



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109310654 A

(43)申请公布日 2019.02.05

(21)申请号 201780035360.7

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

(22)申请日 2017.06.06

有限公司 11262

(30)优先权数据

代理人 牟静芳 郑霞

1609940.0 2016.06.07 GB

(51)Int.Cl.

62/346,969 2016.06.07 US

A61K 31/145(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 9/00(2006.01)

2018.12.06

A61K 9/16(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A61K 45/06(2006.01)

PCT/GB2017/051637 2017.06.06

A61P 11/00(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/212249 EN 2017.12.14

(71)申请人 诺瓦生命科学有限公司

权利要求书2页 说明书24页 附图3页

地址 英国阿伯丁郡

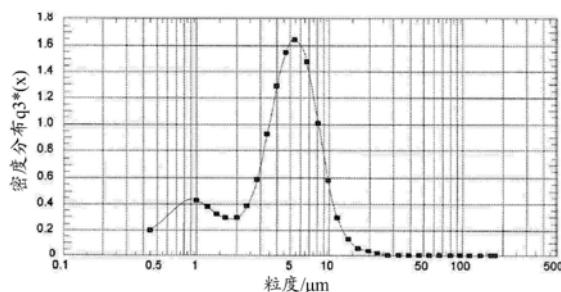
(72)发明人 D·奥尼尔

(54)发明名称

包含含硫化合物的微粒

(57)摘要

本发明提供了微粒,所述微粒包含含硫化合物例如半胱胺、或其药学上可接受的盐、水合物或酯。还提供了包含微粒和稳定剂的组合物。



1. 微粒,所述微粒包含含硫化合物或其药学上可接受的盐、水合物或酯。
2. 如权利要求1所述的微粒,其中所述化合物是氨基硫醇。
3. 如权利要求2所述的微粒,其中所述氨基硫醇是半胱胺或其衍生物。
4. 如权利要求1所述的微粒,其中所述化合物是有机二硫化物。
5. 如权利要求4所述的微粒,其中如权利要求7所述,其中所述有机二硫化物是胱胺。
6. 如任一项前述权利要求所述的微粒,其中所述颗粒具有约0.5微米至15微米的粒度。
7. 如权利要求6所述的微粒,其中所述颗粒具有1微米至13微米的粒度。
8. 如权利要求7所述的微粒,其中所述颗粒具有4微米至8微米的粒度。
9. 如权利要求8所述的微粒,其中所述颗粒具有2微米至4微米的粒度。
10. 一种组合物,所述组合物包含如权利要求1至9中任一项所述的微粒和稳定剂。
11. 如权利要求10所述的组合物,其中所述稳定剂选自由以下组成的组:单糖、二糖、三糖、寡糖和相应的糖醇、多糖以及化学改性的碳水化合物。
12. 如任一项前述权利要求所述的组合物,其中所述稳定剂是糖例如海藻糖。
13. 如权利要求1至11中任一项所述的组合物,其中所述稳定剂是糖醇。
14. 如任一项前述权利要求所述的组合物,所述组合物包含高达20%w/w的含硫化合物。
15. 如权利要求14所述的组合物,所述组合物包含在约5%w/w和10%w/w之间的含硫化合物。
16. 如任一项前述权利要求所述的组合物,所述组合物包含高达85%的稳定剂。
17. 如任一项前述权利要求所述的组合物,所述组合物包含在80%w/w和95%w/w之间的稳定剂。
18. 如任一项前述权利要求所述的组合物,所述组合物是水性组合物。
19. 如任一项前述权利要求所述的组合物,所述组合物还包含亮氨酸。
20. 如权利要求19所述的组合物,所述组合物包含在1%和10%之间的亮氨酸。
21. 如任一项前述权利要求所述的组合物,所述组合物呈选自由微粒、微球和粉末组成的组的固体剂型。
22. 如权利要求21所述的组合物,所述组合物是干粉。
23. 如权利要求1至9中任一项所述的微粒、或如权利要求10至22中任一项所述的组合物,用于在肺病的治疗或预防中使用。
24. 一种治疗或预防肺病的方法,所述方法包括将如权利要求1至9中任一项所述的微粒或如权利要求10至22中任一项所述的组合物施用至患有肺病或先前已经患有肺病的受试者。
25. 一种治疗组合物,所述治疗组合物包含如权利要求1至9中任一项所述的微粒、或如权利要求10至22中任一项所述的组合物、和至少一种另外的药物剂。
26. 如权利要求25所述的治疗组合物,其中所述另外的药物剂是抗细菌剂。
27. 如权利要求26所述的治疗组合物,其中所述另外的药物剂选自由以下组成的组:抗生素、粘液溶解剂、血管扩张剂例如支气管扩张剂、抗高血压剂、心血管药物和钙通道阻断剂。
28. 一种吸入装置,所述吸入装置包含如权利要求1至9中任一项所述的微粒、或如权利

要求10至22中任一项所述的组合物。

包含含硫化合物的微粒

发明领域

[0001] 本发明涉及微粒,所述微粒包含含硫化合物例如半胱胺或胱胺、或其药学上可接受的盐、水合物或酯。

[0002] 发明背景

[0003] 囊性纤维化 (CF) 是由位于染色体上的囊性纤维化跨膜传导调节因子 (CFTR) 基因中的突变引起的多系统紊乱。

[0004] 肺病仍然是患有CF的患者的发病率和死亡率的主要原因 [Davis PB,Drumm M, Konstan MW.Cystic fibrosis.Am J Respir Crit Care Med 1996;154:1229;Goss CH, Rosenfeld M.Update on cystic fibrosis epidemiology;Curr Opin Pulm Med 2004; 10:510;Brennan AL,Geddes DM.Cystic fibrosis.Curr Opin Infect Dis 2002;15:175; Gibson RL,Burns JL,Ramsey BW.Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis.Am J Respir Crit Care Med 2003;168:918]。

[0005] CF肺病的主要驱动因素之一是感染 (Sagel SD,Gibson RL,Emerson J,等人 .Impact of Pseudomonas and Staphylococcus infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis.J Pediatr 2009;154: 183;Cystic Fibrosis Foundation Annual Patient Registry 2013.在<http://www.cff.org/research/ClinicalResearch/PatientRegistryReport/>可获得 (2015年8月7日访问))。

[0006] 治疗CF中的感染的方法是多方面的,涉及抗生素、胸部物理疗法、促进分泌物清除的吸入药物、和抗炎剂。毫无疑问地,改进的抗生素的使用是在患有CF的患者中已经发生的增加的存活率中的大部分的原因 (Brennan AL,Geddes DM.Cystic fibrosis.Curr Opin Infect Dis 2002;15:175;Sagel SD,Gibson RL,Emerson J,等人 .Impact of Pseudomonas and Staphylococcus infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis.J Pediatr 2009;154:183)。

[0007] 对于用于治疗和预防肺病/状况、特别是与富含粘液的环境相关的那些肺病/状况例如CF肺的更好的疗法仍然存在需求。此外,仍然需要限制与新的替代疗法或辅助治疗的引入一起使用的抗生素的量或剂量,所述替代疗法或辅助治疗可以改进在细菌感染、特别是CF肺的治疗或预防中的目前可用的治疗的有效性。

[0008] 令人惊讶地,我们已经示出了微粒为患有肺病的患者提供了有用的半胱胺的递送模式。

[0009] 发明陈述

[0010] 根据本发明的第一方面,提供了一种微粒或更多种微粒,所述一种微粒或更多种微粒包含含硫化合物或其药学上可接受的盐、水合物或酯。

[0011] 如本文使用的,“含硫化合物”意图覆盖半胱胺、胱胺或其衍生物。含硫化合物可以是氨基硫醇。氨基硫醇的实例包括半胱胺及其衍生物。术语“其衍生物”可以涵盖2-甲基硫代乙胺(肉桂酸酯)、2-甲基硫代乙基脲、N-(2-甲基硫代乙基)对乙酰氨基苯甲酰胺、2-氨基

乙硫醇、N-(2-甲基硫代乙基)对乙酰氨基苯磺酰胺、N-(2-丙基硫代乙基)-对甲氧基苯甲酰胺、N-(丁基硫代乙基)烟酰胺、N-(2-十二烷基硫代乙基)对丁氧基苯甲酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)对甲苯磺酰胺、N-(2-异丙基硫代乙基)丙酰胺、N-(2-辛基硫代乙基)乙酰胺、N-(2-丁基硫代乙基)甲烷磺酰胺、N-(2-异戊基硫代乙基)丁烷、双1,4-(2-乙酰氨基乙基硫代)2,3-丁二醇、2-十六烷基硫代乙胺盐酸盐、2-烯丙基硫代乙胺苹果酸盐、9-十八烯-2-基硫代乙胺盐酸盐、2-十二烷基硫代乙胺盐酸盐、2-异戊基硫代乙胺扁桃酸盐、2-十八烷基硫代乙胺水杨酸盐、2-β-羟基乙基硫代乙基脲、2-β-羟基乙基硫代乙胺盐酸盐、2-(2,3-二羟基丙基硫代)乙胺对甲苯磺酸盐、2-(2-羟基丙基硫代)乙胺草酸盐、N-(2-甲基硫代乙基)苯基乙酰胺、2-(2,2-二甲氧基乙基硫代)乙胺盐酸盐、2-(2,2-二甲氧基乙基硫代)乙胺十一烯酸盐、2-(2,2-二乙氧基乙基硫代)乙胺十一烯酸盐、2-(2,2-二乙氧基乙基硫代)乙胺乙酸盐、2-十一烯基硫代乙胺、2-β-脲基乙基硫代乙胺盐酸盐、2-β-乙酰氨基乙基硫代乙胺托品酸盐、2,2'-硫代二乙胺富马酸盐、2,2'-硫代二乙基脲、3-β-氨基乙基硫代丙胺盐酸盐、S-β-脲基乙基硫代氨基甲酸盐、2-乙氧基羰基硫代乙胺盐酸盐、2-二甲基氨基羰基硫代乙胺硫酸盐、2-丁氧基羰基甲基硫代乙基脲、2-乙氧基羰基甲基硫代乙胺盐酸盐、6-β-氨基乙基硫代己酸甲酯盐酸盐(6-.beta.-aminoethylthio hexanoate of methyl hydrochloride)、5-β-氨基乙基硫代戊酸、2-苯基硫代乙胺磷酸二氢盐、2-对叔丁基苯基硫代乙胺三氯乙酸盐、2-对甲氧基苯基硫代乙胺酒石酸氢盐、2-甲苯基硫代乙胺氢溴酸盐、2-(1-联苯基硫代)乙胺盐酸盐、2-N-五氯苯基硫代乙基乙酰胺、2-苄基硫代乙胺苹果酸盐、2-苄基硫代乙胺烟酸盐、2-苄基硫代2-甲基丙胺盐酸盐、2-苄基硫代丙胺乳酸盐、N-(2-苄基硫代乙基)烟酰胺盐酸盐、N-(2-苄基硫代乙基)10-十一烯酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)十六酰胺、S-β-氨基乙基硫基丁酸、N-(2-苄基硫代乙基)甲酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)苯基乙酰胺、N-[2-(2,6-二甲基苯基)乙基]己酰胺、2-邻氨基苯基硫代乙胺琥珀酸盐、N-(2-苄基硫代乙基)谷氨酰胺、S-β-氨基乙基巯基乙酸、(3-S-β-氨基乙基)巯基丙酸、(3-S-γ-氨基丙基)巯基乙酸、S(2-对甲氧基苯甲酰氨基乙基)巯基2-(2-萘基甲基硫代)乙胺盐酸盐、2-(2-萘基甲基硫代)乙胺琥珀酸氢盐(disuccinate)、(2-噻吩甲基)2-硫代乙胺氢溴酸盐、2-N-乙酰基(2-噻吩甲基硫代)乙胺、2-邻氯苄基硫代乙胺盐酸盐、2-对氯苄基硫代乙胺乙醇酸盐、2-邻氟苄基硫代乙胺盐酸盐、2-糠基硫代乙胺盐酸盐、2-四氢糠基硫代乙胺对氨基苯甲酸盐、2-β-苯基乙基硫代乙胺谷氨酸盐、2-二苯基甲基硫代乙胺盐酸盐、2-三苯基甲基硫代乙胺盐酸盐半水合物、2-(2-吡啶基乙基硫代)乙胺盐酸盐、2-(2-对甲苯磺酰氨基乙基硫代)吡啶N-氧化物、2-β-氨基乙基硫代甲基吡啶N-氧化物二盐酸盐、2-β-氨基乙基硫代吡啶N-氧化物盐酸盐、2,4-二氯-2-苄基硫代乙胺天冬氨酸盐、N-[2-(3,4-二氯苄基硫代)乙基]丁酰胺、N-[2-(2,6-二氯苄基硫代)乙基]十二烷酰胺、N-[2-(3,5-二氯苄基硫代)乙基]三氟乙酰胺盐酸盐、2-对乙氧基苄基硫代乙胺盐酸盐、N-[2-间氟苄基硫代乙基]氯乙酰胺、2-对溴苄基硫代乙胺琥珀酸盐、2-(3,4-二甲氧基苄基硫代)乙胺苹果酸盐、2-(3,4-亚甲基二氧基苄基硫代)乙胺盐酸盐、2-(2,4-二氯十六烷基硫代)乙胺、2-(3,4,5-三甲氧基苄基硫代)乙胺氢化肉桂酸盐(2(3,4,5-trimethoxy benzylthio)ethylamine hydrocinnamate)、2-对甲氧基苄基硫代乙胺水杨酸盐、2-邻甲基苄基硫代乙胺苯基乙酸盐、N-[2-对二甲基氨基苄基硫代乙基]甲烷-磺酰胺、2-对苯氧基苄基硫代乙胺盐酸盐、2-β-氨基乙基硫代吡啶盐酸盐、2-苄基硫代乙胺柠檬酸盐、N-[2-苄基硫代乙基]2,4-二羟基3,3-二甲基丁酰胺、N-(2-苄基硫代乙

基)6,8-二羟基7,7-二甲基5-氧代4-氮杂辛酰胺、N-[2-(2-吡啶基硫代)乙基]丙酰胺、2-(2-吡啶基甲基硫代)乙胺二盐酸盐、2-苄基硫代乙胺泛酸盐、S-(β -乙酰氨基乙基)巯基乙酸 β -吗啉代乙酯(S-(.beta.-acetamidoethyl) mercaptoacetate of beta.-morpholinoethyl)、S-(β -苯基乙酰氨基乙基)巯基乙酸N'-甲基2-哌嗪基乙酯、S-(β -脲基乙基)巯基乙酸 β -吡咯烷基乙酯、S-(β -三氟乙酰氨基乙基)- β -巯基丙酸 β -二甲基氨基乙酯、2-对硝基苄基硫代乙胺巴豆酸盐、2- β -吗啉代羰基乙基硫代乙胺盐酸盐、N,N-二(羟乙基)S-(β -苯甲酰氨基-乙基)巯基乙酰胺(N,N-di(hydroxyethyl)S-(.beta.-benzamidoethyl) mercapto-acetamido)、N[2-N'-甲基哌嗪基羰基硫代乙基]乙酰胺、2-(1-萘基硫代)乙胺盐酸盐、N-(3- β -脲基乙基硫代丙基)琥珀酰胺酸、3-烯丙基硫代丙胺、3-(2,2'-二甲氧基乙基硫代)丙胺、3-(2,2'-二甲氧基乙基硫代)丙胺硫酸盐、S- β -氨基乙基巯基乙酸、S- β -氨基乙基巯基乙酸的盐酸盐、N-(2-苄基硫代乙基)乙酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)丙酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)丁酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)甲烷磺酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)乙烷磺酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)丙烷磺酰胺、N-(2-苄基硫代乙基)丁烷磺酰胺、S-(2-对乙酰氨基苯磺酰胺乙基)巯基乙酸、S-(2-对乙酰氨基苯甲酰氨基乙基)巯基乙酸、N-(2-噻吩甲基硫代乙基)乙酰胺、2-苄基硫代丙胺、2-苄基硫代2-甲基丙胺、2-(2-对甲苯磺酰氨基乙基硫代)吡啶N-氧化物、S-(2-对丁氧基苯甲酰氨基乙基)巯基乙酸、2-叔丁基硫代乙胺盐酸盐、2-甲氧基羰基甲基硫代乙胺盐酸盐、2-乙氧基羰基甲基硫代乙胺盐酸盐、2-丙氧基羰基甲基硫代乙胺盐酸盐、2-丁氧基羰基甲基硫代乙胺盐酸盐、2,2'-硫代二乙胺二盐酸盐、3-(2-氨基乙基硫代)丙氨酸盐酸盐、2-苄基硫代乙基铵二酸式磷酸盐(2-benzylthio ethylammonium diacid phosphate)、2-甲基硫代乙胺、N-(甲基硫代乙基)对乙酰氨基苯甲酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)烟酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)苯甲酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)对丁氧基苯甲酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)丁酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)丙酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)乙酰胺、N-(2-甲基硫代乙基)丁烷磺酰胺、N-(2-辛基硫代乙基)甲烷磺酰胺、2-十六烷基硫代乙胺盐酸盐、2-(2-羟基乙基硫代)乙胺盐酸盐、2-甲基硫代乙胺苯基乙酸盐和2-甲基硫代乙胺十一烯酸盐。

[0012] 可选择地,含硫化合物可以是有机二硫化物,例如胱胺。

[0013] 本发明的含硫化合物可以以药学上可接受的盐的形式被施用。本发明的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法由包含碱性部分或酸性部分的母体化合物合成。通常,这样的盐可以通过使游离酸形式或游离碱形式的这些化合物与化学计算量的适当的碱或酸在水中或在有机溶剂中或者在这两者的混合物中反应来制备;通常,非水性介质,如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是优选的。合适的盐的清单在Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,US,1985,第1418页中找到,其公开内容在此通过引用并入;还参见Stahl等人,编著"Handbook of Pharmaceutical Salts Properties Selection and Use",Verlag Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH,2002。措辞“药学上可接受的”在本文中被采用以指的是在合理医学判断的范围内适合用于与人类或(视具体情况而定)动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的益处/风险比率相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0014] 因此,本发明包括公开的化合物的药学上可接受的盐,其中母体化合物通过制备其酸盐或碱盐例如诸如由无机或有机的酸或碱形成的常规无毒盐或季铵盐来改性。这样的

酸加成盐的实例包括：乙酸盐、己二酸盐、海藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙烷磺酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙烷磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲烷磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐(pectinate)、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一烷酸盐。碱盐包括铵盐、碱金属盐(例如钠盐和钾盐)、碱土金属盐(例如钙盐和镁盐)、与有机碱的盐(例如二环己胺盐、N-甲基-D-葡萄糖胺)、以及与氨基酸例如精氨酸、赖氨酸等等的盐。此外，碱性含氮基团可以用诸如以下的剂季铵化：低级烷基卤化物，例如甲基氯化物、溴化物和碘化物，乙基氯化物、溴化物和碘化物，丙基氯化物、溴化物和碘化物，和丁基氯化物、溴化物和碘化物；二烷基硫酸酯，如二甲基硫酸酯、二乙基硫酸酯、二丁基硫酸酯和二戊基硫酸酯；长链卤化物，例如癸基氯化物、溴化物和碘化物，月桂基氯化物、溴化物和碘化物，肉豆蔻基氯化物、溴化物和碘化物，和硬脂基氯化物、溴化物和碘化物；芳烷基卤化物，如苄基溴化物和苯乙基溴化物及其他。

[0015] 在本发明的优选的方面中，微粒具有约0.5微米至15微米，例如1微米至13微米，包括4微米至8微米的粒度。粒度可以被定义为“体积平均直径”，并且因此微粒可以具有约0.5微米至15微米，例如1微米至13微米，包括4微米至8微米的体积平均直径。微粒可以具有2微米至4微米(microns)/微米(micrometers)(2μm-4μm)的体积平均直径。

[0016] 平均值(mean)是与平均值(average)的概念类似的计算值。各种平均值计算在若干标准文件中被定义(ISO 9276-2:2001:Representation of results of particle size analysis-Part 2:Calculation of average particle sizes/diameters and moments from particle size distributions; ASTM E 799-03 Standard Practice for Determining Data Criteria and Processing for Liquid Drop Size Analysis)。对于平均值存在多个定义，因为平均值与分布计算的基础(数目、表面、体积)相关，对于数目、表面和体积分布的解释参见(TN154, Particle Size Result Interpretation: Number vs. Volume Distributions，在www.horiba.com/us/particle可获得)。用于定义体积平均值的等式在下文示出。考虑此计算的最好的方式是考虑直方图表，该直方图表示出了n个尺寸通道的上限和下限连同此通道内的百分比。用于每个通道的 D_i 值是几何平均值，即上限直径 x 下限直径的平方根。对于分子，取几何 D_i 的四次方乘以该通道中的百分比，在所有通道上求和。对于分母，取几何 D_i 的三次方乘以该通道中的百分比，在所有通道上求和。

$$[0017] D[4,3] = \frac{\sum_{i=1}^n D_i^4 v_i}{\sum_{i=1}^n D_i^3 v_i}$$

[0018] 体积平均直径具有若干名称，包括D4,3或D50/D90。

[0019] 如本文使用的，关于颗粒的术语“直径”或“d”指的是数量平均粒度，除非另外指定。可以用于描述数量平均粒度的等式的实例在下文示出：

$$[0020] d = \frac{\sum_{i=1}^{\rho} n_i d_i}{\sum_{i=1}^{\rho} n_i}$$

[0021] 其中n=给定直径(d)的颗粒的数目。

[0022] 如本文使用的,术语“几何尺寸”、“几何直径”、“体积平均尺寸”、“平均直径”或“d^g”指的是体积加权直径平均值。可以用于描述体积平均直径的等式的实例在下文示出:

$$[0023] d_g = \left[\frac{\sum_{i=1}^{\rho} n_i d_i^3}{\sum_{i=1}^{\rho} n_i} \right]^{1/3}$$

[0024] 其中n=给定直径(d)的颗粒的数目。

[0025] 如本文使用的,术语“体积中值”指的是“体积加权的”分布的中值直径值。中值是其中总数中的50%是较小的并且50%是较大的且相当于50%的累积分数的直径。

[0026] 几何粒度分析可以在Coulter计数器上,通过光散射,通过光学显微镜、扫描电子显微镜或透射电子显微镜进行,如本领域中已知的。通常认为用于递送至肺的理想情景是具有<5微米的空气动力学直径。参见,例如,Edwards等人,J Appl. Physiol. 85 (2) :379-85 (1998); Suarez&Hickey, Respir. Care. 45 (6) :652-66 (2000)。

[0027] 如本文使用的,术语“空气动力学直径”指的是具有1g/mL的密度的球体在重力下以与分析的颗粒相同的速度下落时的等效直径。微粒的空气动力学直径(d_a)通过以下与几何直径(d^g)和壳层密度(envelope density)(p_e)相关:

$$[0028] d_a = d_g \sqrt{p_e}$$

[0029] 孔隙率影响壳层密度,这继而影响空气动力学直径。因此,孔隙率可以用于影响微粒进入肺的位置和微粒在肺中释放药物剂的速率两者。重力沉降(沉降)、惯性冲击、布朗扩散、拦截和静电影响肺中的颗粒沉积。

[0030] 微粒可以具有约0.5微米至15微米,例如1微米至13微米,包括4微米至8微米的空气动力学直径。微粒可以具有2微米至4微米(microns)/微米(micrometers)(2μm-4μm)的空气动力学直径。

[0031] 在另外的方面中,本发明提供了组合物,所述组合物包含根据本发明的第一方面的微粒和稳定剂。在一些情况下,稳定剂选自由以下组成的组:单糖、二糖、三糖、寡糖及其相应的糖醇、多糖和化学改性的碳水化合物。

[0032] 在又另外的方面中,本发明提供了组合物,所述组合物包含含硫化合物或其药学上可接受的盐、水合物或酯,以及如本文定义的稳定剂。

[0033] 稳定剂可以是糖例如海藻糖。

[0034] 稳定剂可以是选自由乳糖、赤藓糖醇、核糖醇、木糖醇、半乳糖醇、葡萄糖醇和甘露醇组成的组的糖醇。优选地,稳定剂是甘露醇。

[0035] 在本发明的优选的组合物中,组合物包含高达20%w/w的含硫化合物,例如在1%w/w和15%w/w之间,例如在约5%w/w和10%w/w之间的含硫化合物。典型地,组合物包含约5%或10%的含硫化合物。

[0036] 如本文使用的,术语“约”意图改变指定的量,以允许指定量的在+10%或-10%之间的微小波动。

[0037] 在本发明的优选的组合物中,组合物包含高达85%的稳定剂。组合物可以包含在80%w/w和95%w/w之间的稳定剂,例如在85%w/w和90%w/w之间的稳定剂。典型地,组合物包含约90%的稳定剂。

[0038] 已经示出的是,在包含海藻糖或甘露醇的根据本发明的组合物中,半胱胺具有增加的制剂稳定性。

[0039] 在本发明的优选的实施方案中,含硫化合物是半胱胺或胱胺,优选地半胱胺。在本发明的另外的实施方案中,含硫化合物是半胱胺酒石酸氢盐。

[0040] 在优选的实施方案中,组合物作为水性组合物被提供。

[0041] 本发明的组合物还可以包含亮氨酸。亮氨酸已经令人惊讶地示出改进了制剂的稳定性。在本发明的一个实施方案中,组合物包含在1%和10%之间的亮氨酸,优选地约5%的亮氨酸。

[0042] 组合物可以呈选自由微粒、微球和粉末组成的组的固体剂型。优选地,组合物作为干粉被提供。粉末可以包含具有约3微米至8微米,包括4微米至8微米,例如3微米至7微米的几何直径的颗粒。在一个实施方案中,粉末包含具有高达约5微米,例如2微米至4微米的几何直径的颗粒。

[0043] 本发明的另外的方面提供了根据本发明的第一方面的微粒或根据本发明的组合物,用于在治疗或预防肺病中使用。

[0044] 本发明的又另外的方面涉及治疗或预防肺病的方法,所述方法包括将根据本发明的第一方面的微粒或根据本发明的组合物施用至患有肺病或先前已经患有肺病的受试者。

[0045] 如本文使用的,术语“肺病”包括肺的任何疾病或状况,包括囊性纤维化,特别是与囊性纤维化相关的肺部感染,以及慢性阻塞性肺病(COPD)。COPD是肺病的集合的名称,包括慢性支气管炎、支气管扩张、肺气肿和慢性阻塞性气道疾病。术语肺病还意图包括具有粘液或传染性要素的任何呼吸道疾病,例如慢性咳嗽、普通感冒、流感、汉坦病毒、肺炎和胸膜炎。

[0046] 本发明的另外的方面提供了在肺病的治疗或预防中可以是有用的治疗组合物(或组合),所述治疗组合物包含根据本发明的第一方面的微粒或根据本发明的组合物、和至少一种另外的药物剂。另外的药物剂可以选自由以下组成的组:抗微生物剂例如抗病毒剂、抗真菌剂或抗细菌剂,例如抗生素、粘液溶解剂、血管扩张剂例如支气管扩张剂、抗高血压剂、心血管药物和钙通道阻断剂。优选地,另外的药物剂是抗生素。

[0047] 术语“抗生素”用于指的是可以来源于细菌来源的抗细菌剂。抗生素剂可以是杀菌和/或抑菌的。

[0048] 抗生素剂可以包含β-内酰胺环。β-内酰胺环是若干抗生素家族的核心结构的部分,主要的家族是青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类和单环内酰胺类。这些抗生素剂被称为β-内酰胺抗生素。

[0049] 通常,抗生素剂是由以下组成的组:氨基糖苷类、安莎霉素类、碳头孢烯、 β -内酰胺、碳青霉烯类、头孢菌素类(包括第一代、第二代、第三代、第四代和第五代头孢菌素)、青霉素、单环内酰胺类、甘氨酰环素类、林可酰胺类、脂肽类、大环内酯类、硝基呋喃类、噁唑烷酮类、喹诺酮类、磺酰胺类、多肽类和四环素类。

[0050] 抗生素剂可以是由以下组成的组:氨基糖苷类、安莎霉素类、碳头孢烯类、碳青霉烯类、头孢菌素类(包括第一代、第二代、第三代、第四代和第五代头孢菌素)、林可酰胺类、大环内酯类、单环内酰胺类、硝基呋喃类、喹诺酮类、青霉素、磺酰胺类、多肽类和四环素类。可选择地或另外地,抗生素剂对分枝杆菌(mycobacteria)可以是有效的。

[0051] 抗生素剂可以是氨基糖苷,例如阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、奈替米星、妥布霉素或巴龙霉素。

[0052] 抗生素剂可以是例如格尔德霉素和除莠霉素。

[0053] 可选择地,抗生素剂可以是碳头孢烯,例如氯碳头孢。

[0054] 抗生素剂是碳青霉烯,例如厄他培南、多尼培南、亚胺培南/西司他丁或美罗培南。

[0055] 可选择地,抗生素剂可以是头孢菌素类(第一代),例如头孢羟氨苄、头孢唑啉、头孢氨苄、头孢噻吩(cefalotin)或头孢噻肟(cefalothin)、或可选择地,头孢菌素类(第二代),例如头孢克洛、头孢孟多、头孢西丁、头孢丙烯或头孢呋辛。可选择地,抗生素剂可以是头孢菌素类(第三代),例如头孢克肟、头孢地尼、头孢托仑、头孢哌酮、头孢噻肟、头孢泊肟、头孢布烯、头孢唑肟和头孢曲松、或头孢菌素类(第四代),例如头孢吡肟和头孢托罗。

[0056] 抗生素剂可以是林可酰胺类例如克林霉素和阿奇霉素,或大环内酯例如阿奇霉素、克拉霉素、地红霉素、红霉素、罗红霉素、醋竹桃霉素、泰利霉素和壮观霉素。

[0057] 可选择地,抗生素剂可以是单环内酰胺类例如氨曲南,或硝基呋喃例如呋喃唑酮或呋喃妥因。

[0058] 抗生素剂可以是青霉素,例如阿莫西林、氨苄青霉素、阿洛西林、羧苄西林、氯唑西林、双氯西林、氟氯西林、美洛西林、萘夫西林、苯唑西林、青霉素G或青霉素V、哌拉西林、替莫西林和替卡西林。

[0059] 抗生素剂可以是噁唑烷酮,例如利奈唑胺或特地唑胺。

[0060] 抗生素剂可以是磺酰胺,例如磺胺米隆、2,4-二氨基偶氮苯-4-磺酰胺(sulfonamidochrysoidine)、磺胺醋酰、磺胺嘧啶、磺胺嘧啶银、磺胺甲二唑、磺胺甲噁唑、磺胺、柳氮磺胺吡啶、磺胺异噁唑、甲氧苄啶和甲氧苄啶-磺胺甲噁唑(复方新诺明)(TMP-SMX)。

[0061] 抗生素剂可以是喹诺酮,例如环丙沙星、依诺沙星、加替沙星、左氧氟沙星、洛美沙星、莫西沙星、萘啶酸、诺氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星、格帕沙星、司帕沙星和替马沙星。

[0062] 抗生素剂可以是多肽。这样的多肽的实例包括杆菌肽、粘菌素和多粘菌素B。在一个实施方案中,抗生素剂不是多肽。

[0063] 抗生素剂可以是脂肽。这样的脂肽的实例包括达托霉素和表面活性素。

[0064] 可选择地,抗生素剂可以是四环素,例如地美环素、多西环素、米诺环素和氧四环素。

[0065] 可选择地,抗生素剂可以是甘氨酰环素。这样的甘氨酰环素的实例包括替加环素。

[0066] 可选择地或另外地,抗生素剂对分枝杆菌可以是有效的。特别地,抗生素剂可以是

氯法齐明、氯苯吩嗪、氨苯砜、卷曲霉素、环丝氨酸、乙胺丁醇、乙硫异烟胺、异烟肼、吡嗪酰胺、利福平、利福布汀、利福喷丁或链霉素。

[0067] 在一个实施方案中,抗生素剂是大环内酯和/或氨基糖昔和/或磺酰胺。

[0068] 在一个实施方案中,抗生素选自妥布霉素、阿奇霉素、泰利霉素、环丙沙星、头孢他啶。

[0069] 在一个实施方案中,抗生素剂不是环丙沙星。在另一个实施方案中,抗生素不是妥布霉素。

[0070] 抗生素剂在治疗或预防由以下引起的感染中可以是有活性的:肠杆菌科(Enterobacteriaceae)细菌(例如大肠杆菌(E.coli)或克雷伯菌属的种(Klebsiella spp.),例如肺炎克雷伯菌(K.pneumoniae))或非肠杆菌科细菌,例如伯克霍尔德氏菌属的种(Burkholderia spp.)。

[0071] 通常,抗生素剂在治疗或预防由革兰氏阴性细菌或革兰氏阳性细菌例如假单胞菌属的种(Pseudomonas spp.)引起的感染中是有活性的。

[0072] 在本发明的一个实施方案中,抗生素不是 β -内酰胺抗生素。

[0073] 本发明的活性剂可以作为另外包含一种或更多种药学上可接受的稀释剂、赋形剂和/或载体的药物组合物被提供。例如,另外的药物剂可以作为包含剂和载体例如乳糖或甘露醇的组合物被提供。

[0074] 在本发明的优选的方面中,根据本发明的微粒或组合物以及另外的药物剂可以被同时、顺序地或单独地施用。微粒或组合物以及另外的药物剂可以作为组合包被提供。组合包还可以包含用于同时、单独或顺序施用微粒或组合物以及另外的药物剂中的每种的使用说明。对于顺序施用,微粒或组合物以及另外的药物剂可以以任何顺序施用。

[0075] 至少一种另外的药物剂可以以不同于本发明的第一方面的所述微粒的微粒被提供。可选择地,至少一种另外的药物剂可以以除微粒以外的形式提供。

[0076] 在本发明的一个实施方案中,本发明的第一方面的微粒或根据本发明的组合物包含至少一种另外的药物剂。

[0077] 在本发明的另外的实施方案中,至少一种另外的药物剂以不同于本发明的第一方面的微粒或本发明的组合物的微粒施用。

[0078] 在本发明的又另外的实施方案中,至少一种另外的药物剂以除微粒以外的形式施用。

[0079] 在一个实施方案中,包含含硫化合物例如半胱胺的本发明的微粒或组合物、和/或除含硫化合物以外的待施用的另外的药物剂具有在0.1微米和5微米之间(例如在1微米和5微米之间、在2微米和5微米之间等)的体积平均直径。在另一个实施方案中,本发明的微粒或组合物和/或另外的药物剂具有高达10微米的体积平均直径,用于靶向递送至大的支气管。粒度(几何直径和空气动力学直径)被选择以提供容易分散的粉末,该粉末在气溶胶化和吸入后容易沉积在呼吸道(例如上呼吸道、深部肺等)中的靶位置,优选地同时避免或最小化颗粒在口咽区域或鼻区域中的过度沉积。在一个优选的实施方案中,多孔微粒具有在2微米和5微米之间,例如在2微米和4微米之间的体积平均直径。

[0080] 广泛的关注已经致力于治疗性气溶胶吸入器的设计,以改进吸入疗法的效率。Timsina等人,Int.J Pharm.,101:1-13 (1995);和Tansey, I.P., Spray Technol. Market, 4:

26-29 (1994)。还已经给予关注的是干粉气溶胶表面纹理的设计,特别是关于需要避免颗粒聚集,一种相当大地降低了吸入疗法的效率的现象。French, D.L, Edwards, D.A. 和Niven, .W., J. Aerosol ScL, 27: 769-783 (1996)。具有大的粒度的干粉制剂(“DPF”)具有改进的流动性特性,例如较少的聚集(Visser, J., Powder Technology 58:1-10 (1989))、较容易的气溶胶化和可能较低的吞噬作用。Rudt, S. 和R.H. Muller, J. Controlled Release, 22: 263-272 (1992); Tabata, Y. 和Y. Bcada, J. Biomed. Mater. Res., 22: 837-858 (1988)。用于吸入疗法的干粉气溶胶通常以主要在小于5微米的范围内的平均几何直径来生产。Ganderton, D., J Biopharmaceutical Sciences, 3: 101-105 (1992); 和Gonda, I. "Physico-Chemical Principles in Aerosol Delivery," in Topics in Pharmaceutical Sciences 1991, Crommelin, D.J. 和K.K. Midha, 编著, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, 第95-115页, 1992。大的“载体”颗粒(不包含药物)已经与治疗性气溶胶共递送,以帮助实现有效的气溶胶化以及其他可能的益处。French, D.L, Edwards, D.A. 和Niven, R.W., J. Aerosol ScL, 27: 769-783 (1996)。

[0081] 目前通过吸入施用的药物主要作为液体气溶胶制剂。然而,许多药物和赋形剂,特别是蛋白质、肽(Liu, R., 等人, Biotechnol. Bioeng., 37: 177-184 (1991)), 和生物可降解的载体例如聚(丙交酯-共-乙交酯) (PLGA) 在水性环境中在延长的时间段内不稳定。这可以使液体制剂的储存有问题。此外,在用液体制剂气溶胶化期间,蛋白质变性可以发生。考虑到这些限制和其他限制,干粉制剂(DPF) 作为用于肺部递送的气溶胶制剂获得了增加的关注。Darnms, B. 和W. Bains, Nature Biotechnology (1996); Kobayashi, S., 等人, Pharm. Res., 13 (1): 80-83 (1996); 和Timsina, M., 等人, hit. J. Pharm., 101: 1-13 (1994)。然而,在DPF的缺点中的是超细颗粒的粉末通常具有差的流动性和气溶胶化性质,导致相对低的气溶胶的可吸入部分,其是逃过在口腔和喉部中的沉积的吸入气溶胶的部分。Gonda, I., in Topics in Pharmaceutical Sciences 1991, D. Crommelin 和K. Midha, 编辑, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 95-117 (1992)。许多气溶胶的主要关注点是由颗粒-颗粒相互作用,例如疏水、静电和毛细管相互作用引起的颗粒聚集。本发明旨在解决这些问题。

[0082] 因此,在另外的方面中,本发明提供了吸入装置,所述吸入装置包含本发明的第一方面的微粒或本发明的组合物。该装置可以选自干粉吸入装置和定量吸入器。

[0083] 在本发明的另外的方面中,组合物通过制备微粒或巯基(SH) 化合物和稳定剂的水溶液并且从该溶液中蒸发水来获得。优选地,蒸发步骤是通过喷雾干燥。

[0084] 因此,本发明的另外的方面提供了用于制备根据本发明的组合物的工艺,所述工艺包括制备微粒或巯基(SH) 化合物和稳定剂的水溶液,并且从水溶液中蒸发水。优选地,蒸发步骤是通过喷雾干燥。

[0085] 根据本发明的微粒可以呈干粉的形式。微粒可以在从由人类受试者吸入所述微粒开始的至少两小时的持续时间内释放有效量的巯基(SH) 化合物。在优选的实施方案中,基本上所有的含硫化合物直到从由人类受试者吸入所述微粒开始的24小时被释放。

[0086] 微粒便于施用,从而增强了患者依从性的程度。本发明的微粒或组合物可以以单次喷出(puff) 施用。可选择地,微粒被配制以提供半胱胺的持续释放。微粒可以促进半胱胺局部递送至肺或经由肺全身递送。

[0087] 本发明的微粒或组合物还可以鼻内施用或通过吸入施用,并且可以以从加压容

器、泵、喷雾、雾化器、喷雾器呈现的干粉吸入器或气溶胶喷雾剂的形式在使用或不使用合适的推进剂的情况下递送。优选地，本发明的微粒或组合物被施用至呼吸道。

[0088] 如本文使用的，术语“包括 (comprise)”、“包括 (comprising)”、“包含 (include)”和“包含 (including)”意图是开放性的、非限制性术语，除非明确地指示相反。

[0089] 现在将仅通过示例的方式参考以下图来描述本发明。

[0090] 图1是示出了批次57#08a中的粒度分布的图；

[0091] 图2是示出了批次57#08b中的粒度分布的图；

[0092] 图3是示出了批次57#07 (安慰剂) 中的粒度分布的图；

[0093] 图4. 证实假单胞菌属肺负荷的降低的Lynovex/乳糖研究；

[0094] 图5. 导致降低的肺负荷的Lynovex (半胱胺) 和妥布霉素组合；

[0095] 图6. 在Lynovex和妥布霉素的组合的存在下，小鼠体重不会降低。

实施例

[0096] 实施例1：

[0097] 作为用于通过口服吸入递送半胱胺酒石酸氢盐的潜在制剂技术的喷雾干燥

[0098] 1材料

[0099] 半胱胺酒石酸氢盐：由Recordati制造，批次号140514-1由Nova Biotics供应。

[0100] 油酸：Fluka, 75096-1L, 批号BCBN9185V

[0101] 水：去离子的，Millipore，RiOs 5系统，序列号F8HN7 8491K

[0102] L-亮氨酸：Sigma, L-8000, 批号91k0906

[0103] 海藻糖：Sigma, T9449-1006, 批号011M7000N

[0104] 2方法

[0105] 2.1 使用用油酸和海藻糖配制的半胱胺酒石酸氢盐的溶液的初始喷雾干燥研究

[0106] 若干批次的半胱胺酒石酸氢盐通过喷雾干燥溶液来生产，该溶液包含单独的活性成分，并且其中加入海藻糖和油酸（作为潜在的掩味剂被加入）。

[0107] 允许半胱胺酒石酸氢盐在打开之前加温至室温持续30分钟。对于待喷雾干燥的每个批次，将100mg半胱胺酒石酸氢盐粉末加入到10ml去离子水中，以给出1%w/v的总固体浓度。将其搅拌直到完全溶解。

[0108] 将另外的赋形剂（油酸和海藻糖）加入到半胱胺酒石酸氢盐溶液中，以评估在喷雾干燥之后它们对粉末性质的影响。溶液使用装配有高效率的旋风分离器和Buchi两个流体喷嘴的Buchi B290喷雾干燥器来喷雾干燥。完整的喷雾干燥条件在下表1给出。

[0109]

吸气机	100%
液体进料速率	2ml/分钟
雾化压力	5.5巴
入口温度	参见表1
出口温度	参见表1

[0110] 表1喷雾干燥条件

[0111] 来自这些初步研究的结果证实，制剂中油酸的存在导致差的粉末性质和低回收

率。

[0112] 喷雾干燥的批次的概述在下表2中描述。

批次	组分 A	组分 B	组分 C	溶剂	结果	喷雾干燥器 温度
[0113]	052#053	半胱胺酒 石酸氢盐 95%	油酸5%	N/A	EtOH : 水, 2 :1 被沉积在旋风 分离器的壁 上的蜡状玻璃 固体	入口: 155 °C 出口: 83 °C
	052#055	半胱胺酒 石酸氢盐 95%	油酸5%	N/A	EtOH : 水, 2 :1 被沉积在旋风 分离器的壁 上的蜡状玻璃 固体	入口: 78 °C 出口: 48 °C
	052#056	半胱胺酒 石酸氢盐 70%	油酸5%	海藻糖 25%	EtOH : 水, 2 :1 被沉积在旋风 分离器的壁 上的蜡状玻璃 固体	入口: 75 °C 出口: 46 °C
	052#057	半胱胺酒 石酸氢盐 32.6 %	油酸1.7%	海藻糖 65.7%	EtOH : 水, 2 :1 被沉积在旋风 分离器的壁 上的蜡状玻璃 固体	入口: 63 °C 出口: 40 °C
	052#058	半胱胺酒 石酸氢盐 95%	油酸5%	N/A	乙酸 乙酯: 水, 5 :1 被沉积在旋风 分离器的壁 上的蜡状玻璃 固体	入口: 50 °C 出口: 36 °C
	052#059	半胱胺酒 石酸氢盐 95%	油酸5%	N/A	水:乙酸 乙酯 (被加入 至API的 晶体 形成) 被沉积在旋风 分离器的壁 上的蜡状玻璃 固体	入口: 50 °C 出口: 38 °C

[0114] 表2包含油酸的初始可行性批次的生产

[0115] 2.2 使用用海藻糖(无油酸)配制的半胱胺酒石酸氢盐的溶液的初始喷雾干燥研究

[0116] 基于在3.1(下文)中获得的喷雾干燥结果,决定从制剂中去除油酸。

[0117] 允许半胱胺酒石酸氢盐在打开之前加温至室温持续30分钟。对于待喷雾干燥的每个批次,将100mg半胱胺酒石酸氢盐粉末加入到10ml去离子水中,以给出1%w/v的总固体浓度。将其搅拌直到完全溶解。

[0118] 将海藻糖加入到半胱胺酒石酸氢盐溶液中,以评估其对喷雾干燥的粉末的性质的影响。溶液使用装配有高效率的旋风分离器和Buchi两个流体喷嘴的Buchi B290喷雾干燥器来喷雾干燥。完整的喷雾干燥条件在下表3中给出。

[0119]

吸气机	100%
-----	------

液体进料速率	2ml/分钟
雾化压力	5.5巴
入口温度	参见表4
出口温度	参见表4

[0120] 表3喷雾干燥条件

[0121] 喷雾干燥的批次的概述在下表4中描述。

批次	组分A	组分B	组分C	溶剂	结果	喷雾干燥器温度
[0122]	052#060*	半胱胺酒石酸氢盐 10%	海藻糖90%	N/A	水	白色粉末 入口: 81 °C 出口: 42 °C
	052#062	半胱胺酒石酸氢盐 50%	海藻糖50%	N/A	水	被沉积在旋风分离器的壁上的蜡状玻璃固体 入口: 82 °C 出口: 44 °C
	052#063	半胱胺酒石酸氢盐 25%	海藻糖75%	N/A	水	干燥的白色粉末 入口: 114 °C 出口: 61 °C
	052#064	半胱胺酒石酸氢盐 25%	海藻糖75%	N/A	水	干燥的白色粉末 入口: 136 °C 出口: 71 °C
	052#65	半胱胺酒石酸氢盐 25%	海藻糖75%	N/A	水	白色粉末 入口: 162 °C 出口: 79 °C
	052#66	半胱胺酒石酸氢盐 35%	海藻糖65%	N/A	水	看起来湿的粉末。 不自由流动 入口: 148 °C 出口: 70 °C
	52#67	半胱胺酒石酸氢盐 30%	海藻糖70%	N/A	水	看起来潮湿的粉末。 形成聚集体 入口: 147 °C 出口: 72 °C
	052#097*	半胱胺酒石酸氢盐 25%	海藻糖75%	N/A	水	干燥的白色粉末 入口: 121 °C 出口: 71 °C 喷雾压力 5.5巴

[0123] 表4用于海藻糖制剂的喷雾干燥条件

[0124] *用于产生另外的数据

[0125] 2.3喷雾干燥用海藻糖和L-亮氨酸配制的半胱胺酒石酸氢盐(喷雾干燥的具有亮

氨酸的批次号052#155、052#140、052#121,不具有亮氨酸的052#122)

[0126] 为了进一步改进喷雾干燥的粉末的性质,将L-亮氨酸加入到制剂中。

[0127] 允许半胱氨酸酒石酸氢盐在打开之前加温至室温持续30分钟。将100mg半胱氨酸酒石酸氢盐粉末、50mg的L-亮氨酸和850mg的海藻糖加入到10ml去离子水中,以给出10%w/v的总固体浓度。将其搅拌直到完全溶解。将批次052#140和批次052#155缩放以生产2g批次大小。

[0128] 溶液使用装配有高效率的旋风分离器和Buchi两个流体喷嘴的Buchi B290喷雾干燥器来喷雾干燥。完整的喷雾干燥条件在下表5中给出。

[0129]

吸气机	100%
液体进料速率	2ml/分钟
雾化压力	5.5巴
入口温度	184 °C
出口温度	78°C

[0130] 表5喷雾干燥条件

[0131] 在喷雾干燥后,在环境温度,通过二次真空干燥过夜,将产物的水分含量进一步降低。然后,在胶囊填充之前,将最终产物储存在密封的玻璃小瓶中。喷雾干燥的溶液概述在下表6中。

[0132]

溶液 编号	半胱氨酸酒 石酸氢盐的 重量	海藻糖的 重量	L-亮氨酸的 重量	去离子水的 体积	喷雾干燥的 粉末参考号
1	100 mg	850 mg	50 mg	10 ml	052#121
2	100 mg	900 mg	0 mg	10 ml	052#122
3	200mg	1700 mg	100 mg	20 ml	052#140
4	200 mg	1700 mg	100 mg	20 ml	052#155*

[0133] *以约1g的两个批次收集

[0134] 表6包含L-亮氨酸的半胱氨酸酒石酸氢盐制剂的喷雾干燥

[0135] 2.4粒度分析

[0136] 使用具有RODOS分散器的SympaTec HELOS粒度分析仪进行粒度分析。将约50mg的制剂进料到料斗中。使用在2巴的压力的压缩空气实现分散。附录1中的粒度分析报告详述了所有仪器设置(数据未示出)。

[0137] 2.5通过Andersen级联碰撞器(Cascade Impactor)的空气动力学粒度分析

[0138] 喷雾干燥的粉末的空气动力学粒度使用装配有601/分钟的预分离器和阶段-1至阶段6的Copley Scientific 8stage Andersen级联碰撞器(ACI)来确定。该方法如在美国药典29通用章<601>和欧洲药典5.1.2.9.18(用于干粉吸入器的程序)中描述的。

- [0139] 使用以下参数：
- [0140] 剂量:2x胶囊
- [0141] 胶囊:Qualicaps HPMC标准尺寸3
- [0142] 装置:Plastiape,3444,COQ,23970000AA
- [0143] 板涂覆:无
- [0144] 空气流:约60L/min (被确定为跨越装置的4KPa压差)。
- [0145] 致动时间:约4秒(由空气流确定,等于4升的体积)。
- [0146] 板洗涤:0.1M含EDTA的磷酸钠缓冲液,pH 8。
- [0147] 检测:在412nm处的UV,使用E11man试剂以提供合适的发色团
- [0148] 洗涤液中的半胱胺酒石酸氢盐浓度在412nm处测量,如下文3.6节中描述的。
- [0149] 然后,在每个阶段沉积的粉末的质量使用在3.6节中确定的消光系数来计算。通过分析在不同阶段沉积的药物的量,然后可能的是使用专用的Copley Scientific软件以计算所收集的肽颗粒的细颗粒剂量(FPD)、细颗粒分数(FPF)、质量中值空气动力学分布(MMAD)和几何标准偏差(GSD)。
- [0150] 将细颗粒剂量(FPD)定义为在吸入产品的规定剂量中的药物的量,该吸入产品通常被认为具有在吸入(即可吸入的)期间能够穿透肺的尺寸。这通常被认为是约5微米或更小。
- [0151] 细颗粒分数(FPF)是作为递送剂量的百分比表示的FPD。
- [0152] 2.6半胱胺酒石酸氢盐的定量
- [0153] 半胱胺酒石酸氢盐的定量使用Shimadzu UV-1650PC UV光谱仪进行。由于半胱胺酒石酸氢盐不具有UV发色团,因此使用E11man试剂5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)。
- [0154] 2.6.1试剂的制备
- [0155] 反应缓冲液:0.1M磷酸钠,pH 8.0,包含0.1mM EDTA。
- [0156] E11man试剂溶液:将40mg E11man试剂溶解在10mL反应缓冲液中。
- [0157] 将34mg的半胱胺酒石酸氢盐溶解在100mL的反应缓冲液中,以产生1.5mM溶液。
- [0158] 2.6.2标准曲线的制备
- [0159] 标准物通过将半胱胺酒石酸氢盐以以下浓度溶解在反应缓冲液中来制备:

标准物	反应缓冲液的体积mL	半胱胺酒石酸氢盐的量	最终浓度
A	100	34 mg	1.5 mM
B	5	25 mL的标准物A	1.25 mM
C	10	20 mL的标准物A	1.0 mM
D	15	15 mL的标准物A	0.75 mM
E	20	10 mL的标准物A	0.5 mM
F	25	5 mL的标准物A	0.25 mM
G (空白)	30	0 mL的标准物A	0.0 mM

[0160] [0161] 表2半胱胺酒石酸氢盐标准物

[0162] 制备一组小瓶,每个小瓶包含50 μ L的Ellman试剂溶液和2.5mL的反应缓冲液。

[0163] 将测定溶液或标准物(250 μ L)加入至在先前步骤中制备的小瓶。试剂立即在分光光度计上混合和分析。在412nm处测量吸光度。

[0164] 从标准物获得的值用于产生标准曲线。半胱胺酒石酸氢盐的实验样品浓度由此曲线确定。

[0165] 3结果

[0166] 3.1关于喷雾干燥具有油酸和海藻糖的半胱胺酒石酸氢盐的初始研究

[0167] 在3.1节中描述的初始研究证实,不可能通过喷雾干燥包含油酸的半胱胺酒石酸氢盐的溶液(有或没有海藻糖)来生产合适的干粉。在使用的所有条件下,产生的粉末由粘附至旋风分离器和收集罐的壁的玻璃状固体材料组成。

[0168] 当油酸从制剂中去除时,获得改进的结果(参见3.2节)。油酸的去除导致产生精细的白色粉末(而不是蜡状固体)。然而,粉末仍然是粘连的,并且具有相对差的流动性质。

[0169] 3.2包含海藻糖和L-亮氨酸的半胱胺酒石酸氢盐制剂的喷雾干燥

[0170] 当将L-亮氨酸加入到进料溶液中时,粉末性质改进,导致精细的白色粉末。回收率(收率)是高的;在50%~83%的范围内。喷雾干燥的粉末具有可接受的处理性质,并且可以容易地从收集容器中回收,具有最小的静电荷。相比于不含L-亮氨酸的制剂,包含L-亮氨酸的制剂具有较高的%收率和改进的流动特性。

[0171] 从包含L-亮氨酸的喷雾干燥的溶液中获得的收率概述在下表7中:

[0172]

样品参考号	回收的粉末的重量	%收率**
052#122	0.5g	50
052#121	0.7g	70
052#140*	1.6g	80
052#155*	1.7g	83

[0173] 表7来自包含L-亮氨酸的制剂的喷雾干燥的收率

- [0174] **无考虑在内的残余水分
- [0175] *2g批次大小
- [0176] 3.3包含海藻糖和L-亮氨酸的喷雾干燥的半胱胺酒石酸氢盐制剂的粒度分析
- [0177] 用于包含海藻糖和L-亮氨酸的半胱胺酒石酸氢盐制剂的粒度数据的概述在表8中示出。

样品	X ₁₀ *	X ₅₀ **	X ₉₀ ***	VMD****
	(μm)	(μm)	(μm)	(μm)
052#122	0.88	2.28	4.61	2.56
052#121	1.46	2.65	4.59	2.89
052#140	0.93	2.75	6.39	3.34
052#155A	0.74	1.92	4.30	2.28
052#155B	1.06	2.84	6.19	3.42

- [0178]
- [0179] 表8粒度分析(概述)
- [0180] *按体积计10%的微粒,低于该数字
- [0181] **按体积计50%的微粒,低于该数字
- [0182] ***按体积计90%的微粒,低于该数字
- [0183] ****体积平均直径
- [0184] 3.4通过Andersen级联碰撞器的空气动力学粒度分析
- [0185] 用海藻糖和L-亮氨酸配制的半胱胺酒石酸氢盐的喷雾干燥的批次的空气动力学粒度数据的概述在表9中示出。完整的粒度分析报告在附录2中详述(数据未示出)。

[0186]

批次	胶囊 A填充wt (mg)	胶囊 B填充wt (mg)	从装置 释放的 制剂的 重量分析的量, 胶囊A	从装置 释放的 制剂的 重量分析的量, 胶囊B	从ACI 回收的 API的 质量	FPD (mg)	FPF (%)
052#121 运行1	132.8	130.7	120.7	121.7	11.3	N/A*	N/A*
052#121 运行2	114.8	119.6	105.0	109.5	18.5	6.9	37.7
052#122	84.0	75.2	54.8	54.9	11.2	3.0	27.0
052#140 运行1	105.9	114.1	105.0	109.5	23.1	4.5	19.6
052#140 运行2	96.9	100.9	90.2	93.4	25.9	5.6	21.5
052#155 运行1	82.7	84.9	76.6	41.7	14.0	6.06	43.2
052#155 运行2	96.2	94.3	89.5	87.8	15.3	3.6	23.7

[0187] 表9空气动力学粒度

[0188] *由于回收工艺分析方法的变化,不包括在内。

[0189] 4结论

[0190] 在具有海藻糖的情况下并且在具有L-亮氨酸或没有L-亮氨酸的情况下,半胱胺酒石酸氢盐被成功地喷雾干燥。在这些研究中,包含半胱胺酒石酸氢盐(10% w/w)、海藻糖(85% w/w)和L-亮氨酸(5% w/w)的制剂在粉末回收、处理性质和负载到胶囊中的药物方面是优异的。

[0191] 将半胱胺酒石酸氢盐/海藻糖/亮氨酸制剂的改进的粉末处理特性转化为细颗粒分数(FPF)的增加,特别是包含5%亮氨酸的制剂。

[0192] 关于DPI递送的初始可行性研究证实,喷雾干燥的粉末可以在没有乳糖载体的情况下使用可商购的DPI递送。初始可行性研究使用了从两个胶囊递送的具备在20%和40%之间的FPF和在3mg和6.9mg之间的FPM的喷雾干燥的粉末。

[0193] 实施例2:

[0194] 用于体内测试的喷雾干燥的半胱胺酒石酸氢盐制剂的生产

[0195] 5材料

[0196] 半胱胺酒石酸氢盐由NovaBiotics (Recordati 140514-1) 供应。所有其他试剂是分析级的,由Sigma供应。

[0197] 6方法

[0198] 6.1半胱胺酒石酸氢盐制剂的喷雾干燥

[0199] 6.1.1半胱胺酒石酸氢盐5% (w/w)、L-亮氨酸5% (w/w)、甘露醇90% (w/w) (批次57#08a)

[0200] 将半胱胺酒石酸氢盐粉末在打开之前加温至室温持续30分钟。在20ml去离子水中制备包含0.1g半胱胺酒石酸氢盐粉末、0.1g的L-亮氨酸和1.8g的甘露醇的溶液,以给出10% w/v的总固体浓度。将其搅拌直到完全溶解。

[0201] 溶液使用装配有高效率的旋风分离器和Buchi两个流体喷嘴的Buchi B290喷雾干燥器来喷雾干燥。完整的喷雾干燥条件在下表1中给出。

[0202]

吸气机	100%
液体进料速率	2ml/分钟
雾化压力	5.5巴
入口温度	104 °C
出口温度	58°C

[0203] 表3批次57#08a的喷雾干燥条件

[0204] 在喷雾干燥后,收集粉末,并且使用外包装在具有%RH<10%的保护性环境内的实验室膜和箔储存在玻璃小瓶中。

[0205] 6.1.2半胱胺酒石酸氢盐10% (w/w)、L-亮氨酸5% (w/w)、甘露醇85% (w/w) (批次57#08b)

[0206] 将半胱胺酒石酸氢盐粉末在打开之前加温至室温持续30分钟。在20ml去离子水中制备包含0.2g半胱胺酒石酸氢盐粉末、0.1g的L-亮氨酸和1.7g的甘露醇的溶液,以给出10% w/v的总固体浓度。将其搅拌直到完全溶解。

[0207] 溶液使用装配有高效率的旋风分离器和Buchi两个流体喷嘴的Buchi B290喷雾干燥器来喷雾干燥。完整的喷雾干燥条件在下表2中给出。

[0208]

吸气机	100%
液体进料速率	2ml/分钟
雾化压力	5.5巴
入口温度	106 °C
出口温度	55°C

[0209] 表2批次57#08b的喷雾干燥条件

[0210] 在喷雾干燥后,收集粉末,并且使用外包装在具有%RH<10%的保护性环境内的实验室膜和箔储存在玻璃小瓶中。

[0211] 6.1.3包含L-亮氨酸5% (w/w)、甘露醇95% (w/w) 的安慰剂批次 (批次57#07)

[0212] 在20ml去离子水中制备包含0.1g的L-亮氨酸和1.9g的甘露醇的溶液,以给出10% w/v的总固体浓度。将其搅拌直到完全溶解。

[0213] 溶液使用装配有高效率的旋风分离器和Buchi两个流体喷嘴的Buchi B290喷雾干燥器来喷雾干燥。完整的喷雾干燥条件在下表3中给出。

[0214]

吸气机	100%
液体进料速率	2ml/分钟
雾化压力	5.5巴
入口温度	100°C
出口温度	64°C

[0215] 表3批次57#07的喷雾干燥条件

[0216] 在喷雾干燥后,收集粉末,并且使用外包装在具有%RH<10%的保护性环境内的实验室膜和箔储存在玻璃小瓶中。

[0217] 6.2粒度分析

[0218] 使用具有RODOS分散器的SympaTec HELOS粒度分析仪进行粒度分析。将约50mg喷雾干燥的半胱胺酒石酸氢盐制剂放置在振动进料器上,并且进料到料斗中。使用在2巴的压力的压缩空气实现分散。

[0219] 6.3在喷雾干燥的粉末中的半胱胺酒石酸氢盐含量的分析

[0220] 半胱胺酒石酸氢盐的定量使用Shimadzu UV-1650PC UV光谱仪进行。由于半胱胺酒石酸氢盐不具有UV发色团,因此使用Ellman试剂5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)以测量半胱胺上的巯基基团。

[0221] 6.3.1试剂的制备

[0222] 反应缓冲液:0.1M磷酸钠,pH 8.0,包含0.1mM EDTA。

[0223] Ellman试剂溶液:将40mg Ellman试剂溶解在10mL反应缓冲液中

[0224] 将34mg的半胱胺酒石酸氢盐溶解在100mL的反应缓冲液中,以产生1.5mM溶液。

[0225] 6.3.2标准曲线的制备

[0226] 标准物通过将半胱胺酒石酸氢盐以表4中示出的浓度溶解在反应缓冲液中来制备:

标准物	反应缓冲液的体积mL	半胱胺酒石酸氢盐的量	最终浓度
A	100	34 mg	1.5 mM
B	5	25 mL的标准物A	1.25 mM
C	10	20 mL的标准物A	1.0 mM
D	15	15 mL的标准物A	0.75 mM
E	20	10 mL的标准物A	0.5 mM
F	25	5 mL的标准物A	0.25 mM
G (空白)	30	0 mL的标准物A	0.0 mM

[0228] 表4半胱胺酒石酸氢盐标准物

[0229] 制备一组小瓶,每个小瓶包含50 μ L的Ellman试剂溶液和2.5mL的反应缓冲液。

[0230] 将测定溶液或标准物(250 μ L)加入至在先前步骤中制备的小瓶。试剂立即在分光光度计上混合和分析。在412nm处测量吸光度。

[0231] 从标准物获得的值用于产生标准曲线。半胱胺酒石酸氢盐的实验样品浓度由此曲线确定。

[0232] 6.3.3在进料溶液和喷雾干燥的粉末中的半胱胺含量的分析

[0233] 在用于生产两个喷雾干燥的批次的进料溶液中的每种中测量半胱胺酒石酸氢盐含量。将每种溶液的100 μ L等分试样稀释到10mL的DI水中,以产生落在标准曲线的线性区域内的溶液。如3.3.2节描述的分析样品,并且确定半胱胺酒石酸氢盐浓度。

[0234] 在两种喷雾干燥的制剂中测量半胱胺酒石酸氢盐含量。将每种粉末的50mg样品稀释到0.5mL DI水中。将100 μ L等分试样稀释到10mL的DI水中,以产生落在标准曲线的线性区域内的溶液。如3.3.2节描述的分析样品,并且确定半胱胺酒石酸氢盐浓度。

[0235] 7结果与讨论

[0236] 7.1半胱胺酒石酸氢盐制剂的喷雾干燥

[0237] 所有进料溶液被成功地喷雾干燥,产生精细的白色粉末。回收率概述在下表4中:

[0238]

批次号	喷雾干燥的量(g)	回收的量(g)	收率(%)
57#08a	2g	1.0	50
57#08b	2g	0.75	38
57#07 (安慰剂)	2g	1.1	55

[0239] 表5喷雾干燥的半胱胺制剂的回收率

[0240] 用于各个批次的回收率低于预期回收率,然而这可能是由于小的批次大小(2g)。所有粉末具有良好的处理性质,然而注意到,10%半胱胺制剂比5%制剂有略微更大的粘连。

[0241] 7.2粒度分析

[0242] 对于所有时间点的粒度数据的概述在表5中示出，并且代表性的粒度分布在图1-图3中示出。

[0243] 表6粒度分析(概述)

批次	X_{10}^* (μm)	X_{50}^{**} (μm)	X_{90}^{***} (μm)	VMD**** (μm)
57#08a	0.85	4.51	8.58	4.73
	0.90	4.34	7.95	4.48
	0.90	4.41	8.27	4.75
57#08b	1.62	6.61	12.69	7.16
	1.83	6.89	13.28	7.49
	1.91	6.99	13.21	7.52
57#07 (安慰剂)	1.29	4.2	7.99	4.66
	1.37	4.27	8.09	4.73
	2.68	4.49	7.38	6.72

[0245] *按体积计10%的微粒, 低于该数字

[0246] **按体积计50%的微粒, 低于该数字

[0247] ***按体积计90%的微粒, 低于该数字

[0248] ****体积平均直径

[0249] 对于每个批次获得的尺寸分布的实例在图1-图3中示出。

[0250] 7.3在进料溶液中和在喷雾干燥的粉末中的半胱胺含量的确定

[0251] 分析产生的喷雾干燥器进料溶液和喷雾干燥的粉末两者的半胱胺含量。获得的结果在下表6中示出。

[0252]

样品	目标浓度	测量的浓度
批次57#08a (进料溶液)	5% (w/v)	5.9% (w/v)
批次57#08a (喷雾干燥的粉末)	5% (w/w)	5.9% (w/w)
批次57#08b (进料溶液)	10% (w/v)	11.5% (w/v)
批次57#08b (喷雾干燥的粉末)	10% (w/w)	11.7% (w/w)

[0253] 表7在进料溶液和喷雾干燥的粉末中的半胱胺含量

[0254] 基于理论含量, 在所有样品中, 测量的浓度高于预期的浓度。

[0255] 实施例3:

[0256] Lynovex (半胱胺) 制剂在铜绿假单胞菌 (Pseudomonas aeruginosa) ATCC27853的小鼠IN中性粒细胞减少模型 (肺负荷模型) 中的效力的评估

[0257] 化学品

[0258] 用200mg/kg或150mg/kg环磷酰胺免疫抑制/预处理动物。将Lynovex(化学名称为半胱胺)和媒介物制备为Lynovex和乳糖媒介物,或制备为Lynovex和基于甘露醇的媒介物(两者由Upperton(Upperton产品)提供)。制备这些分别用于单独的治疗和媒介物对照、以及组合的治疗和媒介物对照。将妥布霉素制备为在乳糖中的吸入制剂。所有治疗使用Penn Century装置来施用。对于细菌组织负荷需要磷酸盐缓冲盐水(PBS)和假单胞菌属选择性琼脂。

[0259] 动物

[0260] 在本研究中使用雄性CD1小鼠(对于治疗组n=6,加预处理组中的5只,总共35只小鼠)。在第4天,用200mg/kg环磷酰胺腹膜内免疫抑制/预处理小鼠;并且在第1天用150mg/kg环磷酰胺腹膜内免疫抑制/预处理小鼠。对于在乳糖研究中制备的Lynovex,在用氯胺酮/赛拉嗪麻醉混合物麻醉持续15分钟后以40 μ l的体积鼻内施用的铜绿假单胞菌ATCC27853建立感染,其中接种量为5x 10⁶cfu/ml,并且对于Upperton Lynovex产品接种量为4x 10⁶。

[0261] 治疗

[0262] 所有治疗使用Penn Century装置气管内施用。

[0263] Lynovex(半胱胺)以1.5mg单独施用,并且与乳糖以下列浓度组合施用:Lynovex 0.75mg+2.25mg乳糖粉末、Lynovex 1.5mg+1.5mg乳糖粉末、Lynovex 2.25mg+0.75mg,连同仅3mg乳糖对照的媒介物。此外,妥布霉素以188 μ g/剂量施用,作为吸入制剂,与乳糖混合以帮助测量。治疗在感染之后约5分钟施用。

[0264] 在不同的研究中,Lynovex以下列剂量施用:3mg 5%Lynovex和3mg 10%Lynovex。Lynovex与妥布霉素的组合如下:3mg 5%Lynovex+在1.5mg媒介物中的妥布霉素0.188mg、3mg 10%Lynovex+在1.5mg媒介物中的妥布霉素0.188mg(基于甘露醇,由Upperton提供)和仅妥布霉素对照(乳糖媒介物中的0.188mg/剂量)。治疗在感染之后约10分钟施用一次。

[0265] 组织中的细菌负荷

[0266] 在24h感染后的临床终点,确定每个动物的肺组织负荷。将肺在2ml PBS中均质化,在PBS中连续稀释,并且在37°C在24h-48h之后在定量之前铺板到假单胞菌属选择性琼脂上。

[0267] 在Lynovex/乳糖研究的情况下,在感染有铜绿假单胞菌ATCC27853的小鼠的肺中实现不同的感染。当与媒介物处理的小鼠相比时,用0.188mg的妥布霉素的吸入制剂气管内给药导致肺负荷的统计学上显著的降低(P=0.0097 Kruskal Wallis测试),并且5/6的动物将感染清除到低于检测限。与媒介物相比,气管内施用1.5mg和2.25mg Lynovex还降低了肺负荷(分别为P=0.0072和P=0.0349),其中5/6和4/6的小鼠分别将感染清除到低于检测限(图4)。

[0268] 在用Upperton产品的Lynovex研究中,在感染有铜绿假单胞菌ATCC27853的小鼠的肺中实现了稳健的感染。当与媒介物处理的小鼠相比时,用0.188mg的妥布霉素的吸入制剂气管内给药导致高度可变的负荷,其中肺负荷的平均1.611 log₁₀cfu/g降低(Kruskal Wallis测试)。与媒介物相比,气管内施用作为单一疗法的3mg的5%或10%的Lynovex未减轻肺负荷。然而,与媒介物小鼠相比,将5%或10%的Lynovex与0.188mg妥布霉素组合导致负荷的降低(分别为P<0.0001和P<0.0001)。将这种降低与单独用妥布霉素的治疗比较(对于5%Lynovex+妥布霉素P<0.0001,并且对于10%Lynovex+妥布霉素P<0.0015,Kruskal-

Wallis测试) (图5)。

[0269] 此外,在感染之前和感染之后记录小鼠体重。用媒介物、Lynovex单一疗法或妥布霉素单一疗法治疗的小鼠在感染后体重损失。相比之下,用Lynovex+妥布霉素组合治疗的小鼠在感染之后维持体重,这指示它们在感染后保持相对健康(图6)。

[0270] 应当注意,将用于干粉吸入的妥布霉素悬浮在乳糖中,而不是悬浮在甘露醇中。乳糖中的悬浮导致粉末的凝集,这导致在递送方面的一些困难,因为许多Penn Century装置在给药期间堵塞。Lynovex悬浮液更容易施用,并且全部被递送而没有由于递送装置变得堵塞导致的问题。虽然组合疗法臂(arm)的负荷的减轻令人印象深刻,并且显著优于妥布霉素单一疗法,但用妥布霉素单一疗法治疗的一些小鼠的数据可能由于DPI的递送困难而是可疑的。即使当检查用不确定的妥布霉素治疗的动物时,仍然保持了组合臂的大大增强的效力。

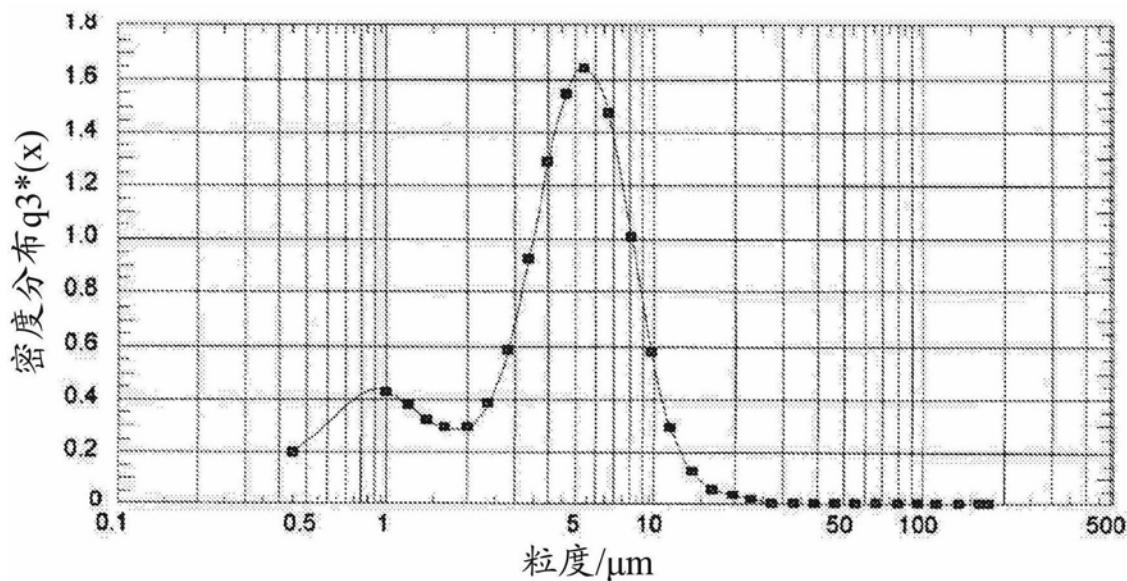


图1

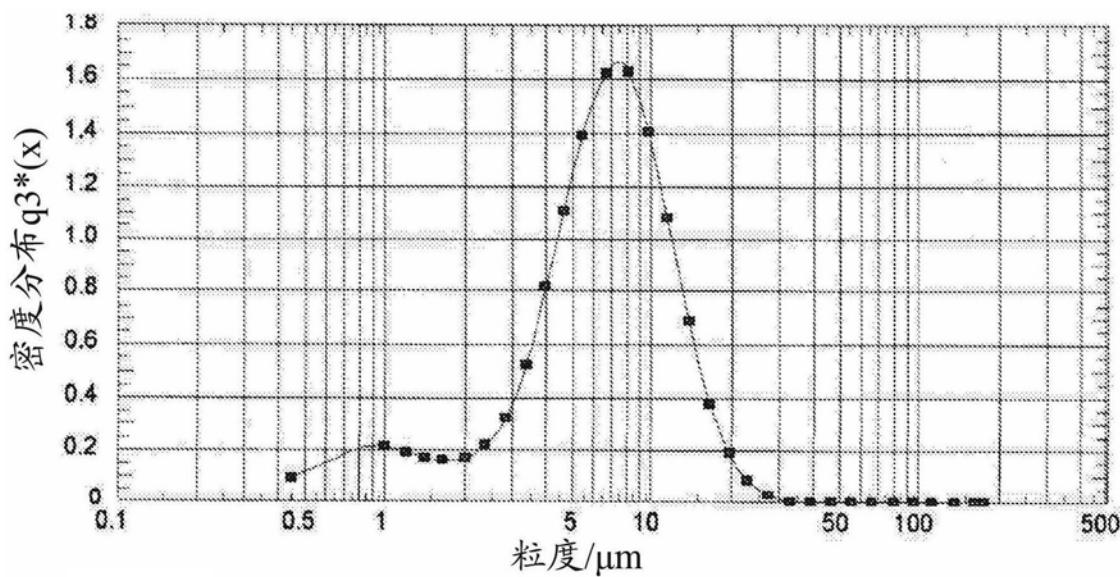


图2

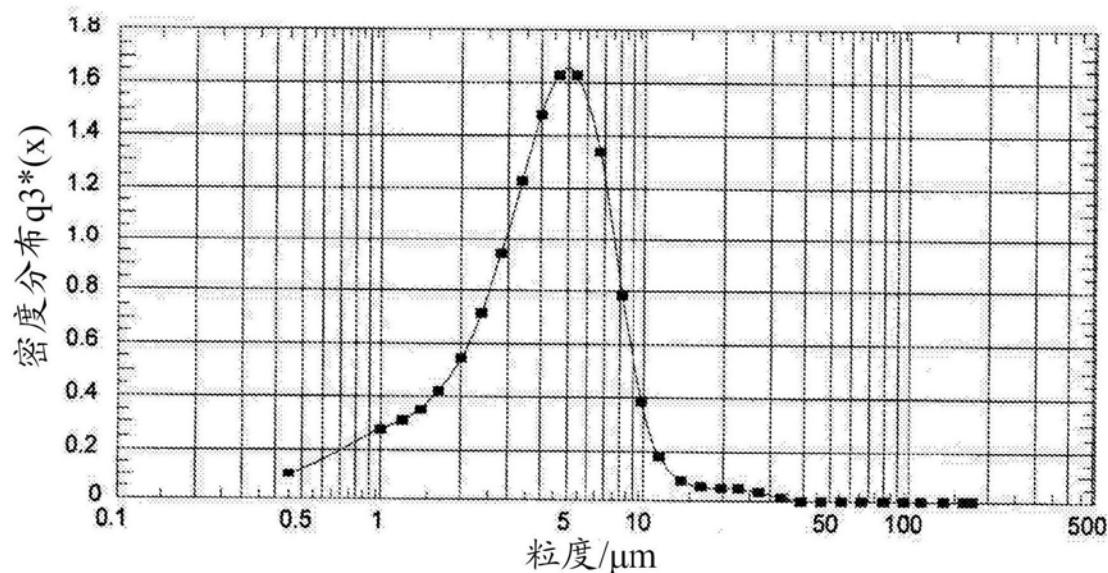


图3

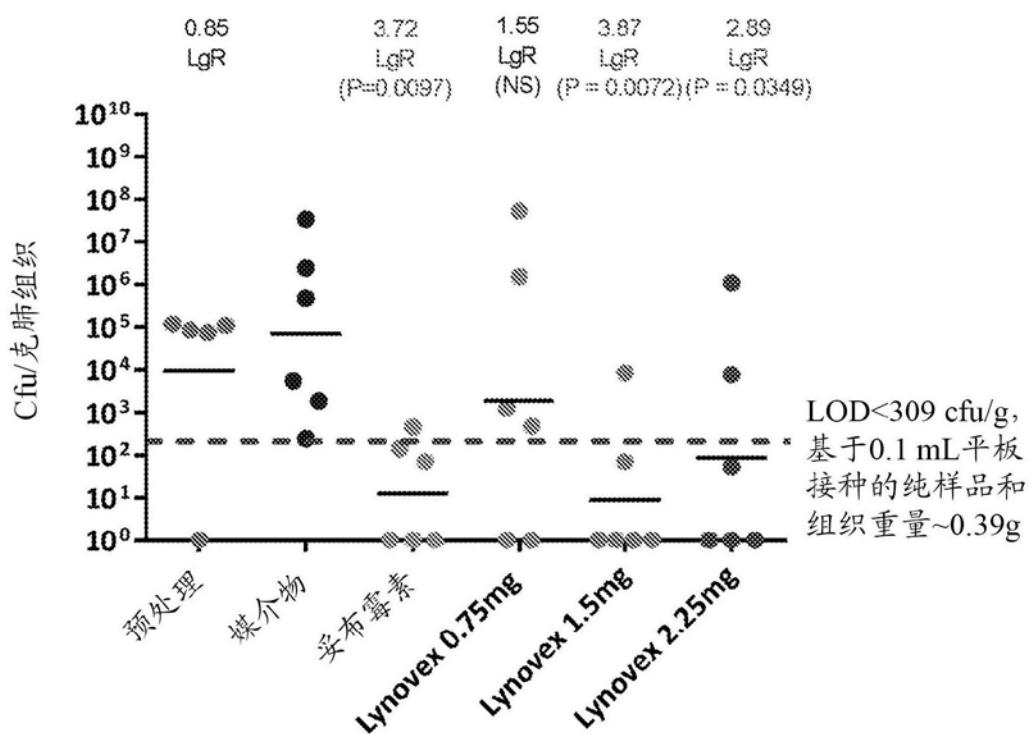


图4

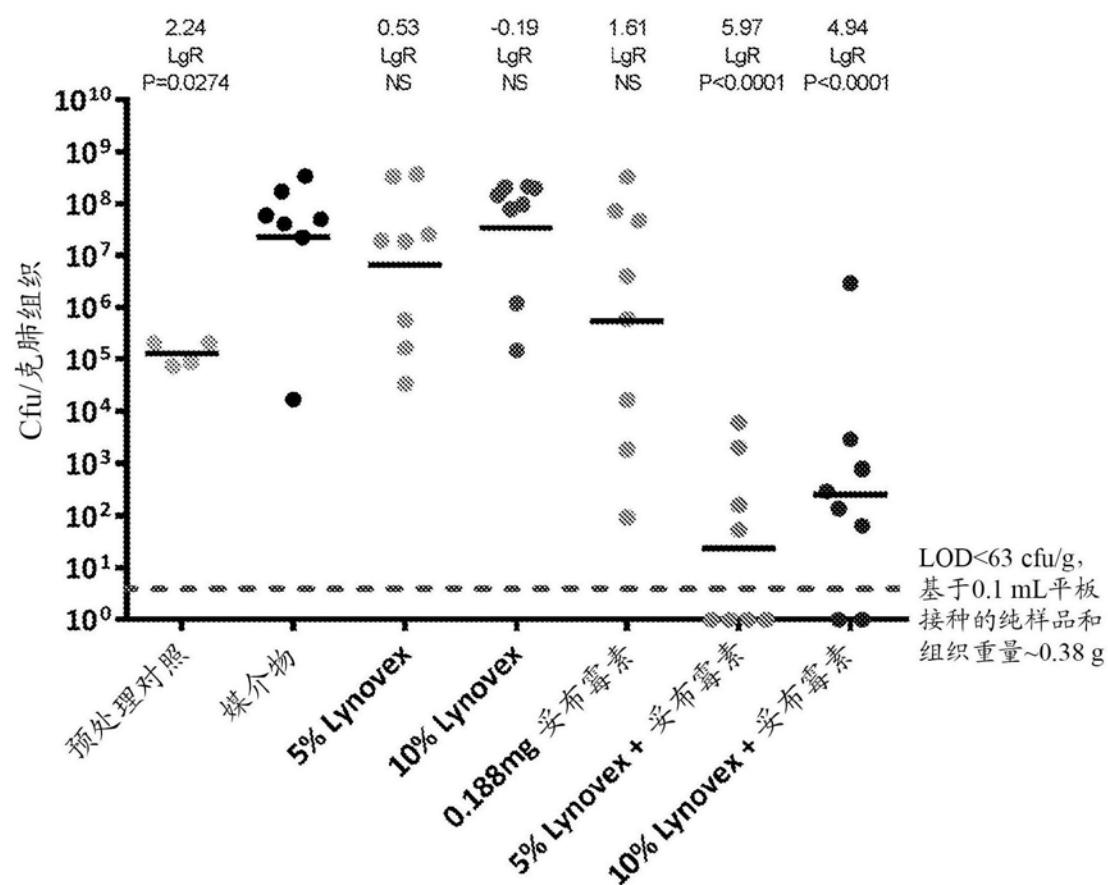


图5

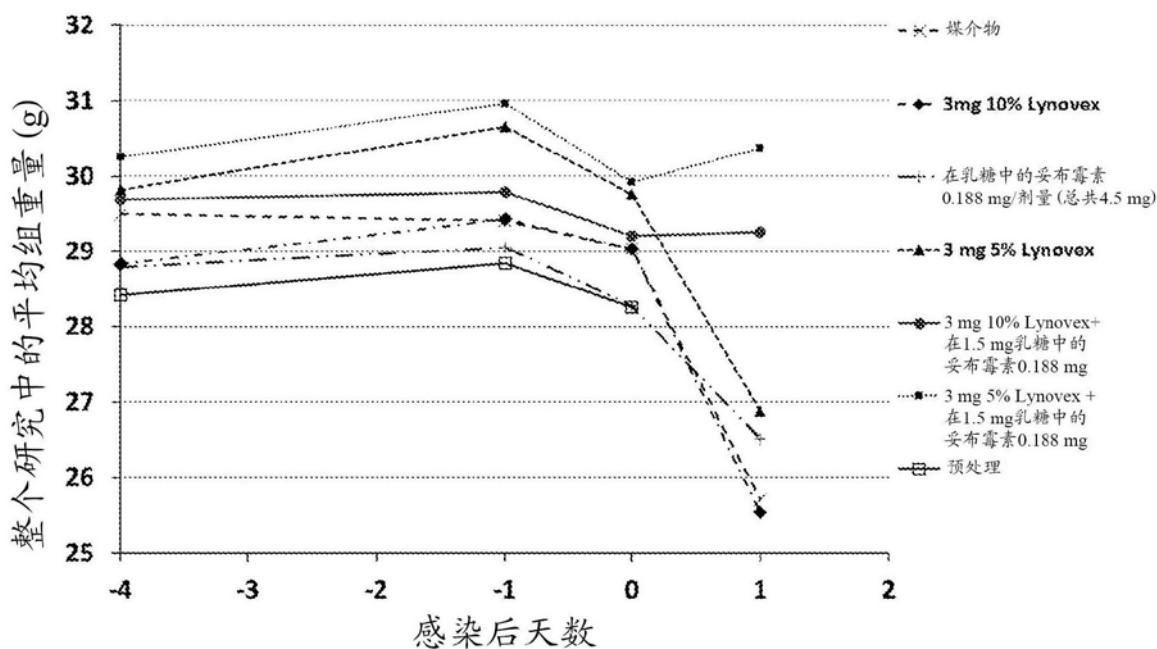


图6