, 글루카곤, 모틸린, 소마토스타틴, 뇌성 나트륨이뇨 펩티드(BNP), 심방성 나트륨이뇨 펩티드(ANP), IGF-1, 성장 호르몬 방출 인자(GHRF), 인테그린 베타-4 전구체(ITB4) 수용체 길항제, 노시셉틴, 노시스타틴, 오파닌 FQ2, 칼시토닌, CGRP, 안지오텐신, P 물질, 뉴로키닌 A, 췌장 폴리펩티드, 신경펩티드 Y, 델타 수면 유도 펩티드 및 혈관작용성 장 펩티드로부터 선택되는 하나 이상의 활성제를 추가로 포함하는 건조 분말.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 비표면적이 62 m^2/g 미만인 건조 분말.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 활성제는 펩티드인 건조 분말.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 펩티드는 내분비 호르몬인 건조 분말.

청구항 6

제1항에 있어서, 비표면적이 40 m^2/g 내지 67 m^2/g인 건조 분말.

청구항 7

제1항에 있어서, 비표면적이 45 m^2/g 내지 67 m^2/g인 건조 분말.

청구항 8

제1항에 있어서, 비표면적이 35 m^2/g 내지 56 m^2/g인 건조 분말.

청구항 9

제1항에 있어서, 비표면적이 45 m^2/g 내지 56 m^2/g인 건조 분말.

청구항 10

제2항에 있어서, 상기 활성제는 마이크로입자의 0.01 중량% 내지 20 중량%로 포함되는 것인 건조 분말.

청구항 11

디케토피페라진을 포함하는 마이크로입자를 포함하는 약학 조성물로서, 마이크로입자는 비표면적이 40 m^2/g 내지 67 m^2/g이고 직경이 약 0.5 내지 약 10 마이크론인 약학 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 활성제가 마이크로입자의 표면에 존재하는 약학 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 활성제가 사이토카인, 리포카인, 엔케팔린, 알킨, 시클로스포린, 항-IL-8 항체, IL-8 길항제, 프로스타글란딘, LTB 수용체 차단제, 트립탄, 팔미토리에이트, 인슐린 및 이의 유사체, 성장 호르몬 및 이의 유사체, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 유사체, 부갑상선 호르몬 관련 펩티드(PTHrP), 그렐린, 오베스타틴, 엔테로스타틴, 과립구 대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 아밀린, 아밀린 유사체, 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1), 클로피도그렐, PPACK(D-페닐알라닐-L-프롤릴-L-아르기닌 클로로메틸 케톤), 옥신토모듈린(OXM), 펩티드 YY(3-36)(PYY), 아디포넥틴, 콜레시스토키닌(CCK), 세크레틴, 가스트린, 글루카곤, 모틸린, 소마토스타틴, 뇌성 나트륨이뇨 펩티드(BNP), 심방성 나트륨이뇨 펩티드(ANP), IGF-1, 성장 호르몬 방출 인자(GHRF), 인테그린 베타-4 전구체(ITB4) 수용체 길항제, 노시셉틴, 노시스타틴, 오파닌 FQ2, 칼시토닌, CGRP, 안지오텐신, P 물질, 뉴로키닌 A, 췌장 폴리펩티드, 신경펩티드 Y, 델타 수면 유도 펩티드 및 혈관작용성 장 펩티드로부터 선택되는 것인 약학 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 마이크로입자의 적어도 일부는 결정질인 약학 조성물.

청구항 15

호흡 작동식 흡입기(breath powered inhaler), 및 디케토피페라진의 마이크로입자를 포함하는 건조 분말을 포함하는 흡입 시스템으로서, 마이크로입자는 비표면적이 40 m^2/g 내지 67 m^2/g이고 직경이 약 0.5 내지 약 10 마이크론인 흡입 시스템.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본원은 35 U.S.C. § 19(e) 하에 2009년 6월 12일자에 출원된 미국 가출원 제61/186,773호로부터의 이익을 청구하고, 이의 내용은 그 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본원은 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 디케토피페라진 마이크로입자를 개시한다. 당뇨병 및 비만을 비롯하여 내분비 기관의 질환 또는 질병과 같은 질환 또는 질병의 치료에 있어서 약물 또는 활성제에 대한 전달 시스템으로서 FDKP 마이크로입자를 사용할 수 있다.

배 경 기 술

[0005] 약물 전달은, 특히 전달하고자 하는 화합물이 피험체에게 경구 투여될 때 이의 표적 위치에 도달하기 전에 위장관에서 마주치는 조건 하에 불안정할 때, 수년 동안 주요 문제점을 갖는다. 예를 들면, 특히 투여 용이성, 환자 순응도 및 바람직한 비용의 면에서 약물을 경구로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 그러나, 많은 화합물이 경구로 투여될 때 비효과적이거나 낮거나 가변적인 효능을 나타낸다. 아마도, 이것은 약물이 소화관에서의 조건에 불안정하거나, 약물이 비효율적으로 흡수되기 때문이다.

[0006] 경구 약물 전달과 관련된 문제점으로 인해, 폐로의 약물 전달을 조사하였다. 예를 들면, 혈관확장제, 계면활성제, 화학요법 물질, 또는 독감 또는 다른 호흡기 질환용 백신과 같은 통상적으로 폐로 전달된 약물은 폐의 조직에 효과를 미치도록 설계된다. 뉴클레오티드 약물을 비롯한 다른 약물이 폐로 전달되는데, 왜냐하면 이것은 낭포성 섬유증에서의 유전자 치료와 같은 치료에 특히 적절한 조직을 나타내기 때문이며, 여기서 결함 아데노신

데아미나제를 발현하는 레트로바이러스 벡터가 폐에 투여된다.

[0007] 전신 효과를 갖는 물질에 대한 폐로의 약물 전달을 또한 수행할 수 있다. 전신 물질의 전달을 위한 폐의 이점으로는 넓은 표면적 및 폐의 점막에 의한 흡수의 용이성을 들 수 있다. 모든 이러한 형태의 폐 약물 전달과 관련된 하나의 문제점은 약물이 기관에 늘어선 섬모와 같은 모든 천연 장벽을 통과하게 하고 균일한 용적 및 중량의 약물을 투여하려고 시도하는 데 있어서의 문제점으로 인해 약물을 폐로 전달하기 어렵다는 것이다.

[0008] 따라서, 약물의 폐 전달에서 개선을 위한 여지가 존재한다.

발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 폐로의 개선된 약물 전달을 허용하는 시스템, 마이크로입자 및 방법을 제공한다. 본원에 개시된 실시양태는 비표면적(SSA)이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g인 디케토피페라진(DKP) 마이크로입자를 제공함으로써 개선된 전달을 성취한다. 비표면적이 상기 범위인 DKP 마이크로입자는 개선된 공기역학적 성능 및 개선된 약물 흡착과 같은 폐로의 전달에 유리한 특징을 나타낸다.

[0010] 본원에 개시된 일 실시양태는 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 디케토피페라진 마이크로입자를 포함한다. 다른 실시양태는 비표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g인 디케토피페라진 마이크로입자를 포함한다. 다른 실시양태는 비표면적이 활성제의 부재 하에 약 35 m^2/g 초과이지만 활성제가 입자에 흡착된 후 약 62 m^2/g 미만인 디케토피페라진 마이크로입자를 포함한다.

[0011] 다른 실시양태에서, 비표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g 범위인 푸마릴 디케토피페라진(FDKP) 마이크로입자는 약물 또는 활성제를 포함하고, 기재된 SSA는 약물을 입자에 첨가하기 전에 결정한다. 입자에의 활성제의 결합은 SSA를 감소시키는 경향이 있다. FDKP 마이크로입자의 다양한 실시양태에서, 약물은 예를 들면 펩티드 또는 단백질, 예컨대, 내분비 호르몬, 예를 들면, 인슐린, 글루카곤 유사 펩티드-1(GLP-1), 글루카곤, 엑센딘, 부갑상선 호르몬, 오베스타틴, 칼시토닌, 옥신토모듈린 등일 수 있다. 비표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g 범위인 FDKP 마이크로입자의 다른 실시양태는 마이크로입자를 제조하는 합성 공정의 다운스트림 조건에 따라 변할 수 있는 약물/펩티드 함량을 포함할 수 있다. 특정한 예에서, 표적 또는 전달하고자 하는 용량에 따라 변할 수 있는 약물/펩티드 함량을 갖도록 FDKP 마이크로입자를 제조할 수 있다. 예를 들면, 약물이 인슐린인 경우, 인슐린 성분은 마이크로입자를 포함하는 분말 제제 중에 약 3 U/mg 내지 약 4 U/mg일 수 있다. 특정한 실시양태에서, 약물은 마이크로입자의 표면에 흡착된다. 이 약물 로딩된 마이크로입자의 추가의 실시양태에서, 약물 로딩된 마이크로입자의 SSA는 약 62 m^2/g 미만이다.

[0012] 본원에 개시된 실시양태는 또한 마이크로입자를 포함하는 건조 분말을 포함한다. 일 실시양태에서, 건조 분말은 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP 마이크로입자를 포함한다. 다른 실시양태는 비표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g인 디케토피페라진 마이크로입자를 포함한다. 다른 실시양태는 비표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 62 m^2/g인 약물 또는 활성제를 포함하는 디케토피페라진 마이크로입자를 포함한다.

[0013] 건조 분말의 실시양태에서, FDKP 마이크로입자는 약물을 포함한다. 건조 분말의 다른 실시양태에서, 약물은 다양한 분자 크기 또는 질량의 펩티드, 예컨대 인슐린, 글루카곤 유사 펩티드-1, 글루카곤, 엑센딘, 부갑상선 호르몬, 칼시토닌, 옥신토모듈린 등이다. 약물이 인슐린인 건조 분말의 이러한 실시양태 중 하나에서, FDKP 마이크로입자의 인슐린 함량은 약 3 U/mg 내지 약 4 U/mg이다.

[0014] 추가의 실시양태는 흡입기, 단위 용량 건조 분말 약제 용기, 예를 들면, 카트리지 및 본원에 개시된 마이크로입자 및 활성제를 포함하는 분말 제제를 포함하는 약물 전달 시스템에 관한 것이다. 일 실시양태에서, 건조 분말에 사용하기 위한 약물 전달 시스템은 분말 제제를 탈응집 및 분산하기 위한 공기로를 통한 기류에 높은 저항을 부여하는 공기로를 갖는 높은 저항의 흡입기를 포함하는 흡입 시스템을 포함한다. 일 실시양태에서, 흡입 시스템은 예를 들면 분당 약 0.065(√kPa)/리터 내지 분당 약 0.200(√kPa)/리터의 저항 값을 갖는다. 특정한 실시양태에서, 분당 약 7 내지 70 리터의 최종적 피크 유속을 생성할 수 있는, 피크 흡입 압력 차이가 약 2 kPa 내지 약 20 kPa 범위일 수 있는 흡입 시스템에 의한 흡입에 의해 건조 분말을 효과적으로 전달할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 환자에게 전달되는 분말의 1 이상의 펄스로 또는 연속 흐름으로 흡입기로부터 분말을 배출시킴으로써 단일 용량을 제공하도록 흡입 시스템을 구성한다. 본원에 개시된 몇몇 실시양태에서, 건조 분말 흡입 시스

템은 흡입기 내에 소정의 질량 흐름 균형을 포함한다. 예를 들면, 기류가 분말 제제를 포함하는 면적을 통해 통과하도록 하는 1개 이상의 분배 포트에 의해 흡입기로부터 환자로 배출되는 전체 흐름의 대략 10% 내지 70%의 흐름 균형이 전달되고, 기류의 대략 30% 내지 90%가 흡입기의 다른 공기로로부터 생성된다. 더욱이, 우회 흐름, 또는, 예컨대 카트리지를 통해 분말 오염물질의 면적에 진입하고 이로부터 배출되는 흐름은 흡입기 내 분말 분배 포트로부터 배출되는 흐름과 합해져, 흡입기의 흡입구로부터 배출되기 전 유동화 분말을 희석하고, 가속하고 궁극적으로 탈응집할 수 있다. 일 실시양태에서, 분당 약 7 내지 70 리터 범위의 흡입기 시스템 유속은 1 내지 30 ㎎의 충전 질량으로 분배되는 용기 분말 함량 또는 카트리지 분말 함량의 75% 초과를 발생시킨다. 특정한 실시양태에서, 상기 기재된 흡입 시스템은 단일 흡입에서 40% 초과, 50% 초과, 60% 초과 또는 70% 초과의 백분율로 분말 용량의 호흡성 분율/충전을 배출할 수 있다.

[0015] 특정한 실시양태에서, 건조 분말 흡입기, 푸마릴 디케토피페라진의 마이크로입자 및 1종 이상의 활성제를 포함하는 건조 분말 제제를 포함하는 흡입 시스템으로서, 로딩되지 않은 FDKP 마이크로입자가 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 흡입 시스템을 제공한다. 흡입 시스템의 이 실시양태의 몇몇 양태에서, 단위 용량 카트리지 내의 건조 분말 제제를 제공한다. 대안적으로, 건조 분말 제제를 흡입기 중에 예비 로딩 또는 예비 충전할 수 있다. 이 실시양태에서, 흡입 시스템의 구조 배치는 흡입기의 탈응집 메커니즘이 50% 초과의 호흡성 분율 제공하게 하고; 즉, 흡입기(카트리지)에 포함된 분말의 절반 이상이 5.8 ㎛ 미만의 입자로서 배출된다. 일 실시양태에서, 흡입기는 투약 동안 용기 내에 함유된 분말 약제의 85% 초과를 배출할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 흡입기는 단일 흡입에 포함된 분말 약제의 85% 초과를 배출할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 흡입기는 30 ㎎ 이하 범위의 충전 질량으로 2 kPa 내지 5 kPa의 압력 차이에서 3 초 미만으로 카트리지 함량 또는 용기 함량의 90% 초과를 배출할 수 있다.

[0016] 본원에 개시된 실시양태는 또한 방법을 포함한다. 일 실시양태에서, 내분비 관련 질환 또는 질병을 치료하는 방법은 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP 마이크로입자 및 상기 질환 또는 질병을 치료하기에 적합한 약물을 포함하는 건조 분말 제제를 치료를 필요로 하는 사람에게 투여하는 것을 포함한다. 다른 실시양태는 비표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g인 디케토피페라진 마이크로입자를 포함한다. 다른 실시양태는 비표면적이 약 62 m^2/g 미만인 활성제를 포함하는 디케토피페라진 마이크로입자를 포함한다. 일 실시양태는 상기 기재된 FDKP의 마이크로입자를 포함하는 건조 분말을 치료를 필요로 하는 사람에게 투여하는 것을 포함하는 인슐린 관련 질병의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법은 SSA가 상기 언급된 범위인 푸마릴 디케토피페라진의 마이크로입자를 포함하는 건조 분말 제제를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 다양한 실시양태에서, 인슐린 관련 질병은 구체적으로 임의의 또는 모든 전당뇨병, 1형 당뇨병(소실 단계, 소실 단계 후 또는 둘 다), 2형 당뇨병, 임신성 당뇨병, 저혈당증, 고혈당증, 인슐린 저항, 분비 장애, 인슐린의 손상된 초기 단계 방출, 췌장 β 세포 기능 소실, 췌장 β 세포 소실 및 대사 질병을 포함하거나 배제할 수 있다. 일 실시양태에서, 건조 분말은 인슐린을 포함한다. 다른 실시양태에서, 건조 분말은 글루카곤, 엑센딘 또는 GLP-1을 포함한다.

[0017] 본원에 개시된 다른 실시양태는 건조 분말로서 폐 투여에 적합한 마이크로입자를 제조하는 방법을 포함한다. 일 실시양태에서, 상기 방법은 비표면적이 약 52 m^2/g인 마이크로입자를 형성하도록 제조 조건을 조정함으로써 비표면적이 95% 신뢰 한계 내에서 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g인 디케토피페라진 마이크로입자를 형성하는 것을 포함한다. 다른 실시양태에서, 제조 조건을 조정하는 것은 공급 용액 중의 암모니아, 아세트산 및/또는 디케토피페라진의 온도 또는 농도를 증가 또는 감소시키는 것을 포함한다.

[0018] 본원에 개시된 다른 실시양태는 FDKP와 같은 디케토피페라진을 포함하는 건조 분말로서 폐 투여에 적합한 마이크로입자를 제조하는 방법을 포함한다. 실시양태에서, 마이크로입자는 FDKP 화합물 또는 조성물을 합성하는 것(여기서, 마이크로입자는 표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g임) 및 FDKP 마이크로입자의 표면적을 결정하여 표준 표면적 분석기를 사용하여 그 표면적을 m^2/g 단위로 평가하는 것을 포함한다. 다른 실시양태에서, 활성제 첨가 전의 결정 대신에 또는 이에 추가하여 비표면적을 마이크로입자에 대한 활성제의 흡착 후 결정하고; SSA는 약 62 m^2/g 미만이다. 일 실시양태에서, FDKP 합성은 (a) FDKP 조성물을 염기성 pH를 갖는 용액 중에 용해하여 FDKP 용액을 형성하는 단계; (b) 휘발성 산의 용액을 제공하는 단계 및 (c) 고전단 혼합기 내에서 FDKP 용액을 휘발성 산의 용액과 함께 혼합하여 마이크로입자를 생성하는 단계를 포함한다.

[0019] 특정한 실시양태에서, 표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g 범위인 FDKP 마이크로입자를 제조하는 방법은 비누

화 반응 및 재결정을 포함한다. 일 실시양태에서, (a) FDKP 화합물 또는 조성물을 합성하는 단계, (b) 단계 (b)의 FDKP 화합물을 염기성 pH를 갖는 용액 중에 용해하여 FDKP 용액을 형성하는 단계; (d) 휘발성 산의 용액을 제공하는 단계 및 (e) 고전단 혼합기 내에서 FDKP 용액을 휘발성 산의 용액과 함께 혼합하여 마이크로입자를 생성하는 단계를 포함하는 건조 분말로서 폐 투여에 적합한 마이크로입자를 제조하는 방법을 개시한다. 상기 방법은 입자 형성에 후속하여 입자의 비표면적을 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0020] 구체적인 실시양태에서, 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP 마이크로입자를 합성하는 방법은 0.001 in^2 구멍을 통해 2000 psi에서 Dual-feed SONOLATOR™과 같은 고전단 혼합기를 통해 약 14℃ 내지 약 18℃에서 동질량의 약 10.5 중량%의 아세트산 및 약 2.5 중량%의 FDKP 용액을 공급하여 현탁액을 형성하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 용액으로부터 마이크로입자를 침전시키고 대략 동일한 질량 및 온도의 탈이온수 저장소에 형성된 마이크로입자를 수집하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이 실시양태에서, 현탁액은 약 0.8% 고체의 마이크로입자 함량을 포함한다. 특정한 실시양태에서, 상기 방법은 접선 유동 여과 기술을 이용하여 예를 들면 탈이온수 중에 마이크로입자를 세척함으로써 마이크로입자 현탁액을 농축하는 단계를 더 포함한다. 이런 및 다른 실시양태에서, 침전물을 처음에 약 4% 고체로 농축하고 이후 탈이온수로 추가로 세척할 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 현탁액을 통상적으로 사용된 FDKP 조성물의 초기 질량에 기초하여 약 10% 고체로 농축할 수 있다. 농축된 현탁액을 오븐 건조 방법에 의해 고체 함량에 대해 평가할 수 있다. 본원에 개시된 실시양태에서, 상기 방법은 입자를 건조한 후 입자의 표면적을 결정하는 단계를 더 포함한다.

[0021] 본원에 개시된 조성물 및 방법의 구체적인 실시양태에서, 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 디케토피페라진 마이크로입자는 화학식 2,5-디케토-3,6-비스(N-X-4-아미노부틸)피페라진을 갖는 디케토피페라진(여기서, X는 푸마릴, 숙시닐, 말레일 및 글루타릴로 이루어진 군으로부터 선택됨)을 이용한다. 예시적인 실시양태에서, 디케토피페라진은 화학식 (비스-3,6-(N-푸마릴-4-아미노부틸)-2,5-디케토피페라진 또는 2,5-디케토-3,6-비스(N-푸마릴-4-아미노-부틸)피페라진을 갖는다.

[0022] 본원에 개시된 다른 실시양태는 비표면적이 약 67 m^2/g 미만이고 약물 또는 활성제를 포함하는 FDKP 마이크로입자를 제조하는 방법을 제공하고, 기재된 비표면적은 약물을 입자에 첨가 전에 결정한다. 이 실시양태에서, 상기 방법은 활성제, 예컨대 펩티드, 예컨대 인슐린, 글루카곤, 글루카곤 유사 펩티드-1, 옥신토모듈린, 펩티드 YY 등을 포함하는 용액을 마이크로입자 현탁액에 첨가하는 단계; 암모니아 수용액을 현탁액에 첨가하여, 예를 들면, 현탁액의 pH를 pH 4.5로 증가시키는 단계; 반응을 인큐베이트하고 액체 질소 중에 생성된 현탁액을 순간 냉동시키고 형성된 펠렛을 동결건조하여 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP 마이크로입자를 포함하는 건조 분말을 생성하는 단계를 포함한다. 이 실시양태의 양태에서, 마이크로입자에의 활성제의 흡착 후 마이크로입자의 비표면적은 약 62 m^2/g 미만이다.

[0023] 일 실시양태에서, 환자가 건조 분말을 흡입하도록 함으로써 비표면적이 약 62 m^2/g(로딩되지 않은 마이크로입자에 기초하여 67 m^2/g) 미만인 디케토피페라진 마이크로입자를 포함하는 건조 분말을 폐에 깊게 투여하는 것을 포함하는 인슐린을 필요로 하는 환자에게 인슐린을 전달하는 방법을 개시한다. 이 실시양태의 양태에서, 흡입기 시스템의 특정한 특징이 기재되어 있다.

[0024] 본원에 개시된 다른 실시양태는 환자가 건조 분말을 흡입하도록 함으로써 건조 분말을 폐에 깊게 투여하는 것을 포함하는 약물, 예를 들면 인슐린을 필요로 하는 환자에게 인슐린을 전달하는 방법으로서; 건조 분말은 인슐린을 포함하는 디케토피페라진 마이크로입자를 포함하고; 마이크로입자는 디케토피페라진으로부터 형성되고 표면적이 약 35 m^2/g 내지 약 67 m^2/g 범위인 방법을 포함한다. 이 실시양태의 양태에서, 마이크로입자에의 활성제의 흡착 후 마이크로입자의 비표면적은 약 62 m^2/g 미만이다. 이 실시양태의 양태에서, 흡입기 시스템의 특정한 특징이 기재되어 있다. 추가의 실시양태는 상기 기재된 건조 분말을 이를 필요로 하는 사람에게 투여하는 것을 포함하는 인슐린 관련 질병을 치료하는 방법을 포함한다. 다양한 실시양태에서, 인슐린 관련 질병은 구체적으로 임의의 또는 모든 전당뇨병, 1형 당뇨병(소실 단계, 소실 단계 후 또는 둘 다), 2형 당뇨병, 임신성 당뇨병, 저혈당증, 고혈당증, 인슐린 저항, 분비 장애, 인슐린의 손상된 초기 단계 방출, 췌장 β 세포 기능 소실, 췌장 β 세포 소실 및 대사 질병을 포함하거나 배제할 수 있다.

[0025] 일 실시양태에서, 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP 마이크로입자 및 상기 질환 또는 질병을 치료하는 데 적합한 약물을 포함하는 건조 분말 제제를 치료를 필요로 하는 사람에게 투여하는 것을 포함하는 내분비 관련 질

환 또는 질병을 치료하는 방법을 제공한다. 이 실시양태의 양태에서, 마이크로입자에의 활성제의 흡착 후에 마이크로입자의 비표면적은 약 62 m^2/g 미만이다. 일 실시양태는 상기 기재된 FDKP의 마이크로입자를 포함하는 건조 분말을 이를 필요로 하는 사람에게 투여하는 것을 포함하는 인슐린 관련 질병을 치료하는 방법을 포함한다. 상기 방법은 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP의 마이크로입자 및 인슐린을 포함하는 건조 분말 제제를 피험체에게 투여하는 것을 포함한다. 이 실시양태의 양태에서, 마이크로입자에의 활성제의 흡착 후에 마이크로입자의 비표면적은 약 62 m^2/g 미만이다. 다양한 실시양태에서, 인슐린 관련 질병은 구체적으로 임의의 또는 모든 전당뇨병, 1형 당뇨병(소실 단계, 소실 단계 후 또는 둘 다), 2형 당뇨병, 임신성 당뇨병, 저혈당증, 고혈당증, 인슐린 저항, 분비 장애, 인슐린의 손상된 초기 단계 방출, 췌장 β 세포 기능 소실, 췌장 β 세포 소실 및 대사 질병을 포함하거나 배제할 수 있다. 일 실시양태에서, 건조 분말은 인슐린을 포함한다. 다른 실시양태에서, 건조 분말은 글루카곤, 엑센딘 또는 GLP-1을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0026] 하기의 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고 추가로 본원에 개시된 실시예의 특정한 양태를 설명하도록 포함된다. 본 개시내용은, 본원에 제시된 특정한 실시양태의 상세한 설명과 조합되어, 도면 중 1개 이상에 대한 참조로 더 잘 이해될 수 있다.

도 1a 및 도 1b는 각각 비표면적(SSA)이 큰 마이크로입자 및 작은 마이크로입자를 도시한 것이다.

도 2는 전체 구형 형태를 갖는 푸마릴 디케토피페라진(FDKP) 마이크로입자를 도시한 것이다.

도 3은 FDKP 제조 공정의 도식 표현이다.

도 4a 및 도 4b는 도 3에 도시된 도식에 따라 제조된 마이크로입자/인슐린 분말의 예상 및 실제 SSA를 도시한 것이다.

도 5a~도 5c는 RF/충전, (FDKP 마이크로입자의) SSA 및 공급 용액 온도 사이의 관계식을 도시한 것이다.

도 6a는 RF/충전 및 마이크로입자의 SSA/인슐린 분말 사이의 관계식을 도시한 것이고, SSA > 약 62 m^2/g인 분말이 RF/충전 < 40%의 5% 확률을 갖는다는 것을 보여준다. 도 6b는 공급 농도로부터 SSA를 예상하는 데 있어서 불확실성으로 인한 SSA에 대한 제조 표적을 나타낸다.

도 7은 마이크로입자/인슐린 분말의 SSA의 함수로서 RF/충전을 도시한 것이다. 각각의 점은 마이크로입자/인슐린 분말의 상이한 뱃치를 나타낸다.

도 8a는 약 4% 고체에서 마이크로입자 현탁액의 겉보기 점도에 대한 마이크로입자/인슐린 분말의 SSA의 효과를 도시한 것이다. 도 8b는 현탁액 점도와 분말 성능 사이의 관계식을 도시한 것이다.

도 9는 FDKP 마이크로입자의 SSA의 함수로서 상청액 중의 인슐린 농도를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 기재된 바대로, 폐로의 약물 전달은 여러 이점을 제공한다. 그러나, 균일한 용적 및 중량의 약물로 약물이 천연 물리적 장벽을 통과하여 수송되게 하는 데 있어서의 문제점으로 인해 약물을 폐로 전달하는 것이 어렵다. 약물 전달 물질로서 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 디케토피페라진 마이크로입자, 마이크로입자의 제조 방법 및 마이크로입자를 사용하는 치료 방법이 본원에 개시되어 있다.

[0028] 본원에 사용되는 "마이크로입자"란 용어는 정확한 외부 또는 내부 구조와 무관하게 약 0.5 ㎛ 내지 약 1000 ㎛의 직경을 갖는 입자를 의미한다. 약 0.5 ㎛ 내지 약 10 ㎛의 직경을 갖는 마이크로입자가 대부분의 천연 장벽을 성공적으로 통과하면서 폐에 도달할 수 있다. 목을 돌아다니기 위해 약 10 ㎛ 미만의 직경이 필요하고 호기를 피하기 위해 약 0.5 ㎛ 이상의 직경이 필요하다. 가장 효율적인 흡착이 일어나는 것으로 생각되는 폐(또는 폐포 영역)에 깊게 도달하기 위해, 예를 들면 Andersen Cascade Impactor에 의해 표준 기술을 이용하여 측정할 때, 일부 참조문헌이 다소 상이한 범위를 이용하기는 하지만, 약 0.5 ㎛ 내지 약 5.7 ㎛의 공기역학적 직경을 갖는 입자인 것으로 일반적으로 인정되는 "호흡성 분율"(RF)에 포함된 입자의 비율을 최대화하는 것이 바람직하다. 공기역학적 입자 크기를 측정하기 위해 호흡성 분율이 6.4 ㎛ 미만과 같은 유사한 공기역학적 크기에 의해 한정되는 Next Generation Impactor™(NGI™, MSP Corporation)와 같은 다른 임팩터를 사용할 수 있다. 몇몇

실시양태에서, 입자 크기를 결정하기 위해 관련 교시를 위해 전문이 본원에 포함된 2010년 3월 18일자에 출원된 미국 특허 출원 제12/727,179호에 개시된 레이저 회절 장치와 같은 레이저 회절 장치를 사용하고, 여기서 입자의 용적측정 중앙 기하 직경(VMGD)을 측정하여 흡입 시스템의 성능을 평가하다. 예를 들면, 다양한 실시양태에서, ≥80%, 85% 또는 90%의 카트리지 엠프팅 및 ≤12.5 ㎛, ≤7.0 ㎛ 또는 ≤4.8 ㎛의 배출 입자의 VMGD는 진보적으로 더 우수한 공기역학적 성능을 나타낼 수 있다. 본원에 개시된 실시양태는 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP 마이크로입자가 개선된 공기역학적 성능과 같은 폐로의 약물의 전달에 유리한 특징을 나타낸다는 것을 나타낸다.

[0029] 충전당 호흡성 분율(RF/충전)은 마이크로입자 공기역학적 성능의 측정치인 폐 전달에 적합한 크기에 의해 배출되는 충전된 용량으로부터의 입자의 백분율을 나타낸다. 본원에 기재된 바대로, 40% 또는 40% 초과의 RF/충전 값은 허용가능한 공기역학적 성능 특징을 반영한다. 본원에 개시된 특정한 실시양태에서, 충전당 호흡성 분율은 50% 초과일 수 있다. 예시적인 실시양태에서, 충전당 호흡성 분율은 약 80% 이하일 수 있고, 충전량의 약 80%가 표준 기술을 이용하여 측정할 때 5.8 ㎛ 미만의 입자 크기로 배출된다.

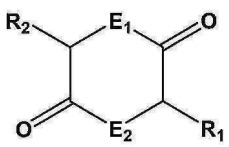
[0030] 본원에 사용되는 "건조 분말"이란 용어는 압축가스, 운반체 또는 다른 액체 중에 현탁되거나 용해되지 않은 미세한 미립자 조성물을 의미한다. 모든 물 분자의 완전한 부재를 반드시 의미하는 것으로 의도되지 않는다.

[0031] 특정한 RF/충전 값은 분말을 전달하기 위해 사용되는 흡입기에 따라 달라질 수 있다는 것을 이해해야 한다. 분말은 일반적으로 응집하는 경향이 있고 결정질 DKP 마이크로입자는 특히 응집성 분말을 형성한다. 건조 분말 흡입기의 기능 중 하나는 생성된 입자가 흡입에 의해 용량을 전달하기에 적합한 호흡성 분율을 포함하도록 분말을 탈응집하는 것이다. 그러나, 응집성 분말의 탈응집은 통상적으로 불완전하여 흡입기에 의해 전달되는 호흡성 분율을 측정할 때 관찰되는 입자 크기 분포가 1차 입자의 크기 분포와 일치하지 않을 것이고, 즉 프로파일이 더 큰 입자를 향해 이동할 것이다. 흡입기 설계는 이의 탈응집 효율이 변하고, 따라서 상이한 설계를 이용하여 관찰된 RF/충전의 절대 값도 또한 변한다. 그러나, 비표면적의 함수로서의 최적 RF/충전은 흡입기마다 유사할 것이다.

[0032] 본원에 사용되는 "약"이란 용어는 그 값을 결정하기 위해 이용되는 장치 또는 방법에 대한 측정의 표준 편차를 포함한다는 것을 나타내기 위해 사용된다.

[0033] **디케토피페라진**

[0034] 약물 불안정성 및/또는 빈약한 흡수와 같은 약학 분야에서의 문제점을 극복하기 위해 사용되는 약물 전달 물질의 1종은 2,5-디케토피페라진이다. 2,5-디케토피페라진은 하기 도시된 일반식 1의 화합물로 표시되고, 여기서 E_1 및 E_2는 독립적으로 N 또는 더욱 특히 NH이다. 다른 실시양태에서, E_1 및/또는 E_2는 독립적으로 산소 또는 질소이어서, E_1 및 E_2에 대한 치환기 중 1개가 산소이고, 다른 1개가 질소인 경우 이 화학식은 치환 유사체 디케토모르폴린을 생성하거나, E_1 및 E_2 둘 다 산소인 경우 이 화학식은 치환 유사체 디케토디옥산을 생성한다.



화학식 1

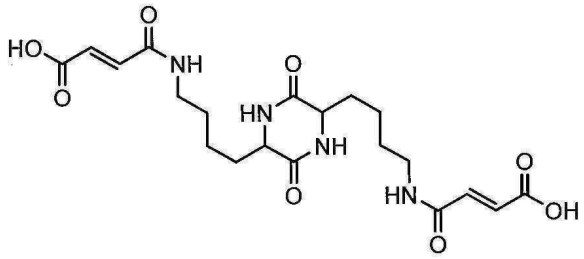
[0035]

[0036] 예를 들면, 모두 디케토피페라진 및 디케토피페라진 매개 약물 전달과 관련하여 교시하고 있다는 점에서 각각 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된, 발명의 명칭이 "Self Assembling Diketopiperazine Drug Delivery System"인 미국 특허 제5,352,461호; 발명의 명칭이 "Method For Making Self-Assembling Diketopiperazine Drug Delivery System"인 제5,503,852호; 발명의 명칭이 "Microparticles For Lung Delivery Comprising Diketopiperazine"인 제6,071,497호; 및 발명의 명칭이 "Carbon-Substituted Diketopiperazine Delivery System"인 제6,331,318호에 기재된 바대로, 이러한 2,5 디케토피페라진, 특히 산성 R_1 및 R_2 기를 보유하는 것은 약물 전달에서 유용한 것으로 나타났다. 디케토피페라진은 약물이 혼입된 마이크로입자 또는 약물이 흡착된 마이크로입자에 형성될 수 있다. 약물 및 디케토피페라진의 조합은 개선된 약물 안정성 및/또는 흡착 특징을 부여할 수 있다. 다양한 투여 경로에 의해 이 마이크로입자를 투여할 수 있다. 건조 분말로서, 폐를 비롯한 호흡기의 특정 면적에 대한 흡입에 의해 이 마이크로입자를 전달할 수 있다.

[0037] 응집된 결정질 판으로 구성된 자가 조립 마이크로입자를 생성시키는 유리 산(또는 염기)의 pH 기반 침전에 의해 이 마이크로입자를 통상적으로 얻는다. 입자가 침전된 DKP 용액 중에 소량의 계면활성제, 예컨대 폴리소르베이트-80에 의해 입자의 안정성이 증대될 수 있다(예를 들면, 모두 DKP 마이크로입자 및 이의 건조 분말의 형성 및 로딩과 관련하여 교시하고 있다는 점에서 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된, 발명의 명칭이 "Method of drug formulation based on increasing the affinity of crystalline microparticle surfaces for active agents"인 US 공개 특허 제2007/0059373호 참조). 궁극적으로, 건조 분말을 얻기 위해 용매를 제거할 수 있다. 용매 제거의 적절한 방법은 동결건조 및 분무 건조(예를 들면, 모두 DKP 마이크로입자 및 이의 건조 분말의 형성 및 로딩과 관련하여 교시하고 있다는 점에서 각각 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된, 발명의 명칭이 "A method for improving the pharmaceutic properties of microparticles comprising diketopiperazine and an active agent"인 US 공개 특허 제2007/0196503호 및 발명의 명칭이 "Purification and stabilization of peptide and protein pharmaceutical agents"인 미국 특허 제6,444,226호 참조)를 포함한다. 본원에 개시된 마이크로입자는 DKP 염으로 이루어진 마이크로입자와 구별된다. 이 입자는 통상적으로 (건조와는 반대로) 분무 건조에 의해 형성되어, (유리 산 또는 염기와 반대로) 비결정질 염의 구 및/또는 붕괴 구를 생성하여, 이것은 화학적으로, 물리적으로 및 형태학적으로 전체와 구별된다. 본 개시내용은 유리 산 또는 용해 음이온으로서 이해되는 FDKP에 관한 것이다.

[0038] 디케토피페라진의 합성 방법은 예를 들면 교시내용이 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된 문헌[Katchalski, et al., J. Amer. Chem. Soc. 68, 879-880 (1946); Kopple, et al., J. Org. Chem. 33(2), 862-864 (1968)]에 기재되어 있다. 2,5-디케토-3,6-디(아미노부틸)피페라진(Katchalski 등은 이것을 리신 무수물이라 칭함)을 또한 Kopple 방법과 유사하게 용융 페놀 중의 N-ε-P-L-리신의 고리생성 이합체화, 이어서 적절한 시약 및 조건에 의한 블록(P) 기의 제거에 의해 제조할 수 있다. 예를 들면, 아세트산 중에 4.3 M HBr을 사용하여 CBz 보호기를 제거할 수 있다. 이 방식이 바람직할 수 있는데, 왜냐하면 이것이 상업적으로 이용 가능한 출발 물질을 사용하고, 이것은 생성물에서의 출발 물질의 입체화학을 보존하는 것으로 보고된 반응 조건을 포함하고, 모든 단계를 용이하게 제조에 대해 규모 확장할 수 있기 때문이다. 디케토피페라진의 합성 방법은 또한 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 또한 포함된 발명의 명칭이 "Catalysis of Diketopiperazine Synthesis"인 미국 특허 제7,709,639호에 기재되어 있다.

[0039] 푸마릴 디케토피페라진(비스-3,6-(N-푸마릴-4-아미노부틸)-2,5-디케토-디케토피페라진; FDKP)은 폐 적용에 대한 하나의 바람직한 디케토피페라진이다:



[0040] .

[0041] FDKP는 산에서 낮은 용해도를 갖지만 중성 또는 염기성 pH에서 용이하게 가용성이므로, 이것은 유리한 마이크로입자 매트릭스를 제공한다. 이 특성은 FDKP가 결정되게 하고 결정이 산성 조건 하게 마이크로입자로 자가 조립되게 한다. 이 입자는 pH가 중성인 생리학적 조건 하에 용이하게 용해한다. 기재된 바대로, 약 0.5 내지 약 10 마이크론 직경을 갖는 마이크로입자는 성공적으로 대부분의 천연 장벽을 통과하면서 폐에 도달할 수 있다. FDKP로부터 이 크기 범위의 입자를 용이하게 제조할 수 있다.

[0042] 기재된 바대로, 약 0.5 내지 약 10 마이크론 직경을 갖는 마이크로입자는 성공적으로 대부분의 천연 장벽을 통과하면서 폐에 도달할 수 있다. FDKP에서 (및 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴 또는 말레일임)과 같은 관련 분자에서) 카복실레이트 기와 같은 산성 기를 갖는 디케토피페라진으로부터 이 크기 범위의 입자를 용이하게 제조할 수 있다. 산 침전시, 결정질 판의 응집체로 이루어진 자가 조립된 입자가 얻어진다. 이 플레이트의 크기는 결국 입자의 구조, 로딩 커패시티 및 공기역학적 성능에 대한 효과에 관련된 입자의 비표면적에 관한 것이다.

[0043] DKP 마이크로입자의 비표면적은 평균 결정 크기의 측정치이고, 마이크로입자 특징에 결정 핵형성 및 성장의 상대적인 기여를 판단하기 위해 사용될 수 있다. 비표면적은 마이크로입자 결정의 크기 및 마이크로입자 매트릭스

의 밀도(ρ)에 따라 달라지고, 결정의 특징적인 크기(L)에 반비례한다. 비표면적은 입자 집단의 특성이고, 반드시 본원에서의 각각의 개별 입자의 특징이 아니다. 본원에 개시된 실시양태는 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 마이크로입자가 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된 발명의 명칭이 "Unit Dose Cartridge and Dry Powder Inhaler"인 미국 특허 제7,464,706호에 개시된 MEDTONE® 흡입기와 같은 적절히 효율적인 흡입기에 의한 개선된 공기역학적 성능과 같은 폐로의 약물의 전달에 유리한 특징을 나타낸다는 것을 보여준다. 비표면적이 약 62 m^2/g 미만인 대안적인 실시양태는 입자의 뱃치가 최소 공기역학적 성능 기준을 만족시킨다는 더 높은 수준의 확신을 제공한다. 비표면적은 또한 약물 로딩/함량 커패시티에 영향을 미치고, 다양한 실시양태는 개선된 약물 흡착 커패시티에 대해 약 35 m^2/g, 40 m^2/g 또는 45 m^2/g 이상의 비표면적을 요한다. 추가로, 비표면적이 약 35 m^2/g 미만에 해당하면서, 심지어 개시내용이 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된, 2009년 6월 12일자에 출원된 발명의 명칭이 "A Dry Powder Inhaler and System for Drug Delivery"인 US 특허 출원 제12/484,125호 및 2010년 3월 4일자에 출원된 발명의 명칭이 "Improved Dry Powder Drug Delivery System"인 미국 특허 출원 제12/717,884호에 개시된 것과 같은 고효율 흡입기에 의해서도 일관성 없는 카트리지 엠프팅이 관찰된다.

[0044] **비표면적 범위의 상한치**

[0045] 본원에 정의된 비표면적 범위의 상한치는 마이크로입자의 공기역학적 성능에 의해 강요된다. 본원에 기재된 연구는 비표면적 값이 약 50 $m^{2/}g$ 초과로 증가하면서, 더 낮은 RF/충전 값에 대한 경향이 존재한다는 것을 입증한다. 추가로, 비표면적이 증가하면서, RF/충전의 분포의 확장 및 RF/충전의 선택된 기준, 예를 들면 RF/충전 > 40%에 해당하는 확률의 증가가 존재한다. 따라서, 몇몇 실시양태에서, 약 67 m^2/g의 상한치를 선택할 수 있다. 여러 제제에 대해 보정된 데이터에 핏팅된 곡선에 기초하여, 이 값은 40%의 RF/충전을 제공할 것으로 예상된다. 다른 실시양태에서, 약 62 m^2/g의 상한치를 선택할 수 있다. 62 m^2/g의 상한치는 95% 신뢰 한계 내에서 허용가능한 RF/충전 값을 갖는 마이크로입자를 제공한다(도 6a 참조).

[0046] 마이크로입자의 비표면적에 대해 상한치를 부여하는 다른 이유는 비표면적이 높은 마이크로입자의 현탁액이 비표면적이 더 낮은 마이크로입자의 현탁액보다 급수 규모로 점성인 경향이 있다는 것이다. 이러한 현상은 아마도 더 작은 결정과 관련된 입자간 인력의 증가를 반영한다. 냉동 건조시, 더 강한 인력은 효과적으로 탈응집되지 않는 응집체를 발생시킬 수 있고, 어쩌면 현탁액 점도가 RF/충전과 역상관되면서 RF/충전을 감소시킬 수 있다.

[0047] 마이크로입자 비표면적은 동결건조된 벌크 분말로부터 결정되고 마이크로입자 형성 조건으로부터 정확히 예상되지 않는다. 따라서, 약 52 m^2/g의 비표면적을 표적하는 것이 바람직할 수 있다. 비표면적이 약 52 m^2/g 설정으로 표적되면서, 마이크로입자의 불과 5%가 62 m^2/g의 더 보존적인 상한치를 초과할 것으로 예상된다(도 6b). 62 m^2/g을 초과할 수 있는 마이크로입자의 5% 내에, 오직 추가 5%(0.25%)가 < 40%의 RF/충전을 나타내는 것으로 예상된다. 따라서, 이 제조 조건은 99% 신뢰 한계에 걸쳐 > 40%의 RF/충전을 갖는 마이크로입자를 제공한다.

[0048] **비표면적 범위의 하한치**

[0049] 본원에 정의된 비표면적 범위의 하한치는 약물 로딩 요건에 의해 강요된다. 마이크로입자는 필요한 약물 양을 로딩하기에 충분한 비표면적을 가져야 한다. 약물이 충분히 흡착되지 않는(즉, 용액 중에 남아 있는) 경우, 비흡착 약물은 형성된 마이크로입자를 "브릿징"하여 응집체를 형성할 수 있다. 응집체는 공기역학적 특징에 부정적으로 영향을 미칠 수 있다. 인슐린의 경우에, 적절한 치료 용량에서 인슐린에 의한 브릿징를 회피하기 위해, 약 35 m^2/g의 더 낮은 비표면적 한계가 필요하다. 브릿징은 또한 더 낮은 비표면적을 갖는 분말에 의해 발생할 수 있는 상기 기재된 빈약한 카트리지 엠프팅에 대한 가능한 원인이다. 이 문제점이 회피될 수 있고 로딩이 최대화될 수 있다는 더 높은 확신을 제공하기 위해, 40 또는 45 m^2/g과 같은 비표면적에 대한 여전히 더 높은 하한치를 사용할 수 있다. 대안적으로, 공기역학적 성능에 영향을 미치는 다른 인자는 더 좁은 오차 내에 유지될 수 있다. 도 1a는 비표면적이 높은 마이크로입자의 클러스터를 보여준다. 도 1b는 비표면적이 낮은 분말에서의 인슐린에 의한 입자의 "브릿징"을 보여준다.

[0050] **FDKP 마이크로입자 형성**

[0051] FDKP 마이크로입자의 제조에서의 제1 단계는 FDKP의 pH 유도 결정화 및 전체 구형 형태를 갖는 마이크로입자로

의 FDKP 결정의 자가 조립에 의한 마이크로입자의 형성이다(도 2). 따라서, 마이크로입자의 제조는 실질적으로 결정화 공정이다. 반복된 원심분리, 경사분리 및 재현탁 또는 정용여과에 의해 현탁액을 세척함으로써 과량 용매를 제거할 수 있다.

[0052] 인슐린 로딩된 FDKP 마이크로입자를 형성하기 위해, 인슐린 스톡 용액을 FDKP 마이크로입자 현탁액에 첨가함으로써 인슐린을 현탁액(즉, 동결 건조 전)에 있게 하면서 마이크로입자 상에 직접 흡착시킬 수 있다. 일 실시양태에서, 인슐린 스톡 용액의 첨가 후 pH 조절 단계를 또한 수행할 수 있다. 이 단계는 추가 공정 전에 현탁액 중에서 마이크로입자 상에 인슐린 흡착을 촉진할 수 있다. 약 4.5로 현탁액의 pH를 증가시키는 것은 입자 매트릭스로부터 FDKP의 과도한 분해 없이 현탁액 중에서 마이크로입자 상에 완전한 인슐린 흡착을 촉진하고, 또한 벌크 약물 생성물에서 인슐린의 안정성을 증대시킨다. 현탁액을 액체 질소 중에 급속 냉동(즉, 냉동 펠렛화)하고 동결건조하여 용매를 제조하고 건조 분말을 얻는다. 대안적인 실시양태에서, 현탁액을 분무 건조하여 건조 분말을 얻을 수 있다. 도 3은 적절한 제조 공정의 도식 표현을 제공한다.

[0053] 일 실시양태에서, 인슐린을 포함하는 본 발명의 FDKP 마이크로입자를 제조하는 방법을 제공한다. 요약하면, 고전단 혼합기, 예컨대 Dual-feed Sonolator™ 또는 예를 들면 개시내용이 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된 2009년 11월 2일자에 출원된 미국 가출원 제61/257,311호에 개시된 고전단 혼합기를 사용하여, 약 16℃±약 2℃에서 동질량의 약 10.5 중량%의 아세트산 및 약 2.5 중량%의 FDKP 용액(표 1 및 2)을 0.001 in^2 구멍을 통해 Dual-feed Sonolator™에 의해 2000 psi로 공급할 수 있다. 침전물을 대략 동일한 질량 및 온도의 탈이온수(DI 수) 저장소에 수집할 수 있다. 생성된 현탁액은 약 0.8% 고체를 포함한다. 침전물을 농축하고 접선 유동 여과에 의해 세척할 수 있다. 침전물을 우선 약 4% 고체로 농축하고 이후 탈이온수로 세척한다. 현탁액을 최종적으로 FDKP의 초기 질량에 기초하여 약 10% 고체로 농축할 수 있다. 오븐 건조 방법에 의해 고체 함량에 대해 농축된 현탁액을 평가할 수 있다.

[0054] 일 실시양태에서, 1 부 인슐린 및 9 부 약 2 중량% 아세트산에 의해 농축된 인슐린 스톡 용액을 제조할 수 있다. 인슐린 스톡을 중량측정하여 현탁액에 첨가하여 약 11.4 중량%의 인슐린의 로드를 얻을 수 있다. 인슐린-FDKP 현탁액을 약 15 분 이상 혼합할 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 혼합에 짧은 또는 긴 시간이 걸릴 수 있다. 이후, 인슐린-FDKP 현탁액을 약 14 내지 약 15 중량%의 암모니아 수용액에 의해 약 3.5의 초기 pH로부터 약 4.5의 pH로 적정할 수 있다. 현탁액을 액체 질소 중에 급속 냉동하여 펠렛을 형성하고 동결건조하여 벌크 인슐린 함유 FDKP 마이크로입자를 생성할 수 있다. 인슐린 로딩 및 pH 조정 단계가 없이 블랭크 FDKP 마이크로입자를 동일하게 제조할 수 있다. 일 실시양태에서, 본원에 기재된 마이크로입자를 포함하는 FDKP-인슐린 벌크 분말의 밀도는 약 0.2 g/㎤ 내지 약 0.3 g/㎤이다.

[0055] [표 1] 10.5%의 아세트산 용액

화합물	중량 (%)
증류수	89.00
빙초산(GAA)	10.50
10% 폴리소르베이트 80	0.50

0.2 μm 여과

[0056]

[0057] [표 2] 2.5%의 FDKP 용액

성분	중량 (%)
증류수	95.40
FDKP	2.50
NH_4OH	1.60
10% 폴리소르베이트 80	0.50

0.2 μm 여과

[0058]

[0059] **비표면적의 조절**

[0060] FDKP 결정의 크기 분포 및 형상은 새로운 결정의 핵형성과 기존 결정의 성장 사이의 균형에 의해 영향받는다.

현상 둘 다 강하게 용액 중의 농도와 고포화에 따라 달라진다. FDKP 결정의 특징적인 크기는 핵형성 및 성장의 상대 속도의 표시이다. 핵형성이 우세한 경우, 많은 결정이 형성되지만, 이것은 비교적 작은데, 왜냐하면 이것이 모두 용액 중에서 FDKP와 경쟁하기 때문이다. 성장이 우세한 경우, 경쟁하는 결정이 더 적고 결정의 특징적인 크기가 더 크다.

[0061] 결정화는 강하게 과포화에 따라 달라지고, 결국 강하게 공급물 스트림 내 성분의 농도에 따라 달라진다. 더 높은 과포화는 많은 작은 결정의 형성과 관련되고; 더 낮은 과포화는 더 큰 결정을 더 적게 생성한다. 과포화의 면에서: (1) FDKP 농도의 증가는 과포화를 일으키고; (2) 암모니아의 농도의 증가는 더 높은 pH로, 예컨대 약 pH 4.5로 시스템을 이동시키고, 평형 용해도를 증가시키고, 과포화를 감소시키고; (3) 평형 용해도가 더 낮은 더 낮은 pH로 종점을 이동시킴으로써 아세트산 농도의 증가는 과포화를 증가시킨다. 이 성분의 농도의 감소는 반대 효과를 유도한다.

[0062] 온도는 FDKP 결정 핵형성 및 성장의 FDKP 용해도 및 동력학에 대한 이의 효과를 통해 FDKP 마이크로입자 형성에 영향을 미친다. 저온에서, 비표면적이 높은 작은 결정이 형성된다. 이 입자의 현탁액은 강한 입자간 인력을 나타내는 높은 점도를 나타낸다. 약 12℃ 내지 약 26℃의 온도 범위는 95% 신뢰 수준에서 RF/충전 > 40%를 제공한다. 온도와 비표면적 간의 관계식을 설명하기 위해, 약 13℃ 내지 약 23℃의 약간 더 좁지만 내부적으로 일정한 온도 범위를 사용할 수 있다.

[0063] 마지막으로, 마이크로입자의 표면에의 활성제의 흡착이 비표면적을 감소시키는 경향이 있다는 것을 인식해야 한다. 활성제의 흡착은 입자를 구성하는 결정질 판 사이의 여러 더 좁은 간격을 충전하거나, 그렇지 않으면 이를 막아, 비표면적을 감소시킨다. 추가로, 활성제의 흡착은 마이크로입자의 직경(크기)에 실질적으로 영향을 미치는 일 없이 마이크로입자에 질량을 더한다. 비표면적이 마이크로입자의 질량에 반비례하므로, 비표면적의 감소가 발생한다.

[0064] **활성제의 선택 및 도입**

[0065] 본원에 기재된 마이크로입자가 약 67 m^2/g 미만의 필요한 비표면적을 보유하는 한, 이것은 폐로의 전달 및/또는 약물 흡착에 유리한 다른 추가의 특징을 채용할 수 있다. 발명의 명칭이 "Method for Drug Delivery to the Pulmonary System"인 미국 특허 제6,428,771호는 폐로의 DKP 입자 전달을 기재한 것이고 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된다. 발명의 명칭이 "Purification and Stabilization of Peptide and Protein Pharmaceutical Agents"인 미국 특허 제6,444,226호는 마이크로입자 표면에의 약물의 흡착을 위한 유리한 방법을 기재한 것이고 또한 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된다. 마이크로입자 표면 특성은 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된 발명의 명칭이 "Method of Drug Formulation based on Increasing the Affinity of Crystalline Microparticle Surfaces for Active Agents"인 미국 특허 출원 제11/532,063호에 기재된 바람직한 특징을 성취하기 위해 조작될 수 있다. 발명의 명칭이 "Method of Drug Formation based on Increasing the Affinity of Active Agents for Crystalline Microparticle Surfaces"인 미국 특허 출원 제11/532,065호는 마이크로입자에의 활성제의 흡착을 촉진하는 방법을 기재한 것이다. 미국 특허 출원 제11/532,065호는 또한 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된다.

[0066] 본원에 기재된 마이크로입자는 1종 이상의 활성제를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 "활성제"는, "약물"과 상호교환되어 사용되어, 소분자 의약, 생물제 및 바이오활성제를 비롯한 약학 물질을 의미한다. 활성제는 천연, 재조합 또는 합성 기원, 예컨대 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 핵산, 유기 마크로분자, 합성 유기 화합물, 폴리사카라이드 및 다른 당, 지방산 및 지질 및 항체 및 이의 단편, 예컨대, 인간화 또는 키메라 항체, F(ab), $F(ab)_2$, 단쇄 항체 단독 또는 다른 폴리펩티드 또는 암 항원에 대한 치료학적 또는 진단학적 단클론 항체와 융합된 것(이들로 제한되지는 않음)일 수 있다. 활성제는 다양한 생물학적 활성 및 분류, 예컨대 혈관작용제, 신경활성제, 호르몬, 항응고제, 면역조정제, 세포독성제, 항생제, 항바이러스제, 항원, 감염원, 염증 매개체, 호르몬 및 세포 표면 항원 하에 해당할 수 있다. 더욱 특히, 활성제는, 비제한적인 방식으로, 사이토카인, 리포카인, 엔케팔린, 알킨, 시클로스포린, 항-IL-8 항체, ABX-IL-8을 포함하는 IL-8 길항제; PG-12를 포함하는 프로스타글란딘, LY29311, BIIL 284 및 CP105696을 포함하는 LTB 수용체 차단제; 트립탄, 예컨대 수마트립탄 및 팔미톨레이트, 인슐린 및 이의 유사체, 성장 호르몬 및 이의 유사체, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 유사체, 부갑상선 호르몬 관련 펩티드(PTHrP), 그렐린, 오베스타틴, 엔테로스타틴, 과립구 대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 아밀린, 아밀린 유사체, 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1), 클로피도그렐, PPACK(D-페닐알라닐-L-프롤릴-L-아르기닌 클로로메틸 케톤), 옥신토모듈린(OXM), 펩티드 YY(3-36)(PYY), 아디포넥틴, 콜레시스토키닌(CCK), 세크레틴,

가스트린, 글루카곤, 모틸린, 소마토스타틴, 뇌성 나트륨이뇨 펩티드(BNP), 심방성 나트륨이뇨 펩티드(ANP), IGF-1, 성장 호르몬 방출 인자(GHRF), 인테그린 베타-4 전구체(ITB4) 수용체 길항제, 노시셉틴, 노시스타틴, 오파닌 FQ2, 칼시토닌, CGRP, 안지오텐신, P 물질, 뉴로키닌 A, 췌장 폴리펩티드, 신경펩티드 Y, 델타 수면 유도 펩티드 및 혈관작용성 장 펩티드를 포함할 수 있다. 마이크로입자는 또한 다른 물질, 예를 들면, 조영 염료, 예컨대 텍사스 레드를 전달하기 위해 사용할 수 있다.

[0067] 비표면적이 약 67 m^2/g 미만인 FDKP로부터 형성된 마이크로입자에 전달하고자 하는 약물 함량은 통상적으로 0.01% 초과이다. 일 실시양태에서, 상기 언급된 비표면적을 갖는 마이크로입자에 의해 전달하고자 하는 약물 함량은 인슐린과 같은 펩티드에 통상적인 약 0.01% 내지 약 20% 범위일 수 있다. 예를 들면, 약물이 인슐린인 경우, 본 발명의 마이크로입자는 통상적으로 3~4 U/mg(대략 10 내지 15%)의 인슐린을 포함한다. 특정한 실시양태에서, 입자의 약물 함량은 전달하고자 하는 약물의 형태 및 크기에 따라 달라질 수 있다.

[0068] 본원에 기재된 마이크로입자가 필요한 비표면적을 보유하는 한, 이것은 폐로의 전달 및/또는 약물 흡착에 유리한 다른 추가의 특징을 채용할 수 있다. 발명의 명칭이 "Method for Drug Delivery to the Pulmonary System"인 미국 특허 제6,428,771호는 폐로의 DKP 입자 전달을 기재한 것이고 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된다. 발명의 명칭이 "Purification and Stabilization of Peptide and Protein Pharmaceutical Agents"인 미국 특허 제6,444,226호는 마이크로입자 표면에의 약물의 흡착을 위한 유리한 방법을 기재한 것이고 또한 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된다. 마이크로입자 표면 특성은 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된 발명의 명칭이 "Method of Drug Formulation based on Increasing the Affinity of Crystalline Microparticle Surfaces for Active Agents"인 미국 특허 출원 제11/532,063호에 기재된 바람직한 특징을 성취하기 위해 조작될 수 있다. 발명의 명칭이 "Method of Drug Formation based on Increasing the Affinity of Active Agents for Crystalline Microparticle Surfaces"인 미국 특허 출원 제11/532,065호는 마이크로입자에의 활성제의 흡착을 촉진하는 방법을 기재한 것이다. 미국 특허 출원 제11/532,065호는 또한 동일 내용과 관련하여 교시를 위해 참조문헌으로 본원에 포함된다.

[0069] **[실시예]**

[0070] 하기의 실시예는 개시된 마이크로입자의 실시양태를 설명하도록 포함된다. 하기의 실시예에 개시된 기술은 발명자가 본 개시내용의 실행시 잘 수행하는 것으로 개발된 기술을 나타내는 것으로 당업자가 이해해야 하고, 따라서 이의 실행을 위한 바람직한 방식을 구성하는 것으로 생각될 수 있다. 그러나, 당업자는, 본 개시내용의 견지에서, 개시된 구체적인 실시양태에 많은 변화가 이루어질 수 있고 여전히 동일한 또는 유사한 결과를 얻을 수 있는 것으로 이해된다.

[0071] **실시예 1**

[0072] **Ⅰ. 제조 절차**

[0073] **A. FDKP/인슐린 마이크로입자 생성을 위한 일반적인 제조 절차**

[0074] 푸마릴 디케토피페라진(FDKP) 및 인슐린으로부터 마이크로입자를 제조하였다. FDKP를 수성 NH_4OH 중에 용해시켜 용액을 형성하였다. 이 용액의 공급물 스트림을 고전단 혼합기에서 수성 아세트산(HOAc) 용액의 공급물 스트림과 합하여 마이크로입자의 수성 현탁액을 형성하였다.

[0075] 약 2.5 중량%의 FDKP, 약 1.6 중량%의 농축 NH_4OH(약 28 내지 약 30 중량%의 NH_3) 및 약 0.05 중량%의 폴리소르베이트 80에 의해 FDKP 공급 용액을 제조하였다. 약 10.5 중량%의 빙초산 및 약 0.05 중량%의 폴리소르베이트 80에 의해 아세트산 공급 용액을 제조하였다. 공급 용액 둘 다 약 0.2 ㎛ 막을 통해 여과한 후 사용하였다.

[0076] 도 3은 인슐린을 포함하는 본 FDKP 마이크로입자의 제조 방법의 도식 표현을 나타낸 것이다. 이 실시양태에서, 고전단 혼합기, 예를 들면, Dual-feed SONOLATOR™ 또는 개시내용이 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된 2009년 11월 2일자에 출원된 미국 가출원 제61/257,311호에 개시된 것을 사용하여, 동질량(질량 기준)의 각각의 공급 용액을 5호 구멍(0.0011 in^2)을 갖는 Dual-feed Sonolator™을 통해 펌프질하였다. 소형 펌프를 동일한 유속의 각각의 공급물 스트림에 대해 50%로 설정하고 공급 압력은 약 2000 psi이었다. DI 수를 포함하는 수용 용기는 공급 용액의 질량과 동일하였다(예를 들면, FDKP 공급 용액 4 kg 및 HOAc 공급 용액 4 kg을 DI 수 4 kg을 포함하는 수용 용기로 Sonolator™을 통해 펌프질하였다).

[0077] 생성된 현탁액을 농축하고 0.2 ㎡ PES(폴리에테르설폰) 막을 사용하여 접선 유동 여과에 의해 세척하였다. 현탁액을 우선 약 4% 고체로 농축하고 이후 DI 수로 정용여과하고 마지막으로 약 16% 명목 고체로 농축하였다. 세척된 현탁액의 고체의 실제 백분율을 "건조 감량"에 의해 결정하였다. 개시내용이 교시를 위해 본원에 참조문헌으로 포함된 발명의 명칭이 "Determining Percent Solids in Suspension Using Raman Spectroscopy"인 2010년 5월 7일자에 출원된 미국 가출원 제61/332,292호에 개시된 것과 같은 대안적인 방법을 현탁액 중에 고체 백분율을 측정하기 위해 사용할 수 있다.

[0078] DI 수 중의 약 2 중량% HOAc를 포함하는 용매 중에 (수취한 대로) 10 중량% 인슐린을 포함하는 인슐린 스톡 용액을 제조하고, 무균 여과하였다. 현탁액의 고체 함량에 기초하여, 적절한 양의 스톡 용액을 혼합 현탁액에 첨가하였다. 이후, 암모니아 용액을 사용하여 약 3.6의 pH로부터 약 4.5의 pH로 현탁액의 pH를 조절하여 생성된 마이크로입자/인슐린 현탁액을 조정하였다.

[0079] 인슐린을 포함하는 FDKP 마이크로입자를 포함하는 현탁액을 예를 들면 개시내용 전문이 참조문헌으로 본원에 포함된 2009년 11월 2일자에 출원된 미국 가출원 제61/257,385호에 공개된 입자제조기/조립기로 옮기고, 액체 질소 중에 급속 냉동에 의해 펠렛화하였다. 차가운 펠렛을 동결건조하여 건조 분말을 생성시켰다.

[0080] **B. 5% 및 10% 연구에서 사용된 FDKP/인슐린 마이크로입자 생성을 위한 제조 절차**

[0081] 5% 및 10% 연구에서, 비표면적 및 분말 공기역학 특성에 미치는 공급 농도의 효과를 조사하였다. 5% 연구에서, 3가지 인자, 즉 FDKP, 암모니아 및 아세트산의 농도의 효과를 결정하도록 실험을 설계하고 3X3 요인 실험에서 조사하고, 여기서 높은 및 낮은 수준은 제어 조건으로부터 5%이었다. 10% 연구에서, FDKP, 암모니아 및 아세트산의 농도를 또한 3X3 요인 실험에서 조사하였지만, 높은 수준 및 낮은 수준은 제어 조건으로부터 10%이었다.

[0082] [표 3] 평가된 마이크로입자 형성 조건

수준	FDKP (공급 용액 중 중량(%))	강한 암모니아 용액 (공급 용액 중 중량(%))	아세트산(HOAc) (공급 용액 중 중량(%))
+10%	2.75	1.76	11.55
+5%	2.63	1.68	11.03
대조군	2.50	1.60	10.50
-5%	2.38	1.52	9.98
-10%	2.25	1.44	9.45

주의: 달리 기재되지 않은 한, 모든 공급 용액은 약 0.05 중량% 폴리소르베이트 80 을 포함하고, 약 16°C 에서 유지된다.

[0083]

[0084] **C. 최종 측정**

[0085] 벌크 분말의 호흡성 분율(RF/충전)은 공기역학적 성능 및 마이크로입자 크기 분포의 측정치이고, Andersen Cascade Impactor에 의한 실험에 의해 결정하였다. RF/충전 값을 얻기 위해, 카트리지에 벌크 분말을 충전하고 약 30 L/분에서 MEDTONE® 흡입기를 통해 배출시켰다. 각각의 흡입기 단에서 수집된 분말을 칭량하고 수집된 전체 분말을 카트리지에 충전된 전체 양으로 정규화하였다. 따라서, RF/충전은 카트리지에 로딩된 분말로 나눈 호흡성 분율을 나타내는 임팩터의 단에서 수집된 분말이었다.

[0086] 마이크로입자의 비표면적(SSA)을 질소의 흡착에 의해 결정하고 비표면적 분석기(MICROMERITICS® TriStar 3000 Surface Area and Porosity Analyzer)를 사용하여 BET(Brunauer-Emmett-Teller) 표면적의 면에서 보고하였다. 비표면적은 결정의 크기 및 마이크로입자 매트릭스의 밀도(ρ)에 따라 달라지고 FDKP 결정의 특징적인 크기(L)에 역비례하였다:

[0087] $$SSA = \frac{\text{표면적}}{\text{질량}} \sim \frac{L^2}{\rho L^3} \sim L^{-1}$$

[0088] **Ⅱ. 비표면적에 미치는 공급 조건의 효과**

[0089] 5% 및 10% 연구에서 제조된 모든 분말에서 비표면적을 측정하였다. 선형 회귀 방정식에 의해 비표면적을 예측하

였다(도 3 참조). 예측 표준 편차는 5% 연구의 경우 ±2 m^2/g이었고 10% 연구의 ±5.6 m^2/g이었다. 이 결과는 이론적 예측과 일치하였다: 더 높은 FDKP 농도, 더 높은 HOAc 농도 또는 더 낮은 암모니아 농도는 결정 핵형성을 촉진하여 비표면적을 증가시켰다(더 적은 결정 생성).

[0090] **Ⅲ. 온도의 효과**

[0091] 온도를 제외한 공급 용액 특징이 제어 조건에서 설정되는 일련의 연구에서 입자 특성에 미치는 온도의 효과를 조사하였다. 공급 용액 온도는 4~32℃ 범위이었다. 마이크로입자 분말의 비표면적 및 생성된 마이크로입자 분말의 RF/충전 둘 다 결정하였다.

[0092] RF/충전, 비표면적 및 온도를 도 5에 교차 플롯팅하였다. (RF/충전을 인슐린 함유 마이크로입자에 의해 결정하고; 플롯팅된 비표면적은 인슐린의 흡착 전에 입자에 대해 결정된 것이다). 마이크로입자 분말의 RF/충전을 18℃ 내지 약 19℃ 근처에서 최대화하였다(도 5a). 파선 곡선은 예측의 단측 95% 신뢰 하한이다(즉, 곡선 위의 값은 95% 확률로 예상된다). 약 12℃ 내지 약 26℃의 온도 범위는 95% 신뢰 수준에서 40% 초과의 RF/충전을 제공할 것이다. 블랭크(약물 비함유) 마이크로입자 분말의 비표면적에 대해 RF/충전을 플롯팅할 때(도 5b), 생성된 곡선은 온도에 대한 것과 닮았다. 그러나, 점의 순서는 역전되었다. (예를 들면, 샘플 "A"는 지금 축의 오른쪽 끝에서 보이지만, 샘플 "B"는 왼쪽 끝에 보인다.) 비표면적이 26~67 m^2/g인 마이크로입자는 95% 신뢰 수준에서 40% 초과의 RF/충전을 제공하였다. 온도와 비표면적 사이의 관계식을 고려하여(도 5c), 입자 형성에 약간 더 좁지만 약 13℃ 내지 약 23℃의 내부적으로 일정한 온도 범위가 확인되었다.

[0093] **Ⅳ. RF/충전에 미치는 비표면적의 효과**

[0094] 약 50 m^2/g 초과의 비표면적 값에서 더 낮은 RF/충전 값에 대한 경향이 존재하였다(도 6a). 적절한 RF/충전 값에서 95% 신뢰 한계를 여전히 유지시키면서 약 62 mg^2/g의 상한치를 사용할 수 있었다(즉, 40% 초과; 도 6b).

[0095] 도 7은 비표면적이 상부 범위에서 증가하면서, RF/충전의 분포의 확대 및 40% 초과의 RF/충전의 선택 기준에 해당하는 더 높은 확률이 존재한다는 것을 보여준다. 도 8a는 약 67 m^2/g과 같이 비표면적이 높은 마이크로입자의 현탁액은 Brookfield Viscometer(Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, MA)에 의해 측정할 때 약 14 m^2/g 미만과 같이 비표면적이 더 낮은 마이크로입자의 현탁액보다 급수 규모로 더 점성인 경향이 있었다. 도 8b는 현탁액 점도가 RF/충전에 의해 역상관된다는 것을 보여준다.

[0096] **Ⅴ. 비표면적 및 인슐린 흡착**

[0097] 비표면적과 인슐린 흡착 사이의 관계식을 조사하였다.

[0098] 마이크로입자의 현탁액을 5% 및 10% 연구 뱃치에 대해 이전에 기재된 바대로 제조하고 약 11.4% 인슐린에서 로딩하였다. 추가로, 제어 공급 농도 그러나 약 4℃ 내지 약 32℃ 범위의 공급 용액 온도에 의해 형성된 마이크로입자를 또한 평가하였다. 적정된 현탁액은 14 중량%의 암모니아의 단일 점적의 연속 희석에 의해 약 pH 3.6에서 약 pH 4.5로 상승된 현탁액의 pH를 가졌다. 인슐린 농도에 대해 적정된 현탁액 및 상청액의 샘플을 평가하였다. (적정 및 비적정된) 모든 현탁액을 동결건조하여 건조 분말을 생성시켰다. MICROMERITICS® TriStar 3000을 사용하여 비표면적에 대해 분말을 시험하였다.

[0099] 낮은 비표면적에서, 비결합 인슐린의 양과 비표면적 사이에 선형 관계식이 존재하였다(도 9). 비표면적이 약 35 m^2/g 초과일 때 95% 이상의 인슐린의 흡착이 일어났다. 인슐린 흡착의 정도는 약 40 m^2/g 이하의 비표면적에 의해 계속해서 증가하였다. 이 비표면적 초과에서, 마이크로입자는 거의 모든 인슐린을 흡착하였다.

[0100] 이 연구의 결과는 약 35 m^2/g 내지 약 62 m^2/g의 마이크로입자 비표면적에 대해 유리한 하한치 및 상한치를 제시한다. 80% 초과 또는 90% 초과 또는 95% 초과의 마이크로입자가 이 범위의 비표면적을 갖는 마이크로입자를 제공하는 것은 95% 신뢰 한계 내에서 유리한 RF/충전 및 약물 흡착 특징을 갖는 마이크로입자를 제공하였다.

[0101] **실시예 2**

[0102] **용적측정 중앙 기하 직경(VMGD) 특징에 의한 배출 제제의 기하 입자 크기 분석**

[0103] 건조 분말 흡입기로부터 배출된 건조 분말 제제의 레이저 회절은 분말에 처리된 탈응집의 수준을 규명하기 위해 이용되는 통상의 방법론이다. 이 방법론은 산업 표준 임팩션 방법론에서 발생하는 공기역학적 크기보다는 기하

크기의 측정치를 나타낸다. 통상적으로, 배출된 분말의 기하 크기는 중앙 입자 크기, VMGD에 의해 특징지어지는 용적측정 분포를 포함한다. 중요하게는, 배출된 입자의 기하 크기는 임팩션 방법에 의해 제공되는 공기역학적 크기와 비교하여 고조된 해상도에 의해 파악된다. 더 작은 크기가 바람직하고 개별 입자가 폐 호흡기도로 전달되는 가능성을 증가시킨다. 따라서, 흡입기 탈응집의 차이 및 최적 성능은 회절에 의해 해결하기 더 쉬울 수 있다. 이 실험에서, 흡입기를 실제 환자 흡기 용량에 유사한 압력에서 레이저 회절에 의해 시험하여 분말 제제를 탈응집하는 흡입 시스템의 효과를 결정하였다. 구체적으로, 제제는 활성 인슐린 로딩된 성분을 갖거나 갖지 않는 응집성 디케토피페라진 분말을 포함하였다. 이 분말 제제는 특징적인 표면적, 이성체 비율 및 Carr 지수를 보유하였다. 표 4에서 시험 동안 VMGD 및 용기 엠프팅의 효율을 기록하였다. FDKP 분말은 50의 근사 Carr 지수를 갖고 TI 분말은 40의 근사 Carr 지수를 가졌다.

[0104] [표 4]

흡입기 시스템	분말	트랜스 (%)	SSA	압력 강하 (kPa)	샘플 크기	CE(%)	VMGD (마이크론)
DPI 2	FDKP	56	55	4	15	92.5	6.800
MedTone®	FDKP	56	55	4	30	89.5	21.200
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	4	30	98.0	4.020
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	4	20	97.0	3.700
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	4	20	98.4	3.935
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	4	20	97.8	4.400
MedTone®	FDKP + 활성제	56	45	4	10	86.1	9.280
MedTone®	FDKP + 활성제	56	45	4	10	92.3	10.676
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	2	7	92.9	4.364
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	2	7	95.1	4.680
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	4	7	97.0	3.973
DPI 2	FDKP + 활성제	56	45	4	7	95.5	4.250
DPI 2	FDKP + 활성제	56	56	4	10	99.6	6.254
DPI 2	FDKP + 활성제	56	14	4	10	85.5	4.037
MedTone®	FDKP + 활성제	56	56	4	20	89.7	12.045
MedTone®	FDKP + 활성제	56	14	4	20	37.9	10.776
DPI 2	FDKP + 활성제	54	50	4	10	97.1	4.417
DPI 2	FDKP + 활성제	54	44	4	10	96.0	4.189
DPI 2	FDKP + 활성제	56	35	4	10	92.0	3.235
DPI 2	FDKP + 활성제	50	34	4	10	93.2	5.611
DPI 2	FDKP + 활성제	66	33	4	10	79.0	4.678
DPI 2	FDKP + 활성제	45	42	4	10	93.2	5.610
DPI 2	FDKP + 활성제	56	9	4	10	78.9	5.860

[0105]

[0106] 표 4에서의 데이터는 MedTone® 흡입기 시스템에 비해 DPI 2로서 확인된 흡입기에서의 분말 탈응집의 개선을 보여준다. 표면적이 14~56 m^2/g 범위인 디케토피페라진 제제는 85% 초과의 엠프팅 효율 및 7 마이크론 미만의 VMGD를 나타냈다. 유사하게, 45~66% 트랜스 범위의 이성체 비율을 보유하는 제제는 인정 장치에 비해 개선된 성능을 나타냈다. 그러나, 15 m^2/g 미만에서 더 효율적인 흡입기에 의하더라도 트랜스 이성체 함량이 본원에 개시된 원하는 범위를 벗어나면서 공기역학적 성능의 하락(감소)을 나타내는 카트리지 엠프팅의 감소가 존재한다는 것을 주목할 가치가 있다. 마지막으로, 40~50의 Carr 지수를 갖는 것을 특징으로 하는 제제에 의한 흡입기 시스템의 성능은 또한 인정 장치에 비해 개선되는 것으로 보였다. 모든 경우에, 보고된 VMGD 값은 7 마이크론 미만이었다.

[0107] 달리 기재되지 않은 한, 명세서 및 특허청구범위에서 사용되는 성분의 분량, 분자 중량과 같은 특성, 반응 조건 및 기타 등등을 포함하는 모든 숫자는 모든 경우에 "약"이란 용어에 의해 변형되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 달리 반대로 표시되지 않는 한, 명세서 및 특허청구범위에 기재된 숫자 매개변수는 본 발명에 의해 얻어지는 추구하고자 하는 바람직한 특성에 따라 변할 수 있는 근사치이다. 매우 최소한으로, 특허청구범위에 균등

물의 원리의 적용을 제한하는 시도가 아니면서, 각각의 숫자 매개변수는 보고된 유의적인 숫자의 수에 견지에서 통상의 반올림 기술을 적용하여 적어도 해석되어야 한다. 본 발명의 넓은 범위를 기재하는 숫자 범위 및 매개변수가 근사치임에도 불구하고, 구체적인 예에 기재된 숫자 값은 가능한 한 정확히 기록되었다. 그러나, 임의의 숫자 값은 본래 필수적으로 각각의 시험 측정에서 발견되는 표준 편차로부터 생기는 특정한 오차를 포함한다.

[0108] 본 발명을 설명하는 데 있어서 (특히 특허청구범위에 있어서) 사용되는 단수 용어 및 지시어는, 본원에서 달리 기재되지 않거나, 본원에 의해 달리 명확히 반대되지 않는 한, 단수 및 복수 둘 다 포괄하는 것으로 해석되어야 한다. 본원에서의 값의 범위의 언급은 단순히 그 범위 내에 해당하는 각각의 별개의 값을 개별적으로 언급하는 속기 방법을 제공하는 것으로 의도된다. 본원에서 달리 기재되지 않은 한, 각각의 개별 값은 본원에 개별적으로 인용되는 것처럼 명세서에 포함된다. 본원에서 달리 기재되지 않거나, 본원에 의해 달리 명확히 반대되지 않는 한, 임의의 적합한 순서로 본원에 기재된 모든 방법을 수행할 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예 또는 예시적인 단어(예, "예컨대")의 사용은 단순히 본 발명을 더 잘 예시하기 위한 것이고 달리 청구되지 않은 한 본 발명의 범위에 제한을 부여하지 않는다. 명세서에서의 어떠한 언어도 본 발명의 실행에 필수적인 임의의 청구되지 않은 부재를 나타내는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0109] 특허청구범위에서의 "또는"이라는 용어의 사용은, 개시내용이 유일한 대안 및 "및/또는"을 의미하는 정의를 지지하더라도, 명확히 유일한 대안을 의미하는 것으로 기재되지 않거나 대안이 상호 배제되지 않는 한, "및/또는"을 의미하는 것으로 사용된다.

[0110] 대안적인 부재 또는 본원에 개시된 본 발명의 실시양태의 그룹화 제한으로서 해석되어서는 안 된다. 각각의 군 구성원은 개별적으로 또는 본원에 발견되는 군의 다른 구성원 또는 다른 부재와의 임의의 조합으로 언급되고 청구될 수 있다. 군의 1개 이상의 구성원이 편리성 및/또는 특허성의 이유로 군에 포함되거나 군으로부터 삭제될 수 있는 것으로 기대된다. 임의의 이러한 포함 또는 삭제가 일어나는 경우, 명세서는 본원에서 군을 변형된 바대로 포함하고 따라서 특허청구범위에서 사용되는 모든 Markush 군의 기재된 설명을 이행하는 것으로 생각된다.

[0111] 본 발명을 실행하기 위해 발명자에게 공지된 최선의 방식을 비롯하여 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 기재되어 있다. 물론, 바람직한 실시양태에 대한 변형이 명세서를 읽을 때 당업자에게 명확할 것이다. 본 발명자들은 당업자는 이 변형을 적절하게 이용할 것이라 예상하고, 본 발명자들은 본 발명이 본원에 구체적으로 기재된 것과 달리 실행되도록 의도한다. 따라서, 본 발명은 준거법에 의해 허용되는 바대로 본원에 첨부된 특허청구범위에 기재된 대상의 모든 변형 및 균등물을 포함한다. 더욱이, 본원에서 달리 기재되지 않거나, 본원에 의해 달리 명확히 반대되지 않는 한, 모든 가능한 변형에서의 상기 기재된 부재의 임의의 조합은 본 발명에 의해 포함된다.

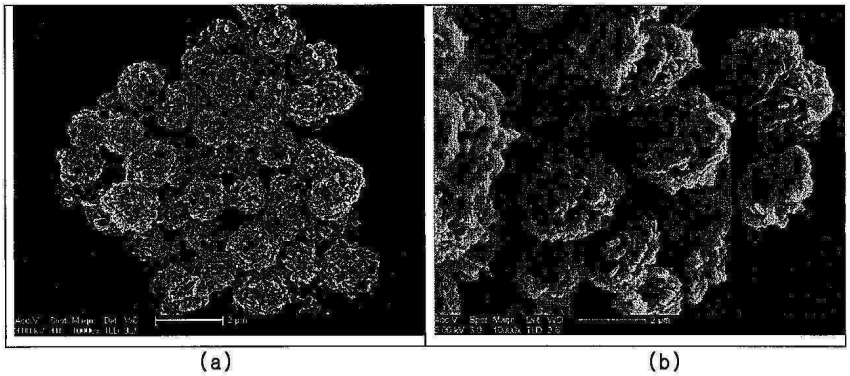
[0112] 본원에 개시된 구체적인 실시양태는 언어로 구성되거나 또는 실질적으로 구성되는 청구항에 의해 추가로 제한될 수 있다. 청구항에서 사용될 때, 제출되었든 또는 보정에 의해 추가되었든, "로 구성되는"이란 전환어는 청구항에 기재되지 않은 임의의 부재, 단계 또는 성분을 배제한다. "로 실질적으로 구성되는"이란 전환어는 특허청구범위를 기재된 물질 또는 단계 및 기본적이고 새로운 특징(들)에 영향을 중요하게 미치지 않는 것에 제한하지 않는다. 이렇게 청구된 본 발명의 실시양태는 본원에 본래 또는 명확히 기재되고 가능하게 된다.

[0113] 또한, 본 명세서에 걸쳐 특허 및 인쇄 공보에 다양한 참조문헌이 이루어졌다. 각각의 상기 인용된 참조문헌 및 인쇄 공보는 본원에서 전문이 참조문헌으로 개별적으로 포함된다.

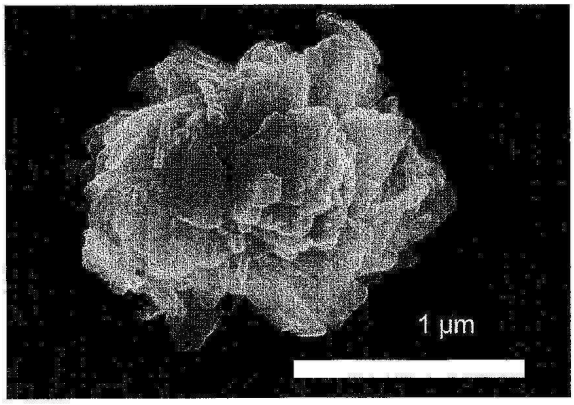
[0114] 추가로, 본원에 개시된 본 발명의 실시양태는 본 발명의 원칙을 예시하는 것으로 이해되어야 한다. 이용할 수 있는 다른 변형은 본 발명의 범위 내에 있다. 따라서, 제한이 아닌 예의 방식으로, 본원에서의 교시에 따라 본 발명의 대안적인 배치를 이용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 도시되고 기재된 바대로 정확하게 제한되지 않는다.

도면

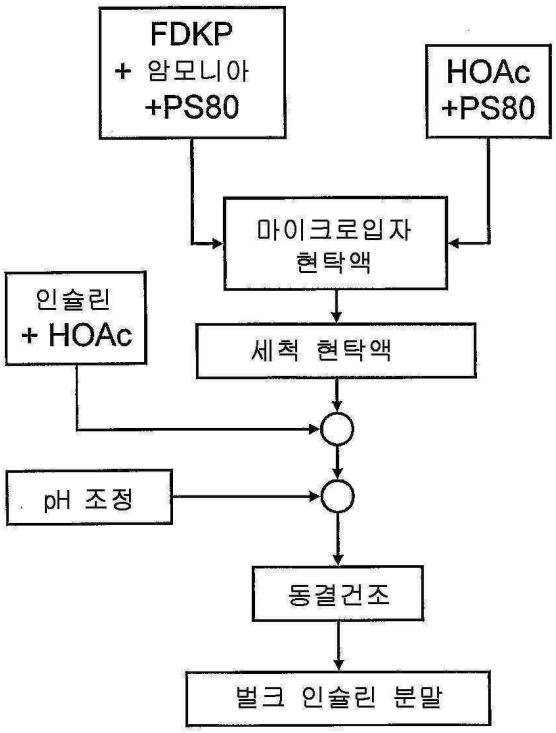
도면1



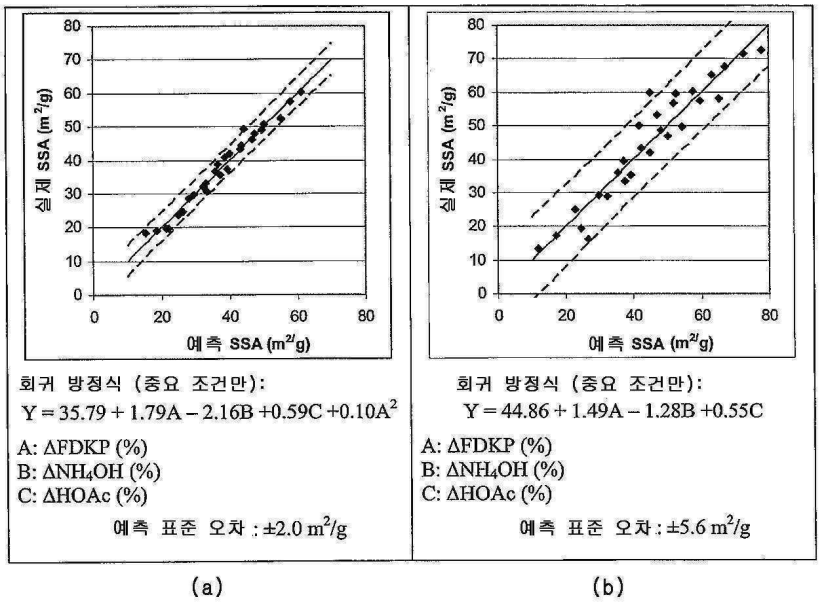
도면2



도면3

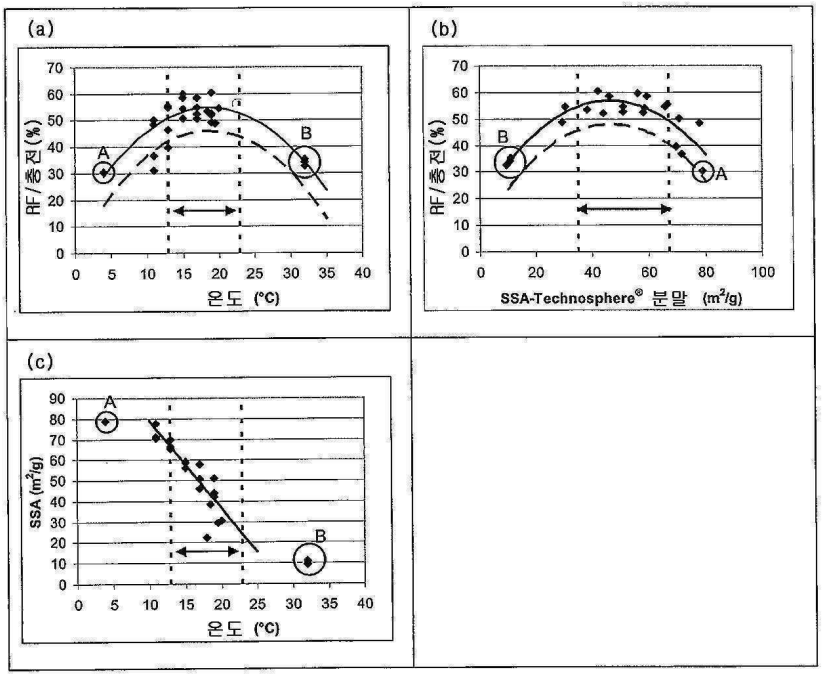

FDKP
+ 암모니아
+PS80
HOAc
+PS80
마이크로입자
현탁액
인슐린
+ HOAc
세척 현탁액
pH 조정
동결건조
벌크 인슐린 분말

도면4

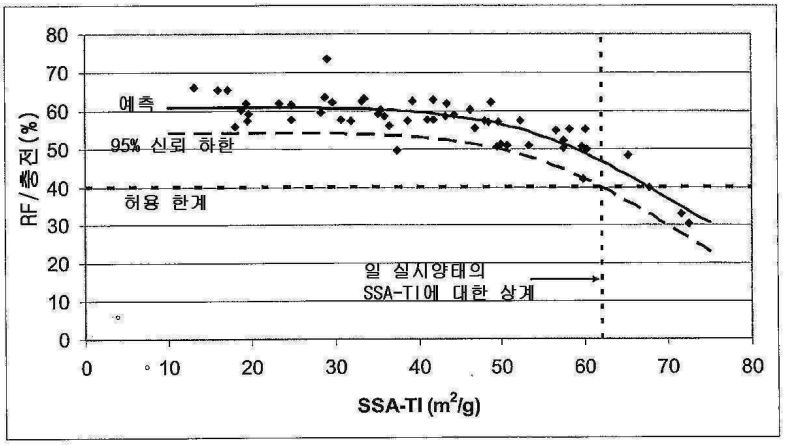

실제 SSA (m²/g)
예측 SSA (m²/g)
회귀 방정식 (중요 조건만):
Y = 35.79 + 1.79A – 2.16B +0.59C +0.10A²
A: ΔFDKP (%)
B: ΔNH₄OH (%)
C: ΔHOAc (%)
예측 표준 오차 : ±2.0 m²/g
회귀 방정식 (중요 조건만):
Y = 44.86 + 1.49A – 1.28B +0.55C
A: ΔFDKP (%)
B: ΔNH₄OH (%)
C: ΔHOAc (%)
예측 표준 오차 : ±5.6 m²/g

(a) (b)

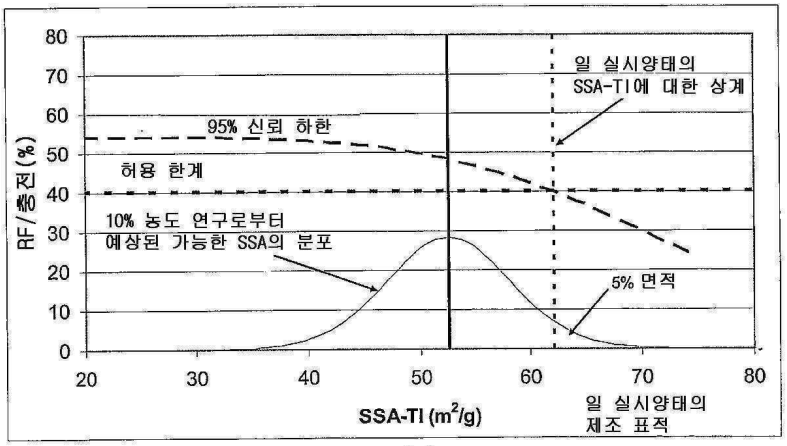
도면5



도면6

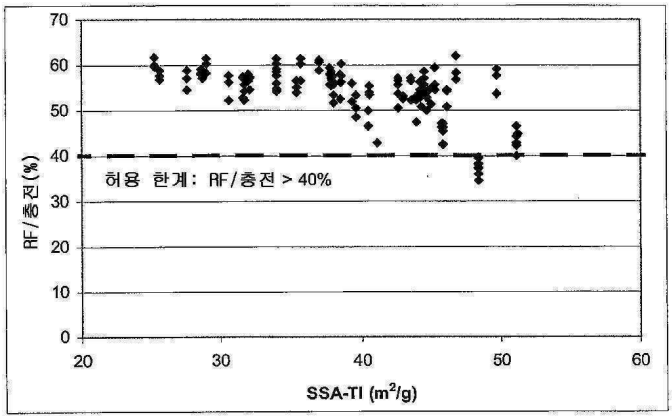

예측
95% 신뢰 하한
허용 한계
일 실시양태의
SSA-TI에 대한 상계
RF/총전(%)
SSA-TI (m²/g)

(a)

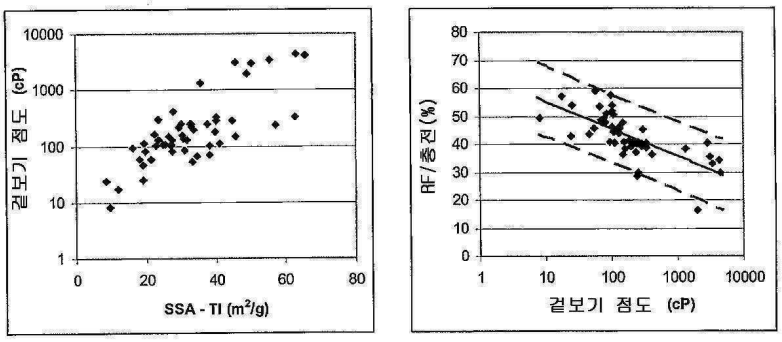

일 실시양태의
SSA-TI에 대한 상계
95% 신뢰 하한
허용 한계
10% 농도 연구로부터
예상된 가능한 SSA의 분포
5% 면적
RF/총전(%)
SSA-TI (m²/g)
일 실시양태의
제조 표적

(b)

도면7

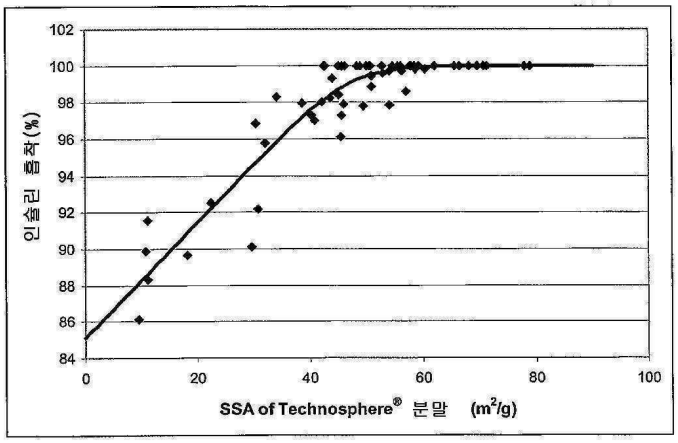

허용 한계: RF/총전 > 40%
RF/총전(%)
SSA-TI (m²/g)

도면8


겉보기 점도 (cP)
10000
1000
100
10
1
0
20
40
60
80
SSA - TI (m²/g)
RF / 충전 (%)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
10
100
1000
10000
겉보기 점도 (cP)

(a) (b)

도면9


인슐린 흡착 (%)
102
100
98
96
94
92
90
88
86
84
0
20
40
60
80
100
SSA of Technosphere® 분말 (m²/g)