

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7401471号  
(P7401471)

(45)発行日 令和5年12月19日(2023.12.19)

(24)登録日 令和5年12月11日(2023.12.11)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	38/13	(2006.01)	A 6 1 K	38/13
A 6 1 K	9/19	(2006.01)	A 6 1 K	9/19
A 6 1 K	9/127	(2006.01)	A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	47/24	(2006.01)	A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	47/26	(2006.01)	A 6 1 K	47/26

請求項の数 34 (全42頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-571767(P2020-571767)  
 (86)(22)出願日 令和1年6月25日(2019.6.25)  
 (65)公表番号 特表2021-528450(P2021-528450 A)  
 (43)公表日 令和3年10月21日(2021.10.21)  
 (86)国際出願番号 PCT/EP2019/066875  
 (87)国際公開番号 WO2020/002353  
 (87)国際公開日 令和2年1月2日(2020.1.2)  
 審査請求日 令和4年6月18日(2022.6.18)  
 (31)優先権主張番号 18180177.0  
 (32)優先日 平成30年6月27日(2018.6.27)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関 欧州特許庁(EP)

(73)特許権者 520387689  
 プレス テラポイティクス ゲーエムベー  
 ハー  
 BREATH THERAPEUTICS  
 GMBH  
 ドイツ連邦共和国 8 0 6 3 9 ミュンヘ  
 ン, アルドリンゲンシュトラッセ 4  
 Aldringenstr. 4 8 0 6  
 3 9 Muenchen Germany  
 (74)代理人 100133503  
 弁理士 関口 一哉  
 (72)発明者  
 デンク, オリファー  
 ドイツ連邦共和国 8 2 5 4 1 ミュンズ  
 イング, ノルドリッヒェ ゼーシュトラ  
 ーセ 3 5

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 凍結乾燥形態の医薬組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物であって、

a)

i . 治療有効量のシクロスポリン A ( C s A ) :

i i . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

i i i . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質

を含むリポソーム形成構造 ; ならびに

b ) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類

を含み、

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、凍結乾燥医薬組成物。

【請求項2】

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して約50重量% ~ 約80重量%の範囲内、または約60重量% ~ 約75重量%の範囲内、または約65重量% ~ 約70重量%の範囲内から選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記リポソーム形成構造が、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質から形成された二重膜を含む、請求項1または2のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 4】

前記リポソーム形成構造が、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質で形成された二重膜で取り囲まれた、または少なくとも部分的に取り囲まれた内腔を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 5】

前記リポソーム形成構造の内腔が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも 1 つの二糖類を含有する、請求項 4 に記載の組成物。

## 【請求項 6】

前記 CsA が、前記リポソーム形成構造の二重膜内に、少なくとも部分的に組み込まれている、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の組成物。

10

## 【請求項 7】

前記組成物が、前記凍結乾燥組成物の重量を基準にして 2 ~ 4 重量%のシクロスポリン A を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 8】

前記凍結乾燥組成物中の、前記少なくとも 1 つの二糖類の重量とシクロスポリン A の重量の比が、10 : 1 ~ 30 : 1 の範囲内から選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 9】

前記少なくとも 1 つの二糖類が、サッカロースおよび/またはラクトースである、または前記少なくとも 1 つの二糖類が、サッカロース（スクロース）である、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の組成物。

20

## 【請求項 10】

前記リン脂質の群から選択される膜形成物質が、天然リン脂質の混合物である、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 11】

前記リン脂質の群から選択される膜形成物質が、不飽和脂肪酸残基を含有するレシチンである、または大豆レシチン、Lipoid S75、Lipoid S100、Phospholipon（登録商標）G90、または同等のレシチンからなる群から選択されるレシチンである、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の組成物。

30

## 【請求項 12】

前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質が、ポリソルベートの群から選択される、または前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質が、ポリソルベート 80 である、請求項 1 ~ 11 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 13】

リン脂質と前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質、好ましくはポリソルベートの重量比が、15 : 1 ~ 9 : 1、好ましくは約 14 : 1 ~ 約 12 : 1 の範囲内から選択される、例えば約 13 : 1 である、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の組成物。

## 【請求項 14】

前記凍結乾燥組成物が、シクロスポリン A；前記リン脂質の群から選択される膜形成物質；前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質；サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも 1 つの二糖類；ならびに、必要に応じて、さらなる賦形剤および残留量の水から本質的になる、請求項 1 ~ 13 のいずれかに記載の組成物。

40

## 【請求項 15】

経肺適用のための薬剤として使用するための、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物。

## 【請求項 16】

前記経肺適用が、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物を、無菌水性

50

キャリアー液中で再構成させて、コロイド溶液または分散物を形成させた後に実施される、請求項 1 5 に記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

【請求項 1 7】

前記経肺適用が、前記組成物を、例えば噴霧化によって、エアロゾルに変換した後に実施される、請求項 1 5 または 1 6 に記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

【請求項 1 8】

前記経肺適用が、吸入によって実施される、請求項 1 5 ~ 1 7 のいずれかに記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

【請求項 1 9】

喘息、難治性喘息、慢性閉塞性気管支炎、実質性、線維性、および間質性肺疾患および炎症の予防および処置のための、好ましくは肺移植後の急性および慢性の臓器移植拒絶反応ならびにそれに起因する閉塞性細気管支炎などの疾患の予防および処置のための、請求項 1 5 ~ 1 8 のいずれかに記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

10

【請求項 2 0】

リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリン A を含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するためのキットであって、

請求項 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物、および水性キャリアー液を含む、キット。

【請求項 2 1】

前記無菌水性キャリアー液が、塩化ナトリウム水溶液である、請求項 2 0 に記載のキット。

20

【請求項 2 2】

リポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリン A を含む前記リポソームの水性分散物が、コロイド溶液である、請求項 2 0 または 2 1 に記載のキット。

【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の凍結乾燥医薬組成物を再構成させることによってリポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリン A を含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するためのプロセスであって、請求項 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物を無菌水性キャリアー液中に分散させることを含む、プロセス。

30

【請求項 2 4】

前記項 1 ~ 2 3 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物を前記無菌水性キャリアー中に溶解させるステップが、6 0 0 秒以内、または 4 0 0 秒以内、または 3 0 0 秒以内に完了する、請求項 2 3 に記載のプロセス。

【請求項 2 5】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に分散させることを含むプロセスによって、または請求項 2 3 または 2 4 に記載のプロセスによって調製される、水性キャリアー液と、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリン A とを含む液体リポソーム分散物。

【請求項 2 6】

サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも 1 つの二糖類の存在量が、前記液体リポソーム分散物の総重量を基準にして 5 ~ 1 5 重量%、または 7 . 5 ~ 1 2 . 5 重量%である、請求項 2 5 に記載の液体リポソーム分散物。

40

【請求項 2 7】

前記分散物の多分散指数 ( P I ) が、光子相関分光法で測定して、約 0 . 5 0 以下、または 0 . 1 ~ 0 . 3 の範囲内である、請求項 2 5 または 2 6 に記載の液体リポソーム分散物。

【請求項 2 8】

前記分散物が、光子相関分光法で測定した z 平均径が約 4 0 ~ 約 1 0 0 n m の範囲内であるリポソームを含む、請求項 2 5 ~ 2 7 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

50

## 【請求項 29】

前記分散物が、光子相関分光法で測定した  $z$  平均径が、請求項 1 ~ 1.4 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物を調製するために使用される凍結乾燥前のリポソームの  $z$  平均径と等しいか、それよりも最大で 20% 大きい、好ましくは請求項 28 に記載のプロセスによって形成された凍結乾燥前のリポソームと大きさが等しいか、それよりも最大で 20% 大きい、リポソームを含む、請求項 2.5 ~ 2.8 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【請求項 30】

水性キャリアー液中で再構成させるための、好ましくは請求項 1 ~ 1.4 のいずれかの凍結乾燥医薬組成物を調製するための、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリン A を含む凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスであって、

(a)

i. 治療有効量のシクロスポリン A (CsA) ;

ii. リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

iii. 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて、

iv. 緩衝剤および / またはキレート剤などの、1 つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むリポソームの液体水性分散物を用意するステップであって ;

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも 1 つの二糖類二糖類 (disaccharide disaccharide) をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも 40 重量% である、ステップ ; および

(b) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含む、プロセス。

## 【請求項 31】

(a1)

・サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも 1 つの二糖類 ;

・リン脂質の群から選択される膜形成物質 ;

・治療有効量のシクロスポリン A (CsA) ; および

・非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて

・1 つまたはそれを超えるさらなる賦形剤

を含む水性混合物を用意するステップ ; および

(a2) 前記水性混合物をホモジナイズ条件に曝すステップ ; ならびに

(b1) 得られたホモジナイズ混合物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップ

を含む、請求項 30 に記載のプロセス。

## 【請求項 32】

・サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも 1 つの二糖類の水性溶液を用意するステップ ;

・リン脂質の群から選択される膜形成物質を加え、好ましくは (均質な) 分散物の形態で、第 1 の中間混合物を形成するステップ ;

・シクロスポリン A を前記第 1 の中間混合物に加え、第 2 の中間混合物を形成するステップ ;

・非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質を前記第 2 の中間混合物に加え、第 3 の中間混合物を形成するステップ ;

・得られた第 3 の中間混合物をホモジナイズ条件に曝し、好ましくは均質なリポソーム分散物を形成するステップ ; および

・得られたホモジナイズ混合物を、好ましくは得られた均質なリポソーム分散物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップを含む、請求項 30 または 31 に記載のプロセス。

## 【請求項 33】

10

20

30

40

50

凍結乾燥医薬組成物であって、

( a )

i . 治療有効量のシクロスポリン A ( C s A ) ;

i i . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

i i i . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて、

i v . 緩衝剤および / またはキレート剤などの、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むリポソームの液体水性分散物を用意するステップであって ;

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ ; および

( b ) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含むプロセスによって得られうる、凍結乾燥医薬組成物。

【請求項34】

請求項30～32のいずれかに記載のプロセスによって得られる、または得られうる凍結乾燥医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、リポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリン A ( C s A ) と、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類とを含む、水性キャリアー中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物に関する。

【0002】

本発明は、また、活性薬剤としてリポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリン A と、経肺適用に特に適した物質とを含む凍結乾燥医薬組成物を再構成させることによって作成された液体医薬調製物にも関する。本発明のさらなる態様は、そのような組成物を調製するためのプロセス、ならびにそのような組成物を含むキットに関する。さらに、本発明は、肺疾患などの特定の疾患を処置するための、前記組成物の医薬用途およびその適用に関する。

【背景技術】

【0003】

シクロスポリン ( c y c l o s p o r i n e ) (あるいは、本明細書で同義語として用いられる「シクロスポリン」( c i c l o s p o r i n ) ) は、免疫抑制およびカルシニューリン阻害活性を有する環状オリゴ糖である。シクロスポリンは、Tリンパ球の制御に関わるある種のサイトカインの産生によるTリンパ球の活性化を阻害することによって、選択的かつ可逆的に免疫抑制するというメカニズムが特徴である。このメカニズムには、特に、例えば外来組織の拒絶に関わる細胞傷害性Tリンパ球の増殖を同時に抑制する、インターロイキン - 2 の合成を阻害することが含まれる。シクロスポリンは、シクロスポリンに対して高い親和性で結合するタンパク質のファミリーに属する、いわゆるシクロフィリン ( c y c l o p h i l i n e ) またはイムノフィリン ( i m m u n o p h i l i n e ) に結合することによって、細胞内で作用する。シクロスポリンとシクロフィリンとの複合体は、続いて、カルシニューリン ( セリン / スレオニンホスファターゼ ) をブロックする。そして、その活性状態によって、次に、インターロイキン - 2 を含む種々のサイトカイン遺伝子の活性化に決定的な役割を果たす、NF - B または NFATp / c などの転写因子の活性化が制御される。これによって、細胞分裂に不可欠なインターロイキン - 2 などのタンパク質がもはや産生されなくなるため、免疫担当リンパ球が細胞周期のG0またはG1期で停止する結果となる。拒絶反応に関わる細胞傷害性T細胞の活性を増大させるヘルパーT細胞は、シクロスポリンにとって、好ましい攻撃部位である。さらに、シクロスポリンは、成熟細胞傷害性Tリンパ球の増殖およびリンパ球のその他の機能に関わる、さらなるリンフォカインの合成および放出を阻害する。インターロイキン - 2 をブロッ

10

20

30

40

50

クするというシクロスポリンの能力は、シクロスポリンの臨床的な有効性の要点であり、移植片に対する忍容性が高い移植レシピエントは、インターロイキン - 2 産生が低いことが特徴である。逆に、顕著な拒絶反応を示す患者には、インターロイキン - 2 産生の阻害が見られない。

#### 【0004】

上市された最初（1980年代）の、かつこれまでで唯一のシクロスポリンは、シクロスポリンA（CsA）である。CsAは、化学的には、シクロ - [ [ ( E ) - ( 2 S , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 2 - ( メチルアミノ ) - 6 - オクタノイル ] - L - 2 - アミノブチリル - N - メチルグリシル - N - メチル - L - ロイシル - L - バリル - N - メチル - L - ロイシル - L - アラニル - D - アラニル - N - メチル - L - ロイシル - N - メチル - L - ロイシル - N - メチル - L - バリル ] と定義される。CsAが利用可能になることで、長期間にわたって機能を維持できる移植臓器の割合を大幅に向上できたため、移植医薬品の新しい時代が始まった。この最初のシクロスポリン薬剤（Sandimmun（登録商標）、Sandoz社）によって、既に、腎臓移植の成功率を約2倍に引き上げることが可能となった。バイオアベイラビリティがより高く、より信頼性が高い、新たなシクロスポリンの経口調製物（Neoral、Sandoz社、後にNovartis社）によって、1990年代以降、より望ましい投薬と、成功率のさらなる向上が可能となった。いくつかの新たな活性薬剤が開発されたにもかかわらず、CsAは、依然として、移植医薬品に多用される薬剤である。

#### 【0005】

今日では、肺移植もまた、患者をCsAで処置すれば、基本的には成功させることができる。CsAが臨床治療に導入されてから、全世界で行われる肺移植の件数は、劇的に増加した。これは、片肺移植と両肺移植の両方にあてはまる。肺移植は、通常、薬物療法が奏効せず、肺疾患のために平均余命が短くなっている、最終ステージの肺疾患の患者の場合に検討される。片肺移植は、例えば、特発性肺線維症などの、ある特定の形態の肺気腫および線維症の場合に必要とされる。両肺移植は、嚢胞性線維症（腭線維症）、原発性肺高血圧症、全般的な機能不全および頻発する重篤感染を伴う肺気腫、ならびに反復する感染による合併症を伴う特発性肺線維症の場合に行われる。肺移植が成功した場合、患者のQOL（生活の質）を、再び、ほぼ正常なレベルまで向上させることができる。しかしながら、心臓、腎臓、および肝臓移植とは異なり、肺移植後の生存期間は依然として比較的短く、平均で5年である。これは、とりわけ、全身的副作用、例えば、腎機能障害、クレアチニンおよび尿素の血清中濃度上昇、構造的変化を伴う腎障害（例えば間質性線維症）、ビリルビンおよび肝酵素の血清中濃度上昇、多毛症（hypertrichiosis）、振戦、疲労、頭痛、肥大性歯肉炎、食欲不振などの胃腸病訴、腹痛、吐き気、嘔吐、下痢、胃炎、胃腸炎、錯感覚症、手足の刺すような感覚、動脈性高血圧、血中脂質濃度上昇、アクネ、発疹、アレルギー皮膚反応、高血糖症、貧血、高尿酸血症、痛風、体重増加、浮腫、胃潰瘍、痙攣、月経障害、高カリウム血症、低マグネシウム血症、ホットフラッシュ、紅斑、そう痒、筋痙攣、筋肉痛、ミオパチーなどがあるために、すべての患者に対して、この活性薬剤であるシクロスポリンを効果的に投与することができないという事実によるものである可能性がある。

#### 【0006】

したがって、例えば、肺移植後、またはそれ以外のある種の適応において、健常組織におけるCsAの影響を最小化するために、CsAを、標的化かつ組織特異的な様式で、かつ、CsAの全身的バイオアベイラビリティが低くとどまるように投与できれば望ましいであろう。

#### 【0007】

喘息、特発性肺線維症、サルコイドーシス、肺炎、および実質性肺疾患などの疾患を処置および予防するために、適切な剤形を用いることもできる（Drugs for the treatment of respiratory diseases, edited by Domenico Spina, Clive p. Page et al.,

10

20

30

40

50

Cambridge University Press, 2003, ISBN 0521773210 参照)。また、神経皮膚炎、乾癬、非特異的湿疹、皮膚増殖または変異などの、起こりうる自己免疫が含まれる疾患の局所療法のために、および皮膚移植後の処置のために、新たな治療態様をもたらされる。興味深い適用領域は、例えばステロイドによる抗炎症療法に対する反応がある程度不十分である、例えば角結膜炎または他の感染性眼疾患の角膜移植後の処置のための、眼科学分野内における適用である。また、イヌなどの動物の角膜炎の処置においても有用である。

【0008】

例えば、1%および2%の油性点眼剤（精製ピーナツオイルを可溶化剤として用いたドイツ薬局方による製剤）の形態で、またはエアロゾルとして、シクロスポリンの局所投与が試みられてきた。しかしながら、シクロスポリンの水溶解性が非常に低く、それによって有効な投与が著しく困難になることを主因として、このアプローチは一般に失敗に終わる。よって、経肺適用の場合、経口投与の場合には使用できるある種の可溶化用アジュバントは、忍容性を欠くため、使用することができない。例えば、シクロスポリンAを含むSandimmun（登録商標）Optoralカプセル（Novartis社）は、エタノール、プロピレングリコール、およびかなり大量の界面活性剤を含むため、仮に吸入した場合には重大な毒性作用を生じる製剤となる。同様に、輸液用に入手でき、アジュバントとしてエタノールとポリオキシエチレン-40ヒマシ油だけを含むSandimmun（登録商標）輸液濃縮物（Novartis社）もまた、吸入できるものではない。Sandimmun（登録商標）輸液濃縮物は、0.9%塩化ナトリウム溶液または5%グルコース溶液を用いて、1:20~1:100の割合で事前に必ず希釈してから輸液に用いる。結果として、輸液によって投与することはできるが、吸入では投与できないほど大容量になる。

【0009】

WO86/03938には、生物活性分子を含有するリポソームを、再水和したときに、最初に封入された物質が実質的にすべてリポソーム構造に保持されるように保存する方法が記載されている。トレハロースなどの、少なくとも2つの単糖単位を有する保存剤が、内部もしくは外部、または内部と外部の両方に用いられる。

【0010】

WO90/00389には、シクロスポリンの細胞への起こりうるリポソーム送達に用いるための、両親媒性脂質およびシクロスポリンまたはその誘導体を含む凍結乾燥された潜在的リポソーム混合物が記載されている。この凍結乾燥された潜在的リポソーム混合物は、凍結保護効果を付与し、リポソームの長期安定性を向上させるために、スクロース、トレハロース、およびグルコースなどの種々のサッカライドを含んでいてもよい。水性媒体中で再構成してリポソームを生じさせた場合、濃縮乾燥混合物中に存在する実質的にすべてのシクロスポリンが、リポソーム中に封入される。WO90/00389には、さらに、両親媒性脂質およびシクロスポリンまたはその誘導体を含む濃縮乾燥リポソーム混合物も開示されており、この濃縮乾燥リポソーム混合物は、本質的にサッカライドを含まず、少なくとも120日間保存することができ、そのように保存した後に水性リポソーム調製物を調製した場合、混合物中のシクロスポリンのうち少なくとも90%が実質的に均一な粒度分布のリポソーム中に封入される。

【0011】

WO92/18104には、中性リン脂質と、ホスファチジルグリセロールおよびジミリストイルホスファチジン酸から選択される負に荷電したリン脂質と、シクロスポリンとを有機溶媒に溶解して溶液を形成すること；前記溶液を乾燥して固相を形成すること；水性溶液で前記固相に加水してシクロスポリンリポソーム治療製剤を形成すること、を特徴とする、シクロスポリンリポソーム治療製剤の調製プロセスが開示されている。WO92/18104には、さらに、中性リン脂質と、ホスファチジルグリセロールおよびジミリストイルホスファチジン酸から選択される負に荷電したリン脂質と、シクロスポリンとを含むことを特徴とする、水性溶液に懸濁されたリポソームも記載されている。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 2 】

WO 9 6 / 4 0 0 6 4 には、免疫抑制剤として、および薬剤耐性がんの処置に有効である、リポソームに封入されたシクロスポリン製剤が開示されている。このシクロスポリン製剤は、ホスファチジルコリン、コレステロール、ホスファチジルグリセロール、およびシクロスポリンからなるリポソーム、例えば、ホスファチジルコリン、コレステロール、ジミリストイルホスファチジルグリセロール、およびシクロスポリンからなるリポソームを含む。このリポソームは、単層であり、大きさが75ナノメートル未満であり、哺乳類の全血中で安定であると記載されている。

## 【 0 0 1 3 】

WO 9 8 / 0 0 1 1 1 には、リン脂質濃度が225 mg / mL に及ぶ高濃度の、シクロスポリンAの吸入用リポソーム分散物が提案されている。しかしながら、このリポソーム分散物は、動的粘度が高いため、効果的に噴霧化できない。シクロスポリンAのリポソーム調製物は、US 2 0 0 3 / 0 2 1 5 4 9 4 にも記載されている。しかしながら、そこに記載された発明は、そのような調製物が肺転移の抑制に用いられるという点にある。米国特許第5,958,378号には、噴霧化のためのシクロスポリンリポソーム調製物が記載されているが、粘度が高いため、そのシクロスポリンリポソーム調製物は電子振動膜型ネブライザーで噴霧化することができない。さらに、調製に有機溶媒であるブタノールが用いられており、その後の凍結乾燥プロセスによってもこのブタノールは完全には除去できず、得られるリポソームの大きさは $> 1 \mu\text{m}$ であり、このため濾過によって滅菌することができず、また上皮細胞膜を透過する能力が低い。

## 【 0 0 1 4 】

WO 9 8 / 3 6 7 3 6 には、トレハロースと、生物活性成分を含有する脂質リポソームとを含む凍結乾燥組成物が記載されており、この凍結乾燥組成物は、生物活性成分の水溶性が非常に低く、トレハロース/脂質の重量比が1.5以下であり、トレハロースのすべてが、凍結乾燥前に予め形成したリポソームの外側に加えられたことを特徴とする。

## 【 0 0 1 5 】

WO 0 3 / 0 9 9 3 6 2 A 1 には、個体における肺転移の増殖を阻害する方法が記載されており、この方法は以下のステップ、すなわち、順番に、ある用量の脂質 - 薬物賦活剤リポソーム複合体を投与するステップ；およびある用量の脂質 - 抗がん剤リポソーム複合体を投与するステップを含み、これらのリポソーム複合体は、どちらも、ネブライザーを用いたエアロゾル化によって送達され、それによって、前記の薬物賦活剤と前記の抗がん剤が、個体における肺転移の増殖を阻害し、前記の薬物賦活剤は、シクロスポリンA、シクロスポリンD、ベラパミル、ケトコナゾール、PCS 833、エリスロマイシン、ニフェジピン、ラバマイシン、または20ミベフラジルから選択されてもよく、前記の抗がん剤は、パクリタキセル、ドキシソルピシン、エトポシド、ピンブラスチン、カンプトテシン、シスプラチン、カルボプラチン、ダウノルピシン、またはアドリアマイシンから選択されてもよい。

## 【 0 0 1 6 】

WO 2 0 0 7 / 0 6 5 5 8 8 A 1 には、治療有効用量のシクロスポリン；水性キャリアー液；第1の可溶化物質の群から選択されるリン脂質；および第2の可溶化物質の群から選択される非イオン性界面活性剤を含む液体医薬組成物が開示されている。ここで開示されている組成物は、エアロゾル形態での、経口適用、非経口適用、経鼻適用、経粘膜適用、局所適用、および特に経肺適用のために適している。

## 【 0 0 1 7 】

WO 2 0 1 6 / 1 4 6 6 4 5 A 1 には、好ましくは単層リポソームを含むシクロスポリンリポソーム製剤が開示されている。このリポソームは、光子相関分光法を用いて測定した平均径が $z$ 平均として最大で約100 nmであり、光子相関分光法で測定した多分散指数が最大で約0.5である。

## 【 0 0 1 8 】

この製剤は、吸入の直前に、水性溶媒を用いて再構成させるための固形製剤として提供

10

20

30

40

50

してもよい。この固形製剤は、液体製剤から溶媒を除去するために適切な任意の方法によって調製することができる。このような固形製剤を調製するための好ましい例は、凍結乾燥およびスプレードライである。活性成分を乾燥プロセスの間保護するために、糖または糖アルコール、特にスクロース、フルクトース、グルコース、トレハロース、マンニトール、ソルビトール、イソマルト、またはキシリトールのような凍結保護および/または充填剤を加えることが有効でありうる。しかしながら、とりわけ、糖は、リポソームに封入されたCsAを含む、予め形成した製剤に添加する。

【0019】

よって、本発明の目的は、好ましくは吸入による、CsAの経肺投与を可能にする、入手しやすい出発材料から利用しやすい技術を用いて容易に調製することができる、リポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む改良された医薬製剤を提供することである。さらに、リポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む医薬製剤は、液体製剤と比較して、製剤の安定性、とりわけ製剤に含まれるリポソームの安定性を向上させて、より長い貯蔵期間と、温度その他の貯蔵条件に対する感受性の低減を可能にすべきである。さらに、リポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む改良された医薬製剤は、特に固形として提供された場合、容易で迅速な再構成を可能にし、含まれるリポソームの物理的特性の維持を可能にすべきである。本発明の目的は、実施例および特許請求の範囲を含む本開示から明らかになるであろう。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0020】

【文献】WO 86 / 03938

【文献】WO 90 / 00389

【文献】WO 92 / 18104

【文献】WO 96 / 40064

【文献】WO 98 / 00111

【文献】US 2003 / 0215494

【文献】米国特許第5,958,378号

【文献】WO 98 / 36736

【文献】WO 03 / 099362A1

【文献】WO 2007 / 065588A1

【文献】WO 2016 / 146645A1

【非特許文献】

【0021】

【文献】Drugs for the treatment of respiratory diseases, edited by Domenico Spina, Clive p. Page et al., Cambridge University Press, 2003, ISBN 0521773210

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0022】

本発明の第1の態様において、本発明は、水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物であって、

a)

i. 治療有効量のシクロスポリンA (CsA) ;

ii. リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

iii. 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質を含むリポソーム形成構造 ; ならびに

b) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類

10

20

30

40

50

を含み、

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、

水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物に関する。

【0023】

本発明の第2の態様において、本発明は、経肺適用のための薬剤として使用するための、本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物に関する。

本発明の第3の態様において、本発明は、リポソーム的に可溶化した（組み込まれた/挿入された）形態の治療有効量のシクロスポリンAを含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するためのキットに関し、前記キットは、

本発明の第1の態様による凍結乾燥医薬組成物、および  
水性キャリアー液を含む。

【0024】

第4の態様において、本発明は、本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物を再構成させることによってリポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリンAを含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するためのプロセスに関し、前記プロセスは、本発明の第1の態様による凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に分散させることを含む。

【0025】

本発明の第5の態様において、本発明は、水性キャリアー液と、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリンAとを含む液体リポソーム分散物に関し、前記液体リポソーム分散物は、本発明の第1の態様による凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に分散させることを含むプロセスによって調製される。

【0026】

本発明の第6の態様において、本発明は、水性キャリアー液中で再構成させるための、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリンAを含む凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスを提供し、前記プロセスは、以下のステップ、すなわち

(a)

i . 治療有効量のシクロスポリンA (CsA) ;

ii . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

iii . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて、

iv . 緩衝剤および/またはキレート剤などの、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むリポソームの液体水性分散物を用意するステップであって ;

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ ; および

(b) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含む。

【0027】

本発明の第7の態様において、本発明は、  
凍結乾燥医薬組成物であって、

(a)

i . 治療有効量のシクロスポリンA (CsA) ;

ii . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

iii . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて、

iv . 緩衝剤および/またはキレート剤などの、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むリポソームの液体水性分散物を用意するステップであって ;

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾

10

20

30

40

50

燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ；および

(b) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含むプロセスによって得られうる、凍結乾燥医薬組成物に関する。

【0028】

特定の実施形態において、本発明の第7の態様は、本発明の第4の態様によるプロセスによって得られる、または得られうる凍結乾燥医薬組成物に関する。

【発明を実施するための形態】

【0029】

用語「からなる (consist of)」、「からなる (consists of)」、および「からなる (consisting of)」は、本明細書で用いる場合、言及した構成要素のみが存在することを意味する、いわゆるクローズドな用語である。用語「含む (comprise)」、「含む (comprises)」、および「含む (comprising)」は、本明細書で用いる場合、1つまたはそれを超えるさらなる構成要素も存在しても、存在していなくてもよいことを意味する、いわゆるオープンな用語である。

10

【0030】

用語「医薬活性成分」(本文書を通して、「API」とも呼ばれる)は、状態、障害、または疾患の、予防、診断、安定化、処置、または、一般的に言えば、管理に有用な、任意の種類の実薬活性化合物またはその誘導体を指す。

【0031】

用語「治療有効量」は、本明細書で用いる場合、望まれる薬理学的効果を生じさせるために有効な用量、濃度、または強度を指す。本発明の文脈において、用語「治療有効」は、予防活性も含む。治療用量は、適用の個々のケースに応じて決定すべきである。治療用量は、疾患の性質および重篤度、適用の経路、ならびに患者の身長および状態に応じて、当業者に知られている方法で決定すべきである。

20

【0032】

本発明の文脈において、「医薬組成物」は、少なくとも1つのAPIと、少なくとも1つのアジュバントとの調製物であり、前記アジュバントは、最も単純なケースでは、例えば、水または生理食塩水などの水性液体キャリアーである。

【0033】

用語「a」または「an」は、複数を排除するものではない。すなわち、単数形の「a」、「an」、および「the」は、文脈によって明示または必要とされないかぎり、複数の指示対象物を含むものと理解すべきである。言い換えれば、言及された文脈による明示的な別段の規定や明確な逆の指示がないかぎり、単数の特徴または限定に対する本開示のすべての言及は、対応する複数の特徴または限定を含むものとし、その逆も同様である。したがって、用語「a」、「an」、および「the」は、別段の規定がないかぎり、「少なくとも1つ (at least one)」または「1つまたはそれを超える (one or more)」と同じ意味を有する。例えば、「成分 (an ingredient)」に対する言及は、成分 (ingredients) の混合物なども含む。

30

【0034】

本明細書で用いる場合、用語「約 (about)」または「約 (ca.)」は、製薬産業で許容されている変動および医薬製品に内在する変動、例えば、製造のばらつきおよび/または製品の経時的な分解による含有率の差を埋める。この用語は任意の変動を考慮しており、これによって、医薬品の使用上、哺乳動物において、評価対象の製品が、対象製品に示された効力と生物学的同等性を有すると判断することが可能になるであろう。

40

【0035】

ある属性または値に関する「本質的に (essentially)」、「約 (about)」、「約 (approximately)」、「実質的に (substantially)」などは、厳密なその属性または正確なその値、ならびに、当該技術分野において許容される通常の範囲または可変性に収まると一般に考えられる任意の属性および値を含

50

む。例えば、「実質的に水を含まない」は、製剤に意図的には水を加えないことを意味するが、残留水分の存在を否定するものではない。

【0036】

本発明の文脈において、「コロイド性の水性溶液」は、好ましくは、有機溶媒を含まず、主に、平均粒径が最大で100nmであり、かつ/または多分散指数(PI)が0.50を超えない、活性薬剤の少なくとも大部分が溶解している単層リボソームからなる溶液を意味する。好ましくは水、特に生理食塩水が、調製物に含まれる唯一の液体溶媒である。さらに、調製物は、水溶液またはコロイド水溶液であること、すなわち単相の液体系であることが好ましい。そのような系は、本質的に、コロイド粒径より大きい分散粒子を含まない。慣例上、約1μm未満の粒子は、単独の相を構成せず物理的な相界を生じさせないコロイド性粒子とみなされる。場合により、大きさが1μmをわずかに上回る粒子も、同様に、コロイド性とみなされることがある。しかしながら、好ましくは、本明細書で用いる場合、コロイド性の水性溶液は、コロイドの範疇に属さない粒子(すなわち、例えば直径が1μm以上の粒子)を本質的に含まない。

10

【0037】

第1の態様によれば、本発明は、水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物であって、

a)

i. 治療有効量のシクロスポリンA(CsA)；

ii. リン脂質の群から選択される膜形成物質；および

iii. 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質を含むリボソーム形成構造；ならびに

b) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類

を含み、

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、

水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物を提供する。

20

【0038】

本発明による医薬組成物は、以下にさらに詳細に説明するように、前駆体溶液、または、好ましくは分散物の凍結乾燥によって調製してもよい。用語「凍結乾燥」または「凍結乾燥される」は、本明細書で用いる場合、以下にさらに詳細に説明するように、溶解または分散した成分を含む水性もしくは非水性の溶液または分散物を減圧下、かつ通常は低温で、昇華によって乾燥させるプロセスを意味する。好ましい実施形態において、本発明の医薬組成物は、前駆体溶液または分散物の水性溶媒、キャリアー液、液体ビヒクル、または連続相を除去することによって調製してもよい。

30

【0039】

本発明の凍結乾燥医薬組成物は、水性キャリアー液中で再構成させるために適しており、水性キャリアー液中で再構成されうる。用語「再構成される(reconstituted)」は、本明細書で用いる場合、前記凍結乾燥プロセスによって固形物として得られた、または生成した凍結乾燥医薬組成物が、水性キャリアー液中に、再溶解または再分散、好ましくは再分散されうることを意味する。

40

【0040】

本発明による凍結乾燥医薬組成物は、成分a)として、リボソーム形成構造を含む。前記リボソーム形成構造は、第1の構成成分として治療有効量のシクロスポリンA(CsA)、第2の成分としてリン脂質の群から選択される膜形成物質、および第3の成分として非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質を含む。特定の実施形態において、本発明による凍結乾燥医薬組成物は、以下にさらに詳細に説明するように、場合により、1つまたはそれを超える(さらなる)賦形剤、例えば、緩衝剤またはキレート剤を含んでいてもよい。

50

## 【0041】

本発明の凍結乾燥医薬組成物は、成分b)として、サッカロース(スクロース(本明細書で用いる場合、用語「サッカロース」と「スクロース」は同義であり、また -D-フルクトフラノシル -D-グルコピラノシド(CAS番号57-50-1)の同義語として用いられる))、ラクトース(-D-ガラクトピラノシル-(1-4)-D-グルコース(CAS番号63-42-3))、およびトレハロース(-D-グルコピラノシル-(1-1)-D-グルコピラノシド(CAS番号99-20-7))からなる群から選択される少なくとも1つの二糖類をさらに含み、前記少なくとも1つの二糖類の存在量は、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である。いくつかの実施形態において、前記少なくとも1つの二糖類の存在量は、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して、約40重量%~約95重量%、約40重量%~約90重量%、約40重量%~約85重量%、または約40重量%~約80重量%である。特定の実施形態において、本発明の医薬組成物は、前記凍結乾燥組成物の総重量に対する存在量が少なくとも約40重量%である前記二糖類として、サッカロースおよび/またはトレハロース、好ましくはサッカロースを含む。さらなる実施形態において、本発明の医薬組成物は、前記凍結乾燥組成物の総重量に対する存在量が少なくとも約40重量%である前記二糖類として、トレハロースを含む。特定の実施形態において、本発明の医薬組成物は、3種類の二糖類、すなわちサッカロース、ラクトース、およびトレハロースのすべての混合物を含んでもよく、前記の二糖類のうちの2種類の混合物、すなわちサッカロースとラクトースの混合物、サッカロースとトレハロースの混合物、またはラクトースとトレハロースの混合物を含んでもよい。これらの場合、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも約40重量%の量とは、本発明による凍結乾燥組成物に含まれる各二糖類の総重量を指す。

10

20

## 【0042】

本発明の医薬組成物の成分a)のリポソーム形成構造は、要素iiに記載されたリン脂質の群から選択される膜形成物質(単数または複数)から形成された脂質二重膜を主に含む。前記リポソーム形成構造は、本明細書で用いる場合、以下にさらに詳細に説明するように、水性キャリアー液と接触させるか、または水性キャリアー液で再構成させると、リポソーム、好ましくは閉じた球状の二重膜と内腔とを有するリポソームを形成することができる。

## 【0043】

本凍結乾燥医薬組成物の成分a)に記載されたりポソーム形成構造は、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質から形成された二重膜を含む。しかしながら、前記リポソーム形成構造は、本明細書で用いる場合、連続した、または閉じた二重膜を含んでもよく、含んでいなくてもよい。特定の実施形態において、前記リポソーム形成構造は、少なくとも部分的に単層形態で存在してもよく、または、好ましくは、大部分が単層形態で存在してもよい。用語「単層」は、本明細書で用いる場合、対応するリポソーム形成構造が、1つの脂質二重膜から形成された単層のみを含み、積層構造の複数の脂質二重膜を含まないことを意味する。

30

## 【0044】

特定の実施形態において、本凍結乾燥医薬組成物の成分a)の前記リポソーム形成構造は、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質で形成された二重膜で取り囲まれた、または少なくとも部分的に取り囲まれた内腔を含んでもよい。しかしながら、さらなる特定の実施形態において、前記リポソーム形成構造は、1つの脂質二重膜によって形成された、または互いに接着もしくは結合した複数の脂質二重膜(内腔と周囲との間に開口を有していてもよく、有していなくてもよい)によって形成された、つぶれた球体もしくは部分的につぶれた球体、または回転楕円体の形状を有していてもよい。

40

## 【0045】

本凍結乾燥医薬組成物のリポソーム形成構造の内腔は、残留水または水性キャリアー液を含んでもよく、含んでいなくてもよい。しかしながら、好ましい実施形態において、前記リポソーム形成構造の内腔は、少なくとも部分的に脱水されている。よって、特定

50

の実施形態において、前記リポソーム形成構造の内腔、ならびに前記リポソーム形成構造は、通常、水または前記水性キャリアー液を、残留量だけ含有する、または含む。さらに、前記リポソーム形成構造の内腔は、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも1つの二糖類、好ましくはトレハロースおよび/またはサッカロースを、(少量)含有または含んでいてもよく、含有または含んでいなくてもよいことに留意すべきである。

【0046】

好ましい実施形態において、本発明による凍結乾燥医薬組成物は、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して、または前記凍結乾燥組成物の総重量を基準にして、約50重量%~約80重量%または約50重量%~約75重量%の範囲内から選択される量の前記少なくとも1つの二糖類、好ましくはサッカロースおよび/またはラクトース、特にサッカロースを含む。さらなる好ましい実施形態において、本発明による凍結乾燥医薬組成物は、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して約60重量%~約75重量%の範囲内から選択される、さらに好ましくは約65重量%~約70重量%の範囲内から選択される量の前記少なくとも1つの二糖類、好ましくはサッカロースおよび/またはラクトース、特にサッカロースを含む。

10

【0047】

本凍結乾燥医薬組成物は、治療有効量のシクロスポリンA(CsA)を含み、シクロスポリンAは、化学的にはシクロ-[[(E)-(2S,3R,4R)-3-ヒドロキシ-4-メチル-2-(メチルアミノ)-6-オクタノイル]-L-2-アミノブチリル-N-メチルグリシル-N-メチル-L-ロイシル-L-バリル-N-メチル-L-ロイシル-L-アラニル-D-アラニル-N-メチル-L-ロイシル-N-メチル-L-ロイシル-N-メチル-L-バリル]と定義される、免疫抑制活性を有する環状ペプチドである。

20

【0048】

特定の実施形態において、本発明によるリポソーム形成構造に含まれる治療有効量のCsAは、リポソーム形成構造の二重膜内に、少なくとも部分的に組み込まれている(または、挿入されている)。用語「組み込まれる」は、親脂性化合物であるCsAに関して、本明細書で用いる場合、CsAが、(用語「表面」は、リポソーム形成構造を形成する二重膜の両方の表面、より具体的には内側または外側表面を意味するが)脂質二重膜の親水性の外側表面ではなく、脂質二重膜内部の親脂性部分に配置され、または挿入されていることを意味する。

30

【0049】

好ましい実施形態において、CsAは、リポソーム形成構造の二重膜内に大部分が組み込まれている。例示的な実施形態において、本凍結乾燥医薬組成物に含まれるCsAの総量のうち、少なくとも約90%、さらに少なくとも約95%、さらに少なくとも約97.5%が、本発明のリポソーム形成構造の二重膜内に組み込まれている。さらなる例示的な実施形態において、本凍結乾燥医薬組成物に含まれるCsAの総量のうち、約90%~約97.5%、約90%~約99%、約90%~99.5%、もしくは約90%~99.9%、または約95%~約97.5%、約95%~約99%、約95%~99.5%、もしくは約95%~99.9%が、本発明のリポソーム形成構造の二重膜内に組み込まれている。

40

【0050】

さらなる好ましい実施形態において、本凍結乾燥医薬組成物は、それぞれ前記凍結乾燥組成物の重量を基準にして、約2~約4重量%、好ましくは約2.2~約3.4重量%、さらに好ましくは約2.4~約3.4重量%、約2.4重量%~約3.0重量%、約2.5重量%~約2.9重量%、約2.6重量%~約2.8重量%、または約2.65重量%~約2.75重量%の範囲の量のCsAを含む。本凍結乾燥医薬組成物のさらなる特定の実施形態において、前記凍結乾燥組成物中の、成分b)に記載された前記少なくとも1つの二糖類の重量とシクロスポリンAの重量の比は、約10:1~約30:1、約20:1~約30:1、約20:1~約27.5:1、さらに約22.5:1~約27.5:1の

50

範囲内から選択される。

【0051】

本発明の凍結乾燥医薬組成物の成分a)に記載されているボソーム形成構造は、要素i i .として、リン脂質の群から選択される膜形成物質、またはリン脂質の群から選択される2つ以上の異なる膜形成物質の混合物をさらに含む。用語「膜形成物質」は、本明細書で用いられる場合、その物質が、水または生理食塩水などの水性キャリアー液中で、自己集合によって脂質二重膜を形成することができること、および/または水性キャリアー液中で、以下にさらに詳細に説明するような環境のもとでリポソームを形成することができることを意味する。

【0052】

本発明のリポソーム形成構造に含まれる好ましいリン脂質は、特に、天然または濃縮リン脂質、例えば、市販のPhospholipon(登録商標)G90、100またはLipoid90、S100などのレシチン(lecithines)の混合物である。よって、好ましい実施形態において、リン脂質の群から選択される膜形成物質は、天然リン脂質の混合物である。

【0053】

リン脂質は、リンを含有する両親媒性脂質である。ホスファチドとしても知られており、自然界で、特に生体膜の二重層を形成する構成成分として重要な役割を果たしており、また、ホスファチジン酸から化学的に誘導されるリン脂質は、医薬目的で多用されている。後者は、(通常、二重に)アシル化されたグリセロール-3-リン酸であり、その脂肪酸残基の長さは異なってもよい。前記ホスファチジン酸の誘導體は、例えば、リン酸基がさらにコリンでエステル化されているホスホコリンまたはホスファチジルコリン、ならびにホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトールなどである。レシチンは、通常、高比率のホスファチジルコリンを含有する各種リン脂質の天然の混合物である。本発明による好ましいリン脂質は、レシチン、ならびにジミリストイルホスパチジルコリン(dimyristoylphosphatidylcholine)、ジパルミトイルホスファチジルコリン、およびジステアロイルホスファチジルコリンなどの、純粋な、または濃縮されたホスファチジルコリンである。

【0054】

さらなる好ましい実施形態において、リン脂質の群から選択される膜形成物質は、不飽和脂肪酸残基を含有するレシチンである。とりわけ好ましい実施形態において、リン脂質の群から選択される膜形成物質は、大豆レシチン、Lipoid S100、Phospholipon(登録商標)G90、100、または同等のレシチンからなる群から選択されるレシチンである。さらなる好ましい実施形態において、リン脂質の群から選択される膜形成物質は、Lipoid S100およびLipoid S75から選択され、特にLipoid S100である。

【0055】

特定の実施形態において、リン脂質の群から選択される膜形成物質、好ましくはLipoid S100の含有量は、前記凍結乾燥組成物の総重量を基準にして、約10重量%~約30重量%または15重量%~約30重量%、好ましくは約20~約30重量%、さらに好ましくは約23~約27重量%である。さらなる特定の実施形態において、上記したようなリン脂質の群から選択される膜形成物質とCSAの重量比は、約8:1~約11:1、好ましくは約8.5:1~約10:1の範囲内から選択され、例えば約9:1である。

【0056】

本発明の凍結乾燥医薬組成物の成分a)に記載されているボソーム形成構造は、要素i i i .として、非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質、または非イオン性界面活性剤の群から選択される2つ以上の異なる溶解性増強物質の混合物をさらに含む。非イオン性界面活性剤は、他の界面活性剤として、少なくとも1つの比較的親水性の分子領域と、少なくとも1つの比較的親油性の分子領域とを有する。モノマー状の低分子

10

20

30

40

50

量非イオン性界面活性剤、およびオリゴマーまたはポリマー構造を有する非イオン性界面活性剤が存在する。本発明のリポソーム形成構造の要素  $i i i$  に記載されている溶解性増強物質として適した、適当な非イオン性界面活性剤の例としては、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、例えばオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなどのポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、ポロキサマー、ビタミン E - T P G S ( D - トコフェリルポリエチレングリコール 1 0 0 0 コハク酸エステル)、およびチロキサポールがあげられる。

【 0 0 5 7 】

特定の実施形態において、ポリソルベートおよびビタミン E - T P G S の群から選択される、非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質は、好ましくは、ポリソルベートの群から選択される。特に好ましい実施形態において、非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質は、ポリソルベート 8 0 である。

10

【 0 0 5 8 】

非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質の含有量は、それぞれ前記凍結乾燥組成物の総重量を基準にして、好ましくは、約 0 . 0 1 ~ 約 5 重量%、約 0 . 1 ~ 約 4 重量%、約 0 . 5 ~ 約 3 . 5 重量%、約 1 ~ 約 3 重量%、好ましくは約 1 . 5 ~ 約 2 . 5 重量%、約 1 . 6 重量% ~ 約 2 . 3 重量%、1 . 7 重量% ~ 約 2 . 1 重量%、または約 1 . 8 ~ 約 2 . 0 重量%の範囲から選択してもよい。

【 0 0 5 9 】

本凍結乾燥医薬組成物の特定の実施形態において、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質、好ましくはレシチンの量は、非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質の量よりも多い。例示的な実施形態において、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質、好ましくはレシチンと、非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質、好ましくはポリソルベートの重量比は、約 1 5 : 1 ~ 約 9 : 1、好ましくは約 1 4 : 1 ~ 約 1 2 : 1 の範囲内から選択され、例えば、約 1 3 : 1 である。

20

【 0 0 6 0 】

さらなる特定の実施形態において、一方をリン脂質の群から選択される膜形成物質、および非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ( の合計 ) とし、他方を C s A としたときの重量比は、約 5 : 1 ~ 約 2 0 : 1、好ましくは約 8 : 1 ~ 約 1 2 : 1、およびさらに好ましくは約 1 0 : 1 の範囲内から選択される。

30

【 0 0 6 1 】

さらに特定の実施形態において、リン脂質の群から選択される膜形成物質、好ましくはレシチンと、非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質、好ましくはポリソルベートと、C s A との間の重量比は、約 1 5 : 1 : 1 . 5 ~ 約 5 : 0 . 3 : 0 . 5 の範囲内から選択され、好ましくは約 9 : 0 . 7 : 1 である。

【 0 0 6 2 】

本発明による凍結乾燥医薬組成物は、凍結乾燥後に残留水をさらに含んでいてもよく、含んでいなくてもよく、この残留水は、リポソーム形成構造の表面に付着していてもよく、上記したようにリポソーム形成構造の内腔中に含まれていてもよい。好ましい実施形態において、凍結乾燥組成物に含まれる残留水の量は、前記凍結乾燥医薬組成物の総重量を基準にして、約 5 重量%以下、または約 3 重量%以下、または好ましくは約 2 重量%以下の範囲内である。

40

【 0 0 6 3 】

本発明の凍結乾燥医薬組成物は、任意的な成分 c ) として、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤をさらに含んでいてもよい。適切な賦形剤は、当業者に知られている。例えば、凍結乾燥医薬組成物は、場合により、pHを調節するために、生理学的に許容できる塩基、酸、または塩などのpH補正剤を、場合により緩衝混合物として、含んでいてもよい。この文脈において、用語「生理学的に許容できる」は、賦形剤の1つが、そのまま未希釈の形で忍容性でなければならない(これは、例えば、水酸化ナトリウム溶液の場合にはあてはまらない)という意味ではなく、凍結乾燥医薬組成物中に、特に再構成後に含有

50

されているときの濃度において忍容性でなければならないという意味である。

【0064】

pHを調節するための適切なpH補正剤または緩衝剤は、とりわけ、所望の適用経路を考慮して選択してもよい。このようなグループの潜在的に有用な賦形剤の例としては、水酸化ナトリウム溶液、ナトリウム、カルシウム、またはマグネシウムの塩基性塩、例えばクエン酸塩、リン酸塩、酢酸塩、酒石酸塩、乳酸塩など、アミノ酸、(特にナトリウムの)リン酸水素塩または二水素リン酸塩などの酸性塩、さらに、例えば塩酸、硫酸、リン酸、クエン酸、クロモグリク酸(cromoglycinic acid)、酢酸、乳酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸などの有機酸および無機酸、リジン、メチオニン、ナトリウムまたはカリウムの酸性のリン酸水素塩などがあげられる。

10

【0065】

本発明の有利な実施形態の1つにおいて、凍結乾燥医薬組成物は、再構成後の医薬組成物のpHが中性または酸性であることを確実にするために、緩衝剤を含む。好ましくは、再構成後の本医薬組成物のpHは、最大で約8.5までの範囲内、または約2.5~約7.5の範囲内である。経肺または非経口適用のためには、製剤の他の要件、例えば、安定性の側面と両立できるという条件で、約4~約7.5の範囲内のpHが好ましい。特に好ましい組成物は、リン酸緩衝剤で緩衝することで再構成後のpHが確実に6.0~7.5、6.0~7.0、または6.3~6.7の範囲内になり、それによって組成物の安定性が著しく改善され、保存中における望ましくないリゾレシチンの生成が効果的に抑制された組成物である。

20

【0066】

さらに、本凍結乾燥医薬組成物は、再構成後に望ましいオスモル濃度に調節するために、浸透圧的に活性なアジュバントを含んでいてもよく、含んでいなくてもよいが、これは、ある特定の適用、特に吸入用の適用などにおいて、良好な忍容性を実現するために重要である。このようなアジュバントは、添加しても必ずしも再構成後に等張組成物とならず、可能な範囲で最良の生理学的忍容性を実現するための生理的オスモル濃度に近い等張性しか達成できない場合であっても、「等張化剤」と呼ばれることが多い。

【0067】

特に頻繁に用いられる等張化剤は塩化ナトリウムであるが、塩化ナトリウムはすべての場合に適切であるわけではない。本発明の有利な実施形態において、調製物は、(当然ながら、医薬品品質の水にも含まれうる自然界に偏在する量の塩化ナトリウムを除いて)塩化ナトリウムを含まない。別の実施形態において、凍結乾燥医薬組成物は、本質的に中性の塩(塩化ナトリウムではなく、例えば硫酸ナトリウムまたはリン酸ナトリウムである)を等張化剤として含む。しかしながら、等張化剤は、水性キャリアー液にも、例えば塩化ナトリウムの水性溶液(生理食塩水)の形で、含まれうることに留意すべきである。しかしながら、この場合には、ナトリウム塩以外の塩も好ましい可能性がある。よって、ある特定のカルシウム塩およびマグネシウム塩が、活性薬剤溶液の吸入において、有益または補助的な効果を有することが知られており、その理由は、おそらく、これらの塩自体が、投与によって引き起こされる局所的な刺激を中和するためであり、また、これらの塩が、臨床の文献において仮定されている気管支拡張作用を有するためであり(例えば、Hughes et al., Lancet, 2003; 361(9375): 2114-7)、および/またはこれらの塩が、気道粘膜のプロテオグリカンに対する細菌の接着を阻害し、病原体に対する生体の生得的防御としての粘液線毛クリアランスを間接的に補助するためである(K.W. Tsang et al., Eur. Resp. 2003, 21, 932-938)。優れた肺忍容性を有し、安心して吸入することができる硫酸マグネシウム、ならびに塩化カルシウム(1~10mmol)が有利でありうる。

30

40

【0068】

さらなる特定の実施形態において、本発明による凍結乾燥医薬組成物は、緩衝剤およびキレート剤から選択される1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含む。再構成後に本医薬組成物のpHを調製するための緩衝剤として適当な化合物の例としては、例えば、リ

50

ン酸二水素ナトリウム・二水和物および/またはリン酸水素二ナトリウム、水酸化ナトリウム溶液、ナトリウム、カルシウム、またはマグネシウムの塩基性塩、例えばクエン酸塩、リン酸塩、酢酸塩、酒石酸塩、乳酸塩など、アミノ酸、(特にナトリウムの)リン酸水素塩または二水素リン酸塩などの酸性塩、さらに、例えば塩酸、硫酸、リン酸、クエン酸、クロモグリク酸(cromoglycinic acid)、酢酸、乳酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸などの有機酸および無機酸、リジン、メチオニン、ナトリウムまたはカリウムの酸性のリン酸水素塩など、ならびに上記したようなさらなる緩衝剤系があげられる。さらなる特定の実施形態において、本発明による凍結乾燥医薬組成物は、キレート剤、例えばエデト酸二ナトリウム・二水和物およびEDTAカルシウムナトリウムから選択される1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤、好ましくはエデト酸二ナトリウム・二水和物をさらに含む。

10

## 【0069】

さらなる実施形態において、本発明の凍結乾燥組成物は、医薬的有効量のCsA；リン脂質の群から選択される膜形成物質(単数または複数)；非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質(単数または複数)；サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも1つの二糖類(前記少なくとも1つの二糖類の存在量は、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である)；ならびに、場合によりさらなる賦形剤および場合により残留量の水から本質的になっていてもよい。

## 【0070】

例示的な実施形態において、本凍結乾燥医薬組成物は、下記の構成要素：

シクロスポリンA：2～4重量%

二糖類：40～80重量%

リン脂質：10～40重量%

非イオン性界面活性剤：0.01～10重量%

緩衝剤：1～6重量%

キレート剤：0.05～0.5重量%、

(それぞれ前記凍結乾燥医薬組成物の総重量を基準とする)を含み、または、任意的なさらなる賦形剤と共に、前記構成要素から本質的になり、もしくは前記構成要素からなり、好ましくは前記構成要素を含み、前記構成要素の合計が、最終的な凍結乾燥医薬組成物の100重量%となる。上記の値および範囲は、凍結乾燥され、完全に脱水された組成物に基づいて算出されていることに留意すべきである。しかしながら、実用的な理由により、列挙した上記構成要素に加えて、前記凍結乾燥組成物は、前記凍結乾燥医薬組成物の重量を基準にして、約0～約5重量%の範囲内の残留量の水を含んでいてもよく、含んでいなくてもよい。

20

30

## 【0071】

好ましい例示的な実施形態において、本凍結乾燥医薬組成物は、下記の構成要素：

シクロスポリンA：2～4重量%

二糖類：50～75重量%

リン脂質：15～40重量%

非イオン性界面活性剤：0.1～4重量%

緩衝剤：2～6重量%

キレート剤：0.05～0.5重量%、

(それぞれ前記凍結乾燥医薬組成物の総重量を基準とする)を含み、または、任意的なさらなる賦形剤と共に、前記構成要素から本質的になり、もしくは前記構成要素からなり、好ましくは前記構成要素を含み、前記構成要素の合計が、最終的な凍結乾燥医薬組成物の100重量%となり、列挙した上記構成要素に加えて、前記凍結乾燥組成物は、前記凍結乾燥医薬組成物の重量を基準にして、約0～約2重量%の範囲内の残留量の水を含んでいてもよく、含んでいなくてもよい。

40

## 【0072】

50

特に好ましい例示的な実施形態において、本凍結乾燥医薬組成物は、下記の構成要素：

シクロスポリンA：2.5～3重量%

二糖類：60～75重量%

リン脂質：20～30重量%

非イオン性界面活性剤：1～3重量%

緩衝剤：3～5重量%

キレート剤：0.05～0.2重量%、

(それぞれ前記凍結乾燥医薬組成物の総重量を基準とする)を含み、または、任意的なさらなる賦形剤と共に、前記構成要素から本質的になり、もしくは前記構成要素からなり、好ましくは前記構成要素を含み、前記構成要素の合計が、最終的な凍結乾燥医薬組成物の100重量%となり、列挙した上記構成要素に加えて、前記凍結乾燥組成物は、前記凍結乾燥医薬組成物の重量を基準にして、約0～約2重量%の範囲内の残留量の水を含んでいてもよく、含んでいなくてもよい。これらの組成物において、「リン脂質」は、好ましくは、Lipoid S75またはLipoid S100、好ましくはLipoid S100であり；「二糖類」は、好ましくはサッカロース(スクロース)であり；「非イオン性界面活性剤」は、好ましくはポリソルベート、特にポリソルベート80である。

#### 【0073】

上述したように、凍結乾燥医薬組成物を水または生理食塩水などの水性キャリアー液中に、好ましくは滅菌された形態で、溶解または分散、好ましくは分散させて、以下にさらに詳細に説明するようリポソーム的に可溶化した形態のCsA(本明細書において、「L-CsA」とも呼ばれる)のコロイド性の水性分散物を得ることができる。本発明による凍結乾燥医薬組成物の主要な利点の1つは、リポソームに封入された形態のCsAを含むその他の医薬組成物と比較して、リポソーム的に可溶化したCsAの安定性が向上および延長されていることである。さらに、本発明による凍結乾燥医薬組成物は、水性キャリアー液中に分散させることによって、容易にすばやく再構成させることができ、以下にさらに詳細に説明するように、前記のリポソーム形成構造を再構成させることによって形成されたリポソームは、凍結乾燥に先立って初めに形成したリポソームと同等の平均径分布を示す。

#### 【0074】

理論に拘束されることを望むものではないが、上記のことは、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースの群から選択され、存在量が前記凍結乾燥医薬組成物の総重量を基準にして少なくとも40重量%である、二糖類の安定化作用に起因するものである可能性がある。さらに、上述した本発明の凍結乾燥医薬組成物の有益な特性は、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される二糖類、好ましくはサッカロースが、リポソーム形成構造の内腔に加えて外側にも存在することに起因する可能性がある。

#### 【0075】

本発明の医薬組成物は、以下に詳細に説明するようにして調製することができ、凍結乾燥後、通常は無色またはほぼ無色の固形物または粉末の形態で得られる。

#### 【0076】

本発明の第2の態様において、本発明は、水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物であって、

a)

i. 治療有効量のシクロスポリンA(CsA)；

ii. リン脂質の群から選択される膜形成物質；および

iii. 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質

を含むリポソーム形成構造；ならびに

b) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類

を含み、

10

20

30

40

50

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、

薬剤として使用するための、特に経肺適用のための、水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物を提供する。

【0077】

上述したように、本発明の組成物は、特に水性キャリアー液中で再構成させた後、薬剤として、例えば、自己免疫疾患、皮膚疾患、感覚器（目、鼻、耳）の移植後または疾患、倦怠、および肺疾患（例えば、喘息、慢性閉塞性気管支炎、実質性、線維性、および間質性肺疾患または炎症、肺がん）の予防および処置のために、好ましくは、特に肺、心臓、骨髄、または幹細胞移植後、特に好ましくは肺移植後の、急性または慢性の移植片拒絶反応、およびそれに起因する閉塞性細気管支炎などの疾患の予防および処置のために使用することができる。さらに、他の薬剤、特に細胞分裂を抑制する薬剤の効果を向上させるために使用することができ、その場合、シクロスポリンによる排出ポンプ阻害効果によって、付加的または相乗的な効果を得ることができる。本発明による組成物の経鼻適用、経口適用、眼科適用、経粘膜適用、非経口適用、または局所適用が、個々のケースにおいて有利でありうる。投与は、身体上または身体内への適用、滴下、スプレーによって左右される可能性があり、ヒトに対する初期の試験において、忍容性に特に優れていることが判明している。

10

【0078】

しかしながら、好ましくは、本発明の凍結乾燥医薬組成物は、特に再構成された形態において、肺疾患、特に喘息、難治性喘息、慢性閉塞性気管支炎、実質性、線維性、および間質性肺疾患、ならびに実質性、線維性、および間質性肺炎の処置のために有用であり、好ましくは肺移植後の急性および慢性の臓器移植拒絶反応、ならびにそれに起因する閉塞性細気管支炎などの疾患の予防および処置のために有用である。

20

【0079】

しかしながら、好ましい実施形態において、上記の本発明の第1の態様に関連して詳述した凍結乾燥医薬組成物は、経肺適用のための薬剤として有用である。経肺適用は、再構成させた後に、より具体的には、本発明の第1の態様に関連して上述した凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に、好ましくは無菌水性キャリアー液中に分散させて、コロイド溶液または分散物を形成させた後に、好ましくは以下にさらに詳細に説明するようなコロイド性の分散物を形成させた後に、実施してもよい。

30

【0080】

さらなる好ましい実施形態において、上述したように使用するための凍結乾燥医薬組成物の経肺適用は、吸入によって実施する。さらなる好ましい実施形態において、経肺適用は、前記組成物を、例えば噴霧化またはエアロゾル化によって、エアロゾルに変換した後に実施する。再構成させた後に、特に水性キャリアー液中に分散させた後に、本発明による凍結乾燥組成物は、リポソーム的に可溶化したCsAを含む本組成物などの溶液、コロイド製剤、または懸濁剤を肺の周辺部に到達できる非常に細かな液滴に変換することができるネブライザーによって、有利にエアロゾル化し、投与することができる。実用的には、ジェットネブライザー、超音波ネブライザー、圧電ネブライザー、電気流体力学的ネブライザー、メンブレンネブライザー、電子膜型ネブライザー、または電子振動膜型ネブライザーが使用できる。適切なネブライザーの例としては、SideStream（登録商標）（Philips）、AeroEclipse（登録商標）（Trudell）、LCPlus（登録商標）（PARI）、LCStar（登録商標）（PARI）、LCSprint（登録商標）（PARI）、I-Neb（登録商標）（Philips/Respironics）、IH50（Beurer）、MicroMesh（登録商標）（Health&Life, Schill）、MicroAir（登録商標）U22（Omron）、Multisonic（登録商標）（Schill）、RespiMat（登録商標）（Boehringer）、eFlow（登録商標）（PARI）、AeroNebGo（登録商標）（Aerogen）、AeroNebPro（登録商標）（

40

50

Aerogen)、およびAeroDose(登録商標)(Aerogen)というデバイス群があげられる。

【0081】

しかしながら、好ましくは、圧電ネブライザー、電気流体力学的ネブライザー、メンブレンネブライザー、電子膜型ネブライザー、または電子振動膜型ネブライザーを使用してもよい。この場合、適切なネブライザーとしては、I-Neb(登録商標)(Philips/Respironics)、IH50(Beurer)、MicroMesh(登録商標)(Health&Life,Schill)、MicroAir(登録商標)U22(Omron)、Multisonic(登録商標)(Schill)、RespiMat(登録商標)(Boehringer)、eFlow(登録商標)(PARI)、AeroNebGo(登録商標)(Aerogen)、AeroNebPro(登録商標)(Aerogen)、およびAeroDose(登録商標)(Aerogen)というデバイス群があげられる。

10

【0082】

好ましい実施形態において、本発明のこの態様によって使用するための、再構成された形態の凍結乾燥医薬組成物の肺適用は、超音波型または電子振動膜型ネブライザーによって、好ましくは、例えばeFlow(登録商標)、AeroNebPro、AeroNebGo、またはI-Neb型デバイスなどの振動膜型ネブライザーによって実施される。

【0083】

さらなる好ましい実施形態において、薬物のCsAを、特に上述したようなりポソーム的に可溶化した形態で、下気道に標的化するために、本発明のこの態様によって使用するための組成物は電子振動膜型ネブライザーを用いてエアロゾル化する。特に好ましい実施形態において、本発明による使用のための再構成された形態の凍結乾燥医薬組成物は、eFlow(登録商標)ネブライザー(nebulizer)(PARI Pharma GmbH)を用いてエアロゾル化する。

20

【0084】

eFlow(登録商標)ネブライザーは、穴のあいた振動膜によって、再構成された形態の本発明の医薬組成物などの液体薬物製剤を噴霧化し、その結果、低弾道運動量で、多くの割合の液滴が吸入可能な大きさの範囲内(通常5 $\mu$ m未満)であるエアロゾルを生じさせる。eFlow(登録商標)は、ジェットネブライザーなどの通常のネブライザーと比較して、噴霧化率をより高く、薬物損失をより低く、かつ送達用量(DD)および吸入可能用量(RD)として利用可能な薬物の割合をより高くすることによって、薬剤を高速かつ効率的に噴霧化するように設計されている。

30

【0085】

本発明の第3の態様において、本発明は、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のCsAを含む、吸入用の、水性リポソーム分散物または溶液、好ましくは分散物、特にコロイド性の分散物を調製するためのキットであって、

本発明の第1の態様による凍結乾燥医薬組成物、および  
無菌水性キャリアー液  
を含む、キットを提供する。

40

【0086】

本発明のこの態様によるキットは、第1の成分として、本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物、すなわち水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物を含み、前記水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物は、

a)

i. 治療有効量のシクロスポリンA(CsA)；

ii. リン脂質の群から選択される膜形成物質；および

iii. 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質

を含むリポソーム形成構造；ならびに

50

b) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類  
を含み、

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である。

【0087】

上述した凍結乾燥医薬組成物は、前記凍結乾燥組成物を、25以下または必要に応じて約2～約8の範囲などの低温で、長期間（例えば、12か月、2年、さらには3年以上）、無菌で保管することを可能にし、かつ前記凍結乾燥組成物を水性キャリアー液と容易に組み合わせることを可能にする、任意の適切な容器で提供または包装されていてもよい。よって、本発明のこの態様のキットは、第2の成分として、水性キャリアー液、好ましくは無菌水性キャリアー液を含む。

10

【0088】

本発明の第1の態様による凍結乾燥組成物は、例えば、単回投与用容器または複数回投与用容器に、好ましくは無菌状態で、充填されていてもよい。

【0089】

特定の実施形態において、本発明の第1の態様の凍結乾燥組成物は、無菌バイアル、好ましくはガラスバイアルで提供されてもよく、前記バイアルは、好ましくは、（特に上述したような吸入による経肺投与のために適切かつ必要な）凍結乾燥医薬組成物のアリコートを持続する。例示的な実施形態において、本発明のこの態様によるキットは、第1の成分として、凍結乾燥医薬組成物のアリコートを含み、含有量は、約150mg～約400mg、好ましくは約150～約200mg、または約350～約400mgであり、これは、アリコートまたは単位あたりのCsA量で約5mgまたは約10mgに相当し、言い換えれば、凍結乾燥医薬組成物の総量に対するCsA含有量で約2.7重量%に相当する。

20

【0090】

好ましい実施形態において、水性キャリアー液は、水、または医薬的に許容される塩もしくは等張化剤の水溶液であってもよく、好ましくは無菌であってもよい。しかしながら、好ましい実施形態において、無菌水性キャリアー液は、塩化ナトリウム水溶液であり、好ましくは塩化ナトリウム含有率が全体の0.25%（w/v）の塩化ナトリウム水溶液である。さらに、無菌水性キャリアー液は、好ましくは本発明の第1の態様による凍結乾燥医薬組成物に関連して上述したように、1つまたはそれを超える緩衝剤をさらに含んでいてもよい。好ましくは、前記無菌水性キャリアー液、特に前記塩化ナトリウム水溶液は、pHが4.0～7.0の範囲内であり、オスモル濃度が約60～約100mOsmol/kgの範囲内である。

30

【0091】

有利には、無菌水性キャリアー液は、本発明のこの態様によるキットと共に提供される量またはアリコートの凍結乾燥医薬組成物と混合した場合に、リポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するために適切な量（単数または複数）で提供される。例示的な実施形態において、上述した無菌水性キャリアー液、特に塩化ナトリウム水溶液は、約2.7重量%のCsAを含む凍結乾燥医薬組成物のアリコート約185mg（CsA5mgに相当する）と混合するために、約1.10～約1.50mLの量で提供される。さらなる例示的な実施形態において、上述した無菌水性キャリアー液、特に塩化ナトリウム水溶液は、約2.7重量%のCsAを含む凍結乾燥医薬組成物のアリコート約375mg（CsA10mgに相当する）と混合するために、約2.20～約2.80mLの量で提供される。

40

【0092】

しかしながら、さらなる特定の実施形態において、本キットの第2の成分としての無菌水性キャリアー液、特に無菌の塩化ナトリウム水溶液は、凍結乾燥医薬組成物にすでに含まれている上記構成成分以外には、さらなる賦形剤、緩衝剤、またはキレート剤を一切含

50

まない。

【 0 0 9 3 】

本発明のこの態様によるキットの第 1 の成分と第 2 の成分を混合することによって、リポソーム的に可溶化した形態の CsA ( L - CsA ) を含むリポソームの水性分散物を生成することが可能となる。好ましい実施形態において、リポソーム的に可溶化した形態の CsA を含む前記リポソームの水性分散物は、以下にさらに詳細に説明するようなコロイド溶液である。

【 0 0 9 4 】

よって、第 4 の態様において、本発明は、上述した本発明の第 1 の態様の凍結乾燥医薬組成物を再構成させることによってリポソーム的に可溶化した形態の CsA を含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するためのプロセスを提供し、前記プロセスは、前記再構成させるための凍結乾燥医薬組成物を、水性キャリアー液中に、好ましくは無菌水性キャリアー液中に分散させることを含む。

10

【 0 0 9 5 】

より具体的には、本発明のこの態様によるプロセスは、以下のステップ、すなわち

・以下の凍結乾燥医薬組成物、すなわち

a )

i . 治療有効量のシクロスポリン A ( CsA ) ;

ii . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

iii . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質

20

を含むリポソーム形成構造 ; および

b ) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも 1 つの二糖類

を含む凍結乾燥医薬組成物であって、前記少なくとも 1 つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも 40 重量 % である、凍結乾燥医薬組成物を用意するステップ ; ならびに

・前記凍結乾燥医薬組成物を無菌水性キャリアー液中に分散させるステップ

を含む。

【 0 0 9 6 】

第 1 のステップによれば、本発明のこの態様によるプロセスは、リポソーム的に可溶化した形態の CsA を含む ( より具体的には、上に詳述したりポソーム形成構造内に組み込まれている、または挿入されている ) 本発明の第 1 の態様の凍結乾燥医薬組成物を用意するステップを含む。前記プロセスの第 2 のステップによれば、前記凍結乾燥医薬組成物は、無菌水性キャリアー液中に、好ましくは本発明のキットに関連して上述したような無菌水性キャリアー液中に溶解されて、または、より厳密には分散されている。よって、本発明のこのプロセスの好ましい実施形態において、前記無菌水性キャリアー液は、水であってもよく、または、例えば塩化ナトリウム水溶液、好ましくは濃度が約 0 . 25 % ( w / v ) の塩化ナトリウム水溶液であってもよい。

30

【 0 0 9 7 】

凍結乾燥医薬組成物の量は、無菌水性キャリアー液中に分散した後に、望ましい、かつ治療に有効な量および濃度の CsA を実現するための必要性に応じて選択してもよい。例示的な実施形態において、本発明の第 3 の態様によるキットに関連して上述したように、本発明の第 1 の態様の凍結乾燥組成物の特定のアリコート、例えば約 150 mg ~ 約 400 mg、特に約 185 mg または約 375 mg のアリコートを、例えば約 2 . 7 重量 % のシクロスポリン A 含有量で ( すなわち、約 5 ~ 約 10 mg の範囲内の CsA 含有量で、または、約 5 mg または約 10 mg の特定の CsA 含有量で )、約 1 . 10 ~ 約 2 . 80 mL、特に 1 . 10 ~ 約 1 . 50 mL または約 2 . 20 ~ 約 2 . 80 mL の体積の生理食塩水などの無菌水性キャリアー液のアリコート中に分散させてもよい。

40

【 0 0 9 8 】

しかしながら、一般に、CsA を含む凍結乾燥医薬組成物の量、ならびに無菌水性キャ

50

リアー液の量は、それぞれ、噴霧化またはエアロゾル化した分散物の投与、特に吸入による投与によって、標的組織または器官、特に患者の肺に治療有効量のCsAを送達することを可能にする濃度の、リポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリンAを含む吸入用の水性リポソーム分散物を生成するために、幅広い範囲から適宜選択してもよい。好ましい実施形態において、得られたリポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリンAを含む吸入用の水性リポソーム分散物は、約1mg/mL～約10mg/mL、好ましくは約2mg/mL～約8mg/mL、より好ましくは2.5mg/mL～約6mg/mL、特に好ましくは3mg/mL～約4mg/mLの範囲内、特に約4mg/mLの濃度のリポソーム的に可溶化したCsA(L-CsA)を含む。

#### 【0099】

本発明の凍結乾燥医薬組成物を無菌水性キャリアー液中に溶解または分散させるステップは、通常、キャリアー液を凍結乾燥組成物に加えることによって、またはその逆に凍結乾燥組成物をキャリアー液に加えることによって、凍結乾燥医薬組成物を選択された無菌水性キャリアー液と接触させることによって容易に実施することができるが、好ましくは、選択された量の無菌水性キャリアー液を選択された量の凍結乾燥組成物に添加することによって実施することができる。もし少しでも必要であれば、前記溶解または分散ステップは、穏やかな攪拌または浸透によって補助または促進することができ、通常さらなる攪拌デバイスまたは攪拌機器は必要としない。通常、本発明の凍結乾燥医薬組成物を無菌水性キャリアー中に溶解させるステップは、短時間内に、例えば600秒以内、好ましくは400秒以内、またはより短時間、例えば300秒以内に完了する。

#### 【0100】

よって、本発明は、本発明の第1の態様による組成物、または以下にさらに詳細に説明するような凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスによって得られる、もしくは得られうる凍結乾燥医薬組成物などの凍結乾燥医薬組成物も提供し、前記凍結乾燥医薬組成物は、無菌水性キャリアー中に、短時間内に、例えば600秒以内、好ましくは400秒以内、またはより短時間、例えば300秒以内に溶解することができる。

#### 【0101】

本発明の第5の態様において、本発明は、水性キャリアー液と、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のCsAとを含む液体リポソーム分散物を提供し、前記液体リポソーム分散物は、本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に、好ましくは無菌水性キャリアー液中に分散させることを含むプロセスによって調製される。より具体的には、この態様によれば、本発明は、上記に詳述した本発明の第4の態様のプロセスによって調製される、または得られる、水性キャリアー液と、治療有効量のリポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリンAとを含む液体リポソーム分散物に関し、前記第4の態様のプロセスは、以下のステップ、すなわち

・ a)

i . 治療有効量のシクロスポリンA (CsA) ;

ii . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

iii . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質

を含むリポソーム形成構造 ; および

b) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類

を含む凍結乾燥医薬組成物であって、前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、凍結乾燥医薬組成物を用意するステップ ; ならびに

・ 前記凍結乾燥医薬組成物を無菌水性キャリアー液中に分散させるステップ

を含む。

#### 【0102】

好ましい実施形態において、凍結乾燥医薬組成物および水性キャリアー液の量は、例示的に上述された範囲内から選択してもよい。さらなる好ましい実施形態において、凍結乾

10

20

30

40

50

乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%の量のサッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも1つの二糖類を含む前記凍結乾燥医薬組成物の量、および前記水性キャリアー液の量は、得られる液体リポソーム分散物が含有するサッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも1つの二糖類の含有量が、前記得られる液体リポソーム分散物の総重量を基準にして、約5～約15重量%の範囲内、好ましくは約7.5～約12.5重量%の範囲内になるように選択してもよい。

【0103】

特に好ましい実施形態において、得られる液体リポソーム分散物中に存在するサッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類の量は、前記液体リポソーム分散物の総重量を基準にして、約5～約10重量%または約7.5～約10重量%の範囲内、または約7.5重量%もしくは約10重量%である。驚くべきことに、得られるリポソーム的に可溶化した形態のCsAを含むリポソーム分散物は、以下にさらに詳細に説明するように、CsAを可溶化するリポソームを事前に凍結乾燥せずに調製した、または二糖類非存在下で調製したリポソーム的に可溶化したCsA(L-CsA)の液体分散物と同等または類似の特性を示すことが見いだされた。

10

【0104】

特定の実施形態において、上記したように、本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に分散させることを含むプロセスによって調製された、水性キャリアー液と、治療有効量のリポソーム的に可溶化した形態のCsAとを含む液体リポソーム分散物は、乳白色の分散物または溶液である。さらなる実施形態において、液体リポソーム分散物は、可視的な粒子を本質的に含まない。前記分散物に含まれるリポソームの平均径、特にz平均径は、Malvern ZetaSizerを用いて光子相関分光法によって測定して、最大で約100nmである。好ましくは、液体リポソーム分散物は、光子相関分光法(Malvern ZetaSizer)によって測定したz平均径が、約40～約100nmの範囲内、より好ましくは約40～約70nmの範囲内のリポソームを含む。

20

【0105】

さらなる特定の実施形態において、本発明のこの態様による液体リポソーム分散物の多分散指数(PI)は、光子相関分光法によって測定して、約0.50以下、好ましくは約0.4以下、さらに好ましくは約0.1～約0.3の範囲内である。

30

【0106】

さらなる実施形態において、本発明のこの態様による液体リポソーム分散物のオスモル濃度は、約300～約550mOsmol/kgの範囲内、好ましくは約430～約550mOsmol/kgの範囲内である。本発明のこの態様による液体リポソーム分散物のpH値は、約6.0～7.0の範囲内である。さらなる実施形態において、本発明のこの態様による液体リポソーム分散物の1:10で希釈した後の濁度は、200NTU(Nephelometric Turbidity Unit(比濁計濁度単位))以下である。

【0107】

驚くべきことに、少なくとも40重量%の量のサッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される二糖類を含む本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に分散させることによって調製された、本発明のこの態様による液体リポソーム分散物は、後述するような凍結乾燥前の対応する分散物中のリポソームと比較して、大きさが等しい、またはわずかに大きいリポソームを含む。よって、本発明は、この態様によって、光子相関分光法(Malvern ZetaSizer)によって測定したz平均径として測定した中央粒径が、本発明の凍結乾燥医薬組成物を調製するために使用される凍結乾燥前のリポソームのz平均径と等しいか、それよりも最大で20%大きいリポソームを含む、好ましくは最大で10%だけ大きいリポソームを含むリポソーム水性分散液を提供し、好ましくは、前記中央粒径は、本発明の第6の態様による調製プロセスによるプロセスによって形成された、凍結乾燥前のリポソームと大きさが等しいか

40

50

、それよりも最大で20%大きい。

【0108】

本発明の第6の態様において、本発明は、水性キャリアー液中で再構成させるための、好ましくは本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物を調製するための、治療有効量のリポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスを提供し、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%であり、前記プロセスは、以下のステップ、すなわち

(a)

i . 治療有効量のシクロスポリンA (CsA) ;

ii . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

iii . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて、

iv . 緩衝剤および/またはキレート剤などの、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むリポソームの液体水性分散物を用意するステップであって ;

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ ; および

(b) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含む。

【0109】

本発明のこの態様によるプロセスは、本発明の第1の態様による、治療有効量のリポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む凍結乾燥医薬組成物を調製するために有用である。本発明のこの態様の第1のステップ(a)において、本発明の別の態様に関連して説明した、リポソームの液体水性分散物、言い換えればリポソームの水性キャリアー液中の分散物が調製または提供される。前記リポソームの液体水性分散物は、選択した量のCsA、リン脂質の群から選択される膜形成物質、および非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質、ならびに、必要に応じて、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を、上記したように、水または生理食塩水などの適切な水性キャリアー液中で混合することによって用意することができる。前記液体水性分散物は、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類、好ましくはサッカロースをさらに含み、前記少なくとも1つの二糖類の存在量は、最終的な凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である。

【0110】

二糖類は、前記液体分散水溶液の他の構成要素を添加する前、添加するのと一緒に、または添加した後に、選択した水性キャリアー液に添加してもよい。しかしながら、好ましい実施形態において、前記選択した二糖類、好ましくはサッカロース、は、他の構成要素を混合物に加える前、特に得られた混合物を後述するようなホモジナイズ条件に曝す前に、水性キャリアー液中加入され、溶解される。これによって、リポソームの形成が、選択された二糖類が存在する状態で、特に選択された二糖類の水性溶液中で起こることが確実になり、前記二糖類が、形成されるリポソームの内腔中にも存在または封入されうる、または形成される二重膜内に組み込まれ、もしくは挿入されうる。特定の実施形態において、前記選択された二糖類は、液体水性分散物周辺の連続相中と同じ濃度で、リポソームの内腔中に存在してもよい。

【0111】

第2のステップ(b)において、上述のように第1のステップ(a)において形成されたリポソームの液体水性分散物は、次いで以下にさらに詳細に説明するように凍結乾燥される。

【0112】

特定の実施形態において、本発明は、水性キャリアー液中で再構成させるための、好ま

10

20

30

40

50

しくは本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物を調製するための、治療有効量のリポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む、凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスを提供し、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%であり、前記プロセスは、以下のステップ、すなわち

(a1)

・サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類；

・リン脂質の群から選択される膜形成物質；

・治療有効量のシクロスポリンA(CsA)；および

・非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質；ならびに、必要に応じて

・1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤

を含む水性混合物を用意するステップ；および

(a2) 前記水性混合物をホモジナイズ条件に曝すステップ；ならびに

(b1) 得られたホモジナイズ混合物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップ

を含む。

【0113】

既に上に述べたように、ステップ(a1)によって用意される水性混合物は、前記水性混合物の他の構成要素が溶解または分散されていてもよい、適切な水性キャリアー液またはビヒクル、好ましくは水または生理食塩水をさらに含む。一般に、前記水性混合物は、任意の適当な方法によって、たとえば水性キャリアー液、好ましくは水を用意し、先に列挙した他の構成要素を加えることによって調製してもよい。あるいは、他の構成要素を先に用意し、選択した水性キャリアー液を後で加えてもよい。しかしながら、好ましい実施形態において、選択した水性液体キャリアー、好ましくは水を用意し、上述のような他の構成要素を、好ましくは連続的に加える。次いで、得られた混合物を標準的な方法で攪拌して、対応する溶液または分散物、好ましくは、必要に応じて均質な分散物を形成する。

【0114】

第2のステップ(a2)において、得られた水性混合物、好ましくは得られた均質な分散物を、次いでホモジナイズ条件に曝し、リポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリンAのコロイド性の分散物を生成させる。好ましい実施形態において、前記ホモジナイズ条件は、当業者に知られているように、例えばMicrofluidics M-110EHを用いた、高圧ホモジナイズを含む。高圧ホモジナイズは、1回でもよく、数回繰り返して行ってもよい。好ましくは、高圧ホモジナイズは、例えば約5~約15回、繰り返して行われる。さらに、高圧ホモジナイズは、任意の適切な圧力、通常は約1500bar以下の圧力、または約50~約1500barの範囲内の圧力で行ってもよい。好ましくは、高圧ホモジナイズは、約100~約1000barの範囲内の圧力で、必要に応じて減圧下で、例えば約5~約15回、繰り返して行う。

【0115】

第3のステップ(b1)において、得られたホモジナイズ混合物、好ましくは得られた均質なコロイド性の分散物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成することが含まれる。凍結乾燥は、当業者に知られている標準的な方法に従って、例えば、Lyostar MNL-055-A/LSACC3Eを使用して行うことができる。本発明の凍結乾燥医薬組成物を形成するための凍結乾燥は、例えば、一定の圧力および温度で、連続的に行ってもよく、または、好ましくは段階的に行ってもよく、凍結乾燥プロトコルまたはプロセスの各段階は、特定の圧力および温度で、所定の持続時間で行ってもよい。例示的な実施形態において、前記凍結乾燥プロセスまたはサイクルは、20以下、または約2~約15、好ましくは約5~約15の連続したステップを含んでいてもよい。各ステップは、例えば、約40~約60、好ましくは約20~約50の範囲内の温度で、一定の温度で行ってもよく、またはある特定の勾配で温度を上昇または下降させて行ってもよい。さ

10

20

30

40

50

らに、各凍結乾燥ステップは、減圧下、例えば、約 0.005 mbar ~ 約 800 mbar、好ましくは約 0.009 mbar ~ 約 0.500 mbar、または約 0.009 mbar ~ 約 0.400 mbar、もしくは約 0.009 mbar ~ 0.300 mbar の範囲などの、大気圧未満で行ってもよい。

【0116】

好ましい実施形態において、本発明のこの態様の凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスは、以下のステップ、すなわち

・ サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類の水溶液を用意するステップであって、好ましくは前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ；

10

・ リン脂質の群から選択される膜形成物質を加え、好ましくは均質な分散物の形態で、第1の中間混合物を形成するステップ；

・ シクロスポリンAを前記第1の中間混合物に加え、第2の中間混合物を形成するステップ；

・ 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質を前記第2の中間混合物に加え、第3の中間混合物を形成するステップ；

・ 得られた第3の中間混合物をホモジナイズ条件に曝し、好ましくは均質なりポソーム分散物を形成するステップ；および

・ 得られたホモジナイズ混合物を、好ましくは得られた均質なりポソーム分散物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップを含む。

20

【0117】

上述した凍結乾燥は、一般に、得られたホモジナイズ混合物の任意の量を用いて行ってもよい。しかしながら、好ましくは、得られたホモジナイズ混合物をアリコートに分け、または分割し、最終容器、好ましくはガラスバイアルに詰めて凍結乾燥する。

【0118】

さらなる好ましい実施形態において、上述したプロセスは、以下のステップ、すなわち前記中間混合物を滅菌するステップ、好ましくは前記の得られた中間混合物をホモジナイズ条件に曝すステップに続いて滅菌するステップをさらに含む。

30

【0119】

さらなる好ましい実施形態において、前記の追加的な滅菌ステップは、例えば（好ましくはポアサイズが約 0.2 μm の）無菌フィルターを用いた、無菌濾過を含む。

【0120】

本発明の第7の態様において、本発明は、凍結乾燥医薬組成物であって、

(a)

i . 治療有効量のシクロスポリンA (CsA) ；

ii . リン脂質の群から選択される膜形成物質；および

iii . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質；ならびに、必要に応じて、

40

iv . 緩衝剤および/またはキレート剤などの、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むりポソームの液体水性分散物を用意するステップであって；

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ；および

(b) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含むプロセスによって得られうる、凍結乾燥医薬組成物を提供する。

【0121】

本発明の本態様は、上に詳述した本発明の第6の態様によるプロセスによって得られう

50

る、または得られる凍結乾燥医薬組成物に関する。上に概説したプロセスによって得られうる凍結乾燥医薬組成物は、本発明の第1の態様による凍結乾燥医薬組成物に相当することに留意すべきである。よって、本発明の第1の態様の凍結乾燥医薬組成物について説明した、ならびに本発明の第6の態様による当該凍結乾燥医薬組成物の製造プロセスの、全ての特徴、性質、利点、および技術的効果は、それ自体または互いに組み合わせて、凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスによって得られうる、本凍結乾燥医薬組成物にもあてはまる。

【0122】

よって、本発明の特定の実施形態において、

(a1)

・ サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類；

・ リン脂質の群から選択される膜形成物質；

・ 治療有効量のシクロスポリンA (CsA)；および

・ 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質；

を含む水性混合物を用意するステップ；および

(a2) 前記水性混合物をホモジナイズ条件に曝すステップ；ならびに

(b1) 得られたホモジナイズ混合物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップ

を含むプロセスによって得られうる凍結乾燥医薬組成物も示される。

【0123】

より具体的には、本発明は、凍結乾燥医薬組成物であって、

・ サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類の水性溶液を用意するステップであって、好ましくは前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ；

・ リン脂質の群から選択される膜形成物質を加え、好ましくは均質な分散物の形態で、第1の中間混合物を形成するステップ；

・ CsAを前記第1の中間混合物に加え、第2の中間混合物を形成するステップ；

・ 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質を前記第2の中間混合物に加え、第3の中間混合物を形成するステップ；

・ 得られた第3の中間混合物をホモジナイズ条件に曝し、好ましくは均質なリポソーム分散物を形成するステップ；および

・ 得られたホモジナイズ混合物を、好ましくは得られた均質なリポソーム分散物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップ

を含むプロセスによって得られうる凍結乾燥医薬組成物にも関する。

【0124】

それによって凍結乾燥医薬組成物が得られうるプロセスにおいて、CsAを可溶化するリポソームの水性分散物の形成は、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースから選択される二糖類を含む水性キャリアー液中で行うことができ、言い換えれば、リポソームは、前記二糖類が存在する状態で形成されることに留意すべきである。しかしながら、このことによって、CsAを可溶化するリポソームの内腔中に、選択された二糖類が組み込まれる。これが、二糖類の凍結保護剤効果に加えて、凍結乾燥された形態および再構成された形態のいずれにおいても、本発明の凍結乾燥医薬組成物に特有の驚くべき特性、例えば驚くべき安定性、ならびに驚くべき溶解性をもたらす。

【0125】

本発明に含まれる実施形態の番号付リストを以下に示す。

項1. 水性キャリアー液中で再構成させるための凍結乾燥医薬組成物であって、

a)

i. 治療有効量のシクロスポリンA (CsA)；

10

20

30

40

50

i i . リン脂質の群から選択される膜形成物質；および  
 i i i . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質  
 を含むリポソーム形成構造；ならびに  
 b ) サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類  
 を含み、  
 前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、凍結乾燥医薬組成物。

【0126】

項2 .

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して50重量%～80重量%の範囲内から選択される、項1に記載の組成物。

【0127】

項3 .

前記少なくとも1つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して60重量%～75重量%の範囲内から選択される、項1または2に記載の組成物。

【0128】

項4 .

前記リポソーム形成構造が、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質から形成された二重膜を含む、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0129】

項5 .

前記リポソーム形成構造が、少なくとも部分的に単層形態で存在する、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0130】

項6 .

前記リポソーム形成構造が、前記リン脂質の群から選択される膜形成物質で形成された二重膜で取り囲まれた、または少なくとも部分的に取り囲まれた内腔を含む、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0131】

項7 .

前記リポソーム形成構造の内腔が、少なくとも部分的に脱水されている、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0132】

項8 .

前記リポソーム形成構造の内腔が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも1つの二糖類を(少量)含有する、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0133】

項9 .

前記CsAが、前記リポソーム形成構造の二重膜内に、少なくとも部分的に組み込まれている(または挿入されている)、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0134】

項10 .

前記CsAの大部分(例えば、少なくとも約90%、さらに少なくとも約95%～約97.5%)が、前記リポソーム形成構造の二重膜内に組み込まれている、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0135】

項11 .

前記組成物が、前記凍結乾燥組成物の重量を基準にして2～4重量%のシクロスポリン

10

20

30

40

50

Aを含む、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0136】

項12.

前記凍結乾燥組成物中の、前記少なくとも1つの二糖類の重量とシクロスポリンAの重量の比が、10:1~30:1の範囲内から選択される、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0137】

項13.

前記少なくとも1つの二糖類が、サッカロースおよび/またはラクトースである、上記のいずれかの項に記載の組成物。

10

【0138】

項14.

前記少なくとも1つの二糖類が、サッカロースである、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0139】

項15.

前記リン脂質の群から選択される膜形成物質が、天然リン脂質の混合物である、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0140】

項16.

前記リン脂質の群から選択される膜形成物質が、不飽和脂肪酸残基を含有するレシチンである、上記のいずれかの項に記載の組成物。

20

【0141】

項17.

前記リン脂質の群から選択される膜形成物質が、大豆レシチン、Lipoid S75、Lipoid S100、Phospholipon(登録商標)G90、100、または同等のレシチンからなる群から選択されるレシチンである、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0142】

項18.

前記リン脂質の群から選択される膜形成物質の含有量が、前記凍結乾燥組成物の重量を基準にして約10~約30重量%、好ましくは約20~約30重量%である、上記のいずれかの項に記載の組成物。

30

【0143】

項19.

前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質の含有量が、前記凍結乾燥組成物の総重量を基準にして約0.01~約5重量%、約0.1~約4重量%、約0.5~約3.5重量%、または約1~約3重量%、好ましくは約1.5~約2.5重量%の範囲内から選択されてもよい、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0144】

項20.

前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質が、ポリソルベートの群から選択される、上記のいずれかの項に記載の組成物。

40

【0145】

項21.

前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質が、ポリソルベート80である、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0146】

項22.

リン脂質とポリソルベートの重量比が、15:1~9:1、好ましくは約14:1~約

50

12 : 1 の範囲内から選択される、例えば約 13 : 1 である、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0147】

項 23 .

一方を前記リン脂質および前記非イオン性界面活性剤（の合計）とし、他方をシクロスポリン A としたときの重量比が、約 5 : 1 ~ 約 20 : 1、好ましくは約 8 : 1 ~ 約 12 : 1 の範囲内から選択され、より好ましくは約 10 : 1 である、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0148】

項 24 .

前記リン脂質（レシチン）と、前記非イオン性界面活性剤と、シクロスポリン A との間の重量比が、約 15 : 1 : 1.5 ~ 5 : 0.3 : 0.5 の間、好ましくは約 9 : 0.7 : 1 である、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0149】

項 25 .

前記凍結乾燥組成物に含まれる残留水の量が、2 重量% 以下の範囲内である、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0150】

項 26 .

前記組成物が、1 つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含む、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0151】

項 27 .

前記 1 つまたはそれを超えるさらなる賦形剤が、緩衝剤およびキレート剤から選択される、項 26 に記載の組成物。

【0152】

項 28 .

前記凍結乾燥組成物が、シクロスポリン A ; 前記リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; 前記非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも 1 つの二糖類 ; ならびに、必要に応じて、さらなる賦形剤および残留量の水から本質的になる、上記のいずれかの項に記載の組成物。

【0153】

項 29 .

経肺適用のための薬剤として使用するための、上記のいずれかの項の凍結乾燥医薬組成物。

【0154】

項 30 .

前記経肺適用が、請求項 1 ~ 29 のいずれかの凍結乾燥医薬組成物を、水性キャリアー液中で再構成（分散）させて、コロイド溶液または分散物を形成させた後に実施される、項 29 に記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

【0155】

項 31 .

前記経肺適用が、前記組成物を、例えば噴霧化によって、エアロゾルに変換した後に実施される、項 29 または 30 に記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

【0156】

項 32 .

前記経肺適用が、吸入によって実施される、項 29 ~ 31 のいずれかに記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

【0157】

10

20

30

40

50

## 項 3 3 .

前記肺適用が、超音波型または電子振動膜型ネブライザーによって、好ましくは、例えば e F l o w (登録商標)、A e r o N e b P r o、A e r o N e b G o、または I - N e b 型デバイスなどの振動膜型ネブライザーによって実施される、項 2 9 ~ 3 2 のいずれかに記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

【 0 1 5 8 】

## 項 3 4 .

喘息、難治性喘息、慢性閉塞性気管支炎、実質性、線維性、および間質性肺疾患、ならびに実質性、線維性、および間質性肺炎の予防および処置のための、好ましくは肺移植後の急性および慢性の臓器移植拒絶反応、ならびにそれに起因する閉塞性細気管支炎などの疾患の予防および処置のための、項 2 9 ~ 3 3 のいずれかに記載の使用のための凍結乾燥医薬組成物。

10

【 0 1 5 9 】

## 項 3 5 .

リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリン A を含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するためのキットであって、

項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物、および水性キャリアー液を含む、キット。

【 0 1 6 0 】

20

## 項 3 6 .

前記無菌水性キャリアー液が、塩化ナトリウム水溶液である、項 3 5 に記載のキット。

【 0 1 6 1 】

## 項 3 7 .

前記無菌水性キャリアー液が、1つまたはそれを超える緩衝剤をさらに含む、項 3 5 または 3 6 に記載のキット。

【 0 1 6 2 】

## 項 3 8 .

リポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリン A を含む前記リポソームの水性分散物が、コロイド溶液である、項 3 5 ~ 3 7 のいずれかに記載のキット。

30

【 0 1 6 3 】

## 項 3 9 .

請求項 1 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の凍結乾燥医薬組成物を再構成させることによってリポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリン A を含む吸入用の水性リポソーム分散物を調製するためのプロセスであって、項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物を無菌水性キャリアー液中に分散させることを含む、プロセス。

【 0 1 6 4 】

## 項 4 0 .

前記無菌水性キャリアー液が、塩化ナトリウム水溶液である、好ましくは濃度が約 0 . 2 5 % ( w / v ) の塩化ナトリウム水溶液である、項 3 9 に記載のプロセス。

40

【 0 1 6 5 】

## 項 4 1 .

1 8 6 m g または 3 7 2 m g の請求項 1 ~ 2 0 のいずれかに記載の凍結乾燥組成物のアリコート、1 . 2 ~ 2 . 4 m L の範囲内の体積の生理食塩水のアリコート中に分散させる、項 3 9 または 4 0 に記載のプロセス。

【 0 1 6 6 】

## 項 4 2 .

前記項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の凍結乾燥医薬組成物を前記無菌水性キャリアー中に溶解させるステップが、3 0 0 秒以内に完了する、項 3 9 ~ 4 1 のいずれかに記載のプロセス。

50

## 【 0 1 6 7 】

項 4 3 .

項 1 ~ 2 8 のいずれかの凍結乾燥医薬組成物を水性キャリアー液中に分散させることを含むプロセスによって調製される、水性キャリアー液と、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリン A とを含む液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 6 8 】

項 4 4 .

項 3 9 ~ 4 2 のいずれかのプロセスによって調製される、または得られる、項 4 3 の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 6 9 】

項 4 5 .

サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも 1 つの二糖類の存在量が、前記液体リポソーム分散物の総重量を基準にして 5 ~ 1 5 重量%である、項 4 3 または 4 4 の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 0 】

項 4 6 .

サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される前記少なくとも 1 つの二糖類の存在量が、前記液体リポソーム分散物の総重量を基準にして 7 . 5 ~ 1 2 . 5 重量%である、項 4 3 ~ 4 5 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 1 】

項 4 7 .

前記分散物のオスモル濃度が、約 4 3 0 ~ 約 5 5 0 m O s m o l / k g の範囲内である、項 4 3 ~ 4 6 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 2 】

項 4 8 .

前記分散物の多分散指数 ( P I ) が、光子相関分光法で測定して、約 0 . 5 0 以下である、項 4 3 ~ 4 7 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 3 】

項 4 9 .

前記分散物が、可視的な粒子を本質的に含まない、項 4 3 ~ 4 8 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 4 】

項 5 0 .

前記分散物が、光子相関分光法で測定した z 平均径が約 4 0 ~ 約 1 0 0 n m の範囲内であるリポソームを含む、項 4 3 ~ 4 9 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 5 】

項 5 1 .

前記分散物が、光子相関分光法で測定した z 平均径が、項 1 ~ 2 8 のいずれかの凍結乾燥医薬組成物を調製するために使用される凍結乾燥前のリポソームの z 平均径と等しいか、それよりも最大で 2 0 % 大きいリポソームを含む、好ましくは項 5 3 に記載のプロセスによって形成された凍結乾燥前のリポソームと大きさが等しいか、それよりも最大で 2 0 % 大きいリポソームを含む、項 4 3 ~ 5 0 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 6 】

項 5 2 .

前記分散物の 1 : 1 0 で希釈した後の濁度が、2 0 0 N T U ( N e p h e l o m e t r i c T u r b i d i t y U n i t ( 比濁計濁度単位 ) ) 以下である、項 4 3 ~ 5 1 のいずれかに記載の液体リポソーム分散物。

## 【 0 1 7 7 】

項 5 3 .

水性キャリアー液中で再構成させるための、好ましくは項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の

10

20

30

40

50

凍結乾燥医薬組成物を調製するための、リポソーム的に可溶化した形態の治療有効量のシクロスポリンAを含む凍結乾燥医薬組成物を調製するためのプロセスであって、

( a )

i . 治療有効量のシクロスポリンA ( C s A ) ;

i i . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

i i i . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて、

i v . 緩衝剤および/またはキレート剤などの、1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むリポソームの液体水性分散物を用意するステップであって ;

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類二糖類 ( d i s a c c h a r i d e d i s a c c h a r i d e ) をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも40重量%である、ステップ ; および

( b ) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含む、プロセス。

【 0 1 7 8 】

項 5 4 .

( a 1 )

・サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類 ;

・リン脂質の群から選択される膜形成物質 ;

・治療有効量のシクロスポリンA ( C s A ) ; および

・非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて

・1つまたはそれを超えるさらなる賦形剤

を含む水性混合物を用意するステップ ; および

( a 2 ) 前記水性混合物をホモジナイズ条件に曝すステップ ; ならびに

( b 1 ) 得られたホモジナイズ混合物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップ

を含む、項 5 3 に記載のプロセス。

【 0 1 7 9 】

項 5 5 .

・サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも1つの二糖類の水性溶液を用意するステップ ;

・リン脂質の群から選択される膜形成物質を加え、好ましくは(均質な)分散物の形態で、第1の中間混合物を形成するステップ ;

・シクロスポリンAを前記第1の中間混合物に加え、第2の中間混合物を形成するステップ ;

・非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質を前記第2の中間混合物に加え、第3の中間混合物を形成するステップ ;

・得られた第3の中間混合物をホモジナイズ条件に曝すステップ ; および

・得られたホモジナイズ混合物を凍結乾燥し、凍結乾燥医薬組成物を形成するステップを含む、項 5 3 または 5 4 に記載のプロセス。

【 0 1 8 0 】

項 5 6 .

前記中間混合物を滅菌するステップ、好ましくは前記の得られた中間混合物を中間混合物に曝すステップに続いて滅菌するステップ

をさらに含む、項 5 3 ~ 5 5 のいずれかに記載のプロセス。

【 0 1 8 1 】

項 5 7 .

前記滅菌ステップが、無菌濾過を含む、項 5 6 に記載のプロセス。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 8 2 】

項 5 8 .

前記ホモジナイズ条件が、高圧ホモジナイズを含む、項 5 4 ~ 5 7 のいずれかに記載のプロセス。

## 【 0 1 8 3 】

項 5 9 .

前記高圧ホモジナイズが、繰り返して行われる、項 5 4 ~ 5 8 のいずれかに記載のプロセス。

## 【 0 1 8 4 】

項 6 0 .

前記高圧ホモジナイズが、約 5 ~ 約 1 5 回行われる、項 5 4 ~ 5 9 のいずれかに記載のプロセス。

10

## 【 0 1 8 5 】

項 6 1 .

前記高圧ホモジナイズが、1 0 0 ~ 1 0 0 0 b a r の範囲内の圧力で行われる、項 5 4 ~ 6 0 のいずれかに記載のプロセス。

## 【 0 1 8 6 】

項 6 2 .

前記少なくとも 1 つの二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも 4 0 重量 % である、項 5 3 ~ 6 1 のいずれかに記載のプロセス。

20

## 【 0 1 8 7 】

項 6 3 .

凍結乾燥医薬組成物であって、

( a )

i . 治療有効量のシクロスポリン A ( C s A ) :

i i . リン脂質の群から選択される膜形成物質 ; および

i i i . 非イオン性界面活性剤の群から選択される溶解性増強物質 ; ならびに、必要に応じて、

i v . 緩衝剤および / またはキレート剤などの、1 つまたはそれを超えるさらなる賦形剤を含むリポソームの液体水性分散物を用意するステップであって ;

30

前記液体水性分散物が、サッカロース、ラクトース、およびトレハロースからなる群から選択される少なくとも 1 つの二糖類をさらに含み、前記二糖類の存在量が、前記凍結乾燥組成物の総重量に対して少なくとも 4 0 重量 % である、ステップ ; および

( b ) 前記水性分散物を凍結乾燥するステップ

を含むプロセスによって得られうる、凍結乾燥医薬組成物。

## 【 0 1 8 8 】

項 6 4 .

項 5 3 ~ 6 2 のいずれかに記載のプロセスによって得られる、または得られうる凍結乾燥医薬組成物。

以下の実施例は、本発明を例証するが、いかなる点においても本発明を限定するものではない。

40

## 【 実施例 】

## 【 0 1 8 9 】

実施例 1 : リポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリン A ( 5 m g ) を含む凍結乾燥医薬組成物の調製

## 【 0 1 9 0 】

1 . 1 . ステップ 1 : リポソーム溶液の調製

1 . 1 . 1 約 7 0 % ( 約 1 0 4 L ) の注射用水を調製用ベッセルに入れた。そこに窒素ガスを導入して脱気し、4 0 ~ 4 5 まで加温した。1 8 . 0 k g のサッカロース、4 5 0 . 0 g のリン酸二水素ナトリウム・二水和物、6 1 2 . 0 g のリン酸水素二ナトリウ

50

ム・十水和物 (decahydrate)、および36.0gのエデト酸2ナトリウムを一緒に加え、約5% (8,0L)の注射用水を用いてリンスした。この混合物を、目視で透明な溶液になるまで攪拌した。得られた溶液を20~25℃まで冷却し、6480.0gの大豆レシチンであるLipoid S100を加え、均質な分散物になるまで攪拌した。次いで、504.0gのポリソルベート80HP (Tween 80)を泡立たないように穏やかに攪拌しながら加え、このポリソルベートが入った容器を約100mLの注射用水でリンスした。その後、720.0gのシクロスポリンおよび約5% (8L)の注射用水を加え、均質な分散物が形成されるまで攪拌した。

【0191】

1.1.2 続いて、得られた分散物を、温度5~10℃まで冷却し、圧力100bar (第1のステージ)および1000bar (第2のステージ)で、GEA高圧ホモジナイザーを用いてそれぞれ高圧ホモジナイズした。前記高圧ホモジナイズは、9回(サイクル)繰り返した。

10

【0192】

1.1.3 得られたホモジナイズ懸濁液を、次いで、ポアサイズ0.2μmのバイオバーデン低減フィルターを通して、最低1回濾過し、充填/保管タンクに移送した。

【0193】

1.2 ステップ2：無菌充填、凍結乾燥、およびパッケージング

1.2.1 充填容量10mLのガラスバイアルを、熱風滅菌トンネル中で滅菌し、冷却し、冷却したガラスバイアルに、上述のステップ1によって調製した前記分散物のアリコート1.35mL (5mg用量)を、前記充填/保管タンクと充填ニードルの間に配置したポアサイズ0.2μmの2つの無菌フィルターを用いて無菌滅菌した後で充填した。次いでこのバイアルを、滅菌した凍結乾燥ストッパーで半打栓し、凍結乾燥器 (GEA Lyovac FCM) に装填し、72時間凍結乾燥サイクルによって凍結乾燥した。

20

【0194】

1.2.2 凍結乾燥が完了した後、バイアルを凍結乾燥チャンバー内で自動的に密栓した。このバイアルを取り出し、フリップキャップで巻き締めした。各バイアルには、5mgのリポソーム的に可溶化した形態のシクロスポリンAを含むほぼ白色で均質な多孔質凍結乾燥ケーキが約190mg入っており、最大残留水分は2% (w/w)であり、貯蔵寿命は3年であった。

30

【0195】

1.2.3 上述のように調製した凍結乾燥薬物製品の組成を下記表1に示す。

表1：

成分	単位あたりの量	量 (% (w/w))
シクロスポリンA	5mg	2.69
ポリソルベート80	3.5mg	1.88
Lipoid S100	45mg	24.18
スクロース	125mg	67.16
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	3.125mg	1.68
リン酸水素二ナトリウム	4.25mg	2.28
エデト酸二ナトリウム・二水和物	0.25mg	0.13
合計	186.125mg	100.00

40

【0196】

実施例2：シクロスポリンAを含む前記凍結乾燥組成物の再構成による、噴霧化および吸入用のリポソーム的に可溶化したシクロスポリンAのコロイド溶液の調製

【0197】

50

2.1 上記実施例1によって調製した5mgのシクロスポリンAを含む凍結乾燥ケーキのアリコート186.1mgに、濃度0.25%(w/v)の無菌の塩化ナトリウム水溶液を1.35mL加え、吸入用途用の、CsA濃度4mg/mLの乳白色のシクロスポリンAリポソーム水溶液を得た。

【0198】

2.2 リポソーム的に可溶化したシクロスポリンAの含有量が10mgの、対応するコロイド溶液を調製するために、上記実施例1によって調製した凍結乾燥ケーキのアリコート372.3mgを、濃度0.25%(w/v)の無菌の塩化ナトリウム水溶液2.65mLに溶解し、吸入用途用の、CsA濃度4mg/mLの乳白色のシクロスポリンAリポソーム水溶液を得た。

【0199】

2.3 上述のように調製した再構成された薬物製品の組成を下記表2に示す。

表2

成分	単位あたりの量	量 (% (w/v))
シクロスポリンA	5 mg	0.4
ポリソルベート80	3.5 mg	0.28
Lipoid S100	45 mg	3.6
スクロース	125 mg	10
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	3.125 mg	0.25
リン酸水素二ナトリウム	4.25 mg	0.34
エデト酸二ナトリウム・二水和物	0.25 mg	0.02
塩化ナトリウム	2.8 mg	0.22または0.23
注射用水	1.25 mLになるように	100になるように

【0200】

実施例3：ラクトースまたはトレハロースが存在する状態における、リポソーム的に可溶化した形態のCsAの凍結乾燥組成物、およびその再構成されたリポソーム溶液の調製

【0201】

3.1 上記実施例1および実施例2の手順に続いて、二糖類としてトレハロースが存在する状態で、およびラクトース・水和物が存在する状態で、リポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む凍結乾燥組成物を調製した。どちらの二糖類も、最終的な再構成されたリポソーム溶液中の各糖の含有量を7.5%(w/v)および10%(w/v)とするのに必要な量を使用した。さらに、上記表3にまとめた組成物に加えて、サッカロース含有量が5.0%(w/v)および7.5%(w/v)である同様なリポソーム溶液も調製した。すべてのケースで、下記表3にまとめられているような多分散指数(PI)およびリポソーム径(z平均径として測定(すなわちZ平均))を有する乳白色のコロイド溶液が得られた。

表3：

10

20

30

40

50

二糖類	含有量 [% (w/v)]	Z平均 [nm]	PI	乳白色の溶液
トレハロース	7.5	123.2	0.344	得られた
トレハロース	10	103.5	0.181	得られた
ラクトース・一水和物	7.5	89.1	0.115	得られた
ラクトース・一水和物	10	88.1	0.101	得られた
サッカロース	5	93.0	0.346	得られた
サッカロース	7.5	86.1	0.445	得られた
サッカロース	10	47.7	0.253	得られた

10

## 【0202】

実施例4：凍結乾燥前と、凍結乾燥物の再構成後の、リポソーム的に可溶化した形態のCsAを含む水性リポソーム分散物の特性の比較

## 【0203】

4.1 10% (w/v) のサッカロースを含むリポソーム的に可溶化したCsAの水性分散物を、実施例1、ステップ1に記載されているように調製した。同様に、10% (w/v) のラクトースを含むリポソーム的に可溶化したCsAの水性分散物を調製した。さらに、前記10% (w/v) のサッカロースを含む水性分散物を実施例1、ステップ2に記載のように凍結乾燥し、実施例2に記載されているように再構成した。得られた分散物の主要な特性を下記表4にまとめた。

20

表4：

CsAを含む分散物	pH	Z平均 [nm]	PI	オスモル濃度 [Osmol/kg]
10% (w/v) サッカロース； 凍結乾燥／再構成前	6.62	51.0	0.262	0.436
10% (w/v) サッカロース； 凍結乾燥／再構成後	6.64	55.3	0.230	0.383
10% (w/v) ラクトース； 凍結乾燥／再構成前	6.58	50.5	0.251	0.433

30

## 【0204】

実施例5：リポソーム的に可溶化したCsAを含む前記凍結乾燥組成物の安定性；安定性の比較

## 【0205】

## 5.1 シクロスポリンAを含む凍結乾燥組成物の長期安定性

5.1.1 シクロスポリンA (5mg) を含む凍結乾燥医薬組成物を上記実施例1に従って調製した。ほぼ白色で均質な多孔質凍結乾燥ケーキ状の前記凍結乾燥組成物を6Rガラスバイアル中に分取し、密封し、25℃、湿度60%RH (相対湿度) で36か月間保存した。保存前、および3か月、6か月、9か月、12か月、18か月、24か月、および36か月間の保存後に、前記凍結乾燥組成物のアリコートを生食塩水 (0.25% (w/v)) で再構成して、体積1.25mLの再構成溶液を作成し、リポソーム中央粒径 (Z平均)、多分散指数、ならびに含有量を決定した。

40

## 【0206】

5.1.2 上記保存期間の前および後において、すべてのパラメーターが、それぞれの許容基準内であることがわかった。より具体的には、多分散指数 (PI) は、保存前および各保存期間後において、0.50以下であった。さらに、リポソーム中央粒径 (Z平均) は、保存前および各保存期間後において、所定の範囲内、すなわち40~100nmであった。さらに、再構成溶液のCsA含有量は、許容範囲内、すなわち95.0~10

50

5.0%であった。

【0207】

5.1.3 上述のような長期安定性試験を、温度30℃および湿度65%RH（相対湿度）で同様に行った。上述したすべての試験パラメーターが、保存前ならびに3か月、6か月、9か月、および12か月の保存期間後に、それぞれの許容基準内（上述のとおり）であることがわかった。

【0208】

5.1.4 上述したような長期安定性試験を、上記実施例1に従って調製したシクロスポリンA（5mg）を含む凍結乾燥医薬組成物を使用して同様に行ったが、前記凍結乾燥組成物のサッカロース含有量は、液体組成物のサッカロース含有量を、再構成後の液体組成物の総量に対して7.5重量%とするのに必要な量とした。

10

【0209】

5.1.5 このケースにおいても、上記保存期間の前および後において、すべてのパラメーターが、それぞれの許容基準内であることがわかった。より具体的には、多分散指数（PI）は、保存前および各保存期間後において、0.50以下であった。さらに、リポソーム中央粒径（Z平均）は、保存前および各保存期間後において、所定の範囲内、すなわち40～100nmであった。さらに、再構成溶液のCsA含有量は、許容範囲内、すなわち95.0～105.0%であった。

【0210】

5.1.6 上記項目5.1.1～5.1.3に記載の実験を、上記実施例1に従って調製した10mgのシクロスポリンAを含む凍結乾燥医薬組成物を使用して同様に行った。このケースにおいても、保存前および各保存期間後において、すべてのパラメーターが、それぞれの許容基準内であることがわかった。より具体的には、多分散指数（PI）は、保存前および各保存期間後において、0.50以下であった。さらに、リポソーム中央粒径（Z平均）は、保存前および各保存期間後において、所定の範囲内、すなわち40～100nmであった。さらに、再構成溶液のCsA含有量は、許容範囲内、すなわち95.0～105.0%であった。

20

【0211】

5.2 シクロスポリンAを含む非凍結乾燥液体組成物の長期安定性

【0212】

5.2.1 CsA濃度が4mg/mLのリポソーム的に可溶化したシクロスポリンAの生理食塩水（0.25%（w/v））溶液を、上記実施例1に従って調製したが、二糖類は添加せず、中間の凍結乾燥は行わなかった。この溶液を、上述したようにガラスバイアル中に分取し、密封し、25℃、湿度60%RH（相対湿度）で保存した。

30

【0213】

5.2.1 3か月間の保存後、リポソーム溶液が物理的に不安定であることを示す沈殿物の形成が目視で観察された。

【0214】

実施例6：噴霧化実験およびエアロゾルの特性解析

【0215】

6.1 実施例1で調製した2.5mL（CsA10mgに相当する）のコロイド溶液を、特別に改造した、混合チャンバーと吸入/排出バルブを備えるPARI eFlow 30XL型電子振動膜型ネブライザーを用いて、ヨーロッパ薬局方7.3；2.9.4.4に従って、流速15L/分でエアロゾル化した。

40

【0216】

6.2 このようにして作成したエアロゾルの液滴径分布を、Malvern MasterSizer Xを用いてレーザー回折法によって解析した。これによって決定された質量平均粒径は、幾何標準偏差1.5において3.3μm（標準偏差（SD）0.1）であった。5μm未満（<5μm）の呼吸性粒子画分（RF）は、65.3%（SD2.8）、粒径3.3μm未満（<3.3μm）の呼吸性粒子画分は、37.7%（SD2.2

50

)であった。

【0217】

6.3 吸入実験(大人;流速15mL/分)において、総量で9897 $\mu$ gの、上記実施例1に記載されているような、再構成された液体製剤の形態のシクロスポリンA(ciclosporine A)を電子振動膜型ネブライザー(PARIEFlow30XL)に充填し、投与した。シクロスポリンA(ciclosporine A)の送達用量(DD)は、7339 $\mu$ g(SD:471)であった。5 $\mu$ m未満(<5 $\mu$ m)の吸入可能用量(RD)は6534 $\mu$ g(66.0%;SD4.3%)であり、3.3 $\mu$ m未満(<3.3 $\mu$ m)のRDは4461 $\mu$ g(45.1%;SD3.2%)であり、2 $\mu$ m未満(<2 $\mu$ m)の吸入可能用量(RD)は1080 $\mu$ g(10.9%;SD0.9%)であった。

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	9/12 (2006.01)	A 6 1 K	9/12
A 6 1 K	47/02 (2006.01)	A 6 1 K	47/02
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	11/06
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00

審査官 池上 文緒

## (56)参考文献 国際公開第 2 0 1 6 / 1 4 6 6 4 5 ( W O , A 1 )

特表 2 0 0 1 - 5 1 9 7 7 6 ( J P , A )

米国特許第 0 4 8 5 7 3 1 9 ( U S , A )

特表 2 0 0 9 - 5 1 9 2 5 0 ( J P , A )

## (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 8 / 1 3

A 6 1 K 9 / 1 9

A 6 1 K 9 / 1 2 7

A 6 1 K 4 7 / 2 4

A 6 1 K 4 7 / 2 6

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )