(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 31 786 T3** 2008.07.24

(12) Übersetzung der geänderten europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 866 726 B2**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 31 786.9**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US96/05062**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 911 736.5**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1996/032152**
(86) PCT-Anmeldetag: **11.04.1996**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **17.10.1996**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **30.09.1998**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **03.03.2004**
(97) Veröffentlichungstag des geänderten Patents beim EPA: **09.01.2008**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **24.07.2008**

(51) Int Cl.[8]: ***A61M 15/00*** (2006.01)
A61M 16/00 (2006.01)
A61M 16/10 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 38/57 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

423515	**14.04.1995**	**US**
617512	**13.03.1996**	**US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
Nektar Therapeutics, San Carlos, Calif., US

(72) Erfinder:
EL JAMAL, Mohamed, Nadim Aljisr Street, LB;
PATTON, S., John, Portola Valley, US

(74) Vertreter:
Weickmann & Weickmann, 81679 München

(54) Bezeichnung: **ÜBER DIE LUNGEN VERABREICHBARES TROCKENPULVER ALPHA 1-ANTITRYPSIN**

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Neutrophile Elastase ist eine Breitbandprotease, von der bekannt ist, dass sie Zugang zu den Geweben der Lunge hat. Diese Protease ist im Allgemeinen dazu in der Lage, alle Hauptproteinkomponenten des alveolaren Interstitiums abzubauen. Die uneingeschränkte Wirkung dieser Protease mit ihren elastolytischen Eigenschaften kann zur Zerstörung des Lungenbindegewebes führen und zur anatomischen und funktionellen Störung des Lungenemphysems. Smith et al., J. Clin. Invest. 84:1145–1154 (1989).

[0002] α1-Antitrypsin ("α1AT") ist ein Proteaseinhibitor mit inhibitorischer Wirkung gegenüber neutrophiler Elastase. Es wurde gefunden, dass ein Mangel an α1-Antitrypsin im unteren Atemwegstrakt wesentlich ist für die Pathogenese von Emphysema aufgrund der entscheidenden Rolle von α1AT zum Schutz alveolarer Strukturen vor neutrophiler Elastase. Ein Mangel an α1AT ist eine genetische Erkrankung, die durch niedrige Plasma- und Lungenwerte des Inhibitors und die Entwicklung von Emphysema in der dritten bis vierten Dekade charakterisiert ist.

[0003] Es wurde gefunden, dass zusätzlich zu genetischem Mangel an α1AT die Lungen von Zigarettenrauchern mit Neutrophilen belastet sind. Insbesondere wurden entscheidend erhöhte Mengen an Neutrophilen in Zellsuspensionen gefunden, die aus bronchoalveolarem Lavagefluid und aus offenen Lungenbiopsien von sowohl normalen als auch sarkoiden Zigarettenrauchern isoliert wurden verglichen mit Nichtrauchern. Hunninghake und Crystal, Am. Rev. Respir. Dis. 128:833–838 (1983).

[0004] Behandlungsverfahren für α1AT-Mangel, ob genetisch oder erworben, konzentrierten sich zunächst auf eine Erhöhungstherapie durch Bereitstellen einer exogenen Quelle von α1AT für Patienten, die an einem solchen Mangel leiden. Die intravenöse Verabreichung wurde bei dieser Erhöhungstherapie bisher eingesetzt, um eine exogene Quelle an α1AT bereitzustellen. Um jedoch wirksame Konzentrationen des Inhibitors in den Geweben bereitzustellen, in denen er benötigt wird, z. B. im Lungengewebe, ist bei intravenösen Verfahren die Verabreichung von großen Mengen an α1AT, z. B. 4–5 g/Woche erforderlich. Außerdem muss diese intravenöse Verabreichung im Allgemeinen stationär in einem Krankenhaus durchgeführt werden.

[0005] Es wurde von erfolgreichen Ergebnissen berichtet durch Verwendung einer Verabreichung flüssiger α1AT-Formulierungen in Aerosolform. Die Verabreichung in Aerosolform stellt eine lokale Zufuhr des Inhibitors zu dem betroffenen Gewebe des unteren Atemwegtrakts bereit, wodurch niedrigere Dosierungen erforderlich sind. Siehe europäische Patentveröffentlichung Nr. 0 289 336, Smith et al., J. Clin. Invest. 84:1145–1154 (1989), Hubbard et al., J. Clin. Invest. 84:1349–1354 (1989), Hubbard et al., Lung Suppl. 565–578 (1990). In dem Dokument US 5 093 316 wird die Verabreichung von α1-Antitrypsin in Form von mikrokristallinem Trockenpulver offenbart.

[0006] Trotz der Verbesserungen bei der α1AT-Erhöhungstherapie bestehen noch immer Probleme. Insbesondere werden mit den Flüssigaerosolverfahren von denen bisher berichtet wurde nur für kurze Zeiträume, z. B. für mehrere Stunden, wirksame Mengen an α1AT im Lungengewebe bereitgestellt, wodurch häufig wiederholte Behandlungen mit höheren Dosierungen, z. B. >200 mg/Tag, erforderlich sind. Es besteht daher ein Bedarf an einem Verfahren zur Verabreichung von α1AT an Patienten, welches länger andauernde Vorteile bei einer einzelnen Behandlung bereitstellt und dadurch geringere und seltenere Dosen erfordert. Die vorliegende Erfindung erfüllt diese und andere Anforderungen.

Zusammenfassung der Erfindung

[0007] Es werden Verfahren zur Verabreichung von α1AT-Trockenpulverzusammensetzungen über die Lunge beschrieben. Die Verfahren stellen im Allgemeinen verbesserte Persistenz von α1-Antitrypsin in kritischen Geweben des unteren Atemwegstrakts gegenüber den bisher beschriebenen Flüssigaerosolverfahren bereit.

[0008] Die Verfahren umfassen im Allgemeinen die Bereitstellung von α1-Antitrypsin als Trockenpulver. Das α1-Antitrypsin-Trockenpulver wird zerstäubt und dem Patienten über die Lungen verabreicht. Speziell stellt die Erfindung gemäß einem ersten Aspekt ein Verfahren zur Herstellung einer α1-Antitrypsinzusammensetzung für pulmonale Verabreichung bei einem Patienten bereit, umfassend Bereitstellen von α1-Antitrypsin als trockene und im Wesentlichen amorphe Pulverzusammensetzung, die in einem Dosierungseinheitsbehälter untergebracht ist. Die Verfahren sind generell nützlich bei der Behandlung von Personen, die an einem genetischen oder erworbenen α1-Antitrypsin-Mangel leiden und sind insbesondere nützlich bei der Behandlung der funktionellen Störungen von Emphysema.

[0009] Die Aerosolisierung des Trockenpulvers α1AT für pulmonale Verabreichung wird im Allgemeinen unter Verwendung einer Trockenpulverinhalationsvorrichtung durchgeführt. Somit wird ein Apparat zur Durchführung der pulmonalen Verabreichung von α1-Antitrypsin-Trockenpulvern beschrieben, wobei die Vorrichtung im Allgemeinen ein Gehäuse umfasst, in dem eine Kammer angeordnet ist, wobei die Kammer eine wirksame Menge einer trockenen und im Wesentlichen amorphen α1-Antitrypsin-Pulverzusammensetzung enthält. Die Vorrichtung beinhaltet weiter eine Gasdruckquelle, die fluid mit der Kammer verbunden ist, um einen Gasstrom zu der Kammer zu befördern, um die Trockenpulverzusammensetzung zu aerosolisieren. In der Vorrichtung ist außerdem ein Zufuhrsystem für die Zufuhr der aerosolisierten Trockenpulverzusammensetzung enthalten, für die Inhalation durch den Patienten, welches fluid mit der Kammer verbunden ist.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0010] Fig. 1 zeigt die Konzentration von α1-Antitrypsin in Lymphgewebe im Zeitverlauf nach der Trockenpulveraerosolaussetzung. Drei Schafe wurden mit unterschiedlichen Aussetzungsprotokollen getestet.

[0011] Fig. 2 zeigt die Konzentration von α1-Antitrypsin in Lymphgewebe im Zeitverlauf nach Trockenpulveraerosolaussetzung. Zwei Aussetzungen wurden zum Zeitpunkt 0 und nach 50 h durchgeführt.

[0012] Fig. 3 zeigt die aus pulmonalem Lymphgewebe von Schafen gewonnenen α1AT-Werte nach mehrfacher Verabreichung durch Inhalation. Aerosolverabreichungen sind durch Pfeile markiert.

[0013] Fig. 4 zeigt mittlere Lymph- und Plasmakonzentrationen von α1AT in Schafen (n = 3) nach mehrfacher Verabreichung. Verabreichungen sind durch Pfeile markiert.

[0014] Fig. 5 veranschaulicht ein Schema von alveolaren Strukturen, die an der Wanderung von α1AT vom alveolaren Luftraum in das Plasma beteiligt sind.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

I. Allgemeines

[0015] Die vorliegende Erfindung stellt generell Verfahren bereit, um die Verabreichung von α1-Antitrypsin an einem Patienten zu ermöglichen. Typischerweise ist eine solche Verabreichung nützlich zur Behandlung von Patienten, die an einem Mangel an endogenem α1-Antitrypsin leiden. Mit "Mangel an endogenem α1AT" ist gemeint, dass die endogenen Werte an α1AT nicht ausreichend sind, um Schutz gegen die vorhandenen Mengen an neutrophiler Elastase zu bieten. Dieser Mangel kann in den Zielgeweben ausgeprägt sein durch α1AT-Werte unterhalb normaler Werte oder als überschüssige Mengen an neutrophiler Elastase. Die Verfahren umfassen im Allgemeinen die pulmonale Verabreichung von α1-Antitrypsintrockenpulver an dem Patienten und stellen im Allgemeinen eine verbesserte Beständigkeit von α1-Antitrypsin im Lungengewebe verglichen mit bisher beschriebenen Flüssigaerosolverabreichungsverfahren bereit.

II. Trockenpulverformulierung

[0016] Es wurde bereits bei der Behandlung zahlreicher Erkrankungen von der Verabreichung pharmazeutischer Zusammensetzungen in Aerosolform berichtet. Z. B. wurde die respiratorische Zufuhr von Insulinlösungen in Aerosolform sehr ausführlich beschrieben. Siehe z. B. Laube, et al., J. Am. Med. Assoc. 269:2106–2109 (1993), Elliott et al., Aust. Pediat. J. 23:293–297 (1987), Wiglet et al., Diabetes 20:552–556 (1971), Corthorpe et al., Pharm. Res. 9:764–768 (1992).

[0017] Die pulmonale Verabreichung von Trockenpulvermedikamenten wie beispielsweise Insulin in einem Trägervehikel für große Partikel wird im US-Patent Nr. 5,254,330 beschrieben. Ein Inhalator für eine abgemessene Dosis zur Verabreichung von kristallinem Insulin, welches in einem Treibmittel suspendiert ist, wird in Lee et al., J. Pharm. Sci. 65:567–572 (1976) beschrieben.

[0018] Die pulmonale Verabreichung von Trockenpulver-α1AT kann generell durch Trockenpulververabreichungsverfahren durchgeführt werden, die im Stand der Technik bekannt sind. Z. B. werden in der US-Patentanmeldung (WO 96/32149), eingereicht am 14. April 1995, Trockenpulververabreichungsverfahren beschrieben, die für die Verfahren und Verwendungen der vorliegenden Erfindung besonders geeignet sind.

[0019] α1-Antitrypsin ("α1AT") zur Verwendung in den Verfahren der vorliegenden Erfindung kann generell

aus zahlreichen Quellen erhalten werden. Z. B. sind sowohl natürliche als auch rekombinante Formen von α1AT kommerziell erhältlich, z. B. von Cutter Laboratories, Berkeley CA bzw. Cooper Labs, Mountain View CA. Alternativ dazu kann α1AT aus menschlichen Quellen isoliert werden, z. B. aus Cohn-Fraktion IV-I von Humanplasma gewonnen werden, oder durch gut bekannte rekombinante Verfahren hergestellt werden. Siehe US-Patent Nr. 4,599,311.

[0020] Die Herstellung der Trockenpulver-α1AT-Formulierungen kann generell unter Verwendung zahlreicher gut bekannter Verfahren durchgeführt werden einschließlich Lyophilisation, Sprühtrocknen, Agglomeration, Sprühbeschichten, Extrusionsprozessen und deren Kombinationen. In bevorzugten Ausführungsformen wird die Trockenpulver-α1AT-Formulierung unter Verwendung eines Sprühtrocknungs-/Agglomerationsprozesses hergestellt, in dem ein im Wesentlichen amorphes Pulver mit homogener Zusammensetzung hergestellt wird mit einer Partikelgröße, die leicht durch Atmung aufgenommen werden kann, das einen geringen Feuchtigkeitsgehalt aufweist und Fliesseigenschaften aufweist, die eine leichte Aerosolisierung ermöglichen.

[0021] Verfahren zur Herstellung von sprühgetrockneten, durch Atmung aufnehmbaren Pulverzusammensetzungen werden z. B. in der US-Anmeldung Serien-Nr. 08/423,515 (WO 96/32149), eingereicht am 14. April 1995, beschrieben. Typischerweise wird bei dem Sprühtrocknungsverfahren eine homogene wässrige Lösung von α1AT, die einen geeigneten Träger beinhalten kann oder nicht, über eine Düse, Spinnscheibe oder entsprechende Vorrichtung in einen heißen Gasstrom eingebracht, um die Lösung zu atomisieren, um feine Tröpfchen zu bilden. Obwohl als eine Lösung beschrieben, kann die wässrige Form des α1AT eine Lösung, Suspension, Aufschlämmung oder andere homogene flüssige Form sein, bevorzugt jedoch eine Lösung. Das Lösungsmittel, in welchem das α1AT gelöst, suspendiert oder aufgeschlämmt ist, verdunstet leicht von den Tröpfchen, wodurch ein feines Trockenpulver gebildet wird mit hauptsächlich Teilchen mit 1–5 μm Durchmesser. Bevorzugt ist die Partikelgröße des resultierenden Pulvers so, dass mehr als ungefähr 98% der Masse des Trockenpulvers von Partikeln gebildet wird, die einen Durchmesser von ungefähr 10 μm oder weniger aufweisen, wobei mehr als ungefähr 90% der Masse in Teilchen vorhanden ist, die einen Durchmesser von weniger als ungefähr 5 μm aufweisen. Alternativ werden ungefähr 95% der Masse von Teilchen mit weniger als ungefähr 10 μm gebildet, wobei ungefähr 80% der Masse in Teilchen mit einem Durchmesser von weniger als oder gleich ungefähr 5 μm vorliegt.

[0022] Sprühtrocknen kann unter Verwendung von herkömmlicher, kommerziell erhältlicher Sprühtrocknungsausrüstung durchgeführt werden wie der, die erhältlich ist von Buchi, Niro, Yamato Chemical Co., Okawara Kakoki Co., und dergleichen, wobei die Ausrüstung im Allgemeinen geeignet ist, um ein amorphes Pulverprodukt herzustellen. Typischerweise sind diese Maschinen geeignet, über einen weiten Bereich von Parametern zu arbeiten. Beispielsweise kann ein Buchi-190-Sprühtrockner verwendet werden, um die Trockenpulverzusammensetzungen herzustellen durch Betrieb bei zwischen 5 und 20 ml/min mit einem Atomisierungsdruck von $342{,}5 \times 10^3$ N/m^2 bis $821{,}9 \times 10^3$ N/m^2 (50 bis 120 psi), einer Atomisierungsluftzufuhrrate von 20–80 lpm und einer Trocknungstemperatur von 50–200°C.

[0023] Für das Sprühtrockenverfahren können solche Sprühverfahren wie Rotationsatomisierung, Druckatomisierung und Zweifluidatomisierung verwendet werden. Beispiele für die in diesen Verfahren verwendeten Vorrichtungen beinhalten das Parubisu Mini-Spray GA-32 und "Parubisu Spray Drier DL-41", hergestellt von Yamato Chemical Co., oder die Sprühtrocknermodelle CL-8, L-8 FL-12, FL-16 oder FL-20, hergestellt von Okawara Kakoki Co. Diese Ausstattung kann gut zum Sprühtrocknen der hierin beschriebenen Zusammensetzungen verwendet werden, einschließlich Rotationsscheibenatomisierer-Sprühtrocknungsverfahren.

[0024] Die oben beschriebenen Trockenpulver sind in den hierin beschriebenen Verfahren gut verwendbar. In mancher Hinsicht kann es jedoch wünschenswert sein, die Trockenpulverformulierung in einer Form bereitzustellen, die bessere Handhabungseigenschaften besitzt, z. B. Rieselfähigkeit, geringe Anbackung u. ä. Die Herstellung von Aggregat- oder Agglomerat-Zusammensetzungen ist z. B. in der US-Anmeldung Nr. 08/483,467 (US-A-5 654 007), eingereicht am 7. Juni 1995, beschrieben. In einem speziellen Aspekt werden die hierin beschriebenen Trockenpulverformulierungen als Aggregate oder Agglomerate der oben beschriebenen Feinpulverzusammensetzungen bereitgestellt.

[0025] Im Allgemeinen wird die Agglomerierung der oben beschriebenen Feinpulverzusammensetzungen durchgeführt, indem die Pulver von feinen Partikeln mit einer Bindemittelflüssigkeit kombiniert werden, um eine feuchte Masse zu bilden. Die durchnässte Masse wird dann in kleine Volumenteile aufgeteilt, welche getrocknet werden, um die Bindemittelflüssigkeit zu entfernen und um Trockenpulveragglomerateinheiten mit einer ersten Größenverteilung herzustellen. Dies wird üblicherweise mit gut bekannten Verfahren durchgeführt, z. B. Extrusion. Extrusionsmethoden beinhalten typischerweise die Extrusion der durchnässten Masse oder Paste

durch ein Sieb mit Löchern, die im Bereich von 40 bis 650 µm liegen und weiter bevorzugt im Bereich von ungefähr 150 bis 500 µm. Typischerweise sind die Löcher in dem Sieb rund, wodurch ein längliches zylindrisches Extrudat produziert wird. Das Extrudat wird typischerweise bei einer Temperatur von ungefähr 15°C bis ungefähr 40°C getrocknet, abhängig von der Art des Materials, welches getrocknet wird. Typischerweise werden zur Trocknung des Extrudats Zwangsluftkonvektions-trockner oder Vakuumtrockner verwendet. Typischerweise setzen Vakuum-trockner die Aggregatteilchen einem Druck von ungefähr $332{,}3 \times 10^2$ bis ungefähr $866{,}6 \times 10^2$ N/m^2 (250 bis ungefähr 650 mm Hg) aus.

[0026] Bindemittelflüssigkeiten können eine Vielzahl von Flüssigkeiten enthalten, die mit den pharmazeutischen Zusammensetzungen, die hergestellt werden, kompatibel sind, z. B. Wasser, Kochsalzlösung u. ä. Zusätzlich kann in manchen Aspekten die Bindemittelflüssigkeit ein nicht wässriges Lösungsmittel sein, z. B. Fluorkohlenstoff, Toluol, Xylol, Benzol, Aceton, Hexan, Oktan, Chloroform und Methylenchlorid. Die Verwendung von nicht wässrigen Lösungsmitteln als Bindemittelflüssigkeiten ist generell vorteilhaft, da Kohlenwasserstoffe und Proteine, die im Allgemeinen in den hierin beschriebenen Agglomeratzusammensetzungen enthalten sind, typischerweise in diesen Flüssigkeiten geringe Löslichkeit besitzen, wodurch die Möglichkeit der Bildung von kristallinen Brücken zwischen den Feinpulverpartikeln in dem Agglomerat minimiert wird. Außerdem besitzen die meisten nicht wässrigen Lösungsmittel eine niedrige Oberflächenspannung, was es erlaubt, dass die größeren Agglomeratpartikel, wenn erforderlich, aufgebrochen werden.

[0027] Beispiele für bevorzugte nicht wässrige Lösungsmittel beinhalten Fluorkohlenstoffflüssigkeiten wie beispielsweise Perfluordecalin und Perfluoroktylbromid. Fluorkohlenstoffflüssigkeiten werden typischerweise aufgrund ihrer hydrophoben und lipophoben Natur bevorzugt, wodurch Proteine oder Kohlenwasserstoffe nicht gelöst werden oder auf andere Weise damit wechselwirken. Der hohe Dampfdruck von Fluorkohlenstoffflüssigkeiten ist auch zur Entfernung der Flüssigkeit aus dem Agglomeratteilchen nützlich. Diese Fluorkohlenstoffflüssigkeiten sind auch im Allgemeinen biokompatibel in den meisten pharmazeutischen Zusammensetzungen und sind im Allgemeinen kommerziell erhältlich von einer Vielzahl von gewerblichen Lieferanten, z. B. PCR, Inc. (Gainesville, FL), Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) and Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI).

[0028] Die Menge an Bindemittelflüssigkeit, die zu der Trockenpulverzusammensetzung zugegeben wird, ist im Allgemeinen bezogen auf die Oberfläche der feinen Teilchen. Wenn z. B. eine Fluorkohlenstoffbindemittelflüssigkeit verwendet wird mit den Feinpartikeln der ursprünglichen Trockenpulverzusammensetzungen, z. B. denen mit einem Größenbereich von 1–5 µm, so wird die Flüssigkeit zu dem Pulver in einer Menge von ungefähr 0,5 g bis 5,0 g Flüssigkeit pro g Pulver zugegeben.

[0029] Die in dieser ersten Reihe von Schritten hergestellten Trockenpulveragglomerate werden anschließend an eine zweite Größenverteilung angepasst, die durch einen Friabilitätsindex von ungefähr 10 bis ungefähr 60 gekennzeichnet ist. Wenn sie angepasst sind sind die Aggregatpartikel typischerweise stabil genug, um dem Auseinanderbrechen während normaler Handhabung und Abmessvorgängen zu widerstehen. Zum selben Zeitpunkt sind die Partikel typischerweise ausreichend bröselig, um das Auseinanderbrechen der Aggregate zu erlauben, wenn dies benötigt wird, d. h. bei Verabreichung. Friabilitätsindices werden im Allgemeinen berechnet, indem eine kleine Probe, z. B. 0,4 bis 0,5 g, der Aggregatzusammensetzung auf einem 1000 µm-Sieb platziert wird. Das Sieb wird mit einer Amplitude von ungefähr 1 cm und einer Frequenz von ungefähr 5 Hz für 20 min vibrieren gelassen. Nach 20 min werden die auf dem 1000 µm-Sieb verbliebenen Aggregate gewogen und dieses Gewicht wird anschließend durch das Anfangsgewicht geteilt. Der Prozentsatz an Aggregaten, die nicht durch das 1000 µm-Sieb durchgebrochen sind, ist der Friabilitätsindex.

[0030] Die Anpassung der Aggregatpartikelzusammensetzung an die zweite Größenverteilung wird im Allgemeinen durch Sieben der Agglomeratzusammensetzung durch eine Reihe von Rastern oder Sieben mit einem gewünschten Siebgrößenbereich durchgeführt. Wenn z. B. eine Größenbereichsverteilung von ungefähr 150–500 µm gewünscht wird, werden die Aggregatpartikel auf einem Satz von gestapelten Sieben platziert. Das obere Sieb wird eine Durchlässigkeit von ungefähr 500 µm aufweisen, während das untere Sieb eine Durchlässigkeit von 150 µm besitzt. Die Aggregatpartikel werden auf dem oberen Sieb platziert und gesiebt, d. h. durch Vibration und/oder Klopfen. Alle Teilchen, die das 500 µm-Größenlimit überschreiten, werden auf dem oberen Sieb zurückgehalten, von welchem sie entnommen werden können oder erneuter Verarbeitung unterzogen werden können. Kleinere Teilchen als 500 µm werden zu dem unteren Sieb gelangen, wo größere Teilchen als 150 µm zurückgehalten werden. Die Teilchen, die durch das zweite Sieb passieren, werden gesammelt, d. h. in einem Tiegel unter dem zweiten Sieb, von wo sie entnommen werden können oder erneut verarbeitet werden.

[0031] Typischerweise wird die zweite Größenverteilung eine mittlere Partikelgröße zwischen ungefähr 50 µm

und ungefähr 600 μm aufweisen, bevorzugt zwischen ungefähr 150 μm bis ungefähr 500 μm und am meisten bevorzugt zwischen ungefähr 200 μm und 500 μm. Die Agglomerate werden typischerweise geformt/ausgewählt, wodurch mehr als 90% der Agglomeratzusammensetzung innerhalb eines Größenbereichs fällt, der ±250 μm ist und bevorzugt innerhalb einen Bereich von ±150 und weiter bevorzugt innerhalb ungefähr ±100 μm.

[0032] Die Trockenpulveragglomerate können auch zu Kugeln geformt werden, d. h. es kann ihnen durch gut bekannte Verfahren, z. B. Rollverfahren wie solche, die üblicherweise bei Pfannenbeschichtungsvorgängen verwendet werden, eine sphärische Geometrie verliehen werden. Dies beinhaltet typischerweise das Rollen der Partikel in einem Container, um dazu zu führen, dass ein sphärisches Teilchen gebildet wird.

[0033] Agglomeratzusammensetzungen können auch in Fliessbetttrocknungsapparaturen gebildet werden. Typischerweise beinhaltet dies zunächst Fluidisieren der Trockenpulverzusammensetzung in einem Strom von heißer Luft. Die Bindemittelflüssigkeit wird anschließend durch eine Düse in das fluidisierte Pulver gesprüht. Die Benetzung der einzelnen Partikel ermöglicht die Agglomeration anderer Partikel daran. Die gleichzeitige Trocknung in dem Heissluftstrom verhindert die Bildung von Agglomeraten mit geringer Brüchigkeit. Fliessbetttrockner sind ebenfalls kommerziell erhältlich von z. B. Glatt Air Techniques, Inc.

[0034] Trockenpulverzusammensetzungen können auch unter Verwendung anderer Trocknungsprozesse hergestellt werden wie beispielsweise Agglomerationsprozessen, Extrusions-, Sprühbeschichtungs- und Lyophilisations- und Jetmahlprozessen. Lyophilisations-/Jetmahlprozesse zur Herstellung von Trockenpulverpolypeptidformulierungen werden z. B. in der veröffentlichen PCT-Anmeldung Nr. WO 91/16038 beschrieben.

[0035] In bevorzugten Aspekten sind die Trockenpulver-α1AT-Zusammensetzungen zur Verwendung in den hierin beschriebenen Verfahren im Wesentlichen rein. Mit im Wesentlichen rein ist gemeint, dass α1AT innerhalb der Trockenpulverformulierung auf einer Gewicht/Gewicht-Basis die überwiegende Komponente ausmacht. Typischerweise enthält die Trockenpulverformulierung z. B. mehr als ungefähr 30% α1AT pro Gewicht. In bevorzugten Aspekten ist die Trockenpulverformulierung zu mehr als ungefähr 70% pro Gewicht α1AT, weiter bevorzugt zu mehr als ungefähr 80% pro Gewicht α1AT. In noch weiter bevorzugten Aspekten ist die Trockenpulverformulierung zu mehr als ungefähr 90% pro Gewicht α1AT, wobei Trockenpulverformulierungen von mehr als ungefähr 95% α1AT und mehr als ungefähr 99% am meisten bevorzugt werden. Die Berechnung von Gewichtsprozent an α1AT kann mit einer Vielzahl von gut bekannten Verfahren durchgeführt werden, z. B. mit Immunosorbtionsassays, Assays auf Aktivitätsbasis und dergleichen.

[0036] Wenn die Trockenpulverzusammensetzung andere Elemente als α1AT enthält, kann der verbleibende Anteil der Zusammensetzung im Allgemeinen eine oder mehrere von zahlreichen anderen Elementen umfassen. Z. B. kann die Trockenpulverzusammensetzung Produkte des Sprühtrocknungsvorgangs enthalten, d. h. inaktive α1AT-Spezies oder andere makromolekulare Komponenten, die von der Herstellung des α1AT herrühren. In besonders bevorzugten Aspekten wird jedoch reines oder nahezu reines α1AT verwendet, um die Trockenpulverzusammensetzungen zu formulieren. Insbesondere werden α1AT-Zusammensetzungen verwendet, die zu mehr als 90% und weiter bevorzugt zu mehr als 95% rein sind, um die Trockenpulverzusammensetzungen zu formulieren.

[0037] Zusätzlich zu den oben beschriebenen zusätzlichen Elementen kann eine Vielzahl von Zusätzen zu der Trockenpulverformulierung zugegeben werden, entweder während des Sprühtrocknungsvorgangs oder nach dem Sprühtrocknungsvorgang, durch Zugabe einer trockenen Komponente über Trockenpulvermischmethoden. Z. B. kann es in manchen Aspekten wünschenswert sein, das α1AT mit einem oder mehreren pharmazeutischen Trägern oder Hilfsstoffen zu kombinieren, die für respiratorische oder pulmonale Verabreichung geeignet sind. Solche Träger können als Quellungsmittel dienen, z. B. wenn es wünschenswert ist, die Konzentration an α1AT, die dem Patienten in einer einzelnen Dosis verabreicht wird, zu verringern, oder sie können dazu dienen um die Effizienz der Formulierung zu steigern, entweder als ein Stabilisierungsmittel für die Trockenpulverzusammensetzung, ein Disperisonsmittel, um die Handhabungseigenschaften der Formulierung zu verbessern, ein Hilfsstoff, der die Aktivität des α1AT innerhalb des Gewebes der Lunge verbessert, z. B. Puffermittel u. ä. Beispiele für geeignete pharmazeutisch annehmbare Hilfsstoffe oder Quellmittel beinhalten Kohlenwasserstoffe, Polypeptide, Aminosäuren oder Kombinationen davon. Geeignete Kohlenwasserstoffe beinhalten z. B. Monosaccharide wie beispielsweise Galactose, D-Mannose, Sorbose u. ä., Disaccharide wie beispielsweise Lactose, Trehalose u. ä., Cyclodextrine wie beispielweise 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin und Polysaccharide wie beispielsweise Raffinose, Maltodextrine, Dextrane u. ä., Alditole wie beispielsweise Mannitol, Xylitol u. ä. Bevorzugte Kohlenwasserstoffe beinhalten Lactose, Trehalose, Raffinose, Maltodextrine und Mannitol. Geeignete Polypeptide beinhalten z. B. Aspartam u. ä., während geeignete Aminosäuren z. B. Alanin und

Glycin enthalten.

[0038] Die Trägermaterialien können mit dem α1AT vor dem Sprühtrocknen kombiniert werden, z. B. durch Zugeben des Trägers zu der α1AT-Lösung. Dadurch wird sichergestellt, dass der Träger gleichzeitig mit dem α1AT getrocknet wird, um ein homogenes Trockenpulver zu bilden. Alternativ können die Träger separat getrocknet werden oder als ein Trockenpulver erhalten werden und mit dem α1AT-Pulver gemischt werden. Trockenpulverträger zum Mischen mit α1AT-Trockenpulvern sind typischerweise kristallin (um Wasserabsorption zu verringern), können jedoch auch amorph sein. Die Größe des Trägers kann im Allgemeinen so ausgewählt werden, um die Fließfähigkeit des α1AT-Pulvers zu verbessern, typischerweise im Bereich von ungefähr 25 μm bis ungefähr 100 μm. Kristalline Lactose ist ein besonders bevorzugter Trockenpulverträger.

[0039] Während es möglich ist, den α1AT-Bestandteil in reiner Form, d. h. ohne Zusatzbestandteil zu verabreichen, ist es oft wünschenswert, zusätzliche Komponenten zu dem α1AT zu beinhalten, z. B. das α1AT als Teil einer pharmazeutischen Formulierung bereitzustellen. Diese Formulierungen umfassen das α1AT in einer therapeutisch oder pharmazeutisch wirksamen Dosis zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch oder therapeutisch annehmbaren Trägern und ggf. anderen therapeutischen Inhaltsstoffen. Verschiedene Abwägungen werden beschrieben, z. B. in Gilman et al. (eds.) (1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8. Edition, Pergamon Press; Novel Drug Delivery Systems, 2nd Edition, Norris (ed.) Marcel Dekker Inc. (1989), und Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. Edition (Mack Publishing Co. 1990). Spezielle Beispiele an Zusatzkomponenten in den hierin beschriebenen α1AT-Formulierungen beinhalten z. B. Quellmittel, Puffer und andere pharmazeutische Mittel zur Co-Administration mit dem α1AT wie beispielsweise Kohlenwasserstoffträger und dergleichen.

III. Verabreichung

[0040] In einem besonderen Aspekt wird ein Verfahren zur pulmonalen Verabreichung von α1AT-Trockenpulver an einen Patienten offenbart. Solche Verfahren sind besonders nützlich bei der Behandlung von Patienten, die an Erkrankungen leiden, die durch einen Mangel an α1AT in den Lungengeweben gekennzeichnet sind. Diese Erkrankungen können ein Ergebnis von genetischer Defizienz oder eine Folge von äußeren Einflüssen, z. B. chronischem Rauchen, etc. sein. Durch pulmonale Verabreichung von α1AT als Trockenpulverzusammensetzung wird eine erhöhte Persistenz von α1AT in den Lungengeweben erhalten.

[0041] Mit "pulmonale Verabreichung" oder "Verabreichung über die Lunge" ist ein Verabreichungsweg gemeint, der eine wirksame Menge der so verabreichten Verbindung zu den Geweben des unteren Atemwegstrakts transportiert. Eine solche Verabreichung bedingt im Allgemeinen die Inhalation der entsprechenden Verbindung durch den Patienten, wodurch die Verbindung in die tiefe Lunge gezogen wird.

[0042] Der Transport von pulverförmigen Medikamenten zu den Lungen wird üblicherweise durch Verwendung einer Inhalationsvorrichtung durchgeführt, die das pulverförmige Medikament in einem Luftstrom fluidisiert, der anschließend von dem Patienten inhaliert werden kann, um das Medikament zur Lunge des Patienten zu transportieren. Durch Bereitstellen der aggregierten Partikel mit einem gewünschten Friabilitätsindex wie vorhergehend beschrieben können die aggregierten Partikel innerhalb des Inhalators zur Pulverform aufgebrochen werden. Auf diese Weise können die pulverförmigen Medikamente zur Messung und Handhabung in Agglomeratform verbleiben, bis sie für pulmonale Verabreichung durch den Inhalator benötigt werden.

[0043] Die aggregierten Partikel werden im Allgemeinen in Dosierungseinheitsbehältern zu dem Inhalator gebracht, die üblicherweise als Blister-Packungen oder Kartuschen bezeichnet werden. Die Herstellung von Blister-Packungen wird typischerweise durch Verfahren durchgeführt, die in der Verpackungstechnik allgemein gut bekannt sind. Um die aggregierten Partikel aus dem Behälter zu entnehmen, wird eine Wand des Behälters durchstochen wenn der Behälter in den Inhalator eingesetzt wird oder während er sich innerhalb des Inhalators befindet. Wenn der Behälter geöffnet ist, werden die aggregierten Partikel in einen Gasstrom extrahiert, der ausreichend Durchbruchstärke, d. h. Scherstärke, besitzt, um die aggregierten Partikel in ihre Feinpulverelementbestandteile aufzubrechen. Typischerweise werden angemessene Trennungskräfte durch einen Gasstrom mit Schallgeschwindigkeit bereitgestellt. Unter anderen Aspekten kann die Blister-Packung oder Receptacle vor Durchstechen des Behälters Vibrationsenergie ausgesetzt werden, um die Aggregatpartikel in das entsprechende Feinpulver aufzubrechen.

[0044] Typischerweise werden die Aggregatpartikel vor der Inhalierung im Wesentlichen in ihre entsprechenden Feinpulverelemente aufgebrochen. Z. B. werden typischerweise mehr als 30% der Aggregatpartikel, die den Aufbrechkräften des Gasstroms ausgesetzt werden, aufgebrochgen. Bevorzugt werden mindestens unge-

fähr 50% der Aggregatpartikel aufgebrochen und am meisten bevorzugt mehr als ungefähr 70% der Aggregatpartikel werden aufgebrochen, wenn sie vor Inhalation durch den Patienten dem Gasstrom, etc. ausgesetzt werden. Mit "Aufbrechen" ist das Zerbrechen der oben beschriebenen größeren Aggregatpartikel in die ebenfalls oben beschriebenen kleineren Feinpulverpartikel, z. B. in die Feinpulverpartikel mit einem Durchmesser von ungefähr 1 μm bis ungefähr 5 μm, gemeint.

[0045] Wenn die Aggregatpartikel innerhalb des gewünschten Größenbereichs von 200–500 μm liegen, ist im Wesentlichen eine vollständige Entfernung der Aggregatpartikel aus dem Behälter erreichbar, während größere Aggregate hinter den durchstochenen Wänden des Behälters zurückgehalten werden können. Mit "im Wesentlichen vollständige Entfernung" ist mehr als ungefähr 55%, bevorzugt mehr als ungefähr 70% und werter bevorzugt mehr als ungefähr 90% pro Gewicht gemeint.

[0046] Eine Vielzahl von Inhalationsvorrichtungen für die Verabreichung in Aerosolform wurde bereits beschrieben. Siehe z. B. US-Patent Nr. 4,137,914; 4,174,712; 4,524,769; 4,667,688 und die veröffentlichten PCT-Anmeldungen Nr. PCT/SE93/00389 (WO 93/21980), PCT/SE93/01053 (WO 94/13271), PCT/DK90/00005 (WO 90/07351) und US-Patentanmeldung Seriennummer 08/309,691 (US-A-5,785,049), eingereicht am 21. September 1994. Ein besonders bevorzugter Trockenpulverinhalator ist der in US-Patentanmeldung Seriennummer 08/487,184 (US-A-5,740,794) beschriebene. Im Allgemeinen ist diese Inhalatorvorrichtung insbesondere geeignet für die Abgabe von Trockenpulverzusammensetzungen, die aus diskreten Feinpulverpartikeln mit einer Größe im Bereich von 1–5 μm zusammengesetzt sind. Die bevorzugte Vorrichtung gebraucht im Allgemeinen eine zweistufige Dispersionstechnik, um eine optimale Dispersion der Trockenpulverzusammensetzung zu erreichen. Typischerweise wird die Pulverzusammensetzung, z. B. die Aggregat- oder Agglomeratzusammensetzung, innerhalb eines Dosierungseinheitsbehälters wie beispielsweise eines Blister-Packs fluidisiert. Die fluidisierten Agglomeratpartikel werden dann in dem Hochgeschwindigkeitsgasstrom unter solchen Bedingungen dispergiert, welche derart agglomerierte Partikel in ihre Pulverelementbestandteile aufbrechen. Eine solche vollständige Dispersion kann mit sehr geringen Volumina an Hochgeschwindigkeitsluft mit relativ hohen Partikelkonzentrationen erzielt werden. Diese Apparatur ist ebenfalls geeignet zur Verwendung mit Zusammensetzungen, die größere Mengen an Verdünnern, z. B. Quellmitteln und dergleichen, enthalten.

[0047] Die Vorrichtung beinhaltet im Allgemeinen eine Zugaberöhre mit einem Pulvereinlassende, welches in den Behälter eingebracht wird, d. h. durch Eindringen in den Deckel oder die Zugangsoberfläche des Behälters. Ein Hochgeschwindigkeitsluftstrom wird gegen das Ausgangsende der Zugaberöhre geströmt, wodurch das Pulver aus dem Behälter in den Luftstrom gezogen wird, um das gewünschte Aerosol zu bilden. Die Geschwindigkeit des wie oben beschriebenen Luftstroms ist typischerweise Schallgeschwindigkeit, um das Aufbrechen von Agglomeratpartikeln zu ermöglichen. Typischerweise wird in dem Behälter auch eine zweite Eindringung ermöglicht, um zu ermöglichen, dass ein getrennter Strom an Fluidisierungsluft in den Behälter gelangt und das aerosolisierte Pulver mitreisst, wodurch eine maximale Gewinnung des Pulvers aus dem Behälter sichergestellt wird.

[0048] Der Hochdruckgasstrom wird typischerweise gebildet, indem schlagartig eine Ladung an komprimiertem Gas durch eine Strombahn freigesetzt wird, die sich mit dem Auslassende der Zugaberöhre in einem so gewählten Winkel kreuzt, dass sowohl (1) ausreichend Fluidisierungsluftfluss durch die Zugaberöhre induziert wird, um das Pulver zu fluidisieren und in den Behälter zu transportieren und (2) die Pulveragglomerate, welche zurückbleiben, wenn das Pulver aus dem Austrittsende der Zugaberöhre austritt, aufgebrochen werden. Der Gasdruck vor der Freisetzung wird üblicherweise mindestens ungefähr $102{,}7 \times 10^3$ N/m^2 (15 psig) betragen (um Schallgeschwindigkeit zu erreichen), bevorzugt wird er mindestens $137{,}0 \times 10^3$ N/m^2 (20 psig) betragen und üblicherweise im Bereich von $274{,}0 \times 10^3$ N/m^2 bis $548{,}0 \times 10^3$ N/m^2 (40–80 psig) liegen. Das expandierte Volumen an Gas (gemessen bei Standardtemperatur und Druck ("STP") von 14,7 psig und 20°C) wird daher üblicherweise im Bereich von 2 ml bis 25 ml und bevorzugt 4 ml bis 15 ml liegen. Die Freisetzung an Hochdruckgas kann durch einen manuellen Trigger bewirkt werden oder ggf. durch den Einfluss von Unterdruck, der durch die Inhalation eines Patienten verursacht wird (d. h. Atmungsaktivierung).

[0049] Das aerosolisierte Pulver wird außerdem typischerweise vor Inhalation durch den Patienten innerhalb einer Dampfeinfangkammer eingefangen werden, um Schwierigkeiten im Zusammenhang mit der Verabreichung einer Hochdruckdosis direkt an den Patienten zu vermeiden. Das aerosolisierte Pulver innerhalb der Dampfkammer wird dann gleichzeitig mit und/oder gefolgt von Einatmen von Umgebungsluft von dem Patienten inhaliert, d. h. durch einen getrennten Einlass in der Dampfkammer, welcher dazu beiträgt, die gesamte Dosis des Pulvers aus der Dampfkammer mitzureissen und das Pulver in die tiefe Lunge zu befördern.

IV. Therapeutische Anwendungen

[0050] Die hierin beschriebenen Verfahren sind insbesondere in therapeutischen Anwendungen zur Behandlung von Patienten anwendbar, die darin defizient sind oder auf andere Weise von der Steigerung an erhöhten α1AT-Werten in den Lungengeweben profitieren. Wie oben beschrieben, beinhalten Beispiele von solchen Patienten genetische Erkrankungen, durch niedrige Plasma- und Lungenwerte des α1AT-Inhibitors gekennzeichnet sind und die funktionellen Störungen von pulmonalem Emphysema.

[0051] Mit "Patient" ist im Allgemeinen ein Säugetierpatient gemeint, für den die Behandlung gedacht ist. Obwohl die hierin beschriebenen Verfahren generell auf eine Vielzahl von Säugetierspezies anwendbar sind, betrifft die hierin verwendete Bezeichnung Patient im Allgemeinen menschliche Patienten.

[0052] Mit 'Behandlung eines Patienten" ist das volle Spektrum an therapeutischen Behandlungen für eine bestimmte Erkrankung gemeint, von einer teilweisen Linderung der Symptome bis zu einer kompletten Heilung der bestimmten Erkrankung. Die Behandlung wird typischerweise durch pulmonale Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge von Trockenpulver-α1AT bewirkt. Mit "therapeutisch wirksame Menge" ist eine solche Menge an α1AT gemeint, die ausreichend ist, um die Behandlung der bestimmten Erkrankung zu bewirken, für die die Behandlung gedacht ist, d. h. ausreichend Steigerung der α1AT-Werte in dem unterem Atemwegstrakt. Typischerweise werden solche therapeutisch wirksamen Mengen ausreichend sein, um eine solche Menge an α1AT in den Geweben des unteren Atemwegstrakts bereitzustellen, die der von nicht defizienten Individuen gleicht.

[0053] Typischerweise wird die Behandlung der oben beschriebenen Erkrankungen durch Verabreichung von solchen Dosen an α1AT-Trockenpulver bewirkt werden, die insgesamt im Bereich von ungefähr 1 bis ungefähr 80 mg an α1-Antitrypsin täglich liegen. Bevorzugt variert eine therapeutisch wirksame Menge von ungefähr 5 bis ungefähr 25 mg α1-Antitrypsin pro Tag und weiter bevorzugt von ungefähr 10 bis ungefähr 20 mg α1-Antitrypsin täglich. In insbesondere bevorzugten Aspekten können die oben beschriebenen Verfahren der vorliegenden Erfindung zur Behandlung von Patienten verwendet werden, die an pulmonalem Emphysema leiden. Um die gewünschte therapeutische Menge zu erreichen kann es wünschenswert sein, wiederholte Verabreichungen bereitzustellen, d. h. wiederholte einzelne Inhalationen einer abgemessenen Dosis. Die einzelnen Verabreichungen werden so lange wiederholt, bis die gewünschte Tagesdosis erreicht ist.

[0054] Wie oben beschrieben, beinhalten die Verfahren zur Verabreichung der Trockenpulver-α1AT an dem Patienten im Allgemeinen die Verabreichung von α1AT als Trockenpulver, Aerosolisieren dieses Pulvers und dessen Darreichung zu einem Patienten zur Inhalation. Dies wird üblicherweise unter Verwendung von Verfahren und Apparaturen, die im Wesentlichen oben beschrieben werden, durchgeführt.

[0055] Die vorliegende Erfindung wird durch die folgenden Beispiele weiter veranschaulicht. Diese Beispiele dienen lediglich dazu, Aspekte der vorliegenden Erfindung zu veranschaulichen und sind nicht als Begrenzungen dieser Erfindung gedacht.

V. Beispiele

Beispiel 1 – Sprühtrocknen von α1AT

[0056] Gereinigtes Humanplasma-α1AT wurde von Armour Pharmaceutical Co., Kankakee, IL bereitgestellt. Das α1AT wurde in Citratpuffer formuliert. Das gepufferte α1AT wurde zu einer feinen Trockenpulverzusammensetzung sprühgetrocknet. Das Sprühtrocknen wurde durchgeführt unter Verwendung eines Buchi-190-Sprühtrockners mit einer Zugaberate von 5 ml/min, einem Atomisierungsdruck von 822×10^3 N/m^2 (120 psi), einer Atomisierungszugaberate von 80 lpm und einer Trocknungstemperatur von 80°C. Die Massenmehrheit der Zusammensetzung besaß eine atembare Teilchengröße (aerodynamischer Durchmesser kleiner als 5 μm). Die Trockenpulverzusammensetzung enthielt ungefähr 73% α1AT, 3,7% Feuchtigkeit und 16,9% Quellmittel. Die spezifische inhibitorische Wirkung des Pulvers wurde durch Untersuchung der inhibitorischen Wirkung des Pulvers gegen Trypsin ermittelt. Das untersuchte Pulver besaß ungefähr dieselbe spezifische Wirkung wie das Protein vor dem Trocknen.

[0057] Blister-Packungen wurden unter kontrollierten Bedingungen mit 5 mg der Pulverzusammensetzung gefüllt und sie wurden in ausgetrockneten Beuteln bei Raumtemperatur bis zur Verwendung gelagert. Eine Stabilitätsanalyse von α1AT in dem Trockenpulveraerosol im Zeitverlauf der Experimente bestätigte, dass es keinen nachweisbaren Aktivitätsverlust gab, wie mit dem Trypsininhibitionsassay gemessen.

[0058] Die physikalische Stabilität des α1AT-Trockenpulvers wurde durch die folgenden Parameter charakterisiert: (1) massenmittlerer aerodynamischer Durchmesser (MMAD), wie mit einem California Instrument-Kaskadenimpinger ermittelt, der mit 12,5 lpm betrieben wurde; (2) atembare Fraktion (Masse mit einer aerodynamischen Partikelgröße kleiner als 5 μm); und (3) Dispergierbarkeit wie durch Filtersammlung am Mundstück der Aerosolisierungsvorrichtung bei 30 lpm für 2,5 sek gemessen (siehe Tabelle I).

Tabelle I

Zeit	Dispergierbarkeit (STD)	MMA D	Atembare Fraktion % < 5 μm
ursprünglich	63,6 (3,5)	1,3	90
vor Studie (3 Modelle)	72,6 (9,3)	1,3	90
nach Studie (6 Modelle)	72,5 (6,3)	1,2	92

Beispiel 2 – Bewertung der Aerosolaussetzung von α1AT in Schafmodellen

[0059] Es wurden Mischlingsschafe (36 ± 3 kg) verwendet, um optimale Verabreichungsverfahren für die Trockenpulver-α1AT-Zusammensetzung zu ermitteln. Jedes Schaf wurde einzeln untersucht. 2 Tage vor Aerosolaussetzung wurden in den caudalen efferenten Lymphgang, die Halsschlagader und die Jugularvene der Schafe unter Vollnarkose Kanülen eingeführt (Lymphgangkanüle: 030 × 050 Tygon-Röhre, Fisher Scientific Co., Arterien- und Venenkanülen: Erweiterungsschlauch, Baxter Pharmaceal, CAT-Nr. K751L). Am Tag der Aussetzung wurden die zu untersuchenden Schafe mit 500 mg Pentothal, welches intravenös verabreicht wurde, betäubt (Thiopentalnatrium, Abbott Labs, IL) und mit einer endotrachealen Röhre der Größe 10 ID intubiert.

[0060] Drei unterschiedliche Aussetzungstechniken wurden untersucht (siehe Tabelle II), zwei Positivdruck-Ventilationstechniken und eine Spontanatmungstechnik. In den Positivdruck-Inhalationsmodellen wurden zwei Ventilationsarten in zwei separaten Schafen evaluiert (Schaf #1 und #3). Schaf #1 wurde mit 15 Atemzügen/min bei 400 ml/Atemzug mit Sauerstoff mit Atemqualität ventiliert, der 1% Halothan (Halocarbon, NJ) enthielt, der unter Verwendung eines Harvard-Ventilators durch eine Trockenpulver-Inhalationsvorrichtung geleitet wurde. Schaf #3 wurden intravenös 60 mg Succinylcholin, ein Muskelentspannungsmittel injiziert, und es wurde mit 10 Atemzügen/min bei 600 ml/Atemzug mit Sauerstoff ventiliert, der 1% Halothan enthielt. In dem Spontanatmungsmodell wurde Schaf #2 25 mg/kg Ketamin intravenös injiziert, (Ketaset, Fort Dodge Lab, Inc., IA), um für Anästhesie zu sorgen, und man ließ es durch die Trockenpulverinhalationsvorrichtung Umgebungsluft einatmen. Die aerodynamische Größenverteilung wurde unter Verwendung des California Measurements-Kaskadenimpingers gemessen. Der massenmittlere aerodynamische Durchmesser des Aerosols und der atembare Teil (Massenanteil mit weniger als 5 μm aerodynamischer Partikelgröße) betrugen 1,3 ± 0,1 μm bzw. 90%. Diese Formulierung besaß eine Dispergierbarkeit von 63 ± 3% in der verwendeten Vorrichtung.

[0061] Die Bewertung der drei Aussetzungstechniken beinhaltete die Messung von (1) dem Anteil an für die Inhalation verfügbarem Aerosol (% an Aerosol, welches am Mundstück der Inhalationsvorrichtung verfügbar ist) und (2) Lymph- und Plasmawerten an α1AT.

[0062] Die Bewertung der Vorrichtungseffizienz, z. B. der Fähigkeit, Aerosol in die endotrachiale Röhre zu befördern, wurde als 23 ± 1%, 32 ± 4% und 31 ± 1% gemessen für das Positivdruck-Inhalationsmodell ohne den Muskelentspanner ("PPI") (15 Atemzüge/min, 400 ml/Atemzug), das Positivdruck-Inhalationsmodell mit Muskelentspanner ("PPIMR") (10 Atemzüge/min, 600 ml/Atemzug), bzw. das Spontanatmungs-Modell (100–200 ml/Atemzug).

[0063] Vor der Aussetzung wurden Lymph- und Blutproben entnommen, um Hintergrundwerte an α1AT zu ermitteln. Jedes Tier wurde 100 mg gepacktem α1AT-Trockenpulveraerosol ausgesetzt. Lymph- und Blutproben wurde alle 30–60 min über 6 h entnommen und anschließend nach 24–26 und 48–50 h nach Dosierung. Schaf #2, das Spontanatmungs-Tier, wurde nach der ersten Aussetzung nach 50 h erneut dem Aerosol-α1AT ausgesetzt und 5 h später gespült.

[0064] Am Ende jeder Studie wurde Blut entnommen, während die Lungen weiter ventiliert wurden, um sie

am Kollabieren zu hindern, anschließend wurde jede Lunge komplett gespült. Dies wurde durchgeführt, indem der Nacken und die Brust chirurgisch freigelegt wurden und jede Lunge einzeln gespült wurde, indem die andere Lunge zugeklammert wurde und 6 × 200 ml isotonische Kochsalzlösungwaschungen durch einen Tygon-Schlauch injiziert wurden, der mit einer 50 ml-Spritze verbunden war. Die gewonnenen Waschungen aus jeder Lunge wurden zusammengefasst, um eine gesamte Lungenlavage-Probe zu ergeben. Alle Proben, Lymph und Blut, wurden auf Eis gelegt, bis sie für 3 min bei 3000 rpm zentrifugiert wurden. Sie wurden bei –70°C gefroren gelassen, bis sie durch ELISA analysiert wurden.

[0065] Tabelle II zeigt die Wirksamkeit der verwendeten Vorrichtungen für die Aerosolzufuhr des α1AT zu dem Eingang der endotrachealen Röhre (gezeigt als einatembare %) für die verschiedenen Zufuhrmethoden. Ebenfalls gezeigt ist der Spitzenlymphwert an α1AT.

Tabelle II

Schaf #	Inhalationsmodell	Atembar %	Spitzenlymphwert an α1AT (nM)
1	Positivdruck: 15 Atemzüge/min; 400 ml/Atemzug	23 ± 1	5,8
2	Spontanatmung: 100–200 ml/Atemzug	32 ± 4	12,2
3	Positivdruck: 10 Atemzüge/min; 600 ml/Atemzug; paralysiertes Tier	31 ± 1	29,4

[0066] α1AT-Trockenpulveraerosol, welches Schafen wie oben beschrieben über die Lungen verabreicht wurde, erhöhte die Werte an α1AT in den Lymphen von 0,3 nM (0,014 μg/ml) auf 5,8 nM (0,29 μg/ml), 12 nM (0,61 μg/ml) und 29,4 nM (1,47 μg/ml) und erhöhte die Blut-α1AT-Werte von 0,6 nM (0,03 μg/ml) auf 1,9 nM (0,093 μg/ml), 4,3 nM (0,217 μg/ml) und 7,6 nM (0,38 μg/ml) 48 h nach Aussetzung bei Schaf #1, 2 bzw. 3. Siehe **Fig. 1**.

[0067] In Schaf #2, welches anfänglich dem α1AT-Aerosol mit dem oben beschriebenen Spontanatmungs-Verfahren ausgesetzt wurde und erneut nach 50 h durch Positivdruckinhalation (600 ml/Atemzug, ohne Relaxans), stieg der Lymphwert an α1AT nach der zweiten Aussetzung von 0,61 μg/ml auf 0,92 μg/ml innerhalb 5 h nach der zweiten Aussetzung.

[0068] Die α1AT-Werte in dem Alveolarfilm der Lunge ("ELF") betrugen 0,4 μM in Schaf #1 (50 h nach Aussetzung gespült) und 1,3 μM in Schaf #3 (72 h nach Aussetzung gespült). In Schaf #2, welches 50 h nach der anfänglichen Aussetzung ein zweites Mal exponiert wurde, waren die α1AT-Werte in dem ELF 2,9 μM (5 h nach der zweiten Aussetzung gespült). Diese Werte wurden berechnet aus den Lavagewaschungen in der Annahme von 20 ml ELF.

[0069] Die bei Schaf #3 verwendete PPIMR-Technik ergab die höchsten Lymphwerte an α1AT und wurde zur Verwendung in den folgenden Beispielen ausgewählt.

Beispiel 3 – Bestimmung der deponierten Dosis in Schafen

[0070] Drei Schafen wurde α1AT-Trockenpulver gemäß dem oben beschriebenen PPIMR-Verfahren pulmonal verabreicht. Die Lungen wurden sofort nach Aerosolverabreichung gespült. Die durchschnittlich deponierte Dosis wurde berechnet, indem die Konzentration an α1AT in der Lavage mit dem Lavagevolumen multipliziert wurde. Die durchschnittlich abgelagerte Dosis wurde als 7,2 ± 3,1 mg berechnet. Dies ergab umgerechnet eine Depositionseffizienz von ungefähr 8% für dieses Schafaussetzungssystem. Die Daten für jedes Schaf sind in Tabelle III unten gezeigt.

Tabelle III

Schaf #	Gewonnene Lavage (ml)		α1AT in Lavage (µg/ml)		Deponierte Dosis
	Rechts	Links	Rechts	Links	
5	850	825	1,53	12,8	10,6
8	950	930	0,10	4,83	4,6
9	925	950	2,80	3,85	6,3
			Durchschnitt ± STD		7,2 ± 3,1

[0071] Die pulmonale Absorption von über die Lungen verabreichtem Trockenpulver-α1AT wurde unter Verwendung der oben beschriebenen PPIMR-Technik getestet. Erneut wurde drei Schafen α1AT-Trockenpulveraerosol in drei Dosen jeweils zum Zeitpunkt 0, nach 24 h und nach 48 h verabreicht. Die Werte an α1AT wurden in den Lymphen, im Plasma und am Ende der Untersuchung in dem Alveolarfilm der Lungen (ELF) gemessen.

[0072] In den Lungen der Schafe abgelagertes α1AT-Trockenpulver erhöhte die Lymphwerte an exogenem α1AT auf einen durchschnittlichen Spitzenwert von 142 ± 73 nM (7,4 ± 3,8 µg/ml). Fig. 3 zeigt die Lymphprofile für jedes der einzelnen Schafe, wobei das mittlere Profil in Fig. 4 (o) gezeigt ist. Die Konzentration/Zeit-Kurven wiesen ein verlängertes Absorptionsprofil auf (Fig. 3 und Fig. 4). Die Gesamtmenge an α1AT, welches durch die Lymphen gecleart wird, wurde berechnet, indem die Fläche unter der Kurve (AUC) des Konzentrationsprofils mit der mittleren Lymphflussrate (siehe Tabelle IV) multipliziert wurde.

[0073] Die Werte an exogenem α1AT im Plasma waren ebenfalls auf einen durchschnittlichen Wert von 36,2 nM (1,9 ± 0,1 µg/ml) erhöht. Die mittleren Plasmawerte an α1AT im Zeitverlauf sind in Fig. 4 gezeigt. (•). Die Menge an von den Lungen in den Kreislauf absorbiertem α1AT ist die Spitzenkonzentration multipliziert mit dem Volumen der Verteilung im Plasma (stationäres Volumen der Verteilung von Schafplasma ist 109 ± 16 ml/kg Körpergewicht wie durch IV Injektionen von radiomarkiertem α1AT gemessen, Smith et al., J. Clin. Invest. 84:1145–1154 (1989)). Die Mengen an α1AT, welche im Plasma gefunden wurden, sind ebenfalls in Tabelle IV gezeigt.

[0074] Die Addition der Beiträge von sowohl Plasma- als auch Lymphwerten ergibt die Gesamtmenge von 12,0 ± 2,9 mg, welche 55 ± 13% der abgelagerten Dosis entspricht (siehe Tabelle IV).

Tabelle IV

Schaf #	AUC	Durchschn. Lymphflussrate (ml/h)	Menge (mg) gecleart aus:		Gesamtclearance	Absorbierter Teil (%)
			Lymph	Plasma		
4	0,402	6,5 ± 2,6	2,6	6,1	8,7	40
6	0,712	9,2 ± 3,6	6,6	7,4	14,0	65
7	0,795	7,9 ± 3,2	6,3	6,6	13,2	61
Durchschn.	0,636 ± 0,207	7,8 ± 3,2	5,2 ± 2,2	6,7 ± 0,6	12,0 ± 2,9	55 ± 13

[0075] Das Volumen des Alveolarfilms der Lunge (ELF) wurde gemessen von Peterson et al., Am. Rev. Respir. Dis. 141:314–320 (1990) als 11,4 ml in einem 38 kg Schaf. Um die ELF-Werte von α1AT zu messen, wurden Schafe mit einem durchschnittlichen Gewicht von 29 kg verwendet. In einem 29 kg schweren Schaf wurde das ELF-Volumen als ungefähr 10 ml oder 5 ml/Lunge angenommen. Die α1AT-Werte in ELF wurden bestimmt als die durch Lavage aus jeder Lunge gewonnenen Mengen geteilt durch 5 ml. In Tabelle IV werden die Anzahl an Aerosoldosierungen, Zeitpunkt der Spülung nach der letzten Dosis und die berechneten ELF-Werte an α1AT in jeder Lunge aufgelistet. Schützende Werte an α1AT in ELF (1,7 µM) wurden in allen Schafen, die in den Absorptionsexperimenten untersucht wurden, leicht erzielt, selbst wenn 3 Tage nach der letzten Dosis gespült wurde. Außerdem wurden die in der Lavage der drei Schafe, die in der Absorptionsstudie verwendet wurden (Schaf 4, 6 und 7) gewonnenen α1AT-Mengen als 13,4 ± 7,3 mg oder ungefähr 62% der abgelagerten Dosis gemessen.

[0076] Obwohl die Ablagerungseffizienz in diesen Modellen etwas gering ist (8%), scheint dies der Ineffizienz der Aerosolisierungsvorrichtung zuzuschreiben zu sein, wenn sie mit dem Ventilator verbunden ist. Insbesondere machen Verluste aufgrund der Verplombung, welche zu der endotrachialen Röhre führt und des geringen Inhalationsvolumens bei Verwendung des Ventilators einen großen Teil des verlorenen Materials aus. Außerdem führt die Bildung von Schleim rund um die endotrachiale Röhre zu einer erhöhten Ablagerung innerhalb der Verplombung und der Vorrichtung als ein Ergebnis der verengten Luftröhre und des gestörten Luftflussverhaltens.

Tabelle V

Schaf #	Anzahl an Dosierungen	Zeitpunkt der Lavage nach letzter Dosis (h)	α1AT-Werte im ELF (mg)		durch Lavage gewonnene Menge (mg)
			Rechte Lunge	Linke Lunge	
1	1	52	1,5	2,7	1,1
2	2	51	10,0	9,4	5,0
3	1	52	5,0	2,5	2,0
4	3	72	6,1	11,8	13,2
5	3	96	24,4	55,8	20,8
6	3	72	12,3	9,3	6,2
7	1	<1	5,4	45,8	10,6
8	1	<1	0,4	17,3	4,6
9	1	<1	10,0	14,1	6,3

Beispiel 4 – Beurteilung von interstitiellem α1AT

[0077] Die oben beschriebenen Experimente veranschaulichen, dass ein als Aerosol verabreichtes Trockenpulver-α1AT von der alveolaren Oberfläche in die Lunge absorbiert wird. Sobald es im Interstitium ist, kann α1AT entweder direkt in das Blut absorbiert werden oder es kann in die Lymphbahnen diffundieren (siehe **Fig. 5**).

[0078] In den obigen Experimenten gelangt die Mehrheit des inhalierten α1AT direkt durch das Interstitium in das Blut. Der Rest wurde in den Kreislauf transportiert durch lymphatische Filtration. Staub et al., J. Surg. Res. 19:315 (1975). In diesem Schafmodell war die mittlere Menge an α1AT, welches innerhalb 24 h durch die Lymphen gecleart wurde, nach einer Aerosolverabreichung ungefähr 1/6 der Menge, die im Plasma gefunden wurde (siehe Tabelle VI). In einem ähnlichen Schafmodell berechnete Smith et al. (J. Clin. Invest. 84:1145–1154 (1989)) die Rate an Clearance von α1AT aus den Lungen als 16,1 ± 10,4% der Gesamtrate an α1AT, welches aus der Lunge transportiert wurde. Dies stimmt mit den vorliegenden Ergebnissen überein (siehe Tabelle VI). Plasma- und Lymphwerte zeigten ein ähnliches Profil (siehe **Fig. 4**). Somit kann angenommen werden, dass für jedes α1AT-Molekül, welches von der Lunge gecleart wird, 6 Moleküle durch die endotheliale Schranke in den Blutstrom transportiert werden. In Anbetracht der Nicht-Lymph-Clearance sollte die Konzentration an α1AT in dem interstitiellen Fluid ungefähr 7× die in den Lymphen gemessene sein (siehe **Fig. 5**).

Tabelle VI

Schaf #	Lymph (µg)	Plasma (µg)	Plasma/Lymph
1	32,4	239	7,4
2	73,2	631	8,6
3	144,6	752	5,2
4	278	2200	7,9
6	757	3100	4,1
7	489	1300	2,7
		Durchschn.	6,0 ± 2,4

[0079] Zusätzlich zu dem alveolaren interstitiellen Fluid enthalten die Lymphgefässe auch eine erhebliche Menge an extraseptalen Filtraten aus Gefäßen außerhalb der Alveolarwände. Dies wurde veranschaulicht von Nicolaysen et al., Microvasc. Res. 9:29–37 (1975), der mit Evans blue markiertes Albumin injizierte und das Auftreten des Farbstoffs im Lungeninterstitium verfolgte. Der Farbstoff erschien innerhalb von 10 min in den Lymphgefäßen, während das Auftreten von Farbstoff in dem Interstitium ungefähr doppelt so lange dauerte, was auf das Vorliegen von nicht alveolarer Filtration hindeutete. Von Gropper et al., Federation Proc. 43:1032 (1984) wurde geschätzt, dass ein Minimum von 40% der gesamten Lungenlymphfiltration nicht alveolaren Ursprungs war. Um die nicht alveolare Verdünnung der Lymphen zu berücksichtigen, wird daher die Konzentration in dem interstitiellen Fluid mit 1,7 multipliziert. Tabelle 7 erfasst die berechneten interstitiellen Werte an α1AT unter Berücksichtigung von 40% extraseptalem Beitrag und 84% Plasma-Clearance.

Tabelle VII

Schaf #	Berechneter Peak Interstitielle Werte
4	1,3
6	1,5
7	3,2
Durchschn.	2,0 ± 1,0

Beispiel 5 – Abschätzen der menschlichen Dosis aus Schafdaten

[0080] Die Ergebnisse der oben beschriebenen α1AT-Dosisablagerungsexperimente und Absorptionsexperimente deuten darauf hin, dass ein schützender Wert an α1AT für Menschen im interstitiellen Fluid (ungefähr 6 M, oder 324 g/ml) in Menschen erzielt werden kann unter Verwendung von pulmonaler Verabreichung von Trockenpulver-α1AT. Insbesondere legt die Extrapolation der Schafdaten auf Menschen nahe, dass, um interstitielle Werte an α1AT in defizienten Individuen auf einen schützenden Wert anzuheben (d. h. auf ungefähr 6 M von 3,4 M in defizienten Individuen), ein 70 kg schwerer Mann ungefähr 20–60 mg an α1AT pro Tag über 3 Tage inhalieren müsste. Nach der dreitägigen Therapie wäre der Patient dann in der Lage, 10–20 mg pro Tag zu inhalieren, um das aus den Lungen heraus transportierte α1AT zu ersetzen und die schützenden Werte zu erhalten. Dies wurde im Wesentlichen hochgerechnet von schützenden Dosen für Flüssigaerosolformen von 500 mg pro Tag (siehe Hubbard and Crystal, Lung Suppl: 565–578 (1990). Diese abgeschätzten Dosen sind auf Basis von Durchschnittsdaten angenähert. Entsprechende Dosierungen variieren leicht von Individuum zu Individuum abhängig von der Art der α1AT-Defizienz, d. h. ob erworben oder genetisch, ebenso wie von dem Basiswert des Individuums.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer α1-Antitrypsin Zusammensetzung zur Verabreichung über die Lunge bei einem Patienten umfassend:
unterbringen von α1-Antitrypsin als eine trockene und im Wesentlichen amorphe Pulverzusammensetzung in einem Dosierungseinheitsbehälter.

2. Verfahren wie in Anspruch 1 angegeben, welches ferner umfasst:
dispergieren einer Menge der α1-Antitrypsin-Pulverzusammensetzung in einem Gasstrom um ein Aerosol zu bilden, und Einfangen des Aerosols in einer Kammer zur späteren Inhalation der Pulverzusammensetzung durch den Patienten.

3. Verfahren wie in Anspruch 1 oder Anspruch 2 angegeben, wobei die Zusammensetzung eine α1-Antitrypsin-Konzentration von mehr als ungefähr 30 Gewichts % aufweist.

4. Verfahren wie in Anspruch 3 angegeben, wobei die Zusammensetzung eine α1-Antitrypsin-Konzentration von mehr als ungefähr 50 Gewichts % aufweist.

5. Verfahren wie in Anspruch 3 oder Anspruch 4 angegeben, wobei die Zusammensetzung eine α1-Antitrypsin-Konzentration von mehr als ungefähr 90 Gewichts % aufweist.

6. Verfahren wie in einem der Ansprüche 3, 4 oder 5 angegeben, wobei die Zusammensetzung eine α1-An-

titrypsin-Konzentration von mehr als ungefähr 95 Gewichts % aufweist.

7. Verfahren wie in einem der Ansprüche 3 bis 6 angegeben, wobei die Zusammensetzung eine α1-Antitrypsin-Konzentration von mehr als ungefähr 99 Gewichts % aufweist.

8. Verfahren wie in einem der Ansprüche 2 bis 7 angegeben, wobei der Schritt der Aerosolbildung wirksam ist zur Bildung einer Pulverzusammensetzung in Aerosolform.

9. Verfahren wie in einem der Ansprüche 2 bis 8 angegeben, wobei der Gasstrom einen Luftstrom umfasst.

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die α1-Antitrypsin-Trockenpulverzusammensetzung in der Form eines Aggregates feiner Partikel vorliegt, wobei die feinen Partikel eine mittlere Partikelgröße von ungefähr 1 μm bis ungefähr 5 μm aufweisen und die Aggregate eine mittlere Größe von ungefähr 50 μm bis ungefähr 600 μm aufweisen, und wobei die Aggregate einen Brüchigkeitsindex von ungefähr 10 bis ungefähr 60 aufweisen.

11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die Aggregate eine Kugelform aufweisen.

12. Verfahren nach Anspruch 10 oder Anspruch 11, wobei die Aggregate mit einem nicht wässrigen Lösungsmittel als Bindungsflüssigkeit gebildet werden.

13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei die Bindungsflüssigkeit als nicht wässriges Lösungsmittel eine Fluorkohlenstoff-Flüssigkeit umfasst.

14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei die Fluorkohlenstoff-Flüssigkeit entweder Perfluordekalin oder Perfluoroktylbromid ist.

15. Verfahren wie in einem der Ansprüche 10 bis 14 angegeben, wobei die Pulverzusammensetzung von α1-Antitrypsin von ungefähr 70 Gewichts % bis ungefähr 90 Gewichts % α1-Antitrypsin umfasst.

16. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung durch Sprühtrocknen einer wässrigen Lösung die α1-Antitrypsin umfasst hergestellt wird um eine trockene und im Wesentlichen amorphe α1-Antitrypsin-Pulverzusammensetzung, umfassend mehr als ungefähr 30 Gewichts % α1-Antitrypsin, bereitzustellen.

17. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Dosierungseinheitsbehälter eine Blisterpackung ist.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, wobei der Dosierungseinheitsbehälter eine Kartusche ist.

19. Trockene und im Wesentlichen amorphe α1-Antitrypsin-Pulverzusammensetzung in einer Form zur Verabreichung über die Lunge, wobei die Zusammensetzung in einem Dosierungseinheitsbehälter angeordnet ist.

20. Zusammensetzung nach Anspruch 19, umfassend mehr als ungefähr 30 Gewichts % α1-Antitrypsin.

21. Zusammensetzung nach Anspruch 19 oder 20, umfassend mehr als ungefähr 50 Gewichts % α1-Antitrypsin.

22. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 19 bis 21 umfassend mehr als ungefähr 90 Gewichts % α1-Antitrypsin.

23. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 20 bis 22 umfassend mehr als ungefähr 95 Gewichts % α1-Antitrypsin.

24. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 20 bis 23 umfassend mehr als ungefähr 99 Gewichts % α1-Antitrypsin.

25. Zusammensetzung nach Anspruch 19 umfassend Aggregate von feinen Partikeln, wobei: (i) die feinen Partikel eine mittlere Partikelgröße von ungefähr 1 μm bis ungefähr 5 μm aufweisen, (ii) die Aggregate eine

mittlere Größe von ungefähr 50 μm bis ungefähr 600 μm aufweisen, und (iii) die Aggregate einen Brüchigkeitsindex von ungefähr 10 bis ungefähr 60 aufweisen.

26. Zusammensetzung nach Anspruch 19, eingeschlossen in einem Dosierungseinheitsbehälter wobei die trockene und im Wesentlichen amorphe α1-Antitrypsin-Pulverzusammensetzung sprühgetrocknet wurde.

27. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 19 bis 26, wobei der Dosierungseinheitsbehälter eine Blisterpackung ist.

28. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 19 bis 26, wobei der Dosierungseinheitsbehälter eine Kartusche ist.

29. Verwendung einer Zusammensetzung wie in einem der Ansprüche 19 bis 28 beansprucht bei der Herstellung eines Medikaments, das die Zusammensetzung in einem Dosierungseinheitsbehälter eingeschlossen umfasst, zur Behandlung von Emphysem.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

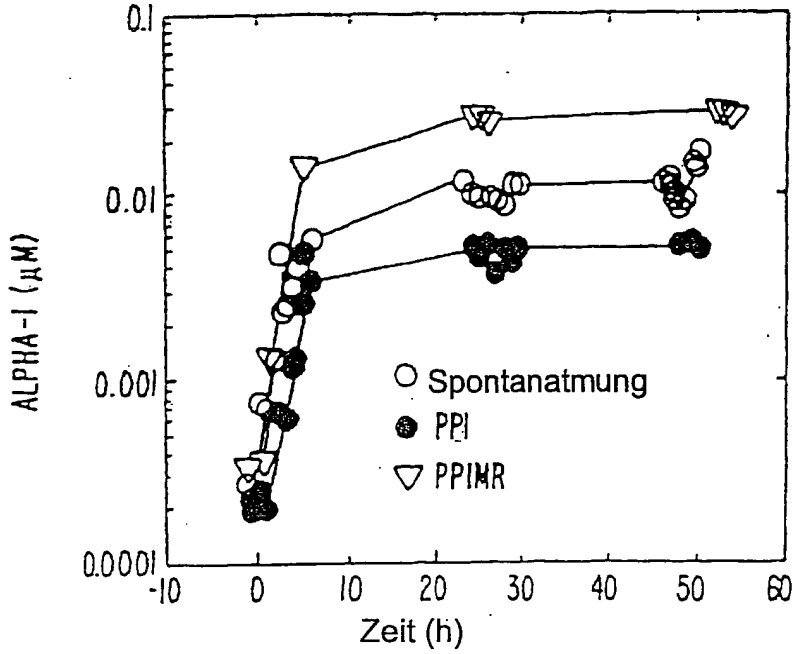


FIG. 1.

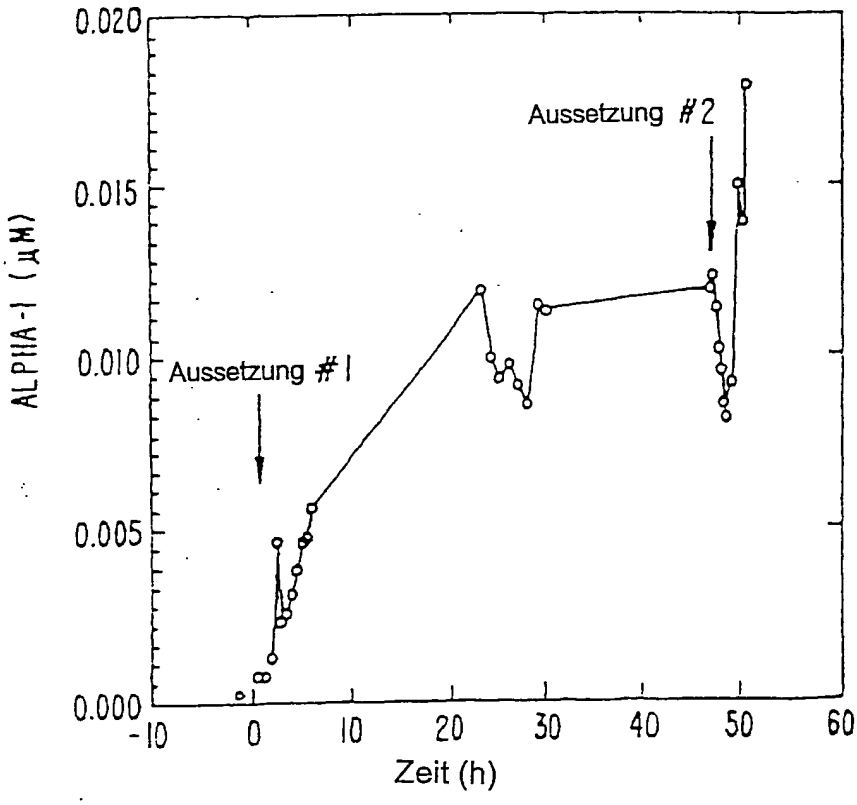


FIG. 2.

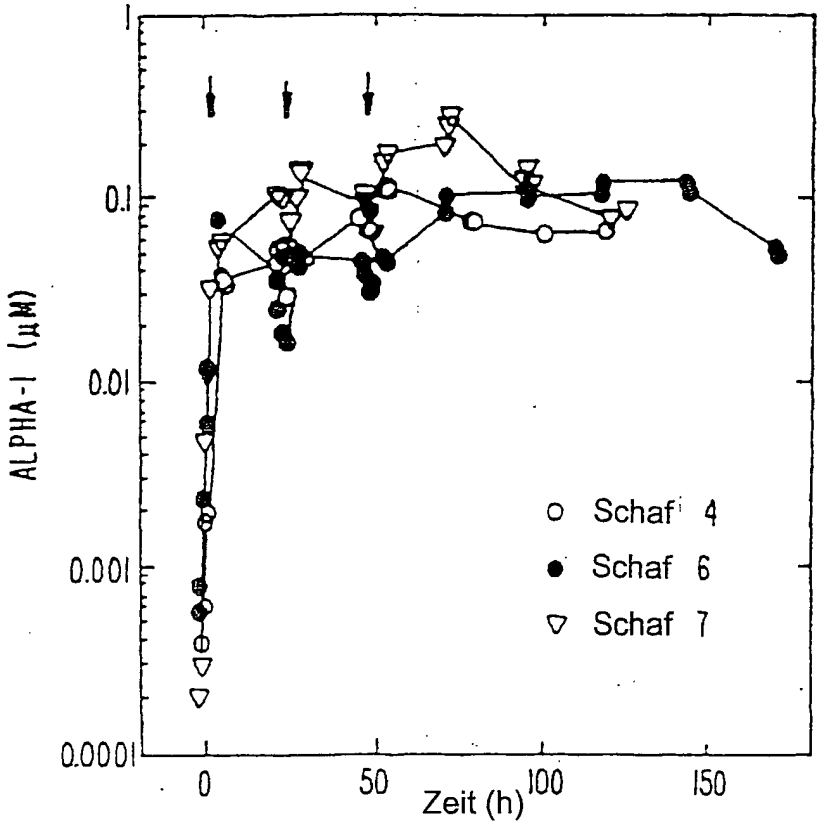

ALPHA-1 (μM)
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0
50
100
150
Zeit (h)
Schaf 4
Schaf 6
Schaf 7

FIG. 3.

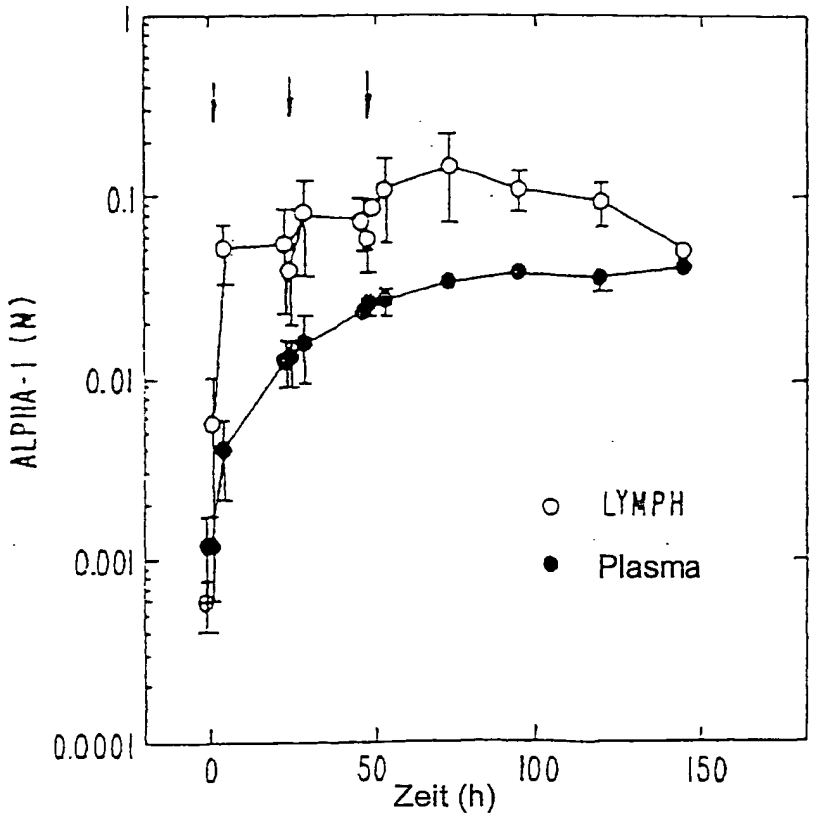

ALPHA-1 (M)
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0
50
100
150
Zeit (h)
LYMPH
Plasma

FIG 4.

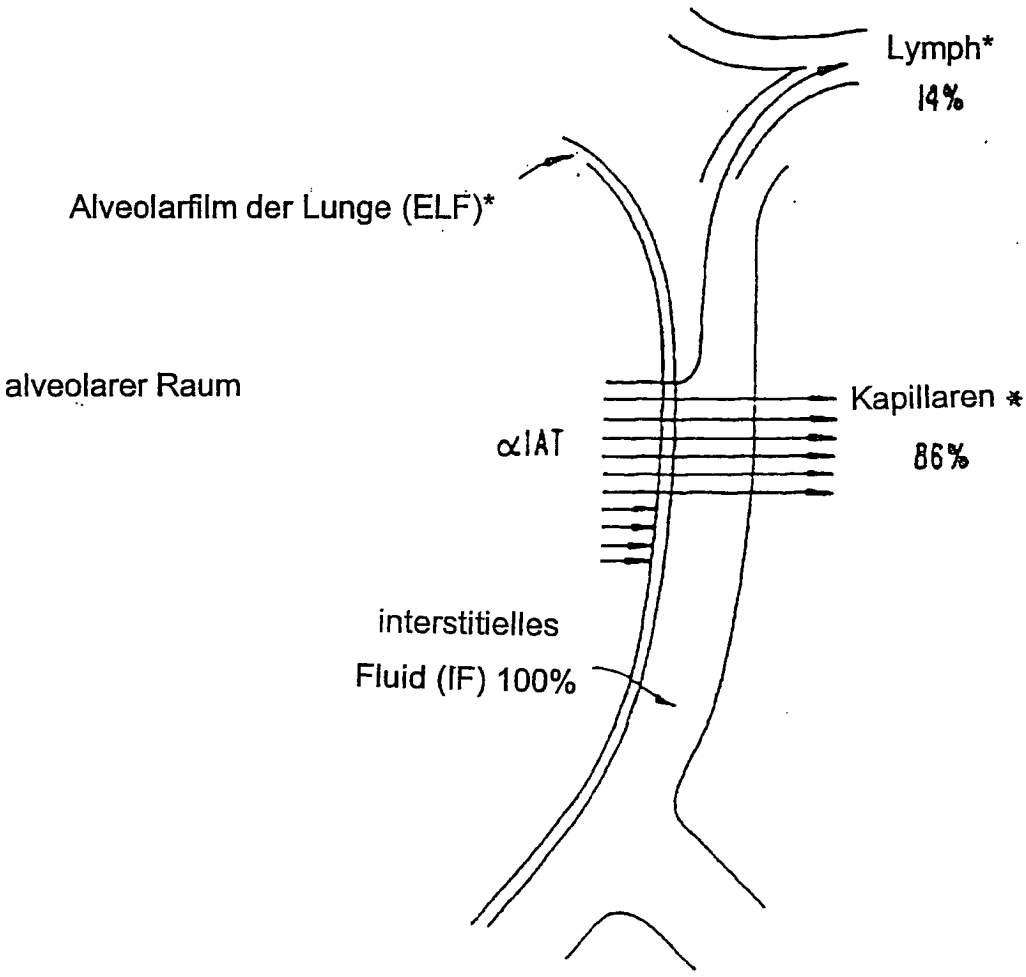

Lymph*
14%
Alveolarfilm der Lunge (ELF)*
alveolarer Raum
Kapillaren *
86%
αIAT
interstitielles
Fluid (IF) 100%
* Probenstellen im Schaf

FIG. 5.