(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년01월17일
(11) 등록번호 10-2352249
(24) 등록일자 2022년01월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 31/436* (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/0075 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7029824
(22) 출원일자(국제) 2015년04월06일
심사청구일자 2020년03월31일
(85) 번역문제출일자 2016년10월25일
(65) 공개번호 10-2016-0141776
(43) 공개일자 2016년12월09일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/024551
(87) 국제공개번호 WO 2015/154084
국제공개일자 2015년10월08일
(30) 우선권주장
61/975,127 2014년04월04일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2008063581 A2*
WO2008137148 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
에이아이 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
(72) 발명자
아머, 토마스
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
멜빈, 로렌스, 에스.
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 16 항 심사관 : 강덕희

(54) 발명의 명칭 **연령 관련 병태를 치료하기 위한 흡입가능한 라파마이신 제제**

(57) 요 약

본 발명은 항노화 요법, 또는 연령 관련 질환 및 장애의 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 바람직하게는, 흡입을 통해 라파마이신, 또는 그의 프로드럭 또는 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 항노화 요법, 또는 연령 관련 질환 및 장애의 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서의 항노화 요법 및 연령 관련 질환 및 장애의 치료 및 예방을 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
A61K 9/145 (2013.01)
(72) 발명자
로스버그, 조나단, 엠.
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
리히텐슈타인, 헨리
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

명 세 서

청구범위

청구항 1

만성 폐 질환의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서의 만성 폐 질환을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한, 1 내지 5 ㎛의 질량 중앙 공기역학적 직경(MMAD)을 갖는 미분화된 라파마이신 입자, 및 담체 입자를 포함하는 폐 전달용 건식 분말 형태의 제약 에어로졸 조성물로서, 상기 방법은 상기 조성물을 흡입을 통해 대상체로 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 치료량의 라파마이신을 폐로 전달하는 데 효과적인 것이며, 상기 만성 폐 질환은 림프관평활근종증(LAM)이 아닌, 제약 에어로졸 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 방법은 20 내지 250 ㎍의 총 1일 용량의 라파마이신을 대상체로 투여하는 단계를 포함하는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 조성물 중의 라파마이신의 양이, 조성물의 총 중량에 기초하여, 0.1% (w/w) 내지 20% (w/w) 또는 0.25% (w/w) 내지 2% (w/w)인, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 미분화된 라파마이신 입자가 1.5 내지 4 ㎛, 1.5 내지 3.5 ㎛, 또는 2 내지 3 ㎛의 질량 중앙 공기역학적 직경(MMAD)을 갖는 입자로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 담체가 아라비노스, 글루코스, 프럭토스, 리보스, 만노스, 수크로스, 트레할로스, 락토스, 말토스, 전분, 덱스트란, 만니톨, 리신, 류신, 이소류신, 디팔미틸포스파티딜콜린, 레시틴, 폴리락트산, 폴리(락트산-코-글루탐산), 및 크실리톨, 또는 상기 중 임의의 것의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 담체 입자가 1 내지 200 ㎛, 30 내지 100 ㎛, 또는 10 ㎛ 미만 범위인 직경을 갖는 것인, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 담체가 제1 담체 및 제2 담체인, 2종의 상이한 담체의 블렌드를 포함하거나, 또는 그로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 담체가 2종의 상이한 락토스 담체의 블렌드로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 제1 담체가 30 내지 100 ㎛ 범위인 직경을 갖는 입자로 이루어지고, 제2 담체가 10 ㎛ 미만인 직경을 갖는 입자로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 제약 에어로졸 제제가 1일 1회 투여용으로 적합화된 것인, 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 제약 에어로졸 제제가 라파마이신 조성물의 수성 현탁액을 제조하는

단계, 라파마이신 조성물 현탁액을 미세유동화에 적용하는 단계, 및 생성된 입자를 분무 건조시켜 건식 분말을 형성하는 단계를 포함하는 습식 연마 공정에 의해 제조되는 것인, 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 노인 대상체인, 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 라파마이신이 30:1 초과 또는 35:1 초과의 이성질체 B:C 비를 갖는 것인, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 라파마이신이 3.5% 내지 10%인 이성질체 B:C 비를 갖는 것인, 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 라파마이신의 미세 입자 및 담체의 입자로 이루어진 것인, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 계면활성제를 함유하지 않는 것인, 조성물.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. §119(e) 하에 2014년 4월 4일 출원된 가출원 시리얼 번호 61/975127에 대한 우선권을 주장하고, 상기 가출원의 개시내용은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0003] **본 발명의 기술분야**

[0004] 본 발명은 항노화를 위한, 및 연령 관련 병태, 질환 및 장애의 예방 및 치료를 위한, 흡입에 의해 폐 전달하기 위한 방법 및 제약 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 라파마이신은 스트렙토마이세스 히그로스코피쿠스(*Streptomyces hygroscopicus*)에 의해 생산된 마크로시클릭 트리엔 항생제이다. 예컨대, 미국 특허 번호 3,929,992를 참조할 수 있다. 라파마이신은 mTOR의 억제제이다. 라파마이신의 면역 억제 및 항염증 특성은 초기에는 이식 분야에서 및 자가면역 질환의 치료에서의 그의 사용을 나타냈다. 예를 들어, 이는 조직부적합 설치동물에서 알부민 알레르기 유발 검사에 대한 반응으로 체액성 (IgE-유사) 항체의 형성을 막고, 뮤린 T-세포 활성화를 억제하고, 기관 이식편의 생존 시간을 연장시키는 것으로 나타났다. 자가면역 질환을 앓는 설치동물 모델에서, 이는 전신 홍반성 루푸스, 콜라겐 유도 관절염, 자가면역 I형 당뇨병, 자가면역 심근염, 실험적 알레르기성 뇌척수염, 이식편 대 숙주 질환, 및 자가면역 포도막망막염과 관련된 면역 매개 사례를 억제한다.

[0006] 라파마이신은 또한 그의 일반 약물명, 시롤리무스로 지칭된다 (예컨대, ANDA #201578 참조, 닥터 레비스 랩스 리미티드(Dr. Reddys Labs Ltd.)에 의함, 2013년 5월 28일 승인받음). 시롤리무스는 FDA 승인을 받고, 와이어쓰(Wyeth) (화이자(Pfizer))에 의해 라파뮨(RAPAMUNE)이라는 상표명하에 기관 거부의 예방 및 신장 이식을 위해 미국에서 시판되고 있다. 이는 경구 액제 (1 mg/ml) 또는 정제 (다중 강도(multiple strength))의 형태이다. 와이어쓰 (화이자)는 또한 정맥내로 투여되는, 진행성 신장 세포 암종의 치료용으로서 유도체를 토리셀 (TORISEL) (템시롤리무스)이라는 상표명으로 시판하고 있다. 템시롤리무스는 시롤리무스의 수용성 프로드럭이다. 존슨 앤드 존슨(Johnson & Johnson)의 자회사인 코디스(Cordis)는 사이퍼(CYPHER)라는 상표명 하에 시롤리무스-용출 관상동맥 스텐트를 시판하고 있다. 이러한 맥락에서, 시롤리무스의 항증식 효과는 풍선 혈관 성형술 후에 관상 동맥의 재협착을 예방한다. US 2010/0305150 (베르그(Berg) 등) (노파르티스(Novartis)는 신경피부 장애, 예컨대, 결절성 경화증을 비롯한 TSC에 의해 매개되는 것 뿐만 아니라, 신경섬유종증 1형 (NF-1)에 의해 매개되는 것을 치료하고 예방하기 위한 라파마이신 유도체를 기술한다. 라파마이신 및 그의 유도체는 문헌 [Nishimura, T. *et al.* (2001) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163:498-502] 및 미국 특허 번호 6,384,046 및 US 6,258,823에 추가로 기술되어 있다.

[0007] 임상 승인 맥락에서 라파마이신 사용에는 폐 독성 (라파뮨 라벨은 폐 이식 환자에 대해서는 적절하지 않음을 경고한다), 암 위험 증가, 및 당뇨병-유사 증상을 비롯한, 공지된 여러 역효과가 있다. 라파마이신은 보통 간질성 폐렴 형태의 폐 독성 발생과 연관되어 있지만, 폐의 폐포 단백질증 또한 문서로 기록되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Nocera *et al.*, Sirolimus Therapy in Liver Transplant Patients: An Initial Experience at a Single Center, *Transplantation Proceedings* (2008), 40(6), 1950-1952]; [Perez *et al.*, Interstitial Pneumonitis Associated With Sirolimus in Liver Transplantation: A Case Report, *Transplantation Proceedings* (2007), 39(10), 3498-3499]; [Hashemi-Sadraei *et al.*, Sirolimus-associated diffuse alveolar hemorrhage in a renal transplant recipient on long-term anticoagulation, *Clinical Nephrology* (2007), 68(4), 238-244]; [Pedroso *et al.*, Pulmonary alveolar proteinosis - a rare pulmonary toxicity of sirolimus, *Transplant International* (2007), 20(3), 291-296]을 참조할 수 있다. 라파마이신 유도성 폐 독성은 공지되어 있지

않다.

[0008] 중증 호흡기 유해 사례는 또한 순환 혈중 농도가 1 ng/mL 범위를 초과하게 만드는 만성 투여하에 항암 요법으로서 시롤리무스를 사용하는 것과 연관이 있다. 예를 들어, 시롤리무스 프로드럭인 템시롤리무스의 폐 독성은, "간질성 폐 질환은 신장암 환자에서 템시롤리무스 치료의 드문 부작용이다"라고 지적한 2009년 보고에 문서로 기록되어 있다 (문헌 [Aparicio *et al.*, *Clinical & Translational Oncology* (2009), 11(8), 499-510]; [Vahid *et al.*, Pulmonary complications of novel antineoplastic agents for solid tumors, *Chest* (2008) 133:528-538]). 추가로, 2012년 메타-분석을 통해 템시롤리무스 또는 에베롤리무스 투여를 받은 암 환자 중 10%가 삶의 질의 악화와 함께 경미한 수준의 독성, 및 일부 경우에, 요법 중단을 경험할 수 있다는 결론을 얻었다. 문헌 [Iacovelli *et al.*, Incidence and risk of pulmonary toxicity in patients treated with mTOR inhibitors for malignancy. A meta-analysis of published trials, *Acta oncologica* (2012), 51(7), 873-879]를 참조할 수 있다. 추가로, 래트에서 템시롤리무스를 이용하여 수행된 안전성 약리학 연구 결과 (템시롤리무스 NDA의 Pharm/Tox 섹션 참조), 폐에서 폐포 대식세포 침윤 및 염증 뿐만 아니라, 호흡률이 감소된 것으로 밝혀졌다 (USD FDA 웹사이트로부터 이용가능한 문헌 [Pharmacology Review for temsirolimus NDA 22088] 참조). 전신 투여의 결과로서 순환 혈액 부피 중 약물의 농도가 비교적 높은 조건하에서 이러한 역효과가 관찰되었다.

[0009] 2013년 공개된 레러(Lehrer)의 미국 특허 출원은 "[라]아파마이신 (시롤리무스)은 그의 문서로 널리 입증되어 있는 폐 독성인 간질성 폐렴 때문에 안전하게 흡입될 수 없다([r]apamycin (sirolimus) cannot be safely inhaled because of its well-documented lung toxicity, interstitial pneumonitis)"는 견해를 반영한다. 문헌 [Chhajed *et al.* (2006) 73:367-374]를 인용하는 US 20130004436을 참조할 수 있다. 레러의 특허 출원은 폐암 및 림프관평활근종증 치료 및 예방용 조성물 및 방법에 관한 것이다. 비록 예컨대, US 특허 번호 5,080,899 (슈투름(Sturm) 등) (1991년 2월 출원) 및 US 특허 번호 5,635,161 (1995년 6월 출원)과 같이 조기에 공개된 일부 공개 문헌에 흡입에 의한 전달을 위한 라파마이신에 관한 일반적인 설명이 일부 포함되지 있기는 하지만, 상기 일반적인 설명은 어떤 증거에 의해서도 지지되지 못했고, 이는 상기 논의된 보고에 의해 입증된 바와 같이, 이식과 관련하여 면역억제제로서, 및 항암과 관련하여 세포 증식의 억제제로서의 그의 더욱 광범위한 채용 이후에 출현한, 라파마이신 유도성 폐 독성의 많은 보고된 발생 이전에 나온 것이었다.

[0010] WO 2011/163600에는 유사 라파마이신이 마크로라이드 락톤인 타크로리무스의 에어로졸 제제가 기술되어 있다. 그러나, 타크로리무스는 시롤리무스와는 다른 화학적 엔티티이고, 시롤리무스의 분자적 표적은 mTOR이 아닌 칼시뉴린이고, 라파마이신과 달리, 타크로리무스는 폐 독성을 보이지 않았고, 실제로 폐 이식 이후의 거부 예방을 위한 것으로 지시된다.

[0011] 라파마이신 유도성 폐 독성에 대한 잠재성이 널리 인식되고 있다는 점을 고려해 볼 때, 폐 전달용의 라파마이신을 포함하는 제약 조성물은 인간에서 실행 가능한 치료학적 옵션이 된다고 고려되지 않았다.

[0012] 흡입에 의해 폐로 약물을 전달하는 것은 낭성 섬유증, 폐렴, 기관지 천식 및 만성 폐쇄성 폐 질환과 같은 흔한 국소 병태, 호르몬 대체, 통증 관리, 면역 결핍증, 적혈구 생성, 당뇨병, 폐암 등을 비롯한 일부 전신 병태를 포함하는 각종 병태를 치료하는 중요한 수단이다. 문헌 [Yi *et al. J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* 23:181-7 (2010)]에 의한 리뷰를 참조할 수 있다. 흡입에 의해 폐암의 치료용으로 명시된 작용제로는 시스플라틴, 카르보플라틴, 탁산, 및 안트라시클린을 포함한다. 예컨대, 미국 특허 번호 6,419,900; 6,419,901; 6,451,784; 6,793,912; 및 미국 특허 출원 공개 번호 US 2003/0059375 및 US 2004/0039047을 참조할 수 있다. 추가로, 흡입에 의해 투여된 독소루비신 및 테모졸로미드가 폐 전이 치료용으로 제안되어 왔다. 예컨대, 미국 특허 번호 7,288,243 및 미국 특허 출원 공개 번호 US 2008/0008662를 참조할 수 있다.

[0013] US 20100260733 ("'733 출원")에는 작용제, 예컨대, 영양소, 유사분열 성장 인자, 에너지로부터의 다양한 세포 신호, 및 세포의 이화 작용 및 동화 작용 과정을 조절하는 스트레스 관련 신호를 통합하는 것으로서 TOR (라파마이신의 표적) 키나제의 신호전달 경로가 기술되어 있다. TOR 경로는 또한 가능하게는 출아 효모, 세아노르합디티스 엘레간스(*Ceanorhabditis elegans*) 및 드로소필라(*Drosophila*)에서 칼로리 제한에 의해 유도된 수명 연장에서도 중요한 역할을 하는 것으로 기술되어 있다. 미토콘드리아 기능은 텔로미어 기능 장애에 의해 유도되는 노쇠를 유지시키는 데에서, 및 TOR/AMPK/미토콘드리아 경로를 통한 노쇠 상태의 악화를 예방하는 데 있어 칼로리 제한에서 중요한 역할을 하는 것으로 기술되어 있다. 이러한 기전은 텔로미어 기능 장애를 가진 효모 및 인간 모델, 둘 모두에서 보존되는 것으로 보고되어 있다. '733 출원은 미토콘드리아 기능을 촉진시켜 노쇠 악화를 예방 또는 치료하는 작용제 확인 방법을 제공한다. '733 출원에 따르면, 많은 연령 관련 질환이 미토콘드

리아 기능 장애 및/또는 텔로미어 기능 장애와 연관이 있기 때문에, 상기 방법에 의해 확인된 작용제는 잠재적으로는 연령 관련 질환 또는 장애를 예방하는 데 사용될 수 있다. 이는, 노쇠 상태를 유지하기보다는 노쇠를 노화 과정에 대한 주요 기여자로 간주하여 대개는 노쇠를 억제시키는 것에 주력하는 현재 지배적인 항노화 전략법을 대조를 이루는 것으로 여겨진다. '733 출원은 예를 들어, 저용량의 라파마이신이 인간 섬유아세포에서 돌연변이원 유도성 형질전환을 억제시키고, 배양된 뉴런에서 활성 산소종을 감소시키고, 수명을 연장시킨다는 것을 보여주는, 각종 세포 유형을 사용하는 다수의 시험관내 기반 실험을 포함한다. '733 출원은 단 2마리의 연구만을 포함하는데, 이 둘 모두 저용량의 라파마이신이 뇌졸증 또는 심근경색을 앓는 래트 모델에서 경색 크기를 축소시킨다는 것을 입증한다고 주장한다.

[0014] 미국 특허 번호 8,492,110 ("'110 특허")은 '733 출원으로부터 비롯되었고, 이는 세포 노화 방지를 필요로 하는 대상체에서 (세포 주기 중 G1 기에서 세포 성장 및 단백질 번역을 억제시키지 않는 용량으로 정의되는) 저용량의 TOR 억제제를 투여함으로써 세포에서 G0 기를 연장시켜 세포 노화를 방지하는 방법을 주장한다.

[0015] 미국 특허 출원 No. 20130102569 ("'569 출원")에는 연령 관련 질환, 병태 또는 장애 치료 또는 예방을 필요로 하는 환자에게 치료학상 유효량의 TOR 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 연령 관련 질환, 병태 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법이 기술되어 있다. '569 출원에는 '733 출원과 비교하였을 때 TOR 억제제의 다소 다른 역할이 기술되어 있는데, 즉, '569 출원은 알려진 대로 라파마이신이 노쇠 상태의 악화를 예방함으로써 그 상태를 유지시키는 작용을 하기보다는 시험관내에서 세포 노쇠 개시를 억제시킨다는 것을 입증하는 데이터를 제공한다. '569 출원은 연령 관련 질환, 병태, 또는 장애를 치료 또는 예방하는 그의 방법을 지지하는 어떤 동물 데이터도 제공하지 않았다.

[0016] 경구용 투여 형태의 라파마이신과 관련된 독성 및 유해 사례를 감소 또는 제거하는, TOR 신호전달 경로에 의해 영향을 받은 질환 및 장애의 치료 및 예방에 더욱 효과적인 투여 형태를 제공하기 위해 폐로, 바람직하게, 흡입에 의해 안전하게 전달될 수 있는 라파마이신, 그의 프로드럭, 유도체, 및 유사체로 이루어진 제약 제제가 요구되고 있다.

[0017] **도면의 간단한 설명**

[0018] 도 1: 마우스 혈액 중 10.6 ng/mL 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 LC-MS/MS 크로마토그램.

[0019] 도 2: 마우스 폐 균질액 중 10.6 ng/mL 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 대표적인 크로마토그램.

[0020] 도 3: 마우스 혈액 중 라파마이신에 대한 보정 곡선.

[0021] 도 4: 마우스 폐 균질액 중 라파마이신에 대한 보정 곡선.

[0022] 도 5: OPA에 의해 라파마이신을 투여받은 마우스 2-07로부터의 혈액 중 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 대표적인 크로마토그램.

[0023] 도 6: OPA에 의해 라파마이신을 투여받은 마우스 2-07로부터의 폐 균질액 중 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 대표적인 크로마토그램.

[0024] 도 7: 라파마이신은 TSC2 돌연변이체 세포 (하단)의 생존가능성을 억제시키고, S6 인산화 (상단)를 억제시킨다.

[0025] 도 8a 및 b: (a) OPA 및 라파마이신의 경구 투여 후, 및 (b) 흡입에 의한 투여 후의 마우스 폐에서의 S6 인산화.

[0026] 도 9: 1일 1회 반복된 폐 투여에 대한 라파마이신의 혈중 농도 예측치.

발명의 내용

[0027] **본 발명의 요약**

[0028] 본 발명은 부분적으로는 라파마이신 연관 독성은 최소화시키면서, 표적 조직에서 강력한 생물학적 활성을 발휘하는 데 효과적인 양으로 라파마이신 조성물을 표적 조직에 전달할 수 있는, 안전하고, 효과적인, 라파마이신 조성물의 에어로졸 제제 개발을 기반으로 한다. 추가로, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같이 제제화된 라파마이신 조성물의 놀라운 약동학적 성질의 발견을 이용한다. 하기에서 더욱 상세하게 논의되는 바와 같이, 폐로 직접 전달된 라파마이신 조성물은 폐 조직에서 현저하게 더 높은 농도의 약물을 생성하였다. 폐 조직 내의 약물의 양은 예상외로 이전 경구 및 정맥내 연구로부터 예측가능했던 것보다 더 높았다. 또한, 놀랍게도, 폐에 직접 전달된 라파마이신의 양이 비교적 높은 양임에도 불구하고 폐 조직에 독성을 일으키지 않았다. 또한, 본

원에 기술된 방법에 의해 달성된 폐 조직 중 약물의 양은 세포 성장 및 생존가능성 억제 뿐만 아니라, 표적 조직에서의 S6 인산화 억제를 비롯한, 강력한 생물학적 활성을 발휘하는 데 효과적인 것으로 입증되고 있다. 이러한 생물학적 활성은 청구된 방법에 따른 라파마이신 조성물의 전달된 용량이 표적 조직에서 mTOR 신호전달을 억제시키는데 충분하다는 것을 시사한다. 따라서, 이러한 결과는 본원에 기술된 에어로졸 제제는 높은 효능과 함께 조합하여 약물에 대하여 매우 낮은 전신 노출을 제공하면서, 낮지만, 치료학상 효과적인 용량으로 라파마이신을 전달할 수 있다는 것을 입증한다. 본 결과는 본 발명에 따라 투여되었을 때의 라파마이신에 대한 뚜렷이 개선된 치료 지수이다.

[0029] 본 발명은 폐로 직접 전달하기 위한 라파마이신 조성물의 제약 에어로졸 제제를 제공한다. 이와 관련하여, "에어로졸 제제"라는 용어는 하기에서 더욱 상세하게 기술되는 바와 같은, 수성 조성물, 건식 분말 조성물, 또는 추진제 기반 조성물을 지칭할 수 있다. 본 발명의 에어로졸 제제는 상이한 방식으로, 예를 들어, 비강으로 또는 경구로, 예컨대, 흡입에 의해 대상체에게 전달될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "라파마이신 조성물"이라는 용어는 라파마이신 그 자체, 바람직하게는, 시롤리무스, 또는 그의 프로드럭, 또는 유도체로서 기술된 무정질 형태의 것을 지칭할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 라파마이신 조성물은 조직에 낮은 독성을 가하거나, 전혀 독성을 가하지 않으면서, 표적 조직에서의 mTOR 신호전달을 억제시키는데 효과적인 양으로 라파마이신을 제공하고, 약 1 ng/ml 미만인 수반 혈액 수준의 라파마이신을 제공한다.

[0030] 한 실시양태에서, 본 발명의 라파마이신 조성물은 더 높은 치료 지수로 입증되는 바와 같이, 특히 그의 만성 또는 장기간 사용과 관련하여, 라파마이신의 다른 투여 형태, 예를 들어, 경구 또는 정맥내 투여 형태와 비교하였을 때, 개선된 안전성 프로파일을 제공한다.

[0031] 한 실시양태에서, 본 발명은 약 0.25 내지 0.75 ng/ml인 최대 혈액 수준의 라파마이신 조성물, 및 약 0.075 내지 0.25 ng/ml의 혈액 중 최저 수준 (trough level)의 라파마이신 조성물을 달성하는데 효과적인 양으로 라파마이신 조성물을 포함하는 제약 에어로졸 제제를 연령 관련 질환 또는 장애의 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 1일 1회 투여함으로써 연령 관련 질환 또는 장애의 치료 및 예방을 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 최대 혈액 수준은 약 0.5 ng/ml이고, 혈액 중 최저 수준은 약 0.1 ng/ml이고, 1일 1회 전달되는 제제 중 라파마이신 조성물의 양은 약 25 내지 100 μg, 또는 약 50 μg이다.

[0032] 본 발명의 에어로졸 제제는 라파마이신 조성물 단독으로, 또는 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 같은 투여 형태로 제제화될 수 있다. 추가로, 본 발명의 에어로졸 제제는 단독으로, 또는 하나 이상의 추가 요법과 함께 조합하여 투여될 수 있으며, 여기서, 각각은 같은 경로 또는 예컨대, 경구적으로, 정맥내로 등과 같은 다른 경로에 의해 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제는 연령 관련 질환 또는 장애 치료를 위해 하나 이상의 추가의 치료 요법과 함께 조합될 수 있다.

[0033] 한 실시양태에서, 본 발명은 표적 조직에서 치료학적 수준의 조성물을 달성하는데 효과적인 양으로 라파마이신 조성물을 포함하는 제약 에어로졸 제제를 제공한다. 한 실시양태에서, 조직은 폐, 심장, 신장, 뇌, 간, 및 눈으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 치료학적 수준은 전달 후 12 또는 24시간에, 바람직하게는, 전달 후 24시간에 측정된다. 한 실시양태에서, 치료학적 수준은 전달 후 24시간 이상 동안 지속된다.

[0034] 한 실시양태에서, 표적 조직은 폐이다. 한 실시양태에서, 전달 후 24시간에 조성물의 혈액 농도에 대한 폐 농도의 비는 100 이상, 250 이상, 또는 500 이상이다. 한 실시양태에서, 전달 후 24시간에 조성물의 혈액 농도에 대한 폐 농도의 비는 약 100 내지 250, 250 내지 500, 500 내지 750, 또는 750 내지 1000이다. 한 실시양태에서, 전달 후 24시간에 조성물의 혈액 농도에 대한 폐 농도의 비는 5 이상, 10 이상, 20 이상, 30 이상, 50 이상, 60 이상, 70 이상, 80 이상, 또는 100 이상이다.

[0035] 한 실시양태에서, 에어로졸 제제 중 라파마이신 조성물의 양은 5 내지 500 μg, 10 내지 250 μg, 15 내지 150 μg, 또는 20 내지 100 μg이다. 한 실시양태에서, 에어로졸 제제 중 라파마이신 조성물의 양은 20, 40, 50, 100, 125, 또는 250 μg이다.

[0036] 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 시롤리무스이다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 에베롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스, 우미롤리무스, 및 조타롤리무스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0037] 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 시롤리무스이고, 30:1 초과 또는 35:1 초과인 이성질체 B:C 비를 가진다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 3.5% 내지 10%인 이성질체 B:C 비를 가진다.

[0038] 한 실시양태에서, 연령 관련 질환 또는 장애는 암, 전립선 비대, 심혈관 질환, 뇌졸중, 아테롬성 동맥 경화증, 고혈압, 골다공증, 인슐린 저항 및 II형 당뇨병, 알츠하이머병, 파킨슨병, 연령 관련 황반 변성, 만성 심부전,

간부전, 만성 신장 질환, 신부전, 및 만성 폐 질환으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 연령 관련 질환은 암이다.

[0039] 한 실시양태에서, 본 방법은 폐, 심장, 신장, 뇌, 간, 및 눈으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기관의 노화를 예방하는 데 효과적인 항노화 요법이다. 한 실시양태에서, 대상체는 노인 대상체이고, 본 방법은 일정 기간에 걸쳐 본 조성물을 투여하는 것을 포함하고, 본 방법의 효능은 상기 일정 기간의 조성물 투여 후 악력 또는 보행 능력 개선으로서 측정된다. 한 실시양태에서, 조성물은 1 내지 3주, 1개월 미만, 1 내지 2개월, 2 내지 3개월, 또는 3 내지 4개월로부터 선택되는 일정 기간 동안 1일 1회 또는 2회 투여된다.

[0040] 한 실시양태에서, 조성물을 대상체에게 투여하는 단계는 평균 직경이 0.1 내지 10 ㎛ 범위인 라파마이신을 포함하는 입자를 생성한다. 한 실시양태에서, 조성물을 대상체에게 투여하는 단계는 평균 평균 직경이 0.5 내지 6 ㎛ 범위인 라파마이신을 포함하는 입자를 생성한다.

[0041] 한 실시양태에서, 본 방법은 하나 이상의 추가의 요법 또는 치료 요법을 추가로 포함한다.

[0042] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제는 1일 1회 투여용으로 적합화되고, 본원에 기술된 방법에 따라, 에어로졸 제제는 1일 1회 투여된다.

[0043] 한 실시양태에서, 에어로졸 제제는 흡입에 의해 전달하는 데 적합한 건식 분말 조성물이다. 한 실시양태에서, 건식 분말은 미세 입자 형태의 라파마이신 조성물 (즉, 미세 미립자 라파마이신), 담체 입자, 및 하나 이상의 임의적 부형제를 포함한다. 한 실시양태에서, 미세 입자는 평균 직경이 약 0.1 내지 10 ㎛ 또는 약 1 내지 5 ㎛인 약물의 입자로 이루어진다. 한 실시양태에서, 입자의 평균 직경은 약 1.5 내지 4 ㎛, 약 1.5 내지 3.5 ㎛, 또는 약 2 내지 3 ㎛이다. 담체는 아라비노스, 글루코스, 프럭토스, 리보스, 만노스, 수크로스, 트레할로스, 락토스, 말토스, 전분, 덱스트란, 만니톨, 리신, 류신, 이소류신, 디팔미틸포스파티딜콜린, 레시틴, 폴리락트산, 폴리(락트산-코-글루탐산), 및 크실리톨, 및 상기 중 임의의 것의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 한 실시양태에서, 담체는 2종의 상이한 담체의 블렌드를 포함하거나, 또는 그로 이루어진다. 담체의 입자 직경은 내지 200 ㎛, 30 내지 100 ㎛, 또는 10 ㎛ 미만 범위일 수 있다. 담체가 2종의 상이한 담체의 블렌드로 이루어진 경우, 각각의 담체는 평균 입자 직경으로서 측정된, 상이한 크기 범위의 입자로 이루어진다. 한 실시양태에서, 담체는 제1 담체 및 제2 담체인 2종의 상이한 담체의 블렌드로 이루어진다. 제1 담체는 직경이 약 30-100 ㎛ 범위인 입자로 이루어지고, 제2 담체는 직경이 10 ㎛ 미만인 입자로 이루어진다. 2종의 상이한 담체의 비는 3:97 내지 97:3 범위이다. 한 실시양태에서, 2종의 상이한 담체의 비는 97:3 또는 95-98:2-5 범위이다. 한 실시양태에서, 담체는 2종의 상이한 락토스 담체의 블렌드로 이루어진다. 분말 중 담체에 대한 약물의 비는 0.5% (w/w) 내지 2% (w/w)일 수 있다. 한 실시양태에서, 분말 중 담체에 대한 약물의 비는 1% (w/w)이다.

[0044] 에어로졸 제제 중 라파마이신 조성물의 양은 조성물의 총 중량에 기초하여 약 0.1% (w/w) 내지 20% (w/w)이다. 한 실시양태에서, 양은 약 0.25% (w/w) 내지 2% (w/w)이다.

[0045] 한 실시양태에서, 하나 이상의 임의적 부형제가 조성물 중에 존재하고, 이는 인지질 및 지방산의 금속 염, 및 상기의 혼합물로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 인지질은 디팔미틸포스파티딜콜린 및 레시틴으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 지방산의 금속 염은 스테아르산 마그네슘이다. 한 실시양태에서, 부형제 또는 부형제들은 0.01 내지 0.5% 범위의 큰 담체 입자에 대한 부형제의 중량비로 담체 입자 상에 코팅된다.

[0046] 한 실시양태에서, 에어로졸 제제 중 라파마이신 조성물의 양은 mTORC1의 생물학적 활성을 억제시키는데 효과적인 양이다. 한 실시양태에서, 양은 S6K 단백질의 인산화를 억제시키는데 효과적인 양이다.

[0047] 한 실시양태에서, 에어로졸 제제 중 라파마이신 조성물의 양은 폐에 전달되는 5 내지 500 ㎍의 흡입가능한 용량을 달성하는데 효과적인 양이다. 한 실시양태에서, 흡입가능한 용량은 약 5, 약 20, 약 50, 약 100 또는 약 250 ㎍이다. 한 실시양태에서, 흡입가능한 용량은 약 20 ㎍, 약 50 ㎍, 또는 약 100 ㎍이다. 한 실시양태에서, 양은 폐 조직 중 라파마이신 조성물의 농도가 1 ng/g 내지 1 ㎍/g이 되도록 하는 데 효과적인 양이다. 한 실시양태에서, 폐 조직 중 라파마이신 조성물의 농도는 약 5 내지 30 ng/g이다. 한 실시양태에서, 폐 조직 중 농도는 약 5 ng/g, 약 10 ng/g, 약 15 ng/g, 약 20 ng/g, 약 25 ng/g, 약 30 ng/g, 약 50 ng/g, 약 60 ng/g, 약 100 ng/g, 또는 약 200 ng/g이다. 상기 실시양태에 따라, 라파마이신 조성물의 수반 혈액 중 최저 수준은 5 ng/ml 미만, 2 ng/ml 미만, 1 ng/ml 미만, 0.5 ng/ml 미만, 또는 0.25 ng/ml 미만이다. 한 실시양태에서, 혈액 중 최저 수준은 1 ng/ml 미만, 0.5 ng/ml 미만 또는 0.25 ng/ml 미만이다.

[0048] 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 바람직하게는 인간 대상체에게로의 투여 후, 약 6 내지 10시간, 약 6 내

지 14시간, 약 6 내지 24시간, 및 약 6 내지 72시간으로부터 선택되는 기간 동안 약 1 ng/g, 약 5 ng/g, 약 10 ng/g, 약 15 ng/g, 약 20 ng/g, 약 25 ng/g, 약 50 ng/g, 또는 약 100 ng/g의 치료학적 수준으로 폐에서 지속된다. 한 실시양태에서, 기간은 약 12시간, 약 14시간, 약 24시간, 및 약 72시간으로부터 선택된다.

[0049] 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 약 12 또는 24시간인 기간 동안 약 5 내지 100 ng/g 또는 약 5 내지 30 ng/g의 치료학적 수준으로 폐에서 지속된다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 약 5 ng/g, 약 10 ng/g, 약 20 ng/g, 약 30 ng/g, 약 50 ng/g, 약 60 ng/g, 약 70 ng/g, 약 80 ng/g, 또는 약 90 ng/g의 치료학적 수준으로 폐에서 지속된다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 5 ng/g 이상, 20 ng/g 이상, 또는 30 ng/g 이상의 치료학적 수준으로 폐에서 지속된다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 약 20 ng/g 내지 약 30 ng/g 또는 약 50 ng/g 내지 약 80 ng/g의 치료학적 수준으로 폐에서 지속된다.

[0050] 한 실시양태에서, 1 내지 12개월 또는 1 내지 36개월의 보관 후, 제제의 미립자 분율 (FPF)은 20% 초과이고, 상응하는 미립자 용량 (FPD)은 5 ㎍ 내지 2 mg 범위, 바람직하게는, 0.5 mg 미만 범위이다. 한 실시양태에서, 전달 용량 (DD) 또는 또는 방출 용량 (ED)으로도 또한 지칭되는 폐로 전달되는 용량인 흡입가능한 용량은 10 ㎍ 내지 2.5 mg 범위, 바람직하게는, 0.5 mg 미만이다. 한 실시양태에서, 전달 용량은 약 20 내지 100 ㎍, 약 10 내지 25 ㎍ 또는 약 30 내지 60 ㎍이다. 한 실시양태에서, 전달 용량은 20 또는 50 ㎍이다. 한 실시양태에서, 전달 용량은 100 ㎍이다.

[0051] 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물의 흡입가능한 용량은 약 20 ㎍이고, 폐 조직 중의 약물의 농도는 약 5 내지 25 ng/g이고, 혈중 Cmax는 1.0 ng/ml 미만, 또는 약 0.50 ng/ml 내지 1.0 ng/ml, 또는 약 0.50 ng/ml 내지 0.90 ng/ml이고, 투약 후 24 hr의 약물의 혈액 중 최저 수준는 약 0.20 ng/ml 미만이고, 투약 후 14일에 혈중 약물의 정상 상태 농도는 약 0.90 ng/ml 미만, 또는 약 0.80 ng/ml 미만이다.

[0052] 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물의 흡입가능한 용량은 약 50 ㎍이고, 폐 조직 중의 약물의 농도는 약 2 내지 15 ng/g이고, 혈중 Cmax는 2.0 ng/ml 미만, 또는 약 0.25 ng/ml 내지 0.1 ng/ml, 또는 약 0.10 ng/ml 내지 0.5 ng/ml이고, 단일 투약 후인, 투약 후 24 hr의, 약물의 혈액 중 최저 수준는 약 0.10 ng/ml 미만이고, 5일 동안 1일 1회의 반복 후 혈중 약물의 최저 농도는 약 1.0 ng/ml 미만, 또는 약 0.50 ng/ml 미만이다. 한 실시양태에서, 제제는 1일 1회 투여용으로 적합화된다.

[0053] 한 실시양태에서, 제제는 하나 이상의 추가의 치료제를 추가로 포함한다.

[0054] 본 발명은 또한 연령 관련 질환 및 장애 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 연령 관련 질환 및 장애의 치료 및 예방을 위한 본 발명의 조성물의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 연령 관련 질환 및 장애 치료 및 예방을 필요로 하는 대상체에게 본원에 기술된 조성물 또는 단위 투여 형태를 흡입을 통해 투여하는 단계를 포함하는, 연령 관련 질환 및 장애 치료 및 예방을 필요로 하는 대상체에서 연령 관련 질환 및 장애를 치료 및 예방하는 방법을 제공한다.

[0055] 본 발명은 또한 라파마이신 조성물의 양은 약 5 내지 2500 ㎍, 20 내지 500 ㎍, 또는 50 내지 250 ㎍인, 본원에 기술된 라파마이신 조성물을 포함하는 에어로졸 제제를 포함하는 단위 투여 형태를 제공한다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물의 양은 약 50 내지 125 ㎍이다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물의 양은 약 40, 약 50, 약 100, 약 125, 또는 약 250 ㎍이다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물의 양은 약 250 ㎍이다.

[0056] 한 실시양태에서, 단위 투여 형태는 건식 분말 흡입기 장치에 사용하기 적합한 캡슐이다. 한 실시양태에서, 캡슐은 1 mg 내지 100 mg의 분말 (라파마이신 조성물, 담체, 및 임의의 임의적 부형제를 포함하는 총량) 또는 10 mg 내지 40 mg의 분말을 함유한다. 캡슐은 젤라틴, 플라스틱, 또는 셀룰로스 캡슐이거나, DPI 장치에서 사용하기에 적합한 호일/호일 또는 호일/플라스틱 블리스터 형태일 수 있다.

[0057] 본 발명은 또한 본원에 기술된 조성물 또는 단위 투여 형태, 및 사용 설명서를 포함하는 제약 패키지 또는 키트를 제공한다.

[0058] 한 실시양태에서, 제제는 약물의 수성 현탁액을 제조하는 단계, 약물 현탁액을 미세유동화시키는 단계, 및 생성된 입자를 분무 건조시켜 건식 분말을 형성하는 단계를 포함하는, 습식 연마 공정에 의해 제조된다.

[0059] 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 시롤리무스이고, 담체는 2종의 상이한 락토스 담체의 블렌드로 이루어지고, 제1 담체는 평균 직경이 약 30-100 ㎛ 범위인 입자로 이루어지고, 제2 담체는 평균 직경이 10 ㎛ 미만인 입자로 이루어지고, 2종의 상이한 담체의 비는 약 97:3 내지 3:97이고, 라파마이신의 양은 25 내지 1,400 ㎍이다.

[0060] 본 발명은 또한 본원에 기술된 조성물 또는 단위 투여 형태를 함유하는 저장소를 포함하는 건식 분말 전달 장치를 제공한다. 저장소는 장치 내에 내장된 챔버, 캡슐, 또는 블리스터일 수 있다. 한 실시양태에서, 장치는 플라스티아페(Plastiape)® RS01 모델 7, 플라스티아페® RS00 모델 8, X캡스(XCaps)®, 핸디헤일러(Handihaler)®, 플로우캡스(Flowcaps)®, 트윈캡스(TwinCaps)®, 및 에어롤라이저(Aerolizer)®로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 장치는 플라스티아페® RS01 모델 7 또는 플라스티아페® RS00 모델 8로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 장치는 플라스티아페® RS00 모델 8이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0061] 본 발명은 연령 관련 질환 및 장애 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 연령 관련 질환 및 장애를 치료 및 예방하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 방법은 적합한 담체 중 라파마이신, 및 임의적으로 하나 이상의 첨가제를 포함하는 조성물을 흡입을 통해 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. "라파마이신"이라는 용어는 본 개시내용 전역에 걸쳐 일반적으로 사용되는 바, 라파마이신 자체 (이는 또한 시롤리무스로도 지칭된다) 뿐만 아니라, 그의 프로드럭 (예컨대, 템시롤리무스) 및 유도체를 지칭한다. 라파마이신의 유도체로는 라파마이신과 구조상 유사하고, 동일한 화학 부류에 있으며, 라파마이신 유사체이거나, 또는 라파마이신 또는 그의 유도체의 제약상 허용되는 염인 화합물을 포함한다. 라파마이신, 그의 프로드럭 및 유도체에 관한 추가 설명 및 예는 다음 섹션에서 제공된다.

[0062] 본원에 기술된 조성물은 "에어로졸 제제"로서 지칭되고, 상기 기술된 바와 같이 라파마이신 그 자체, 바람직하게는, 시롤리무스로서 기술되는 무정질 형태의 것, 또는 그의 프로드럭 또는 유도체를 지칭하는, 라파마이신 조성물을 함유하는 흡입가능한 입자 또는 소적을 제조하는 데 적합한 에어로졸화 가능한 조성물을 기술하고자 하는 것이다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 시롤리무스, 에베롤리무스, 및 템시롤리무스로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물은 시롤리무스이다. 본원에 기술된 에어로졸 제제는 라파마이신 조성물, 담체, 및 임의적으로 하나 이상의 첨가제를 포함할 수 있다. 에어로졸 제제는 하기 "흡입용 조성물"이라는 표제하의 섹션에서 상세하게 기술되는 바와 같이, 수용액, 건식 분말, 또는 하나 이상의 제약상 허용되는 추진제 및 담체의 혼합물 형태일 수 있다.

[0063] 본 발명은 또한 연령 관련 질환 및 장애 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 본 발명의 에어로졸 제제를 폐 투여하는 단계를 포함하는, 연령 관련 질환 및 장애 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 연령 관련 질환 및 장애를 치료 및 예방하기 위한 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물의 투여 용량은 대상체에서 낮은 혈액 수준, 또는 혈액 중 최저 수준을 유지하면서, 폐 조직에서 치료학적 수준의 라파마이신을 달성하는데에는 충분하다. 예를 들어, 라파마이신 조성물의 치료학적 수준은 약 1 ng/g, 약 5 ng/g, 약 10 ng/g, 약 15 ng/g, 약 20 ng/g, 약 25 ng/g, 약 50 ng/g이고, 혈액 중 최저 수준은 0.01 내지 0.15 ng/ml, 0.075 내지 0.350 ng/ml, 0.150 내지 0.750 ng/ml, 0.750 내지 1.5 ng/ml, 또는 1.5 내지 5 ng/ml이다. 한 실시양태에서, 투여 용량은 약 5 ng/g 내지 50 ng/g, 또는 약 5 ng/g 내지 20 ng/g의, 폐 중 약물의 치료학적 수준, 및 5 ng/ml 미만, 2 ng/ml 미만, 1 ng/ml 미만, 또는 0.5 ng/ml 미만의 약물의 혈액 중 최저 수준을 달성하는데 충분하다. 한 실시양태에서, 전달 후 24시간에 라파마이신 조성물의 혈액 농도에 대한 폐 농도의 비는 100 이상, 250 이상, 또는 500 이상이다. 한 실시양태에서, 전달 후 24시간에 라파마이신 조성물의 혈액 농도에 대한 폐 농도의 비는 약 100 내지 250, 250 내지 500, 500 내지 750, 또는 750 내지 1,000이다.

[0064] 바람직하게, 상기 언급된 치료학적 수준은 본원에 기술된 에어로졸 제제를 1일 1회 투여함으로써 달성된다. 한 실시양태에서, 라파마이신 조성물의 총 1일 용량은 5 내지 100 ㎍, 20 내지 250 ㎍, 50 내지 500 ㎍ (0.05 내지 0.5 mg), 250 내지 1,000 ㎍ (0.25 내지 1 mg) 또는 500 내지 2,000 ㎍ (0.5 내지 2 mg) 범위이다. 한 실시양태에서, 총 1일 용량은 500 ㎍ 미만, 100 ㎍ 미만, 50 ㎍ 미만, 20 ㎍ 미만, 또는 10 ㎍ 미만이다. 한 실시양태에서, 총 1일 용량은 500 ㎍ 미만, 250 ㎍ 미만, 100 ㎍ 미만, 50 미만, 또는 10 ㎍ 미만이다. 한 실시양태에서, 대상체에게 투여되는 총 1일 용량은 1일당 0.5 mg 미만 또는 0.25 mg 미만이다. 조합 요법을 비롯한, 폐 전달 및 투약에 관한 추가 측면은 하기 "폐 투여 및 투약"이라는 표제하의 섹션에서 기술된다.

[0065] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 다른 항-작용제 및 항산화제로부터 선택되는 하나 이상의 추가의 작용제와 함께 조합하여 폐 경로를 통해 라파마이신을 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 하나 이상의 추가의 작용제는 비타민 C, 비타민 E, 베타 카로틴 및 다른 카로티노이드, 셀레늄, 리포산, 리코펜, 루테인, 제아크산틴, 코엔자임 Q10, 글루타티온, N-아세틸 시스테인, 멜라토닌, 제니스테인, 에스트라디올, 차 추출물, 및 포도씨 추출물, AICAR, EGCG, 자몽 추출물, 빌베리 추출물, 셀레나이트, 제니스테인, 디알릴 트리술피드, 벤질 이소티오시아네이트, 페닐 이소티오시아네이트, 페네틸 이소티오시아네이트, 레스베라트롤, 리코펜, 및 알릴 이소티

오시아네이트로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나 이상의 추가의 작용제는 라파마이신과 동일 또는 상이한 투여 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 작용제는 흡입에 의해, 비내로, 경구적으로 또는 정맥내로 투여될 수 있다.

[0066] 본 발명의 방법 및 조성물은 대상체, 바람직하게는, 인간 대상체에서 항노화 요법으로서, 및 연령 관련 질환 및 장애의 치료 및 예방에 효과적이다. 본원에서 사용되는 바, 본 발명의 조성물의 유효량이란, 질환 또는 장애, 또는 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상의 진행, 중증도 및/또는 지속 기간을 감소 또는 호전시키거나, 질환 또는 장애의 진행을 예방하거나, 질환 또는 장애를 퇴행시키거나, 질환 또는 장애와 연관된 하나 이상의 증상의 발생 또는 발병을 예방하거나, 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상의 중증도 또는 발병과 관련하여, 또는 질환 또는 장애의 발생 또는 진행과 관련하여 또 다른 요법 (예컨대, 예방제 또는 치료제)의 예방적 또는 치료학적 효과(들)를 증진 또는 개선시키는 데 충분한 양을 의미한다. 따라서, 본 발명의 방법과 관련하여, "치료하다," "치료" 및 "치료하는"이라는 용어는 질환 또는 장애, 또는 질환 또는 장애와 연관된 하나 이상의 증상의 중증도, 지속 기간 또는 진행 감소를 의미한다.

[0067] 특정 실시양태에서, 본 방법은 주요 요법으로서 본 발명의 조성물을 폐 투여하는 것을 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 조성물의 투여는 애주번트 요법이다. 어느 경우에서든, 본 발명의 방법은 질환 또는 장애 치료를 위해 하나 이상의 추가의 요법과 함께 조합하여 본 발명의 조성물을 투여하는 것으로 고려한다. "요법" 및 "요법들"이라는 용어는 질환 또는 장애, 또는 그의 하나 이상의 증상의 예방, 치료, 관리 또는 호전에서 사용될 수 있는 임의의 방법, 프로토콜 및/또는 작용제를 의미한다.

[0068] 하나 이상의 추가의 요법은 본 발명의 조성물의 투여 이전 (예컨대, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 전), 그와 공동으로, 또는 그 이후 (예컨대, 5분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 8주, 또는 12주 후)에 투여될 수 있다.

[0069] 일부 실시양태에서, 추가의 치료제는 폐 투여를 위한 투여 형태로 본 발명의 조성물과의 공동 투여용으로 제제화된다. 다른 실시양태에서, 추가의 치료제는 라파마이신을 함유하는 투여 형태와 별개로, 및 라파마이신과 동일 또는 상이한 투여 경로에 의해 투여된다. 본 발명의 방법은 또한 라파마이신을 포함하는 투여 형태의 투여와 공동으로, 그 이전에 또는 그 이후에 투여되는 용도의 하나 이상의 추가의 치료제의 조합물을 고려한다.

[0070] 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 질환 또는 장애를 앓는 대상체에서 질환 또는 장애를 관리하는 데 효과적이다. 이와 관련하여, "관리하다," "관리하는" 및 "관리"라는 용어는 치유를 초래하지 않는 요법으로부터 대상체가 얻게 되는 유익한 효과를 의미한다. 한 실시양태에서, 질환 또는 장애는 그의 진행이 본 발명의 방법에 따라 라파마이신으로 치료하는 동안에 저속화되거나, 또는 중단된다면, 대상체에서 관리되는 것이다. 또 다른 실시양태에서, 질환 또는 장애는 질환 또는 장애와 연관된 하나 이상의 증상이 호전 또는 안정화된다면 (즉, 증상이 치료 과정 동안에 악화되지 않는다면), 대상체에서 관리되는 것이다.

[0071] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 질환 또는 장애에 관한 현재 이용가능한 요법에 대하여 "무반응성" 또는 "불응성"인 대상체에 관한 것이다. 이와 관련하여, "무반응성" 및 "불응성"이라는 용어는 질환 또는 장애와 연관된 하나 이상의 증상을 경감시키는 데 임상적으로 적당하지 않은 것과 같은, 요법에 대한 대상체의 반응을 의미한다. "대상체" 및 "환자"라는 용어는 본 발명의 개시내용에서 상호교환적으로 사용된다. 상기 용어는 동물, 바람직하게, 비영장류 (예컨대, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 및 마우스) 및 영장류 (예컨대, 침팬지, 원숭이, 예컨대, 시노몰구스 원숭이 및 인간)를 비롯한 포유동물, 및 더욱 바람직하게, 인간을 지칭한다. 바람직한 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0072] "예방하다," "예방하는" 및 "예방"이라는 용어는 본 발명의 방법에 따라 확인된 하나 이상의 화합물의 투여 또는 질환 또는 장애용으로 공지된 요법과 상기 화합물의 조합의 투여로부터 이루어지는, 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상의 재발, 발생, 진행 또는 발병의 예방을 지칭한다.

[0073] 바람직하게, 하나 이상의 추가의 요법과 함께 조합하여 본 발명의 방법에 따라 조성물을 투여함으로써 질환 또는 장애를 앓는 대상체에서 시너지 반응을 제공할 수 있다. 이와 관련하여, "시너지"라는 용어는 조합 효능이 어느 단일 요법이든 그 단독의 상가 효과보다 더욱 효과적이라는 것을 의미한다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 조합 라파마이신 요법의 시너지 효과를 통해서 조합 중의 1종 이상의 요법은 조합 외의 그의 용량 및/또는 빈도와 비교하였을 때 더욱 낮은 투여량 및/또는 덜 빈번한 투여를 사용할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 시너지 효과는 조합 중의 어느 한 요법을 단독 사용하는 것과 연관된 유해한 또는 원치않는 부작용의 방지 또는

감소로 자명해진다.

[0074] 본 발명의 제약 조성물과 관련하여, "담체"란, 라파마이신을 전달용으로 제제화하는 데 사용되는, 예를 들어, 액체 또는 고체 물질, 예컨대, 용매, 희석제, 안정제, 애주번트, 부형제, 보조제, 추진제, 또는 비히클을 의미한다. 본 발명의 조성물에서 사용하기 위한 제약상 허용되는 담체의 예로는 제한 없이, 건식 분말 담체, 예컨대, 락토스, 만노스, 아미노산, 시클로덱스트린, 디팔미틸포스파티딜콜린, 탄화수소 및 플루오로카본 추진제, 압축 가스, 살균 액체, 물, 완충처리된 염수, 에탄올, 폴리올 (예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 오일, 세제, 현탁화제, 탄수화물 (예컨대, 글루코스, 락토스, 수크로스 또는 덱스트란), 항산화제 (예컨대, 아스코르브산 또는 글루타티온), 킬레이트화제, 저분자량 단백질, 또는 그의 적합한 혼합물을 포함한다. 바람직하게, 라파마이신의 건식 분말 에어로졸 제제와 관련하여, 담체는, 존재할 경우, 당류 및 당알콜로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 담체는, 존재할 경우, 락토스이다.

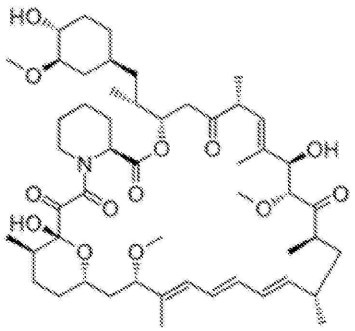
[0075] "제약상 허용되는"이라는 용어는 동물용으로 및 더욱 특히, 인간용으로, 연방 정부 또는 주 정부 규제 기관의 승인을 받았거나, 또는 미국 약전(U.S. Pharmacopeia) 또는 다른 일반적으로 인정된 약전, 예컨대, 유럽 약전(European Pharmacopeia)에 열거되어 있다는 것을 나타낸다. 수 난용성 또는 수 불용성 약물을 가용화시키는 한 방법은 약물의 염을 형성하거나, 그 자체가 가용성이 더 크거나, 또는 프로드럭의 수용성 염을 형성하는 데 사용될 수 있는 것인 프로드럭을 제조하는 것이다. 염 및 제약상 허용되는 염을 형성하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 제한 없이, 관심 약물 또는 프로드럭에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 실제로 염기성인 화합물은 다양한 무기 산 및 유기산과 매우 다양한 염을 형성할 수 있다. 상기 염기성 화합물의 제약상 허용되는 산 부가 염을 제조하는데 사용될 수 있는 산은, 무독성 산 부가 염, 즉, 약리학상 허용되는 음이온을 함유하는 염을 형성하는 것이며, 이는 황산, 시트르산, 말레산, 아세트산, 옥살산, 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 히드로아이오다이드, 니트레이트, 술페이트, 비술페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 아세테이트, 락테이트, 살리실레이트, 시트레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레에이트, 탄네이트, 판토테네이트, 비타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레에이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루카로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄술포네이트, 에탄술포네이트, 벤젠술포네이트, p-톨루엔술포네이트 및 파모에이트 (즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-히드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 실제로 산성인 화합물은 다양한 약리학상 허용되는 양이온과 염기 염을 형성할 수 있다. 상기 염의 예는 알칼리 금속 염 또는 알칼리 토금속 염, 및 특히, 칼슘, 마그네슘, 나트륨 리튬, 아연, 칼륨 및 철의 염을 포함한다.

[0076] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 라파마이신의 수용성 프로드럭 또는 유도체, 바람직하게, 템시롤리무스 또는 관련된 화합물을 이용한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 라파마이신 (시롤리무스)을 이용한다.

[0077] 라파마이신

[0078] 라파마이신은 스트렙토마이세스 히그로스코피쿠스에 의해 생산된 마크로시클릭 락톤이다. 그의 화학명 (IUPAC)은 (3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13,-14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-헥사데카히드로-9,27-디히드록시-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-히드록시-3-메톡시시클로헥실]-1-메틸에틸]-10,21-디메톡시-6,8,12,14,20,26-헥사메틸-23,27-에폭시-3H-피리도[2,1-c][1,4]옥사아자시클로헨트리아콘틴-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-펜톤이다.

[0079] 그의 분자식은 $C_{51}H_{79}NO_{13}$이고, 그의 분자량은 914.172 g/mol이다. 그의 구조는 하기에 제시되어 있다. 예컨대, 미국 특허 번호 7,384,953에 제시되어 있는 구조를 가지는 이성질체 B 및 이성질체 C와 같은 라파마이신의 이성질체가 공지되어 있다. 전형적으로, 라파마이신은 B 및 C 이성질체의 혼합물이다. 용액 중에서 라파마이신 이성질체 B 및 C는 상호 전환하며, 평형에 도달하게 된다. 하기 제시된 형태인 B 이성질체의 형태로 라파마이신의 구조를 도시하는 것은 문헌상에서는 통상적 관행이다.

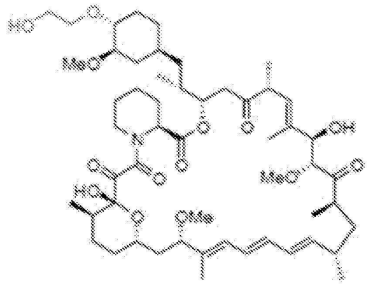


[0080]

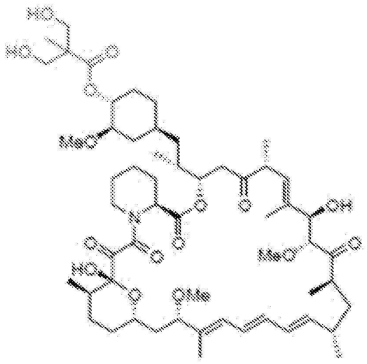
[0081] 라파마이신은 백색 내지 회백색 분말이고, 용해도가 단지 2.6 μg/ml로 매우 낮은, 수 불용성인 것으로 간주되는 것이다. 이는 벤질 알콜, 클로로포름, 아세톤, 및 아세토니트릴에 잘 녹는다. 라파마이신의 수 불용성은 그의 제제화에 특수한 기술적 문제를 제시한다. 경구 투여 형태로서의 그의 제제화와 관련하여, 이는 고체 분산제 (WO 97/03654) 및 나노크기 (400 nm 미만) 입자를 함유하는 정제 (US 5,989,591)의 형태로 경구용 액제로서 제조되었다. 그러나, 이들 절차는 활성 성분의 용해, 및 그로 인한 그의 생체이용률의 상당한 변화로 어려움을 겪는다. 제제화의 또 다른 방법은 결정질 분말을 이용한다. 당업계에서 인정된 방법에 따라, 용해도가 낮은 약물의 결정질 형태의 그의 비정질 형태로의 변환은 그의 용해도를 상당히 증가시킬 수 있다. 이는 라파마이신의 경우에도 사실이지만, 비정질 형태는 화학적으로 매우 불안정하다. 비정질 라파마이신 (시롤리무스)을 포함하는 제약 투여 형태는 WO 06/039237 및 WO 06/094507 (49.25%의 농도로 시롤리무스 및 글리세릴 모노스테아레이트를 포함하는 변형된 방출 제제)에 기술되어 있다. 라파마이신의 개선된 안정한 경구 투여 형태는 US 8,053,444에 기술되어 있다. 투여 형태는 조성물 중 지방산 에스테르 및 중합체 (예컨대, 폴리비닐피롤리돈 (PVP), 히드록시프로필셀룰로스 (HPC) 또는 히드록시프로필메틸셀룰로스 (HPMC))를 사용하여, 그의 방출 속도에 악영향을 주지 않으면서, 시롤리무스의 안정성을 증가시킨다. US 8,053,444에 따르면, 10% w/w를 초과하는 지방산 에스테르 농도는 제제로부터 시롤리무스의 방출 속도를 억제하는 바, 이에 피해야 하는데, 그 이유는 그가 위장관으로부터 불충분한 흡수를 야기할 수 있기 때문이다. 바람직한 농도는 1% 내지 5% 또는 5% 내지 9%이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 라파마이신 조성물은 중합체와 조합하여 지방산 에스테르를 함유하지 않는다. 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 라파마이신 조성물은 지방산 에스테르를 조성물의 10중량%를 초과하거나, 12중량%를 초과하는 농도로 함유한다.

[0082] 본 발명의 조성물 및 방법에서 사용하기에 적합한 라파마이신 및 그의 유도체 (유사체 포함) 및 프로드럭은 mTOR 세포 신호전달 경로의 억제제, 바람직하게는 mTOR 자체 억제제인, 라파마이신 (시롤리무스) 및 그의 프로드럭 또는 유도체를 포함한다. 한 실시양태에서, 라파마이신 유도체 또는 프로드럭은 에베롤리무스 (아피니토르; RAD001), 템시롤리무스 (CCI-779), 리다포롤리무스 (데포롤리무스로서 이전에 공지됨; AP23573), 우미롤리무스 (비올리무스(Biolimus) A9), 조타롤리무스 (ABT-578), 노볼리무스, 미올리무스, AP23841, KU-0063794, INK-128, EX2044, EX3855, EX7518, AZD08055 및 OSI027로 이루어진 군으로부터 선택되는 mTOR 억제제이다. 추가 유도체는 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들어, O-치환 유도체 (여기서, 시롤리무스의 시클로헥실 고리 상의 히드록실 기는 -OR1에 의해 대체되며, 여기서, R_1은 임의적으로 치환된 알킬, 아실아미노알킬, 또는 아미노알킬이다)를 포함한다.

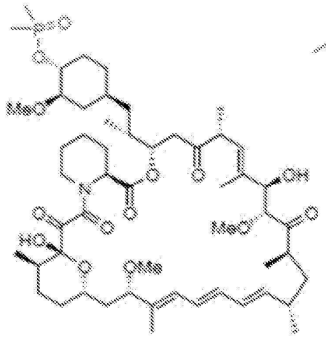
[0083] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제 및 방법에서 사용하기 위한 화합물은 유사체인 에베롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스, 우미롤리무스, 및 조타롤리무스로 이루어진 군으로부터 선택되는 라파마이신 유도체 (유사체)이다. 라파마이신 유사체 에베롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스, 우미롤리무스, 및 조타롤리무스의 화학 구조는 하기에 제시되어 있다.



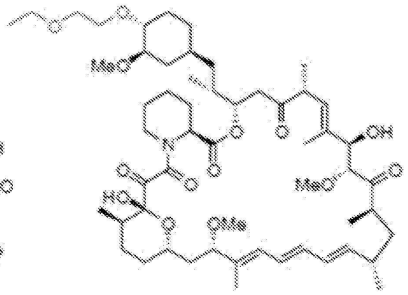
에베롤리무스 (아피니토르)



템시롤리무스 (CCI-779)

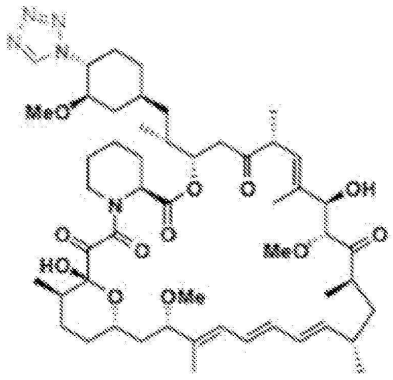


리다포롤리무스 (MK-8669)



우미롤리무스

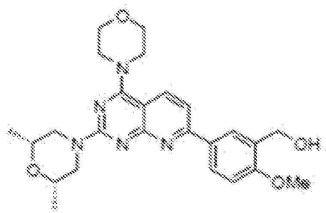
[0084]



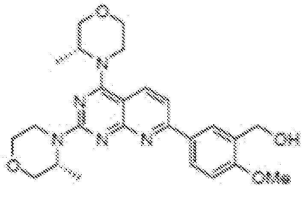
조타롤리무스 (ABT-578)

[0085]

[0086] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제 및 방법에서 사용하기 위한 화합물은 KU-0063794, AZD8055, INK128, 및 OSI-027로 이루어진 군으로부터 선택되는 mTOR 억제제이다. mTOR 억제제인 KU-0063794, AZD8055, INK128, 및 OSI-027의 화학 구조는 하기에 제시되어 있다.

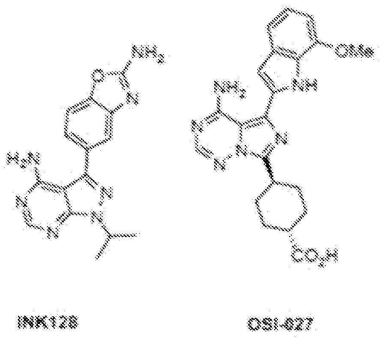


KU-0063794



AZD8055

[0087]



[0088]

[0089] 본 발명의 방법 및 조성물에서 사용하는 데 특히 바람직한 것은 시롤리무스, 템시롤리무스, 및 에베롤리무스이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제 및 방법에서 사용하기 위한 화합물은 시롤리무스, 템시롤리무스, 및 에베롤리무스로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 화합물은 시롤리무스 또는 에베롤리무스이다.

[0090] 흡입용 조성물

[0091] 본 발명은 수용액, 건식 분말, 또는 하나 이상의 제약상 허용되는 추진제 및 담체의 혼합물 형태로 라파마이신, 또는 그의 프로드럭 또는 유도체를 포함하는, 흡입에 의해 투여하기에 적합화된 제약 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 제약상 허용되는 화합물, 물질, 또는 매트릭스에 캡슐화된다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 리포솜 제제 또는 비리포솜 제제에 캡슐화된다.

[0092] 본 발명의 조성물은 에어로졸을 흡입에 의해 인간 대상체에서 폐 약물 전달하기에 적합한 라파마이신의 에어로졸화 가능한 제제이다. 이와 관련하여 사용되는 "에어로졸"이라는 용어는 분산상이 고체 또는 액체 입자로 이루어지고, 분산 매질이 기체인 콜로이드계를 의미한다. 한 실시양태에서, 기체는 공기이고, 제제는 분무기를 통해 투여하기에 적합한 액제 제제 또는 건식 분말 흡입기 장치를 통해 투여하기에 적합한 건식 분말 제제이다. 일반적으로, 흡입가능한 입자 또는 소적의 평균 직경은 0.10 내지 10 ㎛ 범위가 될 것이다. 입자 또는 소적의 크기는 폐 자체 (즉, 폐가 표적 조직인 경우)에 또는 전신에 (폐가 전신 투여에 대한 대안적 경로로서 이용되는 경우) 표적 전달을 최대화하도록 선택된다. 크기는 바람직하게는, 폐 자체가 치료 표적인 경우는 약 0.5 내지 5 ㎛의 범위일 것이거나, 폐를 통한 전신 전달하는 경우는 3 ㎛ 미만일 것이다. 크기는 당업계에 공지된, 예를 들어, 미국 약전 905장 및 601장 (U.S. Pharmacopeia at Chapters 905 and 601)에 기술된 방법에 따라 측정된다. 예를 들어, 이는 질량 중앙 공기역학적 직경(Mass Median Aerodynamic Diameter: MMAD)으로서 측정된다. 한 실시양태에서, 본원에 기술된 조성물을 포함하는 입자의 평균(average 또는 mean) 직경은 MMAD로서 측정된다.

[0093] 한 실시양태에서, 에어로졸의 분산상은 액체 입자 또는 소적으로 이루어진다. 이와 관련하여, "액체 입자" 및 "소적"이라는 용어는 상호교환적으로 사용된다. 상기 실시양태에서, 본 발명의 제제는 액제 제제이다. 한 실시양태에서, 에어로졸의 분산상은 고체 입자로 이루어진다. 상기 실시양태에서, 본 발명의 제제는 건식 분말 제제이다. 상기 크기의 미분화 입자는 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 기계식 분쇄 (밀링), 아임계 또는 초임계 용액으로부터의 침전, 분무 건조, 냉동 건조, 또는 동결건조에 의해 제조될 수 있다.

[0094] 일반적으로, 흡입 입자는 2가지 기전: 일반적으로 더 큰 입자의 경우에 지배적으로 일어나는 고착, 및 더 작은 입자에 대해 일반적인 침강 중 하나에 의해 침착된다. 고착은 흡입 입자의 운동량 입자가 기류를 따르지 않고, 생리적 표면에 마주칠 정도로 충분히 큰 경우에 발생한다. 반면에, 침강은 주로, 흡입 기류와 함께 이동한 매우 작은 입자가 기류 내에 무작위 확산의 결과로서 생리적 표면과 마주치는 경우에 주로 폐 심부에서 발생한다. 본 발명의 에어로졸 제제는 바람직하게는 원하는 치료학적 효능을 달성하기 위해, 고착 (상부 기도에서)에 의해 또는 침강 (폐포에서)에 의해 그의 침착을 최대화하도록 적합화된다.

[0095] 전달 장치, 예컨대, 분무기, pMDI 또는 DPI 장치로부터 환자에게 전달되는 약물의 양은 전달 용량으로 지칭된다. 이는 모의 흡입 조작에서 전달 장치로부터 방출된 약물의 양을 측정함으로써 시험관내에서 추정될 수 있다. 이는 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 미국 및 유럽 약전, 예컨대, USP의 601장 및 905장에서 기재된 것에 따라 측정된 바와 같은 방출 용량 (ED)으로 언급된다. 따라서, "방출 용량"은 전달 용량과 등가인 것으로 간주된다.

[0096] 전달 장치로부터 환자의 폐로 전달되는 약물의 양은 흡입가능한 용량으로 언급된다. 이는 당업계에 공지된 방

법, 예를 들어, 미국 및 유럽 약전, 예컨대, USP의 601장 및 905장에 기재된 것에 따라 케스케이드 충격기(cascade impactor), 예컨대, 차세대 충격기(Next Generation Impactor: NGI)를 사용하여 측정된 바와 같은 미립자 용량 (FPD)을 측정함으로써 시험관 내에서 추정될 수 있다.

[0097] 전달 장치로부터 미세한, 흡입가능한 입자로 방출된 약물의 양은 제제의 미립자 분율 (FPF)로서 지칭된다. FPF는 잠재적으로 흡입가능한 전달 용량 중의 약물의 분율이다. 따라서, FPF는 ED (방출, 또는 전달 용량)에 대한 FPD의 비이다. 제제의 이러한 특징은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 미국 및 유럽 약전에서, 예컨대, USP의 601장 및 유럽 약전(Pharm Europa)의 모노그라프(monograph) 2.9.18에서 기재된 것에 따라 측정된다.

[0098] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸화 가능한 라파마이신 제제는 심지어 장기간 보관 후에도, 예컨대, 1 내지 12개월 또는 1 내지 36개월의 보관 후에도 FPF가 20% 초과이고, 이는 10 ㎍ 내지 2 mg, 바람직하게는, 0.5 mg 미만 범위인 FPD에 상응한다. 한 실시양태에서 환자에게 전달되는 용량, 전달 용량 (DD) 또는 방출 용량 (ED)은 25 ㎍ 내지 2.5 mg, 바람직하게는 0.5 mg 미만 범위이다.

[0099] 특정 실시양태에서, 라파마이신은 제약상 허용되는 화합물, 물질, 또는 매트릭스에 캡슐화된다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 리포솜 제제 또는 비리포솜 제제에 캡슐화된다.

[0100] 수용액 조성물

[0101] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸화 가능한 조성물은 제트, 진동 메시, 및 정적 메시 또는 오리피스 분무기를 비롯한, 분무기를 통해 폐 전달에 적합화된 라파마이신의 수용액 제제이다. 따라서, 액제 제제는 상기 기술된 바와 같이, 직경이 약 0.1 내지 10 ㎛로 흡입가능한 범위인 에어로졸 소적을 형성할 수 있도록 적합화된다. 한 실시양태에서, 조성물은 물, 에탄올, 및 저분자량 폴리올에 용해된, 라파마이신 (시롤리무스) 또는 그의 프로드럭 또는 유도체로 이루어지고, 임의적으로 계면활성제를 포함하는, 분무가능한 수용액 제제이다. 한 실시양태에서, 수용액 제제의 점도는 20 mPa-s 미만, 10 mPa-s 미만, 또는 5 mPa-s 미만이고, 표면 장력은 45 dynes/cm 이상, 바람직하게는 60 dynes/cm 초과이다. 바람직하게, 제제의 점도는 5 mPa-s 미만이고, 표면 장력은 45 dynes/cm 초과이다. 한 실시양태에서, 조성물의 점도는 20 mPa-s 미만, 점도는 10 mPa-s 미만, 또는 점도는 5 mPa-s 미만이고, 표면 장력은 45 dynes/cm 이상, 바람직하게, 60 dynes/cm 초과이다.

[0102] 한 실시양태에서, 수용액 제제는 라파마이신, 물, 에탄올, 및 글리세롤 및 프로필렌 글리콜로부터 선택되는 저분자량 폴리올로 이루어진다. 한 실시양태에서, 수용액 제제는 라파마이신, 물, 및 글리세롤 및 프로필렌 글리콜로부터 선택되는 저분자량 폴리올로 이루어지고, 에탄올은 임의적이다. 제제는 또한 임의적으로 비이온성 계면활성제, 바람직하게는 PEG 100, 또는 폴리소르베이트, 바람직하게는 폴리소르베이트 80 ("PS80"), 인지질, 바람직하게는 천연 인지질, 예컨대, 레시틴, 바람직하게는 수소첨가 대두 레시틴, 및 항산화제 또는 안정제, 바람직하게는 디소듐 EDTA를 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 비이온성 계면활성제는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) PEG 100, PEG 1000, 및 폴리소르베이트 80 (이는 트윈(Tween)™ 80, 소르비탄 모노올레에이트, 또는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 올레에이트로도 지칭된다), 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0103] 수용액 중 라파마이신의 양은 용액의 총 중량을 기준으로 약 0.001중량% 내지 0.01중량% (% wt 또는% w/w)이다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 용액 중에 약 0.01 mg/ml 내지 약 0.1 mg/ml의 농도로 존재한다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 양은 용액의 총 중량을 기준으로 0.001% w/w 내지 0.01% w/w이다.

[0104] 한 실시양태에서, 용액 중 라파마이신의 농도는 약 0.01 내지 0.1 mg/ml이고, 저분자량 폴리올의 양은 5 내지 35% w/w이고, 에탄올의 양은 5-20% w/w의 양으로 존재하고, 비이온성 계면활성제의 양은 1 내지 200 백만분율 (ppm) w/w이다. 바람직하게, 비이온성 계면활성제의 양은 100 ppm (w/w) 미만이다. 임의적 항산화제/안정제의 양은 0 내지 0.01% w/w 미만이다.

[0105] 한 실시양태에서, 본 발명의 수용액 제제는 폴리에틸렌 글리콜, 레시틴, EDTA, 블록 공중합체, 및 시클로덱스트린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 첨가제 또는 부형제를 함유하지 않는다.

[0106] 수용액 제제는 라파마이신이 완전히 용해되어 있는 단일상 수용액이다. 제제 중 주된 공용매는 에탄올, 및 글리세롤 및 프로필렌 글리콜로부터 선택되는 저분자량 폴리올이다. 라파마이신은 현탁액 또는 에멀젼으로 있지 않고, 콜로이드 용액 또는 분산액으로서 기술될 수 있는 용액도 아닐 수 있다. 본 발명의 수용액 제제는 콜로이드 구조, 예컨대, 미셀 또는 리포솜이 결여되어 있다. 인지질의 양은, 존재할 경우, 너무 적어 리포솜을 형성하지 못하거나, 라파마이신을 침전시키지 못한다. 또한, 인지질과 비이온성 계면활성제의 합해진 양은 너무 적어 표면 장력을 개질시키지 못한다. 그 결과, 인지질도 비이온성 계면활성제도 전통적 의미에서 계면활성제로서 작용하는 데 충분한 양으로 존재하지 않는다. 이와 관련하여, 계면활성제라는 용어는 계면활성제가 세제,

습윤화제, 유화제, 또는 분산제로서 작용하도록 용액의 표면 장력 또는 액체와 용액 중의 임의의 고체 약물 입자 사이의 계면 장력을 저하시키는 작용을 하는 작용제를 의미한다. 대신, 본 발명의 액제 제제 중의 비이온성 계면활성제는 최종 제품이 포장된 폴리에틸렌 용기에 대한 약물의 흡착을 차단하는 역할을 하여, 용기로의 흡착을 통한 약물 효능의 손실을 방지한다.

[0107] 따라서, 한 실시양태에서 수용액 제제는 라파마이신이 완전히 용해되어 있는 단일상 수용액이고, 용액은 미셀 또는 리포솜이 결여되어 있고, 용액은 에멀젼, 분산액, 또는 현탁액이 아니다.

[0108] 한 실시양태에서, 액제 제제는 멸균된 것이다. 한 실시양태에서, 액제 제제는 0.2 ㎛ 필터를 통해 멸균 여과된다. 한 실시양태에서, 액제 제제는 열, 예컨대, 오토클레이빙, 또는 방사선 조사에 의해 멸균되지 않는다.

[0109] 한 실시양태에서, 본 발명은 멸균 수용액 제제로 충전된 하나 이상의 용기 또는 바이알 (이들 용어는 상호교환적으로 사용된다)을 함유하는 패키지를 제공한다. 바람직하게는, 용기는 단위 용량 용기이다. 한 실시양태에서, 용기는 중합체 바이알, 바람직하게는 폴리에틸렌 바이알이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 멸균 수용액 제제로 충전된 용기 또는 바이알은, 취입 성형에 의해 바이알을 형성하는 단계, 및 그 직후, 바이알을 무균 조건하에 본 발명의 멸균 여과된 제제로 충전시킨 후, 그의 충전 직후 바이알을 열 밀봉하는 단계를 포함하는 공정에 의해 제조된다.

[0110] 한 실시양태에서, 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 하기를 포함하거나, 또는 그로 이루어지고:

[0111] 라파마이신 (또는 그의 프로드럭 또는 유도체) 약 0.001% w/w 내지 0.01% w/w,

[0112] 프로필렌 글리콜 약 5% w/w 내지 35% w/w,

[0113] 에탄올 약 5% w/w 내지 20% w/w,

[0114] 폴리소르베이트 80 약 1 내지 200 ppm w/w,

[0115] 레시틴 약 1 내지 100 ppm w/w, 및

[0116] 물,

[0117] 여기서, 물의 양은 0.01 내지 0.1 mg/ml의 라파마이신의 농도를 달성하는데 충분하다. 임의적으로, 안정성 증진제, 예컨대, 0.01% w/w 미만의 수준으로 디소듐 EDTA를 첨가할 수 있다.

[0118] 수성 및 다른 비가압식 액체 시스템의 경우, 다양한 분무기 (작은 부피의 분무기 포함)가 제제를 에어로졸화하는 데 이용가능하다. 압축기-구동식 분무기는 제트 기술을 도입하고, 압축 공기를 사용하여 액체 에어로졸을 발생시킨다. 상기 장치는 예를 들어, 헬쓰다인 테크놀로지즈, 인크.(Healthdyne Technologies, Inc.); 인바케어, 인크.(Invacare, Inc.); 마운틴 메디컬 이큅먼트, 인크.(Mountain Medical Equipment, Inc.); 파리 레스피레토리, 인크.(Pari Respiratory, Inc.); 마다 메디컬, 인크.(Mada Medical, Inc.); 푸리탄-베넷(Puritan-Bennet); 슈코, 인크.(Schuco, Inc.), 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.(DeVilbiss Health Care, Inc.); 및 호스피탁, 인크(Hospitak, Inc.)로부터 상업적으로 이용가능하다. 초음파 분무기는 압전 결정의 진동의 형태로 기계적 에너지에 의존하여 흡입가능한 액체 소적을 발생시키고, 예를 들어, 옴론 헬쓰케어, 인크.(Omron Healthcare, Inc.) 및 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.로부터 상업적으로 이용가능하다.

[0119] 한 실시양태에서, 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 에어로겐(Aerogen), 파리(Pari), 필립스(Philips), 또는 옴론(Omron)으로부터 이용가능한 진동 분무기를 통해 전달된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 진동 메시 분무기, 예를 들어, 에어로넵® 고(Aeroneb® Go) (에어로겐, 필립스 레스피로닉스(Philis Respironics)에 의해 배포), I-넵(Neb)® (필립스) 또는 E-플로우(E-Flow)® (파리), 또는 유사한 분무기와 함께 사용하기에 적합한 용기에 포장된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 오리피스 분무기, 예컨대, 베링거-잉겔하임(Boehringer-Ingelheim)으로부터의 레스피매트(Respimat)®를 통해 전달된다.

[0120] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 대상체에게 흡입에 의해 투여하기에 적합한 분무가능한 수용액의 형태의 제약 조성물로서, 여기서, 수용액은 바람직하게는 시롤리무스, 에베롤리무스, 및 템시롤리무스로부터 선택되는 라파마이신 또는 그의 프로드럭 또는 유도체, 물, 에탄올, 및 저분자량 폴리올로 이루어지는 것인, 제약 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 저분자량 폴리올은 글리세롤 또는 프로필렌 글리콜, 또는 그의 혼합물이다. 한 실시양태에서, 조성물은 PEG 100, PEG 1000, 및 폴리소르베이트 80, 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 비이온성 계면활성제를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 제제 중 비이온성 계면활성제의 양은 제제의 중량을 기준으로 1 내지 200 ppm w/w, 바람직하게는 100 ppm w/w 미만이다. 한 실시양태에서, 조성

물은 인지질, 항산화제 또는 화학 안정제를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 재제 중 항산화제 또는 화학 안정화제의 양은 제제의 중량을 기준으로 0.01% w/w 미만이다. 한 실시양태에서, 항산화제 또는 화학 안정화제는 EDTA이다. 한 실시양태에서, 제제 중 라파마이신의 양은 제제의 중량을 기준으로 0.001 내지 0.01% w/w이다.

[0121] 한 실시양태에서, 조성물은 폴리에틸렌 글리콜, 레시틴, EDTA, 블록 공중합체, 및 시클로덱스트린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 첨가제 또는 부형제를 함유하지 않는다.

[0122] 한 실시양태에서, 조성물은 미셀 및 리포솜으로부터 선택되는 콜로이드 구조가 결여되어 있다.

[0123] 한 실시양태에서, 조성물은 제트 분무기, 진동 메시 분무기, 정적 메시 분무기, 및 오리피스 분무기 중 어느 한 분무기를 통한 투여에 적합하다.

[0124] 한 실시양태에서, 조성물의 점도는 20 mPa-s 미만, 바람직하게는 10 mPa-s 미만, 가장 바람직하게는 5 mPa-s 미만이고, 표면 장력은 45 dynes/cm 이상, 바람직하게는 50 dynes/cm 이상이다.

[0125] 본 발명은 또한 용액을 공극 크기가 0.2 ㎛ 이하인 필터를 통해 멸균 여과하는 단계, 및 멸균 여액을 무균 조건하에 수집 베쓸에 수집하는 단계를 포함하는, 분무가능한 수용액의 형태로 본 발명의 제약 조성물을 제조하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 제조 방법은 멸균 여액을 무균 조건하에 용기 밀폐체 내로 옮기는 단계를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 용기 밀폐체는 단위-용량 폴리에틸렌 바이알이다. 한 실시양태에서, 바이알은 멸균 여액을 바이알로 옮기기 직전에 취입 성형함으로써 제조된다. 한 실시양태에서, 방법은 멸균 여액을 바이알로 옮긴 직후에 바이알을 열 밀봉하는 단계를 포함한다.

[0126] 건식 분말 조성물

[0127] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸화 가능한 조성물은 입자의 직경이 0.1 내지 10 ㎛이고, 평균 직경은 약 0.5 내지 4.5 ㎛, 약 1 내지 4 ㎛, 약 1 내지 3.5 ㎛, 약 1.5 내지 3.5 ㎛, 또는 약 2 내지 3 ㎛인, 치료제("약물"로도 지칭된다)로서, 라파마이신, 또는 그의 프로드럭 또는 유도체의 미분화된 입자를 포함하는 건식 분말이다. 건식 분말 제제는 건식 분말 흡입기 장치 (DPI) 또는 가압식 정량 흡입기 (pMDI)에서 사용하기에 적합하다. 건식 분말 중 라파마이신의 양은 분말의 총 중량을 기준으로 약 0.5 내지 20% (w/w)이다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 양은 약 1% (w/w) 또는 2% (w/w)이다.

[0128] 한 실시양태에서, 미분화된 라파마이신은 약 0.5 내지 4.5 ㎛, 약 1 내지 4 ㎛, 또는 약 2 내지 3 ㎛ 범위의 직경을 생성하도록 하기 기술되는 바와 같이 습식 연마 또는 제트 밀링에 의해 제조되고, 라파마이신 입자는 락토스 담체 입자 상으로 0.5-2% w/w 범위의 약물/담체 비로, 바람직하게는 1%의 비로 블렌딩된다.

[0129] 한 실시양태에서, 약물 입자는 전달 장치 (건식 분말 흡입기) 내에 함유되어 있는 부서지기 쉬운 매트릭스 내로 약하게 압축된다. 작동시 전달 장치는 매트릭스로부터 약물 입자의 일부를 마멸시키고, 이들을, 약물 입자를 기도로 전달하는 흡기 호흡에 분산시킨다. 대안적으로, 약물 입자는 전달 장치 (건식 분말 흡입기) 중 저장소 내에 함유되어 있는 자유 유동 분말일 수 있다. 저장소는 장치 내에 내장된 챔버, 또는 캡슐, 블리스터 또는 작동 전에 장치에 삽입되는 유사한 미리 형성된 저장소일 수 있다. 작동시 장치는 저장소로부터 약물 입자의 일부를 분산시키고, 이들을, 약물 입자를 기도로 전달하는 흡입 호흡에 분산시킨다.

[0130] 한 실시양태에서, 건식 분말 조성물은 약물 입자, 및 아라비노스, 글루코스, 프럭토스, 리보스, 만노스, 수크로스, 트레할로스, 락토스, 말토스, 전분, 덱스트란, 만니톨, 류신, 리신, 이소류신, 디팔미틸포스파티딜콜린, 레시틴, 폴리락트산, 폴리(락트산-코-글루탐산), 및 크실리톨, 또는 상기 중 임의의 것의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 담체로 이루어진다. 한 실시양태에서, 담체는, 특히, 일수화물 형태의 락토스이다. 한 실시양태에서, 건식 분말 조성물은 2종 이상의 담체의 블렌드를 포함한다.

[0131] 한 실시양태에서, 건식 분말 조성물은 약물, 및 2종 이상의 상이한 담체의 블렌드를 포함한다. 한 실시양태에서, 담체에 대한 약물 비는 약 0.5 내지 20% (w/w) 범위이다. 한 실시양태에서, 약물 입자의 직경은 0.1 내지 10 ㎛ 범위이고, 평균 직경은 약 1 내지 4, 1 내지 3.5, 내지 1.5 내지 3.5, 또는 2 내지 3 ㎛이다. 담체 입자의 직경 범위는 2 내지 200 ㎛일 수 있다.

[0132] 한 실시양태에서, 조성물은 DPI 장치의 블리스터 팩 또는 저장소에 함유된다. 한 실시양태에서, 건식 분말 조성물은 DPI 장치에서 사용하기에 적합한, 젤라틴, 전분, 셀룰로스, 또는 중합체 캡슐, 또는 호일/호일 또는 호일/플라스틱 블리스터에 미리 로딩된다. 각각의 캡슐 또는 블리스터는 1 내지 100 mg의 건식 분말 조성물을 함유할 수 있다. 캡슐 또는 블리스터는 건식 분말 흡입기 (DPI) 장치, 예컨대, 에어롤라이저®, 플라스티아페®

RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8, X캡스®, 플로우캡스®, 아르커스(Arcus)®, 디스크헤일러(Diskhaler)® 또는 마이크로도스(Microdose)® 내로 삽입될 수 있다. DPI 장치 작동시, 캡슐 또는 블리스터는 파열되고, 분말은 흡기 호흡에 분산되어, 약물을 기도로 전달한다.

[0133] 한 실시양태에서, 건식 분말 조성물은 악쿠헤일러(Accuhaler)®, 코닉스(Conix)™, 로타헤일러(Rotahaler)®, 트윈캡스®, 엑스캡스®, 플로우캡스®, 터르부헤일러(Turbuhaler)®, 넥스트헤일러(NextHaler)®, 시클로헤일러(CycloHaler)®, 레볼라이저(Revolizer)™, 디스크헤일러®, 디스커스(Diskus)®, 스핀헤일러(Spinhaler), 핸디헤일러®, 마이크로도스 인헤일러, 기로헤일러(GyroHaler)®, 옴니헤일러(OmniHaler)®, 클릭헤일러(클릭헤일러)®, 듀오헤일러(Duohaler)® (벡튜라(Vectura)), 및 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스(Civitas Therapeutics))로부터 선택되는 건식 분말 흡입기 (DPI) 장치에 함유된다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 건식 분말 조성물을 함유하는 DPI 장치를 제공한다. 한 실시양태에서, 장치는 X캡스, 플로우캡스, 핸디헤일러, 트윈캡스, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 조성물을 함유하는 장치는 기로헤일러®, 옴니헤일러®, 클릭헤일러®, 듀오헤일러®, 및 아르커스® 흡입기로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0134] 담체 입자의 크기는 바람직하게는 담체 물질이 폐 심부에 침착되지 못하도록 하기 위해 더 큰 크기를 가진다 (5 ㎛ 초과). 한 실시양태에서, 담체 입자의 직경은 1 내지 200 ㎛, 30 내지 100 ㎛, 또는 10 ㎛ 미만 범위이다. 한 실시양태에서 담체 입자는, 하나는 입자가 약 30-100 ㎛이고, 나머지 다른 하나의 입자는 10 ㎛ 미만인 것인, 2종의 담체의 블렌드이다. 2종의 상이한 담체의 비는 3:97 내지 97:3의 범위이다. 한 실시양태에서, 건식 분말 조성물은 0.5-20% (w/w)의, 담체에 대한 약물 비로 이루어지고, 약물 입자의 직경은 0.1 내지 10 ㎛이고, 평균 직경은 3.5 ㎛ 미만이다. 한 실시양태에서, 담체 물질은 결정질 담체 물질이다. 바람직하게는, 결정질 담체 물질은 90% 이상, 바람직하게는 95% 초과의 결정질이며, 여기서, 어떤 물도 또는 실질적으로 어떤 물도 실온에서 80% 이하의 상대 습도의 조건하에 담체에 의해 흡수되지 않는다. 상기 결정질 담체의 예는 락토스 일수화물 및 글루코스 일수화물이다. 담체의 양은 분말의 건조 중량 기준으로 제제의 1 내지 99.0% 이상, 바람직하게는, 5 내지 99%, 10 내지 99%, 20 내지 99%, 30 내지 99%, 40 내지 99%, 또는 50 내지 99%이다.

[0135] 한 실시양태에서, 건식 분말 조성물은 전달 장치 (건식 분말 흡입기) 중의 저장소 내에 함유된다. 저장소는 장치 내에 내장된 챔버, 또는 캡슐, 블리스터 또는 작동 전에 장치에 삽입되는 유사한 미리 형성된 저장소일 수 있다. 작동시 장치는 저장소로부터 약물 입자의 일부를 분산시키고, 이들을, 약물 입자를 기도로 전달하는 흡입 호흡에 분산시킨다.

[0136] 한 실시양태에서, 약물은 제약상 허용되는 담체와 함께 미세 분말로서 존재한다. 이와 관련하여, "미세"라는 용어는 상기 논의된 바와 같이, 흡입가능한 범위의 입자 크기를 의미한다. 바람직하게는, 약물은 입자의 평균 직경 범위가 10 ㎛ 이하가 되도록 미분화된다. 한 실시양태에서, 본원에 기술된 건식 분말 조성물 중 라파마이신 (또는 그의 프로드럭 또는 유도체)의 입자의 평균 직경 (MMAD 또는 Dv50)은 0.5 내지 10 ㎛, 0.5 내지 6 ㎛, 1 내지 5 ㎛, 1 내지 4 ㎛, 1 내지 3 ㎛, 또는 2 내지 3 ㎛이다. MMAD 또는 Dv50 값이란, 그보다 작은 값에 집단 부피의 50%가 존재하게 되는 입자 크기이다.

[0137] 한 실시양태에서, 라파마이신의 건식 분말 제제는 하기에 기술되는 첨가제로부터 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 하나 이상의 첨가제는 스테아르산 마그네슘을 포함하거나, 그로 이루어진다. 본 실시양태의 한 측면에서, 스테아르산 마그네슘은 분말의 건조 중량 기준으로 0.001 내지 10%의 양으로, 바람직하게는 0.01 내지 5% 또는 0.01 내지 2%의 양으로 존재한다. 또 다른 실시양태에서, 첨가제는 인지질, 예컨대, 레시틴 (이는 포스파티딜콜린의 혼합물이다)을 분말의 건조 중량 기준으로 0.1% 내지 1%, 바람직하게는 0.2% 내지 0.6%의 양으로 포함하거나, 그로 이루어진다. 상기 실시양태의 한 측면에서, 첨가제는 담체를 라파마이신의 입자와 블렌딩하는 단계 이전에 또는 그와 동시에 담체 물질 상에 코팅된다. 이는, 예를 들어, 담체를 첨가제로 코팅하기 위해 고 에너지 혼합 단계를 이용함으로써, 또는 저 에너지 혼합의 장시간의 지속 기간에 의해, 또는 원하는 수준의 코팅된 담체를 달성하기 위해 저 및 고 에너지 혼합의 조합에 의해 달성될 수 있다. 블렌드를 형성시키는 건식 분말을 혼합하기 위한 저 에너지 장치는 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, V-블렌더, 더블 콘 블렌더, 슬랜트 콘 블렌더, 큐브 블렌더, 빈 블렌더, 수평 또는 수직 드럼 블렌더, 정적 연속 블렌더, 및 동적 연속 블렌더를 포함한다. 다른, 더 높은 고 에너지 장치로는 당업자에게 공지된 고전단 믹서를 포함한다.

[0138] 특정 실시양태에서, 건식 분말은 캡슐에 함유된다. 한 실시양태에서, 캡슐은 젤라틴 캡슐, 플라스틱 캡슐, 또는 셀룰로스 캡슐이거나, 호일/호일 또는 호일/플라스틱 블리스터의 형태이다. 각각의 경우에, 캡슐 또는 블리

스터는 DPI 장치 에서 바람직하게는, 각각의 캡슐 중 분말의 총 중량을 1 mg 내지 100 mg으로 만드는 양으로 담체와 함께 투여 단위로 사용하기에 적합하다. 대안적으로, 건식 분말은 다회 투약 DPI 장치의 저장소에 함유될 수 있다.

[0139] 라파마이신의 입자 크기는 종래 방법에 의해, 예를 들어, 에어-제트 밀, 볼 밀 또는 바이브레이터 밀에서 분쇄함으로써, 습식 연마, 미량침전, 분무 건조, 동결건조 또는 아임계 또는 초임계 용액으로부터 재결정화에 의해 원하는 미세 미립자 수준으로 감소시킬 수 있다. 이와 관련하여, 제트 밀링 또는 분쇄란 기계적 수단에 의해 건조 약물 입자의 미분화를 의미한다. 미분화 기술은 약물의 용액, 슬러리, 또는 현탁액을 제조할 필요가 없다. 대신, 약물 입자 크기는 기계적으로 축소된다. 미분화에 의해 사용되는 비교적 높은 에너지로 인해, 특정 실시양태에서, 라파마이신과의 공동 미분화 혼합물에 담체 물질을 포함하는 것이 바람직하다. 이와 관련하여, 담체 물질은, 그렇지 않을 경우, 라파마이신의 구조에 악영향을 줄 수 있는 미분화 에너지 중 일부를 흡수한다. 한 실시양태에서, 제트 밀링 방법에 의해 크기 범위가 1 내지 4 또는 2 내지 3 ㎛인 라파마이신 입자가 제조된다.

[0140] US2013/0203717에 의해 기술된 바와 같은 습식 연마는 고전단을 사용하여 현탁액 또는 슬러리에서 약물 입자의 입자 크기를 축소시키는 것을 포함한다. 습식 연마는 단지 약물 입자 또는 밀링 매질로 명명되는 추가적 미립자를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 입자 크기는 습식 연마 공정을 사용하여 원하는 수준으로 감소될 수 있으며, 이는, 구체적으로 승온에서의 공동화에 의한 습식 밀링을 포함하며, 여기서, 라파마이신은 물 또는 라파마이신이 불용성인 다른 용매에 현탁된 후, 현탁액을 분무 건조시켜 라파마이신을 건식 분말로서 수득한다. 한 실시양태에서, 라파마이신 현탁액을 제조하는 단계, 현탁액을 미세유동화시키는 단계, 생성된 입자를 분무 건조시켜 건식 분말을 형성하는 단계를 포함하는, 습식 연마 방법에 의해 크기 범위가 1 내지 4 또는 2 내지 3 ㎛인 라파마이신 입자가 제조된다. 라파마이신은 프로필 또는 부틸 알콜, 물, 및 에틸 아세테이트로 이루어진 군으로부터 선택되는 반-용매 중에 현탁될 수 있다. 한 실시양태에서, 현탁액은 수성 현탁액이다.

[0141] 분무 건조는 일반적으로 약물의 용액, 슬러리, 또는 현탁액을 제조하고, 용액, 슬러리, 또는 현탁액을 분사하여, 입자를 형성한 후, 용액, 슬러리, 또는 현탁액 매질을 증발시켜 입자를 형성시키는 것을 포함한다. 용액, 슬러리 또는 현탁액은 아임계 또는 초임계 조건하에 형성될 수 있다. 증발 단계는 분사가 일어나는 대기의 온도를 상승시킴으로써, 또는 압력을 감소시킴으로써, 또는 이 둘의 조합에 의해 달성될 수 있다. 한 실시양태에서, 라파마이신을 포함하는 분말 제제는 라파마이신의 수성 분산액을 분무 건조시켜, 상기 기재된 바와 같이, 크기가 폐 전달에 적합한, 라파마이신의 응집된 입자로 이루어진 건식 분말을 형성시킴으로써 제조된다. 응집체 입자 크기는 폐 심부 또는 상부 호흡기 부위, 예컨대, 상부 기관지 영역 또는 코 점막을 표적화하기 위해 조정 (증가 또는 감소)될 수 있다. 이는 예를 들어, 분무 건조된 분산액 중 라파마이신의 농도를 증가시키거나, 분무 건조기에 의해 발생된 소적 크기를 증가시킴으로써 달성될 수 있다.

[0142] 대안적으로, 건식 분말은 수성 약물 용액, 분산액, 또는 에멀젼을 냉동 건조 (동결건조)시킴으로써, 또는 분무 건조 및 냉동 건조의 조합에 의해 제조될 수 있다.

[0143] 한 실시양태에서, 라파마이신 및 하나 이상의 임의적 첨가제의 수성 분산액은, 분산액이 냉동 건조된 경우, 각각은 1종 이상의 포매된 약물 입자, 및 존재할 경우, 첨가제 입자를 함유하는 것인, 흡입가능한 희석제 입자가 형성되도록, 용해된 희석제, 예컨대, 락토스 또는 만니톨을 추가로 포함한다.

[0144] 한 실시양태에서, 건식 분말 제제는 라파마이신의 수성 분산액, 및 하나 이상의 임의적 첨가제를 냉동 건조시킴으로써 제조된다. 한 실시양태에서, 분말은 라파마이신, 및 존재할 경우, 첨가제 입자의 응집체를 함유하고, 여기서, 응집체는 상기 기재된 바와 같은 흡입가능한 크기 범위 내에 있다.

[0145] 한 실시양태에서, 건식 분말은 라파마이신 로딩된 리포솜을 포함한다. 약물-로딩된 리포솜은, 예를 들어, 문헌 [M. Chougale, *et al. Int. J. Nanomedicine* 2:625-688 (2007)]에서 타크롤리무스에 대해 기재된 기술을 사용하여, 당업계에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 간략하면, 라파마이신, 수소첨가 포스파티딜콜린 (HSPC), 및 콜레스테롤을 메탄올 및 클로로포름의 혼합물에 용해시킨 후, 예컨대, 회전식 증발기(Rotaevaporator)에서 건조시켜 박막을 형성한다. 리포솜을 수화시키고, 크기 축소를 위해 리포솜 분산액을 고압 균질화기에 통과시킨다. 생성된 펠릿을 소포체 크기 및 약물 포획률(%)로 특징화한 후, 라파마이신의 원하는 양에 등가인 펠릿을 적합한 매질에 분산시키고, 분무 건조시켜 흡입을 위한 원하는 크기의 입자를 수득한다. 분무 건조된 분말을 투여용 캡슐, 캐니스터, 또는 블리스터 팩으로 충전시킬 수 있다.

[0146] 한 실시양태에서, 건식 분말 입자는 초임계 또는 아임계 용액으로부터 침전시켜 제조될 수 있다.

[0147] 건식 분말 조성물은 적합한 건식 분말 흡입기 장치, 또는 상기 장치에서 사용하기 위한 캡슐 또는 블리스터에 함유될 수 있다. 상기 장치의 예는 상기에 제공되어 있고, 악쿠헤일러®, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 플라스티아페® RS00 모델 8, 코닉스TM, 로타헤일러®, 트윈캡스®, X캡스®, 플로우캡스®, 터르부헤일러®, 넥스트헤일러®, 시클로헤일러®, 레볼라이저 TM , 디스크헤일러®, 디스커스®, 스핀헤일러, 핸디헤일러®, 마이크로도스 인헤일러, 기로헤일러®, 옴니헤일러®, 클릭헤일러®, 또는 듀오헤일러® (벡튜라), 또는 호흡 작동식 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스)를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 건식 분말 조성물을 함유하는 DPI 장치를 제공한다. 한 실시양태에서, 장치는 X캡스, 플로우캡스, 핸디헤일러, 트윈캡스, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0148] 추진제 기반 제제

[0149] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 라파마이신은 본원에서 일반적으로 "pMDI 제제"로도 지칭될 수 있는 추진제 기반 제제로 제제화된다. pMDI 제제는 가압식 정량 흡입기 (pMDI)와 같은 장치에 의한 전달에 적합하다. 한 실시양태에서, 조성물은 라파마이신, 추진제, 및 식물성 오일 또는 식물성 오일의 제약상 허용되는 유도체를 포함한다. 추진제는 바람직하게는 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 (HFA134a) 및 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 (HFA227), 또는 그의 혼합물로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 식물성 오일은 올리브유, 홍화유, 및 대두유로부터 선택된다. 라파마이신은 추진제 중 용액 또는 현탁액으로 있을 수 있다. 이와 관련하여, "현탁액으로"라는 것은 라파마이신이 추진제 중에 분산된 미립자 형태로 존재하는 경우를 의미한다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 미분화되고, 추진제 중 현탁액으로 존재한다. 한 실시양태에서, 제제는 습윤화제 또는 공용매, 예컨대, 에탄올을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 제제는 폴리히드록시 알콜, 예컨대, 프로필렌 글리콜을 추가로 포함한다.

[0150] 적합한 추진제는 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 할로겐-치환된 탄화수소, 예를 들어, 불소-치환된 메탄, 에탄, 프로판, 부탄, 시클로프로판 또는 시클로부탄, 특히, 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 (HFA134a) 및 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 (HFA227), 또는 그의 혼합물을 포함한다.

[0151] 한 실시양태에서, 제제는 미분화된 라파마이신, 에탄올, 적합한 추진제, 예컨대, HFA 134a, HFA 227, 또는 적합한 추진제의 혼합물, 및 임의적으로 하나 이상의 계면활성제를 포함한다. 한 실시양태에서, 제제는 윤활제를 추가로 포함한다.

[0152] 한 실시양태에서, 제제는 라파마이신, 추진제, 및 식물성 오일을 포함한다. 한 측면에서, 제제는 첨가제 또는 계면활성제를 포함하지 않는다. 예를 들어, 제제는 에탄올, 폴리히드록시 알콜 (예컨대, 프로필렌 글리콜), 또는 계면활성제 (예컨대, 소르비탄 트리올레에이트, 소르비탄 모노올레에이트, 또는 올레산)를 포함하지 않는다.

[0153] 한 실시양태에서, 추진제 기반 제제는 알콜과 같은 극성 공용매와 함께 또는 없이, 압축 공기, 이산화탄소, 질소, 또는 n-프로판, n-부탄, 이소부탄 또는 그의 혼합물, 또는 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 (HFA134a) 및 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 (HFA227), 또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 액화 추진제를 포함한다. 조성물은 용액 또는 현탁액일 수 있다. 현탁액의 경우, 약물 입자의 직경은 0.1 내지 10 ㎛이고, 평균 직경은 3.5 ㎛ 미만이다.

[0154] 추진제 기반 제제는 당업계에 공지된 방법에 의해, 예를 들어, 주변 압력에서 또는 고압 조건하에 조립질 라파마이신, 및 임의적 첨가제를 액체 추진제 중에서 습식 밀링함으로써 제조한다. 특정 실시양태에서, 첨가제는 응집 (케이크화 또는 결정화)을 방지하고, 균일 투약을 용이하게 하고, (또는 대안적으로) 바람직한 미립자 분율 (FPF)을 제공하는 역할을 하는 계면활성제이다. 한 측면에서, 계면활성제는 소르비탄 트리올레에이트, 소르비탄 모노올레에이트, 또는 올레산으로부터 선택된다. 대안적으로, 약물 입자를 함유하는 건식 분말은 상기에서 논의된 바와 같이 약물 입자의 수성 분산액을 분무 건조 또는 냉동 건조시킴으로써 제조되고, 생성된 분말은 종래 가압식 정량 흡입기 (pMDI)에서 사용하는 데 적합한 추진제에 분산된다. 한 실시양태에서, 흡입 장치는 레스피매트™이다.

[0155] 한 실시양태에서, 본 발명의 추진제 기반 에어로졸 라파마이신 제제는 장기간에 걸쳐 라파마이신의 결정 형태에서의 입자 크기 성장 또는 변화에 대하여 안정적이다.

[0156] 멸균 단위 용량 형태의 제조 방법

[0157] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 멸균 조성물이다. 한 실시양태에서, 멸균 조성물은 멸균 단위 용량 형태

이다. 한 실시양태에서, 멸균 단위 투여 형태는 분무기 장치에서 사용하기에 적합한 캡슐이다.

[0158] 한 실시양태에서, 마감처리된 조성물은 열, 예컨대, 오토클레이빙에 의해, 또는 방사선 조사에 의해 그의 용기 밀폐체에서 멸균된다. 한 실시양태에서, 조성물의 성분 부분을 먼저 액체 성분을 위한 멸균 여과 및 고체 또는 액체를 위한 방사선 조사 또는 오토클레이빙을 포함한 적합한 공정에 의해 멸균시키며, 여기서, 상기 공정은 추가로 밀폐 용기에서 포장하여 멸균 성분의 무균 상태를 유지하고, 적절한 비율로 혼합 베쓸에서 상기 성분을 합하고, 생성된 생성물을 용기 밀폐체에 충전시키는 것을 포함하며, 이들 모두는 무균 세트에서 수행된다. 상기 공정은 고가이고, 어려운 무균 처리 기술을 필요로 한다는 단점이 있다. 따라서, 멸균을 위해 1 ㎛ 미만의 필터를 통과할 수 없는, 미립자 현탁액 또는 콜로이드 분산액, 리포솜 제제, 또는 에멀젼을 프로세싱하는 데 주로 사용된다. 마지막으로, 한 실시양태에서, 마감처리된 조성물은 1 ㎛ 미만의 필터, 바람직하게는 0.2 ㎛ 필터를 통해 멸균 여과된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 여과 멸균 공정을 통해 멸균된 단일상 수용액이다. 반면에, 에멀젼 및 리포솜 제제는 전형적으로 여과 멸균 공정의 고전단 조건하에서는 충분히 안정적이지 않으며, 따라서, 이 공정에서 바람직하지 않다.

[0159] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 용기 밀폐체, 예컨대, 중합체, 바람직하게는 폴리에틸렌으로 형성된 바이알, 또는 대안적으로 유리 바이알에 충전된 단일상 수용액이다. 바이알이 중합체 바이알인 경우, 오토클레이빙 및 방사선 조사는 적합하지 않은데, 그 이유는 약물 및/또는 제제 부형제에서 뿐만 아니라, 용기에서 화학 불안정성을 일으킬 가능성이 높기 때문에, 및 바람직하지 않는 불순물이 발생하기 때문이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 열 (오토클레이빙) 또는 방사선 조사를 포함하지 않으며, 대신, 여과 멸균 공정을 포함하는 공정에 의해 멸균된다. 바람직하게, 본 실시양태에 따라, 라파마이신의 단일상 수용액은 공극 크기가 0.2 ㎛ 이하인 필터를 통한 여과에 의해 멸균된다. 한 실시양태에서, 멸균 여액은 무균 세트에 위치된 수집 베쓸에서 수집된다. 한 실시양태에서, 멸균 여액은 무균 세트에서 수집 베쓸로부터 용기 밀폐체로 옮겨진다. 바람직하게, 용기 밀폐체는 중합체 바이알, 바람직하게, 단위 용량 바이알, 및 가장 바람직하게, 폴리에틸렌 단위 용량 바이알이다. 한 실시양태에서, 중합체 바이알은 바이알이 충전되기 직전에 취입 성형에 의해 형성된 후, 충전 직후에 열 밀봉된다. 이 기술은 "성형-충전-밀봉" 또는 "취입-충전"으로도 지칭될 수 있다. 이 기술은 라파마이신의 단일상 수용액인 본 발명의 조성물과 관련하여 특히 유리한데, 그 이유는 상기 공정이, 둘 모두가 약물 자체, 제제 부형제, 또는 용기 밀폐체의 품질을 저하시킬 수 있는 것인 열 또는 방사선 조사를 필요로 하지 않기 때문이다.

[0160] 폐 투여 및 투약

[0161] 본 발명은 흡입에 의해, 라파마이신을 기도로, 바람직하게는 폐로 투여함으로써 인간 대상체에서 연령 관련 질환 및 장애를 치료 및 예방하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 폐 전달은 바람직하게는 입과 목을 통해 폐내로 에어로졸의 흡입에 의해 달성되며, 이는 또한 코를 통해 에어로졸의 흡입에 의해 달성될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 조성물은 비내로 전달된다. 또 다른 실시양태에서, 에어로졸은 경구로 전달된다.

[0162] 본 발명의 조성물 및 방법은 유리하게는, 동시에 혈중 및 전신에서 이용가능한 라파마이신의 양을 매우 낮은 수준으로 또는 검출불가능한 수준으로 감소시키면서, 폐에 치료학상 유효량의 라파마이신을 표적 전달한다. 한 실시양태에서, 본원에 기술된 건식 분말 조성물의 단일 용량분의 라파마이신의 양은 약 5 내지 500 ㎍ 또는 약 100 내지 300 ㎍, 또는 약 50 내지 250 ㎍이다. 전신 노출을 최소화하면서 폐로 직접 저용량의 라파마이신을 표적 전달하는 것은 경구 투여 형태와 비교하여 개선된 치료 지수를 제공한다.

[0163] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법에 따른 흡입에 의한 라파마이신의 투여는 라파마이신의 치료 지수를 증가시킨다. 이와 관련하여, 인간 대상체에게 적용된 바와 같이, 치료 지수는 집단의 50%에서 독성을 초래하는 용량 (TD_{50})에 대비하여 치료 효과를 초래하는 용량 (ED_{50})을 비교하는 비율이다. 상기 비율은 TD_{50}/ED_{50}로서 표시된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법에 따른 흡입에 의한 라파마이신의 투여는 경구적으로 투여된 라파마이신과 관련된 하나 이상의 독성을 감소시키고, 이로써, 라파마이신의 치료 지수는 증가된다.

[0164] 본 발명은 용액 및 분말 형태의 에어로졸화 가능한 제제를 포함한다. 따라서, 라파마이신은 수성 에어로졸, 건식 분말 에어로졸, 또는 추진제 기반 에어로졸 형태로 본 발명의 방법에 따라 투여될 수 있다.

[0165] 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 대상체에서 0.01 내지 0.15 ng/ml, 0.075 내지 0.350 ng/ml, 0.150 내지 0.750 ng/ml, 0.750 내지 1.5 ng/ml 또는 1.5 내지 5 ng/ml의 혈액 중 최저 수준을 초래한다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 대상체에서 5 ng/ml 미만, 2 ng/ml 미만, 1 ng/ml 미만, 또는 0.5 ng/ml 미만의 혈액 중 최저 수준을 초래한다.

[0166] 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 1 ng/g 내지 1 ㎍/g, 바람직하게는, 약 5 ng/g 내지 100 ng/g, 약 5 ng/g 내지 약 20 ng/g, 또는 약 5 ng/g 내지 약 30 ng/g 범위의 폐 조직에서의 라파마이신의 농도를 초래하는 데 충분하다.

[0167] 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 5 내지 100 ㎍, 20 내지 100 ㎍, 20 내지 250 ㎍, 50 내지 500 ㎍ (0.05 내지 0.5 mg), 250 내지 1,000 ㎍ (0.25 내지 1 mg) 또는 500 내지 2,000 ㎍ (0.5 내지 2 mg)이다. 한 실시양태에서, 라파마이신 투여량은 500 ㎍ 미만, 100 ㎍ 미만, 50 ㎍ 미만, 20 미만, 또는 10 ㎍ 미만이다. 바람직하게, 라파마이신 투여량은 0.5 mg 미만 또는 0.25 mg 미만이다.

[0168] 한 실시양태에서, 라파마이신은 1일 1회 투여된다.

[0169] 한 실시양태에서, 라파마이신의 총 1일 용량은 5 내지 100 ㎍, 20 내지 250 ㎍, 50 내지 500 ㎍ (0.05 내지 0.5 mg), 250 내지 1,000 ㎍ (0.5 내지 1 mg) 또는 500 내지 2,000 ㎍ (0.5 내지 2 mg) 범위이다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 총 1일 용량은 500 ㎍ 미만, 100 ㎍ 미만, 50 ㎍ 미만, 20 미만, 또는 10 ㎍ 미만이다. 한 실시양태에서, 대상체에게 투여되는 라파마이신의 총 1일 용량은 1일당 0.5 mg 미만 또는 0.25 mg 미만이다.

[0170] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 1일 1회 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 1일 2회 또는 3회 대상체에게 투여된다. 바람직하게, 조성물은 1일 1회 또는 2회, 또는 1일 1회 미만 투여된다.

[0171] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 라파마이신을 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 조합하여 폐 경로를 통해 투여하는 단계를 포함한다. 하나 이상의 추가의 작용제는 라파마이신과 동일한 또는 상이한 투여 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 작용제는 흡입에 의해, 비내로, 경구적으로 또는 정맥내로 투여될 수 있다.

[0172] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 라파마이신을 하나 이상의 추가의 요법과 함께 조합하여 폐 경로를 통해 투여하는 단계를 포함한다.

[0173] 특정 실시양태에서, 본 방법은 주요 요법으로서 본 발명의 조성물의 폐 투여를 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 조성물의 투여는 애주번트 요법이다. 어느 경우에서든, 본 발명의 방법은 본 발명의 조성물을 질환 또는 장애의 치료를 위한 하나 이상의 추가의 요법과 함께 조합하여 투여하는 것을 고려한다. "요법" 및 "요법들"이라는 용어는 질환 또는 장애, 또는 그의 하나 이상의 증상의 예방, 치료, 관리 또는 호전에서 사용될 수 있는 임의의 방법, 프로토콜 및/또는 작용제를 의미한다.

[0174] 바람직하게, 하나 이상의 추가의 요법과 함께 조합하여 본 발명의 방법에 따라 라파마이신 또는 그의 프로드럭 또는 유도체를 포함하는 제약 조성물을 투여함으로써 대상체에서 시너지 반응을 제공할 수 있다. 이와 관련하여, "시너지"라는 용어는 조합 효능이 어느 단일 요법이든 그 단독의 상가 효과보다 더욱 효과적이라는 것을 의미한다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 조합 라파마이신 요법의 시너지 효과를 통해서 조합 중의 1종 이상의 요법은 조합 외의 그의 용량 및/또는 빈도와 비교하였을 때 더욱 낮은 투여량 및/또는 덜 빈번한 투여를 사용할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 시너지 효과는 조합 중의 어느 한 요법을 단독 사용하는 것과 연관된 유해한 또는 원치않는 부작용의 방지 또는 감소로 자명해진다.

[0175] 분무기 전달

[0176] 한 실시양태에서, 라파마이신은 분무에 적합한 수용액으로서 제제화되고, 분무기를 통해 전달된다. 수성 및 다른 비가압식 액체 시스템의 경우, 다양한 분무기 (작은 부피의 분무기 포함)가 제제를 에어로졸화하는 데 이용가능하다. 압축기-구동 분무기는 제트 기술을 도입하고, 압축 공기를 사용하여 액체 에어로졸을 발생시킨다. 상기 장치는 예를 들어, 헬쓰다인 테크놀로지즈, 인크.; 인바케어, 인크.; 마운틴 메디컬 이큅먼트, 인크.; 파리 레스피레토리, 인크.; 마다 메디컬, 인크.; 푸리탄-베넷; 슈코, 인크., 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.; 및 호스피탁, 인크로부터 상업적으로 이용가능하다. 초음파 분무기는 압전 결정의 진동의 형태로 기계적 에너지에 의존하여 흡입가능한 액체 소적을 발생시키고, 예를 들어, 옴론 헬쓰케어, 인크. 및 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.로부터 상업적으로 이용가능하다. 분무기는, 예를 들어, 1 내지 50 ml, 통상 1 내지 10 ml의 용액 제제를 함유할 수 있는, 종래 공기식 분무기, 예컨대, 에어제트 분무기, 또는 초음파 분무기일 수 있다.

[0177] 한 실시양태에서, 본 발명의 수용액 제제는 진동 또는 고정 메시를 포함하는 분무기를 이용한 투여에 적합화된다. 예를 들어, 장치, 예컨대, AERx® (아라다임(Aradigm), 레스피매트® (베링거 잉겔하임), I-넵® (필립스), 또는 마이크로에어(MicroAire)® (옴론)가 있으며, 여기서, 약물 용액은 피스톤 또는 공기압으로, 또는 압전 결정으로 오리피스 또는 메시를 통해 푸쉬된다. 대안적으로, 용액은 진동 메시 분무기, 예컨대, E-플로우® (파리) 또는 에어로넵® 고 (에어로겐)를 통해 펌핑될 수 있다. 이들 장치를 통해 종래 분무기보다 훨씬 더 작

은 분무 부피, 예컨대, 10 내지 100 ㎕, 및 훨씬 더 높은 전달 효율을 얻을 수 있다.

[0178] 건식 분말 전달

[0179] 한 실시양태에서, 본 발명의 건식 분말 조성물은 비추진제 기반 건식 분말 흡입기 (DPI) 장치에 의해 전달된다. 한 실시양태에서, 분말은 DPI 장치에서 사용하기에 적합한, 젤라틴 또는 플라스틱의 캡슐에, 또는 블리스터에 함유된다. 한 실시양태에서, 분말은 캡슐당 5 mg 내지 100 mg의 분말의 투여 단위 및 단위 투여 형태로 공급된다. 또 다른 실시양태에서, 건식 분말은 다회 투약 건식 분말 흡입 장치의 저장소에 함유된다. 한 실시양태에서, 흡입기 장치는 정량, 예컨대, 10 내지 100 ㎕, 예컨대, 25 내지 50 ㎕의 조성물을 전달하는 데 적합화된 밸브가 장착된 에어로졸 바이알, 즉, 정량 흡입기로 공지된 장치를 포함한다.

[0180] 한 실시양태에서, DPI 장치는 블리스터 기반 장치, 예컨대, 기로헤일러® 또는 옴니헤일러® (둘 모두 벡튜라부터 입수), 저장소 기반 장치, 예컨대, 클릭헤일러® 또는 듀오헤일러® (벡튜라), 및 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스)이다. 한 실시양태에서, DPI 장치는 풀매트릭스(Pulmatrix)™, 및 호비온 트윈캡스(Hovione Twincaps) 및 X캡스™로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 장치는 X캡스, 플라스티아페® RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0181] 한 실시양태에서, DPI 장치는 악쿠헤일러®, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 플라스티아페® RS00 모델 8, 코닉스TM, 로타헤일러®, 트윈캡스®, X캡스®, 플로우캡스®, 터르부헤일러®, 넥스트헤일러®, 시클로헤일러®, 레볼라이저 TM, 디스크헤일러®, 디스커스®, 스핀헤일러, 핸디헤일러®, 마이크로도스 인헤일러, 기로헤일러®, 옴니헤일러®, 클릭헤일러®, 또는 듀오헤일러® (벡튜라), 또는 호흡 작동식 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0182] 한 실시양태에서, DPI 장치는 아르커스™, 아스피레어(Aspirair)™, 악사헤일러(Axahaler)™, 브리즈헤일러(Breezhaler)™, 클릭헤일러™, 코닉스 드라이(Conix Dry)™, 크릭켓(Cricket)™, 드림보우트(Dreamboat)™, 제뉴에어(Genuair)™, 제미니(Gemini)™, 인스피로매틱(Inspiromatic)™, iSPERSE™, 마이크로도스™, 넥스트(Next) DPI™, 프로헤일러(Prohaler)™, 풀모제트(Pulmojet)™, 풀비날(Pulvinal)™, 솔리스(Solis)™, 타이푼(Taifun)™, 테이퍼 드라이(Taper Dry)™, 트리바이(Trivai)™, 노볼라이저(Novolizer)™, 포드헤일러(Podhaler)™, 스카이헤일러(Skyehaler)™, 스피로맥스(Spiromax)™, 트윈캡스/플로우캡스™, 및 터르부헤일러™로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, DPI 장치는 건식 분말의 투여 단위를 함유하는 캡슐 또는 블리스터로부터 건식 분말을 전달하도록 적합화되거나, 다회 투약 건식 분말 흡입 장치는 1회 작동당, 예를 들어, 5-25 mg의 건식 분말을 전달하도록 적합화된다.

[0183] pMDI 전달

[0184] 또 다른 실시양태에서, 라파마이신은 추진제 기반 제제와 관련하여 상기 기술된 바와 같은 적합한 추진제를 함유하는 가압식 용기 또는 디스펜서로부터 에어로졸화된 입자의 형태로 전달된다. 한 실시양태에서, 흡입기는 추진제 구동 흡입기, 예컨대, 각각의 작동시 라파마이신의 정량을 방출하는 pMDI 장치이다. 전형적인 pMDI 장치는 약물을 함유하는 캐니스터, 약물 계량 밸브, 및 마우스피스를 포함한다. 상기 실시양태의 한 측면에서, 라파마이신은 추진제 중 현탁액으로서 제제화된다. 상기 실시양태와 관련하여, 라파마이신은 액화 추진제 또는 추진제 블렌드에 현탁되는 미세 분말로 된다. 이어서, 현탁액을 액체 형태로 추진제를 유지하기에 충분한 압력하에 밀봉 캐니스터에 보관한다. 또 다른 실시양태에서, 라파마이신은 용액으로서 제제화된다. 상기 실시양태와 관련하여, 라파마이신은 액화 추진제 또는 추진제 블렌드에 가용화된다. 한 실시양태에서, 제제는 제제의 교반 후 라파마이신의 재현가능한 투여를 가능하게 하는 데 충분한 시간 동안 침강(settling), 크리밍(creaming) 또는 엉김(flocculation)에 대하여 제제를 안정화시키는 데 적합한 양으로 안정화제를 추가로 포함한다. 안정화제는 에어로졸 제제의 총 중량 기준 백만부를 기준으로 약 10 중량부 내지 약 5,000 중량부의 양으로 과량으로 존재할 수 있다. 한 실시양태에서, 유체 담체는 1,1,1,2-테트라플루오로에탄, 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 또는 그의 혼합물이다. 또 다른 실시양태에서, 유체 담체는 탄화수소 (예컨대, n-부탄, 프로판, 이소펜탄, 또는 그의 혼합물)이다. 조성물은 공용매 (예컨대, 에탄올 또는 다른 적합한 공용매)를 추가로 포함할 수 있다.

[0185] 본 발명의 방법의 한 실시양태에서, 라파마이신을 포함하는 에어로졸 제제는 추가의 약물을 추가로 포함한다.

[0186] 첨가제

[0187] 본 발명의 에어로졸 조성물은 제제에 존재하는 임의의 담체 또는 희석제 (예컨대, 락토스 또는 만니톨) 이외에

하나 이상의 첨가제를 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 하나 이상의 첨가제는 하나 이상의 계면활성제를 포함하거나 그로 이루어진다. 계면활성제는 전형적으로 하나 이상의 긴 지방족 쇄, 예컨대, 지방산을 갖고, 이로써, 이들을 세포의 지질 구조에 직접 삽입할 수 있게 하여 약물 침투 및 흡수를 증진시킨다. 계면활성제의 상대적인 친수성 및 소수성을 특징화하는 데 통상 사용되는 실험적 파라미터는 친수성-친유성 밸런스 ("HLB" 값)이다. 더 낮은 HLB 값을 갖는 계면활성제는 소수성이 더 크고, 오일에서 더 큰 용해도를 가지는 한편, 더 높은 HLB 값을 갖는 계면활성제는 친수성이 더 크고, 수용액에서 더 큰 용해도를 갖는다. 따라서, 친수성 계면활성제는 일반적으로 약 10 초과의 HLB 값을 갖는 그러한 화합물로 간주되고, 소수성 계면활성제는 일반적으로 약 10 미만의 HLB 값을 갖는 것이다. 그러나, 이러한 HLB의 값은 단지 가이드이며, 그 이유는 많은 계면활성제의 경우, HLB 값은, HLB 값을 결정하기 위해 선택된 실험적 방법에 따라, 약 8 HLB 단위 정도까지 많이 차이가 날 수 있기 때문이다.

[0188] 본 발명의 에어로졸 조성물에서 사용하기 위한 계면활성제 중에는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)-지방산 및 PEG-지방산 모노 및 디에스테르, PEG 글리세롤 에스테르, 알콜-오일 에스테르교환반응 생성물, 폴리글리세릴 지방산, 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르, 스테롤 및 스테롤 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에테르, 당 및 그의 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페놀, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 (POE-POP) 블록 공중합체, 소르비탄 지방산 에스테르, 이온성 계면활성제, 지용성 비타민 및 그의 염, 수용성 비타민 및 그의 양친매성 유도체, 아미노산 및 그의 염, 및 유기 산 및 그의 에스테르 및 무수물이 있다. 이들 각각은 하기에서 더욱 상세하게 기술된다.

[0189] PEG 지방산 에스테르

[0190] 비록 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 그 자체가 계면활성제로 작용하지는 않지만, 다양한 PEG-지방산 에스테르는 유용한 계면활성제 특성을 갖는다. PEG-지방산 모노에스테르 중에서, 라우르산, 올레산, 스테아르산의 에스테르가 본 발명의 실시양태에서 가장 유용하다. 바람직한 친수성 계면활성제는 PEG-8 라우레이트, PEG-8 올레에이트, PEG-8 스테아레이트, PEG-9 올레에이트, PEG-10 라우레이트, PEG-10 올레에이트, PEG-12 라우레이트, PEG-12 올레에이트, PEG-15 올레에이트, PEG-20 라우레이트 및 PEG-20 올레에이트를 포함한다. HLB 값은 4-20 범위이다.

[0191] 폴리에틸렌 글리콜 지방산 디에스테르는 또한 본 발명의 실시양태의 조성물 중 계면활성제로서 사용하기에 적합하다. 가장 바람직한 친수성 계면활성제로는 PEG-20 디라우레이트, PEG-20 디올레에이트, PEG-20 디스테아레이트, PEG-32 디라우레이트 및 PEG-32 디올레에이트를 포함한다. HLB 값은 5-15 범위이다.

[0192] 일반적으로, 2종 이상의 시판 계면활성제의 혼합물 뿐만 아니라, 또 다른 첨가제 또는 첨가제들과 계면활성제의 혼합물을 비롯한, 계면활성제의 혼합물 또한 본 발명의 실시양태에서 유용하다. 몇몇 PEG-지방산 에스테르는 모노- 및 디에스테르의 혼합물로서 상업적으로 시판되고 있다.

[0193] 폴리에틸렌 글리콜 글리세롤 지방산 에스테르

[0194] 바람직한 친수성 계면활성제는 PEG-20 글리세릴 라우레이트, PEG-30 글리세릴 라우레이트, PEG-40 글리세릴 라우레이트, PEG-20 글리세릴 올레에이트, 및 PEG-30 글리세릴 올레에이트이다.

[0195] 알콜-오일 에스테르교환반응 생성물

[0196] 소수성 또는 친수성 정도가 상이한 다수의 계면활성제는 다양한 천연 및/또는 수소첨가 오일과 알콜 또는 다가 알콜의 반응에 의해 제조될 수 있다. 가장 일반적으로, 사용되는 오일은 피마자유 또는 수소첨가 피마자유, 또는 식용 식물성 오일, 예컨대, 옥수수유, 올리브유, 땅콩유, 팜핵유, 행인유, 또는 아몬드유이다. 바람직한 알콜로는 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비톨, 및 펜타에리트리톨을 포함한다. 알콜-오일 에스테르교환된 계면활성제 중에서, 바람직한 친수성 계면활성제는 PEG-35 피마자유 (인크로카스(Incrocas)-35), PEG-40 수소첨가 피마자유 (크레모포르(Cremophor) RH 40), PEG-25 트리올레에이트 (TAGAT.RTM. TO), PEG-60 옥수수 글리세리드 (크로볼(Crovol) M70), PEG-60 아몬드유 (크로볼 A70), PEG-40 팜핵유 (크로볼 PK70), PEG-50 피마자유 (에말렉스(Emalex) C-50), PEG-50 수소첨가 피마자유 (에말렉스 HC-50), PEG-8 카프릴릭/카프릭 글리세리드 (라브라솔(Labrasol)), 및 PEG-6 카프릴릭/카프릭 글리세리드 (소프티겐(Softigen) 767)이다. 이러한 부류에서의 바람직한 소수성 계면활성제는 PEG-5 수소첨가 피마자유, PEG-7 수소첨가 피마자유, PEG-9 수소첨가 피마자유, PEG-6 옥수수유 (라브라필(Labrafil).RTM. M 2125 CS), PEG-6 아몬드유 (라브라필.RTM. M 1966 CS), PEG-6 행인유 (라브라필.RTM. M 1944 CS), PEG-6 올리브유 (라브라필.RTM. M 1980 CS), PEG-6 땅콩유 (라브라필.RTM. M 1969 CS), PEG-6 수소첨가 팜핵유 (라브라필.RTM. M 2130 BS), PEG-

6 팜핵유 (라브라필.RTM. M 2130 CS), PEG-6 트리올레인 (라브라필.RTM.b M 2735 CS), PEG-8 옥수수유 (라브라필.RTM. WL 2609 BS), PEG-20 옥수수 글리세리드 (크로볼 M40), 및 PEG-20 아몬드 글리세리드 (크로볼 A40)를 포함한다.

[0197] 폴리글리세릴 지방산

[0198] 지방산의 폴리글리세롤 에스테르는 또한 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 계면활성제이다. 폴리글리세릴 지방산 에스테르 중에서, 바람직한 소수성 계면활성제는 폴리글리세릴 올레에이트 (플루롤 올레이크(Plurol Oleique)), 폴리글리세릴-2 디올레에이트 (니콜(Nikkol) DGDO), 폴리글리세릴-10 트리올레에이트, 폴리글리세릴 스테아레이트, 폴리글리세릴 라우레이트, 폴리글리세릴 미리스테이트, 폴리글리세릴 팔미테이트, 및 폴리글리세릴 리놀레에이트를 포함한다. 바람직한 친수성 계면활성제는 폴리글리세릴-10 라우레이트 (니콜 데카글린(Nikkol Decaglyn) 1-L), 폴리글리세릴-10 올레에이트 (니콜 데카글린 1-O), 및 폴리글리세릴-10 모노, 디올레에이트 (카프롤(Caprol).RTM. PEG 860), 폴리글리세릴-10 스테아레이트, 폴리글리세릴-10 라우레이트, 폴리글리세릴-10 미리스테이트, 폴리글리세릴-10 팔미테이트, 폴리글리세릴-10 리놀레에이트, 폴리글리세릴-6 스테아레이트, 폴리글리세릴-6 라우레이트, 폴리글리세릴-6 미리스테이트, 폴리글리세릴-6 팔미테이트, 및 폴리글리세릴-6 리놀레에이트를 포함한다. 폴리글리세릴 폴리리시놀레에이트 (폴리물스(Polymuls)) 또한 바람직한 계면활성제이다.

[0199] 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르

[0200] 프로필렌 글리콜과 지방산의 에스테르는 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 계면활성제이다. 이러한 계면활성제 부류에서, 바람직한 소수성 계면활성제는 프로필렌 글리콜 모노라우레이트 (라우로글리콜(Lauroglycol) FCC), 프로필렌 글리콜 리시놀레에이트 (프로피물스(Propymuls)), 프로필렌 글리콜 모노올레에이트 (미베롤(Myverol) P-06), 프로필렌 글리콜 디카프릴레이트/디카프레이트 (카프텍스(Captex).RTM. 200), 및 프로필렌 글리콜 디옥타노에이트 (카프텍스.RTM. 800)를 포함한다.

[0201] 스테롤 및 스테롤 유도체

[0202] 스테롤 및 스테롤의 유도체는 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 계면활성제이다. 바람직한 유도체는 폴리에틸렌 글리콜 유도체를 포함한다. 이 부류에서 바람직한 계면활성제는 PEG-24 콜레스테롤 에테르 (솔루탄(Solulan) C-24)이다.

[0203] 폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 지방산 에스테르

[0204] 다양한 PEG-소르비탄 지방산 에스테르가 이용가능하고, 본 발명의 실시양태에서 계면활성제로서 사용하기에 적합하다. PEG-소르비탄 지방산 에스테르 중에서, 바람직한 계면활성제는 PEG-20 소르비탄 모노라우레이트 (트윈-20), PEG-20 소르비탄 모노팔미테이트 (트윈-40), PEG-20 소르비탄 모노스테아레이트 (트윈-60), 및 PEG-20 소르비탄 모노올레에이트 (트윈-80)를 포함한다.

[0205] 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에테르

[0206] 폴리에틸렌 글리콜 및 알킬 알콜의 에테르는 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 계면활성제이다. 바람직한 에테르는 PEG-3 올레일 에테르 (볼포(Volpo) 3) 및 PEG-4 라우릴 에테르 (브리지(Brij) 30)를 포함한다.

[0207] 당 및 그의 유도체

[0208] 당 유도체는 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 계면활성제이다. 이 부류에서 바람직한 계면활성제는 수크로스 모노팔미테이트, 수크로스 모노라우레이트, 데카노일-N-메틸글루카미드, n-데실-β-D-글루코피라노시드, n-데실-β-D-말토피라노시드, n-도데실-β-D-글루코피라노시드, n-도데실-β-D-말토시드, 헵타노일-N-메틸글루카미드, n-헵틸-β-D-글루코피라노시드, n-헵틸-β-D-티오글루코시드, n-헥실-β-D-글루코피라노시드, 노나노일-N-메틸글루카미드, n-노닐-β-D-글루코피라노시드, 옥타노일-N-메틸글루카미드, n-옥틸-β-D-글루코피라노시드, 및 옥틸-β-D-티오글루코피라노시드를 포함한다.

[0209] 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페놀

[0210] 몇몇 PEG-알킬 페놀 계면활성제, 예컨대, PEG-10-100 노닐 페놀 및 PEG-15-100 옥틸 페놀 에테르, 틸록사폴, 옥톡시놀, 노녹시놀이 이용가능하며, 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합하다.

[0211] 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 (POE-POP) 블록 공중합체

[0212] POE-POP 블록 공중합체는 중합체성 계면활성제의 특유의 부류이다. 명확한 비율 및 위치에서 친수성 POE 및 소수성 POP 모이어티를 갖는 계면활성제의 특유의 구조는, 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 매우 다양한 계면활성제를 제공한다. 이러한 계면활성제는 신페로닉(Synperonic) PE 시리즈 (ICI); 플루로닉(Pluronic).RTM. 시리즈 (BASF), 엠칼릭스(Emkalyx), 루트롤(Lutrol) (바스프), 수프로닉(Supronic), 모놀란(Monolan), 플루라케어(Pluracare), 및 플루로닥(Plurodac)을 비롯한, 다양한 상표명으로 이용가능하다. 이들 중합체의 일반 명칭은 "폴록사머" (CAS 9003-11-6)이다. 이들 중합체는 화학식: HO(C2H4O)a(C3H6O)b(C2H4O)aH를 가지며, 여기서, "a" 및 "b"는 각각 폴리옥시에틸렌 폴리옥시프로필렌 단위의 수를 나타낸다.

[0213] 이러한 부류의 바람직한 친수성 계면활성제는 폴록사머 108, 188, 217, 238, 288, 338, 및 407을 포함한다. 이러한 부류에서의 바람직한 소수성 계면활성제는 폴록사머 124, 182, 183, 212, 331, 및 335를 포함한다.

[0214] 소르비탄 지방산 에스테르

[0215] 지반산의 소르비탄 에스테르는 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 계면활성제이다. 이들 에스테르 중에서, 바람직한 소수성 계면활성제는 소르비탄 모노라우레이트 (아를라셀(Arlacel) 20), 소르비탄 모노팔미테이트 (스판(Span)-40), 소르비탄 모노올레에이트 (스판-80), 소르비탄 모노스테아레이트를 포함한다.

[0216] 소르비탄 모노팔미테이트, 비타민 C의 양친매성 유도체 (이는 비타민 C 활성을 가짐)는, 가용화 시스템에서 2가지 중요한 기능을 할 수 있다. 첫째, 이는 미세환경을 조정할 수 있는 효과적인 극성 기를 보유한다. 이들 극성 기는 가장 수용성인 유기 고체 화합물 중 하나인 비타민 C 그 자체 (아스코르브산)를 이용할 수 있게 하는 동일한 기이다: 아스코르브산은 물에 약 30 wt/wt%까지 가용성이다 (예컨대, 염화나트륨의 용해도에 매우 가까움). 또한, 둘째, pH가 증가하는 경우 아스코르빌 팔미테이트의 분획을 더 가용성인 염, 예컨대, 소듐 아스코르빌 팔미테이트로 전환시키도록 한다.

[0217] 이온성 계면활성제

[0218] 양이온성, 음이온성 및 양성이온성 계면활성제를 포함한 이온성 계면활성제는 본 발명의 실시양태에서 사용하는 데 적합한 친수성 계면활성제이다. 바람직한 이온성 계면활성제로는 4급 암모늄 염, 지방산 염 및 담즙산 염을 포함한다. 구체적으로, 바람직한 이온성 계면활성제는 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 세틸피리디늄 클로라이드, 도세실 트리메틸 암모늄 브로마이드, 소듐 도세실술페이트, 디알킬 메틸벤질 암모늄 클로라이드, 에드로포늄 클로라이드, 도미펜 브로마이드, 소듐 술폰숙신산의 디알킬에스테르, 소듐 디옥틸 술포숙시네이트, 소듐 콜레이트, 및 소듐 타우로콜레이트를 포함한다. 이들 4급 암모늄 염은 바람직한 첨가제이다. 이들은 유기 용매 (예컨대, 에탄올, 아세톤, 및 톨루엔) 및 물, 둘 모두에 용해될 수 있다. 이는 의료 장치 코팅에 특히 유용한데, 그 이유는 그것이 제조 및 코팅 공정을 단순화하고, 양호한 부착성을 보유하기 때문이다. 수불용성 약물은 통상 유기 용매에 용해된다.

[0219] 지용성 비타민 및 그의 염

[0220] 비타민 A, D, E 및 K는 그의 다양한 형태 및 프로비타민 형태로 지용성 비타민으로 간주되고, 이외에도 다수의 다른 비타민 및 비타민 공급원 또는 밀접한 동족류 또한 지용성이고, 극성 기, 및 비교적 높은 옥탄올-물 분배 계수를 갖는다. 명백히, 이러한 화합물의 일반적인 부류는 안전한 사용의 이력 및 높은 이익/위험비를 가지며, 이는 본 발명의 실시양태에서 첨가제로서 이들을 유용하게 만든다.

[0221] 지용성 비타민 유도체 및/또는 공급원의 하기 예가 첨가제로서 유용하다: 알파-토코페롤, 베타-토코페롤, 감마-토코페롤, 델타-토코페롤, 토코페롤 아세테이트, 에르고스테롤, 1-알파-히드록시콜레칼시페롤, 비타민 D2, 비타민 D3, 알파-카로틴, 베타-카로틴, 감마-카로틴, 비타민 A, 푸르술티아민, 메틸올리보플라빈, 옥토티아민, 프로술티아민, 리보플라빈, 빈티아몰, 디히드로비타민 K1, 메나디올 디아세테이트, 메나디올 디부티레이트, 메나디올 디술페이트, 메나디올, 비타민 K1, 비타민 K1 산화물, 비타민 K2, 및 비타민 K-S(II). 엽산 또한 이러한 유형이며, 비록 그것이 생리적 pH에서 수용성이긴 하지만, 이는 유리산 형태로 제제화될 수 있다. 본 발명의 실시양태에서 유용한 지용성 비타민의 다른 유도체는 친수성 분자와의 널리 공지된 화학 반응을 통해 용이하게 얻을 수 있다.

[0222] 수용성 비타민 및 그의 양친매성 유도체

[0223] 비타민 B, C, U, 판토텐산, 엽산, 및 메나디온-관련 비타민/프로비타민 중 일부는 그의 많은 다양한 형태로 수용성 비타민으로 간주된다. 이들은 또한 소수성 모이어티 또는 다가 이온과 컨쥬케이트되거나, 착화되어 비교적 높은 옥탄올-물 분배 계수 및 극성 기를 갖는 양친매성 형태로 될 수 있다. 또한, 이러한 화합물은 독성이

낮을 수 있고 이익/위험비가 높아, 본 발명의 실시양태에서 첨가제로서 이들을 유용하게 만든다. 이들의 염은 또한 본 발명의 첨가제로서 또한 유용할 수 있다. 수용성 비타민 및 유도체의 예로는 제한 없이, 아세티아민, 벤토티아민, 판토텐산, 세토티아민, 시클로티아민, 덱스판테놀, 니아신아미드, 니코틴산, 피리독살 5-포스페이트, 니코틴아미드 아스코르베이트, 리보플라빈, 리보플라빈 포스페이트, 티아민, 엽산, 메나디올 디포스페이트, 메나디온 소듐 비술파이트, 메나독심, 비타민 B12, 비타민 K5, 비타민 K6, 비타민 K6, 및 비타민 U를 포함한다. 또한, 상기에서 언급된 바와 같이, 엽산은 생리적 pH를 포함하는 넓은 pH 범위에 걸쳐, 염으로서 수용성이다.

[0224] 아미노기 또는 다른 염기성 기가 존재하는 화합물은 쉽게 소수성 기-함유 산, 예컨대, 지방산 (특히, 라우르산, 올레산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 또는 2-에틸헥산산), 저-용해도 아미노산, 벤조산, 살리실산, 또는 산성 지용성 비타민 (예컨대, 리보플라빈)과 간단한 산 - 염기 반응에 의해 변형될 수 있다. 상기 산을 비타민 상의 또 다른 기, 예컨대, 히드록실 기와 반응시켜 결합, 예컨대, 예스테르 결합 등을 형성함으로써 다른 화합물이 수득될 수 있다. 산성 기를 함유하는 수용성 비타민의 유도체는 소수성 기-함유 반응물, 예컨대, 스테아릴아민 또는 리보플라빈과의 반응에서 생성되어, 예를 들어, 본 발명의 실시양태에서 유용한 화합물을 생성할 수 있다. 비타민 C에의 팔미테이트 쇄의 결합은 아스코르빌 팔미테이트를 생성한다.

[0225] 아미노산 및 그의 염

[0226] 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트 산, 시스테인, 시스틴, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 프롤린, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 발린 및 그의 유도체는 본 발명의 실시양태에서 다른 유용한 첨가제이다.

[0227] 특정 아미노산은, 1가 또는 다가 이온과의 염 형태로 및/또는 그의 양성이온성 형태로, 극성 기, 비교적 높은 옥탄올-물 분배 계수를 갖고, 본 발명의 실시양태에서 유용하다. 본 개시내용과 관련하여, 본 발명인들은 "저용해도 아미노산"을 비완충수에서의 용해도가 약 4% (40 mg/ml) 미만인 아미노산을 의미하는 것으로 간주한다. 이들은 시스틴, 티로신, 트립토판, 류신, 이소류신, 페닐알라닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루탐산, 및 메티오닌을 포함한다.

[0228] 유기 산 및 그의 에스테르 및 무수물

[0229] 예는 아세트산 및 무수물, 벤조산 및 무수물, 아세틸살리실산, 디플루니살, 2-히드록시에틸 살리실레이트, 디에틸렌트리아민펜타아세트산 이무수물, 에틸렌 디아민테트라아세트산 이무수물, 말레산 및 무수물, 숙신산 및 무수물, 디글리콜산 무수물, 글루타르산 무수물, 아스코르브산, 시트르산, 타르타르산, 락트산, 옥살산, 아스파르트 산, 니코틴산, 2-피롤리돈-5-카르복실산, 및 2-피롤리돈이다.

[0230] 이들 에스테르 및 무수물은 유기 용매, 예컨대, 에탄올, 아세톤, 메틸 에틸 케톤, 에틸아세테이트에 가용성이다. 수불용성 약물은 이들 에스테르 및 무수물을 갖는 유기 용매에 용해된 후, 의료 장치 상에 용이하게 코팅된 후, 높은 pH 조건하에서 가수분해될 수 있다. 가수분해된 무수물 또는 에스테르는 산 또는 알콜이고, 이들은 수용성이며, 효과적으로 약물을 장치로부터 제거하여 혈관 벽으로 운반할 수 있다.

[0231] **실시예**

[0232] 본 발명은 하기 실시예에 추가로 기술되며, 이는 특허청구범위에 기술된 본 발명의 범주를 제한하지 않는다.

[0233] 실시예 1: 수성 에어로졸 제제

[0234] 라파마이신의 예시적인 수성 제제를 하기 성분을 사용하여 제조하였다.

[0235]

성분	양(g)	질량 분율 (w/w)
라파마이신	0.1	0.01 %
에탄올	250	25 %
프로필렌 글리콜	250	25 %
폴리소르베이트 80	0.02	0.002 %
물	500	50 %
총합	1000	

[0236] 블렌딩 절차: 1,000 ml 갈색 부피 플라스크 중에서 250 프로필렌 글리콜을 250 에탄올과 균일할 때까지 블렌딩하였다. 이어서, 먼저 100 mg 라파마이신, 이어서, 20 mg 폴리소르베이트 80을 프로필렌 글리콜 및 에탄올 용액에 순차적으로 용해시켰다. 물을 첨가하여 부피를 1,000 ml로 만들고, 균일할 때까지 교반 또는 초음파 처리

하고, 모든 라파마이신을 용해시켰다. 빛으로부터 떨어져 제어 온도에서 보관하였다.

[0237] 실시예 2: 건식 분말 제제

[0238] 배치 06RP68.HQ00008 및 06RP68.HQ00009. 상기 두 제제는 각각 락토스 담체 입자의 표면 상에 분산된 미분화된 약물 (라파마이신) 입자의 블렌드였다. 각 배치의 최종 조성물은 각각 평균 직경이 약 2.60 ㎛ 및 3.00 ㎛인 1% (w/w) 약물 입자를 포함하였다. 적합한 크기 범위를 갖는 약물 입자를 하기 기술되는 바와 같이, 습식 연마 (06RP68.HQ00008) 또는 제트 밀링 (06RP68.HQ00009)에 의해 제조하였다. 본 실시예는 1% (w/w) 라파마이신을 사용하였지만, 범위 0.5 내지 20%가 실행가능하다. 담체 입자는 2종의 담체, 즉, 95.5% (w/w)로 존재하고, 입자 크기 (구체 등가 직경(equivalent spherical diameter))가 약 30 내지 100 ㎛인 레스피토스(Respitose)® SV003, 및 5.5% (w/w)로 존재하고, 입자 크기 (구체 등가 직경)가 10 ㎛ 미만인 레스피토스® LH300 (락토헤일(Lactohale) 300)의 블렌드로 이루어졌다. 블렌딩한 후, 블렌드를 검정하여 균질성 및 약물 함량이 1%임을 확인하였다.

[0239] 약물 입자 응집을 감소시키고 약물 입자의 에어로졸화를 돕기 위해, 몇몇 다른 부형제를 임의적으로 포함한다. 임의적 부형제로는 인지질, 예컨대, 디팔미틸포스파티딜콜린 (DPPC) 및 레시틴, 및 금속 지방산 염, 예컨대, 스테아르산 마그네슘을 포함한다. 이를 큰 담체 입자에 대한 부형제의 중량비가 0.01 내지 0.5%인 범위로 담체 입자 상에 코팅할 수 있다.

[0240] 캡슐 충전: 배치 06RP68.HQ00008 및 배치 06RP68.HQ00009로부터 20 mg의 분말 블렌드를 크기 #3 HPMC 캡슐에 로딩하여 약물 제품을 제조하였다. 이들 블렌드의 경우, 5 내지 35 mg의 약물을 #3 크기 캡슐에 로딩하고, 60 내지 100 ℓ/분 범위의 유량으로 플라스티아페® RS01 모델 7 또는 플라스티아페® RS00 모델 8 장치에서 작동시, 95% 초과의 로딩된 블렌드를 캡슐에서 비우는 것을 실행할 수 있었다.

[0241] 실시예 3: C57BL6 마우스에게 구강인두 흡인 (OPA) 및 경구 위관영양에 의해 투여 후의 폐 및 혈액 중의 라파마이신의 측정

[0242] 위관영양 및 구강인두 흡인 (OPA)에 의해 1 mg/kg의 매우 높은 표적 용량으로 라파마이신의 투여 후 수컷 C57BL/6 마우스에서의 라파마이신의 농도를 평가하기 위해 본 연구를 수행하였다. 액체 크로마토그래피와 텐덤 질량 분석법 검출 (LC-MS/MS)을 사용하여 마우스 혈액 및 폐 균질액에서 라파마이신을 분석 방법을 개발하였다. 마우스 혈액에서 1 ng/mL 내지 2,000 ng/mL, 및 마우스 폐 균질액에서 2 ng/mL 내지 20,000 ng/mL로 삼중 농도를 사용한 라파마이신의 보정 곡선을 분석하였다. 정확도, 정밀도 및 선형성이 예상 범위 내에 있었다.

[0243] 예비 연구에서, 에반스 블루(Evans Blue) 염료의 투여에 의해, 마우스 1마리당 50 ㎕의 부피로 구강인두 흡인을 통해 폐에 비히클을 전달하는 효율을 평가하였다. 오직 폐에만 청색 염료가 존재하는 것을 육안으로 확인할 수 있었고, 위에는 청색 염료가 존재하지 않는 것은 위로의 전달이 사용된 절차에서 방지되었다는 것 입증하였다.

[0244] 라파마이신을 경구적으로 또는 OPA를 통해 1.0 mg/kg의 용량으로 위관영양에 의해 수컷 C57BL/6 마우스 (N=6)에게 투여하였다. 경구 용량을 제약 경구 액체 제제인 라파뮨 오랄(Rapamune Oral)® (화이자)을 사용하여 제제화하였다. OPA용 라파마이신은, 시험 물품을 적절한 부피의 에탄올에 용해시킨 후, 적절한 부피의 물을 첨가하여 1 mg 라파마이신/mL의 농도로 10% 에탄올 용액을 제조함으로써 제조하였다. 라파마이신을 이소플루란 마취하에 OPA에 의해 6마리의 수컷 C57BL/6 마우스로 이루어진 2개 군에 투여하였다. 6마리로 이루어진 추가 군은 오직 비히클 (물 중 10% 에탄올)만을 받았다. 투여 후 1시간에, 경구 및 OPA 라파마이신을 받은 6마리로 이루어진 한 군을 안락사시키고, 심장 천자에 의해 혈액을 수득하고, 폐를 제거하였다. OPA에 의해 라파마이신 또는 비히클을 투여받은 각 군의 나머지 마우스를 추가 3일 동안 관찰하였다. 72시간에 부검시, 심장 천자에 의해 혈액을 수득하고, 폐를 제거하였다. 투약 후 72 h 기간에서 라파마이신 또는 비히클 처리 마우스에서 어떤 역효과도 관찰되지 않았다.

[0245] LC-MS/MS에 의해 수집 혈액 및 폐 균질액 중 라파마이신의 농도를 측정하였다. 라파마이신의 OPA 후 1 h에, 라파마이신의 농도는 혈액 (641 ± 220 ng/ml)에서보다 폐 조직 (3794 ± 1259 ng/g 조직)에서 ~6배 더 높았다. 유사한 용량의 라파마이신 경구 투여 후, 1 h에의 라파마이신의 폐 및 혈액 농도는 각각 71 ± 43 ng/g 및 23 ± 16 ng/mL이었다. OPA 후 폐 균질액 농도는 동일한 고용량의 (1 mg/kg) 라파마이신의 경구 투여 후에 측정된 것보다 53배 더 높았다. 데이터는 폐에 더 낮은 용량의 라파마이신 (시스템을 포화시키지 않은 용량 수준)의 전달은 경구 투약에 의해 달성될 수 있는 폐에서의 라파마이신 수준을 초래하지만, 경구 투약으로 발생하는 것보다 혈액 중 유의적으로 더 적은 라파마이신을 초래할 것이라는 점을 시사한다.

[0246] *물질 및 방법*

[0247] 시험 물질: 시롤리무스 (라파뮨, 라파마이신) MW 914.172, $C_{51}N_{79}NO_{12}$, CAS 번호: 53123-88-9. 공급원 (경구 위관영양용): 경구 투여용 라파뮨 오랄® (화이자), 로트(Lot) 번호: MWGT, 기한: 2016년 07월. 공급원 (OPA용): 라파마이신 (시롤리무스) 고체, LC 라보라토리즈(LC Laboratories: 미국 매사추세츠주 워번), 로트 번호: ASW-127, 기한: /2023년 12월.

[0248] 동물: 찰스 리버 라보라토리즈, 인크(Charles River Laboratories, Inc: 미국 노스캐롤라이나주 롤리)로부터의 대략 8주령된 수컷 C57BL/6 마우스. 동물에게 입증받은 퓨리나 설치동물 사료(Certified Purina Rodent Chow) #5002를 공급하고, 수돗물을 무제한으로 제공하였다. 영양소 수준과 가능한 오염 물질에 대한 각각의 사료 배치의 분석은 공급업체에 의해 수행되고, 연구 책임자에 의해 조사되고, 연구 기록으로 유지하였다. 사료는 대략 60 - 70° F에서 보관하고, 사용 기간은 밀링 일로부터 6개월을 초과하지 않았다. 마우스는 물병을 수용하는 스테인레스 강 바 뚜껑이 구비된 폴리카르보네이트 케이지에서 수용하였다 (케이지당 1마리씩). 케이지 크기는 마우스용으로 대략 11.5" x 7.5" x 5" 높이 (바닥 면적 70 sq.)였다. 접촉 베딩(Contact bedding)은 사니-칩스(Sani-Chips) 하드우드 칩(hardwood chip)이었다 (P. J. 머피. 포레스트 프로덕츠 컴퍼니(P. J. Murphy Forest Products Co.: 미국 뉴저지주 몬트빌)). 마우스를 연구 사용 전 5일 기간 동안 격리시켰다. 수의사 또는 자격을 갖춘 피지명인은 동물을 격리 해제 전에 조사하였다. RTI 동물 사육실에서 온도와 상대 습도를 자동화 시스템 (시그날(Signal)® 소프트웨어에 대한 개정(Revision) 4.4.1을 갖춘 시베(Siebe)/바버-콜만 네트워크(Barber-Colman Network) 8000 시스템(System) [시베 환경 제어(Siebe Environmental Controls: SEC)/바버-콜만 캄파니(Barber-Colman Company: 미국 일리노이주 러브즈 파크)])을 사용하여, 연속적으로 모니터링하고, 제어하고, 기록하였다. 표적 환경 범위는 하루에 12 h 명주기로, 온도는 64-79° F (18℃ 내지 26℃)이고,30-70% 상대 습도였다. 생존 단계의 종료시, 이산화탄소에 과다 노출시켜 마우스를 안락사시켰다.

[0249] 시험 화학 제조: 에반스 블루를 멸균 증류수에서 0.5% w/v로 제조하였다. 라파뮨 오랄®을 경구 투약용으로 공급된 바와 같이 투여하였다. 라파마이신 (고체)을 에탄올에 용해시키고, 멸균 증류수에 희석하여 10% 에탄올 중 0.5 mg/mL의 최종 농도를 제공하였다.

[0250] 투약: 투여되는 투여량을 측정하기 위해 투여 전에 각 동물의 체중을 측정하였다. 단일 위관영양 용량을 볼 붙은 20-G 스테인레스 강 위관영양 투약 바늘 (포퍼 & 손즈 인크.(Popper & Sons Inc.): 미국 뉴욕주 뉴 하이드 파크)이 장착된 100 ㎕ 유리 시린지 (해밀턴(Hamilton): 미국 네바다주 리노)를 사용하여 투여하였다. 전체 시린지의 중량에서 비어 있는 시린지의 중량을 감산하여 각 동물에게 투여된 용량을 측정하였다. 투약 시간을 기록하였다. 적절한 시점에 혈액을 수집할 수 있도록 하기 위해 일정 간격을 두고 동물에게 투약하였다. 각 군에게 투여된 제제 용량은 하기에 제시되어 있다.

[0251] 구강인두 흡인 군 동물의 경우, 단일 용량의 라파마이신 (50 ㎕)을 볼 붙은 24-G 스테인레스 강 위관영양 투여 바늘 (포퍼 & 손즈 인크.,: 미국 뉴욕주 뉴 하이드 파크)이 장착된 100 ㎕ 유리 시린지 (해밀턴: 미국 네바다주 리노)를 사용하여, 이소플루란 마취하에 각 마우스에게 투여하였다. 투약 전에 마우스 체중을 측정하고, 투여된 라파마이신의 용량을 중량 기준으로 기록하였다. 각 마우스를 이소플루란으로 마취시키고, 입을 벌리도록 제지하였다. 혀를 겸자로 입 한쪽으로 유지시키고, 용량을 구강의 말단 부분에 서서히 주입하였다. 2회의 호흡 동안 손가락으로 콧구멍을 막아 흡인이 확실히 일어나도록 하였다 (문헌 [Rao et al., 2003]).

표 1

연구 디자인 요약

투약 군	경로	화합물	동물 마리수	표적 용량 (mg/ml)	표적 용량 (ul)	표적 용량 (mg/kg)	수집 시점	수집된 샘플
1	OA	에반스 블루	6	-	50	0	1	혈액, 폐
2	OA	라파마이신	6	0.5	50	1.0	1	혈액, 폐
3	위관영양	라파마이신 경구	6	1.0	25	1.0	1	혈액, 폐
4	OA	비히클	6	0	50	1.0	72	혈액, 폐
5	OA	라파마이신	6	0.5	50	1.0	72	혈액, 폐

[0252]

[0253] 혈액 및 폐 샘플의 수집: 연구 종결시 (투약 후 1 또는 72 h), 마우스를 CO_2에 노출시켜 마취시키고, 항응고제로서 디포타슘 EDTA를 이용하여 심장 천자에 의해 혈액을 수집하였다. 폐 조직을 적출하고, 좌우 폐로 분할하였다. 좌측 폐는 분석에 사용하고, 우측 폐는 액체 질소에서 급냉시키고, 추가 분석을 위해 -70℃에서 보관하였다.

[0254] LC-MS/MS에 의한 라파마이신에 대한 샘플 분석: 문헌 [Wu et al. (2012)]의 공개된 방법에 기초하여 폐 및 혈액 중의 라파마이신의 분석을 위한 LC-MS/MS 방법을 준비하였다. 혈액 및 폐 균질액의 부피를 공개된 방법으로부터 실질적으로 감소시켰다. 트리암시놀론을 내부 표준으로 사용하였다.

[0255] SPEX에서 샘플프렙(SamplePrep) 2010 제노(Geno)/그라인더(Grinder)에서 조직 + 탈이온수 (1:3 w/v)로 균질화기에서 2.8-mm 볼 베어링으로 측량된 폐 샘플을 균질화하여 폐 균질액을 준비하였다.

[0256] 각각의 표준이 대안적 스톡 표준으로부터 유래되도록 표준의 농도를 배열하였다. 각각 3중으로 만들어진, 6점 보정 곡선을 분석물 정량을 위해 사용하였다. 중량을 측정하거나, 측정하지 않고, 곡선 피팅을 위해 단순 선형 회귀 모델을 사용하였다. 측정된 농도 범위는 혈액에서 1-2,000 ng/mL이고, 폐 균질액에서 2-2,000 ng/mL이었다.

[0257] 하기 방법 성능 파라미터는 허용되는 것으로 간주하였다; 농도-반응 관계에 대한 결정 계수 r^2 ≥0.98; 공칭 값의 의 정확도 ≤ ± 15% (LOQ 초과의 농도의 경우) 또는 ≤ ± 20% (LOQ에서의 농도의 경우). r^2는 모든 분석에서 0.999를 초과하였다.

[0258] 삼십 (30) ㎕의 매트릭스, 30 ㎕의 스파이킹 용액 (spiking solution) (블랭크 및 샘플용 메탄올), 10 ㎕ 내부 표준 용액 (MeOH 중) 및 90 ㎕의 MeOH를 마이크로원심분리기 관에 피펫팅하고, 단기간 와동시킨 후, ~4℃에서 10,000 RPM으로 6 min 동안 원심분리하였다. 분취량 (90 ㎕)의 상청액을 LC 바이알 인서트로 옮긴 후, LC-MS/MS (하기 표 2)에 의해 분석하였다.

표 2

[0259]

LC-MS/MS 방법	
칼럼	워터스 액퀴티(Waters Acquity) UPLC HSS T3 1.8 ㎛, 2.1 x 50 mm와 뱅가드(VanGuard) 2.1 x 5 mm HSS T3 1.8 ㎛
이동상 A	10 mM 물 중 아세트산암모늄, 0.1% 아세트산
이동상 B	MeOH
주입 부피	2 ㎕
유속	0.5 ml/min
구배	1 min 동안 70% A, 1-3 min 동안 5% A로 선형 구배, 1 min 동안 유지, 4-5.1 min 동안 70% A로 선형 구배, 및 6 min까지 70%로 유지
라파마이신 MRM	931.70→864.70
트리암시놀론 (IS MRM)	395.30→357.20

[0260] 데이터 수집 및 보고: 연구 데이터를 수집하고, 데브라(Debra)™ 시스템 버전 5.5.10.72 (래블로직 시스템즈 리미티드(Lablogic Systems Ltd.: 영국, 셰필드))에서 기록하였다. 이는 동물의 체중, 투여된 용량, 투약 시간, 및 샘플 수집 시간에 대한 데이터를 포함한다. 투여된 용량 및 샘플 수집 시간의 계산은 데브라™ 시스템을 이용하여 기록하였다.

[0261] *결과*

[0262] 라파마이신 분석: 라파마이신의 분석을 30 ㎕의 혈액 및 폐 균질액의 샘플 부피로 설정하였다. 실시예 크로마토그램은 혈액 및 폐 중 라파마이신 및 내부 표준에 대해 제시되어 있다 (도 1 및 2). 연구 샘플을 생성시키기 전에, 폐 및 혈액에 관한 삼중 보정 곡선을 작성하여 방법 성능을 확인하였다. 보정 범위는 혈액의 경우, 1.0-2,000 ng/mL이고, 폐 균질액의 경우, 1-20,000 ng/mL이었다. 3 부피의 물에서 균질화한 1 g의 폐 조직으로 폐 균질액을 제조하여, 1:4 균질액을 산출하였다. 혈액, 폐 균질액, 및 용매에 관한 보정 곡선은 도 3 및 도 4에 제시되어 있다.

[0263] 구강인두 흡인: 구강인두 흡인에 의한 라파마이신의 투여 이전에, 에반스 블루의 투여를 사용하여 OPA를 통해 용량이 폐로 전달되었는지를 확인하였다. 마우스를 이소플루란으로 마취시키고, 무딘 바늘이 장착된 시린지를 사용하여, OPA에 의해 에반스 블루를 투여하였다. OPA 직후에, 마우스를 안락사시키고, 에반스 블루 염료가 확실하게 폐로 전달되고, 위로는 전달되지 않도록 폐 및 위장을 육안으로 검사하였다. 4마리 마우스에게 에반스 블루가 성공적으로 투여되었고, 염료 모두 폐에 위치하고, 위에는 전혀 없는 것으로 나타났다.

[0264] 라파마이신 투여: 투여된 용량 용액의 중량은 투약 전에 용량 용액으로 충전된 시린지의 중량을 측정하고, 투약 후에 중량을 측정함으로써 측정하였다. 투여된 용량 용액의 중량을 사용하여 투여된 라파마이신의 투여량을 계산하였다. 투약 시점을 0으로 기록하였다. 2군 및 3군의 동물을 투약 후 1 h에 안락사시켰다. 4군 및 5군의 동물은 투약 후 72 h 동안 관찰하였다. 어느 군에서도 어떤 유의적인 임상 징후도 관찰되지 않았다.

[0265] 혈액 및 폐 중 라파마이신 분석: 라파마이신을 수집된 샘플 모두에서의 마우스 혈액 및 좌측 폐 균질액에서 분석하였다 (도 5 및 6). 각 동물로부터 우측 폐의 샘플은 잠재적인 추가 분석을 위해 남겨 두었다. 샘플에 대한 요약 데이터는 하기 표 3에 제공되어 있다.

표 3

마우스에 라파마이신 (1 mg/kg)을 경구 및 구강인두 (OPA) 투여한 이후의 혈액 및 폐 중 라파마이신의 농도

동물 번호	투여 경로	투약 후 경과 시간 (h)	폐 (ng/g 조직)	혈액(ng/ml)
2-07	OPA	1	5040	615.5
2-08	OPA	1	2642	455.5
2-09	OPA	1	4500	622
2-10	OPA	1	1874	364.5
2-11	OPA	1	4006	937
2-12	OPA	1	4700	848.5
평균			3794	641
SD			1259	220
3-13	위관영양	1	109.8	49.85
3-14	위관영양	1	24.66	11.3
3-15	위관영양	1	122.8	28.7
3-16	위관영양	1	54	28.35
3-17	위관영양	1	<LOQ	2.845
3-18	위관영양	1	43	19.35
평균			71	23
SD			43	16
5-25	OPA	72	11.7	<ELOQ
5-26	OPA	72	11.4	<ELOQ
5-27	OPA	72	15.7	<ELOQ
5-28	OPA	72	10.8	<ELOQ
5-29	OPA	72	11.9	<ELOQ
5-30	OPA	72	13.6	<ELOQ
평균			12.5	
SD			1.9	

[0266]

[0267] 모든 샘플 세트에 대해, 삼중 보정 곡선을 표준 세트, 샘플 복제 1, 표준 세트, 샘플 복제 샘플 2, 표준 세트의 순서로 분석하였다. 라파마이신의 OPA 후 1 h, 라파마이신의 농도는 혈액 (641 ± 220 ng/ml)에서보다 폐 조직 (3794 ± 1259 ng/g 조직)에서 ~6배 더 높았다. 유사한 용량의 라파마이신 경구 투여 후, 라파마이신의 1 h 폐 및 혈액 농도는 각각 71 ± 43 ng/g 및 23 ± 16 ng/mL였다. OPA 후의 폐 균질액 농도는 라파마이신의 동일한 고용량의 (1 mg/kg) 라파마이신의 경구 투여 후에 측정된 것보다 53배 더 높았다.

[0268] *논의*

[0269] 본 연구는 시판되는 경구 제제에서의 위관영양에 의해, 및 10% 수성 에탄올 중에서 제조된 현탁액으로서 구강인두 투여 (OPA)에 의해 라파마이신을 투여한 후의 혈액 및 폐 조직 중 라파마이신의 농도를 조사하였다. OPA를 통해 투약한 후 최대 72 h까지 라파마이신 또는 비히클 처리 마우스에서 어떤 역효과도 관찰되지 않았다. 라파마이신의 투여 이전에, 분석 방법을 개발하고, OPA에 의한 폐로의 염료 투여를 확인하였다. OPA 후 폐 중 라파마이신의 농도는 혈액에서보다 6배 더 높았다. OPA 후 72 h에, 라파마이신은 혈액에서 정량 한계 미만이었지만, 폐에서는 검출가능하였다. 본 연구는 라파마이신이 폐 투여 후에 전신에서 이용가능하며, 폐 조직 농도가 폐로의 전달 후 초기 및 후기 시점에서 혈액 농도를 크게 초과했다는 것을 밝혔다.

[0270] 이들 결과는 폐에 직접 전달된 라파마이신은 혈액과 비교하였을 때, 폐 조직에서 예상 밖으로 높은 국소 농도의 약물을 달성한다는 것을 추가로 입증한다. 이 결과는 폐 조직 및 혈액에서 대략 동등한 농도의 약물을 예측하

는, 라파마이신의 약리학적 성질에 관해 공지된 것으로부터는 전적으로 예기치 못한 것인데, 그 이유는 라파마이신은 신체 조직 전역에 걸쳐 균일하게 분포되어 있다는 것이 공지되어 있으며, 그의 높은 친유성으로 인해 폐로부터 신속하게 제거되어야 하기 때문이다. 따라서, 이들 결과는 폐에 라파마이신을 직접 투여하는 것이 치료 효능을 위해 충분히 높은 전달 용량을 달성하면서, 동시에 거의 검출불가능한 전신 이용률을 달성할 수 있고, 이로써, 약물에의 전신 노출로 인한, 경구 투여와 연관된 독성을 제거할 수 있다는 것을 나타낸다. 폐 자체에 대한 독성 또한 종래 연구의 관점에서 관심사였지만, 여기서 결과는 예상 밖으로 비교적 높은 양의 라파마이신이 폐 조직에 격심하게 유해하지 않았다는 것을 추가로 나타낸다.

[0271] 실시예 4: 라파마이신은 TSC2 돌연변이체 세포의 생존가능성을 억제시키고, S6 인산화를 억제시킨다.

[0272] 혈관근지방종 (AML) 유래 TSC2 결핍 TRI-AML101 세포주에 대한 라파마이신의 항증식성 활성을 시험하였다. TRI-AML101 세포주는, 엘리자베스 헨스케(Elizabeth Henske) 박사 (폭스 체이스 캔서 센터(Fox Chase Cancer Center: 미국 펜실베이니아주 필라델피아)로부터 제공받은 TSC2 결핍 원발성 인간 AML로부터 유래된 것이었다. 2 단계 공정으로 종양 세포를 무한증식 (immortalize)시켰다. 먼저, HPV16 E6 및 E7 오픈 리딩 프레임 및 네오마이신 저항성 카세트를 코딩하는 암포트로픽 레트로바이러스 LXSN16E6E7로 세포를 감염시켰다. 세포를 확장시키고, 네오마이신 선별을 수행하였다. 개별 클론을 단리시키고, 냉동시켰다. 이어서, 히그로마이신 저항성 카세트를 포함하는 인간 텔로머라제 유전자 (hTERT) (pLXSN hTERT-hyg 플라스미드)로 형질감염시키고, 히그로마이신 선별에 의해 안정한 세포주를 선별하였다.

[0273] 세포 생존가능성에 관한 10점 용량 반응 분석을 수행함으로써 TRI-AML101 세포에서 라파마이신 활성에 대해 시험하였다. 96 웰 플레이트 중 웰 1개당 50 uL의 성장 배지 (DMEM, 10% FBS, 및 1% 페니실린/스트렙토마이신) 중 2,000개의 세포를 플레이팅하였다. 세포를 플레이팅한 후 24시간 경과하였을 때, 라파마이신 (0.0005-5000 nM, 10배 희석액, 0.1% 최종 DMSO 농도) 또는 오직 DMSO만을 함유하는 또 다른 50 uL의 성장 배지를 세포에 첨가하였다. 화합물 첨가 후 72시간에, 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)® 발광 검정법 (프로메가(Promega))에 의해 상대적인 세포 생존가능성을 측정하고, 이를 비히클 (DMSO) 처리된 대조군 세포에 대한 상대적인 비율로서 표시하였다. 라파마이신은 0.05 nM만큼 낮은 농도에서 생존가능성을 억제시켰다 (도 7, 하단). 웨스턴 블롯에 의해 인산화된 S6의 수준을 측정함으로써 mTOR 경로 억제 또한 입증하였다. AML 세포를 24시간 동안 20 nM 라파마이신과 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 웨스턴 블롯을 수행하였고, 라파마이신이 S6 인산화를 강력하게 억제시킨다는 것을 입증하였다 (도 7, 상단).

[0274] 실시예 5: 라파마이신의 경구 및 OPA 투여 후의 마우스 폐에서의 S6 인산화

[0275] 상기 논의된 바와 같이, 경구 투여 및 OPA 이후의 폐 및 혈액 중 라파마이신의 조직 분포를 보여주는 본 발명자들의 실험은 폐에 라파마이신을 직접 투여하는 것이 치료 효능을 위해 충분히 높은 전달 용량을 달성하면서, 동시에 약물에의 매우 낮은 전신 노출을 달성할 수 있고, 이로써, 동시에 치료 효능을 개선시키고, 라파마이신의 경우 경구 투여와 연관된 많은 독성을 제거할 수 있다는 것을 입증하였다. 상기 접근법을 확인하기 위해, 본 발명자들은 mTOR 활성에 대한 바이오마커로서 뮤린 폐 조직 중의 인산화된 S6 단백질의 존재를 사용하였다. 사용되는 마우스 계통 ((C57bl/6)에서, 마우스 기도 및 폐포 상피 세포는 구성적으로 활성을 띠는 (인산화된, "p") S6 단백질을 포함한다. S6 단백질은 전형적으로는 mTORC1의 하류에 있고, 예를 들어, 성장 인자, 예컨대, 표피 성장 인자 (EGF), AKT, ERK, 및 RSK의 하류에서 활성화되는 S6K에 의해 인산화된다. mTORC1은 동화 작용 프로세스, 예컨대, 지질, 단백질, 및 세포 소기관의 생합성을 자극시키고, 이화 작용 프로세스, 예컨대, 자가포식을 억제시킴으로써 세포 성장 및 증식을 촉진시킨다. mTORC1 경로는 매우 다양한 프로세스, 예컨대, 단백질 및 지질 합성 및 자가 포식을 조절하기 위해, 성장 인자, 산소, 아미노산, 및 에너지 상태를 비롯한, 세포내 및 세포외 신호를 감지하고, 통합한다. mTORC1은 라파마이신에 대하여 격심한 감수성을 띤다.

[0276] 본 연구에서는 OPA (n=6)를 통해 또는 경구 위관영양 (n=6)을 통해 비히클 (n=6), 또는 1 mg/kg 라파마이신을 투여받은, 상기 논의된 바와 같이 처리된 C57bl/6 마우스로부터 투약 후 2개의 시점, 1 hr 및 72시간에 폐 조직을 채취하였다. 상기 논의된 바와 같이, OPA 후 1 hr에, 라파마이신은 혈액 중에서는 641 ng/ml로, 및 폐에서는 3794 ng/g 조직으로 검출되었고, 72 hr에 폐에서는 12.5 ng/g으로 여전히 검출가능한 반면, 상기 시점에 혈액 중에서는 검출불가능하였다. 역으로, 경구 (위관영양) 투여 후, 1 hr에, 라파마이신은 혈액 중에서는 23 ng/ml로, 및 폐에서는 71 ng/g 조직으로 검출되었고, 72 hr에 폐 또는 혈액 중에서는 검출불가능하였다. 도 8a의 데이터에 제시되어 있는 바와 같이, 인산화된 S6 (pS6) 수준은 실질적으로 OPA 및 경구적으로 투여된 라파마이신, 둘 모두에 감소되었고, OPA의 경우, 72 hr에도 여전히 억제된 상태 그대로 유지되었다. pS6은 비히클 대조군에서 가장 높았으며, 그 이유는 상기 마우스가 구성적으로 활성을 띠는 mTOR 신호전달을 가지고 있기 때문

이었다. 이러한 데이터는 폐에서 약 70 ng/g 약물을 달성하는데 충분한 라파마이신의 전달 용량이 pS6 단백질에 의해 측정되는 바와 같이, 실질적으로 mTOR 신호전달을 파기하고, mTOR 신호전달은 12.5 ng/g만큼 낮은 수준으로 억제된 상태 그대로 유지된다는 것을 나타낸다. 이러한 결과는, 흡입된 라파마이신은 동시에 높은 치료 효능 및 매우 낮은 독성을 달성하면서, 경구적으로 투여되는 라파마이신보다 훨씬 더 낮은 용량으로 전달될 수 있다는 것을 입증함으로써 비정상적으로 높은 mTOR 경로 활성을 특징으로 하는 질환 및 장애 치료를 위해 흡입된 라파마이신을 사용하는 본 발명자들의 접근법을 확인시켜 준다.

[0277] 실시예 6: 흡입된 라파마이신은 폐 조직에서 S6 인산화를 억제시킨다

[0278] 0.354 mg/kg의 표적 용량의 라파마이신 (LAM-001)을 달성하기 위해 흡입에 의해 정상 스프라그-돌리 래트 (Sprague-Dawley Rat) (N=36)에 투약하였고, 하기 시점에 6마리로 이루어진 서브군을 희생시켰다: (1) 투약 이전, (2) 투약 도중, (3) 투약 직후, (4) 투약 후 2시간에, (5) 투약 후 4시간에 및 (6) 연구 1일에 투약 후 12시간에. 찰스 리버는 그의 서브군 시점에서 각 희생된 동물에 대한 폐 중 라파마이신 농도를 측정하고, 각 군에 대한 평균 라파마이신 농도는 하기 표에 조직 1 g당 라파마이신의 나노그램수 (ng/g)로 기록되어 있다.

표 4

흡입에 의한 투여 이후의 폐 조직 중 라파마이신

[0279]

표적 용량 11 ug 1일째	투약 도중	투약 직후	투약 후 2hr째	투약 후 4hr째	투약 후 12hr째
평균 폐 라파마이신(ng/g):	462	560	250	192	95

[0280] 각 동물로부터 폐 샘플을 수집하고, 급속 냉동시켰다. 개별 냉동 폐 샘플을 프로테아제 및 포스파타제 억제제를 함유하는 1X RIPA 완충제 중에서 균질화하였다 (제조사의 프로토콜에 따라 퀴아젠 티슈라이저 LT(Qiagen TissueLyser LT))). 전체 S6 단백질 S6 리보솜 단백질 (셀 시그널링 테크놀러지(Cell Signaling Technology) 항체, 클론 5G10) 수준과 비교하여 mTOR 하류 표적인 포스포-S6 리보솜 단백질 (Ser240/244) (셀 시그널링 테크놀러지 항체, 클론 D68F8)의 웨스턴 블롯 분석에 의해 폐 균질액을 분석하였다. NIH 이미지J(imageJ) v1.48에 의해 웨스턴 블롯 영상을 분석하여 각 폐 샘플에 대한 각 항체 반응성/강도를 작성하고, 전체 S6 강도에 대한 S6 인산화 (S6-P)의 비를 생성하였다. 시점 군 (X축)에 의해 조직화된, 샘플에 대한 S6-P/전체 S6 비 (y축)를 변수 산점도 수직 그래프를 나누는 것 (그래프패드(GraphPad), 버전 4.0) 에서 플롯팅하였고, 그 군 중의 모든 샘플은 그래프 상에서 필링된 검은색 점 (●)으로 표시되고, 평균은 각 개별 군 내의 점들 사이의 수평선으로 표시된다 (도 8b).

[0281] 실시예 7: 흡입된 라파마이신은 예상 밖의 폐로의 생체분포를 보인다.

[0282] 라파마이신은 고용량의 경구 또는 IV 투약 후 폐에서 수집된다고 문헌에 보고된 바 있다 (문헌 [Yanez, J. *et. al.*, Pharmacometrics and Delivery of Novel Nanoformulated PEG-b-poly(ε-caprolactone) Micelles of Rapamycin, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 61 (1), 133-144 2007]). 스프라그-돌리 (SD) 래트에게로의 10.0 mg/킬로그램 (mg/kg)의 단일 용량의 투여 후, 조직 구획 전역에 걸쳐 분포될 수 있도록 시간 (24시간)을 허용한 후, 폐 중 라파마이신의 양은 721 나노그램/그램 (ng/g)이었고, 이는 대략 혈중 농도의 19배 정도되는 양인 것으로 (하기 표 5) 본 연구에서 보고되었다.

표 5

야네스(Yanez) 등에 따른 IV 투여 후 폐 및 혈액 중 라파마이신의 생체분포

[0283]

야네스 1일째 (단일 투약 후 24시간째)				
IV 용량 (mg/kg/일)	폐 중 라파마이신 (ng/g)	폐/혈액 비	1일 1회 인간 용량 등가량 (mg)	혈액 중 라파마이신 (ng/ml)
10	721	19	600	31

[0284] 나폴리(Napoli)에 의한 조기의 별도의 연구에서 (문헌 [Napoli, K., *et. al.*, Distribution of Sirolimus in Rat Tissue, *Clinical Biochemistry*, 30(2):135-142, 1997]), SD 래트에게 다양한 용량의 라파마이신을 매일 경구 및 정맥내 (IV) 투여 경로에 의해 투여하였다. IV 투여 후 14일 경과하였을 때, 폐 조직 중 라파마이신 농도는 용량에 비례하여 200 내지 900 ng/g 범위였고, 이는 혈액 중 농도보다 대략 23 내지 44배 더 높은 값이었다. 그러나, 경구 투여의 경우, 같은 용량일 때, 비록 라파마이신의 혈액 농도에 대한 폐의 비가 대략 동일할지라도, 훨씬 더 낮은 수준의 라파마이신이 폐에 축적되었다 (하기 표 6).

표 6

나폴리에 따라 14일 동안에 걸친 매일 1일 1회 IV 투여 14회째를 수행한 후 24 hr째의 라파마이신의 생체분포

나폴리 14일째 QD (14번째 투약 후 24시간째)				
IV 용량 (mg/kg/일)	폐 중 라파마이신 (ng/g)	폐/혈액 비	1일 1회 인간 용량 등가량 (mg)	혈액 중 라파마이신 (ng/ml)
0.04	219	23	2.4	9.4
0.08	457	30	4.8	15.0
0.16	677	33	9.6	20.6
0.40	868	44	24	19.6
경구 용량 (mg/kg/일)	폐 중 라파마이신 (ng/g)	폐/혈액 비	1일 1회 인간 용량 등가량 (mg)	혈액 중 라파마이신 (ng/ml)
0.4	42	53	3.4	0.8
0.8	59	28	6.7	2.1
1.6	175	24	13.4	7.4

[0285]

[0286] 본 발명자들이 흡입을 통한 투여 이후의 라파마이신의 생체분포를 조사하였을 때, 본 발명자들은 혈액에 대한 폐의 비가 유사하더라도, 라파마이신이 나폴리 및 야네스에 기초하여 예측된 것보다 훨씬 더 많이 폐에 축적된다는 것을 발견하게 되었다.

[0287] 제1 연구에서, 라파마이신을 1일 동안 2가지 용량: (1) 1.0 mg/kg/일 및 (2) 0.0360 mg/kg/일로 흡입에 의해 SD 래트에게 투여하였다. 조직 구획으로 분포될 수 있도록 12시간을 허용한 후, 고용량의 경우, 폐 중 라파마이신 최저 농도는 약 14,800 ng/g이었고, 폐 중 라파마이신 농도는 혈액 중 농도보다 대략 23배 더 높았다 (하기 표 7). 저용량의 경우, 폐 중 농도는 혈액 중 농도보다 24배 더 높았다 (표 7). 하기 표 8에는 이전 실험에서 사용되는 것과 동일한 두 용량, 즉, 1.0 mg/kg/일 및 0.0360 mg/kg/일로 5일 동안 1일 1회 반복 투여한 후의 폐 중 최저 농도, 혈액 중 최대 및 최저 농도가 제시되어 있다.

표 7

단일 투약 후 12 hr째의 흡입을 통한 라파마이신의 생체 분포

흡입된 용량 (mg/kg/일)	폐 중 라파마이신 (ng/g)	폐/혈액 비	1일 1회 인간 용량 등가량 (mg)	혈액 중 라파마이신 (ng/ml)
1.00	14831	23	60	645
0.0360	95	24	2.16	4

[0288]

표 8

(5일째 최저치에서 측정된) 1일 1회 흡입을 통한 라파마이신의 생체 분포

흡입된 용량 (mg/kg/일)	폐 중 라파마이신 (ng/g)	폐/혈액 비	1일 1회 인간 용량 등가량 (mg)	혈액 중 라파마이신 (ng/ml)
1.0000	17163	23	60	746
0.0360	87	22	2.16	4

[0289]

[0290] 야네스 및 나폴리의 이전 연구에 따르면, 상기 초기 연구 결과는 흡입에 의한 폐로의 라파마이신 전달이 예컨대, 경구 또는 정맥내 투여과 같은 대안적 투여 경로에 의해 달성될 수 있는 것보다 현저히 더 높은 농도의 약물을 폐 조직에서 얻을 수 있다는 것을 나타낸다. 또한, 야네스 및 나폴리로부터 예측된 것에 기초하였을 때, 흡입을 통한 전달 후 폐 중 높은 양의 라파마이신은 예상 밖으로 더 높았다. 정맥내 투여 경로 및 흡입 투여 경로, 둘 모두, 라파마이신의 생체이용률은 높은 바, 이에 흡입된 1 mg/kg의 용량은 나폴리의 0.4 mg/kg/일 IV 용량에 의해 관찰되는 것의 약 2.5배의 폐 농도를 달성할 수 있을 것으로 예측되었다. 대신, 흡입을 통해 투여되었을 때, 폐 중 라파마이신의 수준은 대략 17배 더 높았다 (표 7 (흡입을 통해 1 mg/kg/일로 투여한 경우, 폐 중 약물 14,831 ng/g) 대 표 6 (나폴리) (0.40 mg/kg/일로 IV 투여한 경우, 폐 중 868 ng/g) 비교; 14,831/868 = 17). 유사하게, 야네스에 의해 정맥내 투여된 10 mg/kg의 용량은 흡입을 통해 투여된 1 mg/kg 용량으로 달성된 것보다 약 10배 더 높은 폐 중 라파마이신 농도를 달성하는 것으로 예측되었다. 대신, 정맥내 투여된 용량은 흡입을 통해 투여된 용량보다 대략 20배 더 적은 폐 농도를 달성하였다 (표 7 (흡입을 통해 1 mg/kg/일로 투여한 경우, 폐 중 약물 14,831 ng/g) 대 표 5 (야네스) (10 mg/kg/일로 IV 투여한 경우, 폐 중 721 ng/g) 비교; 14,831/721 = 21). 이는 폐에서의 낮은 대사 활성 및 폐 조직 구획으로부터 전신 순환으로의 라파마이신의 느린 수동적 또는 능동적 수송이 원인이 될 가능성이 있다. 정확한 기전과 상관 없이, 상기 결과는 라파마이신의 폐로의 전달이, 순환 농도는 낮은 상태 그대로 유지시키면서, 국소 농도는 지속적으로 높게 만든다는 것을 나타낸다.

[0291] 상기 초기 연구의 결과는 추가의 래트 연구 및 개 연구에서 반복되었고, 확장되었다. 이들 후속 연구는 정상 스프라그-돌리 (SD) 래트 및 비글(Beagle) 개에게 흡입에 의해 투여된, 락토스와 블렌딩된 1% (w/w) 라파마이신으로 이루어진 건식 분말 에어로졸 제제의 반복 투약 독성 및 독성동태학적 성질을 측정하기 위해 구축되었다. 제1 연구에서, 표준 원통형 관류식 코 전용 흡입 챔버를 사용하여 건식 분말 제제를 SD 래트에게 투여하였다. 5일 연속, 0.354 mg/kg의 라파마이신의 표적 용량을 달성하기 위해 동물을 매일 300분 동안 시험 물품에 가하였다. 본 연구를 위해 독성동태학적 성질 측정을 수행하는 데 2 세트의 동물을 사용하였다. 제1 세트의 동물에는 연구 1일에 300분 동안 투약하고, 6마리의 서브군에서 하기 시점: (1) 투약 이전, (2) 투약 도중, (3) 투약 직후, (4) 투약 후 2시간에, (5) 투약 후 4시간에 및 (6) 투약 후 12시간에, 희생된 동물로부터 혈액 샘플 (N=36) 및 폐 샘플 (N=36)을 채취하였다. 제2 세트의 동물에는 5일 연속 300분 동안 투약하고, 연구 5일에 6마리의 서브군에서 하기 시점: (1) 투약 이전, (2) 투약 도중, (3) 투약 직후, (4) 투약 후 2시간에, (5) 투약 후 4시간에 및 (6) 투약 후 12시간에, 희생된 동물로부터 혈액 샘플 (N=36) 및 폐 샘플 (N=36)을 채취하였다. 전혈 중 라파마이신의 최대 농도 (ng/ml) 및 폐 조직 샘플 중 라파마이신의 최대 농도 (ng/g) 뿐만 아니라, 투약 후 12시간에의 라파마이신의 농도

[0292] 28일 동안 SD 래트 및 비글 개에 투여된 건식 분말 제제의 반복 투약 독성 및 독성동태학적 성질을 평가하기 위해 제2 반복 노출 연구를 수행하였다.

[0293] 래트 연구의 경우, 상기와 같이 표준 원통형 관류식 코 전용 흡입 챔버를 사용하였다. 각각 0.167, 4.75 및 9.50 mg/kg의 라파마이신의 표적 용량을 달성하기 위해 28일 동안 연속하여 동물을 매일 300분씩 시험 물품에 노출시켰다. 3개의 각 투약군의 경우, 한 세트의 동물 (N=36)에 28일 동안 연속하여 매일 300분 동안 투약하였다. 연구 1일 및 28일에, 6마리의 서브군에서 하기 시점: (1) 투약 이전, (2) 투약 도중, (3) 투약 직후, (4) 투약 후 2시간에, (5) 투약 후 4시간에, (6) 투약 후 12시간에 및 (7) 투약 후 24시간에, 동물로부터 혈액 샘플을 채취하였다.

[0294] 개 연구를 위해, 중앙 플레넘 및 전달 아암으로 이루어진 정방향 유동식 전달 시스템 (PFDS)을 사용하였다. 중

앙 플레넘은, 입구관 및 출구관이 장착된 구비 노출 마스크가 구비된 5개의 전달 아암이 안으로 부착되어 있는 개별 포트가 있는 모듈식 디자인을 갖추고 있었다. 대기의 유입 및 배출을 허용하면서, 개의 코가 마스트 안으로 들어가게 하는 방식으로 개의 코와 주둥이 부분 상에 마스크를 장착하였다. 노출시키는 동안 동물에 마구를 채우고, 통제 플랫폼 상에 놓았다. 개의 측면 이동을 통제하기 위해 플랫폼 상의 양측의 두 기둥에 마구를 부착하였다. 동물이 돌지 못하게 막기 위해 플랫폼 앞쪽 후크에 마구의 앞부분을 느슨하게 부착시켰다. 각각 0.020 및 0.053 mg/kg의 표적 용량의 라파마이신을 달성하기 위해 개를 매일 60분 동안 시험 물품에 노출시켰다. 각 투약군의 경우, 한 세트의 동물 (N=6)에 28일 동안 연속하여 매일 60분 동안 투약하였다. 연구 1일 및 28일에, 6마리의 서브군에서 하기 시점: (1) 투약 이전, (2) 투약 후 (T=0), (3) 투약 후 1시간에, (4) 투약 후 4시간에, (5) 투약 후 8시간에, (6) 투약 후 12시간에 및 (7) 투약 후 24시간에, 동물로부터 혈액 샘플을 채취하였다. 29일에 개를 희생시키고, 그의 폐 조직의 일부를 제거하고, 라파마이신 함량 분석을 위해 세절 (mince)하였다.

[0295] 인간 투약에의 외삽에 따른 전혈 중 라파마이신의 최대 농도 (ng/ml) 및 라파마이신의 최저 농도가 하기에 제시되어 있다. 또한, 본 표에는 28일의 반복 투약 후의 개 폐 중 라파마이신의 최저 농도 (ng/g)가 포함되어 있다.

표 9

래트에서의 흡입된 라파마이신 데이터 및 인간 투약을 위한 외삽값

	방출 용량 (ug)	반복 흡입된 1일 용량 (ug)	혈액 중 최대 수준 (ng/ml)	혈액 중 최저 수준 (ng/ml)	24 hr째 폐 중 최저 수준 (ng/g)
래트*	50	5	7.6	2	N/A
	1425	143	70.5	23.3	N/A
	2850	285	77.8	21.0	N/A
개**	160	40	7.4	1.9	32
	424	106	27.3	5.9	61
인간	87	35	0.65	0.15	2
	175	70	1.3	0.3	4

* 래트 28일 동안 매일 반복된 투약 연구 7300225 - 혈액 데이터는 D28의 평균값이다.
** 개 28일 동안 매일 반복된 투약 연구 7300227 - 혈액 및 폐 데이터는 D28의 평균값이다.
** 혈액 및 폐 추정치는 7300225 및 7300227 연구 결과로부터 외삽된 것이다.

[0296]

[0297] 특히, 여기 제시된 결과에 기초하였을 때, 인간에서 약 5 ng/g 범위의 폐 중 라파마이신의 치료학상 유효 용량은 약 100 ㎍ 미만을 흡입에 의해 폐로 투여함으로써 달성할 수 있었다. 그에 반해, 야네스에 따른 경구 전달에 의해 유사한 폐 농도를 달성하기 위해서는 4 내지 16 mg이 요구될 것이다. 나폴리에 따른 IV 전달에 의해 유사한 폐 농도를 달성하기 위해서는 60 내지 600 ㎍이 요구될 것이다.

[0298] 추가로, 여기 제시된 결과에 기초하였을 때, 폐 중 약 5 ng/g의 치료 범위는 라파마이신을 흡입을 통해 전달할 때, 폐 대 혈액을 13:1의 비율로 분배함으로써 달성될 수 있었다. 이는 라파마이신이 폐 조직 중에서는 치료 범위 내에 있지만, 혈액 중에서는 단지 650 내지 1,500 pg/ml 라파마이신인 최대 농도로 순환할 것이라는 것을 의미한다. 라파마이신에의 이러한 낮은 전신 노출은, 경구 또는 IV 투여시 필요한 더 높은 투약 수준으로부터 초래되는 라파마이신에의 훨씬 더 높은 전신 노출과 연관된 독성 및 약물 유해 사례를 감소시킬 것으로 예상된다.

[0299] 요약컨대, 여기 기술된 결과는 흡입을 통해 폐로 라파마이신을 투여하는 것이 약물에의 낮은 전신 노출과 함께 조합하여, 약 5 ng/g 범위의 폐 중 치료학상 유효 용량을 달성하는데 필요한 저용량의 라파마이신을 제공한다는 것을 입증한다.

[0300] 실시예 8: 흡입가능한 조성물을 위한 라파마이신의 크기 축소

[0301] 습식 연마 또는 제트 밀링 공정을 사용하여 라파마이신의 입자 크기를 ㎛ < Dv50 < 3.0 ㎛인 표적 범위로 축소시켰다. 제트 밀링의 경우, 하기 작동 조건과 함께 제트파마(Jetpharma)로부터의 실험실 규모의 MC원(MCOne) 유닛을 사용하였다: 벤투리 압력 2-4 bar, 밀링 압력 3-5 bar, 공급률 90 g/h. 습식 연마의 경우, 정제수를 이

용하여 공급 현탁액을 제조하였다. 크기 축소 단계를 위해 미세유체 고압 균질화기를 사용하고, 생성된 현탁액을 분무 건조시켰다. 습식 연마 공정에 관한 상세한 설명은 하기에 기술되어 있다.

[0302] 습식 연마 공정의 크기 축소 단계에 사용된 고압 균질화기는 보조 프로세싱 모듈 (200 ㎛)이 장착된 예비 시험 규모의 미세유체 고압 균질화기였고, 100 ㎛ 상호작용 챔버가 사용되었다. 유닛은 ~455 bar (증압기 모듈 유압식 압력으로 ~30 bar)에서 작동하였다. 미세유동화 후, 분무 건조시켜 유체를 제거하여 건식 분말을 생성하였다. 실험 규모의 분무 건조기인 SD45 (부치(BUCHI), 모델 B-290 어드밴스드(Advanced))에 2개의 유체 노즐을 장착하였다 (캡 및 직경은 각각 1.4 및 0.7 ㎜였다). 2개의 시클론 시리즈를 사용하여 (첫번째 것은 표준 부치 시클론이고, 두번째 것은 고성능 부치 시클론) 건조된 생성물을 수집하였다. 분무 건조 유닛은 질소를 사용하여 및 단일 통과 모드로, 즉, 건조 질소의 재순환 없이 작동하였다. 질소를 취입하는 흡인기의 용량을 100%로 설정해 놓았다 (최대 용량에서의 유속은 대략 40 kg/h이다). 분사 질소의 유속을 로타미터에서 40 ± 5 ㎜ 값으로 조정하였다. 생성물을 현탁액을 공급하기 전, 정제수로 분무 건조기를 안정화시키고, 그 동안 유속을 6 ml/min (연동 펌프에서 20%)로 조정하였다. 표적 출구 온도 (45℃)를 달성할 수 있도록 입구 온도를 조정하였다. 온도 안정화 후, 분무 건조기의 피드는 (안정화 동안 사용된 동일 유속을 유지하면서) 정제수에서부터 생성물 현탁액까지 통근식으로 이동하였고, 표적 출구 온도를 달성하기 위해 다시 한번 입구 온도를 조정하였다. 스톡 현탁 종료시, 피드 라인을 세정하고, 조절식 폐쇄를 수행하기 위해 피드는 한번 더 정제수까지 통근식으로 이동하였다. 상기 두 시클론하에 수집 플라스크 중의 건식 생성물의 중량을 측정하고, 고압 균질화기에 공급된 현탁액 중의 전체 고체와 비교하여 건식 생성물의 질량%로서 수율을 계산하였다.

[0303] 레이저 회절에 의해 입자 크기 분포를 분석하였다. 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC), X선 분말 회절 (XRPD), 및 시차주사 열량 측정법 (mDSC)에 의해 (다형체 형태 및 순도에 대한) 고체 상태 특징화를 수행하였다. 칼 피셔(Karl Fischer) 방법에 의해 수분 함량을 측정하였다.

[0304] 제트 밀링을 통해, 하기 표 10에 제시된 바와 같이, Dv10이 1.5 ㎛이고, Dv50이 2.7 ㎛이고, Dv90이 4.9 ㎛인, 단분산 입자 크기 분포를 가지는 결정질 라파마이신 분말을 수득하였다.

[0305] 습식 연마를 통해, Dv10이 1.0 ㎛이고, Dv50이 2.4 ㎛이고, Dv90이 5.0 ㎛인, 단분산 입자 크기 분포를 가지는 결정질 라파마이신 분말을 수득하였다 (표 11).

[0306] 상기 두 방법 모두를 통해 표적 범위 내에 포함된 라파마이신 입자를 수득하였고, 두 공정 중 어느 것도 라파마이신의 다형체 형태 또는 순도에 영향을 미치지는 않았다. 하기 표에는 제트 밀링 및 습식 연마 공정에 대한 공정 중 제어 데이터가 제시되어 있다. 데이터는 두 공정 모두 API 순도 또는 다형체 형태에는 어떤 영향도 미치지 않으면서, 표적 범위 내의 API 입자 크기를 제조할 수 있다는 것을 나타낸다.

표 10

제트 밀링 데이터

PSD	µm	Dv10	Dv50	Dv90
		1.51	2.74	4.91
XRPD	-	API (시롤리무스) 회절도와 유사		
mDSC	(T_개시,℃)	182.2		
KF	% w/w	0.30		
HPLC (% 면적)	검정(% w/w)	99.5		
	시롤리무스	99.35		

[0307]

표 11

습식 연마 데이터

PSD		μm	Dv10	Dv50	Dv90
			1.05	2.42	4.97
XRPD		-	API (시롤리무스) 회절도와 유사		
mDSC		(T_개시,℃)	185.7		
KF		% w/w	0.30		
HPLC (% 면적)	검정(% w/w)		99.0		
	시롤리무스		99.42		

[0308]

[0309] 실시예 9: 건식 분말 조성물의 에어로졸 성능 검사

[0310] 상기 실시예에서 제조된 캡슐을 하기 표에 제시된 장치에 놓고, 작동시켰다. 배치 06RP68.HQ00008 및 배치 06RP68.HQ00009로부터의 블렌드를 함유하는 장치/캡슐로부터 전달된 에어로졸 성능을 미국 약전의 905장 및 601장에 기술된 방법에 따라 차세대 충격기 (NGI)를 사용하여 특징화하였다. 에어로졸을 60 및 100 ℓ/분 (LPM)의 유속으로 시험하였다. 미립자 용량 (FPD) 및 미립자 분율 (FPF)은 하기 표에 제시되어 있다. 질량 중앙 공기 역학적 직경 (MMAD) 및 기하 표준 편차 (GSD)를 또한 제시되어 있다.

표 12

06RP68.HQ00008 (습식 연마됨) + 플라스티아페 RS01 모델 7

	60 LPM		100 LPM	
	평균	%RSD	평균	%RSD
FPD (μg)	57.31	2.37	67.21	12.46
FPF (%)	39.49	1.85	44.12	8.99
MMAD (μm)	2.81	2.22	2.49	11.97
GSD	2.02	0.99	2.19	8.25

[0311]

표 13

06RP68.HQ00008 (습식 연마됨) + 플라스티아페 RS00 모델 8

	60 LPM		100 LPM	
	평균	%RSD	평균	%RSD
FPD (μg)	58.40	0.98	62.39	6.35
FPF (%)	39.68	1.68	41.34	3.70
MMAD (μm)	2.63	7.28	2.58	6.00
GSD	2.05	3.69	2.15	6.32

[0312]

표 14

06RP68.HQ00009 (제트 밀링됨) + 플라스티아페 RS01 모델 7

	60 LPM		100 LPM	
	평균	%RSD	평균	%RSD
FPD (μg)	52.33	6.72	58.51	15.84
FPF (%)	33.73	3.91	36.69	9.86
MMAD (μm)	3.32	2.27	3.02	4.14
GSD	2.05	1.02	2.24	1.79

[0313]

표 15

06RP68.HQ00009 (제트 밀링됨)+ 플라스티아페 RS00 모델 8

	60 LPM		100 LPM	
	평균	%RSD	평균	%RSD
FPD (μg)	52.56	2.02	59.11	4.74
FPF (%)	33.97	0.86	36.01	4.20
MMAD (μm)	3.06	1.91	2.93	0.98
GSD	2.04	0.98	2.21	2.73

[0314]

[0315] 이들 에어로졸 성능 데이터를 기반으로, 습식 연마된 약물 입자가 바람직하다. 이로써 더 높은 미립자 용량, 보다 높은 미립자 분율, 중앙 및 주변 폐 영역, 둘 모두로의 침투를 나타내고, 더 적은 구강 침착을 나타나게 되는 입자 크기 분포를 얻게 되었다.

[0316] 실시예 10: 라파마이신의 약동학적 모델링

[0317] 상기에 제시된 같은 에어로졸 성능 06RP68.HQ00008 (습식 연마됨) + 플라스티아페 RS01 모델, 및 실시예 3에서의 동물 실험 결과를 기반으로, 인간에서 흡입된 라파마이신의 폐로의 직접적인 전달을 통해서 유사하게 치료학상 효과적일 정도로 충분히 높은 폐 농도를 지속적으로 얻게 되지만, 낮은 전신 노출 (낮은 혈액 농도)로 인해 전신 노출로 인한 부작용을 효과적으로 최소화할 것이라는 점을 예상할 수 있다. 2 구획, 약동학적 모델을 개발하여 표 11에서의 제제 및 DPI 흡입기를 사용하여 반복 QD 투약 후 인간에서의 혈액 및 폐에서의 농도를 예측하였다. 약동학적 모델용으로, 라파뮨® (NDA 21-110, 및 NDA 21-083) 신의약품 승인 심사 개요로부터의 인간 PK 파라미터를 사용하였다: 분포 부피는 780 ℓ로 가정하고, 제거율은 0.0003/분이고, 제거 반감기는 42.3시간이었다 (라파마이신 IV 투약에 대한 등가값인 것으로 가정). 폐로부터 라파마이신의 흡수 반감기는, 그에 대한 폐 흡수 데이터가 이용가능한 것인 플루티카손 프로피오네이트와 같은 다른 고도로 친유성인 화합물과 유사한, 대략 0.5시간으로 추정되었다. 폐에서 침착하는 라파마이신의 생체이용률을 대략 100%인 것으로 가정하였다. 점액 섬모 제거에 의해 상부 기도로부터 제거 또는 구강인두 침착을 통해 GI 경로에 의해 흡수되는 라파마이신의 생체이용률은 라파뮨® 신의약품 승인 심사 개요에서 보고된 바와 같이 14%인 것으로 가정하였다. 표 11에 제시된 바와 같이, 60 ℓ/분 유속의 전형적인 인간 흡기 조작의 경우, 미립자 용량은 57 μg이고, 미립자 분율은 40%였다.

[0318] 모델은 도 9에 제시된 바와 같이 11일 후 평균 정상 상태 농도를 달성할 것으로 예측한다. 상기 도면으로부터, 폐에 전달되는 57 μg의 1일 1회 반복 투약은, 실질적으로 문헌 [McCormack *et al*. (2011), "Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis", *N Engl J Med* 364:1595-1606]에 보고된 5-15 ng/ml 농도 미만인 대략 50 pg/ml의 혈액 중 최저 농도, 및 200 pg/ml 미만의 최대 농도를 초래함을 알 수 있다. 폐 조직량이 850 g이고, 폐에서는 대사가 없으며, 폐 흡수 반감기가 30분이라고 가정하면, 폐로 전달된 57 μg의 라파마이신은 대략 14 ng/g 만큼 높은 라파마이신의 국소 폐 농도로, 폐 조직에서의 치료 수준을 초래할 것이다.

[0319] **등가물**

[0320] 당업자는 단지 통상적인 실험만을 사용하여 본원에 기술된 본 발명의 구체적 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 상기 등가물을 하기 특허청구범위에 의해 포함시키고자 한다.

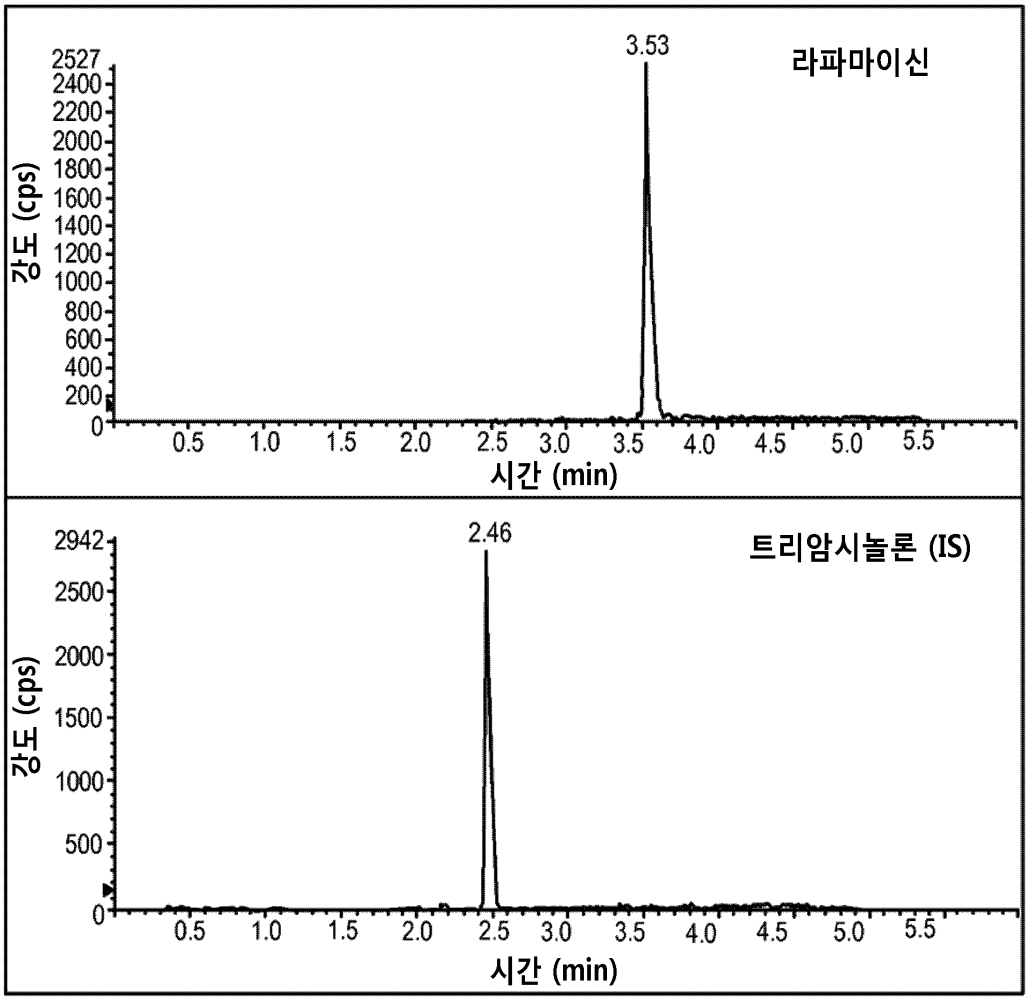
[0321] 본원에 인용된 모든 참고문헌은, 마치 각각의 개별 공개문헌 또는 특허 또는 특허 출원이 모든 목적을 위해 그 전문이 참조로 포함된다고 구체적으로 그리고 개별적으로 명시된 바와 동일한 정도로 모든 목적을 위해 및 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0322] 본 발명은 본원에 기술된 구체적 실시양태에 의해 범주가 제한되지 않는다. 실제로, 본원에 기술된 것들 이외에도 본 발명의 다양한 변형은 상기 기술내용 및 첨부된 도면으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 상기 변형을 첨부된 특허청구범위의 범주 내에 포함시키고자 한다.

도면

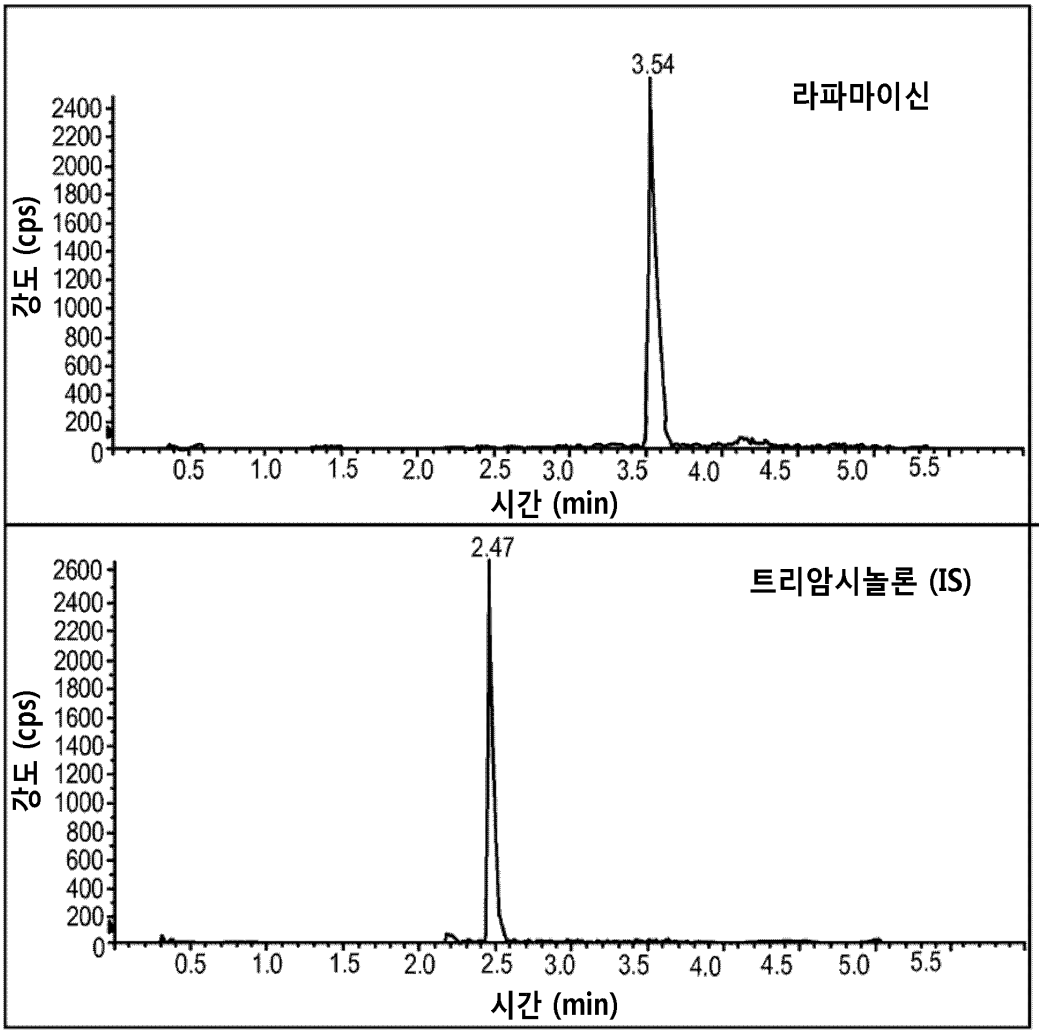
도면1

마우스 혈액 중 10.6 ng/mL 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 LC-MS/MS 크로마토그램

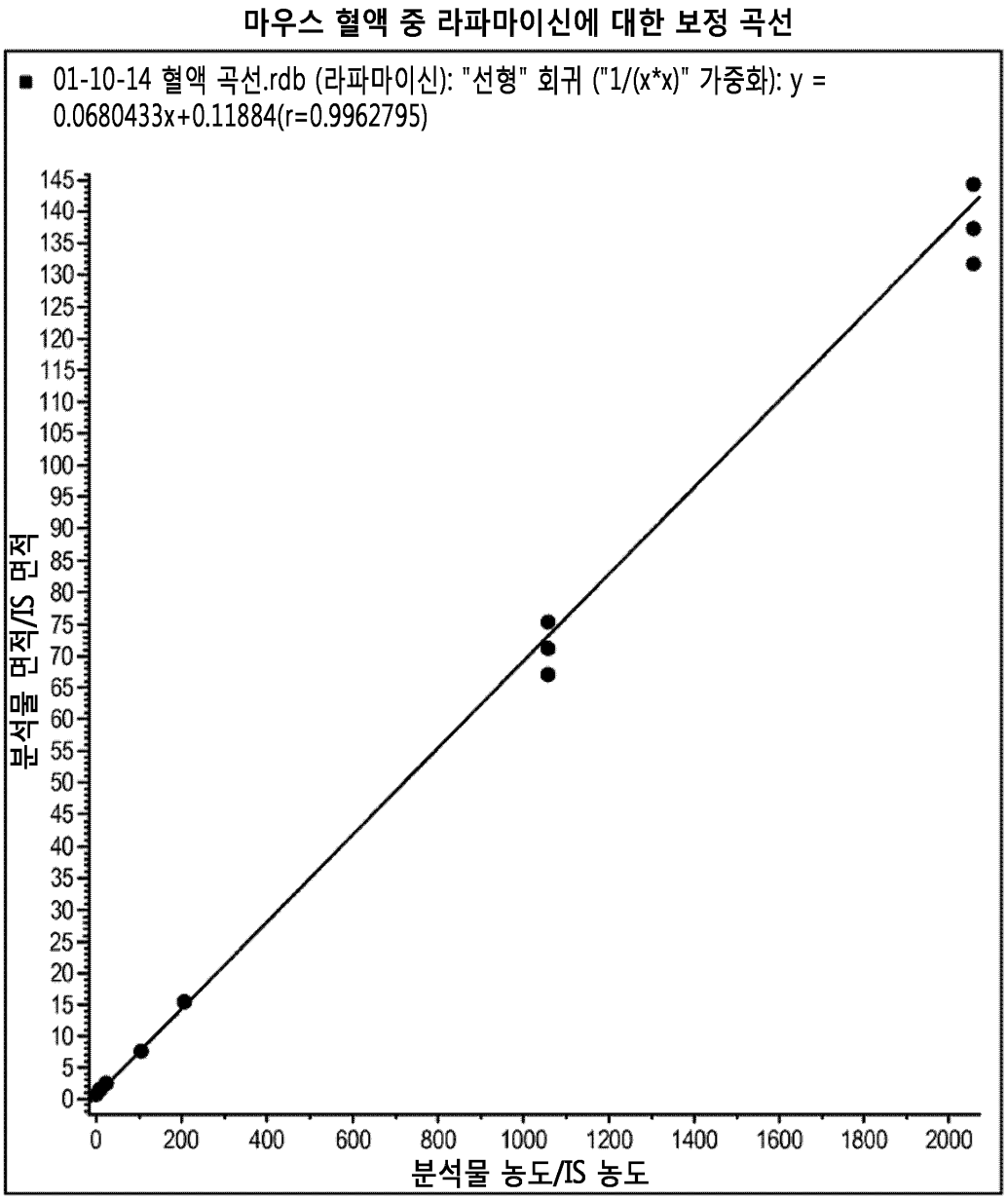


도면2

마우스 폐 균질액 중 10.6 ng/mL 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 대표적인 크로마토그램

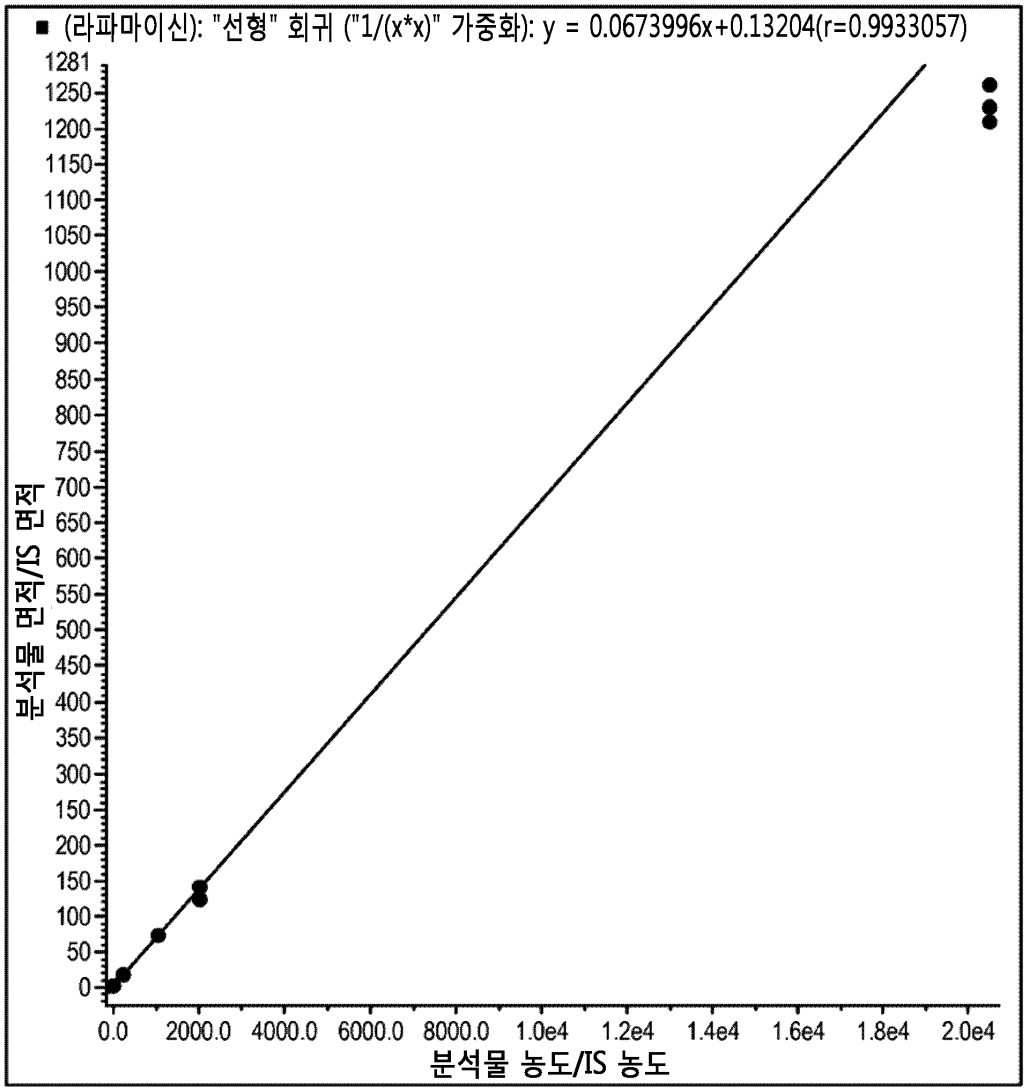


도면3


마우스 혈액 중 라파마이신에 대한 보정 곡선
01-10-14 혈액 곡선.rdb (라파마이신): "선형" 회귀 ("1/(x*x)" 가중화): y = 0.0680433x+0.11884(r=0.9962795)
분석물 면적/IS 면적
분석물 농도/IS 농도
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
70
75
80
85
90
95
100
105
110
115
120
125
130
135
140
145
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000

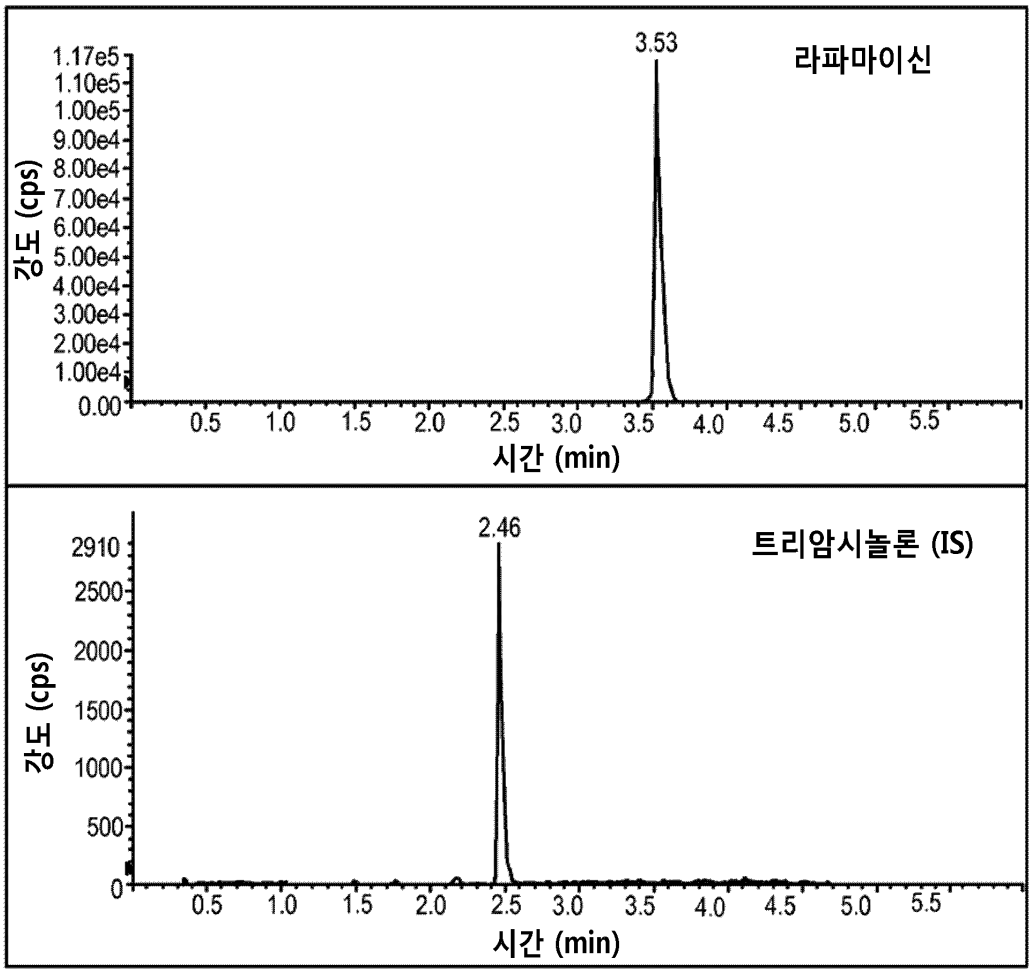
도면4

마우스 폐 균질액 중 라파마이신에 대한 보정 곡선



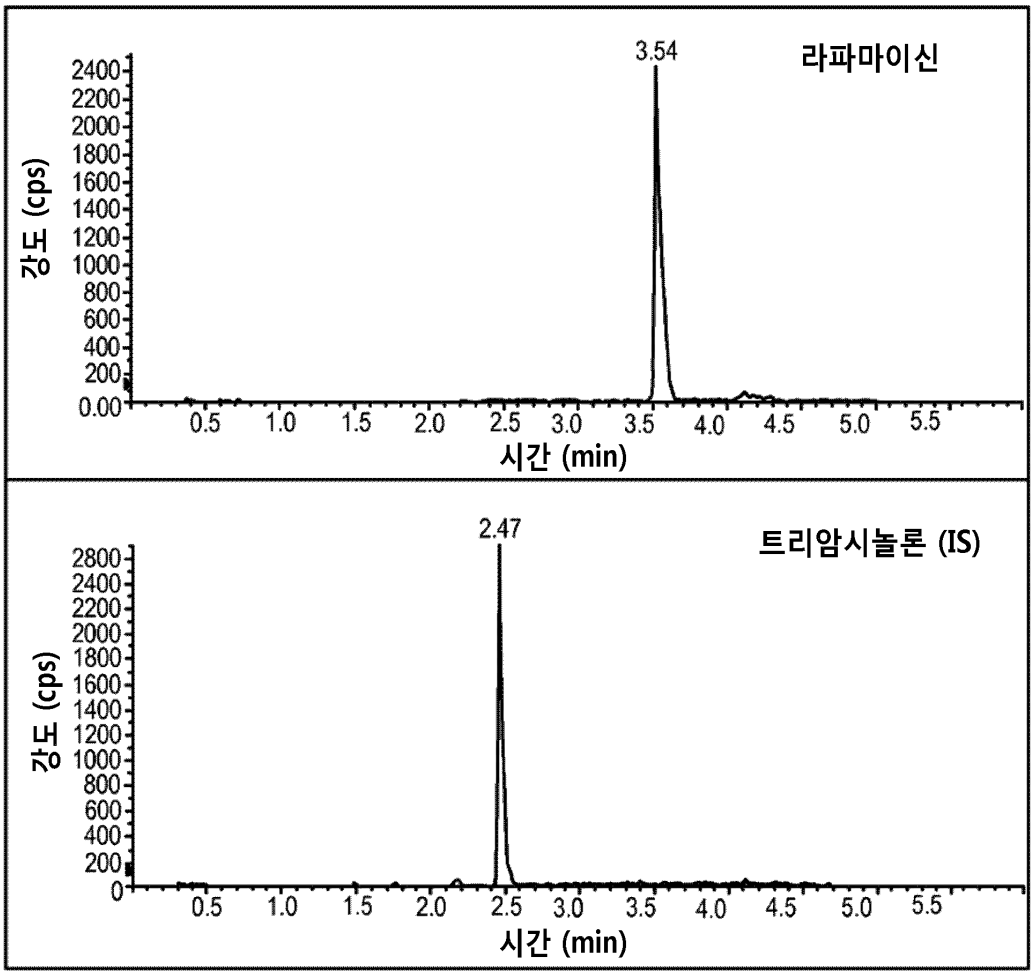
도면5

OPA 투여에 의해 라파마이신을 투여받은 마우스 2-07로부터의 혈액 중 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 대표적인 크로마토그램

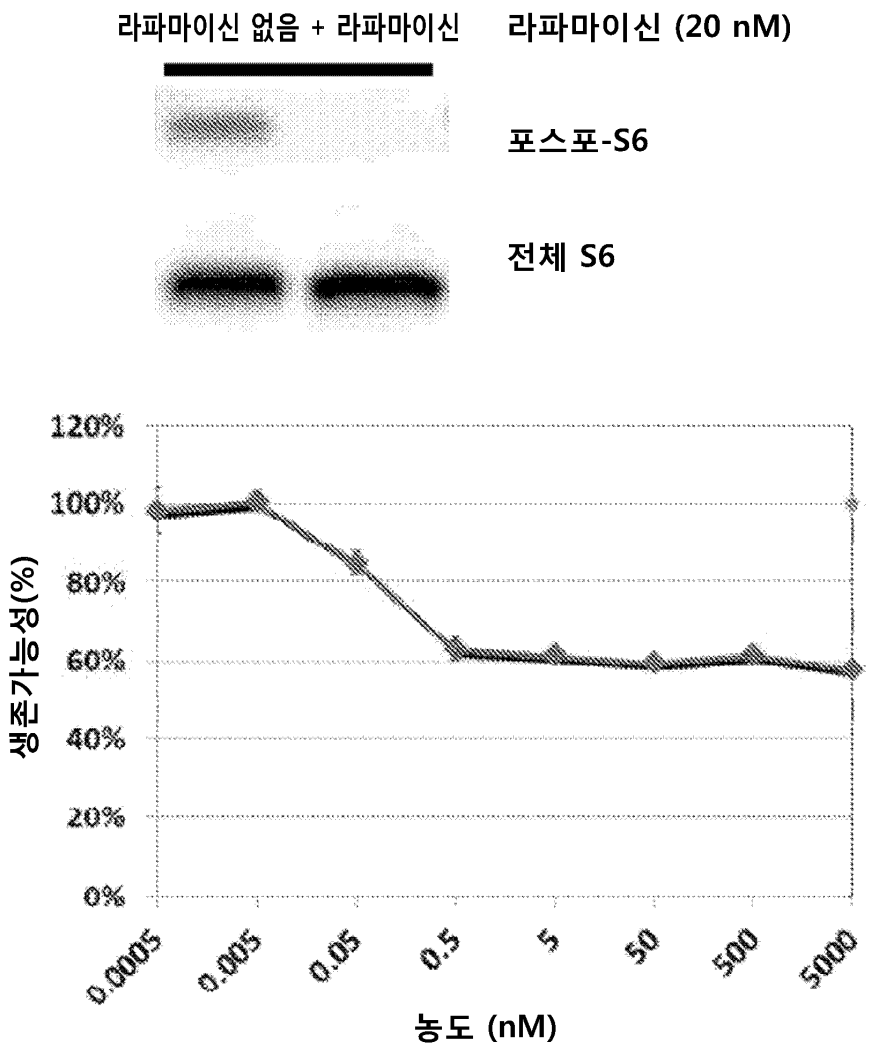


도면6

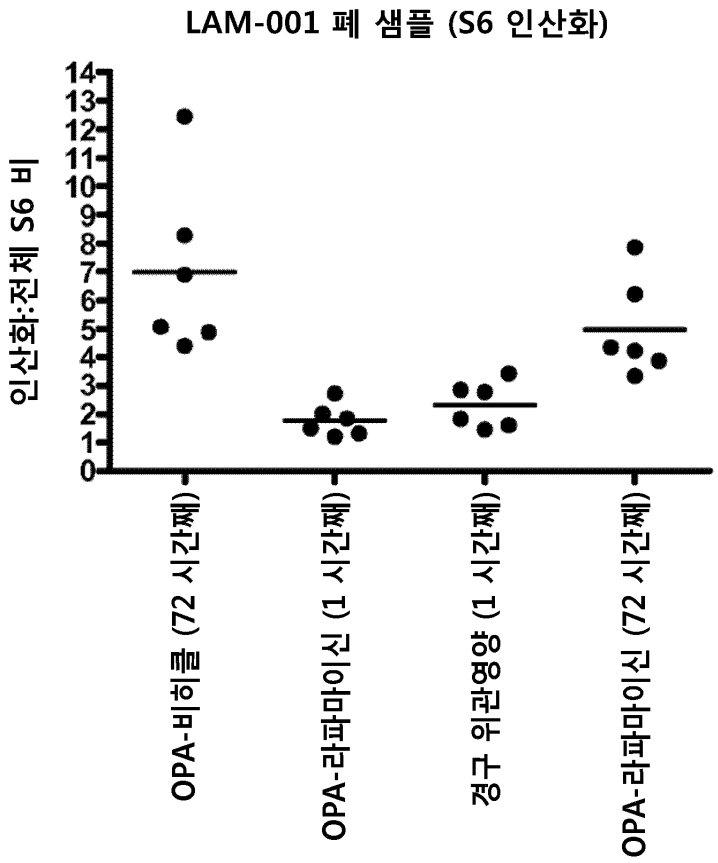
OPA 투여에 의해 라파마이신을 투여받은 마우스 2-07로부터의 폐 균질액 중 라파마이신 (상단) 및 내부 표준 (하단)의 대표적인 크로마토그램



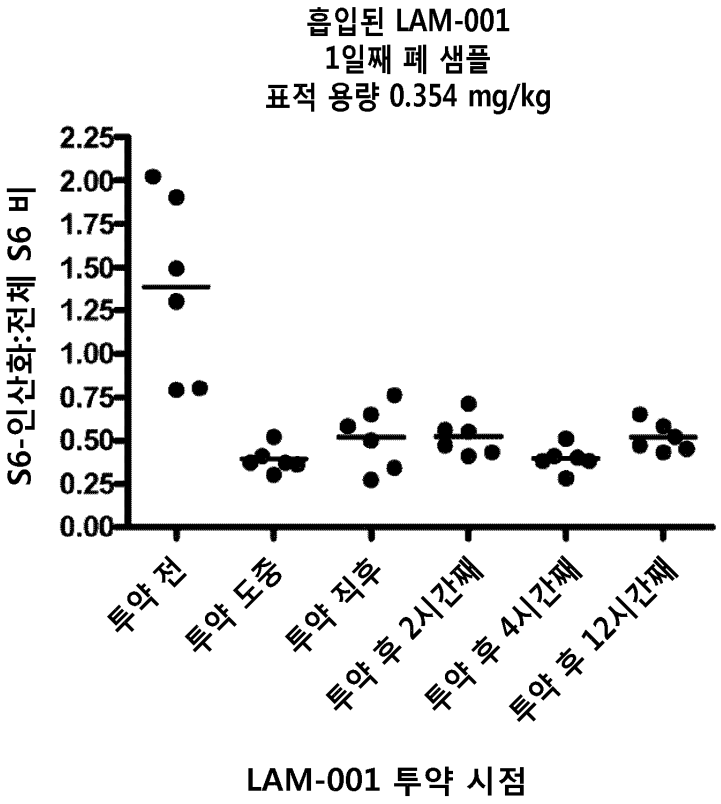
도면7


라파마이신 없음 + 라파마이신
라파마이신 (20 nM)
포스포-S6
전체 S6
120%
100%
80%
60%
40%
20%
0%
생존가능성(%)
0.0005
0.005
0.05
0.5
5
50
500
5000
농도 (nM)

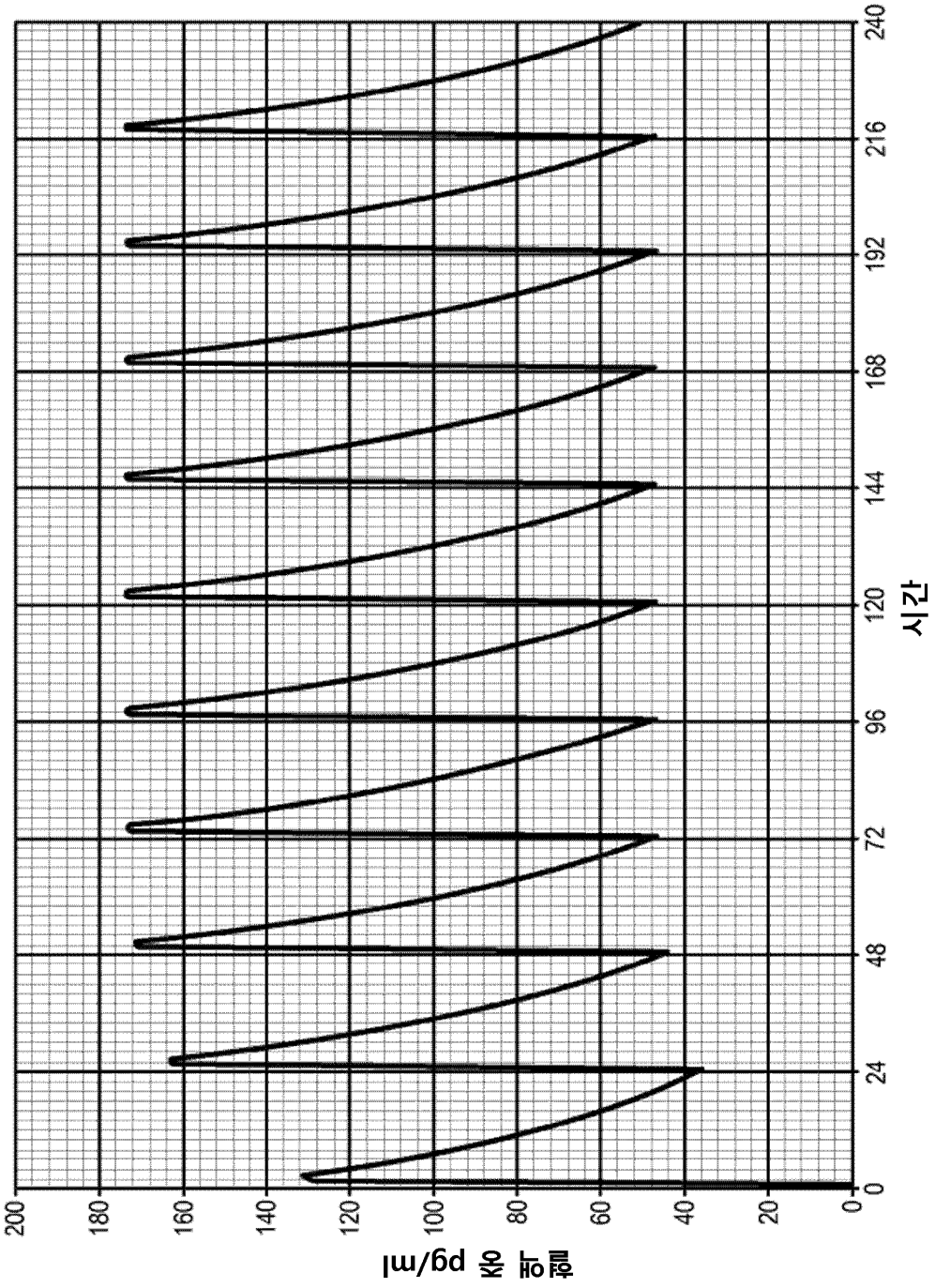
도면8a


LAM-001 폐 샘플 (S6 인산화)
인산화:전체 S6 비
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
OPA-비히클 (72 시간째)
OPA-라파마이신 (1 시간째)
경구 위관영양 (1 시간째)
OPA-라파마이신 (72 시간째)

도면8b


흡입된 LAM-001
1일째 폐 샘플
표적 용량 0.354 mg/kg
S6-인산화:전체 S6 비
2.25
2.00
1.75
1.50
1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
투약 전
투약 도중
투약 직후
투약 후 2시간째
투약 후 4시간째
투약 후 12시간째
LAM-001 투약 시점

도면9


혈액 속 pg/ml
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
시간
0
24
48
72
96
120
144
168
192
216
240