(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4175892号
(P4175892)

(45)発行日　平成20年11月5日(2008.11.5)　(24)登録日　平成20年8月29日(2008.8.29)

(51)Int.Cl.		F I	
A61K 9/14	(2006.01)	A61K	9/14
A61K 47/14	(2006.01)	A61K	47/14
A61K 38/28	(2006.01)	A61K	37/26
A61K 31/573	(2006.01)	A61K	31/573
A61K 31/575	(2006.01)	A61K	31/575

請求項の数 20　(全 18 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2002-559008 (P2002-559008)
(86)(22)出願日	平成14年1月22日 (2002.1.22)
(65)公表番号	特表2004-521891 (P2004-521891A)
(43)公表日	平成16年7月22日 (2004.7.22)
(86)国際出願番号	PCT/GB2002/000261
(87)国際公開番号	WO2002/058674
(87)国際公開日	平成14年8月1日 (2002.8.1)
審査請求日	平成16年9月2日 (2004.9.2)
(31)優先権主張番号	0102075.9
(32)優先日	平成13年1月26日 (2001.1.26)
(33)優先権主張国	英国 (GB)

(73)特許権者　391008951
アストラゼネカ・アクチエボラーグ
ＡＳＴＲＡＺＥＮＥＣＡ　ＡＫＴＩＥＢＯＬＡＧ
スウェーデン国エスエー－１５１　８５セーデルテイエ
(74)代理人　100062144
弁理士　青山　葆
(74)代理人　100067035
弁理士　岩崎　光隆
(74)代理人　100064610
弁理士　中嶋　正二
(74)代理人　100072730
弁理士　小島　一晃

最終頁に続く

(54)【発明の名称】粒子の製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

物質粒子の製造法であって：

（ａ）水、物質、およびモジュレーターを含み、当該モジュレーターは、温度が上昇するにつれて低下する水溶解度を有する、第１液を調製し；そしてここで該モジュレーターはクエン酸のトリアルキルエステルであり、ここで、水溶解度（ｓ）は式ｄｓ/ｄＴ＜０に従い温度（Ｔ）が上昇すると低下し、そして

（ｂ）第１液を、当該物質を含む粒子を沈降させる結果となる温度および圧力からなる条件下で、貧溶媒流体ガス技術を用いて、貧溶媒流体ガスおよび有機溶媒を含む第２液と接触させることを含み、

当該第１液の温度は、第１液が第２液と接触するときには第１液の曇点温度、またはそれ以上となり、そして

モジュレーターは第２液中に可溶であり、そしてそれは第２液と接触させることにより第１液から抽出することが可能となり、それにより、重量で１％未満のモジュレーターを含む物質の粒子を提供する、

方法。

【請求項２】

当該粒子が、１０ミクロン未満の質量メジアン径を有する、請求項１に記載の方法。

【請求項３】

当該モジュレーターが、クエン酸トリエチルである、請求項１または２に記載の方法。

【請求項４】
当該第１液が、２５～６０℃の範囲で曇点温度を有する、請求項１～３のいずれかに記載の方法。
【請求項５】
当該貧溶媒流体ガス技術が、ＧＡＳ、ＳＥＤＳ(登録商標)、ＳＡＳ、およびＰＣＡから選ばれる請求項１～４のいずれかに記載の方法。
【請求項６】
ステップ（ｂ）における貧溶媒流体ガスが、超臨界状態である、請求項１～５のいずれかに記載の方法。
【請求項７】
当該有機溶媒が、水と混和性の有機溶媒である、請求項１～６のいずれかに記載の方法。
【請求項８】
当該有機溶媒が、エタノールである、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
ステップ（ａ）において第１液が、水に溶解した当該物質およびモジュレーターを含む単一相溶液として調製される、請求項１～８のいずれかに記載の方法。
【請求項１０】
物質の均一粒子であって、質量メジアン径が１０ミクロン未満である粒子の製造法であって：
（ａ）水、物質およびモジュレーターを含む、第１液を調製し、ここで、該モジュレーターはクエン酸のトリアルキルエステルであり、そして該モジュレーターは、式ｄｓ/ｄＴ＜０に従い温度が上昇するにつれて低下する水溶解度を有し；そして
（ｂ）ＳＥＤＳ(登録商標)製法を用いて、第１液を、貧溶媒流体ガスおよび有機溶媒を含む第２液と接触させることを含み；
当該製法において：
ｉ）当該物質が、水溶性であり；
ii）当該有機溶媒が、貧溶媒流体ガスに可溶であり；
iii）当該溶液が、第２液に実質的には不溶であり；
iv）使用される有機溶媒の量が、貧溶媒流体ガスを飽和するのに必要な量よりも少なく；そして
ｖ）第１液の温度が、第１液が第２液と接触するときに、第１液の曇点温度か、あるいはそれよりも高い、方法。
【請求項１１】
当該物質が、第１液に完全に溶解している、請求項１～１０のいずれかに記載の方法。
【請求項１２】
当該物質が、薬理学的に活性な物質または薬理学的に不活性な物質である、請求項１～１１のいずれかに記載の方法。
【請求項１３】
当該物質が、薬理学的に活性な蛋白質またはポリペプチドである、請求項１～１２のいずれかに記載の方法。
【請求項１４】
当該物質が、インシュリンである、請求項１～１３のいずれかに記載の方法。
【請求項１５】
当該物質が、２以上の物質を含む、請求項１～１４のいずれかに記載の方法。
【請求項１６】
当該物質が、糖質副腎皮質ステロイドおよびβ$_2$－アゴニストを含む、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
当該物質が、ブデソニドおよびホルモテロールを含む、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】
当該物質が、インシュリンおよび吸収促進剤を含む、請求項１５に記載の方法。
【請求項１９】
当該物質が、インシュリンおよびタウロコール酸ナトリウムを含む、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
ステップ（ｂ）において形成される粒子を、実質的に乾燥した貧溶媒流体ガスを含む組成物と接触させる、請求項１に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（本発明の分野）
本発明は、超臨界または臨界未満（subcritical）の条件下で実施される貧溶媒技術を用いた物質粒子の製造法、より具体的には超臨界流体による溶液の促進分散（ＳＥＤＳ(登録商標)）法を用いた蛋白質またはポリペプチドからなる径が１０ミクロン未満の粒子の製造法に関する。
【背景技術】
【０００２】
（本発明の背景）
超臨界流体は、液体様の溶解力と気体様の移動特性をあわせもつため、固有の特性を有する。それらは理想気体に匹敵する高い圧縮性を有する。それゆえ、臨界値近くの温度または圧力の小さな変化が、流体の密度および、それゆえ流体の溶解力の大きな変化を引き起こす結果となる。これらの特性を、高度に制御可能な溶媒和特性を提供するよう利用可能である。
【０００３】
二酸化炭素は、その好ましい臨界パラメーター（Ｔｃ＝３１.１℃、Ｐｃ＝７３.８バール）、コスト、および非毒性のために、最も広範に使用される超臨界流体である。
超臨界流体を用いた粒子調製に対して２つの原理、超臨界流体急速膨張法（ＲＥＳＳ）および超臨界貧溶媒（ＳＡＳ）またはガス貧溶媒（ＧＡＳ）調製法が開発されている。
【０００４】
ＲＥＳＳ製法において、加圧中の小さな変化に対する超臨界流体の溶解力の感度は、粒子の機械的な沈降を誘発するために利用される。しかしながらＲＥＳＳは、超臨界流体中で溶解度の低いペプチドおよび蛋白質といった物質を用いた利用には好適ではない。
ＳＡＳまたはＧＡＳ製法は、超臨界流体が、物質が融解している液体と混和されるならば、超臨界流体に不溶性の物質粒子を沈降するために利用可能である。
【０００５】
国際特許WO ９５/０１２２１、WO ９６/００６１０、WO ９８/３６８２５、WO ９９/４４７３３、WO ９９/５９７１０、WO ０１/０３８２１及びWO ０１/１５６６４は、超臨界流体による溶液促進分散（ＳＥＤＳ(登録商標)）法を示しており、当該方法は、超臨界流体の貧溶媒（anti-solvent）特性に加えて、物理・機械的特性をあわせ持つ。ＳＥＤＳ(登録商標)技術は、沈降される物質および超臨界流体を含有する溶液の、同軸ノズルを通じて粒子形成管に同時導入される連続フローが関与し、それにより溶液のほぼ同時の分散および混合、急速な過飽和、および粒子の核生成と粒子形成をもたらす。ＳＥＤＳ(登録商標)法で利用される製法条件を変動させることにより、その結果生成する粒子の特性が制御可能である。
【０００６】
超臨界二酸化炭素を用いた蛋白質の沈降は、これまでジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）およびＮ,Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）といった有機溶媒中に蛋白質を溶解することに主に制限されてきた。しかしながら、当該蛋白質を溶解する溶媒の使用の結果、蛋白質のアンフォールディングまたは変性が起こり得る。これは、治療効果の喪失を引き

起こし得る（Winters et al, Precipitation of Proteins in Supercritical Carbon Dioxide, 1996、J. Pharm Sci, 85,586-594、Jackson et al, Beware of Proteins in DMSO, Biochem et Biophysica Acta 1078,231-235）。

更に超臨界流体による有機溶媒の迅速な抽出は、急速に核生成および粒子成長するために粒子が溶液から沈降するにつれて粒子の凝集を促進する傾向がある。

【０００７】

水溶液からの蛋白質の沈降により、ＤＭＳＯのような有機溶媒の存在により引き起こされる蛋白質への損傷が避けられる。しかしながら、超臨界二酸化炭素の水溶液中での低い溶解度は、逆も同様であるが、蛋白質のような多くの物質の水溶液を用いるＳＥＤＳ(登録商標)のような貧溶媒技術の使用の大きな妨げとなる。水溶液から粒子を沈降するためにＳＥＤＳ(登録商標)のような貧溶媒技術を利用する結果、ＤＭＳＯのような溶媒からの沈降と比較して大きな粒子が形成されることになる。例えば、沈降した粒子が、患者により吸入される肺疾患用薬物として使用される予定の場合には、大粒子の形成は所望ではない。そのような場合には、粒子は、１０ミクロン未満の粒子径であるのが好ましい。

【０００８】

国際特許ＷＯ ９６/００６１０は、ＳＥＤＳ(登録商標)技術を用いた水およびエタノール中の蛋白質溶液からの蛋白粒子の調製法を開示する。国際特許ＷＯ ９６/００６１０において、超臨界二酸化炭素中に分散する直前に、蛋白質の水溶液をエタノールと混合するために、３チャンネル式の同軸ノズルが使用される。エタノールの存在により、二酸化炭素と水との間の溶解度の適合性が改善され、それによりＳＥＤＳ(登録商標)製法の有効性が改善されると考えられている。

【０００９】

国際特許ＷＯ ９９/５２５０７は、担体マトリクス中への活性物質を導入する方法を開示し、当該方法において、連続的な非水性相と不連続の水性相を含み、活性物質が不連続な水性相中に存在し、担体が水性相または非水性相のいずれかに存在する好適な油中水型エマルションが調製される。次いで、例えばＳＥＤＳ(登録商標)技術を用いて、好適な油中水型エマルションを貧溶媒流体ガスと接触させることにより、活性物質および担体を含む粒子が形成される。

【００１０】

国際特許ＷＯ ９７/１４４０７は、水性相に溶解した界面修飾剤を含有する圧縮ガス、液体、または超臨界流体中に、薬物の有機溶媒溶液をスプレーすることにより、平均粒子サイズが１００ｎｍ～３００ｎｍの水に不溶性の薬物粒子を調製する製法を示す。沈降粒子の凝集を減少させるために、水性相の存在が示されている。

【００１１】

米国特許第６,２９９,９０６号は、薬物を、所望により界面修飾剤を含有する圧縮ジメチルエーテル中に溶解し、その結果生成する溶液を貧溶媒中にスプレーする製法を示す。

【００１２】

蛋白質のような多くの物質については、溶媒として水を使用するのが望ましいけれども、沈降粒子における水の痕跡は、強固に結合した粒子の凝集体を形成する結果となり得る。このことは、そのような凝集体を崩壊させるのが困難となり、事実上、大きい粒子サイズ分布を引き起こすので所望ではない。強固に結合した凝集体の形成は、粒子生成物が、吸入可能な薬物として使用されるようデザインされる場合に、特に不都合である。このような適用において、確実に正確な容量の薬物とするために、均一サイズの小さな（好ましくは１ミクロン未満の）粒子の形成が必要となる。それゆえ形成するいかなる粒子の凝集体も、患者に（例えば、吸入器の使用を通じて）投与する前に、容易に崩壊可能となるようゆるく結合していなければならない。更に、沈降粒子の凝集は、装置の過剰加圧を引き起こすＳＥＤＳ(登録商標)用装置中で使用される濾過システムの目詰まりを引き起こし得る。それゆえ、そのような凝集体の存在により、連続的な／長期にわたる沈降製法の開発が妨げられる。

【００１３】

二酸化炭素のような超臨界流体中における水の不良な溶解度は、水の抽出が比較的に遅くなる結果にもなり、それゆえ粒子の沈降が遅くなる。そのような条件は、大粒子（＞１μｍ）の形成に好ましい。

それゆえ、上述の問題の一部またはすべてを回避する水性媒体からの粒子（特には１ミクロン未満の均一サイズの粒子）の形成を可能にする製法が必要とされる。

【発明の開示】

【００１４】

（本発明の概要）

本発明の第１の態様により、物質粒子の製造法が提供され、当該方法は：

（ａ）水、物質、およびモジュレーターを含み、当該モジュレーターは、温度が上昇するにつれて低下する水溶解度を有する、第１液を調製し；そして

（ｂ）第１液を、当該物質を含む粒子を沈降させる結果となる温度および圧力からなる条件下で、貧溶媒流体ガス技術を用いて、貧溶媒流体ガスおよび有機溶媒を含む第２液と接触させることを含み、

当該第１液の温度は、第１液が第２液と接触するときには第１液の曇点温度、またはそれ以上となるものである。

【発明を実施するための最良の形態】

【００１５】

（本発明の詳細な説明）

我々は、驚くべきことに、第１液におけるモジュレーターの存在により、１ミクロン未満の均一サイズの粒子が提供されることを見出した。本発明の製法はまた、モジュレーターの存在しない製法に比べて強固に結合した凝集体の形成を減少させる。その凝集体の減少により、例えば凝集体による濾紙の目詰まりにより引き起こされる流体ガスの貧溶媒技術において使用される装置の過剰な加圧の危険性を減少させて、本発明に記載の製法が、連続的／長期にわたる製法として実施可能となる。粒子を吸入により患者に投与する場合、強固に結合した凝集体形成の減少は、提供される投与量を正確に制御するのが容易で、凝集体の減少により粒子の肺中への分散が改善されるため、好都合である。

【００１６】

粒子は、質量メジアン径（ＭＭＤ）(Mass Median Diameter）が、１０μｍ未満、より好ましくは１μｍ未満、特には１００～９００ｎｍ、および更により特には２００～５００ｎｍであるのが好ましい。ＭＭＤは、当業者には既知の方法を用いて、例えば、ＬＳコールター粒子サイズ分析計を用いて決定されてもよい。

粒子は、結晶、半結晶、またはアモルファスの形態であり得る。

本発明に記載の製法により調製された粒子は、均一サイズからなる。従って、一般的には粒子は、狭い粒子サイズ分布を呈する。

【００１７】

モジュレーター

モジュレーターは、温度（Ｔ）が上昇すると低下する、すなわちｄｓ/ｄＴ＜０である水溶解度（ｓ）を有する。特に、本発明に記載の製法の操作温度より高い温度で、モジュレーターの水溶解度は低下する。

従って、好適なモジュレーターは、およそ１０℃から、製法のステップ（ｂ）において使用される第２液の温度までの範囲で、温度が上昇するにつれて低下する水溶解度を有するものである。ステップ（ｂ）における第２液の温度は、特に使用される貧溶媒流体ガスおよび貧溶媒技術次第である。二酸化炭素が、貧溶媒流体ガスであり、超臨界状態で使用される場合、モジュレーターは、温度が１０～６０℃まで、より好ましくは３０～５０℃まで上昇するにつれて低下する水の溶解度を有するのが好ましい。

【００１８】

水、物質、およびモジュレーターを含む第１液は、第１液を本発明に記載の製法のステップ（ｂ）において使用される第２液と接触させる温度未満またはその温度である曇点温度を有する。

曇点温度とは、モジュレーターを含有する溶液が、溶液の温度が上昇するにつれて不溶性となるモジュレーターにより引き起こされる相分離を受ける温度である。曇点温度で、モジュレーターの溶液は、溶液からモジュレーターが相分離するため濁ってくる。本発明の製法において使用するのに好適なモジュレーターの場合、曇点は典型的には、第１液を調製するのに使用される温度よりも高い温度である。従って、モジュレーターは、最初に第１液中に溶解させるが、第１液を加熱するときで、製法のステップ（ｂ）において第２液と接触させる前に、温度が曇点を超えると、モジュレーターのｄｓ/ｄＴが＜０となって、第１液からモジュレーターの相分離が起こるために、第１液が曇ってくる。相分離の際、第１液は、物質を含有する連続的な水性相を含み、当該連続的な水性相内部に、モジュレーターの不連続領域が分散している。第１液が濁る結果となるのは、その連続的な水性相中の不連続なモジュレーター領域が存在による。

【００１９】

第１液の曇点温度は、ルーチン技術を用いて決定され得る。例えば、第１液の試料を、好適なガラス容器中に入れて、その溶液を徐々に（例えば、５℃/分で）加熱してもよい。加熱の間、その試料を観察し、曇点は、溶液が濁りまたは「曇り」始める温度となる。観察は、目で、あるいは別法としては好適なモニター装置、例えば試料を通過する光透過率をモニターすることにより、あるいはレーザーを散乱することにより実施され得る。曇点温度の決定は、例えば顕微鏡の加熱段階で第１液試料を含有する毛細管を加熱する一方、加熱中、顕微鏡を通じて液を観察することにより、少量の第１液試料に対して実施してもよい。

【００２０】

理論的に束縛されることを意図しないが、第１液を曇点温度、またはそれ以上の温度まで加熱する結果、起こる相分離により、第１液中の物質を含有する連続的な水性相中にモジュレーターリッチな相領域が形成されることになると考えられる。第２液との接触の際、モジュレーターリッチな相の存在により、第２液と物質を含有する水性相との表面接触が増大し、それにより物質を含有する小さな水性のサブユニットの形成が促進され、そこから水が第２液中に抽出されることにより、物質粒子が沈降されると考えられる。

【００２１】

モジュレーターは、クエン酸のトリアルキルエステル、水溶性ポリマー、および界面活性剤から選ばれるのが好適であり、そのそれぞれが、ｄｓ/ｄＴ＜０を呈する。好適な水溶性ポリマーとしては、水溶性ポリエーテル、例えばポリエチレンオキシド（ＰＥＯ）、ポリプロピレンオキシド（ＰＰＯ）またはそれらのコポリマー；あるいは水溶性で非イオン性のセルロースエーテル、特にはエトキシル化またはプロポキシル化セルロースエーテル、例えばエチルメチルセルロース（ＥＭＣ）、ヒドロキシエチルセルロース（ＨＥＣ）、エチルヒドロキシメチルセルロース（ＥＨＭＣ）、エチルヒドロキシエチルセルロース（ＥＨＥＣ）、ヒドロキシメチルセルロース（ＨＭＣ）、ヒドロキシプロピルセルロース（ＨＰＣ）、およびヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）が挙げられる。

本明細書において使用される「水溶性」なる用語は、モジュレーターに関しては、２５℃で水溶解度が少なくとも１ｍｇ/ｍｌであるモジュレーターをいう。

【００２２】

好適な界面活性剤としては、（エチレンオキシド）オリゴマーを含有する非イオン性のセルロース－エチレンオキシド型の界面活性剤といった、エチレンオキシ基を含有する非イオン性ポリマーまたはオリゴマー型界面活性剤が挙げられる。エチレンオキシを含有する好適な非イオン性の界面活性剤としては、例えば、１～１００個のエチレンオキシ基もしくは鎖を含有するものが挙げられる。一般的には、例えば４～８個のエチレンオキシ基の長さの比較的短いエチレンオキシ鎖を有する界面活性剤は、これらを含有する溶液が、２５～８０℃の範囲の曇点温度を有するため、好ましい。界面活性剤は、他のアルキレンオキシ基、例えばプロピレンオキシ基もしくは鎖をまた含んでもよい。しかしながら、一般的には、エチレンオキシ基は、界面活性剤の重量で少なくとも５０％、より好ましくは界面活性剤の重量で少なくとも８０％含まれる。

ｄｓ/ｄＴ＜０を呈する他の好適な界面活性剤および水溶性ポリマーは、「Surfactants and Polymers in Aqueous Solution」,Joesson, B. Lindman, B. Holmberg, K. およびKronberg, B, (1998) John Wiley & Sons Ltd, UK.において開示されている。

【００２３】

好ましくは、モジュレーターは、クエン酸のトリアルキルエステルである。トリアルキルエステルは、クエン酸とアルカノール、好ましくはC_{1-6}アルカノール、より好ましくはC_{1-4}アルカノール、あるいは特にはC_{2-3}アルカノールとの間に形成されるエステルであるのが好ましい。アルカノールは、直鎖、分岐鎖、または環状のアルカノール、例えばメタノール、プロパノール、イソプロパノール、シクロヘキサノールまたは（特には）エタノールであってもよい。所望により、クエン酸のトリアルキルエステルの水酸基は、好適なカルボキシル基、例えば酢酸でエステル化されてもよい。モジュレーターがクエン酸トリエチルであるのが特に好ましい。

【００２４】

モジュレーター混合物は、第１液が曇点温度を呈するという条件で、第１液中で使用され得る。

比較的穏やかな条件下でこの製法が操作可能となり、それにより本発明の製法が、高温で感度の高い物質、例えば加熱されると分解する特定の蛋白または化合物の粒子を調製するのに使用可能となるために、第１液が２５～６０℃、例えば２５～５０℃の範囲で曇点温度を有するのが好適である。

【００２５】

第１液に存在するモジュレーターの量は、広範な範囲にわたって変動し得る、例えばモジュレーターの物質に対する重量比は、５０：１～１：２００、好ましくは５０：１～１：５０であってもよい。使用されるモジュレーターの濃度は、必然的に第１液中のモジュレーターと物質との特性に依存する。

本発明の１つの実施態様において、モジュレーター（特に、クエン酸トリエチル）は、その物質の濃度と同等またはより高い濃度で第１液中に存在する。例えば、モジュレーターの物質に対する重量比は、１：１～１０：１、例えば１：１～５：１、好適には１：１～３：１であり得る。

【００２６】

本発明の１つの実施態様においては、モジュレーターは第２液中に可溶である。というのは、我々は、第２液と接触させることによりモジュレーターを第１溶液から抽出することが可能となり、それにより、実質的にはモジュレーターを含まない（例えば、モジュレーターの重量で１％未満、好適には０.５％未満、および好ましくはモジュレーターの重量で０.１％未満を含有する）物質の粒子を提供されることを見出したからである。

【００２７】

「第２液中で可溶」なる用語は、ステップ（ｂ）における製法の操作条件で、第２液における溶解度が、第２液の１に対して少なくとも０.００３、例えば第２液の１に対して少なくとも０.００５、例えば第２液の１に対して少なくとも０.００１である（重量で））モジュレーターをいう。この実施態様において、モジュレーターが第２液において、製法のステップ（ｂ）の操作条件での第２液における水溶解度と同等、または好ましくはより高い溶解度を有するのが好ましい。我々は、これにより実質的にすべてのモジュレーターが、確実に水と一緒に第２液中に抽出されることを見出した。

【００２８】

この実施態様において、モジュレーター（例えば、水溶性ポリマーまたは非イオン性界面活性剤）の分子量は、１０００未満であるのが好ましい。我々は、分子量が１０００未満のモジュレーターが、一般的には貧溶媒流体ガス中で良好な溶解度を有しており、それにより、物質粒子中に存在するモジュレーターの量を減少させることを見出した。

【００２９】

第１液の第２液との接触の際、物質が第２液中に抽出される可能性を減少させるため、物質は、モジュレーター中で実質的には不溶性であるのが好ましい。「実質的に不溶性」

は、製法のステップ（ｂ）の操作条件で、物質がモジュレーター中において、第２液の１に対して０.００１未満、例えばモジュレーターの１に対して０.０００１未満である（重量で）の溶解度を有することを意味する。

【００３０】

我々は、モジュレーターがクエン酸トリエチルである場合、それが二酸化炭素のような特定の超臨界流体と実質的に混和可能であることを見出した（このことは、超臨界二酸化炭素中であらゆる割合で、クエン酸トリエチルが混和可能、またはほぼ混和可能である、あるいはクエン酸トリエチルが、操作条件で、二酸化炭素中において、２つの物質が混和可能であるかのような挙動をするのに十分な溶解度を有することを意味する）。この結果、第１液からクエン酸トリエチルが非常に迅速に抽出されて、実質的にクエン酸トリエチルを含有しない１ミクロン未満の物質粒子が提供される。この実施態様は、実質的に純粋な物質粒子が要求される場合に、特に有益である。

【００３１】

別の実施態様において、モジュレーターは、第２液において実質的には不溶性である。「実質的に不溶性」は、製法のステップ（ｂ）の操作条件で、第２液中において、モジュレーターが第２液の１に対して０.００１未満、例えばモジュレーターの１に対して０.００１未満である（重量で）溶解度を有することを意味する。

【００３２】

この実施態様において、第２液中におけるモジュレーターの不溶性は、物質およびモジュレーターを含む複合粒子の形成を促進する。例えば物質が薬理学的に活性な物質であり、モジュレーターがＨＥＣといった非イオン性のセルロースエーテル（有益な薬学的に許容される賦形剤）であるとき、この実施態様は好都合である。

【００３３】

ステップ（ｂ）

本発明の製法のステップ（ｂ）は、流体ガス貧溶媒技術を用いて実施される。好適な流体ガス貧溶媒技術としては、例えば、Gallagher et al, Supercritical Fluid Science and Technology, ACS Symp Ser 406,1989, pp334に記載されるようなＧＡＳ（ガス貧溶媒沈降）；ＳＥＤＳ(登録商標)（ＧＡＳ法の改良法）、ＡＳＥＳ（エアロゾル溶媒抽出システム）、Tom, J. W. Lim, G-B. Debenedetti, P. G. and Prud'homme, R. K. (1993) Applications of supercritical fluids in the controlled release of drugs. Supercritical engineering science, American Chemical society, 240-25に記載されているようなＳＡＳ（超臨界貧溶媒）；およびDixon, D. J. Jonston, K. P. Bodmeier, R. A. (1993) Polymeric materials formed by precipitation with a compressed fluid anti-solvent, AIChE Journal, 39,127-139に記載されているようなＰＣＡ（圧縮化流体貧溶媒による沈降）が挙げられるが、それに限定されない。

【００３４】

好ましい実施態様において、ステップ（ｂ）はＳＥＤＳ(登録商標)製法を用いて実施される。ＳＥＤＳ製法が利用される場合、第１液からの水の分散および抽出が、貧溶媒流体ガスの作用によりほぼ同時に起こるように、流体ガスと有機溶媒を含む第２液、および第１液を管中へ同時導入する手段と一緒に、管の温度と圧力を制御する手段を兼ね備えた粒子形成管を含む装置が使用される。ＳＥＤＳ(登録商標)製法に好適な装置は、国際特許ＷＯ ９５/０１２２１、ＷＯ ９６/００６１０、ＷＯ ９８/３６８２５、ＷＯ ９９/４４７３３、ＷＯ ９９/５９７１０、ＷＯ ０１/０３８２１およびＷＯ ０１/１５６６４中に示されており、それらを引用して本明細書の一部とされる。

【００３５】

第１液と有機溶媒との間の接触は、流体ガス貧溶媒により、例えば国際特許ＷＯ ９６/００６１０に示される多チャンネル式同軸注入装置を使用することにより、分散および抽出とほぼ同時に、あるいはその直前のいずれかに起こり得る。別法としては、第１液を、国際特許ＷＯ ９５/０１２２１の図１に示される装置を用いて、流体ガス貧溶媒および有機溶媒を含む第２液と直接的に接触させてもよい。第１液である有機溶媒と流体ガス貧溶

媒との接触のタイミングは、物質の性質、および製法の粒子状最終生成物の所望の特徴を示す性質次第である。

【００３６】

物質が、有機溶媒（例えば蛋白質）との接触に対して反応性が高い場合、第１液を、貧溶媒流体ガスおよび有機溶媒を含む第２液と直接的に接触させるのが望ましい。別法としては、第１液を、例えば国際特許ＷＯ ９６/００６１０に示される多チャンネル式のノズルを用いて、貧溶媒流体ガスと接触する直前に有機溶媒と接触させてもよい。これは、物質と有機溶媒との接触時間を最小限に抑え、それにより物質の任意の分解が最小限に抑えられる。

【００３７】

本明細書で使用される「流体ガス」なる用語は、超臨界および臨界未満状態、ならびに圧縮ガス状態の物質をいう。

本明細書で使用される「貧溶媒」なる用語は、貧溶媒流体ガス中で実質的に不溶性の物質をいう。一般的には、貧溶媒流体ガスおよび有機溶媒中での物質の損失を最小限に抑えるために、物質は、第２液において溶解度の低いのが望ましく、物質が薬理学的に活性な物質の場合は特にそうである。物質は、製法のステップ（ｂ）の操作条件で、第２液において、第２液の１に対して少なくとも０．００１未満、好ましくは第２液の１に対して少なくとも０．０００１未満（重量で）の溶解度を有するのが好適である。

【００３８】

本明細書で使用される「超臨界流体」なる用語は、超臨界状態である、すなわち臨界圧（Ｐｃ）より高いと同時に臨界温度（Ｔｃ）より高い状態にある物質をいう。実際、該流体の圧力は、（１．０１～７．０）Ｐｃの範囲にあり、温度は（１．０１～４．０）Ｔｃの範囲にあることが多い。

「臨界未満流体」なる用語は、臨界圧よりも高くて臨界温度に近い物質をいう。実際、臨界未満流体の温度は、０．９Ｔｃから最大Ｔｃまでの範囲であることが多い。

【００３９】

明細書から理解されるように、本明細書で使用される「第２液」なる用語は、流体ガス貧溶媒と有機溶媒との組み合わせを包含することが意図される。従って、貧溶媒流体ガスが超臨界状態である場合、第２液は、超臨界貧溶媒の存在のために、超臨界流体に関連する特性を呈する。従って、「第２液」は、超臨界流体、臨界未満流体、および圧縮ガスを、ステップ（ｂ）において適用される貧溶媒流体ガス技術において使用される条件次第で包含することが意図される。

【００４０】

貧溶媒流体ガス

貧溶媒流体ガスは、二酸化炭素、亜酸化窒素、６フッ化硫黄、エタン、エチレン、プロパン、ｎ－ペンタン、キセノン、クロロトリフルオロメタン、トリフルオロメタン、テトラフルオロエタンおよびヘプタフルオロプロパンといったフルオロカーボン、クロロフルオロカーボン化合物、または窒素のうちの１つまたはそれ以上であるのが好適である。当該貧溶媒流体ガスは、二酸化炭素であるのが好ましい。当該貧溶媒流体ガスが、超臨界二酸化炭素のような超臨界流体であるのが好ましい。

【００４１】

有機溶媒

有機溶媒は、可溶性、または好ましくは貧溶媒流体ガスと混和性であるのが好ましい。

当該有機溶媒は、水溶性、またはより好ましくは水と混和性の有機溶媒であるのが好ましい。

当該有機溶媒が、低級アルコール、ケトン、およびエステルの１つまたはそれ以上から選ばれるのが好適である。好適な低級アルコールは、最大６個の炭素原子を含むアルコール、例えばメタノール、エタノール、プロパノール、またはイソプロパノールである。好適なケトンとしては、例えばアセトンまたはメチルエチルケトンが挙げられる。好適なエステルとしては、(１～４Ｃ)酢酸アルキル、例えば酢酸エチルが挙げられる。好ましい有

機溶媒は、エタノールである。

【００４２】

第２液において必要とされる有機溶媒の量は、製法のステップ（ｂ）において使用される操作条件、特には使用される貧溶媒流体ガスおよびその貧溶媒流体ガス中の第１液において含有される水の溶解度次第である。第２液における有機溶媒は、貧溶媒流体ガスの溶媒特性を改変するために作用し、それにより、当該貧溶媒流体ガスによる第１液からの水の抽出が促進される。有機溶媒との接触に対して反応性が高い物質もあり、それゆえ、一般的には第２液は、実質的には第１液中のすべての水が、製法のステップ（ｂ）において貧溶媒流体ガスにより抽出されることが可能となるのに必要な最小量の有機溶媒を含有することが望ましい。しかしながら、有機溶媒の量は、その流体ガス貧溶媒を飽和するのに必要とされる量未満となるはずである。本発明の実施態様において、第１液中に存在する水の量に比べて過剰モル量の有機溶媒がある。

【００４３】

これまでに述べられているように、本発明に記載の製法のステップ（ｂ）は、臨界未満、またはより好ましくは超臨界条件下で実施される。製法のステップ（ｂ）の操作の正確な条件は、多数の要素、例えば使用される貧溶媒流体ガスに依存する。二酸化炭素が貧溶媒流体ガスである場合、好適な圧力は、約８０～約４００バールの範囲、好適には１００～２５０バールの範囲、好ましくは１１０～１５０バールの範囲であり、一方温度は、操作温度が第１液の曇点温度、またはそれ以上であれば、約３５～約８０℃の範囲、好適には４０～７０℃の範囲、好ましくは４５～６０℃であってもよい。

【００４４】

本発明に記載の製法のステップ（ｂ）の結果生成する沈降粒子は、従来法を用いて、例えば粒子形成管中の濾過システムを用いて回収されて、流体ガス、水、およびエタノールから粒子が分離されてもよい。

【００４５】

本発明の製法を用いて調製される粒子の凝集の減少は、沈降粒子を回収するために使用される濾過システムを早急に停止しないため、当該製法が好都合なことにモジュレーターを使用しない製法と比較して、長時間にわたって／実質的に連続的に実施され得ることを意味する。本発明に記載の製法が稼動する時間は、所望される粒子の量、ならびにフィルターの目詰まりの結果生じるあらゆる制限に依存する。好適な製法は、約５分～最大４８時間、好適には１５分～最大２４時間、好ましくは３０分～最大１２時間の範囲で実施される。

【００４６】

本発明の第１の好ましい実施態様においてこれまでの好ましい選択に鑑みて、物質の均一粒子であって、ＭＭＤ粒子サイズが１０μｍ未満、好ましくは１ミクロン未満（すなわち、＜１μｍ ＭＭＤ）である粒子の製造法であって：

（ａ）水、物質およびモジュレーターであって、温度が上昇するにつれて低下する水溶解度を有するモジュレーターを含む、第１液を調製し；そして

（ｂ）ＳＥＤＳ(登録商標)製法を用いて、第１液を、貧溶媒流体ガスおよび有機溶媒（好ましくは水と混和性の有機溶媒）を含む第２液と接触させることを含む製法が提供され；当該方法において：

ｉ）当該物質は、水溶性であり；

ii）当該有機溶媒は、貧溶媒流体ガスに溶解し；

iii）当該溶液は、第２液に実質的には不溶であり（そして好ましくはモジュレーターに実質的に不溶であり）；

iv）使用される有機溶媒の量は、貧溶媒流体ガスを飽和するのに必要な量よりも少なく；そして

ｖ）第１液の温度は、第１液が第２液と接触するときに、第１液の曇点温度か、あるいはそれよりも高いものである。

【００４７】

条件ｉ）およびii）において、「溶解性」なる用語は、製法のステップ（ｂ）の操作条件で、水／貧溶媒の１に対して少なくとも０.００３、好ましくは水／貧溶媒の１に対して少なくとも０.００５、例えば水／貧溶媒の１に対して少なくとも０.００１（重量で）を示す、物質／有機溶媒の溶解度をいう。

【００４８】

条件iii）において、「実質的に不溶性」なる用語は、製法のステップ（ｂ）の操作条件で、第２溶液における溶解度が、第２液の１に対して０.００１未満、好ましくは第２溶液の１に対して０.０００１未満（重量で）である物質をいう。

【００４９】

指標（iv）は、超臨界溶媒－飽和貧溶媒、例えばエタノール－飽和二酸化炭素を含有する２相系、および例えば水、溶媒、および溶解した物質を含有する液相の形成を阻止するのに不可欠である。

貧溶媒流体ガスが超臨界状態の二酸化炭素で、有機溶媒がエタノールで、そしてモジュレーターがクエン酸トリエチルであるのが特に好ましい。

【００５０】

第１液は、第１液が第２液と接触するときに、第１液の曇点温度であるか、あるいはそれ以上である。当該第１液は、任意の好適な方法により加熱され得る。例えば当該液体は、第２中に移動する前に加熱されてもよい。好都合なことに、ノズルのような導管手段により第１液を第２液に導入する場合、第１液がその導管を通じて運搬されるように第１液を第２液からの熱伝導により加熱してもよい。この加熱法は、曇点温度と第２液の温度との間に有意な差がある場合、第１液が第２液と接触するときに、確実に第１液を曇点温度、またはそれ以上にするのに必要とされる第１液の導管中での滞留時間が最小限に抑えられるために、特に好適である。

【００５１】

本発明に記載の製法は、モジュレーターを用いないで実施される製法に比べて、１ミクロン未満の粒子を高収率で提供する。形成し得るいかなる比較的大きい（例えばＭＭＤが１０μｍ以上である）粒子も、篩といった従来技術を用いて除去可能である。

【００５２】

これまでに示されるように、本発明により、強固に結合した粒子の凝集が減少する。しかしながら、本発明に従って調製された粒子が、１ミクロン未満の粒子からなる場合、ファンデルワールス力のような粒子－粒子の引力により、緩く結合した粒子の凝集体の形成を引き起こし得る。しかしながら、我々は、そのように形成されるすべての凝集体は、非常に緩く結合しており、例えば粒子を担体液に懸濁させたり、あるいは粒子をネブライザーのような投与機器を通過させることにより容易に崩壊されることを見出した。

【００５３】

本発明の１つの実施態様において、乾燥物質粒子を得るために、本発明に従って生成される粒子を、続いて実施的に乾燥した貧溶媒ガス（超臨界または臨界未満状態であってもよい）を含む組成物と接触させてもよい。「実質的に乾燥した」により、重量で水を１％未満、例えば０.１％未満含有する流体ガスを意味する。

【００５４】

本発明の別の実施態様において、物質粒子は、貧溶媒流体ガス、特には超臨界貧溶媒（例えば超臨界二酸化炭素)、および第２溶媒（例えば、エタノール）を含む組成物を用いて好適に処置される。それに続く粒子の処置に好適な方法は、国際特許ＷＯ ２０００/３０６１４に示されており、これは引用して本明細書の一部とする。そのような処置法の利用により、例えば粒子の結晶状態を改変することにより、および／または粒子の溶媒和を形成することにより、粒子の物理学的特性を改変することが可能となる。当該処置は、好都合なことに粒子の安定性を促進することが可能である。

【００５５】

物質

本発明の実施態様において、物質を第１液中に懸濁させてもよい。しかしながら、より

均一な粒子を提供し、１ミクロン未満の物質粒子の形成を促進するために、物質を完全に第１液に溶解させるのが好ましい。従って、第１液が、水に溶解した物質およびモジュレーターを含む単一相の溶液として調製されるのが好ましい。それゆえ第１液は、透明な溶液として調製されるのが好ましい。「溶液」なる用語により、第１液が均一な単一相である、すなわち物質およびモジュレーターが水に十分に溶解して透明な溶液を呈することを意味する。第１液は、モジュレーターおよび物質に加えて、成分、例えば物質の製法用装置への吸着を最小限に抑えるための添加剤を含んでもよい。例えば、物質がアルブミンである場合、粒子を調製するのに使用される装置の表面へのアルブミンの吸着を最小限に抑えるために、ポリソルベート８０といった添加剤を含むのが好都合となり得る。一般的には、製法のステップ（ｂ）において、高純度の物質粒子を提供するために、実質的にすべての添加剤が貧溶媒流体ガス中に抽出される結果となる条件を選択するのが好ましい。製法のステップ（ａ）で使用するために調製される第１液が、水と非混和性の有機溶媒といった水と非混和性の液体が存在する結果、第１液を第２液と接触させるときに抽出が意図しないものとなり物質のロスがでることがあり得るので、そのような物質を含むべきではないのが好ましい。更に、そのような水と非混和性の液体が存在する結果、反応性の高い物質が分解し得る。

【００５６】

物質は、有機または無機の物質であっても、あるいはその混合物であってもよい。物質は、薬理学的に活性な物質、賦形剤または添加剤のような薬理学的に不活性な物質、あるいはそれらの混合物、例えば２以上の薬理学的に活性な物質、あるいは１以上の薬理学的に活性な物質と１以上の薬理学的に不活性な物質との混合物であるのが好ましい。

【００５７】

好適な薬理学的に活性な物質としては、β_2－アゴニスト、糖質副腎皮質ステロイド、抗コリン剤、ロイコトリエンアンタゴニスト、ロイコトリエン合成阻害剤、ホルモン、蛋白質およびポリペプチド、およびそれらの混合物が挙げられる。

例えば、本発明において使用に好適なβ_2－アゴニストとしては、ホルモテロール（例えば、フマル酸ホルモテロール２水和物）、サルメテロール（例えば、キシナホ酸サルメテロール）、テルブタリン（例えば、硫酸テルブタリン）、サルブタモール（例えば、硫酸サルブタモール）、バンブテロール（例えば、塩酸バンブテロール）、リミテロール、フェノテロール、レプロテロール、ピルブテロール、ビトルテロール、クレンブテロール、プロカテロール、ブロキサテロール、ピクメテロール、マブテロール、イソプレナリン、オルシプレナリン、およびアドレナリンが挙げられるが、それに限定されない。

【００５８】

糖質副腎皮質ステロイドは、本発明において使用されるならば、抗炎症性の糖質副腎皮質ステロイドであるのが好ましい。例えば本発明において使用され得る糖質副腎皮質ステロイドとしては、ベタメタゾン、フルチカゾン（例えば、プロピオン酸として）、ブデソニド、チプレダン、デキサメタゾン、ベクロメタゾン（例えば、ジプロピオン酸として）、プレドニゾロン、フルオシノロン（例えば、アセトニドとして）、トリアムシノロン（例えば、アセトニドとして）、モメタゾン（例えば、フロン酸として）、フルメタゾン、フルニソリド、シクレソニド、デフラザコート、およびコルチバゾールが挙げられる。好適な蛋白質およびポリペプチドとしては、インシュリン、インターフェロン、抗体、カルシトニン、ワクチン、副甲状腺ホルモン、顆粒球コロニー刺激因子、卵胞刺激ホルモン等が挙げられる。これらの組み合わせ、例えば副腎皮質ステロイドとβ－アゴニストとの組み合わせも考えられる。例えば好適な蛋白質およびポリペプチドとしては、吸入により患者に投与するのに好適なものが挙げられる。

【００５９】

薬理学的に活性な物質の混合物が使用される場合、その混合物のそれぞれの成分が第１液に溶解される。次に、その結果生成する溶液を第２液と接触させて、当該薬理学的に活性な物質を含む粒子を形成させる。この活性成分の物理学的特性およびステップ（ｂ）において使用される条件により、結果生成する粒子は、それぞれの活性物質からなる個々の

粒子の混合物を含み得る。

別法としては、該粒子が、混成物質として形成されてもよく、各粒子は活性成分の混合物を含む。使用され得る好適な活性物質の混合物としては、例えば糖質副腎皮質ステロイドとブデソニドおよびホルモテロールといった β_2－アゴニストとの混合物が挙げられる。

【００６０】

物質が薬理学的に不活性な物質である場合、それが、抗酸化剤を含み、担体、添加剤、または希釈剤といった薬学的に許容される賦形剤であるのが好ましい。好適な薬学的に許容される賦形剤としては、モノサッカライド（例えば、グルコース、フルクトース、およびガラクトース）、ジサッカライド（スクロース、トレハロース、マルトース、セロビオース、およびラクトースで、好ましくは１水和物としてのラクトース）、トリサッカライド（例えば、ラフィノース、メレジトース）、オリゴサッカライド、ポリサッカライド、またはポリオールが挙げられるが、それに限定されない。ポリサッカライドは、セルロース、デンプン、デキストリンもしくはデキストラン、またはこれらのいずれかの化学的誘導体であってもよい。ポリオールは、糖アルコール、例えばソルビトールおよびマンニトールであるのが好ましい。好適な添加剤としては、薬物のインビボでの吸収を促進するもの、例えば溶解促進剤が挙げられる。

【００６１】

これまでに示した物質は、薬理学的に許容されるエステル、塩、溶媒和物（例えば水和物）、または当該エステルまたは塩の溶媒和物の形態であってもよい。該物質はまた、ラセミ混合物の、あるいは１つまたはそれ以上の光学異性体のような形態であってもよい。

これまでに示されるように、物質は、物質の混合物、例えば２以上の薬理学的に活性な物質の混合物、あるいは１以上の薬理学的に活性な物質と１以上の薬理学的に不活性な物質との混合物を含み得る。

【００６２】

物質が、薬理学的に活性な物質（物質群）である場合、それを１以上の薬学的に許容される賦形剤または添加剤と、本発明の製法を適用する前に（例えば、薬理学的に活性な物質（物質群）と薬学的に許容される賦形剤（賦形剤群）／担体（担体群）を第１液に溶解することにより）予混合してもよい。このことは、活性物質が非常に強力であれば特に好都合である。第１液からの薬理学的に活性な物質および薬学的に許容される賦形剤の同時沈降は、例えば、薬理学的に活性な物質の溶解および／または吸収特性を改変させるのに有益である。例えば、物質は、インシュリンおよびタウロコール酸ナトリウムのような吸収促進剤を含んでもよい。

物質は、２５℃で水溶解度が、１ｍｇ/ｍｌ以上、好ましくは１０ｍｇ/ｍｌ以上、最も好ましくは２０ｍｇ/ｍｌ以上であるのが好ましい。

【００６３】

第１液中の物質量は、必然的に物質の特性に依存する。一般的には、第１液中の物質の濃度は、第１液の溶液中に物質を維持しながら出来る限り高いのが望ましい。第１液は、第１液の単位容量あたりに形成される粒子の量が増えることになるので、第１液中において物質の飽和またはほぼ飽和した溶液を形成するのに十分な量の物質を含有するのが好適である。

【００６４】

本発明の第２の態様により、本発明の第１の態様に記載の製法により得られる物質からなる粒子が提供される。これまでに示されるように、粒子は、１種類の物質、２以上の物質の混合物、または物質およびモジュレーターからなる粒子を含む組成物を含み得る。これまでに示されるような組成物を提供するよう、粒子が更に製剤化されてもよい。例えば、本発明の第２の態様に記載の薬理学的に活性な薬剤と１以上の薬学的に許容される賦形剤とからなる粒子を含む医薬組成物であって、所望により、当該賦形剤（群）が、本発明の第１の態様に記載の製法を用いて調製される。

【００６５】

本発明の第３の態様により、薬理学的に活性な物質と薬学的に許容される賦形剤、担体、または希釈剤を含む医薬組成物が提供され、当該薬理学的に活性な物質と薬学的に許容される賦形剤、担体、または希釈剤のうちの少なくとも１つが、本発明の第１の態様に記載の製法により調製される。

【００６６】

医薬組成物は、１以上の好適な薬学的に許容される賦形剤と混合した、本発明に記載の製法を用いて調製された薬理学的に活性な物質を含む粒子を含み得る。この場合、賦形剤粒子はまた、本発明に従って、例えばＳＥＤＳ(登録商標)技術を用いて提供されてもよく、あるいは別の好適な技術により調製されてもよい。本発明に従って、１以上の賦形剤を含有する粒子を調製し、それらを１以上の薬理学的に活性な物質を含有する粒子と混合することも可能である。この場合、活性物質からなる粒子がまた、本発明に従って調製されてもよく、あるいは別の好適な技術により調製されてもよい。

【００６７】

本発明の第２および第３の態様に記載の粒子および組成物が、薬理学的に活性な物質を含む場合、その粒子は、治療および予防的処置を含むが、それに限定されない医薬品目的、および診断目的で使用され得る。

本発明に従って調製される粒子が、医薬品目的で使用される場合、それらは、経口、経直腸、経扁桃、舌下、経鼻、経膣、経腸、筋注、皮下、眼内、経肺、または経皮投与を含むが、それに限定されない様々な経路で投与され得る。

【００６８】

好ましい実施態様においてこれまでに示すように、本発明の第２の態様に記載の粒子は、薬理学的に活性な蛋白質またはポリペプチド（特にはインシュリン）を含む、１ミクロン未満の粒子サイズからなり、これは経肺投与に好適である。

当該粒子およびそれらの製剤は、例えば鼻または肺のアレルギーおよび／または炎症状態のといった呼吸器疾患の処置における使用、炎症性腸疾患のような腸疾患の処置における使用、または糖尿病の処置における使用に好適となり得る。

【図面の簡単な説明】

【００６９】

【図１】図１は、クエン酸トリエチルモジュレーターなしで、ＳＥＤＳ(登録商標)製法を用いて、水から沈降させたリゾチーム粒子を示す。

【図２】図２は、クエン酸トリエチルモジュレーター存在中で、ＳＥＤＳ(登録商標)製法を用いて、水から沈降させたリゾチーム粒子を示す。

【図３】図３は、第２液が二酸化炭素およびエタノールであるＳＥＤＳ(登録商標)製法を用いて、水／クエン酸トリエチル溶液から沈降させて調製したリゾチーム粒子を示す。

【図４】図４は、クエン酸トリエチルモジュレーター存在中で、ＳＥＤＳ(登録商標)製法を用いて、水から沈降させたアルブミン粒子を示す。　本発明は、図示されるが、以下に示す実施例によっては限定されない。

【実施例１】

【００７０】

実施例１．１

リゾチーム（１０ｍｇ、Sigma-Aldrichから）を、室温（およそ２２℃で）、３００ｍｇのクエン酸トリエチルの水溶液（５ｍｌ）中に溶解した。クエン酸トリエチルの２５℃での水溶解度は、５．７ｇ/１００ｍｌである。

この溶液を、図１および国際特許ＷＯ ９５/０１２２１に添付される明細書で示すように、ＳＥＤＳ(登録商標)装置のチャンバ内の同軸ノズル（ノズルチップ径、０．１ｍｍ）を通じて、エタノールで修飾した二酸化炭素と混合する。その二酸化炭素およびエタノールを、以下に示す流速でノズルの１つのチャンネル中に同時導入する。リゾチーム溶液を、５０℃まで加熱して（溶液の温度が、溶液の曇点温度を超えると、クエン酸トリエチルの相分離により生じる）濁った溶液を提供した。次に、その溶液を、以下で特定される流速で、装置のＳＥＤＳ(登録商標)粒子形成チャンバ中に導入した。

【００７１】
形成されたリゾチーム粒子を、チャンバの底部に集められる。クエン酸トリエチルを、超臨界二酸化炭素中に溶解して、それにより除去すると、その結果実質的にクエン酸トリエチルを含有しないリゾチーム粒子が生成する。顕著に圧力が増加することなく、この実験は実施された。
ＳＥＤＳ(登録商標)装置の運転条件は以下に示す通りである：
温度：５０℃
圧力：１００バール
二酸化炭素の流速：１０ｍｌ/分
溶液の流速：０.０５ｍｌ/分
エタノールの流速：１.０ｍｌ/分。
【００７２】
生成された２％(ｗ/ｖ)リゾチーム溶液から調製されるＭＭＤが１ミクロン未満のリゾチーム粒子の割合は、３６％であった。図２は、調製されたリゾチーム粒子のＳＥＭである。
クエン酸トリエチルなしの水溶液を用いて、上述の方法が繰り返された場合、ＭＭＤが１ミクロン未満の粒子の割合は、ＬＳコールターの粒子サイズ測定により、１２％であることが見出された。
【００７３】
実施例１.２
実施例１.１に記載の方法が、以下に示す条件を用いて繰り返された：９０バール、５０℃、二酸化炭素の流速、９ｍｌ/分、リゾチームおよびクエン酸トリエチルを含有する水溶液の流速、０.０４５ｍｌ/分、およびエタノールの流速、０.９ｍｌ/分。この結果、ＭＭＤが１ミクロン未満のリゾチーム粒子が８９％となった、これらの粒子のＳＥＭが図３に示されている。
【実施例２】
【００７４】
１０ｍｇ/ｍｌで含有する５ｍｌのアルブミン水溶液を、３００ｍｇのクエン酸トリエチルおよび２００ｍｇのポリソルベート８０（製法用装置上へのアルブミンの吸着を最小限に抑えるため）を含有する水溶液（５ｍｌ）に溶解した（アルブミンはFlukaから）。その製法は、実施例１に示される通りであるが、以下の操作パラメーターで実施された：温度５０℃；圧力２００バール（ポリソルベート８０を確実に完全抽出するため）；二酸化炭素の流速：１８ｍｌ/分；アルブミン溶液の流速：０.０８ｍｌ/分、およびエタノールの流速：１.８ｍｌ/分。
図４においてこの実験のＳＥＭ分析により、形成された均一な１ミクロン未満の粒子がはっきりと示されている。
【実施例３】
【００７５】
インシュリン粒子の調製（Ｎａ－タウロコール酸なし）
室温で、ヒトインシュリン（８７ｍｇ）を、０.０２Ｍ ＨＣｌ（２ｍｌ）および０.０２Ｍ ＮａＯＨ（２ｍｌ）に溶解し、ｐＨをｐＨ７に調節した。クエン酸トリエチル（２４０ｍｇ）を添加して、攪拌しながら溶解した。製法は、実施例１に従って、以下に示すパラメーターを用いて実施した：温度５０℃；圧力１２５バール；二酸化炭素の流速：１５ｍｌ/分；インシュリン溶液の流速：０.０５ｍｌ/分、およびエタノールの流速：１.４ｍｌ/分。
その結果生成する粒子についてのＳＥＭ分析により、０.２～２μｍの範囲の粒子を形成し、そのほとんどが１ミクロン未満のサイズであることが示された。
【実施例４】
【００７６】
インシュリンおよびＮａ－タウロコール酸粒子の調製

室温で、ヒトインシュリン（３４５ｍｇ）を、０.０２Ｍ ＨＣ１（９ｍｌ）および０.０２Ｍ ＮａＯＨ（９ｍｌ）中に溶解した。ｐＨを７に調節した。Ｎａ－タウロコール酸（１１５ｍｇ、Prodotti Chimici E. Alimentari SPAから）を攪拌しながら添加し、次いでクエン酸トリエチル（１.０７ｇ）を添加した。製法は、実施例１に従って、以下に示すパラメーターを用いて実施した：温度５０℃；圧力１２５バール；二酸化炭素の流速：１８ｍｌ/分；インシュリン溶液の流速：０.０５ｍｌ/分、およびエタノールの流速：２ｍｌ/分。

その粒子についてのＳＥＭ分析により、０.１～０.５μｍの範囲の粒子を形成し、そのほとんどが１ミクロン未満のサイズであることが示された。

【実施例５】

【００７７】

リゾチームおよびＮａ－タウロコール酸粒子の調製

リゾチーム（１５３ｍｇ、Servaから）を水（６ｍｌ）に溶解し、Ｎａ－タウロコール酸（１５.３ｍｇ、Prodotti Chimici E. Alimentari SPAから）の水溶液（１.５ｍｌ）を攪拌しながら添加し、次いでクエン酸トリエチル（４５０ｍｇ）を添加した。製法は、実施例１に従って、以下に示すパラメーターを用いて実施した：温度５０℃；圧力１００バール；二酸化炭素の流速：１５ｍｌ/分；リゾチーム溶液の流速：０.０５ｍｌ/分、およびエタノールの流速：１ｍｌ/分。

ＳＥＭ分析により、均一の１ミクロン未満の粒子を形成したことが示された。

【図１】



Figure 1

【図２】

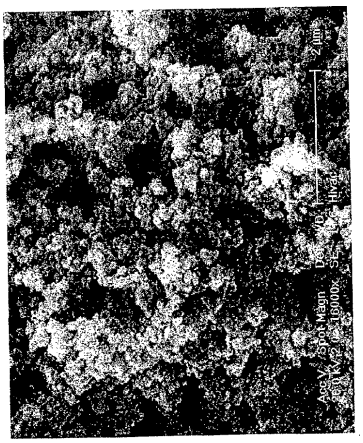


Figure 2

【図３】



Figure 3

【図４】



Figure 4

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		
A61K 38/00	***(2006.01)***	A61K	37/02	
B01J 3/00	***(2006.01)***	B01J	3/00	A
B01J 19/00	***(2006.01)***	B01J	19/00	N

(72)発明者 ゴーラン・エリック・スンドホルム
スウェーデン、エス－１５１ ８５セーデルテイエ
(72)発明者 ムスタファ・デミルブケル
スウェーデン、エス－１６９ ７０ソルナ、１０ベー
(72)発明者 サイード・モシャシャエー
アメリカ合衆国４６２８５インディアナ州インディアナポリス、リリー・コーポレイト・センター

審査官 佐久 敬

(56)参考文献 米国特許第０５６３９４４１（ＵＳ，Ａ）
国際公開第９９／０５２５０７（WO，Ａ１）
特表平０８－５１１９８７（ＪＰ，Ａ）
国際公開第００／０３０６１３（WO，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 35/00-35/76
A61K 36/00-36/9068
A61K 38/00-38/58
A61K 39/00-39/44
A61K 45/00-45/08
A61K 48/00
B01J 3/00
B01J 19/00
BIOSIS(STN)
CAplus(STN)
MEDLINE(STN)