



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0164801
(43) 공개일자 2024년11월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/16 (2006.01) A61K 31/575 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/1617 (2013.01)
A61K 31/575 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7034896
(22) 출원일자(국제) 2023년03월21일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년10월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/015762
(87) 국제공개번호 WO 2023/183297
국제공개일자 2023년09월28일
(30) 우선권주장
63/321,965 2022년03월21일 미국(US)

(71) 출원인
더 보오드 오브 트러스티스 오브 더 유니버시티
오브 일리노이즈
미국 61801 일리노이 어바나 사우스 라이트 스트
리트 506 헨리 어드미니스트레이션 빌딩 352
시스텍 메디신스, 인코포레이티드
미국 캘리포니아 샌 카로스 인터스트리얼 로드
1549 (우: 94070)
(72) 발명자
버크, 마틴 디.
미국 61821 일리노이 샴페인 올드 팜 로드 1403
레반도프스카, 아그니에츠키
미국 61874 일리노이 사보이 프레스턴 스트리트
310
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인(유)남아이피그룹

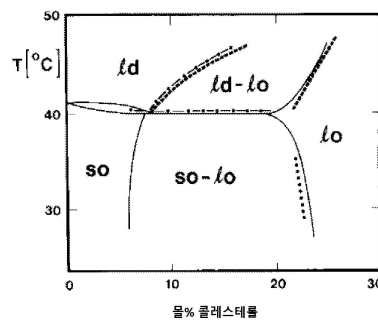
전체 청구항 수 : 총 63 항

(54) 발명의 명칭 암포테리신 B의 지질-코팅된 결정체를 포함하는 이온 채널 보형 조성물

(57) 요약

(i) 암포테리신 B 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물; (ii) 콜레스테롤; (iii) 수소화된 대두 포스파티딜콜린 및 디스테아로일포스파티딜글리세롤을 포함하는 인지질; 및 (iv) 칼슘 클로라이드(CaCl_2)를 포함하는 약학적 조성물이 개시된다. 또한, 질병 또는 장애(예를 들어, 남성 섬유증)를 치료하고, 기도 표면 액체의 pH를 증가시키고, 기도 표면 액체로의 바이카르보네이트 분비를 증가시키고, 대상체의 1초간 강제 날숨량을 증가시키기 위한 약학적 조성물의 사용 방법이 개시된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 31/7048 (2013.01)

A61K 9/0075 (2013.01)

A61K 9/1611 (2013.01)

A61K 9/19 (2013.01)

A61P 43/00 (2018.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자

소우타르, 코린

미국 61801 일리노이 어바나 웨스트 메인 스트리트
502 아파트먼트 313

위어스, 제프리 쥐.

미국 94019 캘리포니아 하프 문 베이 벨빌 불러바
드 414

타라라, 토마스

미국 94010 캘리포니아 벨링게임 팔로마 애비뉴
1233

밀러, 댄포스 피.

미국 94070 캘리포니아 샌 카를로스 알마 스트리트
2079

명세서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는 약학적 조성물:

- (i) 암포테리신 B(AmB) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물;
- (ii) 콜레스테롤(Chol);
- (iii) 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 및 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)을 포함하는 인지질; 및
- (iv) 칼슘 클로라이드(CaCl_2).

청구항 2

제1항에 있어서, AmB의 양이 약 0.5% 내지 약 25% w/w인 약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, AmB의 양이 약 3% 내지 약 16% w/w인 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, AmB의 양이 약 14% w/w인 약학적 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, Chol의 양이 약 0.1% 내지 약 8% w/w인 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, Chol의 양이 약 0.3% 내지 약 6% w/w인 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, Chol의 양이 약 0.5% 내지 약 3% w/w인 약학적 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, CaCl_2 의 양이 약 1% 내지 약 10% w/w인 약학적 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, CaCl_2 의 양이 약 4% 내지 약 7% w/w인 약학적 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 인지질의 양이 약 60% 내지 약 95% w/w인 약학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 인지질의 양이 약 70% 내지 약 90% w/w인 약학적 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, Chol 대 인지질의 중량비가 약 0.001:1 내지 약 0.1:1인 약학적 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, Chol 대 인지질의 중량비가 약 0.005:1 내지 약 0.05:1인 약학적 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 대 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)의 중량비가 약 2:1 내지 약 19:1인 약학적 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 대 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)의 중량비가 약 7:1 내지 약 12:1인 약학적 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, Chol 대 AmB의 몰비가 약 0.05:1 내지 약 1.2:1인 약학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, Chol 대 AmB의 몰비가 약 0.4:1 내지 약 1.2:1인 약학적 조성물.

청구항 18

제16항에 있어서, Chol 대 AmB의 몰비가 약 0.05:1 내지 약 0.4:1인 약학적 조성물.

청구항 19

제16항에 있어서, Chol 대 AmB의 몰비가 약 0.4:1인 약학적 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 인지질 대 CaCl_2 의 몰비가 약 4:1 내지 약 2:1인 약학적 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 인지질 대 CaCl_2 의 몰비가 약 2:1인 약학적 조성물.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, AmB가 약 75% 초과를 갖는 약학적 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, AmB가 약 85% 초과를 갖는 약학적 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, AmB가 약 95% 초과를 갖는 약학적 조성물.

청구항 25

제1항에 있어서, 다음을 포함하거나, 필수적 요소로 하여 구성되거나, 또는 구성되는 약학적 조성물:

- (i) 약 14.0% w/w의 암포테리신 B(AmB);
- (ii) 약 2.3% w/w의 콜레스테롤(Chol);
- (iii-a) 약 70.3% w/w의 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC);
- (iii-b) 약 7.8% w/w의 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG); 및

(iv) 약 5.52% w/w의 칼슘 클로라이드(CaCl_2).

청구항 26

제1항에 있어서, 다음을 포함하거나, 필수적 요소로 하여 구성되거나, 또는 구성되는 약학적 조성물:

- (i) 약 14.0% w/w의 암포테리신 B(AmB);
- (ii) 약 6.81% w/w의 콜레스테롤(Chol);
- (iii-a) 약 51.2% w/w의 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC);
- (iii-b) 약 22.8% w/w의 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG); 및
- (iv) 약 5.2% w/w의 칼슘 클로라이드(CaCl_2).

청구항 27

제1항에 있어서, 다음을 포함하거나, 필수적 요소로 하여 구성되거나, 또는 구성되는 약학적 조성물:

- (i) 약 3.4% w/w의 암포테리신 B(AmB);
- (ii) 약 0.57% w/w의 콜레스테롤(Chol);
- (iii-a) 약 80.72% w/w의 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC);
- (iii-b) 약 8.97% w/w의 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG); 및
- (iv) 약 6.34% w/w의 칼슘 클로라이드(CaCl_2).

청구항 28

제1항에 있어서, 다음을 포함하는 약학적 조성물:

- (i) 약 0.4 내지 1.2 mol/mol의 Chol/AmB 비율;
- (ii) 약 0.05 w/w 미만의 Chol/PL 비율;
- (iii) 약 2.3 내지 약 9.0 w/w의 HSPC/DSPG 비율; 및
- (iv) 약 2:1 mol/mol의 PL/Ca^{2+} 비율.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, AmB 및 Chol이 복합체화되지 않고; AmB가 리포솜에 캡슐화되지 않은 약학적 조성물.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, AmB가 인지질 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 약학적 조성물.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적 조성물이 건조 분말로서 제형화되는 약학적 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 분말 입자의 질량 중간 직경 X_{50} 이 약 1.0 내지 약 4.0 μm 인 약학적 조성물.

청구항 33

제32항에 있어서, 분말 입자의 질량 중간 직경 X_{50} 이 약 1.5 내지 약 3.5 μm 인 약학적 조성물.

청구항 34

제33항에 있어서, 분말 입자의 탭 밀도가 약 0.03 내지 약 0.4 g/mL인 약학적 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 분말 입자의 탭 밀도가 약 0.06 내지 약 0.2 g/mL인 약학적 조성물.

청구항 36

제31항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 분말 입자의 카르 지수가 약 20 내지 약 32인 약학적 조성물.

청구항 37

제31항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 셀의 주요 전이 온도(T_m)가 적어도 80℃인 약학적 조성물.

청구항 38

제31항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 분말의 물 함량이 약 1.5 내지 약 6% w/w인 약학적 조성물.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 폐 투여 또는 기도 투여용으로 제형화되는 약학적 조성물.

청구항 40

제39항에 있어서, 조성물이 에어로졸 투여용으로 제형화되는 약학적 조성물.

청구항 41

제31항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 분말 입자의 질량 중간 공기역학적 직경이 약 1.5 μm 내지 약 4.0 μm 인 약학적 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, 분말 입자의 질량 중간 공기역학적 직경이 약 2.0 μm 내지 약 3.5 μm 인 약학적 조성물.

청구항 43

치료적 유효량의 제1항 내지 제42항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 질병 또는 장애를 치료하는 방법으로서; 여기서 투여가 폐 투여인, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 질병 또는 장애가 만성 섬유증, 비만성 섬유증 기관지확장증, 또는 만성 폐쇄 폐질환인 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 질병 또는 장애가 만성 섬유증인 방법.

청구항 46

기도 표면 액체의 pH를 증가시키는 방법으로서, 이를 필요로 하는 대상체에 유효량의 제1항 내지 제42항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 투여하여 대상체에서 기도 표면 액체의 pH를 증가시키는 것을 포함하며; 여기서 투여가 폐 투여인, 방법.

청구항 47

기도 표면 액체로의 바이카르보네이트 분비를 증가시키는 방법으로서, 이를 필요로 하는 대상체에 유효량의 제1항 내지 제42항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 투여하여 대상체에서 기도 표면 액체로의 바이카르보네이트 분비를 증가시키는 것을 포함하며; 여기서 투여가 폐 투여인, 방법.

청구항 48

1초간 강제 날숨량(FEV1)을 증가시키는 방법으로서, 이를 필요로 하는 대상체에 유효량의 제1항 내지 제42항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 투여하여 대상체의 FEV1을 증가시키는 것을 포함하며; 여기서 투여가 폐 투여인, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 대상체의 FEV1이 약 3% 내지 약 20%만큼 증가하는 방법.

청구항 50

제43항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 만성 섬유증, 비만성 섬유증 기관지확장증, 또는 만성 폐쇄 폐질환을 갖는 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 대상체가 만성 섬유증을 갖는 방법.

청구항 52

제43항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 대상체의 기도에 투여되는 방법.

청구항 53

제43항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 에어로졸로서 투여되는 방법.

청구항 54

제43항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 12세 미만의 인간인 방법.

청구항 55

제43항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 적어도 12세의 인간인 방법.

청구항 56

제43항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 만성 섬유증이 이바카프터로의 치료에 불응성인 방법.

청구항 57

제43항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 만성 섬유증이 엘렉사카프터, 테자카프터, 및 이바카프터의 조합 물로의 치료에 불응성인 방법.

청구항 58

제43항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적 조성물의 공칭 용량 또는 계량 용량이 0.01 mg 내지 10 mg 인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 약학적 조성물의 공칭 용량 또는 계량 용량이 0.1 mg, 0.5 mg, 1.0 mg, 2.0 mg, 또는 4.0 mg 인 방법.

청구항 60

제43항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 1일 1회 투여되는 방법.

청구항 61

제43항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 투여가 약학적 조성물의 부하 용량을 초기에 전달하는 단계; 및 후속적으로 약학적 조성물의 유지 용량을 전달하는 단계를 포함하며; 여기서 부하 용량 대 유지 용량의 질량비가 약 2:1 내지 약 5:1인, 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 부하 용량 대 유지 용량의 질량비가 약 2.5:1 내지 약 3:1인 방법.

청구항 63

제43항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, AmB의 절대 생체이용률이 약 0.1% 내지 약 5%인 방법.

발명의 설명**기술 분야**

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2022년 3월 21일에 출원된 미국 가출원 번호 63/321,965에 대한 우선권의 이익을 주장하며; 이의 내용은 참조로 포함된다.

배경 기술

[0003] 배경

[0004] 남성 섬유증(CF)은 지속적인 폐 감염을 유발하고 시간이 지남에 따라 호흡하는 능력을 제한하는 진행성 유전 질환이다. CF의 증상은 남성 섬유증 막황단 전도 조절자(CFTR) 단백질로 알려진 결합성 단백질에 의해 유발된다. 연구자들은 CFTR 단백질의 적절한 기능을 회복하거나 정상 단백질이 만들어지도록 이의 생산 공정을 교정하기 위한 잠재적인 치료법을 조사하고 있다. 현재 CFTR 조절자 및 교정자는 CF 환자의 약 90%에서 폐 기능을 개선하지만, 클래스 I 또는 다른 돌연변이를 갖는 환자의 약 10%는 이용 가능한 효과적인 치료가 없다.

[0005] Burke와 동료들은 최근 대안적인 전략인 CFTR 단백질을 위한 소분자 보형물의 개발을 제안하였다. 이를 위해, 이들은 콜레스테롤(Chol)과 자가 조립하여 1가 이온 채널을 형성하는 항진균 약물 암포테리신 B(AmB)의 용도를 변경하였다. AmB 및 Chol의 복합체는 유기 용매 중의 용액으로부터 물 중 플래시 나노침전에 의해 제조되었다(US 2019/0083517; US 2020/0352970). 후속하여 생성된 나노입자를 동결건조시켰다. Burke 등은 Chol 및 AmB로부터 형성된 이온 채널(Chol/AmB = 1.0 내지 50.0 mol/mol)이 바이카르보네이트 분비를 회복시키고, 기도 표면 액체(ASL) pH를 증가시키고, 유전자 돌연변이와 무관하게 CF 세포주(예를 들어, CuFi-1, U. Iowa로부터의 CuFi-4 세포주)에서 숙주 방어를 개선시킬 수 있다고 주장하였다. 이들은 또한 AmB가 콜레스테롤과 사전-복합체화된 경우 AmB가 ASL pH를 회복시키는데 효과적인 농도의 범위가 증가함을 입증하였다. 즉, 순수한 AmB는 낮은 AmB 농도에서만 효과적이었던 반면, AmB:Chol 복합체는 광범위한 AmB 농도에 걸쳐 활성을 유지하였다.

[0006] AmB의 이점은 CFTR을 생성하지 않는 일부를 포함하는 상이한 CFTR 돌연변이를 갖는 CF 환자로부터의 인간 기도 상피의 분화된 일차 배양물에서 추가로 확립되었다. ASL pH의 증가는 또한 CFTR-null 돼지 모델에서 관찰되었다.

[0007] 마지막으로, AmB의 상업적 비경구 조성물인 Fungizone®의 비강내 투여는 현재 치료법으로 치료할 수 없는 사람들을 포함하여, CF를 갖는 사람들의 비강 전위차를 변화시킬 수 있었다. 관찰된 비강 전위차의 개선은 이바카프터(ivacaftor)와 같은 조절자에서 관찰된 것과 유사하였다.

[0008] CF 환자에서 AmB/Chol 이온 채널의 확립은 기도 상피 세포의 정단 측에 이러한 물질의 전달, 즉, 경구 흡입을 통한 투여를 필요로 한다. 비낭성 섬유증 기관지확장증(NCFBE) 및 만성 폐쇄 폐질환(COPD)을 갖는 대상체에서 비슷한 문제가 관찰된다.

발명의 내용

[0009] 개요

[0010] 특정 양태에서, (i) 암포테리신 B(AmB) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물; (ii) 콜레스테롤(Chol); (iii) 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 및 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)을 포함하는 인지질(PL); 및 (iv) 칼슘 클로라이드(CaCl₂)를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0011] 추가의 양태에서, 치료적 유효량의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 질병

또는 장애를 치료하는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.

[0012] 추가의 양태에서, 유효량의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 기도 표면 액체의 pH를 증가시키는 것을 포함하는 기도 표면 액체의 pH를 증가시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.

[0013] 추가의 양태에서, 유효량의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체의 기도 표면 액체로의 바이카르보네이트 분비를 증가시키는 것을 포함하는 기도 표면 액체로의 바이카르보네이트 분비를 증가시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.

[0014] 추가의 양태에서, 유효량의 약학적 조성물을 대상체에 투여하여, 대상체의 1초간 강제 날숨량(FEV1)을 증가시키는 것을 포함하는 대상체의 FEV1을 증가시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도면의 간단한 설명

도 1은 완전히 수화된 디팔미토일포스파티딜콜린-콜레스테롤 혼합물의 상 다이어그램을 나타낸다.

도 2는 다양한 AmB/지질 조성을 나타내는 3원 상 다이어그램을 나타낸다. 음영 삼각형은 암포테리신 B의 최적화된 지질-코팅된 결정 조성물을 나타낸다.

도 3은 암포테리신 B 흡입 분말(ABIP), ABCI-001, ABCI-002, 및 ABCI-003의 시차 주사 열량측정 써모그램을 나타낸다.

도 4는 PLCI-001 및 PLCI-002에서 콜레스테롤 미결정(crystallite)의 증거를 보여주는 X-선 분말 회절(XRPD) 플롯을 나타낸다.

도 5는 Chol-풍부 상의 엔탈피가 Chol 함량에 비례한다는 것을 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 6은 다양한 암포테리신 B(AmB) 및 플라시보 조성물의 수분 흡착 등온선(25°C)을 나타낸다.

도 7a는 0.4 내지 1.2 mol/mol의 Chol/AmB 비율 및 PL의 70% 내지 90% w/w의 HSPC를 포함하는 다양한 조성물에 대한 CuFi-1 세포에서 기도 표면 액체(ASL) pH의 증가를 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 7b는 0 내지 0.4 mol/mol의 Chol/AmB 비율을 포함하는 조성물 및 Chol 또는 DSPG가 없는 조성물에 대한 CuFi-1 세포에서 ASL pH의 증가를 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 7c는 Chol/AmB 비율의 변화가 CuFi-1 세포에서 ASL pH의 개선에 미치는 영향을 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 8은 넌센스 돌연변이를 갖는 개인을 포함하여, CF를 갖는 개인으로부터의 일차 배양된 기도 상피 세포에 ABCI-003의 투여 후 ASL pH의 증가를 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 9는 퍼플루오로헥산(FC-72) 비히클에 현탁된 AmB 농도의 증가의 함수로서 ABCI-003에 대한 CuFi-1 세포에서 ASL pH의 증가를 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 10은 넌센스 돌연변이를 갖는 개인을 포함하여, CF를 갖는 개인으로부터의 일차 배양된 기도 상피 세포에 ABCI-003의 투여 후 ASL 점도의 감소를 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 11은 넌센스 돌연변이를 갖는 개인을 포함하여, CF를 갖는 개인으로부터의 일차 배양된 기도 상피 세포에 ABCI-003의 투여 후 ASL 항미생물 활성의 증가를 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 12a는 0 내지 10 mg의 공칭 용량 범위에서 벌크 분말에 대한 계산된 약물 부하량에 대한 분무-건조된 분말 조성물의 공칭 및 탭 밀도의 영향을 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 12b는 0 내지 3 mg의 공칭 용량 범위에서 벌크 분말에 대한 계산된 약물 부하량에 대한 분무-건조된 분말 조성물의 공칭 및 탭 밀도의 영향을 보여주는 플롯을 나타낸다.

도 13은 ABCI-003, ABCI-004, 및 PLCI-002의 GMP 및 GLP 배치의 X-선 분말 회절 패턴의 오버레이를 나타낸다.

도 14는 ABCI-003, ABCI-004, 및 PLCI-002의 GMP 및 GLP 배치의 DSC 써모그램의 오버레이를 나타낸다.

도 15는 ABCI-003의 공기역학적 입자 크기 분포(PSD)를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 상세한 설명
- [0017] 상기 요약된 이점을 달성하기 위해 AmB 및 Chol은 복합체를 형성할 필요가 없다는 것이 놀랍게도 발견되었다. 실제로, 2개의 성분은 코어-셸 입자에서 별도의 도메인으로 상 분리될 수 있다.
- [0018] 또한 놀랍게도 1.0 mol/mol보다 훨씬 적은 Chol/AmB 비율이 바이카르보네이트 분비, ASL pH, ASL 점도, 및/또는 ASL 향미생물 활성의 개선을 포함하는 숙주 방어의 개선을 유지할 수 있음이 발견되었다.
- [0019] 조성물
- [0020] 일부 양태에서, 다음을 포함하는 약학적 조성물이 제공된다:
- [0021] (i) 암포테리신 B(AmB) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물;
- [0022] (ii) 콜레스테롤(Chol);
- [0023] (iii) 인지질; 및
- [0024] (iv) 칼슘 클로라이드(CaCl_2).
- [0025] 추가의 양태에서, 다음을 포함하는 약학적 조성물이 제공된다:
- [0026] (i) 암포테리신 B(AmB) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물;
- [0027] (ii) 콜레스테롤(Chol);
- [0028] (iii) 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 또는 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC); 및 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)을 포함하는 인지질; 및
- [0029] (iv) 칼슘 클로라이드(CaCl_2).
- [0030] 추가의 양태에서, 다음을 포함하는 약학적 조성물이 제공된다:
- [0031] (i) 암포테리신 B(AmB) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 수화물;
- [0032] (ii) 콜레스테롤(Chol);
- [0033] (iii) 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 및 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)을 포함하는 인지질; 및
- [0034] (iv) 칼슘 클로라이드(CaCl_2).
- [0035] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 0.5% 내지 약 25% w/w의 AmB를 포함한다.
- [0036] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 1% 내지 약 22% w/w의 AmB를 포함한다.
- [0037] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 2% 내지 약 16% w/w의 AmB를 포함한다.
- [0038] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 14% w/w의 AmB를 포함한다.
- [0039] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 0.1% 내지 약 8% w/w의 Chol을 포함한다.
- [0040] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 0.5% 내지 약 3% w/w의 Chol을 포함한다.
- [0041] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 0.3% 내지 약 6% w/w의 Chol을 포함한다.
- [0042] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 0.5% 내지 약 3% w/w의 Chol을 포함한다.
- [0043] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 1% 내지 약 10% w/w의 CaCl_2 를 포함한다.
- [0044] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 4% 내지 약 7% w/w의 CaCl_2 를 포함한다.
- [0045] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 60% 내지 약 95% w/w의 인지질을 포함한다.
- [0046] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 70% 내지 약 90% w/w의 인지질을 포함한다.

- [0047] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 약 75% 내지 약 90% w/w의 인지질을 포함한다.
- [0048] 특정 구체예에서, Chol 대 인지질의 중량비는 약 0.001:1 내지 약 0.1:1이다.
- [0049] 특정 구체예에서, Chol 대 인지질의 중량비는 약 0.005:1 내지 약 0.05:1이다.
- [0050] 특정 구체예에서, 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 대 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)의 중량비는 약 2:1 내지 약 19:1이다.
- [0051] 특정 구체예에서, 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 대 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)의 중량비는 약 7:1 내지 약 12:1이다.
- [0052] 특정 구체예에서, 대두 포스파티딜콜린(HSPC) 대 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG)의 중량비는 약 1:1 내지 약 3:1이다.
- [0053] 특정 구체예에서, Chol 대 AmB의 몰비는 약 0.05:1 내지 약 1.2:1이다.
- [0054] 특정 구체예에서, Chol 대 AmB의 몰비는 약 0.4:1 내지 약 1.2:1이다.
- [0055] 특정 구체예에서, Chol 대 AmB의 몰비는 약 0.05:1 내지 약 0.4:1이다.
- [0056] 특정 구체예에서, Chol 대 AmB의 몰비는 약 0.4:1이다.
- [0057] 특정 구체예에서, 인지질 대 CaCl_2 의 몰비는 약 4:1 내지 약 2:1이다.
- [0058] 특정 구체예에서, 인지질 대 CaCl_2 의 몰비는 약 2:1이다.
- [0059] 특정 구체예에서, AmB는 약 75% 초과를 갖는다.
- [0060] 특정 구체예에서, AmB는 약 85% 초과를 갖는다.
- [0061] 특정 구체예에서, AmB는 약 95% 초과를 갖는다.
- [0062] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 다음을 포함하거나, 필수적 요소로 하여 구성되거나(consisting essentially of), 또는 구성된다:
- [0063] (i) 약 14.0% w/w의 암포테리신 B(AmB);
- [0064] (ii) 약 2.3% w/w의 콜레스테롤(Chol);
- [0065] (iii-a) 약 70.3% w/w의 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC);
- [0066] (iii-b) 약 7.8% w/w의 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG); 및
- [0067] (iv) 약 5.52% w/w의 칼슘 클로라이드(CaCl_2).
- [0068] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 다음을 포함하거나, 필수적 요소로 하여 구성되거나, 또는 구성된다:
- [0069] (i) 약 14.0% w/w의 암포테리신 B(AmB);
- [0070] (ii) 약 6.81% w/w의 콜레스테롤(Chol);
- [0071] (iii-a) 약 51.2% w/w의 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC);
- [0072] (iii-b) 약 22.8% w/w의 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG); 및
- [0073] (iv) 약 5.2% w/w의 칼슘 클로라이드(CaCl_2).
- [0074] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 다음을 포함하거나, 필수적 요소로 하여 구성되거나, 또는 구성된다:
- [0075] (i) 약 3.4% w/w의 암포테리신 B(AmB);
- [0076] (ii) 약 0.57% w/w의 콜레스테롤(Chol);
- [0077] (iii-a) 약 80.72% w/w의 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC);
- [0078] (iii-b) 약 8.97% w/w의 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG); 및

- [0079] (iv) 약 6.34% w/w의 칼슘 클로라이드(CaCl_2).
- [0080] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 다음을 포함한다:
- [0081] (i) 약 0.4 내지 1.2 mol/mol의 Chol/AmB 비율;
- [0082] (ii) 약 0.05 w/w 미만의 Chol/PL 비율;
- [0083] (iii) 약 2.3 내지 약 9.0 w/w의 HSPC/DSPG 비율; 및
- [0084] (iv) 약 2:1 mol/mol의 PL/ Ca^{2+} 비율.
- [0085] 특정 구체예에서, AmB 및 Chol은 복합체를 형성하지 않고; AmB는 리포솜에 캡슐화되지 않는다.
- [0086] 특정 구체예에서, AmB는 인지질 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된다.
- [0087] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 건조 분말로서 제형화된다.
- [0088] 특정 구체예에서, 분말 입자의 탭 밀도는 약 0.03 내지 약 0.4 g/mL이다.
- [0089] 특정 구체예에서, 분말 입자의 탭 밀도는 약 0.06 내지 약 0.2 g/mL이다.
- [0090] 특정 구체예에서, 분말 입자의 카르 지수(Carr's index)는 약 20 내지 약 32이다.
- [0091] 특정 구체예에서, 셀의 주요 전이 온도(T_m)는 적어도 70°C, 적어도 80°C, 또는 적어도 90°C이다. 특정 구체예에서, 셀의 주요 전이 온도(T_m)는 약 50°C 내지 약 100°C, 약 70°C 내지 약 100°C, 약 80°C 내지 약 100°C, 또는 약 85°C 내지 약 95°C이다.
- [0092] 특정 구체예에서, 분말의 물 함량은 약 1.5 내지 약 6% w/w이다.
- [0093] 특정 구체예에서, 조성물은 폐 투여 또는 기도 투여용으로 제형화된다.
- [0094] 특정 구체예에서, 조성물은 에어로졸 투여용으로 제형화된다.
- [0095] 특정 구체예에서, 조성물은 에어로졸 투여를 위해 건조 분말로서 제형화된다.
- [0096] 특정 구체예에서, 인지질(PL) 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되고, 여기서 AmB의 결정도는 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%이다.
- [0097] 특정 구체예에서, 분말 입자의 질량 중간 직경, X_{50} 은 약 0.5 μm 내지 약 5.0 μm , 약 1.0 μm 내지 약 4.0 μm , 또는 약 1.5 μm 내지 약 3.5 μm 이다.
- [0098] 특정 구체예에서, 분말 입자는 약 1.5 μm 내지 약 10.0 μm , 예를 들어, 약 2.0 μm 내지 약 8.0 μm 의 X_{90} 을 갖는다.
- [0099] 특정 구체예에서, 분말 입자의 질량 중간 공기역학적 직경(MMAD)은 약 1.5 μm 내지 약 4.0 μm 이다.
- [0100] 특정 구체예에서, 분말 입자의 질량 중간 공기역학적 직경(MMAD)은 약 2.0 μm 내지 약 3.5 μm 이다.
- [0101] 특정 구체예에서, AmB, Chol, 및 PL의 담체-비함유 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 AmB는 지질에 캡슐화되지 않고, AmB 및 지질은 이들 자신의 도메인에서 상 분리된다.
- [0102] 특정 구체예에서, PL 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되고, 여기서 Chol/AmB 비율은 약 0.05 내지 약 1.2 mol/mol, 예를 들어, 약 0.2 내지 약 0.6 mol/mol이다.
- [0103] 특정 구체예에서, PL 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 Chol/PL은 0.10 w/w 미만, 또는 0.05 w/w 미만이다.
- [0104] 특정 구체예에서, PL 및 Chol을 포함하는 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공된다. 일부 구체예에서, PL은 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG), 또는 이들의 조합을 포함한다.

- [0105] 특정 구체예에서, PL 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되고, 여기서 PL은 약 2.3 w/w(즉, 7/3 w/w) 및 약 19.0 w/w(즉, 95/5 w/w), 예를 들어, 약 8 w/w 내지 약 18 w/w의 w/w 비율로 (1) HSPC 또는 DSPC, 및 (2) DSPG의 혼합물을 포함한다.
- [0106] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 PL/Ca 비율은 약 2.0 mol/mol 내지 약 4.0 mol/mol, 약 2.0 mol/mol 내지 약 3.0 mol/mol, 또는 약 2.0 mol/mol이다. PL/Ca 비율은 약 2.0 mol/mol 미만으로 감소해서는 안된다.
- [0107] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 조성물 중 AmB의 백분율은 60% w/w 미만, 예를 들어, 30% w/w 미만 또는 20% w/w 미만이다. 일부 구체예에서, 약물 부하량은 약 0.5% 내지 약 25% w/w이고, 공칭 Chol/AmB 비율은 약 0.05 내지 약 1.2 mol/mol이다.
- [0108] 특정 구체예에서, PL 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 미세결정질 AmB 입자의 분무-건조된 코어-셸 입자(약 14.0% w/w)를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물(ABCI-003)이 제공되며, 여기서 Chol/AmB 비율은 약 0.4 mol/mol이고, Chol/PL 비율은 약 0.03 w/w이고, PL/Ca 비율은 약 2 mol/mol이고, PL에서 PC/PG의 비율은 약 9.0 w/w이다.
- [0109] 특정 구체예에서, PL 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 미세결정질 AmB 입자의 분무-건조된 코어-셸 입자(약 3.4% w/w)를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물(ABCI-004)이 제공되며, 여기서 Chol/AmB 비율은 약 0.4 mol/mol이고, Chol/PL 비율은 약 0.006 w/w이고, PL/Ca 비율은 약 2 mol/mol이고, PL에서 PC/PG의 비율은 약 9.0 w/w이다.
- [0110] 특정 구체예에서, PL 및 Chol의 다공성 셀로 코팅된 미세결정질 AmB 입자의 분무-건조된 코어-셸 입자(약 14.0% w/w)를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물(도 2)이 제공되며, 여기서 Chol/AmB 비율은 약 0.4 내지 약 1.2 mol/mol이고, Chol/PL 비율은 약 0.05 w/w 미만이고, PL/Ca 비율은 약 2 mol/mol이고, PL에서 PC/PG의 비율은 약 2.3 내지 9.0 w/w이다.
- [0111] 특정 구체예에서, 최대 Chol/AmB 비율은 약 1.2 mol/mol이지만, 이러한 높은 비율은 지질이 고도로 정렬된 so 상으로 유지되는 더 낮은 약물 부하량(예를 들어, 10.0% w/w 이하)에 대해서만 허용될 수 있다. 0.4 mol/mol로 Chol/AmB의 감소는 so 상 내에서 더 높은 약물 부하량(예를 들어, 22% w/w 이하)을 허용할 수 있다.
- [0112] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 도 2에서 음영 삼각형을 차지한다. 삼각형의 두 변은 0.4 및 1.2 mol/mol의 공칭 Chol/AmB 비율에 대한 선을 나타내는 반면, 세 번째 변은 DSC 써모그램에서 Chol-풍부 상의 제거를 초래할 수 있는 Chol/PL 비율($\text{Chol/PL} = 0.05 \text{ w/w}$)을 나타낸다(실시예 4).
- [0113] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 약 2.3 내지 약 9.0 w/w의 HSPC/DSPG 비율, 및 약 2.0 mol/mol의 PL/Ca^{2+} 비율을 포함한다.
- [0114] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 단일 상(즉, 40°C의 가속 저장 온도보다 50°C 초과인 T_m 을 갖는 겔 상(so)(실시예 4))에서 지질의 유지에 의해 결정된다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 광범위한 AmB 농도에 걸쳐 유지되는 ASL pH의 최대 증가에 의해 결정된다(실시예 11). 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 HSPC/DSPG < 9.0을 갖는 조성물에 비해 감소된 흡습성에 의해 결정된다(실시예 5). 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 증가된 제조 수율에 의해 결정된다(실시예 9). 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 개선된 분말 유동성에 의해 결정된다(실시예 9). 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 1 α 상을 함유하는 분말에 비해 개선된 에어로졸 성능에 의해 결정된다(실시예 9). 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 CuFi-1 세포 및 CF 환자, 심지어 넌센스 돌연변이를 갖는 환자로부터의 일차 배양물 둘 모두에서, 세포-기반 검정에서 숙주 방어를 회복하는 우수한 성능에 의해 결정된다(실시예 10). 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물의 선택은 심지어 낮은 Chol/AmB 몰비에서도 적혈구 용혈이 발생하지 않는 것에 의해 결정된다(실시예 15).
- [0115] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셀로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 공칭 용량은 약 0.01 mg 내지 약 50 mg, 약 0.1 mg 내지 약 10.0 mg, 약 0.5 mg, 약 1.0 mg, 약 2.0 mg, 약 4.0 mg, 또는 약 6.0 mg이다.

- [0116] 특정 실시예에서, PL, Chol 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 입자의 질량 중간 직경(X_{50})은 약 1.0 내지 약 5.0 μm , 예를 들어 약 1.5 내지 약 4.0 μm 이다.
- [0117] 특정 구체예에서, PL, Chol 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 입자의 X_{90} 은 약 3 μm 내지 약 10 μm , 예를 들어 약 3.5 μm 내지 약 7 μm 이다.
- [0118] 특정 구체예에서, PL, Chol 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 입자의 탭 밀도는 약 0.03 내지 약 0.40 g/mL, 예를 들어, 약 0.06 내지 약 0.20 g/mL이다.
- [0119] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 분말 중 물 함량은 약 1.0% 내지 약 10.0%, 바람직하게는 약 2.0% 내지 약 5.0%이다.
- [0120] 특정 구체예에서, PL, Chol 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 휴대용 건조 분말 흡입기로부터 투여될 때, 질량 중간 공기역학적 직경(MMAD)은 약 1.0 μm 내지 약 6.0 μm , 예를 들어 약 2.0 μm 내지 약 4.0 μm 이다.
- [0121] 특정 구체예에서, PL, Chol 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 휴대용 건조 분말 흡입기로부터 투여될 때, 공칭 용량의 백분율로 표현되는 5 μm 미만의 미세 입자 분획은 적어도 30% w/w, 적어도 50%, 또는 적어도 60% w/w이다.
- [0122] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 결정질 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 분말은 본원에 기재된 지질 혼합물의 단층에 의해 안정화된 수중유 에멀전에 현탁된 미세 AmB 결정을 포함하는 액체 공급원료를 분무 건조시킴으로써 생산된다.
- [0123] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 결정질 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되고, 여기서 지질은 적어도 80°C, 예를 들어, 적어도 90°C의 주요 전이 온도(T_m)를 갖는다.
- [0124] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 결정질 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 분말은 지질의 최저 T_m 미만인 출구 온도에서 액체 공급원료를 분무 건조시킴으로써 생산된다. 일부 구체예에서, 출구 온도는 적어도 50°C, 적어도 60°C, 또는 적어도 70°C이다.
- [0125] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 결정질 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 분말은 지질의 최저 T_m 미만인 출구 온도에서 액체 공급원료를 분무 건조시킴으로써 생산된다. 일부 구체예에서, 출구 온도는 적어도 60°C, 또는 적어도 70°C이다.
- [0126] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 복수의 결정질 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물이 제공되며, 여기서 분말은 액체 공급원료를 PSD-1 규모 분무 건조기에서 약 70 내지 약 100 scfm의 총 가스 유량으로 분무 건조시킴으로써 생산된다.
- [0127] 특정 구체예에서, PL, Chol, 및 칼슘 클로라이드(CaCl_2)의 다공성 셸로 코팅된 AmB 약물 입자를 포함하는 조작된 입자의 건조 분말 조성물은 드럼 충전제로 충전된다.
- [0128] 특정 구체예에서, 분말 충전 매스는 크기 3 또는 크기 2 캡슐에서 약 1.0 mg 내지 약 40 mg, 예를 들어, 약 3 mg 내지 약 20 mg, 또는 약 10 mg 내지 약 15 mg이다.
- [0129] 특정 구체예에서, 분말 충전 매스는 표적 충전 매스에 대해 우수한 정밀도(예를 들어, $\text{RSD} < 3\%$) 및 정확도를

갖는다.

- [0130] 방법
- [0131] 특정 양태에서, 치료적 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 질병 또는 장애를 치료하는 방법이 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다. 특정 구체예에서, 질병 또는 장애는 만성 섬유증, 비만성 섬유증 기관지확장증(NCFBE), 또는 만성 폐쇄 폐질환(COPD)을 포함한다. 특정 구체예에서, 질병 또는 장애는 만성 섬유증이다.
- [0132] 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 폐 기능 및 삶의 질을 개선시키는 것을 포함하는 ASL의 숙주 방어 특성(예를 들어, 바이카르보네이트 분비, pH, 항 미생물 활성의 증가, 및/또는 점도의 감소)을 회복시키는 방법이 제공된다.
- [0133] 또한, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 기도 표면 액체의 pH를 증가시키는 것을 포함하는 기도 표면 액체의 pH를 증가시키는 방법이 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0134] 또한, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체의 기도 표면 액체로의 바이카르보네이트 분비를 증가시키는 것을 포함하는 기도 표면 액체로의 바이카르보네이트 분비를 증가시키는 방법이 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0135] 또한, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체의 1초간 강제 날숨량(FEV1)을 증가시키는 것을 포함하는 FEV1을 증가시키는 방법이 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0136] 일부 구체예에서, 대상체의 FEV1은 본 개시의 방법에 따른 치료 전 또는 치료로부터 시간상 먼 시점에 측정된 동일한 대상체의 FEV1보다 측정가능하게 더 클 때 증가한 것으로 언급된다.
- [0137] 특정 구체예에서, 대상체의 FEV1은 약 3% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 15%, 또는 약 6% 내지 약 10%만큼 증가한다.
- [0138] 특정 구체예에서, 대상체는 CF를 갖는다.
- [0139] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 대상체의 기도에 투여된다.
- [0140] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 대상체의 기관지 기도에 투여된다.
- [0141] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 에어로졸로서 투여된다.
- [0142] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 건조 분말 에어로졸로서 투여된다.
- [0143] 특정 구체예에서, 대상체는 인간이다.
- [0144] 특정 구체예에서, 대상체는 성인이다.
- [0145] 특정 구체예에서, 대상체는 12세 미만의 인간이다.
- [0146] 특정 구체예에서, 대상체는 적어도 12세의 인간이다.
- [0147] 특정 구체예에서, 대상체는 적어도 4세의 인간이다.
- [0148] 특정 구체예에서, CF는 이바카프터; 또는 엘렉사카프터, 테자카프터, 및 이바카프터의 조합물로의 치료에 불응성이다.
- [0149] 특정 구체예에서, CF를 갖는 대상체는 조합 요법을 포함하는 현재 조절제로는 효과적으로 치료되지 않는 클래스 1 또는 다른 돌연변이를 갖는다. 이는 기능성 CFTR 단백질이 생산되지 않는 넌센스 돌연변이 또는 다른 돌연변이를 포함한다.
- [0150] 특정 구체예에서, 대상체는 CF 막횡단 전도 조절자(CFTR) 음이온 채널에서 2개의 돌연변이를 갖고; 2개의 돌연변이는 각각 독립적으로 표 1에 열거된 돌연변이로부터 선택된다.

[0151] 표 1. 예시적인 CTFR 돌연변이

R75X	663delT	1525-1G->A	1924del7
CFTRdele1	G178R	1525-2A->G	2055del9->A
M1V	675del4	S466X	2105- 2117del13insAGAAA
Q2X	E193X	L467P	2118del4
S4X	711+1G->T	1548delG	2143delT
182delT	711+3A->G	S489X	G673X
CFTRdele2	711+5G->A	S492F	2183AA->G or 2183delAA->G
CFTRdele2-4	712-1G->T	1609delCA	2184insA
185+1G->T	H199Y	Q493X	2184delA
CFTRdele2,3	P205S	W496X	2185insC
W19X	L206W	I507del	Q685X
R75X	W216X	F508del	R709X
Q39X	Q220X	1677delTA	K710X
A46D	L227R	V520F	Q715X
296+1G->A	849delG	C524X	2307insA
296+1G->T	852del22	Q525X	L732X
CFTRdele3-10,14b-16	CFTRdup6b-10	CFTRdele11	2347delG
297-1G->A	935delA	1717-1G->A	2372del8
E56K	Y275X	1717-8G->A	R764X
W57X	C276X	G542X	R785X
306insA	991del5	S549R	R792X
306delTAGA	1078delT	S549N	2556insAT
E60X	I119delA	G550X	2585delT
P67L	G330X	1782delA	2594delGT
R75X	R334W	G551S	E822X
365-366insT	I138insG	G551D	2622+1G->A
G85E	I336K	Q552X	E831X
394delTT	T338I	R553X	W846X
L88X	S341P	A559T	Y849X

[0152]

CFTRdele4-7	1154insTC	1811+1634A->G or 1811+1.6kbA->G	R851X
CFTRdele4-11	1161delC	1811+1G->C	2711delT
CFTR50kdel	R347H	R560K	2721del11
405+1G->A	R347P	R560T	2732insA
405+3A->C	R352Q	1811+1G->A	CFTRdele14b-17b
406-1G->A	1213delT	1811+1643G->T	W882X
E92K	1248+1G->A	1812-1G->A	2789+5G->A
E92X	1249-1G->A	R560S	2790-1G->C
Q98X	1259insA	A561E	Q890X
442delA	1288insTA	V562I	S912X
444delA	W401X	1824delA	2869insG
457TAT->G	1341+1G->A	1833delT	Y913X
D110H	1343delG	Y569D	2896insAG
R117C	Q414X	E585X	L927P
R117H;5T	D443Y	1898+1G->A	2942insT
541delC	1461ins4	1898+1G->C	2957delT
574delA	1471delA	CFTRdele13,14a	S945L
602del14	A455E	1898+3A->G	2991del32
621+1G->T	1497delGG	1898+5G->T	3007delG
3120G->A	3132delTG	H1054D	3028delA
CFTRdele17a,17b	3171delC	G1061R	G970R
CFTRdele17a-18	3171insC	L1065P	CFTRdele16-17b
3120+1G->A	Q1042X	R1066C	L1077P
3121-1G->A	3271delGG	R1066H	W1089X
3121-2A->G	3272-26A->G	3600G->A	Y1092X
3121- 977_3499+248del2515	3600G->A	CFTRdele19	W1098X
3349insT	CFTRdele19	CFTRdele19-21	M1101K
3659delC	CFTRdele19-21	3600+2insT	R1102X
3667ins4	3600+2insT	3600+5G->A	E1104X

[0153]

S1196X	3600+5G->A	R1158X	3500-2A->G
3737delA	R1158X	R1162X	W1145X
W1204X	R1162X	W1282X	CFTRdele22-24
3791delC	3849G->A	4005+1G->A	CFTRdele22,23
Y122X	3849+4A->G	CFTRdele21	Q1330X
3821delT	3849+40A->G	4005+2T->C	G1349D
I1234V	3849+10kbC->T	4010del4	4209TGTT->AA
4326delTC	3850-1G->A	4015delA	4218insT
Q1411X	3850-3T->G	4016insT	E1371X
Q1412X	G1244E	4022insT	4259del5
4374+1G->T	3876delA	4021dupT	Q1382X
4374+1G->A	3878delG	4040delA	4279insA
4382delA	S1251N	N1303K	S1255P
4428insGA	L1254X	Q1313X	S1255X
3905insT	D259G		

[0154]

- [0155] 특정 구체예에서, 2개의 돌연변이는 각각 독립적으로 2184delA, F508del, V520F, 1717-1G->A, E60X, G551D, R553X, 및 D259G로부터 선택된다.
- [0156] 특정 구체예에서, 2개의 돌연변이는 F508del/F508del, G551D/F508del, R553X/E60X, F508del/1717-1G->A, F508del/2184delA, 및 D259G/V520F로부터 선택된 CFTR 돌연변이의 쌍이다.
- [0157] 특정 구체예에서, 2개의 돌연변이는 F508del/F508del, R553X/E60X, F508del/1717-1G->A, F508del/2184delA, 및 D259G/V520F로부터 선택된 CFTR 돌연변이의 쌍이다.
- [0158] 특정 구체예에서, 약학적 조성물의 공칭 용량 또는 계량 용량은 0.01 mg 내지 10 mg이다.
- [0159] 특정 구체예에서, 약학적 조성물의 공칭 용량 또는 계량 용량은 약 0.1 mg, 약 0.5 mg, 약 1.0 mg, 약 2.0 mg, 또는 약 4.0 mg이다.
- [0160] 특정 구체예에서, 조성물은 매일 적어도 1회, 매일 적어도 2회, 또는 매일 적어도 3회 투여된다.
- [0161] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 1일 1회 투여된다.
- [0162] 특정 구체예에서, 조성물은 매주 적어도 1회, 매주 적어도 2회, 또는 매주 적어도 3회 투여된다.
- [0163] 특정 구체예에서, 투여는 약학적 조성물의 부하 용량을 초기에 전달하는 단계; 및 후속적으로 약학적 조성물의 유지 용량을 전달하는 단계를 포함하며; 여기서 부하 용량 대 유지 용량의 질량비는 약 2:1 내지 약 5:1이다. 특정 구체예에서, 부하 용량 대 유지 용량의 질량비는 약 2.5:1 내지 약 3:1이다. 특정 구체예에서, 부하 용량은 약 1.0 mg 내지 약 20 mg, 약 3 mg 내지 약 15 mg, 또는 약 6 mg 내지 약 10 mg이다. 특정 구체예에서, 유지 용량은 약 0.1 mg 내지 약 5 mg, 약 0.5 mg 내지 약 5 mg, 약 1 mg 내지 약 4 mg, 또는 약 2 mg이다. 특정 구체예에서, 부하 용량은 약 1.5 mg이고 유지 용량은 약 0.5 mg이다. 특정 구체예에서, 부하 용량은 약 6 mg이고 유지 용량은 약 2 mg이다. 특정 구체예에서, 부하 용량은 약 10 mg이고 유지 용량은 약 4 mg이다.
- [0164] 부하 용량 및 유지 용량에 대해 상기 기재된 모든 질량은 약학적 조성물의 공칭 용량 또는 계량 용량(즉, 방출 용량이 아님)의 질량을 지칭한다.
- [0165] 특정 구체예에서, 유효량의 AmB 및 Chol을 포함하는 지질-코팅된 결정 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 개시에서 제공되며,
- [0166] 여기서 지질-코팅된 결정 조성물은 폐의 기관지 기도로의 경구 흡입을 통해 대상체에 투여된다.
- [0167] 특정 구체예에서, 유효량의 AmB 및 Chol을 포함하는 지질-코팅된 결정 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 개시에서 제공되며, 여기서 조성물은 약 0.2 내지 약 1.0 pH 단위의 ASL pH의 증가를 제공한다.
- [0168] 특정 구체예에서, 유효량의 AmB 및 Chol을 포함하는 지질-코팅된 결정 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 개시에서 제공되며,
- [0169] 여기서 조성물은 플라시보에 비해 폐 기능(FEV₁)의 임상적으로 유의한 개선을 제공한다.
- [0170] 일부 구체예에서, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 기도 표면 액체의 점도를 감소시키면서 기도 표면 액체의 수화 및 높이를 증가시키는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 개인에서 기도 표면 액체 점도를 감소시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0171] 일부 구체예에서, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 기도 표면 액체의 항박테리아 활성을 증가시키는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 개인에서 기도 표면 액체의 항박테리아 활성을 증가시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0172] 일부 구체예에서, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 점액섬모 청소율을 증가시키는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 개인에서 점액섬모 청소율을 증가시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0173] 일부 구체예에서, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 폐 기능을 증가시키는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 개인에서 폐 기

능을 증가시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.

- [0174] 일부 구체예에서, 유효량의 본원에 기재된 구체예 중 어느 하나에 따른 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 건강 관련 삶의 질(HRQoL)을 증가시키는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 개인에서 HRQoL을 증가시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0175] 특정 구체예에서, 본 개시에 제공된 바와 같은 유효량의 AmB 및 ChOI를 포함하는 지질-코팅된 결정 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본원에 제공되며,
- [0176] 여기서 지질-코팅된 결정 조성물은 플라시보에 비해 건강-관련 삶의 질을 임상적으로 유의하게 증가시킨다.
- [0177] 특정 구체예에서, 유효량의 본 개시의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체의 폐 기능을 개선시키는 것을 포함하는 폐 기능을 개선시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0178] 특정 구체예에서, 대상체는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는다.
- [0179] 특정 구체예에서, 대상체는 CF를 갖는다.
- [0180] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 건조 분말이다.
- [0181] 특정 구체예에서, 건조 분말은 휴대용 건조 분말 흡입기로 투여된다.
- [0182] 특정 구체예에서, 건조 분말 흡입기는 분말을 유동화 및 분산시키기 위해 대상체의 들숨 흐름을 이용한다(즉, 장치는 수동 건조 분말 흡입기이다).
- [0183] 특정 구체예에서, 건조 분말 흡입기는 기류에 대해 중간 내지 높은 저항을 갖는 것이 바람직하다(즉, 약 0.10 내지 0.30 cm H₂O^{0.5} L⁻¹ min).
- [0184] 특정 구체예에서, 휴대용 건조 분말 흡입기는 캡슐-기반 단위 용량 DPI, 단일-사용 일회용 DPI, 또는 블리스터-기반 다중 용량 건조 분말 흡입기를 포함한다.
- [0185] 1900개 이상의 상이한 CFTR 돌연변이가 CF 환자에서 발견되었고, 그 중 수백 개는 적어도 5개의 상이한 기능 상실 메커니즘을 통해 질병을 유발하는 것으로 확인되었다. 특정 돌연변이 형태의 CFTR에 결합하여 이의 활성을 증가시키는 유전형-특이적 소분자 약물의 개발에서 최근 중요한 진전이 있었다. 그러나, CF 환자의 약 10%는 현재의 소분자 치료에 반응하지 않는 CFTR 유전형을 갖는다. 이들은 기능성 CFTR 단백질의 완전한 결핍을 초래하는 주요 트렁케이션 및 기능적 결핍의 기계적 기반이 알려지지 않은 매우 드문 돌연변이를 포함한다.
- [0186] 일부 구체예에서, 본원에 개시된 방법 중 임의의 것은 I, II, III, IV, V, VI, U, 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 CF의 돌연변이 부류를 치료한다. 일부 구체예에서, 돌연변이 부류는 I/I, II/II, II/U, 및 U/III로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0187] 이론으로 국한시키려는 것은 아니지만, 본원에 기재된 조성물은 CFTR 채널의 활성을 조절, 교정 또는 변경하지 않는다. AmB의 지질-코팅된 결정을 포함하는 분자 보형물은 CFTR 및 대상체의 특정 유전 돌연변이와 무관한 활성을 갖는 새로운 이온 채널을 생성하는 것으로 여겨진다.
- [0188] 일부 구체예에서, 본원에 개시된 임의의 방법은 유전형-비의존적 치료이다.
- [0189] 본원에서 사용되는 어구 "유전형-비의존적" 또는 "유전형-무관"은 CF에서 감소된 CFTR 발현 또는 감소된 CFTR 기능의 기초가 되는 유전 돌연변이의 정확한 특성과 무관한 임의의 치료를 지칭한다.
- [0190] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 방법은 통상적인 CF 치료제로의 치료에 전형적으로 비-반응성 또는 최소-반응성인 다양한 CF 유전형의 치료에 유용하다. 예를 들어, CFTR 돌연변이의 D259G/V520F 쌍을 갖는 환자에서 V520F 대립유전자는 이바카프터; 또는 엘렉사카프터, 테자카프터, 및 이바카프터의 조합물로의 치료에 불응성이다.
- [0191] 따라서, 특정 구체예에서, 본원에 기재된 CF를 치료하는 방법은 CF 유전형과 무관하다.
- [0192] 특정 구체예에서, 본원에 개시된 임의의 방법은 불응성 또는 내성 CF를 치료한다. 특정 구체예에서, CF는 하나 이상의 CF 치료에 대해 불응성이거나 내성이다.
- [0193] 대상체에서 기도 표면 액체(ASL)의 pH는 당업자에게 공지된 임의의 기술을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 기도 pH는 기관 표면에 평면 pH-민감성 프로브를 배치함으로써 측정될 수 있다. Pezzulo AA et al.

(2012) *Nature* 487: 109-113.

- [0194] 대상체에서 ASL의 pH는 치료되지 않은 대상체의 ASL의 pH보다 측정가능하게 더 높을 때 증가한 것으로 언급된다. 일 구체예에서, 대상체에서 ASL의 pH는 본 개시의 방법에 따른 치료 전 또는 치료로부터 시간상 먼 시점에 측정된 동일한 대상체의 ASL의 pH보다 측정가능하게 더 높을 때 증가한 것으로 언급된다.
- [0195] 기도 표면 액체의 pH를 증가시키는 이러한 방법은 실시예 1에 기재되어 있다. 놀랍게도, ASL pH의 구출은 광범위한 AmB:스테롤 농도에 걸쳐 관찰된다. 따라서, 본원에 기재된 ASL pH를 증가시키는 방법은 임상 적용에 중요한 의미를 갖는다.
- [0196] 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.1 pH 단위 내지 2.0 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.1 pH 단위 내지 1.0 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.3 pH 단위 내지 1.0 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.3 pH 단위 내지 1.0 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.5 pH 단위 내지 0.9 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.5 pH 단위 내지 0.8 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.6 pH 단위 내지 0.8 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 약 0.7 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.1 pH 단위 내지 0.5 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.1 pH 단위 내지 0.4 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.2 pH 단위 내지 0.4 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.1 pH 단위 내지 0.3 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.2 pH 단위 내지 0.3 pH 단위일 수 있다. 특정 구체예에서, pH의 증가는 0.1 pH 단위 내지 0.2 pH 단위일 수 있다.
- [0197] 특정 구체예에서, pH의 증가는 본원에 개시된 조성물 중 어느 하나의 정단 첨가에 의한 것이다.
- [0198] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 방법은 통상적인 CF 조절자/교정자 치료제로의 치료에 전형적으로 비-반응성 또는 최소 반응성인 다양한 CF 유전형 중 임의의 하나를 갖는 환자를 포함하여, 유전형에 관계없이 환자에서 기도 표면 액체의 pH를 증가시키는데 유용하다.
- [0199] 따라서, 특정 구체예에서, 본원에 기재된 ASL pH를 증가시키는 방법은 환자의 CF 유전형과 무관하다.
- [0200] 특정 구체예에서, 본원에 개시된 임의의 방법은 불응성 또는 내성 CF를 갖는 환자에서 ASL pH를 증가시킨다. 일부 구체예에서, CF는 하나 이상의 CF 치료, 예를 들어, 이바카프터; 또는 엘렉사카프터, 테자카프터, 및 이바카프터의 조합물에 대해 불응성이거나 내성이다.
- [0201] 특정 양태에서, 치료적 유효량의 본 개시의 약학적 조성물을 CF를 갖는 환자에 투여하는 것을 포함하는 음이온 수송을 회복시키고, 기도 표면 액체 수화 및 높이를 증가시켜, CF를 갖는 환자에서 기도 표면 액체의 점도를 감소시키는 방법이 본원에 제공된다.
- [0202] 일부 구체예에서, 음이온 분비(예를 들어, 바이카르보네이트 분비)의 회복은 기도 표면 액체 pH의 증가, 기도 수화 증가, 기도 표면 액체 높이의 증가, 기도 표면 액체의 항미생물 활성 증가, 또는 이들의 조합을 초래한다. 기도 표면 액체의 특성의 이러한 개선은 점액섬모 청소율, 폐 기능의 적도(예를 들어, FEV1), 환자의 건강 관련 삶의 질(HRQoL), 또는 이들의 조합의 임상적 개선을 초래할 수 있다.
- [0203] 특정 구체예에서, HRQoL은 남성 섬유증 설문지(CFQ)를 사용하여 측정된다. Henry, B. et al., *Qual Life Res.* 2003 Feb; 12(1): 63-76. 일부 구체예에서, HRQoL은 개정된 남성 섬유증 설문지(CFQ)를 사용하여 측정된다. Wenninger, K. et al., *Qual Life Res.* 2003 Feb; 12(1): 77-85. 특정 구체예에서, 본 조성물을 환자에 투여하는 것은 CFQ 또는 CFQ-R에 의해 측정시 적어도 0.5, 적어도 0.8, 적어도 1, 또는 적어도 2의 HRQoL 도메인 점수의 증가를 제공한다. 일부 구체예에서, 대상체의 HRQoL 도메인 점수는 본 개시의 방법에 따른 치료 전 또는 치료로부터 시간상 먼 시점에 측정된 동일한 대상체의 HRQoL 도메인 점수보다 측정가능하게 더 클 때 증가한 것으로 언급된다. 특정 구체예에서, 대상체의 HRQoL 도메인 점수는 치료되지 않은 대상체의 HRQoL 도메인 점수보다 측정가능하게 더 클 때 증가한 것으로 언급된다.
- [0204] CF를 갖는 대상체는 건강한 대상체에 비해 감소된 ASL 높이를 가질 수 있다. Muraglia, Katrina A. et al., *Nature* 2019 Mar; 567(7748):405-408. 특정 구체예에서, CF를 갖는 대상체는 약 3 μ m 내지 약 4 μ m의 ASL 높이를 갖는다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 방법은 CF를 갖는 대상체의 ASL 높이를 건강한 대상체의 ASL 높이(예를 들어, 약 9 μ m 내지 약 10 μ m의 ASL 높이)로 증가시킨다.
- [0205] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 방법은 대상체의 ASL 높이를 약 1 μ m 내지 약 8 μ m, 약 1 μ m 내지 약 5 μ m, 약 1 μ m 내지 약 3 μ m, 약 2 μ m 내지 약 8 μ m, 약 2 μ m 내지 약 5 μ m, 약 3 μ m 내지 약 8 μ m, 약 3

μm 내지 약 $5\ \mu\text{m}$, 약 $5\ \mu\text{m}$ 내지 약 $7\ \mu\text{m}$, 또는 약 $6\ \mu\text{m}$ 만큼 증가시킨다. 일부 구체예에서, 대상체의 ASL 높이는 본 개시의 방법에 따른 치료 전 또는 치료로부터 시간상 먼 시점에 측정된 동일한 대상체의 ASL 높이보다 측정가능하게 더 클 때 증가한 것으로 언급된다. 특정 구체예에서, 대상체의 ASL 높이는 치료되지 않은 대상체의 ASL 높이보다 측정가능하게 더 클 때 증가한 것으로 언급된다.

- [0206] 특정 양태에서, 유효량의 본 개시의 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 대상체에서 기도 표면 액체의 점도를 감소시키는 것을 포함하는 기도 표면 액체의 점도를 감소시키는 방법이 본원에 제공되며; 여기서 투여는 폐 투여이다.
- [0207] 특정 구체예에서, 대상체는 CF, NCFBE, 또는 COPD를 갖는다.
- [0208] 특정 구체예에서, 대상체는 CF를 갖는다.
- [0209] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 대상체의 기도에 건조 분말 에어로졸에 의해 투여된다.
- [0210] 특정 구체예에서, 약학적 조성물은 대상체의 기관지 기도에 건조 분말 에어로졸에 의해 투여된다.
- [0211] 특정 구체예에서, 대상체의 기도는 소위 전도성 또는 기관지 기도, 즉, 다음 폐 구조: 하기도의 기관, 기관지, 및 세기관지 중 임의의 것 또는 전부를 지칭한다.
- [0212] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 방법은 통상적인 CF 치료제로의 치료에 전형적으로 비-반응성 또는 최소 반응성인 다양한 CF 유전형 중 임의의 하나를 갖는 환자에서 기도 표면 액체의 점도를 감소시키는데 유용하다.
- [0213] 따라서, 특정 구체예에서, 본원에 기재된 ASL 점도를 감소시키는 방법은 환자의 CF 유전형과 무관하다.
- [0214] 일부 구체예에서, 본원에 개시된 임의의 방법은 불응성 또는 내성 CF를 갖는 환자에서 ASL 점도를 감소시킨다. 일부 구체예에서, CF는 하나 이상의 CF 치료, 예를 들어, 이바카프터; 또는 엘렉사카프터, 테자카프터, 및 이바카프터의 조합물에 대해 불응성이거나 내성이다.
- [0215] 전술한 구체예 각각에 따르면, 특정 구체예에서, 환자는 인간이다.
- [0216] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물로 치료할 수 있는 연령 범위는 수동 건조 분말 흡입기(DPI)를 효과적으로 이용하는 능력에 따라 결정된다. 6세 미만의 대상체는 수동 DPI의 사용과 관련된 단계를 적절하게 수행하는 인지 능력을 갖지 않을 수 있다. 또한, 이들은 필요한 들숨압을 생성하는데 필요한 호흡 근육이 부족할 수 있다. 그럼에도 불구하고, 일부 수동 DPI는 4세 이하의 대상체에 대해 승인되었다. 유사하게, 일부 노인 환자는 또한 수동 DPI의 적절한 사용을 방해하는 인지 또는 위축된 근육을 가질 수 있다. 들숨압은 연령에 따라 증가하는 경향이 있으며, 약 25세에 최대이고, 약 40세까지 정체되다가 그 후에 꾸준히 감소한다. 남성은 여성보다 더 높은 들숨압에 도달하는 경향이 있다. 기도 질병의 증가는 또한 대상체가 수동 DPI를 효과적으로 작동시키는데 필요한 압력 강하(약 $1.0\ \text{kPa}$)를 달성하는 능력에 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 들숨 근육이 불량한 대상체는 In-Check 다이얼을 사용하여 $1.0\ \text{kPa}$ 들숨압을 달성하는 능력에 기초하여 식별될 수 있다. 전술한 구체예 각각에 따르면, 특정 구체예에서, 환자는 4세 내지 80세이다.
- [0217] 특정 구체예에서, 환자는 적어도 4세이다. 특정 구체예에서, 환자는 적어도 6세 내지 약 18세이다. 일부 구체예에서, 환자는 허용되는 들숨 근육을 갖는 약 80세 미만이다. 특정 구체예에서, 환자는 약 60세 내지 약 70세이다. 일부 구체예에서, 환자는 약 70세 내지 약 80세이다.
- [0218] 특정 구체예에서, 본원에 개시된 임의의 방법은 정단막(apical membrane)을 투과성으로 만든다. 특정 구체예에서, 본원에 개시된 임의의 방법은 정단막을 양성자로 투과시킨다. 특정 구체예에서, 본원에 개시된 임의의 방법은 정단막을 바이카르보네이트 음이온으로 투과시킨다.
- [0219] 약물 물질
- [0220] 본원에 기재된 조성물은 흡입용 암포테리신 B Cystetic(ABCI)으로 지칭될 수 있으며, 이는 CF 환자에서 이온 채널 보형물로서 사용되어 음이온 수송 및 숙주 방어를 회복시켜 폐 기능 및 삶의 질을 개선시킬 수 있다.
- [0221] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 콜레스테롤을 포함하는 지질의 다공성 층으로 코팅된 암포테리신 B의 고 결정질 미세화 입자를 포함한다.
- [0222] AmB는 트랜스 위치에 7개의 컨주게이션된 이중 결합 및 글리코시드 결합에 의해 주 고리에 연결된 3-아미노-3,6-디데옥시만노스(마이코사민)를 함유하는 헵타엔 마크롤리드이다.

- [0223] AmB는 스트렙토마이세스 노도수스(*Streptomyces nodosus*)의 균주에 의한 발효 생성물로서 생산된다. 정맥내 AmB는 현재 전신 진균 감염을 치료하는데 사용되는 유일한 승인된 살진균 화합물이다. 흡입을 통한 투여에 대해 승인되지는 않았지만, 흡입 AmB는 침습성 폐 아스페르길루스증의 치료를 위해 광범위하게 연구되었다.
- [0224] 실제로, 500,000회 초과 용량의 흡입 AmB가 투여되었으나 심각하거나 중증 부작용은 보고되지 않았다. 대부분의 연구 간행물은 흡입 AmB가 잘 관용되는 것으로 기술하였다. 보고된 부작용(AE)은 주로 기도 자극과 관련이 있었다(예를 들어, 기침, 기관지연축, 호흡곤란, 천명). 다른 AE는 불쾌한 맛(미각장애), 메스꺼움, 및 구토를 포함하였다. 폐로부터 약물의 느린 흡수는 종종 정량 한계에 가깝거나 그 미만인 매우 낮은 전신 약물 수준을 초래한다. 신장 기능에 대한 바이오마커인 혈청 크레아티닌의 농도는 일반적으로 에어로졸 AmB 투여로 변하지 않는다. 따라서, 기도로의 AmB의 표적화는 AmB의 전신 내약성을 극적으로 개선시킨다.
- [0225] 중성 pH에서, AmB는 카르복실레이트 기($pK_a = 5.7$)가 탈양성자화되고 마이코사민 고리 상의 아민 기($pK_a = 10.0$)가 양성자화된 켄비터이온성이다. AmB의 고 결정질 켄비터이온성 형태는 37°C에서 물, Gamble 용액 및 희석된 Alveofact®에서 각각 0.5, 0.2 및 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 의 용해도를 가지며 수용액에 실질적으로 불용성이다.
- [0226] 용량 수(D_o)는 의도된 임상 용량에서의 용해도에 기반하여 화합물이 폐로부터 합리적으로 흡수될 것인지를 예측하는데 사용되는 간단한 메트릭이다.
- $$D_o = \frac{M_o(\mu\text{g})/V_{ASL}(\text{mL})}{S_{ASL}(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}})}$$
- [0227]
- [0228] 여기서 M_o 는 ASL에서 AmB 용량이고, V_{ASL} 은 ASL 유체의 부피이고, S_{ASL} 은 ASL 유체에서 AmB 용해도이다. 1.0 초과 의 D_o 값은 폐로부터의 용해-제한 흡수와 일치한다. $S_{ASL} = 0.2 \mu\text{g/mL}$ 및 $V_{ASL} = 25 \text{ mL}$ 의 경우, 용해-제한 흡수는 $M_o > 5 \mu\text{g}$ 에 대해 발생한다. AmB의 치료 용량은 약 1.0 mg 초과일 것으로 예상된다. 이러한 시나리오에서, AmB의 흡수는 용해 제한적일 것이다.
- [0229] 본 개시의 조성물에 대한 느린 용해는 혈장에서 AmB의 느린 출현(예를 들어, $t_{\max} = 4$ 내지 8시간), 및 AmB의 정맥내 조성물에 비해 전체 전신 노출의 극적인 감소에 의해 입증된다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 흡입 조성물에 대한 전신 노출은 필적하는 AmB 용량의 정맥내 투여 후 측정된 것보다 100-1,000배 낮다.
- [0230] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 방법에서 AmB의 절대 생체이용률은 약 0.1% 내지 약 20%, 약 0.1% 내지 약 10%, 약 0.1% 내지 약 5%, 약 0.1% 내지 약 2%, 또는 약 0.1% 내지 약 1%이다. 일부 구체예에서, 혈장으로부터 AmB의 제거는 2상성인데, ASL에 용해된 AmB에 대한 초기 반감기는 5-20시간 정도이고, 그 다음 폐 조직으로부터 약물의 재분배로 인한 매우 느린 최종 제거가 이어진다($t_{1/2}$ 약 20일). 미립자의 정맥내 투여 후 AmB의 경우에도 유사한 2상 제거 과정이 관찰되며, 이는 세망내피 시스템의 세포에 의해 초기에 제거되고 나중에 혈장으로 다시 재분배된다.
- [0231] AmB의 공칭 용량, 입자 크기 및 물리적 형태는 래트에서 경구 흡입 후 AmB의 독성에 영향을 미칠 수 있다(US 2012/0128728 A1). 50%의 AmB 및 50%의 2:1 물비의 DSPC/칼슘 클로라이드를 포함하는 지질-코팅된 결정으로 제형화된 고 무정형 AmB(즉, ABIP, Nektar Therapeutics)를 수용한 래트(US 7,326,691; US 8,404,217; US 2012/0128728)는 호흡 곤란, 기관 및 기관지 비대, 기관 염증, 기관지 점막 세포 침윤 및 기관 및 기관지 내강 삼출물의 증기의 임상적 징후를 나타내었다. 이러한 효과의 발생은 더 작은 입자 크기를 갖는 고 결정질 AmB(ABIP에서 결정도 $\geq 76\%$)를 투여받은 래트에서 현저하게 감소하였다.
- [0232] 고 결정질 AmB를 포함하고 적절한 용량 및 요법으로 투여된 ABIP 조성물은 비임상 독성 연구에서 잘 관용되었다. 이들은 또한 건강한 지원자에서의 단일 용량 및 다중 용량 연구에서 잘 관용되었다(Kugler et al.: Amphotericin B inhalation powder (ABIP) achieves significant pulmonary and low systemic amphotericin B concentrations. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology (ISHAM), Paris, France, Abstract O-0011, 26-Jun-2006); Lee J.D., et al.: Amphotericin B inhalation powder (ABIP) is well tolerated with low systemic amphotericin B exposure in healthy subjects. In: Program and Abstracts of the 2nd Meeting of Advances Against Aspergillosis (AAA), Abstract P-118, pp. 214-215, Athens, Greece, 2006).

[0233] 비정질 함량의 증가는 또한 약물 물질의 분쇄성을 감소시킬 수 있고, 이는 입자 크기의 증가를 초래할 수 있다. 이러한 관찰은 실시예 3의 습식-분쇄 공정에 대해 예시되어 있다. 결정 크기의 이러한 증가는 공기역학적 입자 크기 분포와 관련된 중요한 품질 속성에 부정적인 영향을 미칠 가능성이 있다.

[0234] AmB의 결정도가 96%에서 75%로 감소함에 따라 물에서 습식-분쇄 후 X_{50} 은 1.06에서 2.16 μm 로 증가하고 X_{90} 은 2.14에서 5.99 μm 로 증가하였다(실시예 3). AmB 결정 크기의 증가는 제형화된 ABCI-002 약물 제품의 물리화학적 특성 및 에어로졸 성능에 의미 있는 영향을 미치지 않았다. MMAD는 2.9에서 3.1 μm 로 증가한 반면, FPF_{<5 μm} 는 61%에서 63%로 증가하였다.

[0235] 일부 구체예에서, 약물 물질의 결정도는 적어도 75%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%이다.

[0236] 특정 구체예에서, 미세화 약물 입자의 작은 입자 입자 크기 분포는 약물 제품의 폐로의 효율적인 전달을 제공할 수 있다. AmB 결정은 레이저 회절로 결정시 약 0.5 μm 내지 약 4 μm , 예를 들어, 약 1 μm 내지 약 3 μm 의 X_{50} 을 갖는다. 일부 구체예에서, AmB 결정은 약 1.5 μm 내지 약 10 μm , 예를 들어, 약 2.0 μm 내지 약 8.0 μm 의 X_{90} 을 갖는다.

[0237] 부형제

[0238] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 2개의 인지질(HSPC 및 DSPG), 콜레스테롤, 및 칼슘 클로라이드를 포함하는 다공성 층으로 코팅된 고 결정질 AmB 입자를 포함한다. 이러한 물질은 조성물의 물리화학적 및 에어로졸 특성에 직접 영향을 미치는 복잡한 상 거동을 나타낼 수 있다. 이는 차례로 제형화된 약물 제품의 효능, 안전성, 및 내약성에 영향을 미칠 수 있다.

[0239] 인지질은 하나 이상의 지방산 및 이에 연결된 알코올을 갖는 포스페이트 기가 부착된 글리세롤 또는 스펅고신 백본을 포함하는 지질 부류이다. 포스페이트 기는 콜린, 에탄올아민, 또는 세린과 같은 단순한 유기 분자로 변형될 수 있다. 인지질은 2개의 지방산 아실 사슬이 친지성인 반면 변형된 포스페이트 기는 친수성인 양친매성 분자이다. 인지질은 자가-조립되어 물에서 막 구조를 형성한다. 이들은 포유동물 세포막에 편재한다.

[0240] 수화된 인지질 이중층은 열향성 상 거동을 나타낸다. 온도가 증가함에 따라, 아실 사슬은 아실 사슬이 고도로 정렬된 고체-유사 올-트랜스 배열로 존재하는 '겔 상'(so)으로부터 아실 사슬의 고위 긴포머 함량의 증가가 정렬되지 않은 액체-유사 패킹을 형성하는 '액체 결정상'(ld)으로의 상 전이를 겪는다. 겔에서 액체 결정상으로의 상 전이 온도는 때때로 주요 전이 온도, 또는 T_m 으로 지칭된다.

[0241] 인지질의 T_m 은 아실 사슬의 길이 및 포화도에 크게 의존하며, 더 적은 정도로 헤드그룹의 특성에 의존한다. 표 2는 다양한 수화된 인지질의 T_m 값의 비교를 제공한다.

[0242] 표 2. 다양한 인지질의 수화된 겔에서 액체 결정으로의 주요 전이 온도

인지질 약어	일반 이름	아실 사슬	$T_m(^{\circ}\text{C})$
DLPC	디라우로일포스파티딜콜린	12:0/12:0	-2
DMPC	디미리스토일포스파티딜콜린	14:0/14:0	24
DPPC	디팔미토일포스파티딜콜린	16:0/16:0	41
DSPC	디스테아로일포스파티딜콜린	18:0/18:0	55
HSPC	수소화된 대두 포스파티딜콜린	~89% 18:0/18:0; 11% 16:0/16:0	53.6
DOPC	디올레일포스파티딜콜린	18:1/18:1	-19
DLPC	디리놀레오일포스파티딜콜린	18:2/18:2	-57
DSPG	디스테아로일포스파티딜글리세롤	18:0/18:0	55
DSPS	디스테아로일포스파티딜세린	18:0/18:0	68
DSPE	디스테아로일포스파티딜에탄올아민	18:0/18:0	74

[0243]

[0244] 포스파티딜콜린의 경우 아실 사슬의 길이가 12에서 18로 증가하면 수화된 T_m 은 -2에서 55 $^{\circ}\text{C}$ 로 증가한다. 아실 사슬로의 불포화의 도입은 T_m 을 0 $^{\circ}\text{C}$ 미만의 값으로 극적으로 감소시킨다. 헤드그룹의 특성의 변화가 또한 T_m 의 차이를 발생시키며, 포스파티딜에탄올아민(PE) > 포스파티딜세린(PS) > 포스파티딜글리세롤(PG) ~ 포스파티딜콜

린(PC)의 T_m을 갖는다. HSPC 및 DSPG에 대한 수화된 T_m 값은 각각 53.6 및 55℃이다.

- [0245] 세포막은 본질적으로 다양한 종의 지질 및 단백질을 포함하는 다성분 시스템이다. 세포막의 물리적 특성 및 생물학적 기능은 인지질 이중층 내의 지질의 배열 및 분포와 밀접하게 연관되어 있다. 실제로, 지질은 이들의 구성에 따라 이중층 내에서 상이한 도메인으로 상 분리될 수 있다. Chol은 세포막에 풍부하여, 구조적 완전성을 유지하고 막 유동성을 조절하는데 중요한 역할을 한다.
- [0246] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 Chol을 포함한다. Chol은 제형화된 약물 제품의 안전성 및 이온 채널 활성화에 기여할 수 있다. 포화된 PL에 Chol의 첨가는 세포막 및 분무-건조된 입자 둘 모두에서 PL 상 거동에 상당한 영향을 미칠 수 있다.
- [0247] 도 1은 수화된 DPPC-Chol 혼합물의 상 다이어그램을 제시한다(Ipsen JH, Karlstrom G, Mouritsen OG, et al. *Phase equilibria in the phosphatidylcholine-cholesterol system. Biochim Biophys Acta. 1987; 905: 162-172*).
- [0248] 도 1에 도시된 바와 같이, Chol의 첨가는 정렬된 액체 상(l_o)으로 지칭되는 새로운 상을 형성시킨다. Chol을 약 6 mol% 미만으로 so에 혼합하면 DSC 써모그램에서 T_m 상 전이가 확대되고 아실 사슬 패키징의 무질서가 증가한다. 대조적으로, T_m 초과에서 정렬되지 않은 l_d 상에 존재하는 인지질 아실 사슬은 Chol이 첨가됨에 따라 질서가 증가하였다. 약 6 내지 20 mol%의 Chol 농도에서, 2개의 상이 공존한다. T_m 초과에서, 정렬되지 않은 액체 상과 정렬된 액체 상이 공존한다(l_d-l_o). T_m 미만에서, 고체 정렬된 상은 정렬된 액체 상과 공존한다(so-l_o). 높은 Chol 농도(20-25 mol%)에서, 협력적 T_m 상 전이는 손실되고, l_o 상만이 존재한다. HSPC(더 긴 아실 사슬)의 경우, 도 1의 세로 좌표의 온도가 약 13℃만큼 위쪽으로 이동한 유사한 다이어그램이 예상된다.
- [0249] 상기 기재된 완전히 수화된 PL과 대조적으로, 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물은 부분적으로 탈수된 PL을 포함한다. 이온 채널 보호물로서 제안된 용도를 위해, 본원에 기재된 조성물 중 지질은 분무 건조되어 낮은 물 함량을 갖는 흡입 가능한 건조 분말을 형성할 수 있다.
- [0250] 물의 부재 하에, 인지질 헤드그룹 사이의 간격은 감소하여, 지질 아실 사슬 사이의 반 데르 발스 상호작용을 증가시키고 T_m을 증가시킨다. 예를 들어, DPPC의 T_m 값은 동결건조시 약 41℃(완전히 수화된)에서 105℃로 증가한다(Ohtake S, Schebor C, Palacek SP, de Pablo JJ: *Phase behavior of freeze-dried phospholipid-cholesterol mixtures stabilized with trehalose. Biochim Biophys Acta. 2005, 1713: 57-64*).
- [0251] 분무-건조된 DSPC 분말의 경우, T_m은 75% RH에서 55℃(완전히 수화된)에서 71℃로, 11% RH에서 85℃로, < 3% RH에서 102℃로 증가한다(Pikal-Cleland KA, Zhang J, Lechuga-Ballesteros D, Tarara TE, Weers JG: *The impact of Ca²⁺ binding on the packing structure of dry phospholipids. Presented at CRS Annual Meeting, Seoul, Korea, 2002*).
- [0252] PL(예를 들어, TOBI® Podhaler™, Bevespi® Aerosphere, Breztri® Aerosphere, 및 Inbrija®)을 포함하는 현재 시판되는 분무-건조된 조성물의 경우, 목표는 입자 형성 중, 수집기에서 분무 건조 중, 및 생성물의 저장 수명 동안 저장시 PL을 so 상으로 유지하는 것이었다. 결과적으로, 이러한 생성물은 주요 웰-형성 부형체로서 DPPC 및 DSPC와 같은 장쇄 포화 포스파티딜콜린을 이용한다.
- [0253] 수성 공급원료의 분무 건조 동안, 분무된 액적의 증발 냉각은 액적 온도를 실온 바로 위, 및 PL의 수화된 T_m보다 훨씬 낮게 유지한다(41 내지 55℃). 이는 분무 건조기의 입구 온도가 T_m을 초과하는 경우에도 마찬가지이다. 입자 형성 후, 분무 건조기에서 출구 온도 및 수집기 재킷 온도는 탈수된 상태에서 T_m 미만으로 유지된다. 따라서, 아실 사슬은 제조 공정 전반에 걸쳐 및 저장시 so 상으로 유지된다.
- [0254] DPPC 또는 DSPC를 포함하는 액체 공급원료의 경우, so 상의 분무 건조는 입자의 표면 조성, 표면 형태, 크기, 밀도, 다공도가 모두 효과적으로 제어될 수 있는 별개의 분무-건조된 입자의 형성을 가능하게 한다. 또한, 장쇄 포화된 PL은 내인성 폐 계면활성제에서의 이들의 존재 및 폐로부터의 자연적이고 빠른 제거 경로로 인해 폐에서 생체적합성인 것으로 여겨진다.
- [0255] 대조적으로, T_m 값 < 0℃인 불포화 PL의 수성 공급원료를 분무 건조시키는 것은 상당한 과제이다. 분무 건조 동안 물의 증발은 T_m보다 상당히 높은 출구 온도를 필요로 할 수 있다. 이러한 시나리오에서, PL 아실 사슬은 입자 형성 동안 l_d 상으로 존재하고, 따라서 건조 공정은 융합된 입자의 큰 응집체를 초래할 수 있다. 이는 낮은 제조 수율 및 건조 분말 에어로졸로서 흡입에 적합하지 않은 공기역학적 입자 크기 분포를 초래할 수 있다.

- [0256] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 더 긴 아실 사슬(예를 들어, 16:0/16:0 또는 18:0/18:0)을 갖는 포화 인지질을 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 DPPC, DSPC, HSPC, DSPG, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0257] 칼슘 이온은 인지질에서 포스페이트 기에 결합하여, 물 분자를 대체하고, PL 분자 사이에 패킹을 응축시킬 수 있다. 분무-건조된 DSPC 분말의 경우, Ca 이온의 첨가는, 특히 전형적으로 모세관력의 상당한 증가를 초래하는 RH 값(예를 들어, 75% RH)에서 탈수된 분말의 환경적 견고성(T, RH)을 개선시킬 수 있다. 일부 구체예에서, PL/Ca의 비율은 4.0 mol/mol 미만, 3.0 mol/mol 미만, 또는 약 2.0 mol/mol이다(US 8,709,484; US 7,442,388; 참조로 포함됨). 일부 구체예에서, PL/Ca 비율을 화학량론적 2.0 mol/mol 비율 미만으로 감소시키는 것은 바람직하지 않을 수 있는데, 이는 이러한 비율 미만에서 과량의 칼슘 클로라이드가 분말의 흡습성을 증가시킬 수 있기 때문이다.
- [0258] Id 상이나 lo 상 모두에서 T_m 이상이 되면, 분무-건조된 분말은 '끈적끈적한' 점성 액체가 될 수 있다. 이러한 응집성 분말은 분말 유동성 및 에어로졸 성능에 부정적인 영향을 미치는 경향이 있다. 이러한 관찰은 이들의 유리 전이 온도 T_g 이상에서 고도로 정렬되지 않은 비정질 고체에 대해 발생하는 것과 유사할 수 있다. 상 분리된 so 및 lo 도메인을 갖는 분무-건조된 분말은 불량한 분말 특성을 갖는 경향이 있다. 따라서, 지질을 so 상으로 유지하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0259] 건조 분말 제형에서 PL의 상 거동에 대한 첨가된 Chol의 영향은 잘 이해되어 있지 않다. 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물의 시차 주사 열량측정법 써모그램은 lo 상이 약 0.05 w/w(≤ 9.4 mol% Chol) 미만의 Chol/PL 비율에서 so 상으로 완전히 용해되는 것을 시사한다(실시예 4). 따라서, 탈수된 상태에서 so 상은 수화된 DPPC-Chol 혼합물에서 관찰된 것보다 더 큰 백분율의 Chol을 용해시킬 수 있다(도 1). so 상의 유지는 $> 90^{\circ}\text{C}$ 인 T_m 값을 초래한다.
- [0260] AmBisome® 및 일부 폐 계면활성제 제조물에서 이용되는 2.3 mol/mol(약 7/3 mol/mol)의 HSPC/DSPG 비율로부터 9.0 w/w 이상의 HSPC/DSPG 비율로의 ABCI 분말에서 DSPG 함량의 감소는 또한 분무-건조된 AmB/Chol 분말의 물리화학적 및 에어로졸 특성을 개선시킬 수 있다(실시예 12).
- [0261] 일부 구체예에서, HSPC/DSPG 비율의 증가는 높은 상대 습도(RH)에서 본원에 기재된 조성물의 흡습성을 감소시킨다(실시예 5). DSPG는 소듐 염으로서 제공될 수 있는 음이온성 인지질이다. 칼슘 이온의 첨가는 소듐 이온을 대체할 수 있고, 이후 이는 칼슘 클로라이드로부터의 클로라이드 이온과 조합하여 분무-건조된 분말에서 흡습성 소듐 클로라이드 도메인을 형성할 수 있다. 높은 RH에서 NaCl은 흡습용해된다(즉, 공기로부터 수분을 흡수하여 이에 용해된다). 이는 높은 RH에서 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물의 점착성의 원인이 될 수 있다.
- [0262] 다른 PL은 ASL pH 및 허용되는 분말 및 에어로졸 특성의 개선을 제공할 수 있다. 이들의 유용성은 실시예 섹션에 기재된 특성화 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 스펅고미엘린, 포스파티딜세린(PS), 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 더 긴 포화된 아실 사슬(예를 들어, $n \geq 16$)을 갖는 인지질을 포함한다.
- [0263] **약물 제형 조성물**
- [0264] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 이들 자신의 결정질 도메인에서 지질 부형제로부터 상 분리된 약물 입자를 포함한다. 즉, AmB 및 Chol은 US 2019/0083517, US 2020/0352970의 경우에서와 같이 비정질 나노입자에서 복합체화되지 않는다. AmBisome®에서와 같이 AmB는 리포솜 내에 캡슐화되지 않는다(US 5,965,156).
- [0265] 본원에 기재된 조성물에서 Chol의 존재는 효능 및 안전성 관점 둘 모두에서 중요할 수 있다.
- [0266] 효능 관점에서, Chol의 존재는 낮은 및 높은 AmB 농도 둘 모두에서 이온 채널 활성을 보존할 수 있다.
- [0267] 메커니즘이 명확하게 이해되지는 않았지만, 이온 채널 활성은 Chol의 부재 하에 더 높은 AmB 농도에서 감소하는 경향이 있다(실시예 10). 이러한 경향은 순수한 AmB 및 Chol을 함유하지 않는 ABIP 둘 모두에 대해 관찰되었다.
- [0268] US 2019/0083517에서, Burke 등은 CF 폐 상피에서 기도 표면 생리학을 회복하기 위한 AmB와 Chol의 조성물을 개시하였고, 여기서 Chol/AmB의 몰 비율은 2.6 내지 50 mol/mol 범위인 것으로 주장되었다. US 2020/0352970에서, Burke 등은 CF를 소분자 바이카르보네이트 채널로 치료하는 방법을 개시하였다. 이 경우, Chol/AmB 비율은 1.0 내지 12.0 mol/mol이었다. 본 개시에서, 놀랍게도 이온 채널 활성은 1.0 mol/mol보다 현저히 낮은 Chol/AmB 비율에서 유지된다는 것이 발견되었다(실시예 10). 일부 구체예에서, Chol/AmB 비율의 공칭

비율은 0.4 내지 1.2 mol/mol이다. 일부 구체예에서, 분무-건조 공정에서 약물 물질의 농축으로 인해, 최종 분무-건조된 분말에서 Chol/AmB 비율의 실제 범위는 약 0.33 내지 약 1.0 mol/mol이다. 특정 구체예에서, AmB:Chol 복합체로 달성된 것과 비슷한 ASL pH의 유의한 개선(즉, > 0.1 pH 단위)은 0.05 mol/mol의 공칭 Chol/AmB 비율까지 유지된다.

[0269] PL을 포함하는 분무-건조된 분말에서 더 낮은 Chol/AmB 비율에서 이온 채널 활성을 유지하는 것은 분말 특성에 대한 이의 부정적인 영향으로 인해 Chol-풍부 I_o 상의 상 분리를 최소화할 수 있다.

[0270] US 2019/0083517 및 US 2020/0352970에 개시된 AmB:Chol 복합체는 CuFi-1 및 CuFi-4 상피에서 약 0.1 내지 0.2 pH 단위의 ASL pH의 개선을 달성한다. ASL pH는 약산성으로 유지된다(pH 약 6.90-6.95). CuFi-4 세포에서, CFTR 조절자 이바카프터는 ASL pH에서 AmB:Chol 복합체와 유사한 개선을 달성한다. 대조적으로, 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물로 관찰된 CuFi-1 세포에서 ASL pH의 개선은 약 0.4 내지 0.5 pH 단위이며, 즉, AmB:Chol 복합체 및 이바카프터로 관찰된 것보다 약 2배 내지 5배 더 크다. 일부 구체예에서, ASL pH는 AmB:Chol 복합체의 경우 약산성에서 본원에 기재된 조성물의 경우 약염기성(pH 약 7.2)으로 증가한다. 약염기성인 pH를 달성하면 숙주 방어에 관여하는 많은 양이온성 펩티드(예를 들어, 디펜신)의 활성을 개선할 수 있다.

[0271] 안전성 관점에서, 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물에서 Chol의 존재는 포유동물 세포막으로부터 막외 스테롤 스폰지 상으로의 스테롤의 추출을 방지하는 것으로 알려져 있다. 이는 AmB의 Chol-비함유 조성물에서 독성에 대한 일차 메커니즘인 것으로 입증되었다. 이러한 보호 효과는 1.0 mol/mol의 Chol/AmB 비율까지 유지되는 것으로 제안되었다(US 2019/0083517, US 2020/0352970). 놀랍게도 이러한 보호 효과는 0.4 mol/mol 이하의 Chol/AmB 비율까지 적혈구 막에 대해 유지되는 것으로 밝혀졌다(실시예 15).

[0272] 도 2는 다양한 AmB/지질 조성물의 조성을 상세히 설명하는 3원 상 다이어그램이다. 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 음영 삼각형으로 정의된다. 삼각형의 두 변은 Chol/AmB 몰 비율의 범위(예를 들어, 1.2 mol/mol 및 0.4 mol/mol)에 의해 정의된다. 삼각형의 세 번째 변은 I_o 상의 상 분리를 제거하는 Chol/PL의 비율(0.05 w/w)에 의해 정의된다. 상 다이어그램 및 다양한 조성은 실시예 1에서 더욱 상세히 논의된다.

[0273] 일부 구체예에서, CF를 갖는 환자에서 ASL pH의 회복을 위한 AmB의 공칭 일일 용량은 약 0.1 내지 약 10 mg, 또는 약 0.2 mg 내지 약 6 mg이다.

[0274] 일부 구체예에서, 분말의 공칭 용량 및 탭 밀도에 기반한 약물 부하량의 추정치는 실시예 16에 제시되어 있다. 특정 구체예에서, 약물 부하량은 약 0.1% 내지 약 50% w/w, 예를 들어, 약 0.5% 내지 약 20% w/w이다.

[0275] **물리화학적 특성**

[0276] 본원에 기재된 조성물의 물리화학적 특성은 공급원료 조성물(예를 들어, 고체 함량, PFOB 함량), 및 분무 건조기에서의 건조 조건에 의존할 수 있다. 하기에 기재된 범위는 실시예에 제시된 조성물의 배치에 대한 결과를 기반으로 한다.

[0277] 일부 구체예에서, 작은 다공성 입자는 용액-기반 액체 공급원료로부터 분무-건조된 조성물만큼 낮지는 않지만 비교적 낮은 밀도를 갖는다. 일부 구체예에서, 부어진 벌크 밀도는 약 0.04 내지 약 0.12 g/cm³이고, 탭 밀도는 약 0.08 내지 약 0.20 g/cm³이다.

[0278] 카르 지수는 벌크 분말의 유동 특성의 척도를 제공한다(표 3). 본원에 기재된 구체예에 따른 것들과 같은 5 μm 미만의 기하학적 크기를 갖는 미세 입자는 매우 불량한 분말 유동 특성을 가지며 고도로 응집성이다.

[0279] 표 3. 카르 지수와 벌크 분말 유동 특성 사이의 관계

카르 지수	분말 흐름의 설명
≤ 10	우수한 자유-유동성 분말
11-15	양호한 자유-유동성 분말
16-20	온당한 분말 흐름
21-25	통과 가능한 분말 흐름
26-31	응집성의 불량한 분말 흐름
32-37	매우 응집성의 매우 불량한 분말 흐름
>38	분말 흐름이 거의 없음

[0280]

[0281] 그럼에도 불구하고, 미세 응집성 분말을 드럼 충전제(예를 들어, Harro Hofliger의 기계)로 정확하고 정밀하게 충전하여 약 1.0 mg만큼 낮은 충전 질량에 대해 약 3% 미만의 상대 표준 편차를 달성하는 것이 가능하다.

[0282] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 분말은 약 20 내지 약 50, 예를 들어, 약 24 내지 약 30의 카르 지수를 갖는다. 더 낮은 카르 지수 값을 갖는 분말은 현저하게 개선된 분말 유동 특성, 크기 및 밀도 측정에서의 감소된 변동성, 및 증가된 생산 수율을 가질 수 있다. 분무-건조된 분말에서 10 도메인을 갖는 조성물은 약 40의 카르 지수를 가지며, 이는 수율을 낮추고 분말 취급(예를 들어, 충전 및 유동화)을 어렵게 하는 경향이 있다.

[0283] 특정 구체예에서, 관찰된 비교적 높은 카르 지수 값(불량한 응집성 흐름, 즉, 20-32의 카르 지수 값을 시사함)은 휴대용 건조 분말 흡입기의 개발에 중요한 유동 특성에 부정적인 영향을 미치지 않는다.

[0284] 입자 입자 크기 분포는 레이저 회절에 의해 결정될 수 있다(예를 들어, 하기의 특성화 방법 참조). 특정 구체예에서, 본원에 기재된 분말은 약 0.40 내지 약 1.2 μm 의 X_{10} , 약 1.5 내지 약 3.5 μm 의 X_{50} , 및 약 4.0 내지 약 8.0 μm 의 X_{90} 을 갖는다.

[0285] 물 함량은 전기량 칼 피셔 적정법에 의해 결정될 수 있다. 특정 구체예에서, 본원에 기재된 분말의 물 함량은 약 1.5% 내지 약 6% w/w이다.

[0286] 특정 구체예에서, 분말의 물리화학적 특성은 제조 공정 파라미터의 변화를 통해 기재된 범위에 걸쳐 조절될 수 있다.

[0287] 에어로졸 성능

[0288] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 기관지 기도를 표적으로 한다. 이와 관련하여, 폐 내의 크고 작은 기도에서의 침착을 최대화하면서, 입과 인후 및 폐포에서의 흉곽의 약물 침착을 최소화하는 것이 유리한 경향이 있다.

[0289] 시험관내 에어로졸 성능 메트릭의 맥락에서, 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물은 4 kPa 압력 강하 및 4 L 흡입 부피에서 휴대용 건조 분말 흡입기로부터 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 방출 용량을 갖는다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 FDA 초안 지침 "제량 용량 흡입기(MDI) 및 건조 분말 흡입기(DPI) 제품 - 품질 고려 사항(2018년 4월)"에 명시된 전달 용량 균일성(DDU) 규제 요건을 통과하도록 제형화되며, 평균 ED 값의 표준 편차는 6% 이하이다.

[0290] 특정 구체예에서, 4 kPa 압력 강하에서 4 L 흡입 부피로 작동하는 Next Generation Impactor(NGI)에서, 본원에 기재된 조성물의 질량 중간 공기역학적 직경(MMAD)은 약 1.5 내지 약 4.0 μm , 예를 들어, 약 2.0 내지 약 3.5 μm 이다.

[0291] NGI 내의 침착 패턴이 중요할 수 있다. 상기 상세히 설명된 원하는 국소 침착 패턴에 따르면, 단계 3, 4 및 5('기도 분획'으로 지칭됨)에서 침착을 최대화하면서, USP 인후 및 충격기 단계 1 및 2('거친 분획'으로 지칭됨), 및 여과를 위한 단계 6의 '초미세 분획'에서 침착을 최소화하는 것이 유리하다. 특정 구체예에서, 거친 분

획에서의 침착은 공칭 용량의 30% 미만, 20% 미만, 또는 10% w/w 미만이다. 일부 구체예에서, 초미세 분획에서의 침착은 공칭 용량의 16% 미만, 12% 미만, 또는 8% 미만이다. 특정 구체예에서, 기도 분획에서의 침착은 공칭 용량의 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 또는 적어도 70%이다.

[0292] 특정 구체예에서, 방출 용량의 백분율로 표현되는 $5\ \mu\text{m}$ 미만의 미세 입자 분획($\text{FPF}_{\leq 5\mu\text{m}}$)은 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 70%, 또는 적어도 90% w/w이다.

[0293] 특정 구체예에서, 1.0 내지 6.0 kPa의 압력 강하에서 Alberta Idealized Throat(AIT) 모델의 총 폐 용량(TLD)의 유량 의존성은 40% 미만 또는 15% 미만이다.

[0294] 특정 구체예에서, 표적 증진 질량은 약 5 내지 약 40 mg, 예를 들어, 약 10 내지 약 20 mg이다. 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 휴대용 캡슐-기반 건조 분말 흡입기(DPI)로 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, DPI는 약 $0.30\ \text{cm}^3$ (크기 3 캡슐) 내지 약 $0.37\ \text{cm}^3$ (크기 2 캡슐)의 부피를 갖는 리셉터클을 갖는다.

[0295] 특정 구체예에서, DPI는 RS01 DPI의 변형이다(Plastiape, Osnago, Italy). RS01의 변형은 이들이 수용하는 캡슐의 크기(크기 3에서 크기 0) 및 기류에 대한 저항($R = 0.06$ 에서 $0.16\ \text{cm H}_2\text{O}^{0.5}\ \text{L}^{-1}\ \text{min}$)에 있어 상이하다. 일부 구체예에서, DPI는 중간 내지 높은 저항이다(예를 들어, R 은 약 0.10 내지 약 $0.30\ \text{cm H}_2\text{O}^{0.5}\ \text{L}^{-1}\ \text{min}$ 이다). 특정 구체예에서, DPI는 약 $0.14\ \text{cm H}_2\text{O}^{0.5}\ \text{L}^{-1}\ \text{min}$ 의 저항을 갖는 RS01 DPI의 변형이다. 특정 구체예에서, 중간 내지 높은 저항 DPI는 흉곽의 침착을 제한하면서 흡입 후 기침에 대한 가능성도 제한한다.

[0296] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 Handihaler(Boehringer Ingelheim), RS00(Plastiape) 또는 Aerolizer®(Novartis)(미국 특허 3,991,761; 참조로 포함됨), Breezhaler®(US 2007/0295332; 참조로 포함됨)(Novartis)로 투여된다. 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 미국 특허 8,069,851 및 7,559,325(둘 모두 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 T-326(Podhaler™)(Novartis)과 같은 Turbospin(PH&T) 또는 이의 변형, 또는 AIR 흡입기(Acorda Therapeutics)로 투여된다.

[0297] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 조성물은 단일-사용 일회용 흡입기로 투여된다. 일부 구체예에서, 단일-사용 일회용 흡입기는 TwinCaps(Hovione), Dose1®(Micro Engineering Solutions), ICOne™(Iconovo), 또는 Cyclops®(Pure IMS)이다.

[0298] 일부 구체예에서, 본 개시의 건조 분말 조성물은 코에서 ASL pH를 증가시키고 비강 전위차를 증가시키기 위해 비강내 투여된다. 고려되는 장치는 Aptar의 Unidose 시스템을 포함한다.

[0299] 제조

[0300] 콜레스테롤과 인지질의 혼합물은 유기 용매에 용해시킴으로써 제조될 수 있다. 특정 구체예에서, HSPC/DSPG/Chol을 54/24/22 w/w/w 비로 포함하는 지질 혼합물이 제조된다. 원하는 조성에 따라, 지질 혼합물은 추가의 PL 및 칼슘 클로라이드로 보충될 수 있다.

[0301] 일부 구체예에서, 본원에 기재된 조성물을 제조하는 방법은 지질 혼합물을 물에 분산시켜 다중층 리포솜을 형성하는 것을 포함한다. 특정 구체예에서, 이 단계는 지질의 수화된 T_m 보다 높은 온도에서 뜨거운 물에 지질을 첨가하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 물의 온도는 65°C 내지 90°C 이다. 일부 구체예에서, 분산은 UltraTurrax® T-50과 같은 고전단 혼합기로 달성된다.

[0302] 일부 구체예에서, 상기 방법은 혼합하는 동안 플루오르화(FC) 발포제(예를 들어, 퍼플루오로옥틸 브로마이드(PFOB, Perflubron), 퍼플루오로옥틸 에탄(PFOE), 또는 퍼플루오로데칼린(PFD))를 첨가하여 마이크론-크기의 에멀전 액적을 포함하는 거친 수중 FC(FC-in-water) 에멀전을 형성하는 것을 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 거친 에멀전은 고압 하에 MicroFluidizer®, 또는 피스톤-갭 균질화기(예를 들어, Avestin Emulsiflex®)로 균질화되어 서브마이크론 에멀전을 형성한다. 일부 구체예에서, 균질화 동안의 압력은 약 10,000 내지 약 20,000 psi이고, 균질화는 설정 기간(배치 크기에 따라 다름) 동안, 또는 특정 수의 개별 통과 동안 수행된다. 일부 구체예에서, 단일 개별 통과는 모든 액적이 균질화기를 통해 적어도 1회 통과하는 것을 보장하기 위해 설정된 기간 공정의 말미에 수행된다.

[0303] 일부 구체예에서, 상기 방법은 혼합 하에 서브마이크론 에멀전에 약물 물질을 첨가하는 것을 추가로 포함한다.

특정 구체예에서, 첨가는 원 포트 공정으로 수행된다. 일부 구체예에서, 생성된 에멀전 액적 및 현탁된 약물 입자의 복합 분산액은 고전단 혼합기로 혼합되거나 균질화기를 통과한다.

[0304] 일부 구체예에서, 에멀전 제조 및 약물의 습식-분쇄는 두 포트 공정의 별도의 탱크에서 수행된다. 특정 구체예에서, 이는 레이저 회절 또는 동적 광 산란에 의한 마이크론화된 약물 입자의 공정 중 크기 조절을 가능하게 한다. 일부 구체예에서, 이후 혼합하면서 2개의 포트를 하나로 합친다.

[0305] 특정 구체예에서, 에멀전 제조 및 습식-분쇄 단계는 균질화기를 통해 처리되는 액체의 양을 제한하기 위해 농축된 에멀전/현탁액으로 수행된다. 일부 구체예에서, 최종 단계에서 물이 첨가되어 최종 액체 공급원료에서 표적 고체 함량 및 PFOB 부피 분획을 달성한다.

[0306] 일부 구체예에서, 공급원료는 용매를 증발시키고 건조된 생성물을 사이클론 분리기 또는 백하우스로 운반하는 따뜻한 여과된 공기의 흐름에 분무된다. 특정 구체예에서, 사용된 공기는 이후 증발된 용매로 배출된다. 일부 구체예에서, 분무-건조기의 작동 조건, 예를 들어, 입구 및 출구 온도, 공급 속도, 분무 압력, 건조 공기의 유량 및 노즐 구성은 생성되는 건조 입자에 대한 원하는 입자 크기, 수분 함량, 및 생산 수율을 생성하도록 조정될 수 있다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 Niro PSD-1 규모 분무 건조기를 80℃ 내지 200℃의 입구 공기 온도, 40℃ 내지 120℃의 출구 공기 온도, 30 g/min 내지 120 g/min의 액체 공급 속도, 50 scfm 내지 230 scfm의 총 기류, 및 30 내지 90 scfm의 분무 기류를 갖도록 설정하는 것을 추가로 포함한다. 분무 건조 공급원료 중 고체 함량은 전형적으로 0.5% w/v 내지 10% w/v일 것이고, 발포제 농도는 전형적으로 3% 내지 30% v/v일 것이다. 일부 구체예에서, 원하는 설정은 적어도 부분적으로 사용되는 장비의 규모 및 유형에 의존한다.

[0307] 분무된 액적 중의 물이 증발함에 따라, 수성 분무된 액적의 직경은 줄어들고 천천히 확산되는 에멀전 액적 및 AmB 결정은 중공 액적 코어를 갖는 공기/물 계면에서 농축된다. 더 높은 비점의 오일 상이 증발할 때, 분무-건조된 입자에 기공이 남는다. 최종 입자 형태는 약물 입자가 매립된 다공성 지질 입자를 포함한다.

[0308] 특정 구체예에서, 출구 온도 및 수집기 재킷 온도(수집기에서 RH를 제어하기 위해 이용되는 경우)는 최저 지질 주요 전이 온도보다 낮아야 한다. Chol/PL 비율이 <0.05 w/w인 특정 구체예에서, 최저 지질 주요 전이 온도는 80℃ 초과여서, 70℃ 이상의 출구 및 수집기 재킷 온도를 제공한다. Chol/PL 비율의 감소 및 HSPC/DSPG 비율의 증가(실시예 9 및 12)는 Chol-풍부 상을 제거하여, 더 높은 출구 온도, 생산 속도의 증가, 및 분무-건조된 분말 중 잔류 용매의 감소를 제공할 수 있다.

[0309] 분무된 액적이 너무 빨리 건조되면, 미세 에멀전 액적의 이점이 손실될 수 있다. 따라서, 건조 속도를 제어하는 것이 유리할 수 있다.

[0310] 정의

[0311] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다" 및 "치료"는 (a) 질환 또는 질병이 발달할 위험이 있거나 발달할 수 있는 소인이 있지만 아직 발달한 것으로 진단되지 않은 대상체에서 질환 또는 질병이 발생하는 것을 예방하거나; (b) 질환 또는 질병을 억제, 예를 들어, 발달을 늦추거나 저지하거나; (c) 질환 또는 질병을 완화 또는 개선, 예를 들어, 질환 또는 질병의 퇴행을 유도하는 개입을 수행하는 것을 지칭한다. 일 구체예에서, 용어 "치료하다" 및 "치료"는 (a) 질환 또는 질병을 억제, 예를 들어, 발달을 늦추거나 저지하거나; (b) 질환 또는 질병을 완화 또는 개선, 예를 들어, 질환 또는 질병의 퇴행을 유도하는 개입을 수행하는 것을 지칭한다.

[0312] 본원에서 사용되는 "대상체" 또는 "환자"는 살아있는 포유동물을 지칭한다. 다양한 구체예에서, 환자는 마우스, 래트, 햄스터, 기니피그, 토끼, 양, 염소, 고양이, 개, 돼지, 말, 소, 또는 비인간 영장류를 비제한적으로 포함하는 비인간 포유동물이다. 특정 구체예에서, 환자는 인간이다.

[0313] 본원에서 사용되는 "유효량"은 원하는 생물학적 효과를 달성하기에 충분한 임의의 양을 지칭한다.

[0314] 본원에서 사용되는 "치료적 유효량"은 원하는 치료적 효과, 예를 들어, CF의 치료를 달성하기에 충분한 임의의 양을 지칭한다.

[0315] 본원에서 사용되는 "활성 성분", "치료적 활성 성분", "활성제", "약물" 또는 "약물 물질"은 활성 약학적 성분(API)으로도 공지된 약제의 활성 성분을 의미한다.

[0316] 본원에서 사용되는 "비정질"은 물질이 분자 수준에서 장거리 규칙성이 부족하고, 온도에 따라 고체 또는 액체의 물리적 특성을 나타낼 수 있는 상태를 지칭한다. 전형적으로, 이러한 물질은 독특한 X-선 회절 패턴을 제공하지 않으며, 고체의 특성을 나타내지만 더 공식적으로는 액체로 기재된다. 가열시, 고체에서 액체-유사 특성으로의

변화는 전형적으로 2차 상 전이로 정의되는 "유리 전이"에서 일어난다.

- [0317] 본원에서 사용되는 "결정질"은 물질이 분자 수준에서 규칙적으로 정렬된 내부 구조를 갖고 정의된 피크를 갖는 독특한 X-선 회절 패턴을 제공하는 고체상을 지칭한다. 이러한 물질은 충분히 가열되는 경우 또한 액체의 특성을 나타내지만, 고체로부터 액체로의 변화는 상 변화, 전형적으로 1차 상 전이("융점")를 특징으로 한다. 본 개시의 맥락에서, 결정질 활성 성분은 75% 초과와 결정도를 갖는 활성 성분을 의미한다. 특정 구체예에서, 결정도는 적합하게는 90% 초과이다. 다른 구체예에서, 결정도는 95% 초과이다. 다른 구체예에서, 결정도는 10% 미만, 또는 5% 미만이다.
- [0318] 본원에서 사용되는 "약물 부하량"은 조성물의 총 질량에서 질량 기준으로 활성 성분(들)의 백분율을 지칭한다.
- [0319] 본원에서 사용되는 "질량 중간 직경" 또는 "MMD" 또는 " X_{50} "은 전형적으로 다분산 입자 집단에서, 즉, 다양한 입자 크기로 구성된 집단에서 복수의 입자의 중간 직경을 의미한다. 본원에 보고된 X_{50} 값은 문맥상 달리 지시되지 않는 한 레이저 회절(Sympatec Helos, Clausthal-Zellerfeld, Germany)에 의해 결정된다.
- [0320] 본원에서 사용되는 "탭 밀도" 또는 ρ_{tapped} 은 분말의 USP <616> 벌크 밀도 및 탭 밀도에 기재된 바와 같이 방법 I과 유사한 방식으로 측정되었다. 탭 밀도는 실제 입자 밀도보다 약 20% 작은 측정값으로, 부어진 벌크 밀도보다 입자 밀도에 더 가까운 근사치를 나타낸다.
- [0321] 본원에서 사용되는 "질량 중간 공기역학적 직경" 또는 "MMAD"는 전형적으로 다분산 집단에서 복수의 입자의 중간 공기역학적 크기를 지칭한다. "공기역학적 직경"은 일반적으로 공기 중에서 분말과 동일한 침강 속도를 갖는 단위 밀도 구체의 직경이며, 따라서 이는 에어로졸화된 분말 또는 다른 분산된 입자 또는 입자 조성물을 이의 침강 거동과 관련하여 특성화하는데 유용한 방법이다. 공기역학적 입자 크기 분포(PSD) 및 MMAD는 NEXT GENERATION IMPACTOR™(Copley Scientific)를 사용하여 캐스케이드 충격에 의해 본원에서 결정된다. 일반적으로, 입자가 공기역학적으로 너무 크면, 폐의 특정 영역에 도달하는 입자는 더 적을 것이다. 입자가 너무 작으면, 더 큰 비율의 입자가 호기될 수 있다. 대조적으로, d_g 는 단일 입자의 공기역학적 직경을 나타낸다.
- [0322] 본원에서 사용되는 "공칭 용량" 또는 "ND"는 비저장소 기반 건조 분말 흡입기에서 리셉터클(예를 들어, 캡슐 또는 블리스터)에 부하된 약물의 질량을 지칭한다. ND는 때때로 계량 용량으로도 지칭된다.
- [0323] 본원에서 사용되는 "방출 용량" 또는 "ED"는 분말 유닛으로부터의 작동 또는 분산 이벤트 후 흡입기 장치로부터 건조 분말이 전달되는 지표를 지칭한다. ED는 공칭 또는 계량 용량에 대한 흡입기 장치에 의해 전달되는 용량의 비율로 정의된다. ED는 실험적으로 결정되는 파라미터이며, 환자 투여를 모방하는 시험관내 장치 설정을 사용하여 결정될 수 있다. ED는 때때로 전달 용량(DD)으로도 지칭된다.
- [0324] 본원에서 사용되는 "미세 입자 분획"(FPF)은 $5\ \mu\text{m}$ 미만의 공기역학적 크기를 갖는 방출 용량 중의 활성 성분의 백분율을 지칭한다. 공기역학적 입자 크기 분포(PSD)는 NEXT GENERATION IMPACTOR™를 사용하여 캐스케이드 충격에 의해 본원에서 결정된다.
- [0325] 본원에서 사용되는 "고체 함량"은 분무-건조된 액체 용액 또는 분산액에 용해되거나 분산된 활성 성분(들) 및 부형제의 농도를 지칭한다.
- [0326] 본원에서 사용되는 "대상체의 기도"는 다음 폐 구조: 기관, 기관지, 및 세기관지 중 임의의 것 또는 전부를 지칭한다.
- [0327] 용어 "약"은 본원에 기재된 수치 값의 $\pm 0.1\%$, 0.5% , 1% , 2% , 3% , 4% , 5% , 6% , 7% , 8% , 9% , 또는 10% 의 변화를 포함하여, 호흡 가능한 조성물 분야의 당업자가 전형적으로 접하는 수치 값의 변화를 지칭한다.
- [0328] 본 명세서 전반에 걸쳐 및 하기 청구범위에서, 문맥상 달리 요구하지 않는 한, 단어 "포함하다" 또는 "포함한다" 또는 "포함하는"과 같은 변형은 언급된 정수 또는 단계 또는 정수나 단계의 그룹을 포함하나 임의의 다른 정수 또는 단계 또는 정수나 단계의 그룹을 배제하지 않는 것을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0329] 달리 언급되거나 문맥으로부터 명백하지 않는 한, 수치 범위는 종말점 및 그 사이의 임의의 값 둘 모두를 포함한다.
- [0330] 실시예
- [0331] 본 개시의 다양한 양태 및 구체예는 하기 실시예를 참조하여 추가로 명확해질 것이다. 실시예는 본질적으로 예

시적인 것이며, 본 개시의 주제를 제한하는 것으로 이해되어서는 안된다.

[0332] **특성화 방법**

[0333] **암포테리신 B(AmB) 함량 및 순도.** 제형화된 벌크 분말 또는 공기역학적 입자 크기 분포(APSD) 샘플에서 AmB 함량 및 순도는 383 nm에서 검출되는 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 결정되었다. 샘플을 Agilent 1260 Infinity II HPLC 시스템(Wilmington, DE, USA)으로 분석하였다. 분리는 구배 방법을 사용하여 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0 x 150 mm, (2.7 μm) 컬럼으로 달성되었다(용매 A = 10 mM 아세테이트 완충제, pH 4.2; 용매 B = 아세토니트릴/메탄올, 1.0 v/v). AmB는 USP 인증된 참조 표준을 사용하여 단일-포인트 보정을 사용하여 정량화되었다.

[0334] **콜레스테롤 함량.** 콜레스테롤 함량은 210 nm에서 검출되는 RP-HPLC에 의해 결정되었다. 샘플을 Agilent 1260 Infinity II HPLC 시스템(Wilmington, DE, USA)으로 분석하였다. 분리는 등용매 방법(아세토니트릴/이소프로판올, 1.0 v/v)을 사용하여 Haisil Clipeus™ C18 컬럼(5 μm)으로 달성되었다. 콜레스테롤은 Cholesterol HP, Ph. Eur/USP-NF 원료(Carbogen Amcis, Beuvry-la-Forêt, France)를 사용하여 단일-포인트 보정을 사용하여 정량화되었다.

[0335] **입자 입자 크기 분포.** 입자 입자 크기 분포는 레이저 회절(Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld, Germany)을 통해 결정되었다. Sympatec H3296 유닛에는 R2 렌즈, ASPIROS 마이크로 투여 유닛, 및 RODOS/M 건조 분말-분산 유닛이 장착되었다. 약 2 mg 내지 5 mg의 분말을 ASPIROS 튜브에 채우고 4 bar 분산 압력 및 65 mbar 진공으로 작동되는 RODOS에 5 mm/s로 공급하였다. 분말을 약 1% 내지 5%의 광학 농도로 도입하고, 최대 15초의 측정 기간에 걸쳐 데이터를 수집하였다. 입자 크기 분포는 Fraunhofer 모델을 사용하여 기기 소프트웨어에 의해 계산되었다. 보고된 값은 각 수집기에 대한 3회의 독립적인 측정의 평균을 나타낸다.

[0336] **탭 밀도.** 탭 밀도(ρ_{tapped})는 알려진 부피(0.593 cm^3)의 원통형 공동을 사용하여 결정되었다. 미세주걱을 사용하여 분말을 이 샘플 홀더에 채웠다. 이어서, 샘플 셀을 조리대 위에 부드럽게 탭핑하였다. 샘플 부피가 감소함에 따라, 더 많은 분말을 셀에 첨가하였다. 공동이 채워질 때까지 탭핑하고 분말을 첨가하는 단계를 반복하였고, 분말 베드는 추가 탭핑으로 더 이상 굳지 않았다. 탭 밀도는 이러한 탭핑된 분말 베드의 질량을 공동의 부피로 나눈 값으로 정의된다.

[0337] **벌크 밀도.** 벌크 밀도(ρ_{bulk})는 탭핑 없이 샘플 홀더에 필요한 부피까지 부하된 분말의 질량을 나타낸다.

[0338] **카르 지수.** 카르 지수는 분말 압축성의 지표를 제공한다. 이것은 다음과 같이 주어진다:

$$C = \frac{\rho_{\text{tapped}} - \rho_{\text{bulk}}}{\rho_{\text{tapped}}} \times 100$$

[0339]

[0340] 카르 지수가 증가함에 따라, 분말의 유동성은 감소하는 것으로 생각된다. <10%의 값은 우수한 자유-유동 분말을 나타내고, 11-15%의 값은 양호한 자유-유동 분말과 관련이 있고, 16-20%는 온당한 분말 흐름, 21-25%는 통과 가능한 분말 흐름, 26-31%는 불량한 응집성 흐름, 32-37%는 매우 불량한 흐름, 그리고 $\geq 38\%$ 는 흐름이 거의 없음을 나타낸다.

[0341] **물 함량.** 프릿리스 캐소드 및 기화기 모델 VA-300을 갖는 Nittoseiko Analytech 수분 측정기 CA-310을 사용하여 칼 피셔 적정법에 의해 물 함량을 결정하였다.

[0342] **동적 증기 흡착.** 25°C에서의 수분 흡착 등온선은 Surface Measurement Systems, UK에 의해 제조된 동적 증기 흡착(DVS) 기기를 사용하여 측정되었다. 이 기기는 물질에 의한 수증기의 흡수 및 손실을 중량 측정에 의해 측정한다. DVS 시스템에는 $\pm 0.1 \mu\text{g}$ 의 분해능 및 약 $\pm 1 \mu\text{g}$ 의 일일 드리프트를 갖는 기록용 마이크로저울이 장착되어 있다. 실험 실행의 첫 번째 단계에서, 샘플을 25°C 및 0% RH에서 24시간 동안 건조시켜 샘플의 일정한 질량을 얻었다. 이어서, 기기를 0 내지 2% RH에서 5% RH로 프로그래밍한 다음, RH를 5% RH에서 90% RH로 단계적으로 증가시키고 90%에서 0% RH로 5%RH씩 단계적으로 감소시켰다. 시스템이 다음 RH 단계로 자동 진행하기 전에 각 RH 단계에서 $\text{dm/dt} = 0.005\%/ \text{min}$ 의 평형 기준을 달성하도록 선택하였다. 10 내지 15 mg의 샘플 질량이 이 연구에서 사용되었다.

[0343] **시차 주사 열량계.** 주어진 샘플의 DSC 써모그램을 Refrigerated Cooling System(New Castle, Delaware)이 장착

된 TA Instruments Model Q2000 시차 주사 열량계를 사용하여 측정하였다. 샘플 셀을 $50 \text{ cm}^3/\text{min}$ 의 유량으로 건조 질소로 퍼징하였다; Refrigerated Control System(RCS)은 $110 \text{ cm}^3/\text{min}$ 의 유량으로 질소를 사용하였다. 약 5 내지 10 mg의 분말을 함유하는 Tzero 알루미늄 팬을 샘플 캡슐화 프레스를 사용하여 밀폐 밀봉하였다. 샘플을 -40°C 에서 평형화시킨 다음, $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 으로 200°C 까지 가열하였다.

[0344] 공기역학적 입자 크기 분포. 공기역학적 입자 크기 분포(APSD)는 RS01 건조 분말 흡입기(Mod. 7 Ultra High Resistance 2 Model), USP 유도 포트(IP), 및 Next Generation Impactor™ 또는 NGI™을 사용하여 결정되었고 USP <601> 및 Ph. Eur. 2.9.18을 준수한다. 흡입기를 통해 4 kPa의 압력 강하 및 4 L의 총 부피로 작동하도록 유량 제어 장치를 조정하였다. 사용된 RS01 DPI 변형은 $0.143 \text{ cm H}_2\text{O}^{0.5} \text{ L}^{-1} \text{ min}$ ($0.045 \text{ kPa}^{0.5} \text{ L}^{-1} \text{ min}$)의 저항을 갖는다. 이는 4 kPa 압력 강하에서 44.2 L min^{-1} 의 유량에 상응한다. 약 10 mg을 크기 #3 흡입 등급 HPLC 캡슐(VCaps, Qualicaps)에 손으로 채웠다. 흡입기로부터 방출된 에어로졸 분말은 USP IP를 통해 끌어 당겨지고 NGI에서 크기가 결정된다. NGI의 각 단계, 빈 캡슐 및 장치를 메탄올을 포함하는 샘플 용해 용액으로 추출하였다. 검출 범위의 선형성 내에서 AmB 농도를 감소시키기 위해 추가 희석이 이루어졌다. 각 단계에서 AmB 질량은 상기 기재된 HPLC 방법을 사용하여 결정되었고, $5 \mu\text{m}$ 미만의 미세 입자 용량($\text{FPD}_{<5\mu\text{m}}$) 및 질량 중간 공기역학적 직경(MMAD)이 계산되었다.

[0345] 세포주 및 성장 조건. NuLi, CuFi-1, 및 CuFi-4 세포(Welsh Laboratory, University of Iowa)를 Thermo Scientific BioLite 세포 배양 처리된 75 cm^2 플라스크에서 저온원료로부터 성장시켰다. 이러한 플라스크를 37°C 에서 최소 1시간 동안 4 mL의 $60 \mu\text{g}/\text{mL}$ 인간 태반 콜라겐 타입 IV(Sigma-Aldrich)로 미리 코팅하고, PBS로 2회 세정한 다음, 시딩 전에 건조시켰다. 세포를 12 mL 기관지 상피 세포 성장 배지(BEGM) BulletKit(Lonza CC-3170)로 배양하였고, 이는 기본 배지 및 8개의 SingleQuots의 보충물(소 뇌하수체 추출물(BPE), 2 mL; 하이드로코르티손, 0.5 mL; hEGF, 0.5 mL; 아드레날린, 0.5 mL; 트랜스페린, 0.5 mL; 인슐린, 0.5 mL; 레티노산, 0.5 mL; 트리요오도티로닌, 0.5 mL)을 포함한다. 젠타마이신-AmB 분취량을 폐기하고, 대신 배지에 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 페니실린-스트렙토마이신(Corning Cellgro), $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 젠타마이신(Sigma-Aldrich G1397), 및 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 플루코나졸(Sigma-Aldrich)을 보충하였다. 원래의 CF 이식 공여자는 Integrated Genetics에 의해 유전형 분석되었다. 세포주는 정확한 유전형을 갖고 마이코플라스마 오염이 없는 것으로 ATCC 저장소에 의해 이차적으로 확인되었다. MycoAlert 마이코플라스마 검출 키트(Lonza LT07-418)를 사용하여 광범위한 마이코플라스마에 공통적인 임의의 RNA 전사체를 검출하였다. 세포주는 마이코플라스마가 없는 것으로 확인되었다. 세포를 매 2-3일마다 배지를 교체하면서 37°C 에서 5% CO_2 에서 >90% 컨플루언스까지 성장시킨 다음, 1 mM EDTA(Gibco 25200-056)를 함유하는 4 mL 0.25% 트립신으로 트립신 처리하였다. 트립신을 1% 우태아 혈청을 갖는 10 mL HEPES-완충 염수 용액(Lonza CC-5024)으로 불활성화시켰다. 세포를 Eppendorf Centrifuge 5430R에서 1,500 rpm으로 5분 동안 실온에서 회전시키고 계대를 위해 BEGM 배지에 재현탁시켰다. 분화를 위해 막 지지체 상에서 배양하기 위해, 세포를 Ultrosor G 배지에서 원심분리 후 재현탁시켰다. 이는 4% v/v Ultrosor G(Crescent Chemical) 뿐만 아니라 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 페니실린-스트렙토마이신(Corning Cellgro), $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 젠타마이신(Sigma-Aldrich G1397), 및 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 플루코나졸(Sigma-Aldrich)이 보충된 1:1 DMEM:Ham's F-12를 포함하였다. 사용된 막 지지체는 모든 연구에 대해 Corning Costar 0.4- μm 24-웰 플레이트 Transwell 투명 폴리에스테르 막 삽입물(0.33 cm^2)(Corning 3470)이었다. 이러한 막을 100 mL 콜라겐을 제외하고 상기 상세히 설명된 플라스크와 동일한 방식으로 콜라겐으로 코팅하고 PBS만으로 1회 세정하였다. 삽입물에 각각 115,000개의 세포를 시딩하였다. 이러한 막은 완전한 분화에 도달하기 위해 최소 14일 동안 공기-액체 계면에서 성숙되도록 하였고, Ultrosor G 배지는 필요에 따라 주당 1회 이상 교체하였다. 성숙 후, 배지를 7일마다 교체하였다. 공변량 대조군의 경우, 실험에 사용된 막은 연령 및 성숙도가 가능한 한 비슷하였다.

[0346] 일차 배양된 기도 상피 세포의 경우, 폐 이식 또는 장기 기증을 받고 있는 CF를 갖는 개인으로부터 폐 조직을 수득하였다. 조직을 분리하고, 분리된 세포를 트랜스웰 필터에 직접 시딩하고, 공기-액체 계면에서 배양하였다. 배양물은 상피 세포가 기도의 전형적인 세포 유형으로 분화되고 세포의 전기적 특성이 절제된 조직을 반영하는 시딩 후 3주 이상이 지난 후에 사용되었다.

[0347] 기도 표면 액체 pH의 측정을 위한 형광 현미경 검정. 약 1 mM AmB의 최종 농도에 도달하도록 약 100 μL 의 퍼플루오로헥산, PFH(FC-72, Sigma-Aldrich)에 약 2 mg의 ABCI를 분산시킴으로써 ABCI의 새로운 현탁액을 각 실험을 위해 제조하였다. 메탄올에 용해시킨 후, 스톱 현탁액 중 AmB 농도를 흡광도 분광법에 의해 3회 측정하였다.

Beer의 법칙을 사용하여 406 nm에서의 흡광도($\epsilon_{406} = 164,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)로부터 농도를 계산하였다. 다음으로, 스톡 현탁액을 PFH로 희석하여 약 0.5 내지 50 μM 범위의 현탁액 AmB 농도를 달성하였다.

[0348] ASL pH의 측정을 위해 작은 직경의 NuLi 및 CuFi 세포를 사용하였다. 비울측정 pH 지시약인 SNARF-컨쥬게이션된 텍스트란(Molecular Probes)을 사용하여 ASL pH를 측정하였다. SNARF 분말을 PFH에서 초음파 처리를 통해 현탁시키고 세포의 정단 표면에 분포시켰다. ASL pH를 2시간 후에 측정하였다. SNARF를 514 nm에서 여기시키고, 40x 배율의 세포주 배양을 위한 물 침지 렌즈가 장착된 Zeiss LSM 800 현미경을 사용하여 580 nm 및 640 nm에서 방출을 기록하였다. PH 결정을 위한 표준 곡선을 생성하기 위해, SNARF를 무색 pH 표준에 용해시키고 형광 비율을 pH로 전환시켰다. 이 검정에서 시험된 분말을 적절한 부피의 PFH에 현탁시키고, 이를 1분 동안 초음파 처리하여 현탁을 도왔다. AmBisome을 PFH에서 볼텍싱함으로써 현탁시켰다. 후속하여, 20 μL 의 현탁액을 0.5 내지 50 μM 의 농도로 배양된 기도 상피의 표면($A = 0.33 \text{ cm}^2$)에 투여하였다. 모든 실험에서, 화합물-처리된 상피의 ASL pH를 측정하고 비히클-처리된 상피로부터의 결과와 비교하였다. 정단 화합물 투여를 위해, ASL pH를 측정하기 전에 배양된 기도 상피를 37°C에서 약 22시간 동안 인큐베이션하였다.

[0349] 적혈구 스톡 현탁액 제조. 1ml의 인간 전혈(Na-Heparin 제조물; BioIVT, Westbury, NY)을 실온에서 2분 동안 10,000 x g에서 원심분리하였다. 상청액을 제거하고, 펠렛을 1 ml의 0.9%(m/v) 식염수에 부드러운 반전으로 재현탁하였다(적혈구는 피펫팅과 볼텍싱으로 용해될 것이다). 생성된 현탁액을 2분 동안 10,000g에서 원심분리하였다. 이어서, 상청액을 제거하고, 식염수 세척을 2회 더 반복하였다. 최종 세척 후, 상청액을 제거하고, 적혈구 펠렛을 1 mL 재현탁 완충제(10 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 150 mM NaCl, 1 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, pH 7.4)에 재현탁시켜 적혈구 스톡 현탁액을 제조하였다.

[0350] 최소 용혈 농도 검정(MHC). 시험할 화합물을 DMSO(D6-99.9%; Cambridge Isotope Laboratories) 용액에서 희석 시리즈로 제조하였고, 각 농도는 25.63x 최종 농도였다. 화합물 희석 시리즈를 0.2 mL 미세원심분리 튜브에서 재현탁 완충제에서 총 100 μL 로 1:25 희석하고 볼텍싱하여 용액을 혼합하였다. 음성 대조군(0% 용해)은 재현탁 완충제에만 DMSO를 함유한 반면, 양성 대조군(100% 용해)은 삼투압으로 인해 적혈구가 완전히 용해되기 때문에 물에만 DMSO를 함유하였다. 2.52 μL 의 부피의 적혈구 현탁액을 각 튜브(대조군 포함)에 첨가하고, 각 튜브를 부드러운 반전으로 혼합하고, 37°C에서 2시간 동안 정적인 방식으로 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 각 샘플을 다시 부드러운 반전으로 혼합하고 3,214 x g에서 6분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후, 60 μL 의 상청액을 제거하고, 96-웰 플레이트에 첨가하고, 540 nm에서 흡광도를 판독하였다. 데이터를 음성 대조군으로 표준화하고 양성 대조군에 대한 총 용혈 %로 처리하였다.

[0351] 실시예 1: 지질-코팅된 AmB(ABCI-001, ABCI-002, ABCI-003, ABCI-004)의 조성물

[0352] 지질-코팅된 AmB의 4개 조성물(ABCI-001, ABCI-002, ABCI-003, ABCI-004)의 공칭 무수 조성은 표 4에 제시되어 있다. 또한 3개의 대조군이 제시된다: AmBisome®(즉, 리포솜 암포테리신 B, L-AmB); Burke 등에 의해 제조된 동결건조된 AmB/Chol 복합체(US 2019/0083517; US 2020/0352970); 및 침습성 폐 아스페르길루스증의 치료를 위해 Nektar Therapeutics에 의해 개발된 AmB의 건조 분말 조성물인 암포테리신 B 흡입 분말(ABIP)(US 7,326,691; US 8,404,217; US 2012/0128728).

[0353] 표 4. 이론적인 무수 흡입 AmB 조성물

조성물	AmB (%w/w)	Chol (%w/w)	HSPC (%w/w)	DSPG (%w/w)	CaCl ₂ (%w/w)	Chol/AmB (mol/mol)	HSPC/ DSPG (w/w)	Chol/PL (w/w)
ABCI-001	30.0	14.6	35.8	15.9	3.70	1.16	2.3	0.29
ABCI-002	14.0	6.81	51.2	22.8	5.20	1.16	2.3	0.09
ABCI-003	14.0	2.36	70.3	7.8	5.52	0.40	9.0	0.03
ABCI-004	3.4	0.57	80.72	8.97	6.34	0.40	9.0	0.006
AmBisome ^a (L-AMB)	3.8	3.9	16.1	6.3	---	2.45	2.6	0.18
AmB/Chol 복합체	32.3	67.7	---	---	---	5.00	---	---
ABIP	50.0	0.0	47.0 ^b	0.0	3.0	0.0	n.a.	0.0

[0354]

- [0355] ^a 지질 및 AmB 이외에, AmBisome은 67.8%의 수크로스, 2.0%의 디소듐 숙시네이트 6수화물, 및 0.2%의 토코페롤을 함유한다
- [0356] ^b ABIP는 HSPC 대신 합성 DSPC를 이용한다
- [0357] 표 4에 상세히 설명된 AmB/지질 조성물은 도 2의 슈도-3원 상 다이어그램에서 플롯팅되었다. 3원 다이어그램의 정점에 있는 PL 성분은 다양한 PL 성분(예를 들어, HSPC, DSPC, DSPG)의 질량의 합을 나타낸다.
- [0358] 상업적인 L-AMB는 ABCI 조성물과 동일한 지질 성분(즉, HSPC, DSPG, Chol)을 함유하지만, 이들은 상이한 비율로 존재한다. 또한, 약물 및 지질은 ABCI 조성물과 비교하여 L-AMB에서 상이하게 조직화된다. L-AMB에서 약물 물질은 작은 단층 소포(리포솜)에 캡슐화된다. 조성물은 2.5 mol/mol의 Chol/AmB 비율 및 2.3(즉, 7/3 w/w)의 HSPC/DSPG 비율을 갖는다. 지질 입자는 동결건조 동안 리포솜 완전성을 유지하기 위한 동결보호제로서 작용하는 다량의 수크로스의 존재 하에 건조 분말로 동결건조된다. 4마리의 CFTR^{-/-} 돼지에서 1 cm² 기관 창을 통해 기도 상피 세포의 정단 측에 60 mg의 재구성된 L-AMB를 투여한 결과 ASL pH가 pH 6.8에서 7.0으로 약 0.2 pH 단위만큼 증가하였다(US 2020/0352970).
- [0359] Burke 등에 의해 연구된 동결건조된 AmB:Chol 복합체(US 2019/0083517; US 2020/0352970)는 5.0 mol/mol의 훨씬 더 높은 Chol/AmB 비율을 갖지만, 첨가된 PL을 함유하지 않는다. AmB:Chol 복합체는 비용매(물)에 빠르게 주입될 때 디메틸설폭사이드/클로로포름 중 물질의 용액으로부터 플래시 나노침전에 의해 형성된다. 생성된 현탁액을 동결건조시켜 건조 분말을 형성시킨다. AmB:Chol 복합체는 CuFi-1 세포에서 바이카르보네이트 분비 및 ASL pH(약 0.1-0.2 pH 단위)의 유의한 증가를 입증하였다.
- [0360] ABIP는 2:1 몰비의 DSPC 대 칼슘 클로라이드로 코팅된 습식-분쇄된 AmB 결정을 포함하는 분무-건조된 조성물이다. 이 조성물은 콜레스테롤을 함유하지 않는다(즉, Chol/AmB = 0 mol/mol). 이는 또한 DSPG가 첨가되지 않은 포화 포스파티딜콜린(DSPC)만을 함유한다. ABIP는 낮은 용량(FC-70 중 2 μM)에서 CuFi-1 세포에서 ASL pH의 개선을 나타내지만, 고용량(50 μM)에서는 그렇지 않다(실시예 10 및 12). 이러한 결과는 순수한 AmB에 대한 이전 연구와 일치하며, 광범위한 AmB 농도에 걸쳐 이온 채널 활성을 유지하기 위해 일정량의 Chol이 필요하다는 것을 시사한다. 고 결정질 약물 물질을 포함하는 ABIP 조성물은 초기 임상 개발에서 양호한 내약성을 입증하였다.
- [0361] 비임상 독성 연구에 사용된 3개의 ABCI 조성물(ABCI-001, ABCI-002, 및 ABCI-003)에 대한 조성이 또한 제시된다. 이러한 분말은 0.4 내지 1.2 mol/mol의 Chol/AmB 비율을 갖는다. 이론으로 국한시키려는 것은 아니지만, L-AMB 및 AmB:Chol 복합체에서 사용되는 높은 Chol/AmB 비율은 PL을 포함하는 건조 분말 조성물에 부적합할 수 있는데, 이는 다량의 Chol의 존재가 PL 아실 사슬의 패키징을 무질서하게 만들어, 입자간 응집력 및 '점착성' 분말의 허용할 수 없는 증가를 초래할 수 있기 때문이다. ABCI-003 및 ABCI-004 둘 모두는 도 2의 음영 삼각형 내에 포함되는 반면, ABCI-001 및 ABCI-002는 그렇지 않다.
- [0362] 언급된 바와 같이, ABCI-001 및 ABCI-002는 도 2의 음영 삼각형 외부에 있으며, 이는 이들 조성물의 지질이 so + lo 2상 영역 내에 있기 때문이다. 대조적으로, ABCI-003 및 ABCI-004는 so 상 내에 있다. 현재까지 연구된 다른 흡입 AmB 조성물(즉, ABIP, L-AMB(AmBisome), 및 AmB:Chol 복합체)의 조성물은 도 2의 음영 삼각형 외부에 있다.
- [0363] ABCI-001(30% w/w AmB, Chol/AmB = 1.2 mol/mol)에 대한 DSC 써모그램은 상당한 비율의 Chol-풍부 lo 상을 함유한다(실시예 4). ABCI-002의 경우, Chol/AmB 몰 비율을 일정하게 유지하면서 약물 함량은 14% w/w로 감소하였고, 이는 0.29에서 0.09 w/w로의 Chol/PL 비율의 감소를 초래하였다. 그럼에도 불구하고, 작은 비율의 Chol-풍부 lo 상은 여전히 남아 있었다. 상-분리된 lo 상이 존재하는 건조 분말은 높은 상대 습도에서 강한 입자간 응집력 및 증가된 흡습성 및 흡습용해를 나타낼 수 있다(실시예 5). 이러한 특징은 분무 건조 동안 분말 수율에 부정적인 영향을 미칠 수 있고, 비교적 큰 질량 중간 공기역학적 직경(MMAD 약 4 μm)을 초래할 수 있다(실시예 9).
- [0364] ABCI-003은 ABCI-002의 14% w/w 약물 부하량을 유지하지만, 0.4 mol/mol의 감소된 공칭 Chol/AmB 비율을 갖는다. 전반적으로, Chol 함량은 ABCI-001의 14.6%에서 ABCI-003의 2.4%로 감소하고, Chol/PL 비율은 0.03 w/w로 감소한다. 이 Chol/PL 비율에서 lo 상은 so 상에 용해된다(실시예 4). ABCI-003에서, HSPC/DSPG 비율은 또한 2.3 w/w에서 9.0 w/w로 증가하여, PL 상에서 Chol의 용해도를 개선시키고, NaCl 형성을 감소시키고, 분말 흡습성을 감소시킨다(실시예 5).

- [0365] ABIP와 달리, 첨가된 Chol을 함유하는 모든 ABCI 조성물은 낮은 및 높은 AmB 농도 둘 모두에서 ASL pH의 유의한 개선을 나타낸다(실시예 10). 또한, DSPG의 존재는 관찰된 ASL pH 개선의 크기를 강화시키는 것으로 나타났다(실시예 12).
- [0366] Chol/AmB, Chol/PL, 및 HSPC/DSPG 비율에 관한 많은 제약은 흡입용 건조 분말 조성물의 개발에 특이적일 수 있고, 흡입 L-AMB와 같은 액체-기반 에어로졸에는 적용되지 않을 수 있다. 또한, 이들은 PL을 함유하지 않는 조성물에 직접 적용될 수 없다.
- [0367] **실시예 2: 분무 건조를 통한 ABCI-001의 제조**
- [0368] **공급원료 제조.** 지질 및 칼슘 클로라이드를 먼저 고전단 혼합기(UltraTurrax T-50)를 사용하여 뜨거운 물에 분산시켜 다층 소포(MLV)를 형성하였다. 수성상은 MLV 형성을 용이하게 하기 위해 지질의 주요 전이 온도(T_m) 이상이어야 한다($T > 65^\circ\text{C}$). MLV 분산액을 냉각시키고($T < 30^\circ\text{C}$), 퍼플루오로옥틸 브로마이드(PFOB)를 여과하고 혼합하면서 Watson-Marlow 연동 펌프를 사용하여 첨가하여 지질의 단층에 의해 안정화된 거친 수중 PFOB 에멀전 액적을 형성하였다. 에멀전 액적은 결정질 약물 입자 상에 지질의 다공성 코팅을 생성하기 위해 기공 형성제로서 작용한다. 이어서, 거친 에멀전을 고압 하에 Model M-100 미세유동화기를 사용하여 단일의 개별 통과로 균질화하여 나노에멀전 액적(직경 약 200-500 nm)을 형성하였다. 다음으로, 약물 물질을 고전단 혼합 하에 나노에멀전에 첨가하였다. 현탁된 약물 및 나노에멀전 액적을 포함하는 복합 분산액을 두 번의 추가 개별 통과 동안 균질화기를 통해 통과시켰다. 균질화 공정은 AmB 입자를 폐 전달에 적합한 크기로 습식 분쇄한다. 숫자 기준으로, 대부분의 습식-분쇄된 AmB 결정은 1000 nm 미만의 직경을 갖는다. 일 구체예에서, 최종 공급원료 조성물은 3.0% w/w의 고체 함량, 20% v/v의 PFOB 함량, 및 318 g(9 리터의 공급원료) 또는 424.2 g(12 리터의 공급원료)의 이론적인 배치 크기를 가졌다.
- [0369] **분무 건조에 의한 건조 분말의 생산.** 분무 건조는 Schlick 970/0 이중-유체 분무기(0.8 mm i.d.), DorrClone 사이클론, 및 직선 튜브와 Brewer 밸브를 포함하는 하단 기하학이 장착된 파일릿-규모 분무 건조기(Niro Mobile Minor, Copenhagen, Denmark)를 사용하여 수행되었다. Brewer 밸브 아래에 부착된 1 L Eagle 수집기를 재킷으로 덮어 50°C 에서 유지하였다.
- [0370] 액체 공급물을 Watson-Marlow 연동 펌프를 이용하여 분무 건조기로 펌핑하였다. 분무기를 7.0 ± 0.6 scfm의 가스 유량 및 $104 \pm 5^\circ\text{C}$ 의 입구 온도에서 작동시켰다. 액체 공급 속도는 $55 \pm 3^\circ\text{C}$ 의 건조기 출구 온도를 유지하도록 조정되었다. 총 가스 유량은 약 $140 \text{ N m}^3/\text{h}$ (약 85 scfm)이었다.
- [0371] 현탁액-기반 공급물에서, 각각의 분무된 액적(질량 중간 직경 약 $10 \mu\text{m}$)은 분산된 약물 결정 및 약 1000개의 서브-마이크론 에멀전 액적을 함유한다. 건조 공정의 초기 순간에는 보다 휘발성인 수성 상이 증발하기 시작한다. 빠르게 물러나는 분무된 액적 계면은 계면에서 천천히 확산되는 약물 및 에멀전 입자의 농축을 유도한다. 이는 건조 액적의 중심에 빈 공간을 형성한다. 건조 공정이 계속됨에 따라, 에멀전 액적에서 덜 휘발성인 오일 상이 증발하여, 그 자리에 중공 기공이 형성된다. 전반적으로, 생성된 중공 분무-건조된 복합 입자는 다공성 지질 매트릭스의 계면 층에 매립된 약물 결정을 함유한다.
- [0372] ABCI-002, ABCI-003, 및 ABCI-004는 액체 공급물의 조성이 상이했지만 동일한 일반적인 공정을 사용하여 제조되었다.
- [0373] **실시예 3: AmB의 습식-분쇄 및 ABCI-002의 특성에 대한 영향**
- [0374] AmB의 물리적 형태(결정질 vs. 비정질)는 이의 습식-분쇄 거동에 영향을 미칠 수 있다. 이 연구를 위해, 2개 배치의 AmB를 North China Pharmaceutical Group Corp.(Hebei, China)로부터 입수하였다. 2개 배치는 결정도가 상이하였고, 배치 '202 및 '203은 각각 77 및 96%의 결정도를 갖는다(정량적 XRPD에 의해 결정됨).
- [0375] 실제로, 배치 '202의 감소된 결정도는 습식-분쇄 공정에 부정적인 영향을 주어, Malvern Mastersizer를 사용한 레이저 회절에 의해 약물의 현탁액에 대해 결정시 습식-분쇄된 약물의 X_{50} 및 X_{90} 을 유의하게 증가시켰다(표 5).

표 5. 습식-분쇄 동안 일차 입자 크기 분포에 대한 AmB 결정도의 영향

AmB 배치	결정도	공정	일차 입자 크기	
			X ₅₀ (μm)	X ₉₀ (μm)
'202	77	1 회 통과(15 kpsi)	3.01	6.93
		3 회 통과(15,15,20 kpsi)	2.16	5.99
'203	96	1 회 통과(15 kpsi)	1.14	2.46
		3 회 통과(15,15,20 kpsi)	1.06	2.14

ABCI-002의 배치는 실시예 2에 기재된 공정을 사용하여 AmB 배치 '202(ABCI-002 배치 FP21060) 및 '203(ABCI-002 배치 FP21059)을 사용하여 Niro Mobile Minor에서 제조되었다. 액체 공급원료에서 총 고체 함량 및 %PFOB는 각각 2% w/w 및 10% v/v였다. 액체 공급 속도는 약 44.5 g/min이었다. 분무기를 11.5 ± 1.0 N m³/h(7.0 scfm)의 가스 유량 및 104 ± 5℃의 입구 온도에서 작동시켰다. 이는 약 44.5 g/min에 해당하였다. 총 가스 유량은 약 140 N m³/h(약 85 scfm)이었다. 표적 배치 크기는 40 g이었다.

2개 배치의 물리화학적 특성 및 에어로졸 성능은 표 6에 상세히 기재되어 있다. 분말 특성 및 에어로졸 성능에서 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 이는 결정도가 77%만큼 낮아도 ABCI-002 조성물을 제조하는데 적합하다는 것을 시사한다.

표 6. 상이한 결정도를 갖는 AmB 배치로부터 제조된 ABCI-002 배치의 물리화학적 특성 및 에어로졸 성능의 비교

배치	AmB 결정도(%)	수율(%)	Chol 검정(mg/g)	AmB 검정(mg/g)
FP21059	96	81	66	162
FP21060	77	80	66	152

배치	벌크 밀도(g/cm ³)	탭 밀도(g/cm ³)	카르 지수(%)	일차 입자 크기		
				X ₁₀ (μm)	X ₅₀ (μm)	X ₉₀ (μm)
FP21059	0.078	0.130	39.7	0.63 ± 0.02	2.61 ± 0.15	5.70 ± 0.27
FP21060	0.063	0.096	34.5	0.64 ± 0.03	2.60 ± 0.07	5.62 ± 0.06

배치	ED (%)	FPF _{<5μm} (% ND)	MMAD (μm)
FP21059	85	61	2.9
FP21060	89	63	3.1

실시예 4: AmB의 지질-코팅된 결정 조성물의 상 거동에 대한 지질의 영향

ABCI-001, ABCI-002, ABCI-003 및 ABIP에 대한 DSC 써모그램의 비교는 도 3에 제시되어 있다.

ABIP는 96.2℃의 외삽된 개시 온도를 갖는 단일의 급격하고 협동적인 T_m을 갖는 단순한 써모그램을 갖는다. ABCI 조성물에 Chol 및 DSPG의 첨가는 전이의 확대 및 다중 피크의 존재를 갖는 보다 복잡한 써모그램을 초래한다.

0.29 w/w의 Chol/PL 비율(ABCI-001)에서, 2개의 상-분리된 도메인, 즉, 개시 온도가 62.5℃인 Chol-풍부 l_o 상 및 개시 온도가 83.9℃인 넓은 PL-풍부 s_o 상이 관찰되었다. 수화된 DPPC 이중층에 대해 입증된 바와 같이(도 1), s_o 상에 Chol의 첨가는 무질서를 증가시키고 결국 공존하는 l_o 상의 상 분리를 초래한다.

Chol-풍부 상 전이는 매우 광범위하고 중첩 특징을 포함한다. l_o 상에서 Chol 미결정의 존재는 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴에 의해 뒷받침되며, 이는 ABCI 변이체의 경우 약 5.2° 2θ에서 회절 피크를 나타낸다. 콜레스테롤 미결정의 상 분리는 PLCI-001에서 보다 쉽게 구별된다(즉, 동일한 영역에서 회절 피크가 적고 암포테리신 B 피크로부터의 간섭 없음)(도 4). PLCI 조성물은 AmB를 포함하지 않지만 ABCI 조성물의 다른 성분을 포함하는 플라

시보 조성물이다.

- [0387] Chol-풍부 상 전이의 엔탈피의 선형 증가는 분말 조성물에서 Chol 함량의 증가에 따라 관찰된다(도 5). Chol/(Chol+PL) > 10% w/w인 데이터 포인트에 대해 선형 회귀를 수행하였다. 데이터는 약 4.9% w/w의 Chol/(Chol+PL) 증량비의 x-축에 외삽된다. 이는 0.05 w/w의 Chol/PL 비율 또는 약 9.4 mol% Chol에 해당한다. 따라서, 약 9.4 mol% 미만의 Chol을 갖는 조성물은 검출 불가능한 저온 피크를 가질 것으로 예상될 수 있다.
- [0388] 탈수된 상태에서, so-lo 2상 영역의 개시는 훨씬 더 높은 Chol 농도에서 발생하는 경향이 있다(즉, 도 1의 수화된 상태에 비해). 따라서, ABCI 조성물에서 정렬된 so 상은 훨씬 더 높은 Chol 함량에서 유지된다(수화된 DPPC 이중층의 경우 약 9.4 mol% vs. 6 mol%). 또한, so 상은 수화된 DPPC/Chol 혼합물에서 약 20 mol% Chol 초과시 제거되지만(도 1), so-lo 2상 영역은 탈수된 ABCI-001에서 36.5 mol% Chol을 넘어 확장된다. 따라서, 도 1의 수화된 DPPC-Chol 혼합물 상 다이어그램에 비해, ABCI-001에 대한 상 다이어그램은 더 높은 T_m 값으로 위쪽으로 이동하고, 더 높은 콜레스테롤 함량으로 오른쪽으로 이동한다.
- [0389] ABCI-001에서 높은-T_m 피크는 또한 매우 광범위하고 다수의 중첩 특징을 포함한다. 높은-T_m 피크의 엔탈피는 PL 함량이 증가함에 따라 증가하는 경향이 있고 Chol 함량이 증가함에 따라 감소하는 경향이 있으며, 이는 T_m 미만의 이러한 피크가 so 상과 관련이 있음을 시사한다.
- [0390] 20% AmB 조성물(Chol 없음)에서 HSPC/DSPG의 2성분 혼합물은 유사한 중첩 특징을 나타내며, 이는 공존하는 비혼화성 so 상을 시사한다. 칼슘 이온의 존재 하에 PC 및 PG 도메인의 상 분리는 다른 연구에서의 관찰과 일치한다. ABCI-001에서 높은-T_m 피크에 대한 개시 온도 및 엔탈피는 각각 83.9℃ 및 19.74 J/g이다.
- [0391] ABCI-001에서 ABCI-002로의 전이는 1.2 mol/mol의 Chol/AmB 비율을 유지하면서 약물 부하량을 30% w/w에서 14% w/w로 감소시켰다. AmB 및 Chol의 감소는 PL 함량의 증가, 및 0.28에서 0.092 w/w로의 Chol/PL 비율의 감소를 초래한다. 소량의 낮은-T_m 피크가 ABCI-002에서 여전히 보이지만, Chol-풍부 도메인의 경우 T_m은 62.5에서 64.6℃로 증가하는 반면 ΔH는 7.73에서 1.93 J/g로 감소한다(도 3). 높은-T_m 피크는 중첩되는 특징을 가지며 광범위하게 유지된다. ABCI-001에 비해, 개시 온도는 83.9℃에서 88.5℃로 증가하였는데, 이는 Chol 함량이 감소함에 따라 아실 사슬의 질서가 증가되었음을 시사한다.
- [0392] ABCI-003에서, 약물 부하량은 14% w/w로 유지되지만, Chol/AmB 비율은 1.2에서 0.4 mol/mol로 감소한다. 이는 ABCI-002에 비해 Chol/PL 비율을 0.092에서 0.030 w/w로 감소시킬 수 있다. ABCI-003 써모그램의 낮은-T_m 피크 영역의 확대(도 3)는 Chol-풍부 피크가 제거되었음을 보여준다. 높은-T_m 피크는 또한 개시 온도가 91.1℃로 ABCI-001에 비해 7.2℃만큼 증가하면서 훨씬 더 급격해진다.
- [0393] 비정질 고체의 장기 안정성을 위해, 저장 온도 T_s를 적어도 50℃만큼 초과하는 유리 전이 온도 T_g를 갖는 것이 유리할 수 있다. 유추에 의해, PL에서 T_m은 질서-무질서 전이를 나타낸다. ABCI-003의 T_m이 91.1℃라는 것은 T_m이 40℃의 가속된 T_s를 50℃만큼 초과한다는 것을 의미한다.
- [0394] 이전에 논의한 바와 같이, Chol/PL 비율의 감소는 분말 특성에 큰 영향을 미쳐 제조 수율을 74.5%에서 82.4%로 증가시키고, 카르 지수를 41.4에서 27.0으로 감소시키고, MMAD의 거의 2배 감소에 의해 입증되는 바와 같이 입자간 응집력을 극적으로 감소시킨다.
- [0395] lo 상 전이의 엔탈피의 선형 감소는 분말 조성물에서 Chol 함량의 증가에 따라 관찰된다(도 5). 포인트로의 회귀는 x-절편(즉, 엔탈피가 0이 되는 지점)이 0.05 w/w의 Chol/PL 비율에서 발생함을 시사한다. 이 비율은 도 2의 음영 영역을 정의하는데 사용된다.
- [0396] **실시예 5: 높은 상대 습도에서 AmB 조성물의 흡습성에 대한 지질 조성물의 영향**
- [0397] 도 6은 다양한 조성물에 대한 동적 증기 흡착 특성을 나타낸다. ABIP에 비해 Chol 및 DSPG를 함유하는 조성물의 경우 수분 흡착의 상당한 증가가 관찰된다. 이론으로 국한시키려는 것은 아니지만, 수분 흡착의 증가는 DSPG와 칼슘 클로라이드의 상호작용으로 인해 조성물에 NaCl이 존재하기 때문인 것으로 여겨진다. 2가 칼슘 이온은 음이온성 DSPG Na에 강하게 결합하여, 소듐 이온의 치환을 초래할 수 있고, 이는 이후 CaCl₂로부터의 클로라이드 이온과 상호작용하여 NaCl을 형성할 수 있다. 높은 RH에서, DSPG/CaCl₂를 포함하는 조성물은 흡습용해되며, 수분 흡착 및 흡습용해의 크기는 형성된 NaCl의 양에 정비례한다.
- [0398] PL 성분이 9.0 w/w의 HSPC/DSPG 비율을 함유하는 ABCI-003은 HSPC/DSPG 비율이 2.3(즉, 7/3) w/w인 ABCI-001 및 ABCI-002에 비해 유의하게 감소된 흡습성을 나타낸다.

[0399] 실시예 6: ABCI-001의 물리화학적 특성

[0400] ABCI-001의 분무-건조된 분말을 실시예 2에 기재된 바와 같이 Niro Mobile Minor 분무-건조기에서 제조하였다. 작은 다공성 입자의 물리화학적 특성(예를 들어, AmB 함량, AmB 순도, Chol 함량, 일차 입자 크기 분포, 벌크 밀도, 탭 밀도, 카르 지수, 및 물 함량)은 표 7에 상세히 기재되어 있다.

[0401] 약물의 현탁액으로부터 분무-건조된 분말의 특징으로서, ABCI-001 분말은 공칭 약물 함량의 약 10%만큼 AmB가 풍부하다. 농축은 Chol/AmB 몰 비율을 1.0 mol/mol로 감소시킨다. 농축에도 불구하고, AmB 및 Chol 검정 값은 5개의 배치에 걸쳐 일관되었고, 상대 표준 편차(RSD)는 각각 5% 및 1%였다. 유입되는 AmB 약물 물질의 순도는 96.7%였다. AmB의 순도는 5개의 ABCI-001 로트에 대해 $97.2 \pm 0.5\%$ 의 평균 순도를 가지며 제조 공정을 통해 보존되었다. 또한, RP-HPLC 크로마토그램에서 새로운 분해물 피크는 관찰되지 않았다.

[0402] 표 7. ABCI-001 벌크 분말 배치의 물리화학적 특성.

로트	수율(%)	Chol 검정(mg/g)	AmB 검정(mg/g)	AmB 순도(%)	물 함량(% w/w)
FP21040	82	141 ± 1	338 ± 0	97.7 ± 0.2	3.09 ± 0.14
FP21041	74	142 ± 1	338 ± 1	97.7 ± 0.1	3.48 ± 0.09
FP21045	74	144 ± 0	334 ± 2	96.7 ± 0.2	3.44 ± 0.10
FP21046	74	144 ± 1	356 ± 2	97.6 ± 0.2	2.94 ± 0.08
FP21047	68	144 ± 1	360 ± 5	97.2 ± 0.2	3.14 ± 0.14
평균 ± SD	74.5 ± 4.9	143 ± 1	345 ± 12	97.2 ± 0.5	3.22 ± 0.23
RSD (%)	6.6	1.0	3.4	0.5	7.2

로트	벌크 밀도 (g/cm ³)	탭 밀도 (g/cm ³)	카르 지수(%)	일차 입자 크기		
				X ₁₀ (μm)	X ₅₀ (μm)	X ₉₀ (μm)
FP21040	0.066 ± 0.006	0.114 ± 0.008	42.3 ± 2.2	0.63 ± 0.02	2.11 ± 0.07	5.25 ± 0.28
FP21041	0.081 ± 0.007	0.143 ± 0.007	43.3 ± 4.2	0.49 ± 0.05	1.90 ± 0.09	5.21 ± 0.15
FP21045	0.077 ± 0.007	0.126 ± 0.009	39.3 ± 1.8	0.63 ± 0.06	1.90 ± 0.04	4.51 ± 0.18
FP21046	0.061 ± 0.006	0.101 ± 0.007	39.3 ± 4.0	0.57 ± 0.02	1.84 ± 0.11	4.13 ± 0.42
FP21047	0.069 ± 0.006	0.121 ± 0.011	43.1 ± 3.7	0.61 ± 0.04	1.85 ± 0.07	4.53 ± 0.33
평균 ± SD	0.071 ± 0.008	0.121 ± 0.015	41.4 ± 2.0	0.59 ± 0.06	1.92 ± 0.11	4.73 ± 0.48
RSD (%)	11.2	12.6	4.8	10.0	5.8	10.2

[0403]

[0404] 레이저 회절에 의해 획득된 일차 입자 크기 분포는 5개의 배치에 대해 $1.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 의 평균 X₅₀ 값 및 $4.7 \pm 0.5 \mu\text{m}$ 의 평균 X₉₀을 가지며 에멀전-기반 공급원료로부터의 분무-건조된 미립자의 전형적인 분포이다. 배치 내에서, X₅₀에 대한 RSD는 4.7% 내지 9.6%로 다양하였고, 변동성의 대부분은 분무 건조기에서 평형이 확립되기 전에 제1 수집기에서 비롯되었다.

[0405] 관찰된 낮은 벌크 밀도($0.071 \pm 0.008 \text{ g/cm}^3$) 및 탭 밀도($0.121 \pm 0.015 \text{ g/cm}^3$)는 또한 에멀전-기반 액체 공급원료로부터 제조된 분말의 특징이다(표 7). 미세한 저밀도 입자의 높은 압축성은 $41.5 \pm 2.0\%$ 의 평균 카르 지수 값에 의해 입증되었다. 이 값은 ABCI-001 분말이 유동성이 거의 또는 전혀 없음을 시사한다. 분말에서 평균 잔류 물 함량은 $3.2 \pm 0.2\%$ 였다.

[0406] 실시예 7: ABCI-002의 물리화학적 특성

[0407] ABCI-002의 물리화학적 특성은 표 7에 제시되어 있다. 결과는 ABCI-001에 대해 제시된 것과 다소 유사하다. ABCI-002(14% w/w AmB)가 1.16 mol/mol의 일정한 Chol/AmB 비율을 유지하면서 추가의 PL로 희석된 ABCI-001(30% w/w AmB)을 나타낸다는 점을 고려할 때 이는 놀라운 것이 아니다.

표 8. ABCI-002 벌크 분말 배치의 물리화학적 특성

로트	수율(%)	Chol 검정(mg/g)	AmB 검정(mg/g)	AmB 순도(%)
FP21062	79	67	149 ± 3	97.7 ± 0.2
FP21063	75	67	154 ± 1	97.7 ± 0.1
FP21064	76	67	158 ± 0	96.6 ± 0.1
평균 ± SD	76.7 ± 1.7	67 ± 0	154 ± 4	97.3 ± 0.3
RSD (%)	2.2	0.0	2.6	0.3

로트	벌크 밀도 (g/cm ³)	탭 밀도 (g/cm ³)	카르 지수(%)	일차 입자 크기		
				X ₁₀ (μm)	X ₅₀ (μm)	X ₉₀ (μm)
FP21062	0.069 ± 0.004	0.108 ± 0.005	36.4 ± 2.1	0.57 ± 0.00	2.07 ± 0.03	5.20 ± 0.10
FP21063	0.062 ± 0.005	0.097 ± 0.007	35.5 ± 3.9	0.59 ± 0.01	2.21 ± 0.10	5.39 ± 0.21
FP21064	0.077 ± 0.005	0.128 ± 0.007	39.7 ± 4.0	0.60 ± 0.01	2.12 ± 0.03	5.58 ± 0.26
평균 ± SD	0.069 ± 0.006	0.111 ± 0.013	37.2 ± 1.8	0.59 ± 0.01	2.13 ± 0.06	5.39 ± 0.16
RSD	8.7%	11.7%	4.8%	1.7%	2.8%	1.3%

실시예 8: ABCI-003의 물리화학적 특성

ABCI-003의 물리화학적 특성은 표 9에 상세히 기재되어 있다. ABCI-001에 비해, 약물 부하량은 30% w/w에서 14% w/w로 감소하였고, 공칭 Chol/AmB 비율은 1.2 mol/mol에서 0.4 mol/mol로 감소하였다.

표 9. ABCI-003 벌크 분말 배치의 물리화학적 특성

로트	수율(%)	Chol 검정(mg/g)	AmB 검정(mg/g)	AmB 순도(%)	물 함량(%)
FP22002	79.3	22 ± 0	163 ± 1	97.9 ± 0.0	3.82 ± 0.30
FP22003	82.7	22 ± 0	168 ± 2	98.2 ± 0.5	3.71 ± 0.17
FP22005	85.1	22 ± 0	168 ± 2	99.1 ± 0.0	3.72 ± 0.11
평균 ± SD	82.4 ± 2.9	22 ± 0	166 ± 3	98.4 ± 0.6	3.75 ± 0.06
RSD (%)	3.5	0.0	1.7	0.7	1.6

로트	벌크 밀도 (g/cm ³)	탭 밀도 (g/cm ³)	카르 지수(%)	일차 입자 크기		
				X ₁₀ (μm)	X ₅₀ (μm)	X ₉₀ (μm)
FP22002	0.071 ± 0.004	0.098 ± 0.003	28.0 ± 2.5	0.99 ± 0.21	2.73 ± 0.11	5.97 ± 0.20
FP22003	0.078 ± 0.005	0.110 ± 0.010	28.8 ± 4.5	1.02 ± 0.20	2.70 ± 0.14	5.99 ± 0.36
FP20005	0.069 ± 0.004	0.091 ± 0.006	24.2 ± 2.5	0.92 ± 0.01	3.11 ± 0.05	6.91 ± 0.15
평균 ± SD	0.073 ± 0.004	0.100 ± 0.008	27.0 ± 2.0	0.98 ± 0.05	2.85 ± 0.23	6.29 ± 0.54
RSD (%)	5.5	8.0	7.4	5.3	8.0	8.5

실시예 9: 3개의 ABCI 조성물의 비교

3개의 ABCI 조성물의 물리화학적 특성 및 에어로졸 성능의 비교는 표 10에 제시되어 있다.

[0416] 표 10. ABCI-001, ABCI-002, 및 ABCI-003의 물리화학적 특성 및 에어로졸 성능의 비교

조성물	수율(%)	Chol 검정(mg/g)	AmB 검정(mg/g)	Chol/AmB (mol/mol)	AmB 순도(%)
ABCI-001	74.5 ± 4.9	143 ± 1	345 ± 12	1.0	97.2 ± 0.5
ABCI-002	76.7 ± 1.7	67 ± 0	154 ± 4	1.0	97.3 ± 0.3
ABCI-003	82.4 ± 2.9	22 ± 0	166 ± 3	0.32	98.7 ± 0.6

조성물	벌크 밀도 (g/cm ³)	탭 밀도 (g/cm ³)	카르 지수(%)	일차 입자 크기			
				X ₁₀ (μm)	X ₅₀ (μm)	X ₉₀ (μm)	
ABCI-001	0.071 ± 0.008	0.121 ± 0.015	41.4 ± 2.0	0.59 ± 0.06	1.92 ± 0.11	4.73 ± 0.48	
ABCI-002	0.069 ± 0.006	0.111 ± 0.013	37.2 ± 1.8	0.59 ± 0.01	2.13 ± 0.06	5.39 ± 0.16	
ABCI-003	0.073 ± 0.004	0.100 ± 0.008	27.0 ± 2.0	0.98 ± 0.05	2.85 ± 0.23	6.29 ± 0.54	
조성물	ED (%)	거친 분획 [T-S2] (%)	기도 분획 [S3-S5] (%)	초미세 분획 [S6-F] (%)	FPF _{<5μm} (% ND)	FPF _{<5μm} (% ED)	MMAD (μm)
ABCI-001	89	36.0	49.3	3.4	50	56	3.9
ABCI-002	92	21.0	60.3	10.5	70	76	2.6
ABCI-003 (R21058)	88	6.1	71.8	10.6	81	92	2.1

[0417]

[0418]

PL/Chol이 3.5에서 10.9 내지 33.1 w/w로 증가함에 따라 몇 가지 뚜렷한 경향이 존재한다(ABCI-001에서 ABCI-003). 첫째, 수율이 74.5%에서 82.4%(+10.6%)로 증가한다. 둘째, 카르 지수가 41.4에서 27.0으로 감소하고, 이는 분말 유동성의 현저한 개선을 나타낸다.

[0419]

에어로졸 성능에도 상당한 변화가 있다. 이는 Chol 함량이 감소함에 따라 입자간 응집력의 상당한 감소 및 분말 분산성의 증가를 반영할 수 있다. 거친 분획에서 약물의 백분율은 36.0%에서 6.1%로 감소하는 반면, 기도 분획에서의 백분율은 49.3%에서 71.8%로 증가한다. FPF_{<5μm}는 ED의 56%에서 92%로 증가하는 반면, MMAD는 3.9 μm에서 2.1 μm로 감소한다. MMAD의 큰 감소는 또한 코-단독 에어로졸 전달 동안 설치류의 코에서의 침착을 감소시킬 수 있다.

[0420]

실시예 10: 배양된 기도 상피 세포에 대한 정단 투여 후 AmB의 다양한 조성물에 대한 ASL pH의 개선

[0421]

세포-기반 검정을 사용하여 AmB의 다양한 지질-코팅된 결정 조성물의 역할을 조사하였다. 정상 폐 상피 세포(NuLi)에 대해 관찰된 ASL pH는 약 7.6이다. 대조적으로, CuFi-1 세포(ΔF508/ΔF508 CF 돌연변이)에서 관찰된 ASL pH는 약 6.85이다. ASL pH의 감소는 CF 폐에서 숙주 방어에 중대한 영향을 미친다. 7.0 초과인 ASL pH 값은 숙주 방어에 중요한 폐에서의 항미생물 활성을 갖는 펩티드인 디펜신의 효과를 개선시킨다. 따라서, ASL pH의 측정은 상이한 흡입 AmB 조성물의 효과를 평가하기 위한 유용한 대용물이다.

[0422]

표 11은 불멸화 및 일차 배양된 기도 상피 세포를 사용하여 다양한 AmB 조성물에 대해 관찰된 ASL pH의 개선을 비교한다. University of Iowa에서 개발된 정상 불멸화 기도 상피 세포주(NuLi)에 대해 관찰된 ASL pH는 약 pH 7.5이다. 2개의 불멸화 CF 기도 상피 세포주를 연구하였다: 동형접합성 ΔF508/ΔF508 돌연변이를 갖는 CuFi-1 및 이형접합성 G551D/ΔF508 돌연변이를 갖는 CuFi-4 세포. 이러한 세포에서 측정된 ASL pH는 다양한 연구에 걸쳐 약 pH 6.7 내지 pH 7.0으로 다양하였다. 넌센스 돌연변이를 갖는 것들을 포함하는 CF를 갖는 개인으로부터 유래된 기도 상피 세포의 일차 세포 배양물을 또한 연구하였다. CF가 없는 대조군 대상체로부터 유래된 일차 기도 상피 세포에서 측정된 ASL pH는 약 6.9의 pH를 가졌다(Shah et al. *Airway acidification initiates host defense abnormalities in cystic fibrosis mice. Science* 2016, 351: 503-507).

[0423]

이러한 연구로부터의 발견은 다음을 포함한다: Chol이 첨가되지 않은 AmB 조성물(예를 들어, 순수한 AmB, ABIP)은 퍼플루오로헥산 비히클에서 2 μM 농도에서 효과적이지만 50 μM AmB 농도에서는 효과적이지 않다(도 7b); AmB/Chol 복합체는 2 μM 및 50 μM AmB 농도에서 비히클 대조군에 비해 약 0.1 pH 단위의 개선을 보여준다(표 11); CF를 갖는 대상체로부터의 일차 배양된 기도 상피 세포에 2 μM AmB의 정단 투여 후, CFTR 유전형과 무관하게, 0.1 내지 0.2의 pH 단위의 ASL pH의 개선이 관찰된다(표 11); 첨가된 PL을 함유하는 L-AMB(HSPC/DSPG = 7/3 w/w)는 2 μM 및 50 μM AmB에서 유지되는 약 0.4 pH 단위만큼의 ASL pH의 개선을 보여준다(표 11); 이바

카프터는 CuFi-4 세포에서 ASL pH를 약 0.2 pH 단위만큼 증가시키지만, 예상대로 동형접합성 ΔF508 돌연변이를 갖는 CuFi-1에서 ASL pH의 최소 증가를 갖는다(표 11); Trikafta는 CuFi-1 세포에서 ABCI-003과 유사한 ASL pH 증가를 초래한다(표 11); Chol/AmB 비율 ≥ 0.4 mol/mol을 포함하는 ABCI 조성물은 2 μ M 및 50 μ M AmB 농도 둘 모두에서 CuFi-1 세포에서 약 0.4 내지 0.5 pH 단위의 ASL pH의 최대 개선을 나타내지만, ASL pH의 개선은 0.4 mol/mol 미만의 Chol/AmB 비율에서 크기가 감소한다(도 7a; 도 7c); 0.05 mol/mol만큼 낮은 Chol/AmB 비율에 대해 ≥ 0.2 pH 단위의 개선이 관찰된다(도 7b; 도 7c); ASL pH의 개선은 HSPC 단독에 비해 조성물에서 DSPG의 존재에 의해 향상된다(도 7b; 도 7c); ABCI-001, ABCI-002, 및 ABCI-003의 투여 후 ASL pH의 유의한 차이는 관찰되지 않았다(도 7a); CF를 갖는 개인으로부터의 일차 배양된 기도 상피에서 ASL pH의 평균 개선은 pH 6.3에서 pH 7.0으로 약 0.7 pH 단위였다; 넌센스 돌연변이를 갖는 개인으로부터 유래된 2개의 세포 배양물을 포함하여, CF를 갖는 개인으로부터의 7개의 일차 배양된 기도 상피 샘플 중 6개가 6.9 이상의 pH를 달성하였다(건강한 지원자에 비해 ASL pH의 완전한 회복)(도 8). 이러한 결과에 기초하여 ABCI 조성물에 대한 최적 Chol/AmB 비율은 0.4 내지 1.2 mol/mol일 수 있다(도 2).

표 11. AmB 조성물의 투여 후 CF 환자로부터의 CuFi-1, CuFi-4, 및 일차 상피 세포에서 ASL pH의 개선

배치	설명	세포	[AmB] (μ M)	pH	Δ pH	Ref.
	비히클 대조군	NuLi	---	7.51	n.a.	[1]
	비히클 대조군	CuFi-1	---	6.88	n.a.	[1]
	AmB	CuFi-1	2	7.06	+0.18	[1]
	AmB	CuFi-1	50	6.80	+0.02	[1]
	비히클 대조군	CuFi-1	---	6.75	n.a.	[1]
	AmB:Chol (1:5) 복합체	CuFi-1	2	6.84	+0.09	[1]
	AmB:Chol (1:5) 복합체	CuFi-1	50	6.86	+0.11	[1]
	L-AMB	CuFi-1	2	7.18	+0.43	[1]
	L-AMB	CuFi-1	50	7.15	+0.40	[1]
	이바카프터	CuFi-1	2	6.82	+0.07	[1]
	비히클 대조군	CuFi-4	---	6.75	n.a.	[1]
	이바카프터	CuFi-4	2	6.92	+0.17	[1]
	AmB:Chol (1:5) 복합체	CuFi-4	2	6.98	+0.23	[1]
	비히클 대조군	일차 인간 CF	---	6.76	n.a.	[1]
	AmB	일차 인간 CF	2	6.97	+0.21	[1]
	비히클 대조군	CuFi-1	---	6.95	n.a.	[2]
R20047	ABIP	CuFi-1	50	7.01	+0.06	[2]
FP22001	PLCI-002 (ABCI-003에 대한 매칭 플라시보)	CuFi-1	50	6.85	-0.10	[2]
FP20002	ABCI-003	CuFi-1	50	7.26	+0.31	[2]

	비히클 대조군	CuFi-1	---	6.82	n.a.	[2]
R21058	ABCI-003	CuFi-1	2	7.29	+0.47	[2]
R21058	ABCI-003	CuFi-1	50	7.25	+0.42	[2]
R21052	ABCI-001	CuFi-1	50	7.19	+0.37	[2]
R21061	ABCI-002	CuFi-1	50	7.25	+0.43	[2]
R21057	ABCI (Chol/AmB = 0.4, % HSPC = 70%)	CuFi-1	50	7.32	+0.50	[2]
	비히클 대조군	CuFi-1	---	6.72	n.a.	[2]
CM22001	ABCI (Chol/AmB = 0.2, DSPG = 10%)	CuFi-1	50	7.09	+0.37	[2]
CM22002	ABCI (Chol/AmB = 0.1, DSPG = 10%)	CuFi-1	50	7.04	+0.32	[2]
CM22003	ABCI (Chol/AmB = 0.05, DSPG = 10%)	CuFi-1	50	6.95	+0.23	[2]
CM22004	ABCI (Chol/AmB = 0, DSPG = 10%)	CuFi-1	50	6.70	-0.02	[2]
CM22005	ABCI (Chol/AmB = 0.4, DSPG = 0%)	CuFi-1	50	7.12	+0.40	[2]
CM22006	ABCI (Chol/AmB = 0, DSPG = 0%)	CuFi-1	50	6.71	-0.01	[2]
	비히클 대조군	CuFi-1	---	6.92	n.a.	[2]
	Trikafra (ETI)	CuFi-1	E (1) T (1) I (0.33)	7.38	+0.46	[2]
FP22005	ABCI-003	CuFi-1	2	7.38	+0.46	[2]
	비히클 대조군	일차 인간 CF	---	6.30	n.a.	[2]
	비히클 대조군	일차 인간 HV	---	6.90	+0.60	[3]
FP22005	ABCI-003	일차 인간 CF	2	6.98	+0.68	[2]
FP22005	ABCI-003	일차 인간 CF	50	7.00	+0.70	[2]

¹ US 2019/0083517; US 2020/0352970; ² 본 개시; ³ Shah, 2016

실시예 11: ABCI-001로 관찰된 용량 반응

ABCI-003에 대한 ASL pH 개선의 용량 의존성은 도 9에 제시되어 있다. 가로 좌표의 농도는 실제 ASL 농도가 아니라 CuFi-1 세포에 적용하기 위해 퍼플루오로헥산 비히클에 현탁된 AmB의 농도를 나타낸다. 퍼플루오로헥산 농도에 기반한 EC₅₀ 및 EC₉₀은 각각 약 0.5 μM 및 2.0 μM였다.

실시예 12: 다양한 Chol/AmB 비율 및 DSPG 함량을 포함하는 ABCI 조성물

Burke 등은 5.0 mol/mol의 Chol/AmB 비율을 갖는 AmB:Chol 복합체가 퍼플루오로헥산에서 2 μM 내지 50 μM 범위의 현탁액 농도에 걸쳐 CuFi-1 세포에서 ASL pH의 개선을 유지하였음을 입증하였다(US 2019/0083517; US 2020/ 0352970; 둘 모두는 참조로 포함됨).

첨가된 Chol을 함유하는 한 본 개시의 지질-코팅된 AmB 조성물에서 유사한 결과가 관찰되었다. 50 μM AmB 농도에서, ABIP(첨가된 Chol을 함유하지 않음)는 ASL pH의 개선을 나타내지 않았다.

대조적으로, 약 1.2(예를 들어, ABCI-001, ABCI-002)의 이론적인 Chol/AmB 비율을 갖는 ABCI 조성물은 50 μM에서 ASL pH의 강한 개선을 나타낸다(예를 들어, 0.35 내지 0.45 pH 단위).

이전 연구는 첨가된 Chol로 달성된 이점이 Chol/AmB 비율이 1.0 mol/mol 미만일 경우 상실될 수 있음을 시사하였다(US 2019/0083517; US 2020/0352970). 놀랍게도 이론적인 Chol/AmB 비율이 0.4 mol/mol(분말 내 공칭 측정 비율 = 0.32 mol/mol)인 ABCI 조성물의 경우 50 μM AmB 농도에서도 ASL pH 개선이 유지될 수 있다는 것이 발견되었다.

따라서, Chol은 광범위한 전달 용량에 걸쳐 ASL pH의 효과적인 개선을 유지하기 위해 필요할 수 있으며, 0.4 mol/mol만큼 낮은 Chol/AmB 비율도 여전히 효과적이다. 더 낮은 Chol/AmB 비율에 대해 관찰된 효능은 소규모 실험 설계(DoE) 연구에서 확립되었다(도 7a). 연구는 또한 조성물에서 DSPG의 백분율을 낮추는 영향을 조사하였다. Buchi B-191 분무 건조기에서 제조된 분무-건조된 분말의 이론적인 무수 조성은 표 12에 상세히 기재되어 있다. ABCI 변이체의 물리화학적 특성은 표 13에 제시되어 있다. 선택된 ABCI 변이체의 에어로졸 성능은 표 14에 제시되어 있다.

[0435] 표 12. 더 낮은 Chol/AmB 비율 및 감소된 DSPG 함량을 포함하는 ABCI 변이체의 공칭 무수 조성물

배치 번호	AmB (%w/w)	Chol (%w/w)	HSPC (%w/w)	CaCl ₂ ^b (%w/w)	DSPG (%w/w)	Chol/AmB (mol/mol)	HSPC/DSPG (w/w)	PL/Chol (w/w)
R21057	14.0	2.34	54.1	5.51	24.1	0.40	2.2	32.6
R21058 (ABCI-003)	14.0	2.36	70.3	5.52	7.8	0.40	9.0	33.1
R21059	14.0	4.58	60.5	5.37	15.5	0.78	3.9	16.6
R21060	14.0	6.81	66.5	5.22	7.4	1.16	9.0	10.9
R21061 (ABCI-002)	14.0	6.81	51.2	5.20	22.8	1.16	2.3	10.9
R21062 (ABCI-002)	14.0 ^a	6.81	51.2	5.22	22.8	1.16	2.3	10.9
ABCI-001	30.0	14.6	35.8	3.70	15.9	1.16	2.3	3.5

^a 배치 R21062 는 비정질 AmB 입자를 함유한다

^b PL/CaCl₂ 의 비율은 2.0 mol/mol 이다.

[0436]

[0437] 표 13. 다양한 Chol/AmB 비율 및 DSPG 백분율을 함유하는 14% w/w ABCI 변이체의 물리화학적 특성

배치	벌크 밀도 (g/cm ³)	탭 밀도 (g/cm ³)	카르 지수(%)	일차 입자 크기 분포		
				X ₁₀ (μm)	X ₅₀ (μm)	X ₉₀ (μm)
R21057	0.085	0.125	32.0	0.64 ± 0.01	1.86 ± 0.01	3.71 ± 0.02
R21058 (ABCI-003)	0.060	0.081	26.0	0.77 ± 0.02	2.01 ± 0.02	3.77 ± 0.07
R21059	0.059	0.089	33.3	0.76 ± 0.01	2.03 ± 0.03	4.02 ± 0.17
R21060	0.049	0.070	29.9	0.79 ± 0.01	2.16 ± 0.02	4.10 ± 0.08
R21061	0.048	0.065	26.1	0.71 ± 0.00	2.00 ± 0.01	3.91 ± 0.01
R21062	0.051	0.078	34.3	0.70 ± 0.03	2.07 ± 0.02	4.06 ± 0.09
ABCI-002	0.069 ± 0.006	0.111 ± 0.013	37.2 ± 1.8	0.59 ± 0.01	2.13 ± 0.06	5.39 ± 0.16
ABCI-001	0.071 ± 0.008	0.121 ± 0.015	41.4 ± 2.0	0.59 ± 0.06	1.92 ± 0.11	4.73 ± 0.48

[0438]

배치	이론적			공칭			
	Chol/AmB (mol/mol)	HSPC/DSPG (mol/mol)	PC/Chol (w/w)	수율 (%)	Chol 검정(mg/g)	AmB 검정(mg/g)	Chol/AmB (mol/mol)
R21057	0.40	2.2	32.6	70	22	163	0.33
R21058 (ABCI-003)	0.40	9.0	33.1	67	23	167	0.33
R21059	0.78	3.9	16.6	69	43	163	0.64
R21060	1.16	9.0	10.9	71	65	151	1.04
R21061	1.16	2.3	10.9	64	65	161	0.98
R21062	1.16	2.3	10.9	70	66	83	1.93
ABCI-002	1.16	2.3	10.9	77	67	154	1.06
ABCI-001	1.16	2.3	3.5	75	143	345	1.01

[0439]

표 14. ABCI 변이체의 에어로졸 성능에 관한 메트릭

배치	Chol/AmB (mol/mol)	HSPC/DSPG (w/w)	ED (%)	거친 분획 [T- S2] (%)	기도 분획 [S3-S5] (%)	초미세 분획 [S6- F] (%)	FPP _{<5μm} (% ND)	MMAD (μm)
R21058 (ABCI-003)	0.40	9.0	88	6.1	71.8	10.6	81	2.1
R21059	0.78	3.9	89	11.8	64.2	13.0	75	2.1
R21061 (ABCI-002)	1.16	2.3	86	10.3	70.6	5.2	73	2.7
FP21062 (ABCI-002)	1.16	2.3	92	21.0	60.3	10.5	70	2.6
FP21040 (ABCI-001)	1.16	2.3	89	36.0	49.3	3.4	50	3.9

입자간 응집력은 분말에서 Chol 및 DSPG 함량이 감소함에 따라 감소하는 경향이 있다. 이는 USP 인후 및 충격기의 단계 1 및 단계 2에 침착으로 표시되는 바와 같이, 거친 입자 분획의 급격한 감소에 반영된다. 거친 입자 분획은 ABCI-001의 경우 35.9%에서 ABCI-002의 21.1-21.8%로, 배치 R21058(ABCI-003)의 경우 단지 6.2%로 감소한다. 이는 단계 침착 패턴의 이동에 의해 추가로 반영된다. ABCI-001에 대한 APSD는 단계 2 및 3 주위에 집중되며, MMAD는 3.9 μm이다. ABCI-002는 단계 3 및 4에서 1차 침착을 나타내었고, MMAD는 2.6 내지 2.7 μm로 이동하였다. 마지막으로, 배치 R21058의 경우, Chol/AmB 비율은 0.4 mol/mol로 감소하였고, PL에서 HSPC 함량은 90% w/w로 증가하였고, 1차 침착은 이제 충격기의 단계 4 및 5에서 피크에 도달하며, MMAD는 2.1 μm이다.

배치 R21058에 대한 데이터가 방출 용량의 백분율로 표현될 때, FPP_{<5μm}은 93%이다. 배치 R21058의 방출 용량의 98%가 충격기 단계에 침착된다는 것을 고려하면(즉, 유도 포트 또는 USP 인후에서 단지 2%), 전체 단일모드 입자 크기 분포에 대한 충격 파라미터(즉, $d_g^2 Q$)가 계산될 수 있다. 195 μm² L/min의 값은 상기도(URT)에서의 입자 침착 뿐만 아니라 총 폐 용량(TLD)을 예측하는데 사용될 수 있다. 충격 파라미터 결과는 방출 용량의 약 90%가 폐 내에 침착되고, 단지 약 10%만이 URT에 침착될 것으로 예상됨을 시사한다. 단계 3 내지 5에서 기도 분획에서 침착된 큰 비율의 용량에 의해 입증된 바와 같이, TLD의 상당 비율이 폐 내의 크고 작은 기도에 침착될 수 있으며, 여과를 위한 단계 6의 초미세 분획에서 비교적 낮은 비율의 입자가 침착될 수 있다.

MMAD의 유의한 감소는 인간에서 URT 침착을 감소시킬 뿐만 아니라 비임상 연구에서 래트에서 비인두 침착을 감소시킬 수 있다. 다양한 ABCI 변이체로 달성된 ASL pH의 개선은 도 7에 플롯팅되어 있다. 데이터는 22시간 인큐베이션 후 플루오로카본 비히클에서 50 μM AmB 농도에서 수집되었다(조성물 당 N=12회 반복). 또한 배치 R21058에 대한 데이터를 2 μM에서 수집하였다(N=6회 반복). CuFi-1 세포를 이용한 ABCI 변형체의 ASL pH는 약 7.25 내지 7.35였다(ΔpH 약 0.4 내지 0.5). 따라서, 모든 배치는 ASL pH의 유의한 증가를 나타내었다(CuFi-1 대조군에 비해 p<0.0001). 지질 코팅된 결정 조성물로 관찰된 ΔpH의 개선 규모는 Burke 등이 활용한 AmB:Chol 복합체에서 관찰된 약 0.15-0.2 pH 단위 개선보다 훨씬 컸다(US 2019/0083517; US 2020/0352970).

실시예 13: ABCI-003의 투여 후 CF를 갖는 사람으로부터의 일차 배양된 상피 세포에서 ASL 유체의 상대 점도의 평가

CFTR 단백질의 부재 또는 기능장애는 ASL의 고갈(즉, ASL 두께의 증가), ASL 점도의 증가, 및 손상된 점액섬모 청소율을 야기하는 근본적인 결함인 결함성 이온 수송을 초래한다.

FC-72 전달 비히클 단독에 비해 CF 기도 상피 세포의 일차 배양물에서 ASL 유체의 점도를 감소시키는 ABCI의 능력을 평가하였다. CF 기도 상피의 일차 배양물에 대한 ABCI의 정단 첨가는 평균 ASL 점도(τ_{ASL}/τ_{saline}) 값을 염수의 3.3배에서 약 1.9 내지 2.2배로 감소시켰고; CFTR 유전형에 관계없이 유사한 활성이 관찰되었다(도 10).

비-CF 기도 상피의 ASL은 염수의 2.5배의 상대 점도를 갖는다. 따라서, 이러한 데이터는 ABCI가 CF 기도 상피에서 ASL의 상대 점도를 CF가 없는 개인의 기도 상피 세포에서 관찰된 것과 같은 수준으로 감소시킬 수 있음을 입증한다. ASL의 증가된 점도는 CF를 갖는 대상체에서 손상된 점액섬모 청소율 및 감염/염증의 위험 증가와 관련이 있기 때문에, 이러한 데이터는 기도에서 CF의 가장 심각한 후유증 중 하나를 완화시키는 본원에 기재된 구체

예에 따른 조성물의 가능성을 시사한다.

- [0449] 실시예 14: ABCI의 투여 후 CF를 갖는 사람들로부터의 일차 배양된 상피 세포에서 ASL 유체의 항미생물 사멸 활성
- [0450] 기도의 선천 숙주 방어 시스템의 많은 양태는 분비된 뮤신의 유동학적 특성, 점액섬모 청소율, 프로테아제의 활성, 및 항미생물 펩티드(예를 들어, 디펜신)의 활성을 포함하여, pH 민감성이다. 코팅된 금 격자에서 *S. 아우레우스*(*S. aureus*)에 대한 ASL의 항미생물 활성은 CF가 없는 대상체로부터 유래된 일차 기도 상피에서 약 50%만큼 감소한다.
- [0451] ASL 항박테리아 활성에 대한 FC-72 전달 비히클 단독 대비 ABCI-003의 정단 투여 효과를 상이한 CFTR 돌연변이를 갖는 CF를 갖는 6명의 대상체로부터 유래된 일차 배양된 기도 상피 세포에서 평가하였다. ABCI-003에 대한 CF-유래 기도 상피 세포의 노출은 사멸된 *S. 아우레우스*의 백분율을 비히클 대조군에서 약 22%로부터 고용량 ABCI-003 그룹에서 약 40%로 증가시켰다(즉, ASL의 항미생물 활성을 비-CF 세포에서 측정된 것과 유사한 수준으로 거의 두 배 증가시킴)(도 11).
- [0452] 세포가 유래된 CF를 갖는 대상체의 CFTR 돌연변이 상태는 (도 11)에 제시되어 있다. 특히, 2개의 넌센스 돌연변이를 갖는 2명의 개인(조절자 약물이 효과적이지 않을 것임)으로부터의 세포에서의 반응은 적어도 조절자 요법의 후보인 보다 흔한 $\Delta F508$ 돌연변이를 갖는 것들만큼 컸다. 또한, 50 μM ABCI-003 용량의 경우 ASL의 개선된 박테리아 사멸은 비-CF 대조군과 유사하였다.
- [0453] 실시예 15: 용혈에 대한 지질 조성물 및 AmB 결정도의 영향
- [0454] *AmB*의 독성. Fungizone의 정맥내 투여는 열, 떨림, 오한, 저혈압, 고혈압, 식욕부진, 메스꺼움, 구토, 두통, 및 빈호흡을 포함하는 수많은 급성 전신 반응을 초래하여, '암포테리블(*amphoterrible*)'이라는 별명이 생겼다. 이의 주요 만성 부작용은 신독성이다. 지질-기반 조성물(예를 들어, L-AMB)은 급성 전신 효과를 감소시키지만, 신독성은 용량-제한 독성으로 남아 있다.
- [0455] Burke 실험실의 최근 연구는 포유동물 세포에서 AmB의 독성 효과가 가정된 바와 같이 이온 채널 형성의 결과가 아니라, 오히려 세포막으로부터 막외 스테롤 스폰지 상으로의 콜레스테롤 추출 때문이라는 것을 시사한다 (Anderson et al. *Nature Chem Biol.* 2014; 10:400-406; Gray et al. *PNAS.* 2012; 109:2234-2239). Chol 추출로부터의 독성은 스테롤:AmB의 비율이 약 1.0 mol/mol 미만일 때만 발생하는 것으로 생각되었다.
- [0456] API의 물리적 형태(즉, 비정질 대 결정질) 및 입자의 크기는 물에서 AmB의 '겉보기' 용해도에 영향을 미칠 수 있다. 이는 차례로 비경구 투여 후(Ghielmetti et al. *J Pharm Sci.* 1976; 65:905-907; Bennett et al. *Antimicrob Agents Chemother.* 1963; 161:745-752) 및 경구 흡입 후(US 2012/0128728) 약물의 안전성 프로파일 에 영향을 미칠 수 있다. 본 개시의 맥락에서, 적혈구 세포막으로부터의 Chol 추출에 대한 API의 물리적 형태 및 조성물 속성의 영향을 평가하기 위해 용혈 검정을 사용하였다.
- [0457] 표 15는 AmB를 포함하는 다양한 조성물의 투여 후 용혈을 비교한다. Chol 없이 소듐 데옥시콜레이트 마이셀에 용해된 AmB의 마이셀 조성물인 Fungizone®은 양성 대조군으로 작용하는 반면, L-AMB는 음성 대조군으로 작용한다. 모두 고 결정질 AmB 및 Chol을 포함하는 ABCI-001, ABCI-002, 및 ABCI-003은 음성 대조군과 유사한 용혈을 나타낸다. 놀랍게도, 이는 Chol/AmB 비율이 1.0보다 훨씬 낮은 경우에도 마찬가지이다. 예를 들어, 단지 0.4 mol/mol(실제 = 0.33 mol/mol)의 이론적인 Chol/AmB 비율을 갖는 ABCI-003은 L-AMB에 필적하는 용혈을 갖는다.

[0458] 표 15. AmB를 포함하는 조성물의 용혈

배치	설명	100 mM AmB 농도에서의 용혈(%)
	Fungizone; (양성 대조군)	90
	AmBisome (L-AMB); (음성 대조군)	< 5
	AmB (100% 결정질)	< 5
	AmB (100% 비정질)	100
R20047	ABIP (결정질 AmB); Chol 없음	< 5
R20048	ABIP (비정질 AmB); Chol 없음	40
R21052	ABCI-001	< 5
R21061	ABCI-002	< 5
R21058	ABCI-003	< 5

[0459]

[0460] ABIP 조성물을 사용한 경우는 유익하다. 완전히 비정질 AmB로 제형화된 ABIP는 고도로 용혈성인 반면, 결정질 약물로 제형화된 ABIP는 그렇지 않으며, 이는 비정질 상의 물리적 형태 또는 '겉보기 용해도'가 효과를 강화시킬 수 있음을 보여준다.

[0461] 실시예 16: 건조 분말 조성물에서 약물 부하량 및 표적 밀도

[0462] 공칭 용량(ND), 탭 밀도(ρ_{tapped}), 및 건조 분말 흡입기의 리셉터클 부피(V_r)는 하기 방정식에 따라 약물 부하량을 계산하는데 사용될 수 있다:

$$\%AmB = \frac{0.2 \times ND(mg)}{V_r(mL) \times \rho_{\text{tapped}} \left(\frac{g}{cm^3} \right)}$$

[0463]

[0464] 방정식은 리셉터클 부피의 50%가 채워진 것으로 가정한다. 캡슐에 대한 최적의 성능은 캡슐 부피의 25% 내지 75%의 충전 부피에 대해 발생할 수 있지만, 약 10%만큼 낮고 90%만큼 높은 충전 부피도 사용될 수 있다. 충전 부피가 너무 낮으면 에어로졸 투여 동안 캡슐 및 장치에서 고정된 손실로 인해 방출 용량(ED) 값이 감소될 수 있다.

[0465] 0.1 g/mL의 탭 밀도(크기 3 캡슐)를 갖는 분말을 갖는 2 mg 공칭 용량(ND)의 경우, %AmB는 캡슐이 반만 찬 경우 약 13.4% w/w이고, 충전 부피의 25% 내지 75%에서는 6.7% 내지 20.1% w/w의 범위이다. 따라서, 0.11 g/mL의 탭 밀도를 갖는 ABCI-003 분말은 표적 2 mg 용량을 달성하기 위해 잘 설계될 수 있다.

[0466] 0.1 g/mL의 탭 밀도를 갖는 0.67 mg ND의 경우, %AmB는 4.5%일 것이며, 크기 3 캡슐 부피가 25% 내지 75% 채워진 경우 2.25-6.75% w/w의 범위이다.

[0467] 0.1 mg 공칭 용량의 경우, 50% 충전 부피를 달성하기 위해 필요한 약물 부하량은 약 0.7%이다(탭 밀도 = 0.1 g/mL).

[0468] 도 12는 분말의 공칭 용량 및 탭 밀도에 기반한 약물 부하 요건의 추정치를 제공한다.

[0469] 전반적으로, 약 10 mg 미만의 공칭 용량의 경우, %AmB는 0.1% 내지 50%, 예를 들어, 0.5% 내지 20%로 다양하다. 약 10 mg의 공칭 용량의 경우, 탭 밀도를 대략 0.2 g/cm³로 조정하는 것이 유리할 수 있는 반면, 3 mg 미만의 더 낮은 용량의 경우, 대략 0.1 g/cm³의 더 낮은 탭 밀도를 이용하는 것이 유리하다. 분무-건조된 분말 내의 탭 밀도는 분무 건조 조건의 변화, 고체 함량, 및 기공-형성 공정 보조제인 PFOB의 농도 변화를 통해 조성물에서 제어될 수 있다.

[0470] 실시예 17: 기도 표면 액체로부터 조성물의 제거

- [0471] 경구 흡입을 통한 본 개시에 따른 조성물의 투여는 기도 상피 세포의 정단 측에 있는 ASL에 AmB를 침착시키고, 여기서 상피 세포막에서 이온 채널 형성이 일어난다. ASL에 용해된 약물만이 이온 채널 형성에 기여할 수 있다는 점을 고려할 때, ASL에서 AmB의 평형 용해도보다 훨씬 높은 최저 ASL 농도(즉, $>0.2 \mu\text{g/mL}$)를 유지하는 용량 및 요법을 선택하는 것이 바람직하다.
- [0472] 흡입(IH) 투여 후 기도 내강에 침착된 약물 입자는 다중 제거 경로에 의해 ASL로부터 다른 구획으로 분배된다. 이는 다음을 포함한다: (1) ASL로부터 전신 순환으로의 용해된 AmB의 흡수; (2) 점액섬모 에스컬레이터 상에서 또는 기침 제거에 의한 미립자 제거; (3) 순환 및 조직 상주 폐포 대식세포에 의한 입자의 식균작용, 및 (4) 폐 문제와 AmB의 결합 또는 연관.
- [0473] AmB의 낮은 용해도로 인해, 전신 흡수는 용해 제한적이고, 점액섬모 에스컬레이터 상에서 제거되지 않은 대부분의 약물은 폐 조직으로 분배될 것이며, 여기서 느린 제거로 인해 시간이 지남에 따라 축적된다. 정맥내 투여와 마찬가지로, AmB의 IH 투여는 폐 조직으로부터 약물의 느린 재분배로 인해 ASL 및 혈장으로부터 2상 제거 동역학을 초래한다.
- [0474] ASL로부터 ABCI-001의 제거는 IT(연구 FY21-211A) 및 IH(연구 FY21-211B) 투여 둘 모두 이후에 Sprague-Dawley 래트로부터 수득된 기관지폐포 세척액(BALF) 샘플에서 평가되었다. FY21-211A 및 FY21-211B는 둘 모두 비-GLP 단일-용량 연구였다. 연구 FY21-211A는 5 mg/kg 의 전달 용량에서 ABCI-001 및 ABIP의 IT 투여를 평가하였다. 연구 FY21-211B는 코-단독 흡입에 의한 ABCI-001의 3개의 전달 용량(6.8 , 13.6 및 23 mg/kg)을 평가하였다. BALF 수집은 둘 모두의 연구에서 6개 시점(투여 후 0.5 , 1 , 2 , 4 , 8 , 및 16 시간)에 평가되었다. 기관지폐포 세척 절차는 ASL에서 AmB의 농도를 유의하게 희석시킨다. 우레아는 ASL 희석의 내인성 마커로서 사용될 있는데, 신체를 통한 우레아의 빠른 확산이 혈장 및 ASL에서 동일한 농도를 초래하기 때문이다. 이는 BALF 샘플에서 ASL 부피가 간단한 희석 원리를 통해 계산될 수 있게 한다. ASL에서 AmB 농도는 탠덤 질량 분광법과 함께 액체 크로마토그래피(LC-MS/MS) 방법을 사용하여 정량화하였고, ASL 및 혈장의 우레아 농도는 비색 혈액 우레아 질소 검정으로 정량화하였다.
- [0475] FY21-211B에서 투여된 3개의 전달 용량의 ABCI-001(6.8 , 13.6 , 및 23.0 mg/kg)에 대한 ASL AmB 농도 대 시간 프로파일을 단일 그래프에 조합하였고, 결과는 연구 FY21-211A에서 ABCI-001 및 ABIP의 5 mg/kg 용량의 기관내 투여 후 수득되었다. 이를 위해, ASL 농도를 12 mg/kg 용량 수준으로 표준화하였다. 5개의 처리 각각에 대한 용량 표준화된 ASL 농도 대 시간 프로파일은 유의하게 중첩되고 유사한 감소 속도를 공유하는 것으로 보였기 때문에, 폴링된 데이터를 단일-지수 감소에 대한 방정식에 피팅하여 래트에서 이러한 초기 ASL 청소율을 추정하였다. 결과는 ASL에서 AmB에 대한 노출 및 초기 분포가 투여된 ABCI-001 용량과 본질적으로 무관하고 ABIP에 필적한다는 것을 나타낸다. 또한, 이 연구에서 래트에 ABCI-001 및 ABIP를 투여한 후 ASL에서 AmB의 초기 감소 반감기는 약 16 시간이었다. ASL로부터 AmB의 이러한 청소율은 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물의 1 일 1 회 투여를 뒷받침할 수 있다.
- [0476] **실시예 18: 조성물의 IH 투여 후 래트 및 개에서 AmB에 대한 폐 조직 분포 및 제거**
- [0477] IH 투여 후, ASL에 존재하는 AmB의 상당 부분이 폐 조직으로 분포된다. 폐 조직 농도는 Sprague-Dawley 래트에서 ABCI-001(연구 FY21-235), 및 래트에서 ABCI-003(연구 FY22-071), 및 비글 개에서 ABCI-003(연구 FY21-234)을 사용하여 28일 GLP 독성 연구에서 측정되었다. 폐 조직 농도는 또한 단일 용량의 ABCI-001(연구 FY21-211B), 및 다중 용량의 ABCI-003(연구 FY22-070)의 투여 후 비-GLP 연구에서 래트에서 측정되었다. 부검 시 평균 폐 조직 농도는 표 16에 상세히 기재되어 있다.

표 16. 조성물의 IH 투여 후 래트 및 개에서 AmB의 폐 조직 농도

연구	종	조성물	DD (mg/kg)	Freq	일	폐 부담 (mg/g)	대식세포 반응
FY21-211B	래트	ABCI-001	6.8	QD	1	0.010 ± 0.005	적응
			13.6	QD	1	0.014 ± 0.006	적응
			23.0	QD	1	0.016 ± 0.006	적응
FY21-235	래트	ABCI-001	4.7	QD	28	1.42 ± 0.29	이상
			9.3	QD	28	1.93 ± 0.27	이상
			17.3	QD	28	2.94 ± 0.52	이상
FY22-070	래트	ABCI-003	4.8	QD	14	1.70 ± 0.44	이상
FY22-071	래트	ABCI-003	1.1/0.2	QW	29	0.019 ± 0.004	적응
			2.6/0.4	QW	29	0.050 ± 0.014	적응
			5.7/1.1	QW	29	0.088 ± 0.031	적응
FY21-234	개	ABCI-003	0.5	QD	28	0.25 ± 0.08	적응
			1.8	QD	28	1.38 ± 0.61	적응
			4.9	QD	28	3.54 ± 0.65	적응
1 상	인간	ABCI-003	10/4	QD	28	0.08 (추정치)	

SD = 표준 편차; QW = 주 1회

¹ 42일 및 57일 측정을 제외하고, 모든 폐 조직 농도를 마지막 용량 투여 24시간 후에 정량화하였다

² 연구 FY22-071에서 투여는 부하/유지 용량을 이용하여 매주(QW)였다.

14일 또는 28일에 걸쳐 ≥ 1.8 mg/kg/일의 용량을 반복 전달한 후, AmB의 평균 폐 농도는 일반적으로 래트 및 개 둘 모두에서 1.0 mg/g을 초과하였다. 둘 모두의 종에서 폐 농도는 용량이 증가함에 따라 증가했지만, 비례적인 방식은 아니었다. 반복 투여 종료 시 둘 모두의 종에서 ABCI-001 및 ABCI-003으로부터의 AmB의 평균 폐 조직 농도는 리포솜 AmB의 반복된 IV 투여 후 폐 조직에서 AmB에 대해 보고된 것보다 대략 80배 내지 100배 높았다. ABCI-001 및 ABCI-003으로 관찰된 폐 조직 농도는 IV 투여 후 간 및 비장에서 L-AMB에 대해 측정된 것과 유사하다($1-10$ mg/g). ABCI-001 및 ABCI-003의 반복 투여로 관찰된 폐 조직 농도(>1.0 mg/g)는, 심지어 23.0 mg/kg만큼 높은 단일 용량에서도 ABCI-001 및 ABCI-003의 단일 용량의 투여 후에 결정된 폐 조직 농도(<0.1 mg/g)보다 유의하게 더 크다(연구 FY21-211B). 반복 투여에 따른 폐 조직 수준의 큰 증가는 폐에서 실질적으로 불용성인 약물 물질의 축적 때문이다. 축적 비율 AR은 투여 간격과 정상 상태에서 약물의 제거 속도 간의 관계를 나타내며, 즉, $AR = 1 / 1 - e^{-k\tau}$ 이다(여기서 k 는 최종 제거 속도 상수이고 τ 는 투여 간격이다).

FY21-234에서 개의 폐 조직에서 ABCI-003에 대해 측정된 $t_{1/2}$ 는 약 10일이었다. 래트에서 ABCI-003의 세척 동안 측정된 폐 조직 $t_{1/2}$ (연구 FY22-071)는 중간- 및 고-용량 그룹에서 20-25일이었다. 개에서 14일 GLP 연구에서 ABIP에 대해 폐 조직에서의 상당한 축적이 또한 관찰되었다. 투여 중단 후 폐 조직으로부터 AmB의 재분배에 대한 $t_{1/2}$ 는 19일이었다. 래트에서의 상응하는 14일 GLP 연구에서, 폐 조직으로부터의 재분배에 대한 $t_{1/2}$ 는 각각 1.1 및 12.4 mg/kg의 전달 용량에 대해 22 및 34일이었다. 이러한 결과는 IV 투여 후 간으로부터 AmB의 제거에 대해 측정된 1 내지 4주 $t_{1/2}$ 와 일치한다. 폐 조직으로부터 약물의 느린 재분배는 ASL 또는 혈장 구획에 들어가는 약물의 속도가 이의 흡수 또는 제거 속도보다 느린 플립-플롭 PK(flip-flop PK)로 인해 ASL 및 혈장으로부터 약물의 2상 제거를 초래한다.

AmB에 대한 최종 $t_{1/2}$ 가 약 20일인 것으로 가정되면, k 는 약 0.035 일⁻¹이다. 1일 1회 투여의 경우, AR은 29.4와 같고, 이는 1일 AmB 용량이 정상 상태에서 폐 조직에 최대 30배까지 축적될 것임을 나타낸다. 이러한 축적 정도

는 ABIP, ABCI-001, 및 ABCI-003에 대해 래트 및 개에서 측정된 높은 폐 조직 농도에 반영된다.

[0486] FY22-071 연구에서 관찰된 폐 조직에서 더 낮은 AmB 노출은 더 낮은 전달 용량 및 주 1회 투여 요법으로 인한 것이다. ABCI-003의 주 1회 투여의 경우, AR은 4.6과 동일하다. 유지 용량보다 5배 더 높은 부하 용량은 투여 기간 동안 일정한 폐 조직 농도를 유지하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 치료 표적이 ASL이라는 점을 감안할 때, 폐 조직에서 AmB의 평형 농도를 빠르게 달성하는 것은 ASL에서 이를 달성하는 것보다 덜 중요하다.

[0487] $ASL > 0.2 \mu\text{g/mL}$ 의 최저 농도를 유지하는 것은 본원에 기재된 조성물의 효능에 중요할 수 있다. 논의된 바와 같이, ASL에서 AmB의 측정된 $t_{1/2}$ 는 약 16시간이다. 이는 정상 상태에서 약 2의 AR을 초래한다. 따라서, 유지 용량보다 2.5 내지 3배 큰 부하 용량은 본원에 기재된 조성물의 투여 기간 동안 일관된 ASL 피크 및 최저 AmB 농도를 가능하게 할 수 있다.

[0488] **실시예 19: IH 투여 후 래트 및 개에서 AmB에 대한 혈장 독성동태시험**

[0489] 28일 GLP 독성 연구(연구 FY21-235)에서 ABCI-001의 단일 또는 반복 용량의 흡입 후 수컷 및 암컷 Sprague-Dawley 래트에 대해 혈장으로부터 AmB의 제거를 평가하였다. 연구는 4.7 mg/kg(저-용량), 9.3 mg/kg(중간-용량), 및 17.3 mg/kg(고-용량)의 그룹 평균 달성된 전달 용량을 갖는 3개의 치료 그룹을 포함하였다. 투여 전, 투여 후 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 및 24.0시간에 혈장 샘플을 수집하고, 혈장 AmB 농도를 1 ng/mL의 정량 하한을 갖는 검증된 LC-MS/MS 방법으로 정량화하였다. 독성동태시험 파라미터는 Phoenix WinNonlin 버전 8.3 소프트웨어를 사용하여 결정되었다.

[0490] 암컷이 수컷보다 지속적으로 더 높은 노출을 보였지만, 성별 간의 차이에 대한 증거는 제한적이었다. 그 결과, 수컷 및 암컷의 조합 평균이 표 17에 제시되어 있다. AmB의 낮은 용해도로 인해, AmB의 전신 흡수는 단일 또는 반복 흡입 후 느렸고, 최대 농도까지의 중간 시간(t_{max}) 값은 일반적으로 용량, 동물 성별, 및 투여일과 무관하게 4 내지 8시간으로 관찰되었다. 28일 투여 기간에 걸쳐 혈장에서 AmB의 최소 측적이 관찰되었고, 마지막 측정 가능한 농도에 대한 시간 농도 곡선하 용량-표준화 면적(AUC_{last}) 및 최대 농도(C_{max})에 대한 평균 측정 비율은 0.699 내지 1.51의 범위이다. 1일에, 저-, 중간- 및 고-용량 수컷은 보고 기준을 통과하여 이들의 혈장 ABCI-001 제거 $t_{1/2}$ 는 5.28 내지 8.55시간 범위의 값으로 추정될 수 있었다. 28일에, 저- 및 중간-용량 암컷에 대한 제거 $t_{1/2}$ 는 7.16 내지 9.33시간이었다. 이러한 값은 24시간 샘플링 기간을 갖는 래트에서 4 mg/kg IV 용량의 AmBisome에 대해 보고된 8시간 $t_{1/2}$ 값과 일치한다.

[0491] 표 17. 저, 중간, 및 고용량에 대해 ABCI-001의 투여 후 1일에 또는 28일 연속 일일 투여 후 28일에 래트 혈장에서의 평균 TK 파라미터의 요약(연구 FY21-235)

메트릭	저용량 (4.7 mg/kg)		중간-용량 (9.3 mg/kg)		고용량 (17.3 mg/kg)	
	1일	28일	1일	28일	1일	28일
C_{max} (ng/mL)	52.7 ± 15.0	36.9 ± 10.6	48.7 ± 9.7	46.1 ± 20.0	53.6 ± 8.4	54.5 ± 21.3
$AUC_{0-24\text{h}}$ (hr ng/mL)	701 ± 200	557 ± 130	747 ± 245	682 ± 230	794 ± 68	1010 ± 364
$t_{1/2}$ (h)	5.56	7.16	5.28	9.33	8.55	N.A.

[0492] $AUC_{0-24\text{hr}} = 0$ 내지 24시간의 시간 농도 곡선하 면적; C_{max} = 최대 농도; $t_{1/2}$ = 반감기

[0493] 래트에서 평균 혈장 C_{max} 값은 동등한 용량의 IH ABCI-001과 비교하여 IV 리포솜 AmB(AmBisome)에 대해 약 100배 더 큰 반면(표 18), 폐 조직 C_{max} 값은 83배 더 낮다. 래트에서 폐 침착 분율을 0.1이라고 가정할 때, 1일에 24시간에 걸쳐 전신 흡수된 ABCI에 대한 절대 생체이용률은 약 3%이다. 이는 조직으로의 약물의 높은 분포에 대한 추가적인 증거이다.

[0494] IH 투여는 IV 투여 후 달성된 것보다 거의 100배 더 높은 폐 조직 농도 및 100배 더 낮은 혈장 농도를 가지며, 폐에 대한 약물의 유의한 표적화를 제공한다.

표 18. Sprague-Dawley 래트에서 동등한 용량의 IH ABCI-001과 IV AmBisome의 혈장 및 폐 조직 노출의 비교

생성물	경로	용량 (mg/kg)	일	혈장 C _{max} (ng/mL)	C _{max} (IV) / C _{max} (IH) (plasma)	폐 C _{max} (mg/g)	C _{max} IH / C _{max} (IV) (lung)
AmBisome	IV	4	1	14200 ± 2450	269	14.5	
ABCI-001	IH	4.7	1	52.7 ± 15.0		1200	83

혈장 TK는 또한 28일 GLP 독성 연구(연구 FY21-234)에서 ABCI-003의 단일 또는 반복 용량의 흡입 후 수컷 및 암컷 비글 개에 대해 평가되었다. 이 연구는 0.51 mg/kg(저-용량), 1.8 mg/kg(중간-용량), 및 4.9 mg/kg(고-용량)의 평균 전달 용량을 갖는 3개의 용량 그룹을 포함하였다. 샘플 수집 시간, AmB 정량화 및 비구획 데이터 분석을 래트에 대해 상기 기재된 바와 동일한 방식으로 수행하였다.

명백한 성별 차이에 대한 증거는 제한적이었으므로, 수컷 및 암컷의 조합 평균이 표 19에 제시되어 있다. 래트에서와 같이, 혈장 노출은 1일 및 28일에 용량에 비례하지 않는 방식으로 증가하였고, AmB 농도는 특히 중간- 및 고-용량 그룹의 경우 24시간 시점까지 C_{max} 수준 또는 그 근처에서 상승된 채로 유지되었다. 농도는 28일에 부검 시 및 42일에 흡입으로부터 회복된 지 14일 후에 모든 동물에서 여전히 정량화할 수 있었다.

표 19. 단일 용량 후 1일 또는 28일에 개 혈장에서 ABCI 평균 TK 파라미터(± SD)의 요약(연구 FY21-234)

메트릭	저-용량 (0.51 mg/kg)		중간-용량 (1.8 mg/kg)		고-용량 (4.9 mg/kg)	
	1일	28일	1일	28일	1일	28일
C _{max} (ng/mL)	3.02 ± 0.79	9.56 ± 4.25	6.44 ± 2.43	13.9 ± 4.4	15.0 ± 5.1	33.8 ± 9.2
AUC _{0-24 h} (hr ng/mL)	53.6 ± 10.3	166 ± 52	115 ± 42	265 ± 71	263 ± 86	655 ± 183

래트와 대조적으로, 28일 투여 기간에 걸쳐 개에서 혈장 AmB 축적의 일관된 증거가 있었고, 0에서 24시간의 시간 농도 곡선하 용량-표준화 면적(AUC_{0-24hr}) 및 C_{max} 값에 대한 평균 축적 비율은 1.54 내지 3.58의 범위이다. 약물 배치의 이러한 차이는 두 종 사이의 폐 해부학 및 생리학의 차이를 반영할 수 있다. ABCI-003으로 관찰된 측정된 혈장 농도 및 축적의 크기는 ABIP에 대한 이전 연구와 일치하였다.

혈장 ABCI-003 제거 t_{1/2}는 회복 연구에서 2마리의 고-용량 암컷 동물에 대해서만 추정 가능하고 보고 기준을 통과했으며, 값은 103 및 105시간이다. IV 조성물에 대해 논의된 바와 같이, 조직으로부터의 재분배로 인한 혈장으로부터 AmB의 느린 제거로 인해, 비구획 방법을 사용하여 측정된 t_{1/2}는 샘플링 시간에 크게 영향을 받는다. 래트에 비해 개에서 관찰된 더 긴 t_{1/2}(약 100시간 대 5-10시간)는 단순히 더 긴 샘플링 기간(즉, 회복 동물의 경우 42일까지)을 반영한다.

개에서 평균 혈장 C_{max} 값은 유사한 용량의 IH ABCI-003과 비교하여 IV AmB 데옥시콜레이트(Fungizone®)의 경우 약 100배 더 크고 IV 리포솜 AmB(AmBisome®)의 경우 약 1000배 더 컸다(표 20). 폐 조직 농도는 ABCI-003의 경우 19 내지 100배 더 높다. 개에서 0.25의 침착 분율을 가정하면 24시간에 걸친 절대 생체이용률은 0.6%였다. 래트 및 개에서 관찰된 낮은 생체이용률은 Fungizone® 및 AmBisome®의 IH 투여로 관찰되고 본원에 기재된 구체예에 따른 조성물의 IH에 대해 예상되는 낮은 전신 독성과 일치한다.

표 20. 비글 개에서 동등한 용량의 IH ABCI과 IV Fungizone 및 AmBisome의 혈장 및 폐 조직 노출의 비교

생성물	경로	용량 (mg/kg)	일	혈장 C _{max} (ng/mL)	C _{max} (IV) / C _{max} (IH) (혈장)	폐 C _{max} (mg/g)	C _{max} IH / C _{max} (IV) (폐)
Fungizone	IV	0.6	1	232	77		
			14	1323	138	15.4	
ABCI-003	IH	0.5	1	3			
			28	9.6		300	19
AmBisome	IV	4	1	20000	1333		
			30	100000	2954	31	
ABCI-003	IH	4.9	1	15			
			28	33.8		3100	100

[0506] 실시예 20: 래트 및 개에서의 독성 연구

[0507] 연구 FY21-211B에서 관찰된 독성(래트에서의 단일 용량 연구). 연구 FY21-211B에서, 비-GLP 연구에서 54마리의 Sprague-Dawley 래트에 단일 용량의 6.8, 13.6, 및 23.0 mg/kg의 ABCI-001을 코-단독 흡입을 통해 투여하였다. ABCI-001 조성물은 30% w/w의 AmB 및 1.2 mol/mol의 Chol/AmB 비율을 포함한다. ABCI-001은 부검 시 비정상적인 임상 관찰 또는 거시적 관찰 없이 잘 관용되었다. 혈장, ASL 및 폐 조직에서의 AmB 노출은 용량에 비례하는 방식은 아니지만 용량 증가에 따라 증가하는 경향이 있었다. 측정된 폐 조직 농도는 각각 0.010, 0.014, 및 0.016 mg/g이었다. 폐포 대식세포에서 용량-의존적 증가가 관찰되었지만, 조직병리학에서 언급된 불리한 변화(예를 들어, 염증 세포의 증가)는 없었다. 대식세포의 증가는 흡입된 건조 분말의 정상적인 미립자 제거에 기인하였다. 비-GLP 연구이지만, 23.0 mg/kg 용량은 10배 안전역을 갖는 약 46 mg의 ABCI의 단일 인간 용량을 뒷받침할 것이다.

[0508] 연구 FY21-235에서 관찰된 독성(래트에서의 28-d GLP 연구). 성공적인 단일-용량 연구 후, 14일 회복을 갖는 28-d GLP 반복 용량 독성 연구를 ABCI-001을 이용하여 래트에서 수행하였다(연구 FY21-235). 실질적으로 불용성인 AmB 약물 물질의 느린 제거는 4.7, 9.3, 17.3 mg/kg/일의 일일 용량 후 폐 조직에서 AmB의 유의한 축적을 초래하였다. 저-, 중간-, 및 고-용량 그룹에서 AmB의 폐 조직 농도는 각각 1.2, 2.0, 및 2.9 mg/g이었다.

[0509] 피크 혈장 약물 농도는 비슷한 농도의 AmB의 정맥내 투여 후 관찰된 것보다 100 내지 1000배 더 낮고 전신 독성에 대한 1000 ng/mL 역치보다 훨씬 낮은 55 ng/mL 미만으로 유지되었다.

[0510] 저, 중, 및 고용량 그룹에서, 각각 4/38, 3/38, 및 13/47마리의 동물에서 조기 사망이 발생하였다. 이는 점액성 물질의 과분비로 인한 큰 기도의 폐쇄로 인한 것으로 추정되었다. ABCI-001 처리된 그룹의 일부 동물은 투여 단계 동안 간헐적으로 호흡기-관련 증상(천명, 축지성 수포음, 빠른 호흡)을 가졌다. 첫 번째 증상은 4일에 고용량 그룹에서 나타났고, 노출이 지속됨에 따라 더 자주 나타났다. 그러나, 임상 징후와 사망률 사이의 상관관계는 낮았다.

[0511] 체중, 음식 소비, 혈액학, 임상 화학, 및 응고에서 중요한 차이는 관찰되지 않았다.

[0512] 조직병리학 평가는 모든 용량 그룹에서 수컷 및 암컷의 후두, 기관, 및 폐에서 병변을 나타내었다. 결과는 황색/금색 착색된 대식세포의 최소 내지 중간 증가, 후두, 기관 및 폐에서 최소 내지 중간의 혼합 세포 염증, 점액 물질의 최소 내지 중간 축적, 및 호흡기 상피 세포 과형성의 최소 내지 중간 증가로 구성되었다. 연구 FY21-235에서 관찰된 유의한 이환율 및 사망률로 인해, 관찰 가능한 부작용 수준(NOAEL)은 확립될 수 없었다. 가장 낮은 부작용 수준(LOAEL)은 연구된 가장 낮은 용량(4.7 mg/kg)이었다.

[0513] 연구 FY22-071(래트에서의 28-d GLP 연구). 14일 회복을 갖는 두 번째 28일 GLP 연구를 Sprague-Dawley 래트에서 수행하였다(연구 FY22-071). 이 연구는 ABCI-003을 이용하였고 폐 조직에서 훨씬 낮은 AmB 부담을 달성하였다. ABCI-003 조성물은 0.4 mol/mol의 Chol/AmB 비율로 14% w/w AmB를 포함한다. ABCI-001과 비교하여, ABCI-003은 고도로 정렬된 so 상에서 지질의 유지로 인해 감소된 입자간 응집력을 가질 수 있다. 3개의 용량 그룹은 부하 용량에 이어 매주 유지 용량을 이용하였다. 저-, 중간- 및 고-용량 용량은 각각 1.08/0.17 mg/kg, 2.54/0.41 mg/kg, 및 5.74/1.06 mg/kg이었다. 폐 조직 농도는 저-, 중간- 및 고-용량 그룹에 대해 각각 0.019, 0.050 및 0.088 mg/g이었다.

[0514] 연구 FY21-235와 대조적으로, 연구 FY22-071의 수명 부분은 이환율 또는 사망률의 증거를 나타내지 않았다. 총 병리학 결과도 현저하지 않았다. 대식세포의 최소 증가가 관찰되었지만, 이러한 발견은 연구 FY21-235에서 언급된 불리한 소견(점액 물질, 상피 과형성, 또는 염증)을 동반하지 않았다. 체중, 음식 소비, 혈액학, 임상 화학, 및 응고에서 중요한 차이는 관찰되지 않았다. NOAEL은 최고 투여 용량, 즉, 5.74/1.06 mg/kg이었다.

[0515] 연구 FY21-234(개에서의 28-d GLP 연구). 연구 FY21-234는 ABCI-003을 0.5, 1.8, 및 4.9 mg/kg의 일일 용량으로 비글 개에게 투여하였다. 개에서의 고용량은 NOAEL이 확립되지 않은 래트에서의 연구 FY21-235에서의 저용량과 유사하였다. 또한, 래트와 마찬가지로, 폐 조직에서의 노출은 높았다(0.25, 1.38, 및 3.54 mg/g). 그러나, 래트 연구와 대조적으로, 임의의 용량에서 이환율 또는 사망률이 개에서는 관찰되지 않았다. 임상 징후, 체중, 음식 소비, 임상 병리학(혈액학, 응고, 소변검사), 안과, ECG 파라미터는 모두 ABCI-003에 의한 처리에 의해 영향을 받지 않았다. 저용량에 대한 29일 동안의 임상 병리학 결과는 효과를 나타내지 않았다. 불행히도, Clinical Chemistry Analyzer 오작동으로 인해, 29일에 중간- 및 고-용량 그룹 및 회복 그룹에 대한 데이터(공기, 플라시보 대조군 및 고-용량)를 평가할 수 없었다. 훨씬 더 큰 혈장 노출에서 전신 AmB 투여의 임상 화학에 대한 효과의 공지된 임상 프로파일 및 조성물과 AmB 관련 조성물(예를 들어, ABIP)의 임의의 다른 흡입 독성 연구

구에서 임상 화학적 소견이 관찰되지 않았다는 사실을 고려할 때, 잠재적으로 임상 병리학적 소견을 놓칠 우려는 거의 없을 것이다.

- [0516] 또한, 착색된 대식세포의 수의 증가가 관찰되었지만, 염증, 점액 과분비, 또는 상피 세포 과형성의 증가 징후는 없었다. 조직병리학적 소견은 유해하지 않은 것으로 간주되었고 폐로부터의 정상적인 미립자 제거와 일치하였다. NOAEL는 고용량 그룹, 즉, 4.9 mg/kg/일이었다.
- [0517] 요약. 이론으로 국한시키려는 것은 아니지만, 폐 조직으로부터 AmB의 느린 제거는 매일 투여시 약물의 유의한 축적을 초래하는 것으로 여겨진다. 폐 내의 임의의 종류의 다량의 용해되지 않은 미립자 물질은 단순히 호흡기에 존재하는 이물질의 물리적 부담과 관련된 적응성, 및 궁극적으로 이상 폐 변화를 초래할 수 있다. 이러한 변화는 약물의 임의의 화학적 기반 또는 약리학적으로 매개된 독성과 무관할 수 있다.
- [0518] 불용성 물질의 양이 증가함에 따라, 대식세포의 수가 증가하고, 과도한 대식세포 자극은 다른 염증 세포의 동원을 초래하고, 결국 이차 조직 손상을 일으킬 수 있다. 이러한 반응은 종종 '폐 과부하'로 지칭된다. 대식세포를 사멸시키거나 이들의 기능을 손상시킬 수 있는 결정질 석영과 같은 화합물로부터의 직접적인 대식세포 독성으로부터 저독성 미립자의 부피 과부하로 인한 대식세포 폐 청소율의 감소를 구별하는 것이 중요하다.
- [0519] 폐 조직에서 난용성 입자(예를 들어, 이산화티탄, 카본 블랙)의 농도가 약 1 mg/g을 초과할 때 폐 과부하와 관련된 불리한 관찰이 발생한다. 적응 반응(즉, 염증 반응이 없는 대식세포의 증가)은 전형적으로 농도가 약 0.1 mg/g 미만일 때 관찰된다.
- [0520] 연구 FY21-235에서, 저-, 중간-, 및 고-용량 그룹에서 AmB의 폐 농도는 각각 1.2, 2.0, 및 2.9 mg/g이었으며, 이는 래트에서 폐 과부하에 대한 역치 농도를 초과한다. 폐 과부하 현상과 일관하게, 이러한 폐 부담은 모든 용량 그룹에서 상당한 이환율 및 사망률을 초래하였다. 이는 래트 대식세포가 과부하에 특히 민감하다는 것을 입증하는 다른 연구와 일치한다.
- [0521] 연구 FY22-071에서, 적응성 대식세포 반응만이 예상되는 0.1 mg/g 역치 미만의 AmB 폐 조직 농도를 유지하도록 용량 및 요법을 조정하였다. 실제로, 폐 과부하와 관련된 독성의 증거 없이, 대식세포의 최소 증가만이 관찰되었다.
- [0522] 23 mg/kg만큼 높은 ABCI-001의 단일 용량(연구 FY21-211B)이 또한 래트에서 낮은 폐 부담(0.016 mg/g) 및 적응성 대식세포 반응을 초래하였다는 것이 또한 주목할 만하다. 이는 부작용이 투여 후 폐 상피에서 높은 AmB 농도에 대한 급성 반응이 아닐 수 있고, 오히려 시간 경과에 따른 폐 조직에서의 약물 축적으로 인한 것일 수 있음을 시사한다.
- [0523] 1.0 mg/g 초과 및 0.1 mg/g 미만의 농도에서 래트에서 조성물로 관찰된 적응 및 이상 반응은 이산화티탄 및 카본 블랙과 같은 불용성 화합물에 대해 보고된 것과 일치한다. 이러한 관찰은 연구 FY21-235에서 ABCI-001로 관찰된 독성이 화학적으로 또는 약리학적으로 매개된 약물 효과가 아니라, 오히려 실질적으로 불용성인 입자의 폐 과부하와 관련된 대식세포 반응 때문이라는 주장을 뒷받침한다.
- [0524] 일반적으로, 래트는 유사한 투여 조건 하에 다른 종보다 폐 과부하의 영향에 훨씬 더 민감하다. 이는 분명히 ABCI-003의 경우이며, 여기서 NOAEL은 1.23 mg/kg의 침착 용량에서 개에서 확립된 반면, 폐 과부하는 약 3배 더 낮은 침착 용량(0.47 mg/kg)에서 래트에서 여전히 관찰되었다. Forbes와 동료들은 대식세포 과부하와 관련된 종차이를 요약하였고, 래트가 마우스 또는 햄스터보다 이러한 현상에 더 민감하다고 보고하였다(Forbes et al. Adv Drug Deliv Rev. 2014, 71, 15-33). 난용성 입자(예를 들어, 이산화티탄, 석탄 분진, 실리카)의 더 높은 분획 침착 및 더 느린 청소율에도 불구하고, 폐 과부하는 인간에서 흔하지 않다. 감소된 민수성은 해부학적 차이(즉, 래트에 호흡 세기관지 없음) 및 생리학적 차이(즉, 간질 대식세포에 의한 더 큰 입자 흡수 및 림프관으로의 수송)와 관련된 것으로 보인다. 따라서, 래트에서 관찰된 독성은 인간에서의 독성을 예측하지 못할 수 있으며, 개는 인간 위험을 평가하기에 가장 적합한 종으로 간주된다.
- [0525] 래트는 민감한 종이지만, 개가 인간의 위험을 평가하는데 더 적합한 종이라고 여겨진다. 개에서의 NOAEL(4.9 mg/kg)은 건강한 지원자에서의 1 상 단일-상승 용량 임상 연구에서 최대 제안된 공칭 용량(즉, 10 mg)에 비해 12.6배의 안전역을 제공한다. 건강한 지원자에서 1 상 다중 상승 용량 연구에서 최대 제안된 일일 용량에 대해 안전역은 31.5배로 증가한다.
- [0526] 안전역을 추정하는 대안적인 방법은 폐 조직에서 AmB 노출에 기반하여 하기에 상세히 설명되어 있다. 인간에서 10 mg 부하 용량에 이어 4 mg 일일 유지 용량을 투여한지 28일 후에 인간 대상체에서 예상되는 폐 조직 농도는

0.08 mg/g이다. 이는 폐 과부하를 유발하는 것으로 알려진 래트에서의 폐 조직 농도보다 12.5배 낮다. 또한, 래트에서 적응 반응만이 관찰되는 0.1 mg/g 폐 조직 농도 미만이다.

[0527] 실시예 21: 초기 임상 개발을 위한 PLCI-002, ABCI-003 및 ABCI-004의 개발 배치와 GMP 배치의 고체 상태 특성의 비교

[0528] GLP 독성 연구에 사용된 개발 배치 및 초기 임상 개발에 사용된 GMP 배치에 대해 유사한 XRPD 회절 패턴(도 13) 및 시차 주사 열량측정법에 의해 결정된 주요 전이 온도(도 14)가 관찰되었다. 결과는 습식-분쇄된 암포테리신 B 결정이 탈수된 분말에 대해 90℃를 초과하는 주요 전이 온도(즉, 겔에서 액체 결정상으로의 전이 온도)를 갖는 인지질과 콜레스테롤의 혼합물을 포함하는 셀 내에 매립되면서 이들의 결정도를 유지함을 시사한다.

[0529] 실시예 22: ABCI-003의 GMP 배치의 에어로졸 성능

[0530] 분무-건조된 ABCI-003 분말을 드럼-충전 공정(Harro Hofliger)을 통해 크기 3 HPMC 캡슐에 우수한 정밀도(RSD < 3%) 및 정확도(2 mg 용량)로 충전하였다.

[0531] 캡슐 체류, 장치 체류 및 RS01 건조 분말 흡입기로부터의 AmB의 전달 용량은 4 L의 흡입 부피로 4 kPa의 압력 강하에서 결정되었다. 평균 전달 용량은 $83.1 \pm 2.4\%$ 였고, 캡슐 및 장치 체류는 각각 $6.3 \pm 0.27\%$ 및 $7.0 \pm 2.0\%$ 였다(N=5). 약물 농도를 RP-HPLC 방법으로 정량화하였다.

[0532] ABCI-003의 공기역학적 입자 크기 분포(PSD)는 상기 상세히 기재된 것과 동일한 조건 하에 작동되는 Next Generation Impactor에서 결정되었다(도 15). 배치 MSV-ENG-129는 1 상에서 사용하기 위한 GMP 분무-건조된 배치로의 충전 개발 실행을 나타낸다. 이 배치에 대한 결과는 냉장 조건에서 1개월 안정성 후 개발 로트와 비교된다.

[0533] APSD의 주요 특징은 다음을 포함한다: USP 인후 및 충격기의 단계 1에서의 5% 미만 침착. 단일모드 크기 분포는 단계 4에서 피크이며 단계 3 및 5에서 상당한 침착을 나타낸다. 개발 배치에 대한 MMAD는 2.5 μm 인 반면, 임상 물질을 사용한 2회의 실행은 2.8 μm 의 MMAD를 산출하였다. 5 μm 미만의 미세 입자 용량은 개발 배치의 경우 공칭 용량의 69.6% 및 임상 배치의 경우 66.8%였다. 총 폐 용량에 대한 대용물인, 여과를 위한 단계 3에서의 미세 입자 용량은 개발 배치의 경우 공칭 용량의 71.4% 및 임상 배치의 경우 70.6%였다. 개발 배치는 장치 및 캡슐에서 더 큰 침착을 가졌다. 전반적으로, 임상 배치는 공칭 용량의 60-70%의 총 폐 용량, 및 전달 용량의 75-85% 이상을 달성할 것으로 예상될 수 있다.

[0534] 참조에 의한 포함

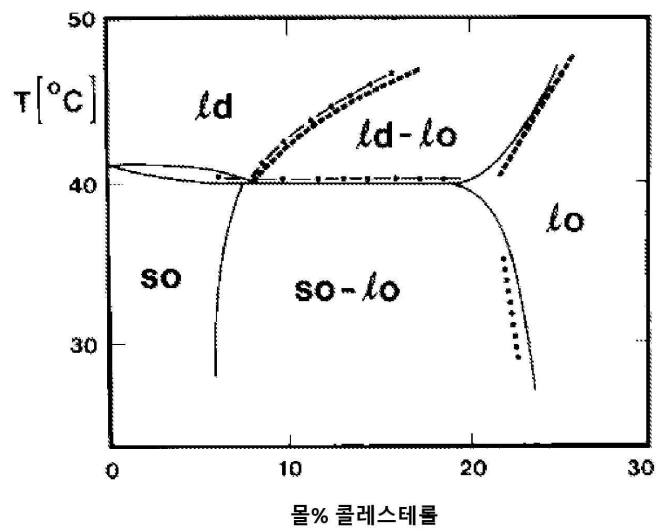
[0535] 상기 설명에서 언급된 모든 특허 및 공개된 특허 출원은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0536] 등가물

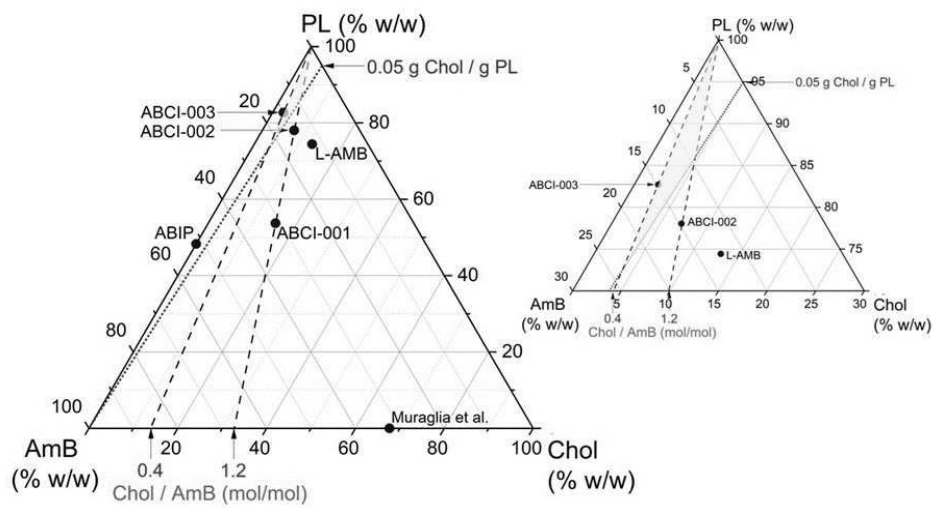
[0537] 이해의 명료성을 위해 예시 및 실례를 들어 본 발명을 어느 정도 상세하게 충분히 기술하였지만, 본 발명의 범위 또는 이의 임의의 특정 구체예에 영향을 주지 않으며 조건, 제형 및 다른 파라미터의 넓고 균등한 범위 내에서 본 발명을 수정하거나 변경함으로써 동일하게 수행될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이고, 이러한 수정 또는 변경은 첨부된 청구범위의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

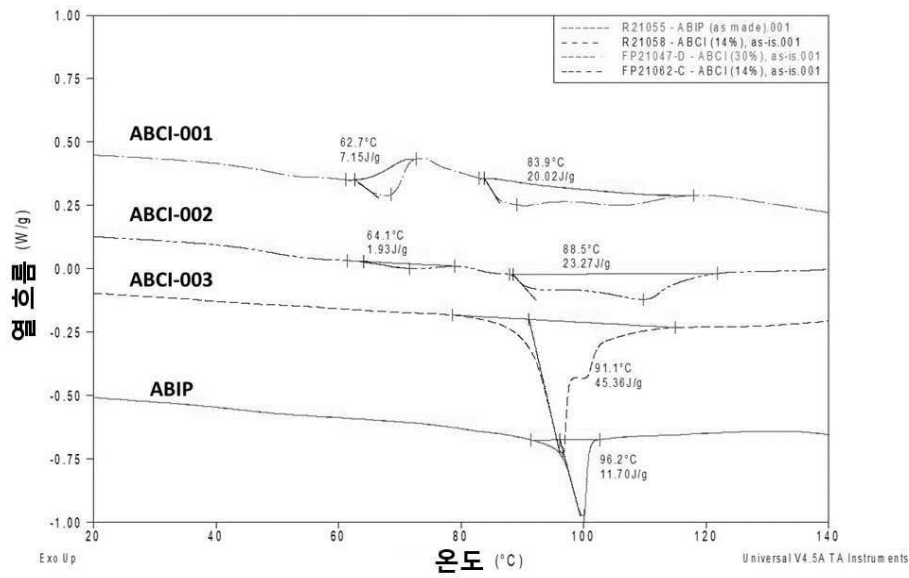
도면1



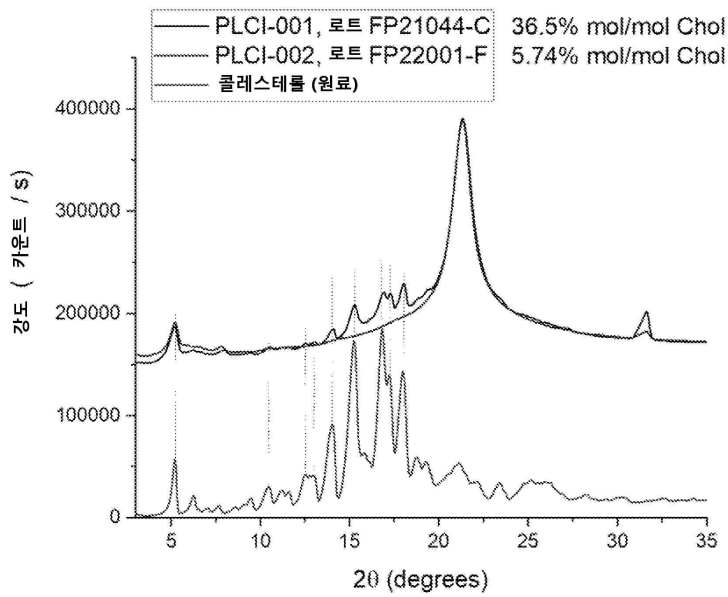
도면2



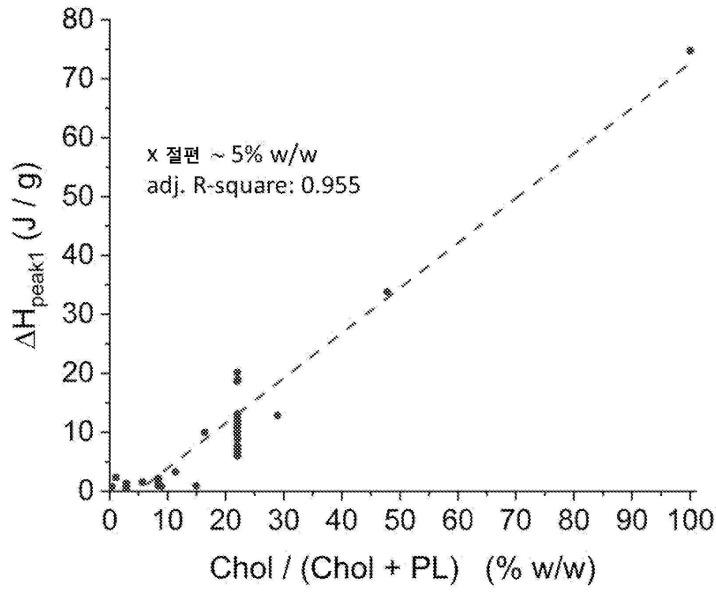
도면3



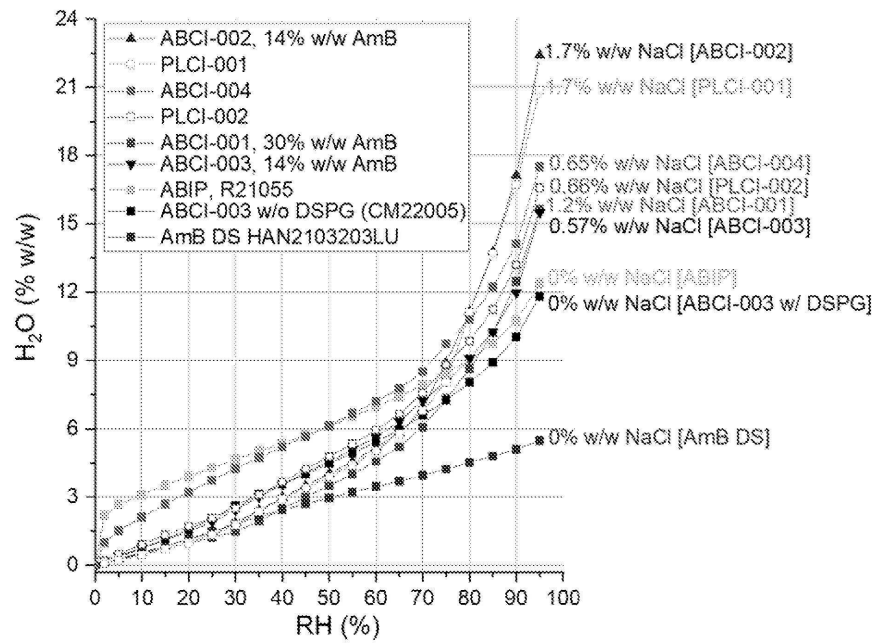
도면4



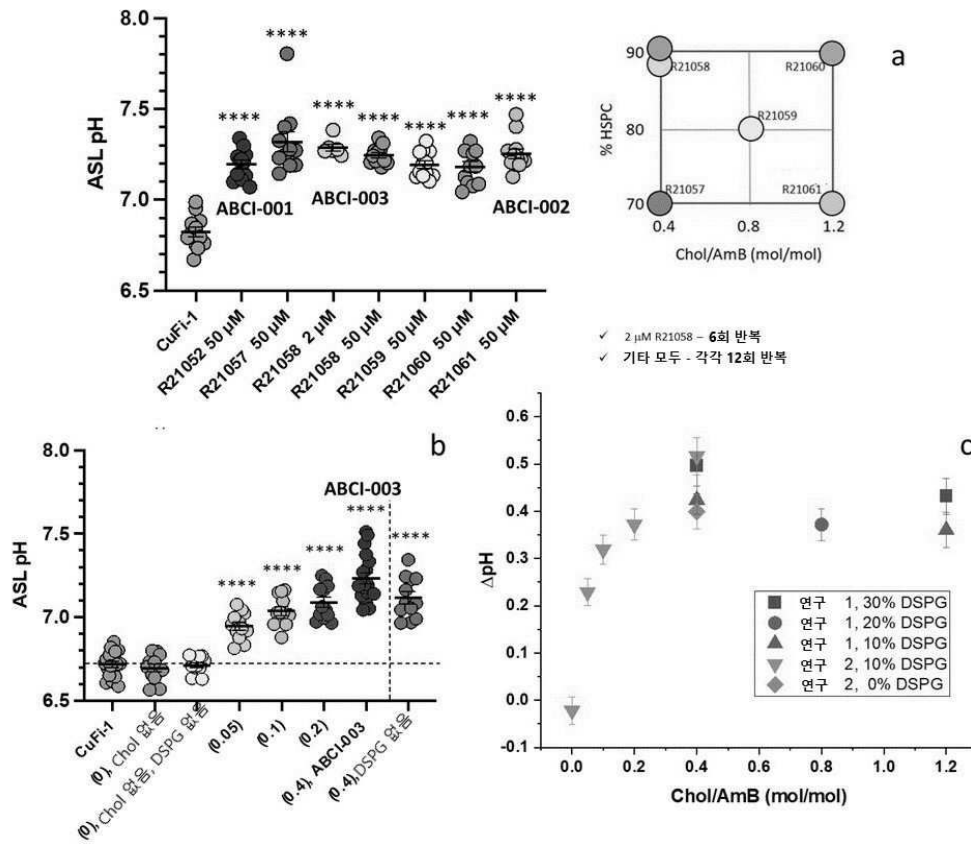
도면5



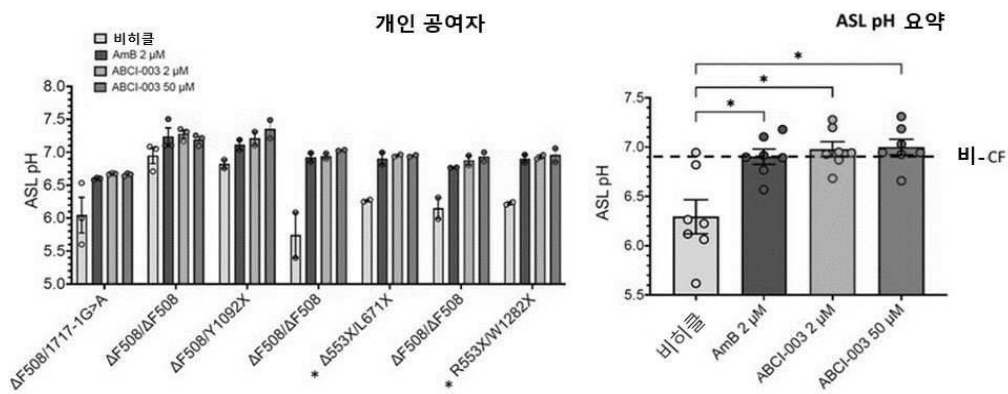
도면6



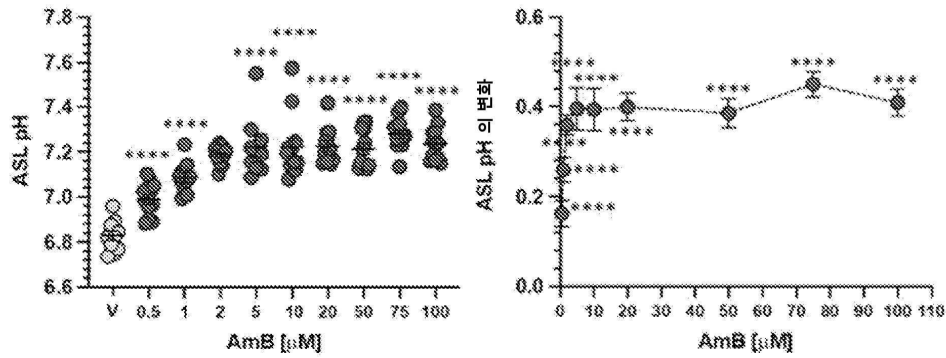
도면7



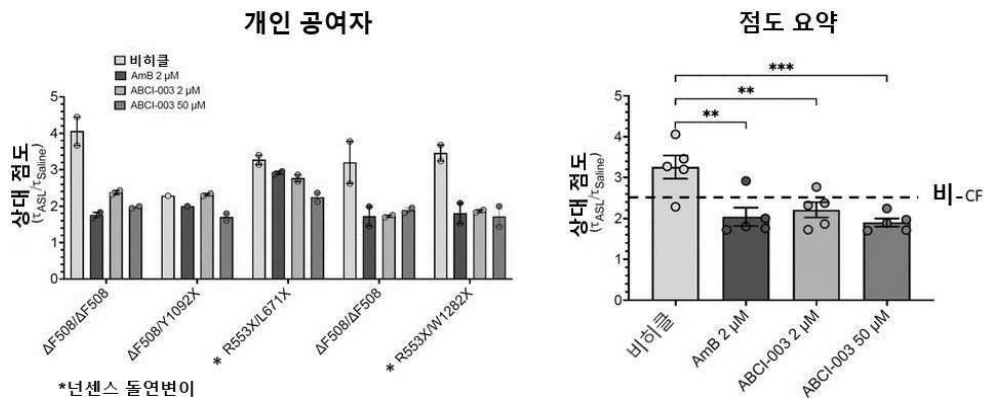
도면8



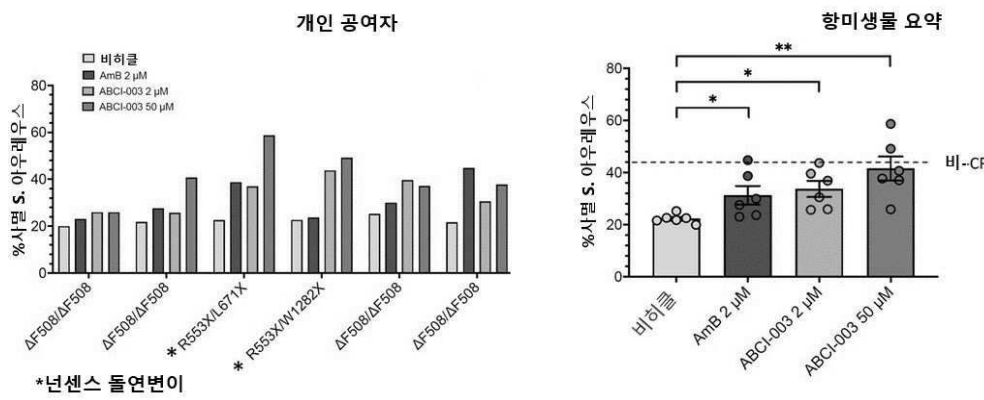
도면9



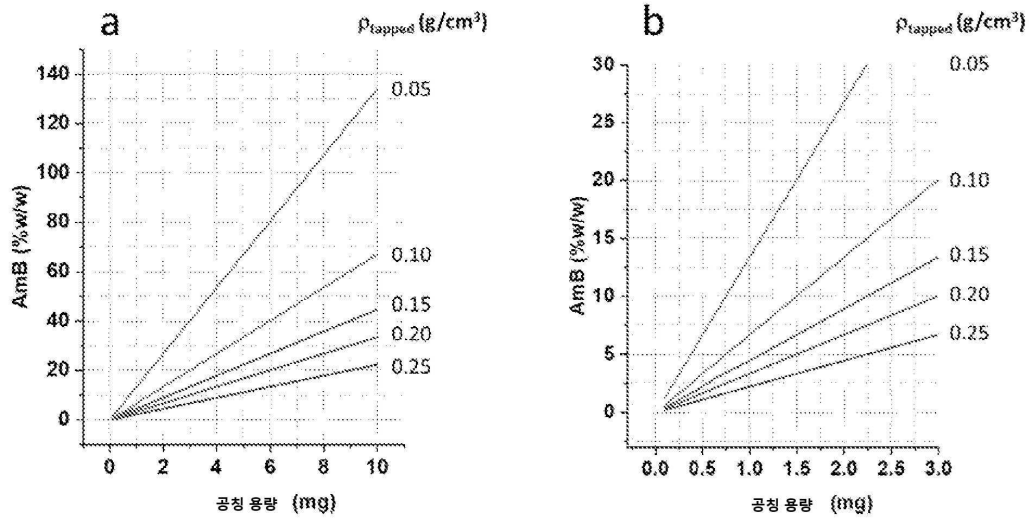
도면10



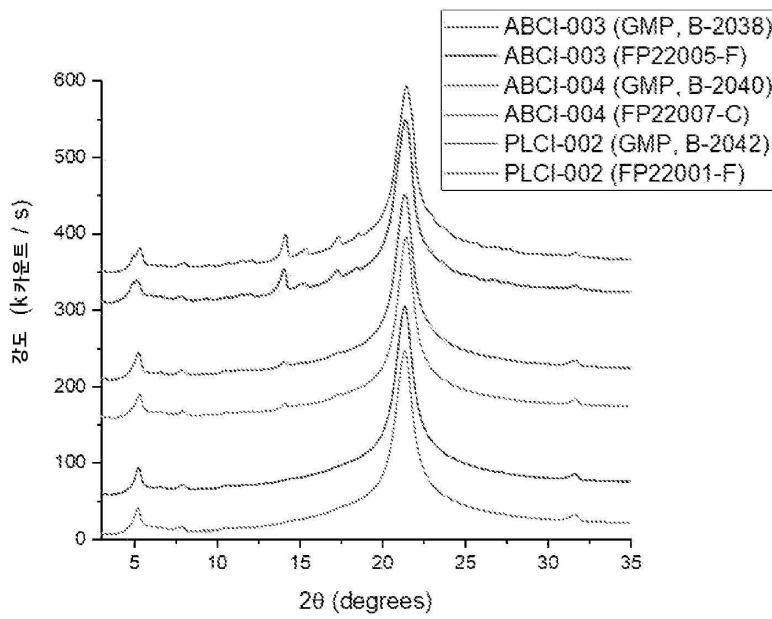
도면11



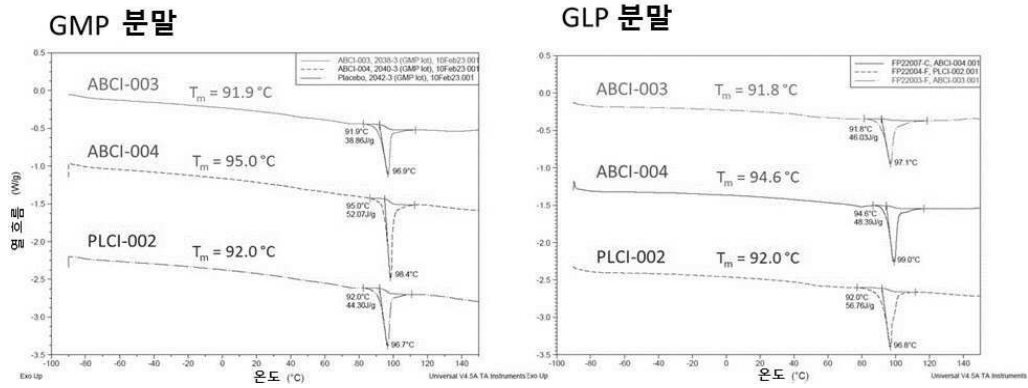
도면12



도면13



도면14



도면15

