



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 27 407 T2** 2007.11.29

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 296 663 B1**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 9/72** (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 27 407.5**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US01/18491**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 942 072.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2001/095874**

(86) PCT-Anmeldetag: **08.06.2001**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **20.12.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **02.04.2003**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **21.03.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **29.11.2007**

(30) Unionspriorität:

**591307                      09.06.2000                      US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(73) Patentinhaber:

**Advanced Inhalation Research, Inc., Cambridge,  
Mass., US**

(72) Erfinder:

**EDWARDS, David A., Boston, MA 02116, US;  
BATYCKY, Richard P., Auburndale, MA 02466, US;  
JOHNSTON, Lloyd, Belmont, MA 02478, US**

(74) Vertreter:

**Luderschmidt, Schüler & Partner, 65189  
Wiesbaden**

(54) Bezeichnung: **HOCHWIRKSAME VERABREICHUNG EINES AEROSOLS MIT HOHER THERAPEUTISCHER MASSE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

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

**Beschreibung**

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG

**[0001]** Aerosole für die Abgabe von therapeutischen Agenzien an den Atemtrakt sind z.B. in Adjei, A. und Garren, J. *Pharm. Res.*, 7: 565 – 569 (1990) und in Zanen, P. und Lamm, J.-W.J., *Int. J. Pharm.*, 114: 111 – 115 (1995) beschrieben worden. Der Atemtrakt umfasst die oberen Atemwege einschließlich dem Oropharynx und dem Larynx, gefolgt von den unteren Atemwegen, welche die Trachea gefolgt von den Gabelungen in die Bronchien und die Bronchiolen umfassen. Die oberen und unteren Atemwege werden als leitende Atemwege bezeichnet. Die Terminalbronchiolen teilen sich dann in die respiratorischen Bronchiolen auf, welche dann zur äußersten Respirationszone, den Alveolen oder der tiefen Lunge, führen. Gonda, I., "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract," in *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 6: 273 – 313 (1990). Die tiefe Lunge oder die Alveolen sind das Primärziel von eingeatmeten therapeutischen Aerosolen für eine systemische Abgabe von Arzneimitteln.

**[0002]** Eingeatmete Aerosole sind für die Behandlung von lokalen Erkrankungen der Lunge einschließlich Asthma und cystischer Fibrose eingesetzt worden (Anderson, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 140: 1317 – 1324 (1989)) und sind in der Lage, auch Peptide und Proteine systemisch abzugeben (Patton und Platz, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 8: 179 – 196 (1992)).

**[0003]** Über eine Inhalation kann eine relativ hohe biologische Verfügbarkeit von vielen Molekülen, einschließlich Makromolekülen, erzielt werden. Wall, D.A., *Drug Delivery*, 2: 1 – 20 (1995); Patton, J. und Platz, R., *Adv. Drug Del. Rev.*, 8: 179 – 196 (1992) und Byron, P., *Adv. Drug Del. Rev.* 5: 107 – 132 (1990). Als Ergebnis sind einige aerosolische Formulierungen von therapeutischen Arzneimitteln in Gebrauch oder werden auf ihre Abgabe an die Lunge hin untersucht. Patton, J.S., et al., *J. Controlled Release*, 28: 79 – 85 (1994); Damms, B. und Bains, W., *Nature Biotechnology* (1996); Niven, A.W. et al., *Pharm Res.* 12(9): 1343 – 1349 (1995) und Kobayashi, S. et al., *Pharm. Res.* 13(1): 80 – 83 (1996).

**[0004]** Die Strategien zur Abgabe von Arzneimitteln an die Lunge weisen jedoch viele Schwierigkeiten auf, insbesondere für die Abgabe von Makromolekülen; diese umfassen die Denaturierung von Proteinen während des Zerstäubens, einen übermäßigen Verlust an in die Höhlung des Oropharynx inhalierten Arzneimitteln (oft über 80%), eine geringe Kontrolle über den Ort der Ablagerung, keine Reproduzierbarkeit der therapeutischen Ergebnisse in Folge der unterschiedlichen Techniken beim Atmen, die häufig zu schnell erfolgende Absorption von Arzneimitteln, was möglicherweise zu lokalen toxischen Wirkungen führt sowie eine Phagozytose durch die Makrophagen der Lunge.

**[0005]** Zusätzlich sind viele der zurzeit für eine Inhalationstherapie zur Verfügung stehenden Vorrichtungen mit Arzneimittelverlusten verbunden. Bedeutende Aufmerksamkeit ist auf die Konzeption von Inhalationsgeräten für therapeutische Aerosole gerichtet worden, um die Wirksamkeit von Inhalationstherapien zu verbessern. Timsina et al., *Int. J. Pharm.*, 101: 1 – 13 (1995) und Tansey, I.P., *Spray Technol. Market* 4: 26 – 29 (1994). Aufmerksamkeit ist auch der Konzeption der Oberflächentextur von Trockenpulver für Aerosole geschenkt worden, insbesondere in Bezug auf die Notwendigkeit, eine Aggregation der Teilchen zu verhindern, ein Phänomen, das die Wirksamkeit von Inhalationstherapien beträchtlich herabsetzt. French, D.L., Edwards, D.A. und Niven, R.W., *J. Aerosol Sci.* 27: 769 – 783 (1996).

**[0006]** Formulierungen von Trockenpulvern (DPF's) gewinnen als Aerosol-Formulierungen für die Abgabe in der Lunge immer mehr an Interesse. Damms, B. und W. Bains, *Nature Biotechnology* (1996); Kobayashi, S. et al., *Pharm. Res.* 13(1): 80 – 83 (1996) und Timsina, M. et al., *Int. J. Pharm.* 101: 1 – 13 (1994). Trockenpulver-Aerosole für eine Inhalationstherapie werden im Allgemeinen mit mittleren geometrischen Durchmessern hergestellt, vorwiegend im Bereich von weniger als 5 µm. Ganderton, D., *J. Biopharmaceutical Sciences* 3: 101 – 105 (1992) und Gonda, I., "Physico-Chemical Principles in Aerosol Delivery," *Topics in Pharmaceutical Sciences* (1991), Crommelin, D.J. und K.K. Midhja, Hrg., *Medpharm Scientific Publishers*, Stuttgart, SS. 95 – 115, 1992. Große "Träger"-Teilchen (die keine Arzneimittel enthielten) sind zusammen mit therapeutischen Aerosolen abgegeben worden, um unter anderen Vorteilen eine Hilfe beim Erzielen eines wirksamen Zerstäubens zu sein. French, D.L., Edwards, D.A. und Niven, R.W., *J. Aerosol Sci.* 27: 769 – 783 (1996). Auch Edwards et al. (WO 99/66903 und WO 98/31346) sowie Ben-Jebria et al. (*Pharm Res.* Vol. 16(4): 555 – 561 (1999)) beschreiben DPF's für eine Abgabe in der Lunge.

**[0007]** Einer der Nachteile der DPF's ist der, dass die Pulver aus Feinteilchen gewöhnlich über eine geringe Fließfähigkeit und schlechte Zerstäubungseigenschaften verfügen, was zu relativ geringen zum Einatmen ge-

eigneten Aerosolfraktionen führt, welche die Fraktionen von inhaliertem Aerosol darstellen, die sich in der Lunge ablagern, wobei sie einer Ablagerung im Mund und Kehlkopfbereich entgehen. Gonda, I. in Topics in Pharmaceutical Sciences (1991), D. Crommelin und K. Midha, Hrg., Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers SS. 95 – 117 (1992). Eine geringe Fließfähigkeit und schlechte Zerstäubungseigenschaften werden typischerweise von einer Aggregation der Teilchen in Folge von Teilchen-Teilchen-Wechselwirkungen wie hydrophobe, elektrostatische und kapillare Wechselwirkungen verursacht. Einige Verbesserungen bei den DPF's sind gemacht worden. Es ist gezeigt worden, dass z.B. Formulierungen von Trockenpulvern (DPF's) mit großer Teilchengröße über verbesserte Eigenschaften bei der Fließfähigkeit wie z.B. eine geringere Aggregation (Edwards et al., Science 276: 1868 – 1871 (1997)), eine leichtere Zerstäubung und möglicherweise eine geringere Phagozytose verfügen. Rudt, S. und R.H. Muller, J. Controlled Release 22: 263 – 272 (1992); Tabata, Y. und Y. Ikada, J. Biomed. Mater. Res. 22: 837 – 858 (1988). Eine wirksame Inhalationstherapie mit Trockenpulver für sowohl eine Kurzzeit- als auch Langzeit-Freisetzung von Therapeutika, entweder für eine lokale oder eine systemische Abgabe, erfordert ein Verfahren, das ein DPF wirksam und mit therapeutischen Mengen an die Lungen abgibt, ohne dass eine übermäßige Zufuhr von Energie nötig ist.

**[0008]** Zerstäuber, wie sie von Cipolla et al. beschrieben werden (Cipolla et al., Respiratory Drug Delivery VII, Biological, Pharmaceutical, Clinical and Regulatory Issues Relating to Optimized Drug Delivery by Aerosol, Konferenz, abgehalten vom 14. bis 18. Mai 2000 in Palm Springs, FL) werden ebenfalls zur Abgabe in die Lunge eingesetzt.

**[0009]** Unter den Inhalations-Vorrichtungen, die zur Abgabe von Trockenpulver-Formulierungen an die Lunge verwendet werden können, sind nicht vom Atem aktivierte oder („Mehrschritt“-Vorrichtungen). Eine solche Vorrichtung wird in dem US-Patent 5,997,848 beschrieben, das am 7. Dezember 1999 an Patton et al. erteilt wurde. In diesen Vorrichtungen wird die Arzneimittel-Formulierung zunächst mit Hilfe einer nicht vom Atem des Patienten abhängigen Energie dispergiert und dann inhaliert.

**[0010]** Inhalationsvorrichtungen, in denen ein "atemaktivierter einzelner Schritt" zur Anwendung kommt, sind so konzipiert, dass sie ein Pulver dispergieren, das von einem Subjekt unmittelbar inhaliert wird, d.h. in einem einzelnen Schritt, z.B. ein einfacher Trockenpulver-Inhalator (siehe z.B. die US-Patente 4,995,385 und 4,069,819).

**[0011]** Andere Beispiele für Inhalatoren sind, jedoch nicht ausschließlich, der Spinhaler® (Fisons, Loughborough, U.K.) und der Rotahaler® (Glaxo-Wellcome, Research Triangle Park, N.C.).

**[0012]** Im Vergleich mit den "Einzelschritt"-Inhalatoren sind die vorhandenen "Mehrschritt"-Inhalatoren komplexer zu handhaben und sind gewöhnlich teurer, da eine Extraenergie benötigt wird, um ein Arzneimittel an die Lungen abzugeben. Diese Menge an benötigter Energie wächst mit zunehmendem Gewicht der Arzneimittel. Andererseits wird eine "hochwirksame" Abgabe von Arzneimitteln an den Atemtrakt (womit ca. 50% des ursprünglich in einem Arzneimittelbehälter enthaltenen Arzneimittelgewichts gemeint sind (d.h. die "nominale Dosis")), typischerweise nur mit atemaktivierten Mehrschritt-Inhalationssystemen erreicht. Daher mussten die Patienten bis jetzt zwischen den Kosten/Komplexität und der Wirksamkeit einer Abgabe von Arzneimitteln wählen. Der Grund für diesen Kompromiss ist der, dass die vorhandenen Inhalations-Methodiken und Vorrichtungen mit inhärenten Unzulänglichkeiten der Formulierung und/oder inhärenten Einschränkungen bei der Konzipierung der Vorrichtung einhergehen. Derartige Unzulänglichkeiten führen zu einem unerwünschten Medikamentenverlust und höheren Gesamtkosten der Behandlung. Darüber hinaus, und oft in Folge davon, können die vorhandenen Inhalationsvorrichtungen und -methodiken oft nicht die Lunge in einem einzigen Atemzug mit einer ausreichenden (d.h. therapeutischen) Menge an Arzneimittel versorgen. Die Menge an Arzneimittel, die derzeit mit einem einzigen Atemzug über Flüssigkeits- oder Trockenpulver-Inhalatoren an die Lunge abgegeben werden kann, ist im Allgemeinen nicht mehr als 5 mg (Cipolla et al., Resp. Drug Delivery, VII 2000, 231 – 239 (2000)).

**[0013]** Es besteht daher ein Bedarf nach einer Abgabe eines Wirkstoffs an das pulmonale System, bei welcher mindestens etwa 50% der nominalen Dosis des Wirkstoffs über ein Einzelschritt-Inhalationssystem an das pulmonale System abgegeben werden. Es besteht auch ein Bedarf nach der Abgabe einer relativ großen Menge eines Wirkstoffs wie z.B. eines therapeutischen, prophylaktischen, diagnostischen oder prognostischen Wirkstoffs. Es besteht auch ein Bedarf nach der Abgabe einer relativ großen Menge eines biologisch aktiven Wirkstoffs, insbesondere einer großen Menge eines inhalierten Trockenpulvers. Ferner besteht ein Bedarf nach Verfahren, welche an das pulmonale System in einem einzelnen Schritt aus einer einfachen atemaktivierten Vorrichtung eine einzelne hohe Dosis eines Wirkstoffs wie z.B. eines biologisch aktiven Mittels abgeben.

## ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0014]** Die Erfindung betrifft Verfahren zur Abgabe eines Wirkstoffs (z.B. eines therapeutischen Mittels, eines prophylaktischen Mittels, eines diagnostischen Mittels oder eines prognostischen Mittels) an das Atemsystem. Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Abgabe eines biologisch aktiven Mittels an das Atemsystem.

**[0015]** Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung eines Wirkstoffs zur Herstellung von Teilchen zur Verwendung in einem Verfahren zur Abgabe des Wirkstoffs an das Atemsystem in einem einzelnen atemaktivierten Schritt, wobei in dem atemaktivierten Einzelschritt: (i) mindestens etwa 50% des Gewichts der in dem Behälter aufbewahrten Teilchen an das Atemsystem des Subjekts abgegeben wird; (ii) mindestens etwa 5 mg des Wirkstoffs an das Atemsystem des Subjekts abgegeben werden und (iii) die Teilchen eine Schüttdichte von mindestens  $0,4 \text{ g/cm}^3$  und einen gewichtsgemittelten aerodynamischen Durchmesser zwischen  $1 - 5 \text{ }\mu\text{m}$  aufweisen.

**[0016]** Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Abgabe eines Wirkstoffs an das Atemsystem in einem einzelnen atemaktivierten Schritt wobei: a) Teilchen mit einem Wirkstoff zur Verfügung gestellt werden und b) aus einem Behälter mit einem Gewicht von Teilchen die Teilchen an den Atemtrakt eines Subjekts verabreicht werden, wobei die Teilchen mindestens etwa 50% des Gewichts der Teilchen abgeben.

**[0017]** Die Erfindung betrifft ebenfalls ein Verfahren zur Abgabe eines Wirkstoffs an das Atemsystem in einem einzelnen Atemzug wobei: a) Teilchen mit einem Wirkstoff zur Verfügung gestellt werden und b) aus einem Behälter mit einer Masse von Teilchen die Teilchen an den Atemtrakt eines Subjekts verabreicht werden, wobei die Teilchen mindestens etwa 5 mg eines Wirkstoffs abgeben. In anderen Ausführungsformen geben die Teilchen mindestens etwa 7 mg eines Wirkstoffs, mindestens etwa 10 mg eines Wirkstoffs, mindestens etwa 15 mg eines Wirkstoffs, mindestens etwa 20 mg eines Wirkstoffs oder mindestens etwa 25 mg eines Wirkstoffs ab. Es können auch größere Mengen an Wirkstoff abgegeben werden, z.B. können die Teilchen mindestens 35 mg, mindestens 40 mg oder mindestens 50 mg eines Wirkstoffs abgeben.

**[0018]** Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Abgabe eines Wirkstoffs an das Atemsystem wobei: a) Trägerpartikel mit einer Schüttdichte von weniger als  $0,4 \text{ g/cm}^3$  zur Verfügung gestellt werden; b) eine Zusammensetzung zur Verfügung gestellt wird, welche mindestens einen Wirkstoff umfasst; c) die Trägerteilchen in a) und die Zusammensetzung in b) miteinander vermischt werden, um eine zum Einatmen geeignete Zusammensetzung zu bilden und d) die zum Einatmen geeignete Zusammensetzung in c) an den Atemtrakt eines Subjekts verabreicht wird. Der hier verwendete Ausdruck "zum Einatmen geeignete Zusammensetzung" bezieht sich auf eine Zusammensetzung, die für eine Abgabe an das Atemsystem eines Subjekts geeignet ist.

**[0019]** Die Erfindung bezieht sich auch auf zum Einatmen geeignete Zusammensetzungen, die an das Atemsystem abgegeben werden können. Die zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen der Erfindung umfassen Trägerteilchen mit einer Schüttdichte von weniger als  $0,4 \text{ g/cm}^3$  und eine einen Wirkstoff enthaltende Zusammensetzung. In einer Ausführungsform können die Trägerteilchen, die in den zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen enthalten sind, getrennt ohne einen Wirkstoff hergestellt und dann mit einer einen Wirkstoff enthaltenden Zusammensetzung vermischt werden.

**[0020]** In einer Ausführungsform werden die Teilchen der Erfindung aus einem Behälter verabreicht, der eine Masse von Teilchen aufweist, festhält, enthält oder umschließt. Erfindungsgemäß können Behälter mit einem Volumen von mindestens etwa  $0,37 \text{ cm}^3$  verwendet werden. Größere Behälter mit einem Volumen von mindestens etwa  $0,48 \text{ cm}^3$ ,  $0,67 \text{ cm}^3$ , oder  $0,95 \text{ cm}^3$  können ebenfalls eingesetzt werden. Die Behälter sind vorzugsweise so konzipiert, dass sie sich zur Verwendung in einem Trockenpulver-Inhalator eignen.

**[0021]** In einer anderen Ausführungsform ist die Energie, welche die Teilchen des Trockenpulvers in aggregiertem Zustand hält so, dass der Atem eines Patienten über einen vernünftigen physiologischen Bereich von Inhalations-Fließgeschwindigkeiten ausreicht, um das im Behälter enthaltene Pulver in zum Einatmen geeignete Teilchen zu deaggregieren. Die deaggregierten Teilchen können über den Atem des Patienten mit hoher Effizienz in die Luftwege und/oder tiefe Lunge eindringen und sich dort abscheiden.

**[0022]** Die Teilchen weisen eine Schüttdichte von weniger als ca.  $0,4 \text{ g/cm}^3$ , vorzugsweise ca.  $0,1 \text{ g/cm}^3$  oder weniger auf. In einer anderen Ausführungsform verfügen die Teilchen über einen gewichtsgemittelten geometrischen Durchmesser (MMGD) von mehr als  $5 \text{ }\mu\text{m}$ , vorzugsweise um etwa  $10 \text{ }\mu\text{m}$  oder darüber. In noch einer anderen Ausführungsform haben die Teilchen einen gewichtsgemittelten aerodynamischen Durchmesser (MMAD) von ca.  $1 \text{ }\mu\text{m}$  bis ca.  $5 \text{ }\mu\text{m}$ .

**[0023]** In einer Ausführungsform verfügen die Trägerteilchen über einen Durchmesser von etwa 10 Mikron und eine Dichte von etwa  $0,001 \text{ g/cm}^3$  und einen MMAD (aerodynamischen Durchmesser) von etwa 0,3 Mikron, vorzugsweise etwa 0,001 bis etwa 0,3 Mikron (etwa 10 bis etwa 300 Nanometer) oder etwa 0,001 bis etwa 0,02 Mikron. Die Trägerteilchen werden in diesem Bereich nicht als für ein Einatmen geeignet angesehen. Submikron-Teilchen sind in der Lage, eine ausreichende Dichte zu erzeugen, um die nicht zum Einatmen geeigneten Trägerteilchen in den zum Einatmen geeigneten Bereich zu bringen. Solche Trägerteilchen sind so konzipiert, dass sie sicherstellen, dass eine therapeutische Menge an Wirkstoff mit Nanometer-Größe die aerodynamische Leistung des Trägerteilchens nicht negativ beeinflusst, wenn der Wirkstoff an der Oberfläche hängen bleibt, auf der Oberfläche adsorbiert oder chemisch mit dem Trägerteilchen assoziiert wird. Zu diesem Zweck werden z.B. Trägerteilchen mit ca.  $10 \mu\text{m}$  Durchmesser und einer sehr niedrigen Dichte (von etwa  $0,001 \text{ g/cm}^3$ ) konzipiert, welche von selbst Teilchen mit viel kleinerer aerodynamischer Größe (z.B.  $0,3 \mu\text{m}$ ) produzieren könnten, die unterhalb des zum Einatmen geeigneten Bereichs von 1 bis  $5 \mu\text{m}$  fallen. Nach Einschluss von genügend Teilchen mit Nanometer-Größe jedoch (z.B. etwa 10 bis 200 nm), welche über eine größere Dichte (z.B. etwa  $1 \text{ g/cm}^3$ ) verfügen und einen Wirkstoff umfassen, würden die erhaltenen Teilchen so konstruiert sein, dass sie in den erforderlichen Größen- und Porositätsbereich fallen. Auf diese Weise wird für eine größere Beladung an Wirkstoff gesorgt. Ohne an eine Erklärung gebunden zu sein, wird angenommen, dass wegen der kleinen Teilchengröße der Teilchen im mikronisierten Bereich die Anzahl der Teilchen-Teilchen-Kontaktpunkte in einem gegebenen Volumen relativ zu den aus größeren Teilchen hergestellten Pulvern groß ist. Pulver mit kleiner Teilchengröße erfordern große Energien, um in einer Aerosolwolke dispergiert zu werden. Die Wirkung der großen Energieanforderung von solchen Pulvern besteht darin, dass man sowohl ein großes Gefäß als auch eine kleine Gewichts-dosis benötigt.

**[0024]** Die Erfindung weist zahlreiche Vorteile auf. Eine große Einzeldosis an Wirkstoff (z.B. eines therapeutischen Mittels, eines prophylaktischen Mittels, eines diagnostischen Mittels, eines prognostischen Mittels) kann z.B. an das pulmonale System über einen DPI mit hoher Effizienz verabreicht werden. In der Erfindung wird eine einfache kosteneffektive Vorrichtung für eine Abgabe an das pulmonale System verwendet, welche die Effizienz erhöht und den Verlust an Medikamenten minimiert. Da nach dem erfindungsgemäßen Abgabeverfahren die Dosierungshäufigkeit reduziert werden kann, wird davon ausgegangen, dass sich das Einverständnis eines Patienten zu Behandlungs- oder zu Prophylaxe-Vorschriften verbessert. Eine Abgabe an das pulmonale System kann das Bedürfnis nach einer Injektion beseitigen. Beispielsweise kann das Erfordernis von täglichen Injektionen von Insulin vermieden werden. Die Steigerungseigenschaften der Teilchen selbst kann zu einem Vorteil bei der Dosierung führen, wenn die Menge an Wirkstoff, die benötigt wird, um die therapeutische, prophylaktische, diagnostische oder prognostische Wirkung zu erzielen, tatsächlich vermindert wird. In den Beispielen 5 bis 9 wird eine solche Wirkung mit L-Dopa beschrieben. Dieser Dosierungsvorteil kann zu einem mindestens zweifachen Anstieg sowohl der biologischen Verfügbarkeit (z.B. eine biologische Verfügbarkeit der Plasmakonzentration) als auch der therapeutischen Vorteile im Vergleich mit anderen Verabreichungsarten, insbesondere einer oralen Verabreichung, führen. Darüber hinaus potenziert die Kombination einer höchst wirksamen Abgabe und ein Vorteil bei der Dosierung die Wirksamkeit eines Wirkstoffs über die derzeit bekannten Niveaus hinaus. Die Tatsache, dass die Teilchen als Träger für verschiedene Wirkstoffe eingesetzt werden können, unterstreicht auch die breite Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung.

#### KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

**[0025]** **Fig. 1** ist eine graphische Darstellung, in welcher der gewichtsgemittelte geometrische Durchmesser (MMGD) in Mikron gegen den Druck von mikronisiertem Albuterolsulfat (Rauten), sprühgetrocknetem Albuterolsulfat (Quadrate) und sprühgetrocknetem hGH (Dreiecke) aufgetragen ist.

**[0026]** **Fig. 2A** ist ein Balkendiagramm, in welchem der mittlere geometrische Durchmesser von mikronisiertem Albuterolsulfat, sprühgetrocknetem Albuterolsulfat und sprühgetrocknetem hGH als Primärteilchen (linker Balken von jedem Paar), gemessen mit RODOS, im Vergleich mit aus dem Inhalator mit 30 l/min ausgestoßenen Teilchen (rechter Balken von jedem Paar), gemessen mit IHA, gezeigt wird.

**[0027]** **Fig. 2B** ist ein Balkendiagramm, in welchem der mittlere aerodynamische Durchmesser von mikronisiertem Albuterolsulfat und sprühgetrocknetem Albuterolsulfat als Primärteilchen (linker Balken), gemessen mit einem AeroDispenser, im Vergleich mit aus dem Inhalator mit 30 l/min ausgestoßenen Teilchen (rechter Balken), gemessen mit einem AeroBreather, gezeigt wird.

**[0028]** **Fig. 3** ist ein Balkendiagramm, in welchem die Feinpartikelfraktion (FPF)  $> 4,0 \mu\text{m}$  (Mikron) der ausgestoßenen Dosis unter Verwendung eines DPI bei 60 l/min gezeigt wird.

[0029] [Fig. 4](#) ist ein Balkendiagramm, in welchem ein Vergleich des Gewichts (linker Balken) mit den durch Gammazählung ermittelten Teilchengröße-Verteilungen (rechter Balken) von radioaktiv markierten Teilchen gezeigt wird.

[0030] [Fig. 5](#) ist eine graphische Darstellung, in welcher das in den Lungen abgeschiedene Gewicht (Rauten) relativ zu der nominalen Dosis (Rauten) gezeigt wird. Die mittlere Abscheidung für die 10 Individuen betrug 59% (gestrichelte Kurve).

[0031] [Fig. 6](#) ist ein Balkendiagramm, in welchem der für 6 mg (linker Balken) und 50 mg (rechter Balken) Füllgewicht erhaltenen Verteilungen der Gewichtsfraktionen dargestellt wird.

[0032] [Fig. 7](#) ist eine graphische Darstellung, in welcher die relative Lungenablagerung von Teilchen der vorliegenden Erfindung (Kreise) über einen Bereich von Atem-Fließgeschwindigkeiten in gesunden Freiwilligen gezeigt wird. Diese wird mit der Lungenablagerung aus Trockenpulver-Inhalatoren (DPI's) (durchgezogene Kurve) über den gleichen Bereich von Atem-Fließgeschwindigkeiten verglichen. Im Vergleich zu den DPI's wurde die Wirksamkeit der Ablagerung der erfindungsgemäßen Teilchen auf einen mittleren Wert von 1,0 (gestrichelte Kurve) normalisiert. Die mittlere Wirksamkeit des in der Lunge abgeschiedenen Gewichts dividiert durch die nominale Dosis der erfindungsgemäßen Teilchen beträgt, wie in [Fig. 5](#) dargestellt, 59%.

[0033] [Fig. 8](#) ist eine graphische Darstellung, in welcher nach einer oralen Verabreichung oder einer Verabreichung in die Lunge die Plasmakonzentration von L-Dopa gegen die Zeit gezeigt wird (normalisiert für eine Dosis von 8 mg).

[0034] [Fig. 9](#) ist eine graphische Darstellung, in welcher für orale und pulmonale Gruppen die Plasmakonzentration von Ketoprofen gegen die Zeit gezeigt wird.

[0035] [Fig. 10](#) ist eine graphische Darstellung, in welcher für orale Gruppen die Plasmakonzentration von Ketoprofen gegen die Zeit gezeigt wird.

[0036] [Fig. 11](#) ist eine die Plasmakonzentration von Ketoprofen gegen die Zeit für pulmonale Gruppen.

[0037] [Fig. 12](#) ist eine Darstellung, in welcher für verschiedene L-Dopa enthaltende Pulver-Formulierungen die RODOS-Kurven gezeigt werden.

[0038] [Fig. 13A](#) und [Fig. 13B](#) sind HPLC-Chromatogramme, in welchen die Ausbeute von L-DOPA aus den Pulvern ([Fig. 13A](#)) im Vergleich mit einer Blindprobe ([Fig. 13B](#)) gezeigt wird.

[0039] [Fig. 14A](#) zeigt die Plasmaspiegel von L-DOPA nach einem pulmonalen und oralen Verabreichungsweg.

[0040] [Fig. 14B](#) zeigt die Plasmaspiegel von L-DOPA nach einer pulmonalen, oralen und intravenösen Verabreichung.

[0041] [Fig. 15A](#) und [Fig. 15B](#) zeigt in einem Rattenmodell der Parkinson-Krankheit jeweils die Ergebnisse von oralem und pulmonalem L-DOPA in einer funktionellen Setzaufgabe ("placing task").

[0042] [Fig. 16A](#) und [Fig. 16B](#) zeigt in einem Rattenmodell der Parkinson-Krankheit jeweils die Ergebnisse von oralem und pulmonalem L-DOPA in einer funktionellen Aufstehaufgabe ("bracing task").

[0043] [Fig. 17A](#) und [Fig. 17B](#) zeigt in einem Rattenmodell der Parkinson-Krankheit jeweils die Ergebnisse von oralem und pulmonalem L-DOPA in einer funktionellen Akinese-Aufgabe.

[0044] [Fig. 18](#) zeigt in einem Rattenmodell der Parkinson-Krankheit die Ergebnisse von oraler und pulmonaler Abgabe von L-DOPA auf funktionelle Drehung.

[0045] [Fig. 19](#) zeigt die Ergebnisse einer Methacholin-Probe in einem Meerschweinchen-Modell über einen Zeitraum von 24 Stunden nach Behandlung mit Salmeterol-Formulierungen [F-1 (0,5), gefüllte Raute; F-1 (1,0), gefülltes Quadrat; F-1 (2,0), gefülltes Dreieck] im Vergleich mit Serevent<sup>®</sup>-Formulierungen [SX-1 (0,5) "x" und SX-2 (1,0) leerer Kreis].

**[0046]** Fig. 20 zeigt die Ergebnisse einer Methacholin-Probe in einem Meerschweinchen-Modell über einen Zeitraum von 24 Stunden nach Behandlung mit Salmeterol-Formulierungen [F-2 (0,5), gefüllte Raute; F-2 (1,0), gefülltes Quadrat; F-2 (2,0), gefülltes Dreieck] im Vergleich mit Serevent®-Formulierungen [SX-1 (0,5) "x" und SX-2 (1,0) leerer Kreis].

#### GENAUE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

**[0047]** Die Merkmale und anderen Details der Erfindung, entweder als Schritte der Erfindung oder als Kombination von Teilen der Erfindung, werden nun unter Bezugnahme auf die anhängenden Zeichnungen genauer beschrieben und in den Ansprüchen angegeben. Diese Anmeldung ist auch mit der am 19. September 2000 eingereichten US-Patentanmeldung 09/665,252 (Anwaltszeichen 2685.1009-000) mit dem Titel "Pulmonary Delivery in Treating Disorders of the Central Nervous System" sowie mit deren am gleichen Tag wie die vorliegende Anmeldung eingereichten Continuation-in-part-Anmeldung mit dem gleichen Titel (Anwaltszeichen 2685.1009-001) verwandt.

**[0048]** Die Erfindung betrifft Verfahren zur Abgabe von Substanzteilchen an das pulmonale System. Die Erfindung betrifft auch zum Einatmen geeignete Zusammensetzungen, welche Trägerteilchen umfassen und welche an das pulmonale System abgegeben werden können.

**[0049]** In einer Ausführungsform enthalten die Teilchen der Erfindung einen Wirkstoff. Der hier verwendete Ausdruck "Wirkstoff" umfasst, jedoch nicht ausschließlich, therapeutische Mittel, prophylaktische Mittel, diagnostische Mittel und prognostische Mittel. Die Erfindung betrifft auch Wirkstoffe, die selbst nach diesem Verfahren abgegebene Teilchen aufweisen. Je nach der beabsichtigten Verwendung kann der Wirkstoff in Form von, jedoch nicht ausschließlich, einem Trockenpulver (z.B. einem aus Partikeln bestehenden Pulver), Teilchen (wie, jedoch nicht ausschließlich, mikronisierte Teilchen, Submicron-Teilchen, Teilchen von Nanometer-Größe, Liposomen, Mikrokügelchen, Mikroteilchen, Mizellen und Kügelchen), Kristallen, einer flüssigen Lösung, einer Suspension oder einer Emulsion vorliegen. Der Ausdruck "Wirkstoff" umfasst biologisch aktive Mittel. Der hier verwendete Ausdruck "biologisch aktiv" bezieht sich darauf, dass auf einen lebenden Organismus, z.B. einen Säuger und insbesondere einen Menschen, eine Wirkung ausgeübt wird. Wirkstoffe in Form von Teilchen oder aus Partikeln bestehenden Pulvern lassen sich durch Mahlen, Filtern, Verdampfen, Extrahieren und Sprühtrocknen sowie mit anderen dem Fachmann bekannten Techniken herstellen. In einer Ausführungsform ist der Wirkstoff nicht kristallin, der Wirkstoff weist z.B. keine kristalline Struktur auf oder enthält keine Kristalle.

**[0050]** Einige Beispiele von geeigneten biologisch aktiven Stoffen umfassen Arzneimittel (z.B. hydrophobe Arzneimittel, hydrophile Arzneimittel), pharmazeutische Formulierungen, Vitamine, pharmazeutische Adjuvantien, Proteine, Peptide, Polypeptide, Hormone, Aminosäuren, Nucleinsäuren, Impfstoff-Formulierungen, inaktivierte Viren, Phospholipide, oberflächenaktive Substanzen und jede Kombination derselben. Andere Beispiele für Wirkstoffe sind anorganische Verbindungen und organische Verbindungen.

**[0051]** Diese Erfindung betrifft auch die Herstellung von einheitlichen Teilchen mittels Sprühtrocknens. Die einheitlichen Eigenschaften der Teilchen, die ihnen ihre ausgezeichnete Eignung zum Einatmen, Fließbarkeit und Dispergierbarkeit verleihen, werden beibehalten, ob der Wirkstoff nun (1) Teil der durch Sprühtrocknen erhaltenen Vormischung ist und dadurch in die Teilchen eingebaut wird, (2) getrennt hergestellten Teilchen zugesetzt wird, so dass der Wirkstoff auf den Teilchen hängen bleibt oder mit den Teilchen chemisch assoziiert ist oder (3) zugemischt wird, so dass der Wirkstoff mit den Teilchen vermischt und zusammen mit ihnen abgegeben wird. Die chemische Assoziation umfasst, jedoch nicht ausschließlich, ionische Wechselwirkungen, die Anziehung von geladenen Teilchen und/oder eines geladenen Wirkstoffs, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, Van der Waals-Kräfte, kovalente Wechselwirkungen, eine Adsorption und Wasserstoffbrückenbindungen.

**[0052]** Anders als die im Stand der Technik bekannten Teilchen sind die trockenen Teilchen der vorliegenden Erfindung vielseitig. Die Teilchen der Erfindung können z.B. einen Wirkstoff aufnehmen, einen Wirkstoff transportieren oder einen Wirkstoff zusammen abgeben oder jede Kombination davon. In einer Ausführungsform lassen sich die zusammen abgegebenen Teilchen als Eskorten beschreiben, die mindestens einen Wirkstoff in der Lunge an den gewünschten Ort der Ablagerung begleiten. Lactose ist z.B. ein bewährter im Handel erhältlicher Träger. Lactose kann jedoch nicht wirksam in die tiefe Lunge abgegeben werden. Die Teilchen der vorliegenden Erfindung erreichen die tiefe Lunge und sind in der Lage, den gewünschten Wirkstoff an den gewünschten Ort der Ablagerung zu eskortieren, zu begleiten und/oder zusammen abzugeben. Es werden hier verschiedene Beispiele angegeben. Wenn die Teilchen der vorliegenden Erfindung als Träger benutzt werden, weisen sie Vorteile auf und bieten Optionen, über die andere Träger einschließlich Lactose nicht verfügen.

**[0053]** Die Teilchen der Erfindung sind in der Lage, überraschend große Mengen an Wirkstoff zu transponieren. Die Teilchen der Erfindung lassen sich auch in großem Umfang dispergieren und sind in der Lage, Regionen im Atemsystem anzusteuern. Die in den Verfahren der Erfindung eingesetzten Zusammensetzungen, die trockene Teilchen umfassen, welche überraschend große Mengen an Wirkstoff transponieren, sind auch in der Lage, besondere Regionen des Atemsystem anzusteuern, z.B. die oberen Luftwege, die zentralen Luftwege und/oder die tiefe Lunge.

**[0054]** Unter Berücksichtigung der individuellen Eigenschaften der erfindungsgemäßen Teilchen und des Wirkstoffs lassen sich die Zusammensetzungen für eine erfolgreiche pulmonale Verabreichung optimieren. Die Zusammensetzungen mit den hoch dispergierbaren Teilchen können wahlweise zusätzliche Teilchen und/oder Wirkstoffe enthalten. Selbstverständlich enthalten die Zusammensetzungen mit den Teilchen der Erfindung Teilchen mit und ohne Wirkstoff. Falls vorhanden kann der Wirkstoff, unter anderen Dingen, (1) in die Teilchen aufgenommen, (2) adsorbiert, an die Teilchen angehängt oder mit den Teilchen chemisch assoziiert werden und/oder (3) zugemischt werden, so dass der Wirkstoff mit den Teilchen vermischt und zusammen mit ihnen abgegeben wird.

**[0055]** Wie hier beschrieben können die Zusammensetzungen mit den Teilchen der Erfindung, insbesondere mit wie hier definiert hoch dispergierbaren Teilchen, des weiteren einen Wirkstoff umfassen. In einer Ausführungsform umfassen die Zusammensetzungen mit den Teilchen der Erfindung mindestens einen zusätzlichen Wirkstoff. Wie angegeben, können die Zusammensetzungen mit den Teilchen der Erfindung einen Wirkstoff in die Teilchen aufnehmen, einen Wirkstoff mit den Teilchen transportieren und/oder einen Wirkstoff zusammen abgeben oder jede Kombination derselben. Beispiele für Wirkstoffe sind, jedoch nicht ausschließlich, therapeutische Mittel, prophylaktische Mittel, diagnostische Mittel und prognostische Mittel. Geeignete Wirkstoffe umfassen auch biologisch aktive Mittel. Einige Beispiele für biologisch aktive Agenzien sind, jedoch nicht ausschließlich, Arzneimittel (z.B. hydrophobe Arzneimittel, hydrophile Arzneimittel), pharmazeutische Formulierungen, Vitamine, pharmazeutische Adjuvantien, Proteine, Peptide, Polypeptide, Hormone, Aminosäuren, Nucleinsäuren, Impfstoff-Formulierungen, inaktivierte Viren, oberflächeaktive Substanzen der Lunge und jede Kombination derselben. Andere Beispiele sind synthetische Verbindungen, anorganische Verbindungen und organische Verbindungen, Proteine und Peptide, Polysaccharide und andere Zucker, Lipide und Nucleinsäuresequenzen aus DNA und RNA mit therapeutischen, prophylaktischen, diagnostischen und/oder prognostischen Aktivitäten. Die Nucleinsäuresequenzen umfassen Gene, Antisense-Moleküle, welche sich an komplementäre DNA binden, um die Transkription zu hemmen, sowie Ribozyme. Die Arzneimittel umfassen hydrophobe und hydrophile Arzneimittel.

**[0056]** Die Wirkstoffe, einschließlich die in die Teilchen der Erfindung aufgenommenen, an sie angehefteten, in chemischer Assoziation mit ihnen befindlichen und/oder zugemischten und zusammen abgegebenen Wirkstoffe, können über verschiedene biologische Aktivitäten verfügen. Solche Wirkstoffe sind, aber nicht ausschließlich, vasoaktive Wirkstoffe, neuroaktive Wirkstoffe, Hormone, Antikoagulantien, immunmodulierende Wirkstoffe, cytotoxische Wirkstoffe, prophylaktische Wirkstoffe, Antibiotika, antivirale Wirkstoffe, Antisense-Wirkstoffe, Antigene und Antikörper wie z.B. monoklonale Antikörper, z.B. Palivizumab (Medimmune, Gaithersberg, MD). In einigen Fällen können die Proteine Antikörper oder Antigene sein, die sonst über eine Injektion verabreicht worden wären, um eine passende Immunantwort auszulösen. Verbindungen mit einem breiten Molekulargewichtsbereich, z.B. zwischen 100 und 500.000 Dalton, können verkapselt sein. Proteine sind hier so definiert, dass sie aus 100 oder mehr Aminosäureresten bestehen; Peptide enthalten weniger als 100 Aminosäurereste. Wenn nicht anders angegeben, bezieht sich der Ausdruck Protein sowohl auf Proteine als auch Peptide. Beispiele sind Insulin und andere Hormone. Polysaccharide wie Heparin lassen sich ebenfalls verabreichen.

**[0057]** Die Teilchen, besonders die hier beschriebenen hoch dispergierbaren Teilchen, können einen für eine systemische Behandlung geeigneten biologisch aktiven Wirkstoff enthalten. Alternativ können die Teilchen einen biologisch aktiven Wirkstoff für eine lokale Abgabe in der Lunge, wie z.B. Wirkstoffe für die Behandlung von Asthma, Emphysem oder cystischer Fibrose, oder für eine systemische Behandlung enthalten. Beispielsweise lassen sich Gene für die Behandlung von Krankheiten wie der cystischen Fibrose verabreichen, ebenso wie Beta-Agonisten für Asthma. Andere spezifische biologisch aktiven Wirkstoffe sind, jedoch nicht ausschließlich, Wachstumshormone (z.B. das Wachstumshormon von Säugern, insbesondere das Wachstumshormon des Menschen), Interleukine, Insulin, Calcitonin, das luteinisierende Hormon-Releasing-Hormon ("LHRH") oder Gonadotropin-Releasing-Hormon ("LHRH") und Analoge desselben (z.B. Leuprolid), den Granulozyten-Kolonie-stimulierenden-Faktor ("G-CSF"), das Parathyroid-Hormone-related-Peptid, Somatostatin, Testosteron, Progesteron, Östradiol; Nicotin, Fentanyl, Norethisteron, Clonidin, Scopolamin, Salicylat, Na-Cromolyn, Salmeterol, Formeterol, Ipratropiumbromid, Albuterol (einschließlich Albuterolsulfat), Fluticason, Valium, Al-

prazolam und Levodopa (L-Dopa). Andere geeignete therapeutische und/oder prophylaktische Wirkstoffe sind, jedoch nicht ausschließlich, die in dem US-Patent 5,875,776 und der am 19. September 2000 eingereichten US-Anmeldung 09/665,252 (Anwaltszeichen 2685.1009-000) angeführten Wirkstoffe. Solche therapeutischen Wirkstoffe, die eine Ladung aufweisen, wie die meisten Proteine, einschließlich Insulin, lassen sich als ein Komplex zwischen dem geladenen Wirkstoff und einem Molekül mit entgegengesetzter Ladung verabreichen. Vorzugsweise ist das Molekül mit entgegengesetzter Ladung ein geladenes Lipid oder ein entgegengesetzt geladenes Protein. Die Teilchen können Substanzen wie z.B. Lipide aufnehmen, welche die andauernde Freisetzung von kleinen und großen Molekülen gestatten. Die Zugabe dieser Komplexe oder Substanzen ist auf Teilchen von jeder Größe und Form anwendbar und ist besonders einen Wechsel der Freisetzungsgeschwindigkeit von therapeutischen Wirkstoffen aus inhalierten Teilchen von Nutzen.

**[0058]** Jeder der verschiedenen diagnostischen und/oder prognostischen Wirkstoffe kann in die hoch dispergierbaren Teilchen aufgenommen werden, welche nach der Verabreichung an einen Patienten die aufgenommenen Wirkstoffe lokal oder systemisch abgeben können. Alternativ lassen sich diagnostische und/oder prognostische Wirkstoffe mit den hoch dispergierbaren Teilchen der Erfindung transportieren, sich daran anheften, sich chemisch mit ihnen assoziieren und/oder zusammen mit ihnen abgeben. Teilchen, welche diagnostische Wirkstoffe aufnehmen, lassen sich unter Einsatz von Standardtechniken, die im Stand der Technik zur Verfügung stehen, sowie mit einer im Handel erhältlichen Ausrüstung nachweisen.

**[0059]** In einer Ausführungsform umfasst eine Zusammensetzung mit den Teilchen der Erfindung ferner einen diagnostischen und/oder prognostischen Wirkstoff. Der diagnostische und/oder prognostische Wirkstoff kann einen Marker enthalten, einschließlich, aber nicht ausschließlich, ein Radioisotop, einen Epitop-Marker, einen Affinitäts-Marker, einen Spin-Marker, einen Enzym-Marker, eine fluoreszierende Gruppe und eine chemilumineszierende Gruppe. In einer Ausführungsform ist der Marker ein Radioisotop, z.B.  $^{99m}\text{Tc}$ . Selbstverständlich sind weitere Marker im Stand der Technik bekannt und werden von der vorliegenden Erfindung mit umfasst.

**[0060]** Jedes biokompatible oder pharmakologisch verträgliche Gas kann in die Teilchen aufgenommen oder unter Verwendung einer dem Fachmann bekannten Technologie in der Poren der Teilchen eingeschlossen werden. Der Ausdruck Gas bezieht sich auf jede Verbindung, die ein Gas oder in der Lage ist, bei der Temperatur, bei welcher das Imaging erfolgt, ein Gas zu bilden. In einer Ausführungsform wird die Rückhaltung des Gases in den Teilchen verbessert, indem um die Teilchen eine gasundurchlässige Barriere errichtet wird. Derartige Barrieren sind dem Fachmann bekannt.

**[0061]** Andere Imaging-Mittel, die eingesetzt werden können, sind im Handel erhältliche Mittel, die bei der Positronen-Emissions-Tomographie (PET), der computergestützten Tomographie (CAT), der computerisierten Einzelphotonen-Emissions-Tomographie, dem Röntgen, der Fluoroskopie und dem Magnet-Resonanz-Imaging (MRI) zum Einsatz kommen Beispiele für geeignete Materialien zur Verwendung als Kontrastmittel beim MRI sind Gadolinium-Chelate wie z.B. Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) und Gadopentotatdimethylglumin, sowie Eisen, Magnesium, Mangan, Kupfer und Chrom.

**[0062]** Beispiele für Materialien, die für die CAT und das Röntgen von Nutzen sind, sind auf Iod basierende Materialien für eine intravenöse Verabreichung, wie z.B. durch Diatrizoat und Iothalamat verkörperte ionische Monomere, nicht ionische Monomere wie Iopamidol, Isohexol und Ioversol, nicht ionische Dimere wie Iotrol und Iodixanol sowie ionische Dimere wie z.B. Ioxagalt.

**[0063]** Die Wirkstoffe umfassen auch zielsuchende Moleküle, die an die Teilchen über reaktive funktionelle Gruppen auf den Teilchen angeheftet werden können. Mit zielsuchenden Molekülen lässt sich eine Bindungswechselwirkung des Teilchens mit spezifischen Rezeptorstellen erzielen, wie z.B. solchen in den Lungen. Die Teilchen lassen sich durch Anheften von Liganden zielsuchend machen, welche sich spezifisch oder nicht spezifisch an besondere Ziele binden. Beispielhafte zielsuchende Moleküle sind Antikörper (z.B. polyklonale Seren, monoklonale, chimäre, humanisierte, humane) sowie Fragmente derselben (z.B. Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv.), einschließlich die variablen Regionen von Antikörpern, Lectine und Hormone oder andere organische Moleküle, die zu einer spezifischen Bindung an z.B. Rezeptoren auf den Oberflächen der Zielzellen befähigt sind.

**[0064]** Die Wirkstoffe und insbesondere die biologisch aktiven Wirkstoffe können auch grenzflächenaktive Stoffe umfassen, wie z.B. grenzflächenaktive Stoffe, welche für die Lunge endogen sind. Der Geltungsbereich der Erfindung umfasst sowohl natürlich vorkommende als auch synthetische grenzflächenaktive Stoffe der Lunge.

**[0065]** Die Verfahren der Erfindung betreffen auch die Verabreichung von Teilchen und/oder Zusammensetzungen.

zungen mit den Teilchen der Erfindung, welche in einem Behälter eingeschlossen sein können, an den Atemtrakt eines Subjekts. Wie hier beschrieben betrifft die Erfindung in bestimmten Ausführungsformen Verfahren zur Abgabe der Teilchen der Erfindung, während in anderen Ausführungsformen die Erfindung Verfahren zur Abgabe von zum Einatmen geeigneten, die Teilchen der Erfindung enthaltenden Zusammensetzungen betrifft. Der hier verwendete Ausdruck "Behälter" umfasst, jedoch nicht ausschließlich, z.B. eine Kapsel, einen Blister, eine mit einem Film bedeckte Vertiefung in einem Behälter, eine Kammer und andere geeignete Mittel zur Aufbewahrung von Teilchen, ein Pulver oder eine zum Einatmen geeignete Zusammensetzung in einer dem Fachmann bekannten Inhalationsvorrichtung.

**[0066]** In einer bevorzugten Ausführungsform wird der Behälter in einem Inhalator für Trockenpulver verwendet. Beispiele für Trockenpulver-Inhalatoren, die in den Verfahren der Erfindung eingesetzt werden können sind, jedoch nicht ausschließlich, die in den US-Patenten 4,995,385 und 4,069,819 Inhalatoren Spinhaler® (Fisons, Loughborough, U.K.), Rotahaler® (Glaxo-Wellcome, Research Triangle Technology Park, North Carolina), FlowCaps® (Hovione, Lources, Portugal), Inhalator® (Boehringer-Ingelheim, Deutschland) und Aerolizer® (Novartis, Schweiz), Diskhaler (Glaxo-Wellcome, RTP, NC) und andere dem Fachmann bekannte Inhalatoren. In einer Ausführungsform wird der verwendete Inhalator in der am 16. April 2001 unter dem Anwaltszeichen 00166.0109.US00 eingereichten US-Patentanmeldung mit dem Titel "Inhalation Device and Method" von David A. Edwards et al. beschrieben.

**[0067]** In einer Ausführungsform beträgt das Volumen des Behälters mindestens etwa 0,37 cm<sup>3</sup>. In einer anderen Ausführungsform beträgt das Volumen des Behälters mindestens etwa 0,48 cm<sup>3</sup>. In noch einer anderen Ausführungsform kommen Behälter mit einem Volumen von mindestens etwa 0,67 cm<sup>3</sup> oder 0,95 cm<sup>3</sup> vor. Die Erfindung betrifft auch Behälter, die Kapseln sind, z.B. Kapseln, die mit einer besonderen Kapselgröße wie z.B. 2, 1, 0, 00 oder 000 bezeichnet werden. Geeignete Kapseln können z.B. von Shionogi (Rockville, MD) bezogen werden. Blisters können z.B. von Hueck Foils, (Wall, NJ) bezogen werden. Andere Behälter und andere Volumina davon, die sich in der vorliegenden Erfindung verwenden lassen, sind dem Fachmann bekannt.

**[0068]** Der Behälter umschließt oder speichert Teilchen und/oder Teilchen enthaltende, zum Einatmen geeignete Zusammensetzungen. In einer Ausführungsform liegen die Teilchen und/oder Teilchen enthaltende, zum Einatmen geeignete Zusammensetzungen in Form eines Pulvers vor. Der Behälter wird, wie im Stand der Technik bekannt, ist mit Teilchen und/oder Teilchen enthaltenden, zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen gefüllt, wobei eine Vakuumbefüllung oder Verfestigungstechnologien zum Einsatz kommen können. Im Allgemeinen lässt sich das Füllen des Behälters mit Pulver mit im Stand der Technik bekannten Verfahren ausführen. In einer Ausführungsform der Erfindung haben die Teilchen, das Pulver oder die zum Einatmen geeignete Zusammensetzung, die in einem Behälter eingeschlossen oder aufbewahrt werden, ein Gewicht von mindestens etwa 5 Milligramm. Vorzugsweise beträgt das Gewicht der Teilchen oder der zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen, die in dem Behälter eingeschlossen oder aufbewahrt werden, mindestens ca. 10 Milligramm.

**[0069]** In einer Ausführungsform der Erfindung umschließt der Behälter eine Masse von Teilchen, insbesondere, wie hier beschrieben, eine Masse von hoch dispergierbaren Teilchen. Das Gewicht der Teilchen umfasst eine nominale Dosis eines Wirkstoffs. Die hier verwendete Bezeichnung "nominale Dosis" bezieht sich auf das Gesamtgewicht eines Wirkstoffs, welcher in der Masse der Teilchen im Behälter enthalten ist und stellt die maximale Menge an Wirkstoff dar, die für eine Verabreichung in einem einzigen Atemzug zur Verfügung steht.

**[0070]** Die Teilchen und/oder Teilchen enthaltenden, zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen werden in den Behältern aufbewahrt oder eingeschlossen und werden an den Atemtrakt eines Subjekts verabreicht. Die hier verwendeten Ausdrücke "Verabreichung" oder "verabreichen" von Teilchen und/oder zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen beziehen sich auf die Einführung von Teilchen in den Atemtrakt eines Subjekts.

**[0071]** Wie hier beschrieben, betrifft die Erfindung in einer Ausführungsform eine zum Einatmen geeignete Zusammensetzung mit Trägerteilchen und einem Wirkstoff. In einer anderen Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Abgabe einer Trägerteilchen und einen Wirkstoff enthaltenden zum Einatmen geeigneten Zusammensetzung. Der hier verwendete Ausdruck "Trägerteilchen" bezieht sich auf Teilchen, die einen Wirkstoff enthalten können oder nicht enthalten und sie helfen bei der bei der Abgabe eines Wirkstoffs an das Atemsystem eines Subjekts, indem sie z.B. die Eigenschaften eines Wirkstoffs im Hinblick auf die Stabilität, Dispergierbarkeit, Überführung in ein Aerosol, Konsistenz und/oder Kompaktheit erhöhen. Es ist klar, dass in bestimmten Ausführungsformen die Teilchen der Erfindung Trägerteilchen sind, die an den Atemtrakt eines Subjekts abgegeben werden können.

**[0072]** In einer Ausführungsform betrifft die Erfindung eine zum Einatmen geeignete Zusammensetzung, welche durch das Zumischen oder Vermischen von Trägerteilchen (ohne einen Wirkstoff) zu oder mit einer einen Wirkstoff enthaltenden Zusammensetzung gebildet wird. Die zum Einatmen geeignete Zusammensetzung kann sodann an den Atemtrakt eines Subjekts verabreicht werden. In einer anderen Ausführungsform wird die zum Einatmen geeignete Zusammensetzung an das Atemsystem eines Subjekts abgegeben, z.B. durch Verwendung einer Inhalatorvorrichtung für trockenes Pulver. In einer Ausführungsform umfasst die zum Einatmen geeignete Zusammensetzung eine Zusammensetzung, die einen Wirkstoff enthält, der in Form von mikronisierten Teilchen vorliegt (z.B. Submicron-Teilchen).

**[0073]** In Ausführungsformen, in denen die Teilchen der Erfindung Trägerteilchen darstellen, die zusammen mit einem Wirkstoff verabreicht werden, unterstützen die Trägerteilchen vorzugsweise die Abgabe des Wirkstoffs an das Atemsystem eines Subjekts (z.B. die oberen Luftwege, die unteren Luftwege, die tiefen Lungen). In einer Ausführungsform sind die Teilchen der Erfindung Trägerteilchen, die zusammen mit einem Wirkstoff verabreicht werden und eine einheitliche Abgabe des Wirkstoffs an eine besondere Region des Atemsystems eines Subjekts (z.B. an die oberen Luftwege, die zentralen Luftwege oder vorzugsweise die tiefen Lungen) begünstigen. Eine Verabreichung der Trägerteilchen der Erfindung zusammen mit einem Wirkstoff kann auch bei der Verminderung der Phagozytose des Wirkstoffs durch Makrophagen helfen (z.B. Makrophagen der Alveolen) und/oder die Dispergierbarkeit des Wirkstoffs und/oder die Überführung des Wirkstoffs in ein Aerosol erhöhen (z.B. durch eine Verminderung der Aggregation oder Agglomeration der Teilchen).

**[0074]** Wie hier beschrieben, können die Teilchen und zum Einatmen geeigneten, die Teilchen der Erfindung umfassenden Zusammensetzungen wahlweise einen grenzflächenaktiven Stoff enthalten, wie z.B. einen grenzflächenaktiven Stoff, der für die Lunge endogen ist. Die Teilchen und die hier beschriebenen, zum Einatmen geeigneten, die Teilchen der Erfindung umfassenden Zusammensetzungen sind auch vorzugsweise biologisch abbaubar und biokompatibel und können wahlweise die biologische Abbaubarkeit und/oder die Geschwindigkeit der Abgabe eines zusammen verabreichten Wirkstoffs beeinflussen.

**[0075]** Wie hierin beschrieben, sind die Teilchen, einschließlich den Trägerteilchen, die in den hierin beschriebenen, zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen enthalten sind, "aerodynamisch leicht". Wie nachstehend beschrieben, bezieht sich „aerodynamisch leicht“, hierin verwendet, auf Teilchen mit einer Schüttdichte von weniger als 0,4 g/cm<sup>3</sup>. In einer Ausführungsform weisen die Trägerteilchen eine Schüttdichte von nahezu oder weniger als 0,1 g/cm<sup>3</sup> auf. Weitere Beschreibungen der Schüttdichte und der Verfahren zur Messung der Schüttdichte werden nachstehend genauer ausgeführt.

**[0076]** In einer Ausführungsform weisen die Teilchen einschließlich der in den hier beschriebenen zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen enthaltenen Trägerteilchen vorzugsweise einen gewichtsgemittelten geometrischen Durchmesser (MMGD) von mehr als 5 µm auf. In anderen Ausführungsformen haben die Teilchen einen MMGD von über etwa 5 µm und reichen bis zu etwa 30 µm oder sie haben einen MMGD von ca. 10 µm bis etwa 30 µm. Eine weitere Beschreibung des MMGD und Verfahren zu Berechnung des MMGD der Teilchen werden genauer weiter unten angegeben.

**[0077]** Es ist selbstverständlich, dass die Teilchen und/oder zum Einatmen geeigneten, die Teilchen der Erfindung enthaltenden Zusammensetzungen, die an den Atemtrakt eines Subjekts verabreicht werden können, wahlweise auch im Stand der Technik bekannte pharmazeutisch verträgliche Träger enthalten können. Der hier verwendete Ausdruck "pharmazeutisch verträgliche Träger" bezieht sich auf einen Träger, der an das Atemsystem eines Patienten verabreicht werden kann, ohne dass irgendwelche signifikante, schädliche toxikologische Wirkungen auftreten. Passende pharmazeutisch verträgliche Träger umfassen solche, die für eine Inhalationstherapie verwendet werden (z.B. Lactose) und umfassen pharmazeutisch verträgliche Träger in Form einer Flüssigkeit (z.B. Saline) oder eines Pulvers (z.B. ein aus Teilchen bestehendes Pulver). In einer Ausführungsform umfasst der pharmazeutisch verträgliche Träger Teilchen, die einen mittleren Durchmesser von etwa 50 µm bis etwa 200 µm aufweisen und insbesondere Lactose-Teilchen in diesem Bereich. Selbstverständlich kann der Fachmann geeignete pharmazeutisch verträgliche Träger zur Verwendung bei der Verabreichung, Begleitung und/oder gemeinsamen Abgabe der erfindungsgemäßen Teilchen leicht ermitteln.

**[0078]** Die Teilchen und/oder zum Einatmen geeigneten Teilchen enthaltenden Zusammensetzungen werden in einem einzelnen atemaktivierten Schritt verabreicht. Die hier verwendeten Ausdrücke "atemaktiviert" und "atemgetrieben" werden gegeneinander austauschbar verwendet. Der hier verwendete Ausdruck "ein einzelner atemaktivierter Schritt" bedeutet, dass die Teilchen in einem Schritt dispergiert und inhaliert werden. Zum Beispiel werden in Vorrichtungen für eine einzelne atemaktivierte Inhalation von der Inhalationsenergie des Subjekts sowohl die Teilchen dispergiert als auch die Teilchen in die orale oder nasopharyngeale Höhlung ge-

zogen. Geeignete Inhalatoren, welche atemaktivierte Einzelaktivatoren darstellen, die in den Verfahren der Erfindung eingesetzt werden können, sind, jedoch nicht ausschließlich, in den US-Patenten 4,995,385 und 4,069,819 beschriebene Trockenpulver-Inhalatoren, der Spinhaler® (Fisons, Loughborough, U.K.), Rotahaler® (Glaxo-Wellcome, Research Triangle Technology Park, North Carolina), der FlowCaps® (Hovione, Loures, Portugal), der Inhalator® (Boehringer-Ingelheim, Deutschland) und der Aerolizer® (Novartis, Schweiz), der Diskhaler (Glaxo-Wellcome, RTP, NC) und andere, wie zum Beispiel dem Fachmann bekannte Inhalatoren. In einer Ausführungsform wird der verwendete Inhalator in der am 16. April 2001 unter dem Anwaltszeichen 00166.0109.US00 eingereichten US-Patentanmeldung mit dem Titel "Inhalation Device and Method" von David A. Edwards et al. beschrieben.

**[0079]** Eine Verabreichung mit "einem einzelnen Atemzug" kann eine einzelne atemaktivierte Verabreichung umfassen aber auch eine Verabreichung, während welcher die Teilchen, die zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen oder die Pulver zuerst dispergiert werden, gefolgt von der Inhalation oder dem Einatmen der dispergierten Teilchen, zum Einatmen geeigneten Zusammensetzungen oder der Pulver. In der letzteren Verabreichungsart werden die Teilchen von einer zusätzlichen Energie zu der zu der vom Einatmen des Subjekts gelieferten Energie dispergiert. Ein Beispiel für einen Single-Breath-Inhaler, in welchem eine andere Energie als die durch das Einatmen des Patienten erzeugte Energie verwendet wird, ist die in dem am 7. Dezember 1999 an Patton et al. erteilten US-Patent 5,997,848 beschriebene Vorrichtung.

**[0080]** In einer bevorzugten Ausführungsform wird der Behälter, der die Teilchen, die zum Einatmen geeigneten Teilchen enthaltenden Zusammensetzungen oder das Pulver einschließt in einem einzelnen atemaktivierten Schritt entleert. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird der die Teilchen einschließende Behälter in einem einzigen Atemzug entleert. Der hier verwendete Begriff "entleert" bedeutet, dass mindestens 50% der in dem Behälter eingeschlossenen Teilchenmasse während der Verabreichung der Teilchen an das Atemsystem eines Subjekts aus dem Inhalator ausströmt.

**[0081]** In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die verabreichten Teilchen hoch dispergierbar. Der hier verwendete Ausdruck "hoch dispergierbare" Teilchen oder Pulver bezieht sich auf Teilchen oder Pulver, die sich von einem RODOS-Trockenpulver-Disperger (oder einer äquivalenten Technik) dispergieren lassen, so dass bei ungefähr 1 bar die Teilchen des Trockenpulvers aus dem RODOS-Gefäß mit geometrischen Durchmessern freigesetzt werden, gemessen mit einem HELOS oder einem anderen Laserdiffraktions-system, welches weniger als ca. das 1,5-fache der bei 4 bar gemessenen geometrischen Teilchengröße ist. Hoch dispergierbare Pulver haben eine geringe Neigung, zu agglomerieren, zu aggregieren oder zusammenzuklumpen und/oder falls sie agglomeriert, aggregiert oder zusammengeklumpt sind, werden sie leicht dispergiert oder deagglomeriert, sobald sie aus dem Inhalator freigesetzt und von dem Subjekt eingeatmet werden. Typischerweise zeigen die hoch dispergierbaren für die Verfahren der Erfindung geeigneten Teilchen eine sehr geringe Aggregation im Vergleich mit standardmäßigen mikronisierten Pulvern, welche ähnliche aerodynamische Durchmesser aufweisen und für eine Abgabe an das Atemsystem geeignet sind. Die Eigenschaften, welche die Dispergierbarkeit fördern sind z.B. die Teilchenladung, die Oberflächenrauigkeit, die Oberflächenchemie und relativ große geometrische Durchmesser. Weil sich die Anziehungskräfte zwischen den Teilchen eines Pulvers (bei konstanter Pulvermasse) umgekehrt proportional mit dem Quadrat des geometrischen Durchmessers verändern und die bei einem Teilchen beobachtete Scherkraft mit dem Quadrat des geometrischen Durchmessers zunimmt, liegt in einer Ausführungsform die Leichtigkeit der Dispergierbarkeit eines Pulvers in der Größenordnung der vierten Potenz des umgekehrten geometrischen Durchmessers. Die erhöhte Teilchengröße vermindert die Haftkräfte unter den Teilchen (Visser, J., Powder Technology 58:1 – 10 (1989)). Somit erhöht bei Teilchen mit niedriger Packungsdichte (envelope mass density) eine große Teilchengröße bei sonst gleichen Parametern die Effizienz der Aerosolfreisetzung an die Lunge. Größere Unregelmäßigkeiten der Oberfläche und die Rauigkeit können ebenfalls die Dispergierbarkeit der Teilchen verstärken. Die Oberflächenrauigkeit lässt sich z.B. durch die Rauheit ausdrücken.

**[0082]** Die Teilchen sind vorzugsweise biologisch abbaubar und biokompatibel und sind wahlweise in der Lage, zur Abgabe eines therapeutischen, prophylaktischen, diagnostischen oder prognostischen Wirkstoffs mit kontrollierter Geschwindigkeit biologisch abzubauen. Zusätzlich zu einem Wirkstoff, vorzugsweise einem biologisch aktiven Wirkstoff, können die Teilchen ferner eine Vielzahl an Stoffen enthalten. Es lassen sich sowohl anorganische als auch organische Stoffe einsetzen. Es können z.B. Tone verwendet werden. Es können auch Fettsäuren verwendet werden, um aerodynamisch leichte Teilchen zu bilden. Andere geeignete Stoffe sind, aber nicht ausschließlich, Aminosäuren, Gelatine, Polyethylenglykol, Trehalose, Lactose und Dextran. Bevorzugte Zusammensetzungen für die Teilchen werden weiter unten beschrieben. In einer Ausführungsform sind die Teilchen der Erfindung nicht polymer. In einer Ausführungsform enthalten zum Einatmen geeignete Zusammensetzungen Trägerteilchen, welche nicht polymer sind.

**[0083]** An den Atemtrakt eines Subjekts verabreichte Teilchen weisen eine Schüttdichte von weniger als etwa  $0,4 \text{ g/cm}^3$  auf. Teilchen mit einer Schüttdichte von weniger als etwa  $0,4 \text{ g/cm}^3$  werden hier als "aerodynamisch leicht" bezeichnet. In einer bevorzugten Ausführungsform haben die Teilchen eine Schüttdichte von nahezu oder weniger als etwa  $0,1 \text{ g/cm}^3$ . Die Schüttdichte ist ein Maß für die ein Teilchen kennzeichnende Packungsdichte (envelope mass density). Die Packungsdichte eines Teilchens von statistisch isotroper Form ist definiert als die Masse des Teilchens dividiert durch das minimale Kugelpackungsvolumen, in welches es eingeschlossen werden kann. Eigenschaften, die zu einer niedrigen Schüttdichte beitragen können sind eine unregelmäßige Oberflächenbeschaffenheit und die Hohl- oder Porenstruktur.

**[0084]** Die Schüttdichte kann durch Einsatz von dem Fachmann bekannten Instrumenten gemessen werden wie z.B. des Dual Platform Microprocessor Controlled Trap Density Tester (Vankel, NC). Die Schüttdichte ist ein Standardmaß für die Packungsdichte. Die Schüttdichte lässt sich durch Verwendung des USP Bulk Density and Tapped Density-Verfahrens, United States Pharmacopia Convention, Rockville, MD, 10. Ergänzungsband, 4950 – 4951, 1999 bestimmen. In einer anderen Ausführungsform weisen die Teilchen einen gewichtsgemittelten geometrischen Durchmesser (MMGD) von über  $5 \mu\text{m}$  und vorzugsweise beinahe oder größer  $10 \mu\text{m}$  auf. In einer Ausführungsform haben die Teilchen einen MMGD, der von über etwa  $5 \mu\text{m}$  bis etwa  $30 \mu\text{m}$  reicht. In einer anderen Ausführungsform haben die Teilchen einen MMGD, der von etwa  $10 \mu\text{m}$  bis etwa  $30 \mu\text{m}$  reicht.

**[0085]** In einer Ausführungsform weisen die die Teilchen der vorliegenden Erfindung enthaltenden Zusammensetzungen ein dynamisches Schüttgewicht (bulk density) von  $0,1 \text{ g/cm}^3$  oder darüber und eine Schüttdichte (tap density) von weniger als etwa  $0,4 \text{ g/cm}^3$  auf. In einer bevorzugten Ausführungsform weisen die Teilchen ein dynamisches Schüttgewicht von über  $0,1 \text{ g/cm}^3$  und eine Schüttdichte nahe von oder weniger als  $0,1 \text{ g/cm}^3$  auf.

**[0086]** Der MMGD der Teilchen kann unter Einsatz eines elektrischen Zonenmessinstruments wie dem Coulter Multisizer IIe (Coulter Electronics, Luton, Beds, England) oder einem Laserbeugungs-Instrument (z.B. Helos, Sympatec, Inc., Princeton, New Jersey) gemessen werden. Die Durchmesser der Teilchen in einer Probe variieren je nach Faktoren wie der Teilchenzusammensetzung und den Syntheseverfahren. Die Größenverteilung der Teilchen in einer Probe kann ausgesucht werden, um eine optimale Ablagerung an den anvisierten Orten im Atemtrakt zu erzielen.

**[0087]** Die für eine Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeigneten aerodynamisch leichten Teilchen können z.B. mittels Filtration oder Zentrifugation hergestellt oder abgetrennt werden, um für eine Probe mit vorher ausgewählter Größenverteilung zu sorgen. Beispielsweise können mehr als 30%, 50%, 70% oder 80% der Teilchen in einer Probe einen Durchmesser in einem ausgewählten Bereich von mindestens  $5 \mu\text{m}$  aufweisen. Der ausgewählte Bereich, in welchen ein bestimmter Prozentsatz der Teilchen fallen muss, kann z.B. zwischen etwa  $5$  und  $30 \mu\text{m}$  oder wahlweise zwischen  $5$  und  $15 \mu\text{m}$  liegen. In einer Ausführungsform verfügt zumindest ein Teil der Teilchen über einen Durchmesser zwischen etwa  $9$  und  $11 \mu\text{m}$ . Wahlweise lässt sich auch eine Teilchenprobe herstellen, in welcher mindestens 90% oder wahlweise 95% oder 99% der Teilchen einen Durchmesser im ausgewählten Bereich aufweisen. Das Vorkommen eines höheren Anteils an aerodynamisch leichten Teilchen mit größerem Durchmesser (mindestens etwa  $5 \mu\text{m}$ ) in der Teilchenprobe begünstigt die Abgabe von therapeutischen, prophylaktischen, diagnostischen oder prognostischen Wirkstoffen, welche in die Oberfläche eingebaut, mit ihr transportiert, an sie angeheftet oder an ihr adsorbiert und/oder zusammen mit den Teilchen an die tiefe Lunge abgegeben werden.

**[0088]** In einer Ausführungsform kann in der Teilchenprobe der Quartilabstand  $2 \mu\text{m}$  betragen, mit einem mittleren Durchmesser von z.B. zwischen etwa  $7,5$  und  $13,5 \mu\text{m}$ . Somit können z.B. zwischen mindestens 30% und 40% der Teilchen Durchmesser im ausgewählten Bereich aufweisen. Vorzugsweise verfügt dieser Prozentsatz an Teilchen über Durchmesser in einem  $1 \mu\text{m}$ -Bereich, z.B. zwischen  $6,0$  und  $7,0 \mu\text{m}$ ,  $10,0$  und  $11,0 \mu\text{m}$  oder  $13,0$  und  $14,0 \mu\text{m}$ .

**[0089]** In einer weiteren Ausführungsform haben die Teilchen einen aerodynamischen Durchmesser, der von ca.  $1 \mu\text{m}$  bis ca.  $5 \mu\text{m}$  reicht. Der aerodynamische Durchmesser  $d_{\text{aer}}$  lässt sich aus der Gleichung

$$d_{\text{aer}} = d_g \sqrt{\rho_{\text{ap}}}$$

berechnen, in welcher  $d_g$  der geometrische Durchmesser, z.B. der MMGD, und  $\rho$  die Dichte des Pulvers sind. Experimentell lässt sich der aerodynamische Durchmesser ermitteln, indem ein auf der Gravitation beruhendes Sedimentationsverfahren eingesetzt wird, in welchem die Zeit herangezogen wird, die ein Ensemble von Teilchen zum Absetzen über eine bestimmte Distanz benötigt, um daraus direkt den aerodynamischen Durch-

messer der Teilchen abzuleiten. Ein indirektes Verfahren zur Messung des gewichtsgemittelten aerodynamischen Durchmessers (MMAD) ist der mehrstufige Flüssigkeitsimpaktor (multi-stage liquid impinger, MSLI).

**[0090]** In einer Ausführungsform weisen die Teilchen der Erfindung ein dynamisches Schüttgewicht von mehr als  $0,1 \text{ g/cm}^3$  auf.

**[0091]** In einer Ausführungsform der Erfindung werden mindestens 50% der Masse der in einem Behälter aufbewahrten Teilchen in einem einzelnen atemaktivierten Schritt an den Atemtrakt eines Subjekts abgegeben. Vorzugsweise werden mindestens 55% der Masse der Teilchen abgegeben.

**[0092]** In einer anderen Ausführungsform der Erfindung werden mindestens 5 mg und vorzugsweise mindestens 7 mg oder mindestens 10 mg eines Wirkstoffs, vorzugsweise eines biologisch aktiven Wirkstoffs, durch Verabreichung von in einem Behälter eingeschlossener Teilchen in einem einzigen Atemzug an den Atemtrakt eines Subjekts abgegeben. Es können Mengen von mindestens 15, vorzugsweise mindestens 20 und mehr bevorzugt von mindestens 25, 30, 35, 40 und 50 mg abgegeben werden. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Mengen von mindestens 35 mg abgegeben. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform werden Mengen von mindestens 50 mg abgegeben.

**[0093]** An den Atemtrakt des Subjekts verabreichte Teilchen werden an das Atemsystem abgegeben. Für eine Verwendung in den Verfahren der Erfindung geeignete Teilchen können durch die oberen Luftwege (Oropharynx und Larynx), durch die unteren Atemwege, welche die Trachea gefolgt von den Gabelungen in die Bronchien und die Bronchiolen umfassen und durch die Terminalbronchiolen, die sich ihrerseits in die respiratorischen Bronchiolen aufteilen, welche dann zur äußersten Respirationszone, den Alveolen oder der tiefen Lunge führen, wandern. In einer Ausführungsform der Erfindung wird der größte Teil der Teilchenmasse in der tiefen Lunge abgelagert. In einer anderen Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Abgabe vor allem an die zentralen Luftwege. In einer anderen Ausführungsform erfolgt die Abgabe an die oberen Luftwege.

**[0094]** Die zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeigneten Teilchen lassen sich mit geeignetem Material, Oberflächenrauigkeit Durchmesser und Schüttdichte für eine lokale Abgabe an ausgesuchte Regionen des Atemtrakts wie z.B. die tiefe Lunge, die zentralen oder oberen Luftwege, herstellen. Beispielsweise können Teilchen mit höherer Dichte oder größere Teilchen für eine Abgabe in die oberen Luftwege verwendet werden oder es kann eine Mischung von unterschiedlich großen Teilchen in einer Probe, welche mit dem gleichen oder verschiedenen Wirkstoffen ausgestattet sind, verabreicht werden, um in einer Verabreichung unterschiedliche Regionen der Lunge anzusteuern. Basierend auf Faktoren wie dem Teilchenmaterial lassen sich Teilchen mit Abbau- und Freisetzungzeiten von Sekunden bis zu Monaten konzipieren und herstellen.

**[0095]** Die Abgabe von Teilchen an das Atemsystem in einem einzigen vom Atem ausgelösten Schritt wird durch die Verwendung von Teilchen begünstigt, die bei relativ niedrigen Energien dispergiert werden, wie z.B. bei Energien, die typischerweise durch das Einatmen eines Subjekts auftreten. Solche Energien werden hier als "niedrig" bezeichnet. Der hier verwendete Ausdruck "Verabreichung mit niedriger Energie" bezieht sich auf eine Verabreichung, in welcher die zum Dispergieren und Inhalieren der Teilchen aufgewendete Energie typischerweise in dem Bereich liegt, der von einem Subjekt während des Einatmens erbracht wird.

**[0096]** In einer Ausführungsform der Erfindung umfassen die an ein Subjekt verabreichten hoch dispergierbaren Teilchen einen biologisch aktiven Wirkstoff und eine biokompatible, vorzugsweise biologisch abbaubare Polymer, Copolymer oder eine Mischung. Die Polymere können so konzipiert sein, dass unterschiedliche Eigenschaften der Teilchen optimiert sind, einschließlich i) der Wechselwirkungen zwischen dem abzugebenden Wirkstoff und dem Polymer, um nach der Abgabe für eine Stabilisierung des Wirkstoffs und Beibehaltung der Aktivität zu sorgen; ii) der Geschwindigkeit des Polymerabbaus und dadurch der Geschwindigkeitsprofile der Medikamentenfreisetzung; iii) der Oberflächeneigenschaften und der Ansteuereigenschaften über chemische Modifikationen und iv) der Porosität der Teilchen.

**[0097]** Zur Bildung von Teilchen können an der Oberfläche erodierende Polymere wie z.B. Polyanhydride Verwendung finden. Es können z.B. Polyanhydride wie Poly[(p-carboxyphenoxy)hexananhydrid] (PCPH) eingesetzt werden. Biologisch abbaubare Polyanhydride werden in dem US-Patent 4,857,311 beschrieben. Kompakt erodierbare Polymere wie solche auf Grundlage von Polyestern einschließlich der Poly(hydroxysäuren) lassen sich ebenfalls einsetzen. Polyglykolsäure (PGA), Polymilchsäure (PLA) oder Copolymere derselben können z.B. zur Bildung der Teilchen verwendet werden. Der Polyester kann auch eine geladene oder funktionalisierbare Gruppe wie z.B. eine Aminosäure aufweisen. In einer bevorzugten Ausführungsform lassen sich aus Poly(D,L-Milchsäure) und/oder Poly(D,L-Milchsäure-co-glykolsäure) ("PLGA"), welche eine grenzflächen-

aktive Substanz wie Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) einbauen, Teilchen mit kontrollierten Freisetzungseigenschaften bilden.

**[0098]** Andere Polymere sind Polyamide, Polycarbonate, Polyalkylene wie Polyethylen, Polypropylen, Poly(ethylenglykol), Poly(ethylenoxid), Poly(ethylenterephthalat), Polyvinyl-Verbindungen wie Polyvinylalkohole, Polyvinylether und Polyvinylester, Polymere der Acryl- und Methacrylsäuren, Cellulosen und andere Polysaccharide sowie Peptide oder Proteine oder Copolymere oder Mischungen derselben. Die Polymere lassen sich für unterschiedliche kontrollierte Anwendungen der Medikamentenabgabe nach passender Stabilität und Abbaugeschwindigkeiten in vivo auswählen.

**[0099]** Hoch dispergierbare Teilchen lassen sich aus funktionalisierten Polyester-Pfropfcopolymeren bilden, wie dies in Hrkach et al., *Macromolecules* 28: 4736 – 4739 (1995) und Hrkach et al., „Poly(L-Lactic acid-co-amino acid) Graft Copolymers: A Class of Functional Biodegradable Biomaterials,“ *Hydrogels and Biodegradable Polymers for Bioapplications*, ACS Symposium Series No. 627, Raphael M. Ottenbrite et al., Hrg., American Chemical Society, Kapitel 8, SS. 93 – 101, 1996 beschrieben ist.

**[0100]** In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden hoch dispergierbare Teilchen mit einem biologisch aktiven Wirkstoff und einem Phospholipid verabreicht. Beispiele für geeignete Phospholipide sind u.a. solche, die in der oben beschriebenen, am 19. September 2000 eingereichten US-Patentanmeldung 09/665,252 angegeben sind. Andere geeignete Phospholipide sind Phosphatidylcholine, Phosphatidylethanolamine, Phosphatidylglycerine, Phosphatidylserine, Phosphatidylinosite und Kombinationen derselben. Spezielle Beispiele für Phospholipide sind, jedoch nicht ausschließlich, Phosphatidylcholidipamitoylphosphatidylcholin (DPPC), Dipamitoylphosphatidylethanolamin (DPPE), Distearoylphosphatidylcholin (DSPC), Dipamitoylphosphatidylglycerin (DPPG) oder jede Kombination derselben. Andere Phospholipide sind dem Fachmann bekannt. In einer bevorzugten Ausführungsform sind die Phospholipide für die Lunge endogen.

**[0101]** Das Phospholipid kann in den Teilchen in einer Menge von ca. 0 bis ca. 90 Gew.-% vorkommen. Allgemeiner kann es in den Teilchen in einer Menge von ca. 10 bis ca. 60 Gew.-% enthalten sein.

**[0102]** In einer anderen Ausführungsform der Erfindung werden die Phospholipide oder Kombinationen derselben ausgewählt, um den hoch dispergierbaren Teilchen kontrollierte Freisetzungseigenschaften zu verleihen. Die Temperatur eines speziellen Phospholipids für den Phasenübergang kann unter, um oder über der physiologischen Körpertemperatur eines Patienten liegen. Bevorzugte Temperaturen für den Phasenübergang reichen von 30°C bis 50°C (z.B. innerhalb von  $\pm 10^\circ\text{C}$  der normalen Körpertemperatur des Patienten). Durch die Auswahl der Phospholipide oder Kombinationen von Phospholipiden nach der Temperatur ihres Phasenüberganges lassen sich die Teilchen für kontrollierte Freisetzungseigenschaften maßschneidern. Durch Verabreichung von Teilchen, die ein Phospholipid oder eine Kombination von Phospholipiden umfassen, die über eine höhere Phasenübergangstemperatur als die Körpertemperatur des Patienten verfügen, kann z.B. die Freisetzung eines Dopamin-Vorläufers, -Agonisten oder einer Kombination von Vorläufern und/oder Agonisten verzögert werden. Andererseits lässt sich eine schnelle Freisetzung erzielen, indem in die Teilchen Phospholipide mit niedrigeren Übergangstemperaturen aufgenommen werden. Teilchen mit kontrollierten Freisetzungseigenschaften und Verfahren zur Modulation der Freisetzung von biologisch aktiven Wirkstoffen werden in der am 25. August 1999 eingereichten vorläufigen US-Patentanmeldung 60/450,742 mit dem Titel *Modulation of Release from Dry Powder Formulations by Controlling Matrix Transition* beschrieben.

**[0103]** In einer anderen Ausführungsform der Erfindung können die Teilchen eine grenzflächenaktive Substanz enthalten. Der hier verwendete Ausdruck "grenzflächenaktive Substanz" bezieht sich auf jedes Mittel, das vorzugsweise an einer Grenzfläche zwischen zwei nicht mischbaren Phasen absorbiert wird, wie z.B. der Grenzfläche zwischen Wasser und einer organischen polymeren Lösung, einer Wasser/Luft-Grenzfläche oder einer Grenzfläche zwischen einem organischen Lösungsmittel und Luft. Grenzflächenaktive Substanzen weisen im Allgemeinen einen hydrophilen Rest und einen lipophilen Rest auf, so dass sie nach ihrer Absorption an Mikroteilchen dazu tendieren, der Außenumgebung Reste zu präsentieren, die ähnlich beschichtete Teilchen nicht anziehen und somit eine Agglomeration von Teilchen vermindern.

**[0104]** Zusätzlich zu den grenzflächenaktiven Substanzen der Lunge wie z.B. die oben beschriebenen Phospholipide sind geeignete grenzflächenaktive Substanzen, jedoch nicht ausschließlich, Hexadecanol; Fettalkohole wie Polyethylenglykol (PEG); Polyoxyethylen-9-laurylether; eine oberflächenaktive Fettsäure wie Palmitinsäure oder Ölsäure; Glycocholal; Surfactin; ein Poloxomer; ein Sorbitanfettsäureester wie Sorbitantrioleat (Span 85) und Tyloxapol.

**[0105]** Die grenzflächenaktive Substanz kann in den Teilchen in einer Menge von ca. 0 bis ca. 90 Gew.-% enthalten sein. Vorzugsweise kann sie in den Teilchen in einer Menge von ca. 10 bis ca. 60 Gew.-% enthalten sein.

**[0106]** Verfahren zur Herstellung und Verabreichung von Teilchen, welche aerodynamisch leicht sind und grenzflächenaktive Substanzen und insbesondere Phospholipide enthalten, werden in dem am 5. Januar 1999 Hancs et al. erteilten US-Patent 5,855,913 und in dem am 16. November 1999 an Edwards et al. erteilten US-Patent 5,985,309 beschrieben. Es werden Verfahren zur Verabreichung von Teilchen an Patienten in akuter Notlage beschrieben. Die in der vorliegenden Erfindung zu verabreichenden hoch dispergierbaren Teilchen können an die Lunge abgegeben und in das System absorbiert werden, wenn andere herkömmlichen Mittel zur Abgabe von Arzneimitteln versagen.

**[0107]** In noch einer anderen Ausführungsform werden hoch dispergierbare Teilchen, die nur einen biologisch aktiven Wirkstoff und eine grenzflächenaktive Substanz enthalten verabreicht. Die hoch dispergierbaren Teilchen können aus der grenzflächenaktiven Substanz gebildet sein und einen therapeutischen, prophylaktischen oder diagnostischen Wirkstoff enthalten, um in Folge der verminderten Wechselwirkungen der Teilchenoberflächen die Effizienz der Überführung in ein Aerosol zu verbessern und um möglicherweise einen Verlust an Wirkstoff in Folge der Phagozytose durch die Makrophagen in den Alveolen zu reduzieren.

**[0108]** In einer anderen Ausführungsform der Erfindung werden hoch dispergierbare, eine Aminosäure enthaltende Teilchen verabreicht. Hydrophobe Aminosäuren sind bevorzugt. Geeignete Aminosäuren sind natürlich vorkommende und nicht natürlich vorkommende hydrophobe Aminosäuren. Einige natürlich vorkommende hydrophobe Aminosäuren einschließlic, aber nicht ausschließlic, nicht natürlich vorkommender hydrophober Aminosäuren sind z.B. Beta-Aminosäuren. Es können D-, L- als auch racemische Konfigurationen von hydrophoben Aminosäuren verwendet werden. Geeignete hydrophobe Aminosäuren können auch Aminosäure-Analoga umfassen. Ein hier verwendetes Aminosäure-Analoges umfasst die D- oder L-Konfiguration einer Aminosäure der folgenden Formel: -NH-CHR-CO-, in welcher R eine aliphatische Gruppe, eine substituierte aliphatische Gruppe, eine Benzyl-Gruppe, eine substituierte Benzyl-Gruppe, eine aromatische Gruppe oder eine substituierte aromatische Gruppe ist und in welche R nicht der Seitenkette einer natürlich vorkommenden Aminosäure entspricht. Die hier verwendeten aliphatischen Gruppen umfassen geradkettige, verzweigte oder cyclische C1-C8-Kohlenwasserstoffe, die vollständig gesättigt sind, ein oder zwei Heteroatome wie Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel enthalten und/oder eine oder mehrere ungesättigte Einheiten enthalten. Aromatische Gruppen sind carbocyclische aromatische Gruppen wie Phenyl und Naphthyl und heterocyclische aromatische Gruppen wie Imidazolyl, Indolyl, Thienyl, Furanyl, Pyridyl, Pyranyl, Oxazolyl, Benzothienyl, Benzofuranyl, Chinoliny, Isochinoliny und Acridiny.

**[0109]** Geeignete Substituenten an einer aliphatischen, aromatischen oder Benzyl-Gruppe sind -OH, Halogen (-BR, -Cl, -I und -F), -O(aliphatische Gruppe, substituierte aliphatische, Benzyl-, substituierte Benzyl-, Aryl- oder substituierte Aryl-Gruppe), -CN, NO<sub>2</sub>, -COOH, -NH<sub>2</sub>, -NH(aliphatische Gruppe, substituierte aliphatische, Benzyl-, substituierte Benzyl-, Aryl- oder substituierte Aryl-Gruppe), N(aliphatische Gruppe, substituierte aliphatische, Benzyl-, substituierte Benzyl-, Aryl- oder substituierte Aryl-Gruppe)<sub>2</sub>, -COO(aliphatische Gruppe, substituierte aliphatische, Benzyl-, substituierte Benzyl-, Aryl- oder substituierte Aryl-Gruppe), -CONH<sub>2</sub>, -CONH(aliphatische, substituierte aliphatische Gruppe, Benzyl-, substituierte Benzyl-, Aryl- oder substituierte Aryl-Gruppe), -SH, -S(aliphatische, substituierte aliphatische, Benzyl-, substituierte Benzyl-, aromatische oder substituierte aromatische Gruppe) und -NH-C(=NH)-NH<sub>2</sub>. Eine substituierte benzyliche oder aromatische Gruppe kann auch eine aliphatische oder substituierte aliphatische Gruppe als Substituenten haben. Eine substituierte aliphatische Gruppe kann auch eine Benzyl-, substituierte Benzyl-, Aryl- oder substituierte Aryl-Gruppe als Substituenten haben. Eine substituierte aliphatische, substituierte aromatische oder substituierte Benzyl-Gruppe kann einen oder mehrere Substituenten haben. Die Modifikation eines Aminosäure-Substituenten kann z.B. die Lyophilizität oder Hydrophobizität von natürlichen hydrophilen Aminosäuren erhöhen.

**[0110]** Eine Anzahl von geeigneten Aminosäuren, Aminosäureanalogen und deren Salze sind im Handel erhältlich. Andere lassen sich mit im Stand der Technik bekannten Verfahren synthetisieren. Synthesetechniken werden z.B. in Green and Wuts, "Protecting Groups in Organic Sythesis", John Wiley and Sons, Kapitel 5 und 7, 1991 beschrieben.

**[0111]** Im Allgemeinen wird die Hydrophobizität unter Bezugnahme auf die Verteilung einer Aminosäure zwischen einem nicht polaren Lösungsmittel und Wasser definiert. Hydrophobe Aminosäuren sind solche Säuren, welchem dem nicht polaren Lösungsmittel den Vorzug geben. Die relative Hydrophobizität von Aminosäuren lässt sich auf einer Hydrophobizitätsskala angeben, auf welcher Glycin den Wert 0,5 hat. Auf einer solchen

Skala haben Aminosäuren, welche Wasser den Vorzug geben, Werte unter 0,5 und solche, die nicht polaren Lösungsmitteln den Vorzug geben, haben einen Wert über 0,5. Der hier verwendete Ausdruck hydrophobe Aminosäure bezieht sich auf eine Aminosäure, die auf der Hydrophobizitätsskala einen Wert von größer oder gleich 0,5 einnimmt, sie hat mit anderen Worten die Neigung, sich in die nicht polare Säure zu verteilen, die mindestens gleich der von Glycin ist.

**[0112]** Beispiele für Aminosäuren, die eingesetzt werden können sind, jedoch nicht ausschließlich, Glycin, Prolin, Alanin, Cystein, Methionin, Valin, Leucin, Tyrosin, Isoleucin, Phenylalanin, Tryptophan. Bevorzugte hydrophobe Aminosäuren sind Leucin, Isoleucin, Alanin, Valin, Phenylalanin und Glycin. Es können auch Kombinationen aus hydrophoben Aminosäuren eingesetzt werden. Ferner können auch Kombinationen von hydrophoben und hydrophilen (sich vorzugsweise in Wasser verteilenden) Aminosäuren, wobei die Kombination insgesamt hydrophob ist, zum Einsatz kommen.

**[0113]** Die Aminosäure kann in den Teilchen der Erfindung in einer Menge von mindestens 10 Gew.-% enthalten sein. Vorzugsweise kann die Aminosäure in den Teilchen in einer Menge von etwa 20 bis etwa 80 Gew.-% enthalten sein. Das Salz einer hydrophoben Aminosäure kann in den Teilchen der Erfindung in einer Menge von mindestens 10 Gew.-% vorliegen. Vorzugsweise liegt das Salz der Aminosäure in den Teilchen in einer Menge von etwa 20 bis etwa 80 Gew.-% vor. In bevorzugten Ausführungsformen weisen die Teilchen eine Schüttdichte von weniger als etwa 0,4 g/cm<sup>3</sup> auf.

**[0114]** Verfahren zur Bildung und Abgabe von Teilchen, die eine Aminosäure enthalten, werden in der am 25. August 1999 eingereichten US-Anmeldung 09/382,959 mit dem Titel "Use of Simple Amino Acids to Form Porous Particles During Speay Drying" beschrieben.

**[0115]** Die Teilchen der Erfindung können auch Trägersubstanzen wie eine oder mehrere der folgenden enthalten: einen Zucker wie z.B. Lactose, ein Protein wie z.B. Albumin, Cholesterin und/oder eine grenzflächenaktive Substanz.

**[0116]** Falls der abzugebende Wirkstoff negativ geladen ist (wie z.B. Insulin), können Protamin oder andere positiv geladenen Moleküle zugesetzt werden, um für einen lipophilen Komplex zu sorgen, was zu der unterstützten Freisetzung des negativ geladenen Wirkstoffs führt. Negativ geladene Moleküle können dazu verwendet werden, um positiv geladene Wirkstoffe unlöslich zu machen.

**[0117]** Für eine Verwendung in den Verfahren der Erfindung geeignete hoch dispergierbare Teilchen lassen sich herstellen, indem eine Single- und Double-Emulsion-Solvent-Evaporation, Sprühtrocknen, eine Lösungsmittelextraktion, eine Phasentrennung, eine Einfach- und Komplexkoazervation, eine Grenzflächenpolymerisation, superkritisches Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) und andere dem Fachmann bekannte Verfahren eingesetzt werden. Die Teilchen lassen sich unter Einsatz von im Stand der Technik bekannten Verfahren zur Herstellung von Mikrokügelchen und Mikrokapseln herstellen, vorausgesetzt, dass die Bedingungen zur Bildung von Teilchen mit den gewünschten aerodynamischen Eigenschaften (z.B. des aerodynamischen Durchmessers) optimiert werden oder zusätzliche Schritte durchgeführt werden, um Teilchen mit der Dichte und dem Durchmesser auszuwählen, die ausreichen, um die Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen 1 µm und 5 µm, vorzugsweise zwischen 1 µm und 3 µm zu versehen.

**[0118]** Bei einigen Polymersystemen variieren die die Größen der unter Einsatz einer Single- oder Double-Emulsion-Technik hergestellten Polymerteilchen je nach der Größe der Tröpfchen. Falls die Tröpfchen in den Wasser-in-Öl-Emulsionen nicht die geeignete kleine Größe zur Bildung von Teilchen mit dem gewünschten Größenbereich aufweisen, lassen sich kleinere Tröpfchen z.B. durch Beschallen oder Homogenisieren der Emulsion oder durch die Zugabe von grenzflächenaktiven Substanzen herstellen.

**[0119]** Falls die nach irgend einem der obigen Verfahren hergestellten Teilchen einen Größenbereich außerhalb des gewünschten Bereichs aufweisen, können die Teilchen auf die richtige Größe gebracht werden, indem z.B. ein Sieb eingesetzt wird und dann weiter unter Einsatz von dem Fachmann bekannten Techniken nach ihrer Dichte aufgetrennt werden, vorzugsweise werden die Teilchen durch Sprühtrocknung hergestellt.

**[0120]** Im Folgenden wird auf die Ausrüstung und die Reagenzien Bezug genommen und der Einfachheit halber zusammen mit der relevanten Information aufgelistet. Wenn nicht anders angegeben, wurde die gesamte Ausrüstung gemäß den Angaben des Herstellers eingesetzt. Es kann auch, wenn nicht anders angegeben, eine dem Fachmann bekannte ähnliche Ausrüstung verwendet werden.

**[0121]** Wenn nicht anders angegeben, wurden die gesamte Ausrüstung und die Reagenzien gemäß den Angaben der Hersteller eingesetzt. Wenn nicht anders angegeben, ist es selbstverständlich, dass ein geeigneter Ersatz für die Ausrüstung und die Reagenzien zur Verfügung steht und dem Fachmann bekannt ist.

- (1) RODOS Trockenpulver-Disperger (RODOS dry powder disperser, Sympatec Inc., Princeton, N.J.)
- (2) HELOS Laser-Beugungsmesser (HELOS laser diffractometer, Sympatec Inc., N.J.)
- (3) Einstufen-Andersen-Impactor (single-stage Andersen impactor, Andersen Inst. Sunyrna, GA)
- (4) AeroDisperser (TSI, Inc., Amherst, MA)
- (5) Aerosizer (TSI Inc., Amherst, MA)
- (6) Blisterpackmaschine (blister pack machine), Fantasy Blister Machine (Schaefer Tech, Inc., Indianapolis, IN)
- (7) kollabierter Andersen-Kaskadenimpaktor (collapsed Andersen cascade impactor, bestehend aus Stufe 0 wie vom Hersteller angegeben) und der Filter-Stufe (Andersen Inst. Sunyrna, GA)
- (8) ein Spirometer (Spirometrics, USA, Auburn, ME)
- (9) ein mehrstufiger Flüssigkeitsimpaktor (multistage liquid impinger, MSLI) (Erweka, Milford, CT.)
- (10) ein Fluoreszenzspektroskop (Hitachi Instruments, San Jose, CA)
- (11) eine Gammakamera (gewöhnliche)

#### Reagenzien

Albuterolsulfat-Teilchen (Profarmco Inc., Italien)  
 menschliches Wachstumshormon (Eli Lilly, Indianapolis, IN)  
 Methylcellulosekapseln der Größe #2 (Shionogi, Japan)  
 Blisterpackungen (Heuck Foils, Well, N.J.)  
 DPPC (Avanti, Alabaster, Alabama).

**[0122]** Wie genauer in dem Abschnitt mit den Beispielen beschrieben, werden bei den Verfahren der vorliegenden Erfindung Pulver benötigt, die über gute Aerosolisierungseigenschaften aus einem einfachen Inhalatorgerät verfügen. Um zu ermitteln, ob ein Pulver über die geeigneten Aerosolisierungseigenschaften verfügt, wird das Pulver auf seine Deaggregations- und Ausstoßeigenschaften hin untersucht. Obwohl der Fachmann äquivalente Mittel zur Messung dieser Eigenschaften erkennt, wird ein Beispiel für einen vitro-Test ausgeführt, welches die Abgabe einer Pulvermasse auf einen Impaktor demonstriert. Das zu untersuchende Pulver wird in einen Apparat zum Dispergieren von Pulver, z.B. einen RODOS Trockenpulver-Disperger unter verschiedenen Scherkräften eingeführt. Dies erfolgt durch die Betätigung des Druckreglers für den zum Aufbrechen der Teilchen benutzten Luftstrom. Es wird die geometrische Größe gemessen, um zu ermitteln, ob ein Pulver unter den Bedingungen erfolgreich deaggregiert worden ist.

**[0123]** Es ist möglich, zusätzlich zu den Deaggregationseigenschaften die Fähigkeit eines Pulvers zu ermitteln, aus einem einfachen atemaktivierten Inhalator ausgestoßen zu werden. Beispiele für Inhalatoren, die für die Praxis der vorliegenden Erfindung geeignet sind, sind der Spinhaler<sup>®</sup> (Fisons, Loughborough, U.K.), der Rotahaler<sup>®</sup> (Glaxo-Wellcome, Research Triangle Park (RTP), North Carolina), der FlowCaps (Hovione, Loures, Portugal), der Inhalator<sup>®</sup> (Boehringer-Ingelheim, Deutschland) und der Aerolizer<sup>®</sup> (Novartis, Schweiz). Es versteht sich, dass auch andere Inhalatoren wie der Diskhaler (Glaxo-Wellcome, RTP, NC) verwendet werden können. Besonders geeignete Inhalatoren sind die einfachen Trockenpulverinhalatoren (US-Patente 4,995,385 und 4,069,819). Es wird hier ein spezielles nicht einschränkendes Beispiel genauer beschrieben, in welchem ein Experiment angegeben wird, um die Deaggregierungs- und Ausstoßeigenschaften von drei unterschiedlichen Pulvern zu ermitteln. Kurz gesagt wurden drei unterschiedliche Trockenpulver charakterisiert, von denen man annahm, dass sie unterschiedliche Deaggregationseigenschaften aufweisen. Das erste Pulver bestand aus mikronisierten Albuterolsulfat-Teilchen. Das zweite und dritte Pulver wurden durch Auflösen einer Kombination aus Trägerstoffen und einem biologisch aktiven Wirkstoff in einem Lösungsmittelsystem aus Ethanol/Wasser und durch Sprühtrocknen zur Erzeugung der trockenen Pulver hergestellt. Der geometrische Durchmesser, die Schüttdichte und der aerodynamische Durchmesser der drei Pulver wurden ermittelt.

**[0124]** Die Anmelder überführten die Pulver und dispergierten sie durch eine Öffnung in dem RODOS Trockenpulver-Disperger bei sich ändernden Scherkräften, indem sie den Druckregler des zum Aufbrechen der Teilchen verwendeten Luftstroms betätigten. Sobald das Pulver austrat erhielten die Anmelder vom HELLOS-Laser-Beugungsmesser die geometrische Größenverteilung und zeichneten den Mittelwert auf. Die Daten wurden zusammengefasst und als gewichtsgemittelte geometrische Durchmesser (MMGD) gegen den Druck aufgetragen.

**[0125]** Die Anmelder postulierten und fanden durch hier beschriebenes Experimentieren, dass bei hohem

Druck, z.B. 3 oder 4 bar alle drei Pulver als primäre (deaggregierte) Teilchen aus dem Dispergator austraten. Dies stützt den Befund, dass eine relativ hohe Energie alle drei Pulver erfolgreich deaggregiert. Bei Drücken unter 2 bar jedoch, welche einer physiologischen Atemgeschwindigkeit eher entsprechen, verließ das mikronisierte Pulver (Pulver 1, Tabelle 1) die Öffnung in aggregiertem Zustand, was sich durch einen die Öffnung verlassende mittlere Teilchengröße zu erkennen gab, die größer war als primäre Teilchengröße des Pulvers. Dies ist für sprühgetrocknete Pulver (Pulver 2 und 3 in Tabelle 1) nicht der Fall, welche aus der Öffnung mit annähernd ihrer primären Teilchengröße austraten. Diese Pulver sind hoch dispergierbare Pulver.

**[0126]** Um die Fähigkeit der drei Pulver weiter zu bewerten, aus einem einfachen atemaktivierten Inhalator auszutreten, führten die Anmelder 5 mg von jedem Pulver in eine Methylcellulosekapsel der Größe #2 ein und setzten die Kapsel in einen atemaktivierten Inhalator. Es ist für den Fachmann klar, dass das Gefäß, in welches die Pulver gegeben werden, vom Typ des ausgewählten Inhalators abhängt. Die Ergebnisse werden in den nachstehenden Beispielen beschrieben. Im Allgemeinen fanden die Anmelder, dass bei der vom Inhalator gelieferten relativ niedrigen Energie zum Aufbrechen des Pulvers das mikronisierte Albuterolsulfat-Pulver aus dem Inhalator als Aggregat mit einem geometrischen Durchmesser von über 30 Microns ausgestoßen wurde, obwohl selbst die primäre Teilchengröße, gemessen mit RODOS, in der Größenordnung von 2 Micron lag. Andererseits wurden die hoch dispergierbaren Teilchen von sprühgetrocknetem Albuterolsulfat oder hGH mit Teilchengrößen ausgestoßen, die mit ihrer primären Teilchengröße sehr vergleichbar waren. Die gleichen Ergebnisse wurden aus Messungen des aerodynamischen Durchmessers mit sprühgetrockneten Teilchen erhalten, die mit sehr ähnlichen aerodynamischen Durchmessern ausgestoßen wurden wie ihre primären Teilchen. Bei Einsatz der Verfahren der vorliegenden Erfindung kann ein Fachmann eine hoch effiziente Abgabe aus einem einfachen atemaktivierten Gerät erzielen, wenn er es mit hoch dispergierbarem Pulver beschickt.

**[0127]** Ein weiteres Merkmal der vorliegenden Erfindung ist die Fähigkeit, hohe Prozentsätze einer nominalen Dosis bei niedriger Energie nicht nur aus einem atemaktivierten Einzeldosis-Inhalator sondern auch aus einer Reihe von atemaktivierten Trockenpulver-Inhalatoren (DPIs) auszustoßen.

**[0128]** Um zu veranschaulichen, dass ein hoch dispergierbares Pulver aus einer Reihe von atemaktivierten DPIs effizient austreten und in die Lungen eindringen kann, stellten die Anmelder ein Natriumcitrat, DPPC, Calciumchloridpuffer und einen Rhodamin-Fluoreszenzmarker umfassendes, sprühgetrocknetes Pulver her. Dieses wird ausführlich in Beispiel 2 erklärt. Das Pulver wies einen mittleren aerodynamischen Durchmesser von 2,1 µm (gemessen mit dem AeroDispenser und dem Aerosizer) und einen geometrischen Durchmesser von 11,0 µm (gemessen unter Einsatz der oben beschriebenen RODOS/HELOS-Kombination) auf. Die Anmelder fanden, dass die untersuchten Pulver ausgezeichnete Deaggregierungseigenschaften zeigten.

**[0129]** Insbesondere gaben die Anmelder unter Einsatz einer halbautomatischen Kapselfüllvorrichtung 5 mg des zu untersuchenden Pulvers in eine Kapsel in den folgenden Inhalatoren: einem in der Entwicklung des Anmelders begriffenen atemaktivierten Inhalator, dem Spinhale<sup>®</sup> (Fisons, Loughborough, U.K.), dem Rotahaler<sup>®</sup> (Glaxo-Wellcome, Research Triangle Park, N.C.), dem FlowCaps<sup>®</sup> (Hovione, Lourcs, Portugal), dem Inhalator<sup>®</sup> (Boehringer-Ingelheim, Deutschland) und dem Aerolizer<sup>®</sup> (Novartis, Schweiz). Wir testeten auch den Diskhale<sup>®</sup> (Glaxo-Wellcome, RTP, NC), für den 3 mg des Pulvers mit einer Maschine in die Blisterpackungen gefüllt wurden. Die Anmelder verbanden jeden Inhalator mit einem kollabierten Andersen-Kaskadenimpaktor (bestehend aus Stufe 0 und der Filter-Stufe) und extrahierten nach Betätigung der Vorrichtung Luft bei 60 l/min über einen Zeitraum von 2 Sekunden. Die Feinpartikelfraktion von weniger als Stufe 0 mit einem Cut-off von 4,0 µm wurde durch Einsatz eines Fluoreszenzspektroskops bestimmt.

**[0130]** Die Anmelder fanden, dass in jedem Falle annähernd 50% oder mehr der ausgestoßenen Dosis einen mittleren aerodynamischen Durchmesser (Da) von weniger als 4 µm in Größe aufwies, was darauf hinweist, dass das Pulver trotz der Einfachheit dieser atemaktivierten Vorrichtungen effizient in die Lunge eines menschlichen Subjekts mit physiologischer Atemgeschwindigkeit eintrat.

**[0131]** Um die hoch dispergierbaren Pulver in vivo zu testen, führten die Anmelder, wie in Beispiel 3 beschrieben, Ablagerungsstudien am Menschen durch, um zu ermitteln, ob ein aus einem einfachen atemaktivierten Inhalator ausgestoßenes Pulver eine hoch effiziente Abgabe an die Lungen (> 50% der nominalen Dosis) bewerkstelligte. Dies ist besonders wichtig, da sich viele Vorrichtungen auf ein Einatmen durch den Patienten vertrauen, um für die Leistung zum Aufbrechen des Trockenmaterials zu einem frei fließenden Pulver zu sorgen. Derartige Vorrichtungen erweisen sich für diejenigen als ineffektiv, die nicht fähig sind, stark einzuatmen, wie z.B. junge Patienten, alte Patienten, unsichere Patienten oder Patienten mit Asthma oder anderen Atembeschwerden. Ein Vorteil des Verfahrens der vorliegenden Erfindung besteht darin, dass eine hoch effiziente Abgabe unabhängig von der Fließgeschwindigkeit erzielt werden kann. Somit reicht bei Einsatz des Verfahrens

der Erfindung selbst ein schwaches Einatmen aus, um die gewünschte Dosis abzugeben. Angesichts der erwarteten Fähigkeiten von Standard-DPIs ist dies überraschend. Wie aus [Fig. 7](#) ersichtlich, lässt sich bei Einsatz der hier beschriebenen Verfahren bei Fließgeschwindigkeiten von ca. 25 l/min bis ca. 75 l/min im Vergleich mit Standard-DPIs eine bessere Abgabe erzielen. Die Verfahren der vorliegenden Erfindung können zu Fließgeschwindigkeiten von mindestens ca. 20 l/min bis ca. 90 l/min optimiert werden.

**[0132]** Ein Pulver mit den folgenden Eigenschaften:  $D_g = 6,7 \mu\text{m}$ ;  $\rho = 0,06 \text{ g/cm}^3$  und  $D_a = 1,6 \mu\text{m}$  wurde mit  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nanoteilchen markiert. Es wurde Äquivalenz zwischen der Masse und den Gammastrahlen-Teilchengrößenverteilungen erzielt und genau in Beispiel 3 unten beschrieben. Es wurden ungefähr 5 mg Pulver in die Kapseln der Größe 2 geladen. Die Kapseln wurden in einen atemaktivierten Inhalator gegeben und betätigt. Zehn gesunde Subjekte atmeten durch den Inhalator mit einer mit einem Spirometer gemessenen ungefähren Atemflussgeschwindigkeit von 60 l/min ein. Das Ablagerungsbild wurde mit Hilfe einer Gammakamera erhalten. Der Prozentsatz der von den 10 Testsubjekten erhaltenen Lungenablagerung (relativ zur Nominaldosis) wird in [Fig. 5](#) gezeigt. Die mittlere Lungenablagerung relativ zur Nominaldosis betrug 59,0%. Der Fachmann wird erkennen, dass solche Ablagerungsniveaus bestätigen, dass sich mit dem Einsatz eines einzelnen atembetriebenen Inhalators ein hoch dispergierbares Medikamentenpulver mit hoher Effizienz in die Lungen inhalieren lässt.

**[0133]** Ferner haben die Anmelder entdeckt, dass die gleichen Präparate eines hoch dispergierbaren Pulvers mit ausgezeichneter Aerosolisierung aus einem einzelnen Inhalator verwendet werden können, um in einem einzogen Atemzug eine überraschend hohe Dosis abzugeben. Das hoch dispergierbare Pulver kann in eine große zuvor abgemessene Dosis (50 mg) oder in eine kleinere zuvor abgemessene Dosis (6 mg) gepackt werden. Die Teilcheneigenschaften des Pulvers waren wie folgt:  $\text{MMGD} = 10,6 \mu\text{m}$ ;  $\rho = 0,11 \text{ g/cm}^3$ ;  $\text{MMAD} = 3,5 \mu\text{m}$ . Wie hier zuvor beschrieben, würde der Fachmann für die Teilcheneigenschaften möglichen Bereiche erkennen, die für eine Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeignet sind.

**[0134]** Die aerodynamischen Teilchengrößenverteilungen wurden unter Einsatz eines bei 60 l/min betriebenen mehrstufigen Flüssigkeitsimpaktors (MSLI) charakterisiert. Für die Dosis von 6 mg wurden Kapseln der Größe 2 und die Dosis von 50 mg Kapseln der Größe 000 verwendet. Die Anmelder verglichen die zwei für die Dosen von 6 mg und 50 mg erhaltenen Teilchengrößenverteilungen. Die Feinpartikelfraktion  $< 6,8 \mu\text{m}$  (in Bezug auf die Gesamtdosis ( $\text{FPF}_{\text{TD}} < 6,8 \mu\text{m}$ )) für die Dosen von 6 mg und 50 mg betrug 74,4% bzw. 75%. Somit zeigten die Anmelder, dass durch die Kombination der Eigenschaften eines hoch dispergierbaren Pulvers sich eine große Medikamentendosis an die Lungen ebenso wirksam abgeben lässt wie eine kleine Medikamentendosis.

## BEISPIELE UND TABELLEN

### BEISPIELE

**[0135]** Wenn nicht anders angegeben, wurden die eingesetzte Vorrichtung und die Reagenzien von den zuvor angeführten Quellen bezogen.

#### Beispiel 1

**[0136]** Die für eine Verwendung in den Verfahren der vorliegenden Erfindung geeigneten Pulver müssen Eigenschaften aufweisen, die aus einer einfachen Inhalator-Vorrichtung eine gute Aerosolisierung zeigen. Um die Eigenschaften zu ermitteln, charakterisierten die Anmelder drei unterschiedliche Trockenpulver, von denen angenommen wurde, dass sie unterschiedliche Deaggregierungseigenschaften aufwiesen. Das erste zu untersuchende Pulver waren von Spectrum Labs (Laguna Hills, CA) erhaltenes submikronische Albuterolsulfat-Teilchen. Die zweiten und dritten Pulver wurden durch Lösen einer Kombination von Trägerstoffen und einem biologisch aktiven Wirkstoff in einem Ethanol/Wasser-Lösungsmittelsystem und Sprühtrocknen der Mischung hergestellt.

#### Herstellung der Mikroteilchen:

**[0137]** Die Zusammensetzung der Placeboteilchen war 70/20/10% DPPC/Natriumcitrat/Calciumchlorid. 0,2 g Natriumcitrat und 0,1 g Calciumchlorid wurden in 0,1 l Wasser gelöst. Eine Lösung von DPPC in Ethanol wurde hergestellt, indem 0,7 g DPPC (DL- $\alpha$ -Phosphatidylcholidipalmitoyl, Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL) in 0,89 Liter 95% Ethanol gelöst wurden. Die Natriumcitrat/Calciumchlorid-Lösung und die DPPC/Ethanol-Lösung wurden sodann zusammengemischt. Am Ende betrug die Gesamtkonzentration an gelösten Stoffen 1,0 g/l, zu-

sammengesetzt aus 0,70 g/l DPPC, 0,2 g/l Natriumcitrat und 0,1 g/l Calciumchlorid in 85% Ethanol/15% Wasser.

**[0138]** Die Zusammensetzung der hGH-Teilchen (menschliches Wachstumshormon) war: 58/38,5/3,5 hGH/DPPC/Natriumphosphat. 1,16 Gramm hGH (Lilly, Indianapolis, IN) wurden in 300 ml Natriumphosphatpuffer (10 mM, pH 7,4) gelöst. 0,77 Gramm DPPC wurden in 700 ml Ethanol gelöst. Die beiden Lösungen wurden sodann zusammen gegeben, was am Ende zu einer Konzentration an gelösten Stoffen von 2 g/l in 70%/30% Ethanol/Wasser führte.

**[0139]** Die Zusammensetzung der Albuterolsulfat-Teilchen war 76/20/4 DSPC/Leucin/Albuterolsulfat. 2,28 Gramm DSPC (Distearoylphosphatidylcholin, Avanti Polar Labs) und 0,6 g Leucin (Spectrum Labs, Laguna Hills, CA) wurden in 700 ml Ethanol gelöst. 0,12 Gramm Albuterolsulfat (Profarmco, Italien) wurden in 300 ml Wasser gelöst und die beiden Lösungen sodann zusammen gegeben, was eine Endkonzentration für die gelösten Stoffe von 3 g/l in 70%/30% Ethanol/Wasser ergab.

#### Sprühtrocknen:

**[0140]** Es wurde ein Nitro Atomizer Portable Spray Dryer (Niro, Inc., Columbus, MD) eingesetzt, um die Trockenpulver herzustellen. Mit unterschiedlichem Druck (1 bis 5 bar) komprimierte Luft trieb einen über dem Trockner angebrachten Rotationszerstäuber (2.000 bis 30.000 Upm) an. Eine flüssige Beschickung wurde von einer elektronischen Messpumpe (LMI, Modell #A151-192s, Acton, MA) mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten (20 bis 66 l/min) in den Zerstäuber gepumpt. Sowohl die Einlass- als auch die Auslasstemperaturen wurden gemessen. Die Einlasstemperatur wurde manuell kontrolliert; sie konnte zwischen 100°C und 400°C variiert werden und wurde bei 100, 110, 150, 175 oder 200°C mit einem Kontrolllimit von 5°C eingestellt. Die Temperatur am Auslass wurde aus der Einlasstemperatur und solchen Faktoren, wie den Geschwindigkeiten der Gas- und Flüssigkeitsbeschickung ermittelt; sie variierte zwischen 50°C und 130°C. Ein Behälter wurde dicht am Zyklon angebracht, um das Pulverprodukt aufzunehmen.

#### Ergebnisse:

**[0141]** Der geometrische Durchmesser und die Schüttdichte der drei Pulver werden in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1

Pulver	MMGD ( $\mu\text{m}$ )	$\rho$ ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )
mikronisiertes Albuterolsulfat (1)	2,5	0,26
sprühgetrocknetes Albuterolsulfat (2)	8,0	0,20
sprühgetrocknetes hGH (3)	14,5	0,07

**[0142]** Um die Deagglomerierungseigenschaften der drei Pulver zu bestimmen überführten die Anmelder die Pulver in einen RODOS-Trockenpulver-Disperger und veränderten die Scherkräfte, um die Teilchen durch Betätigung des Druckreglers für den Luftstrom aufzubrechen. Darauf hin erhielten die Anmelder in Befolgung der Angaben des Herstellers von dem HELOS-Laserdiffraktometer die geometrische Größenverteilung und zeichneten den Mittelwert auf. Die Daten wurden zusammengefasst und als volumen- oder gewichtsbezogener mittlerer geometrischer Durchmesser (MMGD) gegen den Druck aufgetragen.

**[0143]** In [Fig. 1](#) werden die Ergebnisse des Versuchs gezeigt. Die Anmelder haben gezeigt, dass bei einem hohen Druck von etwa größer als 2 bar und insbesondere von ca. 3 bis 4 bar, alle drei Pulver als (deaggregierte) Primärteilchen aus dem Dispergator austreten. Dies stützt den Befund, dass die drei Pulver bei einer relativ hohen Energie deaggregiert wurden. Bei Drücken unter 2 bar jedoch trat das mikronisierte Pulver (Pulver 1) aus der Öffnung in aggregiertem Zustand aus. Dies lässt sich durch die die Öffnung verlassenden Teilchen von mittlerer Größe bestätigen, die größer war als die primäre Teilchengröße des Pulvers. Dies war bei den sprühgetrockneten Pulvern (Pulver 2 und 3) nicht der Fall, welche aus der Öffnung mit annähernd ihrer primären Teilchengröße ausgestoßen wurden. Die Pulver 2 und 3 waren hoch dispergierbare Pulver.

**[0144]** Die Pulver der vorliegenden Erfindung wurden mit den folgenden Techniken weiter charakterisiert. Der primäre geometrische Durchmesser wurde mit Hilfe eines RODOS-Trockenpulver-Dispergers (Sympatec, Princeton, NJ) zusammen mit einem HELOS-Laserdiffraktometer (Sympatec) gemessen. Das Pulver wurde in den Einlass eines RODOS eingeführt und durch Scherkräfte aerosolisiert, die von einem auf 4 bar eingestellten Luftstrom erzeugt wurden. Die Aerosolwolke wurde sodann in die Messzone des HELOS gezogen, wo sie das Licht eines Laserstrahls streute und ein Fraunhofersches Beugungsmuster erzeugte, das dazu verwendet wurde, auf die Größenverteilung der Teilchen zu schließen.

**[0145]** Der geometrische Durchmesser der aus dem atemaktivierten Inhalator ausgestoßenen Teilchen wurde unter Einsatz eines IHA-Zusatzgerätes (Sympatec) mit dem HELOS-Laserdiffraktometer gemessen. Der IHA-Adapter positioniert den DPI vor die Messzone und ermöglicht, dass Luft durch den DPI gezogen wird, welche das Pulver aerosolisiert. Zum Dispergieren des Pulvers aus dem AIR-Inhalator wurde bei 30 l/min ein Vakuum angelegt und der geometrische Durchmesser wurde mittels Fraunhofer-Beugung gemessen.

**[0146]** Der primäre aerodynamische Durchmesser wurde unter Einsatz eines AeroDisperser/Aerosizer (ZSI Inc., Amherst, MA) gemessen. Das Probenpulver wurde von einem in den Dispergator fließenden Einlass-Luftstrom bei 214 Pa oder 0,069 bar (1 psi) in dem AeroDisperser aerosolisiert und sodann in den Aerosizer auf Schallgeschwindigkeit beschleunigt. Der Aerosizer misst die Zeit, die von jedem Teilchen benötigt wird, um die Strecke zwischen zwei festen Laserstrahlen zurückzulegen, welche von der Trägheit der Teilchen abhängt. Die TOF (Flugzeit)-Messungen wurden dann mit Hilfe des Stokeschen Gesetzes in aerodynamische Durchmesser umgerechnet.

**[0147]** Der aerodynamische Durchmesser der aus dem AIR-Inhalator ausgestoßenen Teilchen wurde mit Hilfe des AeroBreather (TSI Inc., Amherst, MA) zusammen mit dem Aerosizer (TSI, Inc.) bestimmt. Das Pulver wurde aus dem Inhalator bei 30 l/min in die AeroBreather-Kammer aerosolisiert und sich in den Aerosizer absetzen gelassen.

**[0148]** Mit dem Einsatz dieser Techniken verglichen die Anmelder die primäre Größe der Teilchen aus dem Trockenpulver-Dispergator bei 4 bar mit der aus dem AIR-Inhalator bei 30 l/min ausgestoßenen Größe ([Fig. 2A](#)). Wie ersichtlich, war die Größe der ausgestoßenen sprühgetrockneten hGH-(Pulver 2) und sprühgetrockneten Albuterolsulfat-(Pulver 3) Teilchen fast identisch mit ihrer gemessenen primären Teilchengröße, was für das mikronisierte Albuterolsulfat (Pulver 1) nicht der Fall war. Zusätzlich maßen die Anmelder für das sprühgetrocknete Albuterolsulfat die primäre und emittierte aerodynamische Größe und verglichen sie mit dem mikronisierten Albuterolsulfat ([Fig. 2B](#)). Wieder wurde das sprühgetrocknete Albuterolsulfat mit einem nahezu identischen aerodynamischen Durchmesser wie sein primärer aerodynamischer Teilchendurchmesser ausgestoßen, während das mikronisierte Albuterolsulfat mit einem viel größeren aerodynamischen Durchmesser als sein primärer aerodynamischer Teilchendurchmesser ausgestoßen wurde. Dies bestätigt weiter, dass die sprühgetrockneten Pulver der vorliegenden Erfindung zu für das Einatmen geeignete Teilchen dispergieren, während das mikronisierte Medikament nicht zum Einatmen geeignet bleibt, obwohl sogar seine primäre Größe zum Einatmen geeignet ist.

**[0149]** Die Ergebnisse dieses Beispiels zeigen, dass die Anmelder bei Einsatz der Verfahren der vorliegenden Erfindung eine hoch wirksame Abgabe aus einer einfachen atemaktivierten Vorrichtung erzielten, wenn sie diese mit Pulver beschickten, das hoch dispergierbar ist.

#### Beispiel 2

**[0150]** Um zu zeigen, dass ein hoch dispergierendes Pulver aus einer Reihe von atemaktivierten Trockenpulver-Inhalatoren (DPIs) effizient ausgestoßen und in die Lungen eindringen kann, stellten die Anmelder ein sprühgetrocknetes Pulver aus Natriumcitrat, DPPC, Calciumchlorid-Puffer und Spuren eines fluoreszierenden Rhodamin-Markers her. Das Pulver wies einen MMAD von 2,1  $\mu\text{m}$  (gemessen mit dem Aerodisperser und dem Aerosizer) sowie einen MMGD von 11,0  $\mu\text{m}$  (gemessen wie hier beschrieben mit Hilfe des RODOS-Trockenpulver-Dispergers und des HELOS-Laserdiffraktometers) auf und zeigte ausgezeichnete Deaggregationseigenschaften ähnlich den sprühgetrockneten Pulvern des Beispiels 1.

**[0151]** Die Anmelder gaben mit Hilfe einer halbautomatischen Kapselfüllvorrichtung 5 mg des Pulvers in die Kapseln in den folgenden Inhalatoren: einem in der Entwicklung des Anmelders begriffenen atemaktivierten Inhalator (AIR™ Inhaler), dem Spinhaler® (Fisons, Loughborough, U.K.), dem Rotahaler® (Glaxo-Wellcome, RTP, N.C.), dem FlowCaps® (Hovione, Lourcs, Portugal), dem Inhalator® (Boehringer-Ingelheim, Deutschland) und dem Aerolizer® (Novartis, Schweiz). Die Anmelder testeten auch den Diskhaler (Glaxo-Wellcome, RTP,

NC), für den 3 mg des Pulvers mit einer Maschine in die Blisterpackungen gefüllt wurden. Die Anmelder verbanden jeden Inhalator mit einem kollabierten Andersen-Kaskadenimpaktor (bestehend aus Stufe 0 und der Filter-Stufe) und extrahierten nach Betätigung der Vorrichtung Luft mit einer Geschwindigkeit von 60 l/min für 2 Sekunden. Die Feinpartikelfraktion von weniger als Stufe 0 mit einem Cut-off von 4,0 µm wurde durch Einsatz eines Fluoreszenzspektroskops bestimmt.

**[0152]** In [Fig. 3](#) werden die Ergebnisse aus der Studie gezeigt. Die Anmelder fanden, dass in jedem Falle annähernd 50% oder mehr der ausgestoßenen Dosis einen MMAD (mittleren aerodynamischen Durchmesser oder  $D_{aer}$ ) von weniger als 4 µm aufwies, was darauf hinweist, dass das Pulver trotz der Einfachheit dieser atemaktivierten Vorrichtungen effizient in die Lunge eines menschlichen Subjekts mit physiologischer Atemgeschwindigkeit eintreten würde. Die Anmelder zeigten auch, dass bei Einsatz der Verfahren der vorliegenden Erfindung große Prozentsätze der nominalen Dosis bei niedriger Energie nicht nur aus atemaktivierten Einzeldosen-Inhalatoren sondern auch aus einer Reihe von atemaktivierten Trockenpulver-Inhalatoren (DPIs) ausgestoßen wurden.

### Beispiel 3

**[0153]** Es wurde eine Studie zur Ablagerung beim Menschen durchgeführt, um zu ermitteln, ob für ein aus einem einfachen atembetriebenen Inhalator ausgestoßenes hoch dispergierbares Pulver eine hoch wirksame Abgabe (> 50% der nominalen Dosis) an die Lungen möglich ist. Es wurden Pulver mit den folgenden Eigenschaften eingesetzt: MMGD = 6,7 µm;  $\rho = 0,06 \text{ g/cm}^3$ ; MMAD = 1,6 µm.

**[0154]** Das Pulver wurde mit  $^{99m}\text{Tc}$ -Nanoteilchen(Technetium) markiert.

### Untersuchungen zur Ablagerung beim Menschen

**[0155]** Die Gammaszintigraphie ist ein bewährtes Verfahren, um das Ablagerungsmuster von inhalierten Teilchen zu bestimmen. In diesem Beispiel wird die Testsubstanz mit einer kleinen Dosis des Radioisotops  $^{99m}\text{Tc}$  in den InAMed-Laboratorien (Gauting, Deutschland) markiert. Die Ermittlung der Lungengrenze wird durch die Ausführung eines  $^{81m}\text{Kr}$  (Krypton)-Ventilationssscans begünstigt. Die Atemgeschwindigkeiten wurden aufgezeichnet, um sicher zu gehen, dass während der Ablagerungsstudie ein tiefes bequemes Einatmen stattfand. Vor Beginn der Studie wurden die Spitzengeschwindigkeiten beim Einatmen (PIFR) für ein tiefes bequemes Einatmen durch den atemaktivierten Inhalator bestimmt. Die PIFRs außerhalb des spezifischen Bereichs wurden wiederholt.

**[0156]** Die Studien wurden mit 10 normalen Versuchspersonen durchgeführt. Es wurde ein Basislinien-Ventilationssscan gemacht, um beim Definieren der Lungengrenzen zu helfen.

**[0157]** Vor und nach jedem Inhalationstest wurde die Lungenfunktion bestimmt. Nach dem Inhalieren wurde unter Einsatz der Gammaszintigraphie die Ablagerung bestimmt. Die Fließgeschwindigkeit des Atems durch einen atemaktivierten Inhalator wurde während der Ablagerung unter Einsatz eines Spirometers aufgezeichnet

**[0158]** Die Versuchspersonen wurden darauf trainiert, durch einen atemaktivierten Inhalator mit tiefer, bequemer Inhalation einzuatmen. Die Versuchspersonen wurden ferner darauf trainiert, in einem spezifischen Bereich, der ein tiefes bequemes Einatmen repräsentativ war, durch einen atemaktivierten Inhalator eine Spitzengeschwindigkeit beim Einatmen zu erzielen. Der atemaktivierte Inhalator wurde in Betrieb gesetzt und an das Spirometer angeschlossen, um während der Ablagerungsstudie die Fließgeschwindigkeit des Atems aufzuzeichnen. Die Versuchsperson entnahm entsprechend dem vorbestimmten Zufallsplan aus der passenden Box eine Kapsel und führte sie unmittelbar vor ihrer Benutzung in die Inhalator/Spirometer-Vorrichtung ein.

**[0159]** Bevor das Mundstück des Inhalators am Ende eines normalen Ausatmens ihren Mund gesetzt wurde, war jede Versuchsperson entspannt und atmete normal (mindestens 5 Atemzüge lang). Die Versuchsperson inhalierte durch den Mund mit einem tiefen bequemen Einatmen bis die Lungen voll waren. Die Versuchsperson hielt dann etwa 5 Sekunden lang den Atem an (indem langsam bis 5 gezählt wurde). Unmittelbar nach dem Ausatmen wurde mit Hilfe einer Gammakamera die Ablagerung gemessen. Sodann wurde eine weitere Untersuchung der Lungenfunktion mit Hilfe eines Body-Plethysmographen von Jaeger (Jaeger, Würzburg, Deutschland) durchgeführt.

**[0160]** Das 70/20/10 Gew.-% DPPC/Natriumcitrat/Calciumchlorid umfassende, eingesetzte Placebo-Pulver wies die folgenden Eigenschaften auf:  $D_g = 6,7 \mu\text{m}$ ;  $\rho = 0,06 \text{ g/cm}^3$ ;  $\text{MMAD} = 1,6 \mu\text{m}$ . Die Eigenschaften für die primären aerodynamischen Teilchengrößen wurden unter Verwendung der Flugzeit (AeroSizer/AeroDispenser) und die Eigenschaften für die geometrische Teilchengröße unter Einsatz der bei 1 bar und 2 bar betriebenen Laserdiffraktion (gemessen, wie hier beschrieben, unter Einsatz des RODOS-Trockenpulver-Dispersers und des HELOS-Laserdiffraktometers) erhalten. Die Eigenschaften der aerodynamischen Teilchengröße wurden für ein Gesamtluftvolumen von 21 mit Hilfe eines bei 28,3 l/min betriebenen Anderson-Kaskadenimpaktors (gravimetrische Analyse) erhalten. Die Eigenschaften der geometrischen Teilchengröße wurden mit Hilfe der bei 60 l/min betriebenen Laserdiffraktion (IHA/HELOS, Sympatec, NJ) erhalten.

#### Radioaktive Markierung des Pulvers

**[0161]** Das Placebopulver wurde in ein Behältnis gefüllt, das von einem  $0,2 \mu\text{m}$  Filter verschlossen war. Eine  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Lösung (0,5 ml  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  in isotonischer Saline wurden zu 100 ml entionisiertem Wasser gegeben) wurde in einen PariJet-Zerstäuber gefüllt, der in eine Trockenkammer gestellt wurde. Der PariJet-Zerstäuber wurde 3 Minuten lang aktiviert, um 1,5 ml der  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Lösung zu zerstäuben. Die  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Teilchen waren in dieser Kammer getrocknet und durch das das Pulver enthaltende Behältnis geleitet. Die Feuchtigkeit in der Markierungskammer wurde überwacht und betrug nie mehr als 30% relative Feuchtigkeit.

**[0162]** Wegen der kurzen Halbwertszeit von  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  erfolgte die Markierung 2 bis 4 Stunden vor der Inhalation. Die Aktivität des Pulvers wurde um den physikalischen Zerfall des Technetiums korrigiert, um die zu Beginn der Inhalation zur Verfügung stehende aktuelle Aktivität zu bestimmen.

**[0163]** Die ausgestoßene aerodynamische Teilchengrößenverteilung nach Markierung des Pulvers wurde unter Einsatz eines 8-stufigen Andersen-Kaskadenimpaktors ermittelt (gravimetrische Analyse) um zu verifizieren, dass der Prozess der radioaktiven Markierung die Partikelgrößenverteilung nicht beeinflusste.

**[0164]** Kapseln der Größe 2 wurden mit  $5 (\pm 1)$  mg des radioaktiv markierten Pulvers per Hand gefüllt. Jede Kapsel wurde nummeriert und ihr Füllgewicht und die Höhe der Radiaktivität aufgeschrieben. Unmittelbar vor ihrer Benutzung nahm die Versuchsperson eine Kapsel und führte sie in die Inhalator/Spirometer-Vorrichtung ein.

**[0165]** Methodik für den Nachweis des Pulvers in den Regionen der Lunge Die Inhalation der markierten porösen Teilchen erfolgte, während die Versuchsperson mit ihren Rücken zur Gammakamera saß. Nach der Inhalation wurde ein gammaszintigraphisches Bild erstellt, während die Versuchsperson aufrecht mit ihrem Rücken vor der Kamera saß. Die Inhalationszeit und die Zeit, während welcher die Luft angehalten wurde, wurden aufgeschrieben. Die Größe der Lungen wurde mit einem  $^{81}\text{Kr}$ -Scan ermittelt. Dieses radioaktive Gas wurde vor oder am Ende der Studie von der Versuchsperson inhaliert.

**[0166]** Aus dem Krypton-Ventilations-Scan der Versuchsperson wurden die Umriss der Lunge ermittelt. Da die Versuchsperson während des Krypton-Scans in der gleichen Position saß wie bei der Untersuchung der Pulver-Inhalation, gab es vier in Frage kommende Regionen (ROI), welche definiert wurden: die linke Lunge, die rechte Lunge, der Magen und der Oropharynx (einschließlich dem oberen Teil der Luftröhre).

**[0167]** Diese 4 ROIs wurden auf das Gammakamerabild der Pulver-Inhalation kopiert. In einer Region außerhalb der Lunge der Versuchsperson wurde die Hintergrundaktivität bestimmt und Pixel für Pixel vom Gesamtbild subtrahiert. Für jede der ROIs wurde die Anzahl der Counts bestimmt. Diese Zahlen wurden für die einzelnen Regionen um einen Dämpfungsfaktor korrigiert. Nach dieser Korrektur wurden die relativen Mengen der Teilchenablagerungen innerhalb der Brust und außerhalb der Brust bestimmt.

**[0168]** Wie in [Fig. 4](#) gezeigt wurde eine Übereinstimmung in den Teilchengrößenverteilungen von Masse und Gammastrahlung beobachtet. In Kapseln der Größe 2 wurden ungefähr 5 mg Pulver gegeben. Die Kapseln wurden in einen atemaktivierten Inhalator gegeben, der vom Anmelder gerade entwickelt wird (AIRInhaler) und in Betrieb genommen. 10 gesunde Versuchspersonen inhalierten durch den Inhalator bei einer ungefähren Atemfließgeschwindigkeit von 60 l/min (die tatsächliche Atemfließgeschwindigkeit variierte von Versuchsperson zu Versuchsperson in einem Bereich von 20 bis 90 l/min, was mit dem normalen Bereich von Atemfließgeschwindigkeiten beim Menschen übereinstimmt). 60 l/min ist eine gute mittlere Fließgeschwindigkeit und ist das, was auch experimentell zum Nachahmen des Atemflusses eingesetzt wird. Die Fließgeschwindigkeit wur-

de von einem Spirometer gemessen und das Ablagerungsbild von einer Gammakamera aufgenommen. Der Prozentsatz der von den zehn Versuchspersonen erhaltenen Ablagerungen in den Lungen (relativ zur nominalen Dosis) wird in [Fig. 5](#) gezeigt. Die mittlere Lungenablagerung relativ zu der nominalen Dosis betrug 59,0%.

**[0169]** Mit diesem Experiment bestätigten die Anmelder, dass Arzneimittel enthaltende hoch dispergierbare Pulver mit einem einfachen atembetriebenen Inhalator mit hoher Effizienz in die Lungen inhaliert werden können.

#### Beispiel 4

**[0170]** Um zu zeigen, dass die gleichen Präparate eines hoch dispergierbaren Pulvers, das über ausgezeichnete Aerosolisierungseigenschaften aus einem einfachen Inhalator verfügte, verwendet werden können, um in einem einzigen Atemzug eine überraschend hohe Dosis abzugeben, stellten die Anmelder ein hoch dispergierbares Pulver her und füllten das Pulver ein, um entweder eine große vorbemessene Dosis (50 mg) oder eine kleinere vorbemessene Dosis (6 mg) zu erhalten. Die Teilchengrößeneigenschaften des Pulvers waren wie folgt:

MMGD = 10,6  $\mu\text{m}$ ;  $\rho = 0,11 \text{ g/cm}^3$ ; MMAD = 3,5  $\mu\text{m}$ .

**[0171]** Die aerodynamischen Teilchengrößenverteilungen mit einem bei 60 l/min betriebenen mehrstufiger Flüssigkeitsimpaktor (MSLI) charakterisiert. Für die 6 mg Dosis wurden Kapseln der Größe 2 und für die 50 mg Dosis Kapseln der Größe 000 verwendet. In [Fig. 6](#) werden die Ergebnisse gezeigt, in welchen die zwei aus den 6 und 60 mg Dosen erhaltenen Teilchengrößenverteilungen miteinander verglichen werden. Die Feinteilchenfraktion < 6,8  $\mu\text{m}$  relativ zur Gesamtdosis ( $\text{FPF}_{\text{TD}} < 6,8 \mu\text{m}$ ) für die 6 und 50 mg Dosen betrug 74,4% bzw. 75,0%.

**[0172]** Dieses Experiment zeigte, dass eine überraschend große Arzneimitteldosis mit der gleichen Effizienz wie bei einer kleinen Arzneimitteldosis an die Lungen abgegeben werden kann, wenn die Eigenschaften eines hoch dispergierbaren Pulvers mit den Verfahren der vorliegenden Erfindung kombiniert werden.

#### Beispiel 5

**[0173]** Teilchen, die L-Dopa enthielten und für eine Inhalation geeignet waren, wurden wie folgt hergestellt: 2,00123 g DPPC (Avanti Polar Lipids, Lot #G160PC-25) wurden zu 2,81 Ethanol gegeben und bis zur Auflösung gerührt. 0,0817 g L-Dopa (Spectrum, Lot 0Q0128, Laguna Hills, CA), 0,9135 g Natriumcitrat (dehydratisiert) (Spectrum, Lot NX0195) und 0,5238 g Calciumchlorid (dehydratisiert) (Spectrum, Lot NT0183) wurden zu 1,21 Wasser gegeben und gelöst. Durch Zugabe der wässrigen Lösung zu der Ethanollösung wurden die Lösungen vereinigt und dann rühren gelassen bis die Lösung klar war. Die Gewichtsprozente der Formulierung waren ungefähr 20% L-Dopa, 50% DPPC, 20% Natriumcitrat, 10% Calciumchlorid.

**[0174]** Die fertige Lösung wurde sodann in einem Niro-Dryer (Niro, Inc., Columbus, MD) sprühgetrocknet, indem nach den Angaben des Herstellers ein Rotationszerstäuber und Stickstoff-Trocknungsgas eingesetzt wurden, wobei die folgenden Sprühbedingungen zum Einsatz kamen:  $T_{\text{Einlass}} = 120^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{Auslass}} = 54^\circ\text{C}$ , Zufuhrgeschwindigkeit = 65 ml/min, Heat Nitrogen = 38 mm  $\text{H}_2\text{O}$ , Zerstäubergergeschwindigkeit = 20.000 Upm (V24 Zerstäuber verwendet).

**[0175]** Die erhaltenen Eigenschaften der Teilchen waren: gewichtsgemittelter aerodynamischer Durchmesser (MMAD) = 2,141  $\mu\text{m}$  und der gewichtsgemittelte oder volumengemittelte geometrische Durchmesser (MMGD) = 10,51  $\mu\text{m}$ .

**[0176]** Unter Ketamin-Narkose erhielten 6 Ratten eine Verabreichung der obigen Formulierungen (20/50/20/10 L-Dopa/DPPC/Natriumcitrat/Calciumchlorid) in die Lunge.

**[0177]** Die Ergebnisse werden in [Fig. 8](#) gezeigt. Diese Figur zeigt die Blutspiegel von L-Dopa nach der Verabreichung über orale Zwangsernährung oder eine direkte Verabreichung in die Lungen über Insufflation. Die L-Dopa-Spiegel wurden mit HPLC gemessen. Die Tiere erhielten eine IP-Injektion des peripheren Decarboxylaseinhibitors Carbi-Dopa (200 mg/kg) 1 Stunde vor der Verabreichung von L-Dopa. Unter Ketamin-Narkose wurden die Tiere in 2 Gruppen aufgeteilt. In der ersten Gruppe wurden die Tiere über Nacht fasten gelassen und L-Dopa (8 mg) wurde in 1% Methylcellulose enthaltender Saline suspendiert und über orale Zwangsernährung verabreicht. In der zweiten Gruppe wurde eine Insufflation eingesetzt, um die L-Dopa-Formulierung direkt

in die Lunge abzugeben. Aus einer zuvor gesetzten Oberschenkelkanüle wurden zu den folgenden Zeitpunkten Blutproben (200 µl) entnommen: 0 (unmittelbar vor der L-Dopa-Verabreichung), 2, 5, 15 und 30 Minuten nach der L-Dopa-Verabreichung. Der Anstieg der Blutspiegel von L-Dopa über die Zeit nach der oralen Verabreichung war bescheiden. Im Gegensatz dazu sorgte eine Verabreichung in die Lungen für einen starken schnellen Anstieg der L-Dopa-Spiegel. Die L-Dopa-Spiegel in dieser Gruppe blieben relativ zu der oralen Abgabe 30 Minuten nach der Medikamenteverabreichung erhöht. Die Daten wurden auf eine Dosis von 8 mg/kg (die orale Gesamtdosis bei der Zwangsernährung) normalisiert. Die Daten werden als  $\pm$ -Standardabweichung des Mittelwerts in ng L-Dopa-Spiegel/ml Blut angegeben.

#### Beispiel 6

**[0178]** Es wurden Ketoprofen/DPPC/Maltodextrin-Teilchen hergestellt und in vivo verabreicht.

**[0179]** Ketoprofen wurde von Sigma (St. Louis, MO), Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) von Avanti Polar Lipids (Alabaster, AL) und Maltodextrin M100 von der Grain Processing Corp. (Muscatine, IA) bezogen.

**[0180]** Um die Ketoprofen/DPPC/Maltodextrin-Lösungen herzustellen, wurde Maltodextrin (0,598 g) zu 0,61 USP-Wasser gegeben. DPPC (0,901 g) wurde zu 1,401 Ethanol gegeben und bis zur Auflösung gerührt. Die wässrige Lösung und die Ethanol-Lösung wurden vereinigt, was zu einer trüben Lösung führte. 500 ml dieser Ausgangslösung wurden für jeden Lauf verwendet. Die Zugabe von Ketoprofen zu der DPPC/Maltodextrin-Ausgangslösung wird in Tabelle 2 beschrieben.

**[0181]** Es wurde ein Niro Atomizer Portable Spray Dryer (Niro, Inc., Columbus, MD) eingesetzt, um die trockenen Pulver herzustellen. Mit unterschiedlichem Druck (1 bis 5 bar) komprimierte Luft trieb einen über dem Trockner angebrachten Rotationszerstäuber (2.000 bis 30.000 Upm) an. Eine flüssige Beschickung der Ketoprofen/DPPC/Maltodextrin-Lösungen wurde von einer elektronischen Messpumpe (LMI, Modell #A151-192s) mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten (20 bis 66 l/min) kontinuierlich in den Zerstäuber gepumpt. Es wurden sowohl die Einlass- als auch die Auslasstemperatur gemessen. Die Einlasstemperatur wurde manuell kontrolliert; sie konnte zwischen 100°C und 400°C mit einem Kontrolllimit von 5°C variiert werden. Die Temperatur am Auslass wurde aus der Einlasstemperatur und solchen Faktoren wie den Geschwindigkeiten der Gas- und Flüssigkeitsbeschickung ermittelt; sie variierte zwischen 50°C und 130°C. Ein Behälter wurde dicht an dem 6" (0,15 m) Zyklon angebracht, um das Pulverprodukt aufzunehmen. Die Sprühbedingungen für jede Lösung werden in Tabelle 3 wiedergegeben, die zeigt, dass die Sprühbedingungen während der gesamten Untersuchung nahezu konstant gehalten wurden. Die gesamte Rückgewinnung und Ausbeute für jede Lösung wird in Tabelle 4 angegeben.

**[0182]** Die Teilchen wurden mit Hilfe des Aerosizer (TSI, Inc., Amherst, MA) und des RODOS-Trockenpulver-Dispergators (Sympatec Inc., Princeton, NJ) nach den Angaben der Hersteller charakterisiert. Für den RODOS wurde der geometrische Durchmesser bei 2 bar gemessen. Das Material aus Lauf #5 wurde auch mit Hilfe eines gravimetrischen kollabierten Andersen-Kaskadenimpaktors (ACI, 2 Stufen, Andersen Ins., Sunyra, GA) charakterisiert. Die Proben wurden auch mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops (SEM) untersucht.

**[0183]** Tabelle 4 zeigt, dass eine gewichtsprozentuale Erhöhung von Ketoprofen zu einer Abnahme in der Ausbeute führte. Der Zusatz von Ketoprofen zu der Ausgangslösung senkte die Ausbeute linear. Dies kann auf eine Abnahme der Schmelztemperatur für DPPC zurückzuführen sein, wenn es mit Ketoprofen vermischt wurde, was zu dem Ausbeuteverlust führte.

**[0184]** Tabelle 5 zeigt, dass die Teilchendurchmesser von 8,8 bis 10,2 µm (MMGD) und von 2,65 bis 3,11 (MMAD) reichten. Die kleinsten MMAD-Teilchen waren für das 8,4%-Beschickungsmaterial (Lauf #5).

**[0185]** Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse einer Untersuchung mit dem kollabierten Andersen Impaktor (ACI, gravimetrisch, n = 2) für das Material des Laufs #5, dem Material mit der 8,4%-Beschickung. Die FPFs unter 5,6 µm und unter 3,4 µm stimmen mit den zum Einatmen geeigneten Pulvern überein, die in vernünftigem Rahmen zum Einatmen geeignet sind.

Tabelle 2

Probenbezeichnung	zugesetztes Ketoprofen	Feststoffe insgesamt	% Ketoprofen
	(mg)	(g/l)	
Lauf #1	0	1,000	0
Lauf #2	8,0	1,016	1,6
Lauf #3	15,1	1,030	3,0
Lauf #4	30,1	1,060	5,7
Lauf #5	46,0	1,092	8,4
Lauf #6	63,0	1,126	11,2

Tabelle 3

Probenbezeichnung	Temperatur (°C)		flüssige Einspeisung (ml/min)	Gasdruck Pa (mm H <sub>2</sub> O)	Rotorge- schwindigkeit (Upm)	Einlass Taupunkt (°C)
	Einlass	Auslass				
Lauf #1	115	36	75	392 (40)	18.600	-27,0
Lauf #2	113	38	85	392 (40)	18.400	-26,8
Lauf #3	110	38	85	382 (39)	18.300	-26,4
Lauf #4	110	39	85	372 (38)	18.400	-25,9
Lauf #5	110	38	86	382 (39)	18.400	-25,4
Lauf #6	110	38	85	372 (38)	18.400	-25,0

Tabelle 4

Probenbezeichnung	gesammeltes Gewicht (mg)	Theoretische Ausbeute (mg)	tatsächliche Ausbeute (% der theoretischen)
	Lauf #1	186	500
Lauf #2	195	508	38,4
Lauf #3	147	515	28,5
Lauf #4	127	530	24,0
Lauf #5	89	546	16,3
Lauf #6	67	563	11,9

Tabelle 5

Probenbezeichnung	MMAD ( $\mu\text{m}$ )	St.-Abweichung	MMGD ( $\mu\text{m}$ , 2 bar)
Lauf #1	3,11	1,48	9,0
Lauf #2	3,01	1,37	9,3
Lauf #3	2,83	1,40	10,3
Lauf #4	2,84	1,41	10,4
Lauf #5	2,65	1,39	9,8
Lauf #6	2,83	1,38	8,8

Tabelle 6

Stufe 0	1,33 mg
Stufe 2	2,75 mg
Stufe F	3,17 mg
Kapsel-Füllung	12,37 mg
Gewicht < 5,6 $\mu\text{m}$	5,92
FPF <sub>5,6</sub>	0,479
Gewicht < 3,4 $\mu\text{m}$	3,17
FPF <sub>3,4</sub>	0,256

**[0186]** Es wurden, wie oben beschrieben, 350 mg 8% Ketoprofen in 60/40 DPPC/Maltodextrin hergestellt und an 20 Sprague Dawley-Ratten verabreicht. Jeder von 8 Ratten wurden 7 mg Pulver über eine Insufflation gegeben und jeder von 7 Ratten wurden 7 mg in 50% Ethanol gelöstes Pulver oral gegeben. Die Zeitpunkte wurden auf 0, 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360 und 480 Minuten festgesetzt. Bei  $t = 0$  wurden 4 Tiere ohne Dosierung untersucht. Zu jedem Zeitpunkt danach wurden Proben entweder von 3 oder von 4 Ratten genommen. Jede Ratte wurde zu 4 Zeitpunkten getestet mit jeweils 3 oder 4 Tieren in vier Gruppen. Die Tiere wurden wie folgt aufgeteilt: 3 Tiere mit oraler Verabreichung nach 5, 30, 120, 360 Minuten; 4 Tiere mit Insufflation nach 15, 60, 240, 480 Minuten. Für den Ketoprofen-Plasma-Assay wurde zu jedem Zeitpunkt ausreichend Blut entnommen. Die Blutproben wurden zentrifugiert, das Plasma gesammelt und vor der Verschiffung zu dem angeheuertem Analyzelabor bei  $-20^\circ\text{C}$  eingefroren. Der bei dieser Untersuchung eingesetzte Assay hat eine niedrigere Nachweisgrenze von 1,0 mg/ml. Den Katten wurde eine Dosis Ketoprofen entweder oral oder in die Lungen verabreicht, um zu ermitteln, ob der Lungenweg die für das Erreichen einer maximalen Plasmakonzentration benötigte Zeit verändert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Abgabe auf dem Lungenweg zu einer sehr schnellen Aufnahme führt, die nach  $\leq 10$  Minuten eintritt. Die Ratten, welche orale Dosen von Ketoprofen erhielten, zeigten ein etwas anomales pharmakokinetisches Verhalten, wobei die relative biologische Verfügbarkeit ungefähr halb so groß war wie die bei den Ratten, denen die Dosis auf dem Lungenweg verabreicht wurde. Dieses Ergebnis war unerwartet, da Ketoprofen in dem Modell des Menschen oral zu 90% biologisch verfügbar ist. Diese Anomalität bei Ratten mit oraler Dosierung macht jedoch die Bedeutung der frühen Aufnahme nicht ungültig, die bei Ratten beobachtet wurde, denen die Dosis über den Lungenweg verabreicht worden war.

**[0187]** Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 wiedergegeben. Die Mittelwerte wurden zusammen mit den Standardfehlern und p-Werten berechnet. Die Ergebnisse sind ebenfalls in den [Fig. 9-Fig. 11](#) wiedergegeben, wobei [Fig. 9](#) beide Datensätze zeigt, [Fig. 10](#) die Ergebnisse der oralen Dosierung und [Fig. 11](#) die Ergebnisse mit der Insufflation zeigen. In [Fig. 9](#) sind die Punkte mit  $p < 0,05$  mit "\*" gekennzeichnet und die Punkte mit  $p < 0,01$  sind mit "\*\*\*\*" gekennzeichnet. In den [Fig. 10](#) und [Fig. 11](#) wurde die AUC (Fläche unter der Kurve) über eine numerische Integration der Kurve mit ausgleichender Interpolation gewonnen.

**[0188]** Bei  $t = 0$  zeigten alle Ratten Ketoprofenspiegel unter der Nachweisgrenze des Assays. Von  $t = 5$  Minuten bis  $t = 60$  Minuten hatten die Ratten mit Insufflation signifikant höhere Plasmaspiegel von Ketoprofen. Bei  $t = 120$  Minuten und  $t = 240$  Minuten waren die Ketoprofen-Plasmaspiegel der zwei Gruppen statistisch gleich hoch. Bei  $t = 360$  Minuten und  $t = 480$  Minuten näherten sich die Ketoprofen-Plasmaspiegel der Nachweisgrenze für den Assay an.

**[0189]** Das Verhältnis der AUCs von Ratten mit Insufflation zu den Ratten mit oraler Dosierung betrug etwa 2. Auch die Ketoprofen-Plasmakonzentrationen zu den frühen Zeitpunkten waren statistisch signifikant.

**[0190]** Bei den Ratten mit Insufflation traten sie < 15 Minuten auf und bei den Ratten mit oraler Dosierung zwischen 15 und 60 Minuten. Wegen dem großen Standardfehler und der relativ niedrigen Plasmaspiegel in dieser Gruppe ist es nicht möglich, die dafür benötigte Zeit genau zu bestimmen.

**[0191]** Die pulmonale Verabreichung führte dazu, dass sie sehr schnell (< 15 min) verglichen mit der oralen Dosierung (t = 15 min bis 60 min) erfolgten.

**[0192]** Die Ratten mit Insufflation zeigten eine größere biologische Verfügbarkeit als die Ratten mit oraler Dosierung. Dies ist unerwartet, da vorhergehende Untersuchungen gezeigt haben, dass Ketoprofen beim Menschen ständig eine hohe biologische Verfügbarkeit hat (> 90%), wenn es oral, subkutan oder rektal verabreicht wurde. Da das pharmakokinetische Verhalten von oral zugeführtem Ketoprofen gut bekannt ist, machen die hier für die Gruppe mit oraler Verabreichung beobachteten anomalen Ergebnisse die für die Gruppe mit Insufflation beobachteten Ergebnisse nicht ungültig.

Tabelle 7

Zeit Minuten	orale Dosierung Mittelwert (µg/ml)	Gruppen Standard- abweichung	Dosierung in die Lunge Mittelwert (µg/ml)	Standardabweichung für Dosierung der Gruppen	p-Wert
0	1,0	N/A	1,0	N/A	
5	1,7	0,75	9,6	1,27	0,0003
15	2,1	0,76	7,6	0,28	0,0000
30	1,9	0,12	5,5	0,76	0,0012
60	2,0	0,13	4,5	0,60	0,0002
120	1,7	0,31	2,4	0,44	0,0929
240	1,4	0,05	1,8	0,63	0,2554
360	1,0	0,06	1,8	0,35	0,0224
480	1,0	0,00	1,3	0,47	0,2174

Mittlere Plasmaspiegel von Ketoprofen für die Gruppen mit jeweils oraler und pulmonaler Verabreichung

Beispiel 7

**[0193]** Die folgenden experimentellen Verfahren und die Instrumentierung wurden verwendet, um die physikalischen Eigenschaften von Teilchen zu ermitteln, welche L-Dopa enthaltenden und für eine Abgabe in die Lunge geeignet sind.

**[0194]** Der aerodynamische Durchmesser wurde mit Hilfe des API-AeroDisperser und des Aerosizer (TSI, Inc., St. Paul, MN) nach Standardverfahren (Alkermes SOP#MS-034-005) bestimmt. Das Probenpulver wurde in den AeroDisperser eingeführt und dispergiert und sodann durch ein Ventil in den Aerosizer beschleunigt. Für jedes Teilchen im Aerosizer erfolgte eine direkte Messung der Flugzeit, welche von der Trägheit des Teilchens abhing. Die Flugzeitverteilung wurde dann in eine auf dem Gewicht beruhende aerodynamische Teilchengrößenverteilung übersetzt, indem ein auf dem Stokes-Gesetz basierender Kraftausgleich eingesetzt wurde.

**[0195]** Der geometrische Durchmesser wurde mit Hilfe der Laserdiffraktionstechnik (Alkermes SOP#MS-021-005) bestimmt. Die Ausrüstung besteht aus einem HELOS-Diffraktometer und einem RODOS-Disperger (Sympatec, Inc., Princeton, NJ). Der RODOS-Disperger übt auf eine Probe von Teilchen eine Scherkraft aus, welche von einem Druckregler für die einströmende komprimierte Luft gesteuert wird. Die dispergierten Teilchen wandern durch einen Laserstrahl, wo das erhaltene gebeugte Lichtmuster von einer Reihe

von Detektoren aufgenommen wird. Das gesamte Beugungsmuster wird sodann auf der Grundlage, dass kleinere Teilchen Licht in größeren Winkeln beugen, mit Hilfe des Fraunhofer-Beugungsmodells in eine auf dem Volumen basierende Teilchengrößenverteilung übersetzt.

**[0196]** Die aerodynamischen Eigenschaften des von der Inhalatorvorrichtung dispergierten Pulvers wurden mit einem 2-stufigen MkII Andersen Kaskadenimpaktor (Andersen Instruments, Inc., Smyrna, GA) bestimmt. Das Instrument besteht aus zwei Stufen, welche die Aerosolteilchen auf der Grundlage ihrer aerodynamischen Durchmesser auftrennen. In jeder Stufe passiert der Aerosolstrom einen Satz von Ventilen und prallt auf die entsprechende Prallplatte auf. Teilchen mit genügend kleiner Trägheit werden vom Aerosolstrom bis zur nächsten Stufe mitgerissen, während die übrigen Teilchen auf der Platte aufprallen. In jeder folgenden Stufe passiert das Aerosol Ventile mit größerer Geschwindigkeit und aerodynamisch kleinere Teilchen werden auf der Platte gesammelt. Nach Durchtritt des Aerosols durch die Endstufe sammelt ein Filter die kleinsten verbliebenen Teilchen.

**[0197]** Vor der Bestimmung der Medikamentenfracht in einem AIR-Pulver muss das Arzneimittel erst von den Trägerstoffen im Pulver abgetrennt werden. Es wurde eine Extraktionstechnik zur Abtrennung von L-Dopa von dem Trägerstoff DPPC entwickelt. Die Teilchen wurden zuerst in 50% Chloroform/50% Methanol gelöst. Das unlösliche L-Dopa wurde abzentrifugiert, mit dem gleichen Lösungsmittelsystem gewaschen und in 0,5 M Salzsäure in Lösung gebracht. Das DPPC wurde mit L-Dopa versetzt, um die Wiedergewinnung zu ermitteln. Die Proben wurden in eine Umkehrphasen-HPLC-Säule (Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie) zur Analyse injiziert.

**[0198]** Die Trennung erfolgte mit Hilfe einer Waters Symmetry C18 5-µm Säule (150 mm × 4,6 mm ID). Die Säule wurde bei 30°C und die Proben bei 25°C gehalten. Das Injektionsvolumen war 10 µl. Die mobile Phase wurde aus 25% Methanol und einer 97,5% wässrigen Lösung (10,5 g/l Citronensäure, 20 mg/l EDTA, 20 mg/l 1-Octansulfonsäure-Natrium-monohydrat) hergestellt. Die mobile Phase wurde auf einer Rührplatte kontinuierlich gerührt und durch ein Waters in-line Entgasungssystem entgast. Das L-Dopa wurde unter isokratischen Bedingungen eluiert. Der Nachweis erfolgte mit Hilfe eines Ultraviolett-Detektors, der auf eine Wellenlänge von 254 nm eingestellt wurde.

**[0199]** Da die durchschnittliche orale Einzeldosis im Allgemeinen im Bereich von 100 – 150 mg liegt, wurden Experimente durchgeführt, um für eine Inhalation geeignete Teilchen herzustellen, welche hohe Mengen an L-Dopa enthielten. Es wurden Formulierungen mit L-Dopa-Beschickungen von 20% und 40% untersucht. Carbidopa, ein zusammen mit L-Dopa zur Verhinderung einer peripheren Decarboxylierung gegebener Decarboxylase-Inhibitor, war auch in einigen Formulierungen in einem Gewichtsverhältnis (w/w) von 4:1 enthalten. L-Dopa und die Kombination von L-Dopa und Carbidopa wurden mit DPPC-Formulierungen erfolgreich gesprüht. Die optimale Formulierung bestand aus L-Dopa und/oder Carbidopa, 20% (w/w) Natriumcitrat und 10% (w/w) Calciumchlorid sowie Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) als Rest.

**[0200]** Die genauen Angaben über die Formulierungen und die physikalischen Eigenschaften der erhaltenen Teilchen sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Die aerodynamische Größe oder der gewichtsgemittelte aerodynamische Durchmesser (MMAD) wurde mit einem Aerosizer gemessen und die geometrische Größe oder der gewichts-(volumen-)gemittelte geometrische Durchmesser (MMGD) wurde mit Hilfe der Laserbeugung bestimmt und die Fraktion der Feinteilchen (FPF) wurde mit Hilfe eines 2-stufigen Andersen Kaskadenimpaktors bestimmt. Wie aus [Fig. 12](#) und den MMGD-Verhältnissen in Tabelle 8 ersichtlich, waren die Pulver von der Fließgeschwindigkeit unabhängig. Zur Beobachtung der Teilchen wurde die Rasterelektronenmikroskopie eingesetzt.

Tabelle 8

Beschickung (%) ID L-Dopa/Carbidopa	Ausbeute (%)	MMGD (µm) bei 2 bar	MMGD- Verhältnis 0,5/4,0 bar	MMAD (µm)	FPF (%) 5,6/3,4
20/0	> 40	9,9	NA	2,7	NA
40/0	> 40	8,0	1,2	3,3	42/17
20/5	42	10	1,6	3,1	64/38
40/10	> 20	7,4	1,6	3,8	40/14

**[0201]** Die Integrität von L-Dopa über den gesamten Prozess hinweg schien durch die Formulierung und das Sprühtrocknungsverfahren bewahrt zu sein. L-Dopa wurde aus L-Dopa-Pulvern extrahiert und mit Umkehrphasen-HPLC analysiert. In den L-Dopa-Pulvern wurden keine Verunreinigungen nachgewiesen ([Fig. 13A](#)); die nach etwa 1 bis 2 Minuten eluierten frühen Peaks sind auf das Lösungsmittel zurückzuführen, wie aus [Fig. 13B](#) ersehen werden kann, die eine Blindprobe darstellt, welche kein L-Dopa enthielt. Die Reinheit des aus den Teilchen wiedergewonnenen L-Dopa betrug 99,8% bzw. 99,9% für die zu 20% und 40% beladenen Teilchen.

**[0202]** Um die Beladung des Pulvers mit L-Dopa zu ermitteln, wurde das L-Dopa zuerst von den Trägerstoffen in der Formulierung abgetrennt und dann mit Hilfe der Umkehrphasen-HPLC analysiert. Die Ergebnisse der Wiedergewinnung von L-Dopa aus den Pulvern und die Berechnungen für die Endbeladung sind in Tabelle 9 dargestellt. Sowohl die Wiedergewinnung bei der Extraktion als auch die Bestimmung der Beladung waren zufrieden stellend. Die ermittelte Beladung mit dem Medikament betrug etwa 87% der nominalen Beladung. Der Ausdruck „nominale Beladung“ bezieht sich auf das in dem zur Verabreichung bestimmten Teilchengewicht erwartete Gesamtgewicht an biologisch aktivem Wirkstoff und stellt die maximale Menge an biologisch aktivem Wirkstoff dar, die für eine Verabreichung zur Verfügung steht.

Tabelle 9

Formulierung des Pulvers	% Wiedergewinnung bei Extraktion	tatsächliche Beschickung (%)
20/0	100 ± 4,5	17,3 ± 0,2
40/0	101 ± 2,8	35,0 ± 5,4

**[0203]** Die Bestimmungen der Plasmaspiegel von L-Dopa wurden nach i.v.-Injektion, oraler Zwangsernährung oder Insufflation in die Lungen durchgeführt. Carbidopa wird im Allgemeinen verabreicht, um sicher zu gehen, dass die periphere Decarboxylase-Aktivität vollständig gehemmt ist. In diesem Beispiel erhielten die Tiere eine intraperitoneale (i.p.) Injektion des peripheren Decarboxylase-Inhibitors Carbidopa (200 mg/kg) 1 Stunde vor der Verabreichung von L-Dopa. Unter Ketamin-Narkose wurden die Tiere in drei Gruppen eingeteilt. In der ersten Tiergruppe wurde L-Dopa (2 mg) in Saline suspendiert, welche 1% Methylcellulose und 1% Ascorbinsäure enthielt und über eine orale Zwangsernährung verabreicht wurde. In der zweiten Gruppe wurde eine Insufflationstechnik zur in die Lunge erfolgenden Verabreichung von AIR-Teilchen eingesetzt, welche mit L-Dopa (20% Beladungsdichte) beladen waren. Zum Sichtbarmachen der Epiglottis der Ratte wurde ein Laryngoskop verwendet und die Insufflationsvorrichtung mit stumpfer Spitze (PennCentury Insufflation-Pulverabgabevorrichtung) in den Luftweg eingeführt. Ein Bolus von Luft (3 cm<sup>3</sup>) aus einer angeschlossenen Spritze wurde eingesetzt, um das vorher beladene Pulver aus der Kammer der Vorrichtung in die Lungen des Tieres abzugeben. Es wurde insgesamt eine Menge von 10 mg Pulver (2 mg L-Dopa) abgegeben. In der dritten Gruppe wurde eine zuvor in den Oberschenkel eingesetzte Kanüle verwendet, um einen Bolus (2 – 3 Sekunden) von L-Dopa (2 mg) abzugeben. Von jedem Tier wurden Blutproben (200 µl) unter Einsatz der Oberschenkelkanüle zu den folgenden Zeitpunkten entnommen: 2, 5, 15, 30, 60, 120 und 240 Minuten nach der Verabreichung von L-Dopa. Alle Proben wurden für die L-Dopa-Bestimmung mittels HPLC behandelt.

**[0204]** Die Ergebnisse einer pharmakokinetischen Untersuchung mit Hilfe des beschriebenen Verfahrens werden in den [Fig. 14A](#) und [Fig. 14B](#) gezeigt. In [Fig. 14A](#) sind die Ergebnisse eines Vergleichs der Abgabe von L-Dopa in die Lungen mit einer oralen Verabreichung wiedergegeben. Nach der Insufflation wurden die Peaks der Plasmaspiegel von L-Dopa zum frühesten Messzeitpunkt (2 Minuten) beobachtet und sie begannen binnen 15 Minuten der Verabreichung abzunehmen, während sie im Vergleich mit der oralen Verabreichung bis zu 120 immer noch erhöht blieben. Im Gegensatz dazu führte eine orale Verabreichung von L-Dopa zu einem allmählicheren Anstieg der Plasmaspiegel von L-Dopa, welche 15 bis 30 Minuten nach der Verabreichung einen Peak aufwiesen und dann während der nächsten 1 – 2 Stunden allmählich zurückgingen.

**[0205]** Die intravenöse, orale und pulmonale Abgabe wurden ebenfalls miteinander verglichen. Die Ergebnisse sind in [Fig. 14B](#) wiedergegeben. Diese Liste zeigt die gleichen in [Fig. 14A](#) angegebenen Daten mit der zusätzlichen Gruppe der i.v.-Verabreichung, womit sich direkte Vergleiche der bei allen drei Verabreichungswegen (pulmonal, oral und i.v.) erhaltenen Plasmakonzentrationen von L-Dopa anstellen lassen. Die Daten werden angegeben als Mittelwert ± Standardabweichung in µg L-Dopa-Spiegel/ml Blut. Die Plasmaspiegel von L-Dopa stiegen nach der intravenösen (i.v.) Verabreichung rasch an. Die höchsten Spiegel von L-Dopa wurden bei 2 Minuten beobachtet und nahmen danach schnell ab.

**[0206]** Die biologische Verfügbarkeit wurde dadurch berechnet, dass Berechnungen der Fläche unter der Kurve (AUC) durchgeführt wurden. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung (0 – 240 Minuten) betrug die relative biologische Verfügbarkeit von pulmonal (im Vergleich zu i.v.) verabreichtem L-Dopa ungefähr 75% im Vergleich zu 33% für oral verabreichtes L-Dopa. Die relative biologische Verfügbarkeit von pulmonal verabreichtem L-Dopa 15 Minuten und 60 Minuten nach der Verabreichung betrug 38% bzw. 62%, während die bei der oralen Verabreichung von L-Dopa 9% bzw. 24% betrug.

#### Beispiel 9

**[0207]** Es wurde auch eine pharmokokinetische Beurteilung von Ratten durchgeführt, welche L-Dopa erhielten. Die Ratten erhielten einseitige Injektionen des Neurotoxins 6-OHDA in das mediale Vorderhirnbündel. Die Ratten wurden dann mit Hilfe eines standardisierten Apomorphin-induzierten Drehmusters gescreent, um sicher zu gehen, dass die Depletion von Dopamin im Striatum erfolgreich war. Zwei Wochen nach dem chirurgischen Eingriff beginnend wurden die Tiere drei Wochen lang wöchentlich auf ihr Apomorphin-induziertes Drehverhalten hin untersucht. Für diesen Test erhielten die Tiere eine i.v.-Injektion von Apomorphin (0,25 mg/kg für den ersten Test und 0,1 mg/kg für die folgenden beiden Tests) und wurden in einen zylindrischen Eimer aus Plexiglas gesetzt. Jede binnen 30 Minuten erfolgende Drehung um 360° wurde gezählt und nur solche Tiere für den Verhaltenstest verwendet, die > 200 Drehungen/30 Minuten (12/30 Ratten mit Funktionsausfall) zeigten.

**[0208]** Die Ratten mit Funktionsausfall wurden nach der Verabreichung von L-Dopa mit einigen motorischen Aufgaben betraut. Die Daten aus den Untersuchungen (Setzaufgabe, Aufstehaufgabe, Akinesie) betonten ein weiteres Mal den Vorteil einer pulmonalen Abgabe über eine orale Abgabe.

**[0209]** In einem Test wurden die Tiere, die die Apomorphin-Probe durchliefen, mit Hilfe einer "Setzaufgabe" („placing task“) getestet. Vor jedem Testtag erhielten die Tiere, wie oben beschrieben, eine i.p.-Injektion des peripheren Decarboxylase-Inhibitors Carbidopa (200 mg/kg). Die Tiere erhielten dann oral L-Dopa (0, 20 oder 30 mg/kg) oder pulmonal L-Dopa (0, 0,5, 1,0 oder 2,0 mg L-Dopa) und wurden 15, 30, 60 und 120 Minuten später untersucht. Über das gesamte Testen mit oraler oder pulmonaler Abgabe von L-Dopa hinweg erhielt jedes Tier jede mögliche Medikamentenkombination nach dem Zufallsprinzip.

**[0210]** Die pharmakodynamische "Setzaufgabe" erforderte, dass die Tiere als Antwort auf sensorische Reize eine gerichtete Bewegung mit den Vorderpfoten machten. Die Ratten wurden so gehalten, dass ihre Glieder nicht unterstützt nach unten hingen. Sie wurden sodann an die Seite eines Tisches gehoben, so dass sich ihre Körper parallel zur Tischkante ausrichteten. Jede Ratte erhielt 10 fortlaufende Versuche für jede Pfote und die Gesamtzahl der Ereignisse, bei denen die Ratte ihre Vorderpfote oben auf den Tisch setzte, wurde aufgeschrieben.

**[0211]** Die Ergebnisse aus den Tests mit der "Setzaufgabe" sind in den [Fig. 15A](#) und [Fig. 15B](#) wiedergegeben. An der Grundlinie (t = 0; unmittelbar vor der Verabreichung von L-Dopa) reagierten die Tiere nahezu perfekt auf diese Aufgabe mit der nicht beeinflussten Pfote und zeigten mehr als 9/10 richtige Antworten. Im Gegensatz dazu waren die Tiere in ihrer Fähigkeit, die gleiche Aufgabe mit der behinderten Pfote zu lösen, deutlich beeinträchtigt, indem sie bei den 10 Versuchen ungefähr 1 richtige Antwort gaben.

**[0212]** L-Dopa führte bei oraler Verabreichung ([Fig. 15A](#)) zu einer dosisabhängigen Verbesserung der Leistung mit der beeinträchtigten Pfote. Bei der höchsten getesteten Dosis (30 mg/kg) war die Leistung relativ zu der Saline-Kontrolle innerhalb von 30 Minuten verbessert und erreichte zwischen 1 – 2 Stunden nach der Verabreichung des Medikaments einen Peak. Die niedrigere Dosis (20 mg/kg) verbesserte auch die Leistung geringfügig mit maximalen Wirkungen bei 60 Minuten und einer stabilen Leistung danach. Nach Verabreichung der Saline-Kontrolle wurden keine Veränderungen beobachtet.

**[0213]** Im Gegensatz zur oralen Verabreichung wurde, wie aus [Fig. 15B](#) ersichtlich, die Leistung bei der "Setzaufgabe" nach der pulmonalen Abgabe von L-Dopa schnell besser. Bei der höchsten untersuchten Dosis stellte sich binnen 10 Minuten eine signifikante Verbesserung ein mit einem beobachteten Peak innerhalb von 15 – 30 Minuten (gegenüber 1 – 2 Stunden bei der oralen Verabreichung). Diese Wirkungen waren Dosis-abhängig, wobei sich signifikante Verbesserungen bei niedrigen Dosen von 0,5 mg/kg L-Dopa einstellten. Im Vergleich mit der bei oraler Verabreichung gezeigten Erholung waren die Verbesserungen im Verhalten bei Verabreichung in die Lungen bei deutlich niedrigeren Dosen zu beobachten. Zum Beispiel war das Ausmaß der Erholung bei 30 mg/kg oral verabreichtem L-Dopa mit der Erholung vergleichbar, die bei 1 mg auf pulmonalem Wege verabreichtem L-Dopa beobachtet wurde (es ist zu bemerken, dass 1 mg pulmonales L-Dopa ungefähr

3 mg/kg äquivalent sind, wenn das Körpergewicht des Tieres ungefähr 300 g betrug). Wenn entsprechend die Dosen von L-Dopa durch das Körpergewicht normalisiert wurden, stellte dies einen etwa 10-fachen Unterschied zu dem für die Erzeugung einer äquivalenten Wirksamkeit benötigten Arzneimittel dar. Schließlich war die Fortdauer der Besserungen im Verhalten bei den beiden Verabreichungswegen vergleichbar.

**[0214]** Die Ergebnisse aus einem Aufstehtest sind in den [Fig. 16A](#) und [Fig. 16B](#) wiedergegeben. Dieser Test wurde durchgeführt, indem die gleichen Tiere und zur gleichen Zeit wie bei der oben beschriebenen "Setzaufgabe" eingesetzt wurden. Die Ratten wurden auf eine glatte Unterlage aus rostfreiem Stahl gesetzt und sanft mit etwa 20 cm/Sekunde 90 cm zur Seite geschoben. Die Anzahl der Schritte, welche die Ratte mit der Vorderpfote auf der Seite unternahm, in welche sich die Ratte bewegte, wurde notiert. Jeder Versuch umfasste das zweimalige Bewegen der Ratte in jede Richtung.

**[0215]** Die Tiere zeigten eine schwere Beeinträchtigung in ihrer Fähigkeit, die Aufgabe mit der geschädigten Pfote zu lösen, indem sie ungefähr 3 mal im Vergleich mit etwa 7 mal bei der nicht beeinträchtigten Pfote reagierten, wie dies aus [Fig. 16A](#) ersichtlich ist. Wieder verbesserte eine orale Verabreichung die Erfüllung dieser Aufgabe in Dosis-abhängiger Weise. Eine Verabreichung von 30 mg/kg (ungefähr 10 mg L-Dopa) verbesserte die Leistung binnen 30 Minuten. Maximale Effekte wurden binnen 60 Minuten beobachtet und blieben danach stabil. Eine niedrigere Dosis von oral verabreichtem L-Dopa (20 mg/kg oder ungefähr 7 mg L-Dopa) verbesserten geringfügig die Leistung. Wieder wurde die Leistung bei Verabreichung der Saline-Kontrolle nicht beeinflusst.

**[0216]** Im Gegensatz zu der oralen Verabreichung trat, wie aus [Fig. 16B](#) ersichtlich, nach pulmonaler Verabreichung von L-Dopa bei der Erfüllung dieser Aufgabe eine schnelle Besserung ein. Signifikante Besserungen wurden binnen 10 Minuten beobachtet, wobei binnen 15 – 30 Minuten ein Peak auftrat (gegenüber 30 – 60 Minuten bei oraler Verabreichung). Diese Wirkungen waren Dosis-abhängig mit bescheidenen aber statistisch signifikanten Besserungen bei einer niedrigen Dosis von 0,5 mg (ungefähr 1,5 mg/kg äquivalent). Wie bei den anderen funktionellen Tests traten die nach pulmonaler Verabreichung von L-Dopa erzielten Verbesserungen im Verhalten bei Dosen weit unter denen auf, die zum Erreichen einer ähnlich großen Wirkung nach oraler Verabreichung erforderlich sind. Schließlich war die Fortdauer der Besserungen im Verhalten bei den beiden Verabreichungswegen vergleichbar.

**[0217]** Es wurden auch pharmakodynamische Untersuchungen mit funktioneller Akinese durchgeführt. Die Ergebnisse werden in den [Fig. 17A](#) und [Fig. 17B](#) gezeigt. Dieser Test wurde durchgeführt, indem die gleichen Tiere und die gleiche Zeit wie in den beiden vorangehenden Tests eingesetzt wurden. Bei dieser Aufgabe wurde das Tier gehalten, so dass es auf einer Vorderpfote stand und sich selbst bewegen konnte. Die Anzahl der Schritte, die mit der Vorderpfote, auf der das Tier stand, unternommen wurden, wurde für jede Vorderpfote während eines 30-minütigen Versuchs notiert.

**[0218]** Wie bei den Setz- und Aufstehtests wiesen die Tiere eine schwere Beeinträchtigung in ihrer Fähigkeit auf, mit der geschädigten Pfote die Akinese-Aufgabe zu lösen. Während die Tiere mit ihrer normalen Pfote etwa 17 Schritte unternahmen, machten sie mit der geschädigten Pfote weniger als die Hälfte dieser Zahl (Bereich = 0 – 10 Schritte). Die orale Verabreichung ([Fig. 17A](#)) verbesserte die Erfüllung dieser Aufgabe auf dosisabhängige Weise. Eine Verabreichung von 30 mg/kg (ungefähr 10 mg L-Dopa) verbesserte die Leistung innerhalb von 30 Minuten und maximale Effekte wurden binnen 60 Minuten beobachtet. Eine niedrigere Dosis von oral verabreichtem L-Dopa (20 mg/kg oder ungefähr 6,8 mg L-Dopa) ergaben das gleiche Erholungsmuster, obwohl das absolute Ausmaß der Besserung geringfügig geringer war als das, welches bei der höheren L-Dopa-Dosis zu sehen war. Die Leistung blieb zwischen 60 und 120 Minuten nach Verabreichung beider Dosen stabil. Die Verabreichung der Saline-Kontrolle beeinflusste die Leistung nicht.

**[0219]** Im Gegensatz zur oralen Verabreichung besserte sich, wie aus [Fig. 17B](#) ersichtlich, die Erfüllung dieser Aufgabe nach der pulmonalen Verabreichung von L-Dopa schnell. Signifikante Besserungen wurden binnen 10 Minuten beobachtet mit beobachteten Peaks innerhalb von 15 – 30 Minuten (gegenüber 60 Minuten bei der oralen Verabreichung). Diese Effekte waren bei einer niedrigen Dosis von 1,0 mg dosisabhängige, statistisch signifikante ( $p < 0,05$ ) Besserungen. Wie bei den anderen funktionellen Tests trat die nach der pulmonalen Verabreichung erzielte Besserung im Verhalten bei Dosen weit unter denen auf, die zum Erreichen einer ähnlich großen Wirkung nach oraler Verabreichung erforderlich sind. Schließlich war die Fortdauer der Besserungen im Verhalten bei den beiden Verabreichungswegen vergleichbar.

**[0220]** Die Tiere wurden auch mit einem standardisierten pharmakodynamischen Drehtest getestet, von dem bekannt ist, dass er ein empfindliches und zuverlässiges Maß für die Dopaminaktivität im Hirn ist. Für diesen

Test erhielten die Tiere entweder oral verabreichtes L-Dopa (30 mg/kg oder ungefähr 10 mg insgesamt) oder pulmonal verabreichtes L-Dopa (2 mg insgesamt). Für diesen Test wurden diese Dosen gewählt, weil sie die Dosen für L-Dopa darstellen, von denen in den vorhergehenden funktionellen Tests gezeigt wurde, dass sie eine maximale Wirksamkeit entfalten. Nach der Dosierung wurden die Tiere in einen zylindrischen Eimer aus Plexiglas gesetzt. Jede Drehung um 360° wurde gezählt und über einen Testzeitraum von 120 Minuten in 5-Minutenabschnitte gruppiert. Die Tiere wurden auch mit und ohne Vorbehandlung mit Carbidopa auf ihr Drehverhalten hin getestet.

**[0221]** Alle in diesen Untersuchungen eingesetzten Tiere erhielten einseitige Injektionen von 6-OHDA, einem für die Dopamin-Neuronen im Gehirn spezifischen Neurotoxin. Da die Dopamin-Depletionen einseitig sind, blieb die nicht injizierte Seite intakt und noch in der Lage, auf Veränderungen der Dopaminaktivität zu reagieren. Wenn diese Tiere mit einem Dopamin-Agonisten (d.h. mit L-Dopa) injiziert wurden, wurde die Dopaminaktivität im Gehirn vorzugsweise auf der intakten Seite stimuliert. Dies führte zu einer asymmetrischen Stimulation der motorischen Aktivität, die sich in einem Dreh- oder Rotationsverhalten zu erkennen gab. Der Beginn und die Anzahl der Drehungen lieferte ein Maß für sowohl den zeitlichen Verlauf als das Ausmaß der erhöhten Dopaminaktivität.

**[0222]** Die Ergebnisse sind in [Fig. 18](#) wiedergegeben. Die orale Verabreichung von L-Dopa führte zu einem merklichen Drehverhalten im Uhrzeigersinn, das während der ersten 10 – 15 Minuten nach der Verabreichung von L-Dopa bescheiden war (<5 Drehungen/Tier). Während der nächsten 20 Minuten nahm die Anzahl der Drehungen merklich zu, wobei ungefähr 30 Minuten nach der Verabreichung von L-Dopa Peakniveaus auftraten, was auf eine erhöhte Dopaminaktivität im intakten Striatum des Gehirns hinwies. Während der nächsten 90 Minuten nahm die Zahl der Drehungen allmählich ab, relativ zu den Peakniveaus erreichte die Abnahme jedoch keine statistische Signifikanz ( $p > 0,05$ ).

**[0223]** Im Gegensatz zur oralen Verabreichung steigerte die pulmonale Abgabe von L-Dopa das Drehverhalten, was auf eine viel schnellere Umwandlung von L-Dopa zu Dopamin im intakten Striatum hinwies. Die Drehungen in dieser Gruppe waren mehr als dreimal so oft wie die durch orale Abgabe in den ersten 10 – 15 Minuten ausgelöst. Die Zahl der Drehungen nahm leicht zu, erreichte nach 25 – 30 Minuten einen Peak und blieb danach relativ stabil. Obwohl 120 Minuten nach der Dosierung relativ zu der oralen Abgabe ein Trend zu mehr Drehungen beobachtet wurde, wurde damit keine statistische Signifikanz erreicht ( $p > 0,05$ ). Bei Tieren, die keine Vorbehandlung mit Carbidopa erhielten, war das Drehverhalten praktisch eliminiert (Daten nicht gezeigt).

#### Beispiel 10

**[0224]** Der Zweck des folgenden Experiments besteht darin, die relative biologische Verfügbarkeit verschiedener Zusammensetzungen mit mindestens einem Trägerteilchen und wahlweise einem Wirkstoff zu testen. Wenn nicht anders angegeben, wurde, wenn sprühgetrocknete Teilchen zum Einsatz kamen, diese nach den Schritten des obigen Beispiels hergestellt. Die Eigenschaften der hergestellten Teilchen fallen in die zuvor beschriebenen Bereiche. Die Formulierung sind unten in Tabelle 10 angegeben.

**[0225]** Die Tests wurden unter Verwendung von verschiedenen Formulierungen für Salmeterol durchgeführt. Wenn nicht anders angegeben, wurde bei der Herstellung der Teilchen mikronisiertes Salmeterol-Xinafoat eingesetzt. Zwei solcher Formulierungen sind die Formulierung 1 (F1) und die Formulierung 2 (F2) in Tabelle 10. F1 bestand aus 69% DPPC/20% Natriumcitrat/10% Calciumchlorid/1% Salmeterol. F2 bestand aus 29,5% DPPC/29,5% DPPE/20% Lactose/20% Natriumcitrat/1% Salmeterol. Zum Vergleich wurden Formulierungen von F1 und F2 jeweils ohne Salmeterol hergestellt. In den Experimenten zum Testen von F1 bzw. F2 wurden zwei Salmeterol enthaltende Kontrollen SX1 bzw. SX2 eingesetzt.

Tabelle 10

in Gew.-%	Salmeterol	DPPC	DPPE	Natrium-citrat	Calcium-chlorid	Lactose
F-1	1	69	-	20	10	-
F-1 ohne Salmeterol	0	70	-	20	10	-
F-2	1	29,5	29,5	20	-	20
F-2 ohne Salmeterol	0	30	30	20	-	20

**[0226]** Zur Herstellung der Vor-Sprühtrocknungslösung von F1 wurden 200 mg Natriumcitrat und 100 mg Calciumchlorid in 300 ml Wasser gelöst. 690 mg DPPC und 10 mg Salmeterol wurden in 700 ml EtOH gelöst. Die beiden Lösungen wurden vereinigt, um 1 l Lösung, 70% EtOH/30% Wasser, 1 g/l Feststoffe, zu bilden.

**[0227]** Zur Herstellung der Vor-Sprühtrocknungslösung von F2 wurden 200 mg Natriumcitrat und 200 mg Lactose in 300 ml Wasser gelöst. 295 mg DPPC, 295 mg DPPE und 10 mg Salmeterol wurden in 700 ml EtOH gelöst. Die beiden Lösungen wurden vereinigt, um 1 l Lösung, 70% EtOH/30% Wasser, 1 g/l Feststoffe, zu bilden.

**[0228]** Die Vor-Sprühtrocknungslösungen wurden wie oben beschrieben sprühgetrocknet und lieferten die in den unten stehenden Experimenten verwendeten Trockenteilchen.

#### Beispiel 11

**[0229]** Die oben hergestellten Trockenpulver-Formulierungen (AIR-Teilchen) wurden für die Verabreichung präpariert. Die AIR-Teilchen, in diesem Falle die ohne Salmeterol sprühgetrockneten F1 und F2 wurden in die Kapsel gefüllt und gewogen. Danach wurden die gewünschten aktiven Verbindungen (F1, F2) oben auf die AIR-Teilchen platziert und das Gewicht notiert. Speziell wurde die F1-Formulierung mit dem F1 ohne die Salmeterol-Formulierung platziert und die F2-Formulierung wurde mit dem F2 ohne die Salmeterol-Formulierung platziert. Das Endgewicht der Inhalte der Kapsel ergab insgesamt 1,0 mg. Die Kapsel wurde verschlossen und die Inhalte durch wiederholtes Wenden der Kapsel miteinander vermischt. Diese Vorgehensweise führte zu einem "Gemisch" in der Kapsel, welche in diesen Experimenten verabreicht wurde.

**[0230]** Für die Serevent®-Testformulierungen wurden Serevent® 1 und Serevent® 2 als aktive Verbindung hergestellt. Serevent® ist ein eingetragenes Warenzeichen von GlaxoWellcome, Research Triangle, N.C. Es ist eine Formulierung von Salmeterol-Xinafoat als die racemische Form des 1-Hydroxy-2-naphthoesäure-Salzes von Salmeterol. Die aktive Komponente der Formulierung ist die Salmeterol-Base, ein hoch selektiver beta<sub>2</sub>-adrenerger Bronchodilatator. Der chemische Name von Salmeterol-Xinafoat ist 4-Hydroxy- $\alpha$ 1-[[[6-(4-phenylbutoxy)hexyl]-amino]methyl]-1,3-benzoldimethanol,1-hydroxy-2-naphthalincarboxylat.

**[0231]** Der obigen Vorgehensweise zum Füllen der Kapsel wurde allgemein gefolgt. In den Formulierungen mit Serevent® 1 und Serevent® 2 wurden jedoch keine AIR-Teilchen verwendet. Stattdessen wurde zuerst mikronisiertes Lactosepulver in die Kapsel gegeben und das Gewicht notiert. Danach wurde Serevent® auf dem Lactosepulver platziert. Wie oben belief sich das Endgewicht der Inhalte der Kapsel auf insgesamt 1,0 mg. Die Kapsel wurde verschlossen und die Inhalte durch wiederholtes Wenden der Kapsel miteinander vermischt. Diese Vorgehensweise führte zu einem "Gemisch" in der Kapsel. Schließlich wurden in den Experimenten zwei Salmeterol enthaltende Kontrollen, SX1 und SX2, eingesetzt, in welchen Serevent® mit AIR-Teilchen ohne Salmeterol (Träger) vermischt war. Die AIR-Teilchen, in diesem Falle F-1 ohne Salmeterol-Teilchen, wurden zuerst in die Kapsel gegeben und das Gewicht notiert. Danach wurde Serevent® auf die AIR-Teilchen platziert. Wie oben betrug das Gesamtgewicht der Inhalte der Kapsel 1,0 mg. Die Kapsel wurde verschlossen und die Inhalte durch wiederholtes Wenden der Kapsel miteinander vermischt. Diese Vorgehensweise führte zu einem "Gemisch" in der Kapsel, welche in diesen Experimenten verabreicht wurde.

#### Beispiel 12

**[0232]** Zur Beurteilung der Lungenfunktion in Meerschweinchen wurde das Ganzkörper-Plethysmogra-

phie-Verfahren eingesetzt. Anästhetisierten Tieren wurden mittels intratrachealer Insufflation Testformulierungen verabreicht. Mit diesem System ließen sich einzelne Meerschweinchen zeitlich wiederholt mit durch Zerstäuben verabreichtes Methacholin reizen. Speziell wurde eine auf Fließparametern, PenH (längere Pause), basierende Messung des Luftwegwiderstandes als Marker für den Schutz vor einer Methacholin-induzierten Bronchuskonstriktion verwendet.

**[0233]** Speziell war das verwendete System das nicht unbeschränkte BUXCO-Ganzkörper-Plethysmograph-System mit der BUXCO XA-Lungenfunktions-Software (BUXCO Electronics, Inc., Sharon, CT). Diese Vorschrift wird in Silbaugh und Mauderly ("Noninvasive Detection of Airway Constriction in Awake Guinea Pigs", American Physiological Society, 84, 1666 – 1669 (1984 und Chong et al., "Measurements of Bronchoconstriction Using Whole-Body Plethysmograph: Comparison of Freely Moving Versus Restrained Guinea Pigs," Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 39(3): 163 – 168 (1998)) beschrieben. Die Basislinienwerte für die Lungenfunktion (Luftwegsüberreaktion) wurden vor jeder experimentellen Behandlung gemessen. Die Luftwegsüberreaktion wurde dann in Reaktion auf Saline und Methacholin nach der Verabreichung der Salmeterol-Formulierungen zu verschiedenen Zeitpunkten (2 – 3, 16, 24 und 42 Stunden) begutachtet. Der mittlere PenH wurde dann aus den zwischen 4 und 9 Minuten nach der Reizung mit Saline und Methacholin gesammelten Daten berechnet. Für jedes in dem Experiment eingesetzte Tier wurde der Prozentsatz des Basislinien-PenH zu jedem Zeitpunkt berechnet. Die Werte von Tieren, welche die gleiche Formulierung erhielten, wurden daraufhin gemittelt, um zu jedem Zeitpunkt den Mittelwert für die Gruppenreaktion ( $\pm$ -Standardfehler) zu ermitteln.

**[0234]** Männliche Hartley-Meerschweinchen wurden von den Elm Hill Breeding Labs (Chelmsford, MA) erhalten. Die Menge an Pulver (1 mg in einer Kapsel) wurde in die Insufflator-Probenkammer der Insufflationsvorrichtung für Meerschweinchen übertragen, (Penn Century, Philadelphia, PA). Das Abgaberohr des Insufflators wurde durch den Mund in die Trachea eingeführt und weiter geschoben, bis die Spitze des Rohrs etwa 1 cm von der Carina (erste Gabelung) entfernt war. Das Volumen der Luft, die eingesetzt wurde, um das Pulver aus der Probenkammer des Insufflators aus einer Spritze von 10 ml abzugeben, betrug 3 ml. Um die Abgabe des Pulvers an das Meerschweinchen zu maximieren, wurde die Spritze wieder gefüllt und zwei weitere male für insgesamt 3 Luftentleerungen pro Pulverdosis entleert. Die Reizungen mit Methacholin erfolgten zu den Zeitpunkten 2 – 3, 16 und 24 Stunden nach der Verabreichung des Pulvers.

**[0235]** Die Tests wurden wiederholt, wobei die in Tabelle 11 unten angegebenen Formulierungen und Inhaltsstoffe eingesetzt wurden.

Tabelle 11

	% Salmeterol	Gewicht von Salmeterol in sprühgetrockneten AIR-Teilchen ( $\mu\text{g}$ )	Gewicht von Salmeterol in Serevent ( $\mu\text{g}$ )	Gesamtgewicht der Salmeterol enthaltenden AIR-Teilchen ( $\mu\text{g}$ )	Gesamtgewicht der Salmeterol enthaltenden Serevent-Pulvers ( $\mu\text{g}$ )	AIR-Teilchen ohne Salmeterol (Träger) ( $\mu\text{g}$ )	mikronisiertes Lactose-Pulver ( $\mu\text{g}$ )	Insgesamt
F-1 (0,5)	1	0,5		50		950		1 mg
F-1 (1,0)	1	1		100		900		1 mg
F-1 (2,0)	1	2		200		800		1 mg
F-1 ohne Salmeterol	0	0		0		1000 $\mu\text{g}$ oder 1 mg		1 mg
F-2 (0,5)	1	0,5		50		950		1 mg
F-2 (1,0)	1	1		100		900		1 mg
F-2 (2,0)	1	2		200		800		1 mg
F-2 ohne Salmeterol	0	0		0		1000 $\mu\text{g}$ oder 1 mg		1 mg
SX1 (0,5)	0,4		0,5		125	875		1 mg
SX2 (1,0)	0,4		1		250	750		1 mg
Serevent <sup>®1</sup>	0,4		0,5		125		875	1 mg
Serevent <sup>®2</sup>	0,4		1		250		750	1 mg

Beispiel 13

**[0236]** In einem Experiment wurde den Vorgehensweisen in Beispiel 12 gefolgt. Den Tieren wurden die in Tabelle 11 beschriebenen Formulierungen F-1 (0,5), F-1 (1,0), F-1 (2,0), SX-1 (0,5) und SX-2 (1,0) verabreicht. Die Formulierungsreihen F-1 enthalten Salmeterol, DPPC, Natriumcitrat und Calciumchlorid. Mit Hilfe der Fließparameter wurde PenH (längere Pause oder Messung des Luftwegwiderstandes) berechnet und für jedes Tier notiert. Die Tiere wurden 25 Stunden lang beobachtet und getestet. Die Ergebnisse sind in [Fig. 19](#) wiedergegeben. Die SX-Formulierungen enthalten Serevent<sup>TM</sup>, eine im Handel erhältliche Form von Salmeterol. Die Salmeterol enthaltenden AIR-Teilchen (F-1-Reihen in den Tabellen 10 und 11) lassen sich vorteilig mit den Serevent enthaltenden Formulierungen (SX1 (0,5) und SX2 (1,0) in Tabelle 11) vergleichen, wenn sie mit AIR-Teilchen ohne Salmeterol (manchmal auch als Blindwert- oder Placeboteilchen bezeichnet) vermischt wurden. Im Allgemeinen zeigten die F-1-Formulierungen weniger Luftwegwiderstand als die SX-Formulierungen. Ferner zeigten alle F-1-Formulierungen weniger Luftwegwiderstand als SX-1 (0,5). Beginnend ab etwa 10 Stunden nach der Verabreichung zeigten alle F-1-Formulierungen einen signifikanten und anhaltenden geringen Luftwegwiderstand im Vergleich mit entweder SX-1 oder SX-2.

Beispiel 14

**[0237]** In einem anderen Experiment wurden nach den Verfahrensweisen des Beispiels 12 den Tieren die in Tabelle 11 beschriebenen Formulierungen F-2 (0,5), F-2 (1,0), F-2 (2,0), SX-1 (0,5) und SX-2 (1,0) verabreicht. Die F-2-Reihen der Formulierungen enthalten Salmeterol, DPPC, DPPE, Natriumcitrat und Lactose. Mit Hilfe der Fließparameter wurde PenH (längere Pause oder Messung des Luftwegwiderstandes) berechnet und für jedes Tier notiert. Die Tiere wurden 25 Stunden lang beobachtet und getestet. Die Ergebnisse sind in [Fig. 20](#) wiedergegeben. Die SX-Formulierungen enthalten Serevent, die im Handel erhältliche Form von Salmeterol. Die

Salmeterol enthaltenden AIR-Teilchen (F-2-Reihen in den Tabellen 10 und 11) lassen sich vorteilig mit den Serevent enthaltenden Formulierungen (SX1 (0,5) und SX2 (1,0) in Tabelle 11) vergleichen, wenn sie mit AIR-Teilchen ohne Salmeterol (manchmal auch als Blindwert- oder Placeboteilchen bezeichnet) vermischt wurden. Die F-2-Formulierungen zeigten im Allgemeinen weniger Luftwegwiderstand als die SX-Formulierungen. Ebenso zeigten alle F-2-Formulierungen ständig weniger Luftwegwiderstand als SX-1 (0,5).

#### Beispiel 15

**[0238]** In einem anderen Experiment wurde den obigen Verfahrensweisen gefolgt. Den Tieren wurden die in Tabelle 11 beschriebenen Formulierungen F-1 (0,5), F-1 (1,0), F-1 (2,0), Serevent 1 (0,5) und Serevent (1,0) verabreicht. Die Ergebnisse des Vergleichs der Serevent-Formulierungen mit den F-1-Reihen (Daten nicht gezeigt) stimmten mit den Ergebnissen überein, wenn die SX-Formulierungen mit den F-1-Reihen verglichen wurden. Wichtig ist, dass die Ergebnisse zeigen, dass die AIR-Teilchen (Blindwerte oder Placebos) bei Verwendung als Trägerteilchen gleich gut oder noch besser als Lactose wirken. Lactose ist ein von der FDA zugelassener im Handel erhältlicher Träger. Lactose kann jedoch nicht in die tiefe Lunge gelangen. Wie in Beispiel 3 gezeigt, erreichen AIR-Teilchen die tiefe Lunge und sind in der Lage, den gewünschten Wirkstoff, so wie in diesem Experiment das Salmeterol, an den Ort der Ablagerung des Wirkstoffs zu eskortieren oder zu begleiten

#### Beispiel 16

**[0239]** In einem anderen Experiment wurde den obigen Verfahrensweisen gefolgt. Den Tieren wurden die in Tabelle 11 beschriebenen Formulierungen F-2 (0,5), F-2 (1,0), F-2 (2,0), Serevent 1 (0,5) und Serevent (1,0) verabreicht. Erneut stimmten die Ergebnisse des Vergleichs der Serevent-Formulierungen mit den F-2-Reihen (Daten nicht gezeigt) mit den Ergebnissen überein, wenn die SX-Formulierungen mit den F-2-Reihen verglichen wurden. Diese Ergebnisse stützen die im obigen Beispiel 15 beschriebenen Schlussfolgerungen.

### Patentansprüche

1. Verwendung eines Agens zur Herstellung von Teilchen, die dieses Agens in einem Behälter zur Verwendung bei der Abgabe an das pulmonale System in einem einzelnen, atemaktivierten Schritt umfassen, wobei bei diesem atemaktivierten Schritt

- i) wenigstens 50% der Masse dieser in dem Behälter untergebrachten Teilchen an das pulmonale System des Subjektes verabreicht wird;
- ii) wenigstens 5 Milligramm der Teilchen an das pulmonale System des Subjektes verabreicht werden; und
- iii) diese Teilchen eine Schüttdichte (tap density) von weniger als  $0,4 \text{ g/cm}^3$  und einen massenmittleren aerodynamischen Durchmesser zwischen  $1\text{-}5 \mu\text{m}$  aufweisen.

2. Verwendung von Anspruch 1, wobei

- (a) die Teilchen eine Schüttdichte von weniger als etwa  $0,1 \text{ g/cm}^3$  aufweisen; oder
- (b) die Teilchen einen geometrischen Durchmesser größer als  $5 \mu\text{m}$  haben.

3. Verwendung von Anspruch 1, wobei entweder

- (a) die Verabreichung primär tief in die Lunge erfolgt; oder
- (b) die Verabreichung primär an die zentralen Atemwege erfolgt.

4. Verwendung von Anspruch 1, wobei das Agens entweder

- (a) ein bioaktives Agens ist; und gegebenenfalls entweder das bioaktive Agens aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus Albuterolsulfat, Insulin, Wachstumshormon, Ipratropiumbromid, Fluticasone, Salmeterol und L-Dopa besteht; oder das bioaktive Agens aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus einem hydrophoben Arzneimittel und einem hydrophilen Arzneimittel besteht; oder
- (b) aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus einem therapeutischen Agens, einem prophylaktischen Agens, einem diagnostischen Agens und einem prognostischen Agens besteht.

5. Verwendung von Anspruch 1, wobei die Verabreichung an den respiratorischen Trakt durch einen Trockenpulverinhalator erfolgt.

6. Verwendung von Anspruch 1, wobei die Teilchen

- (a) sprühgetrocknete Teilchen sind;
- (b) wenigstens 7 Milligramm von dem Agens abgeben; oder

(c) wenigstens 10 Milligramm von dem Agens abgeben.

Es folgen 21 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

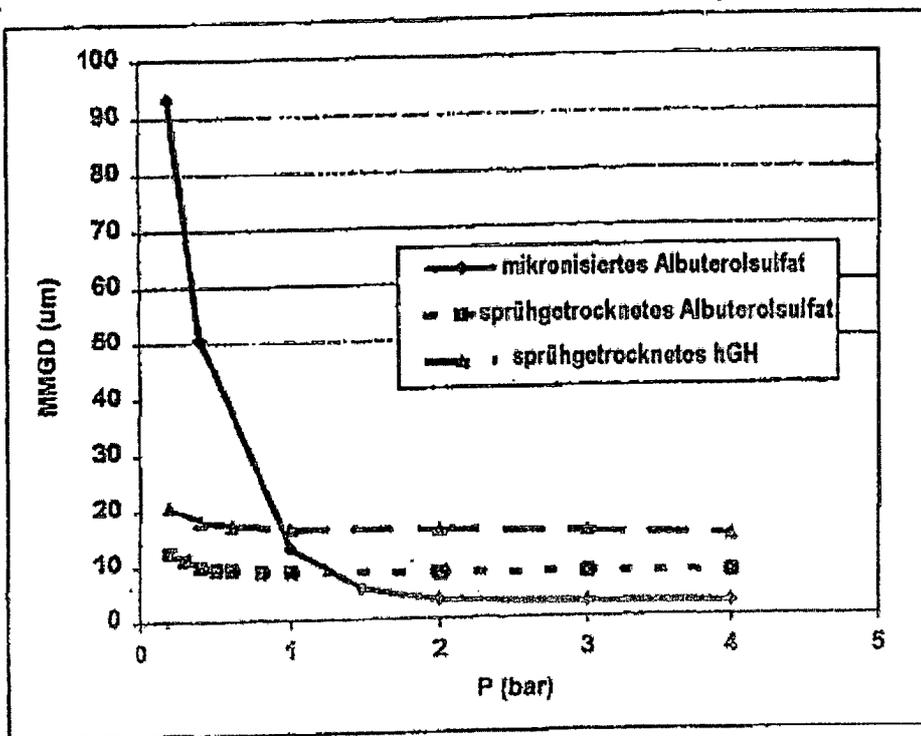


FIG. 1

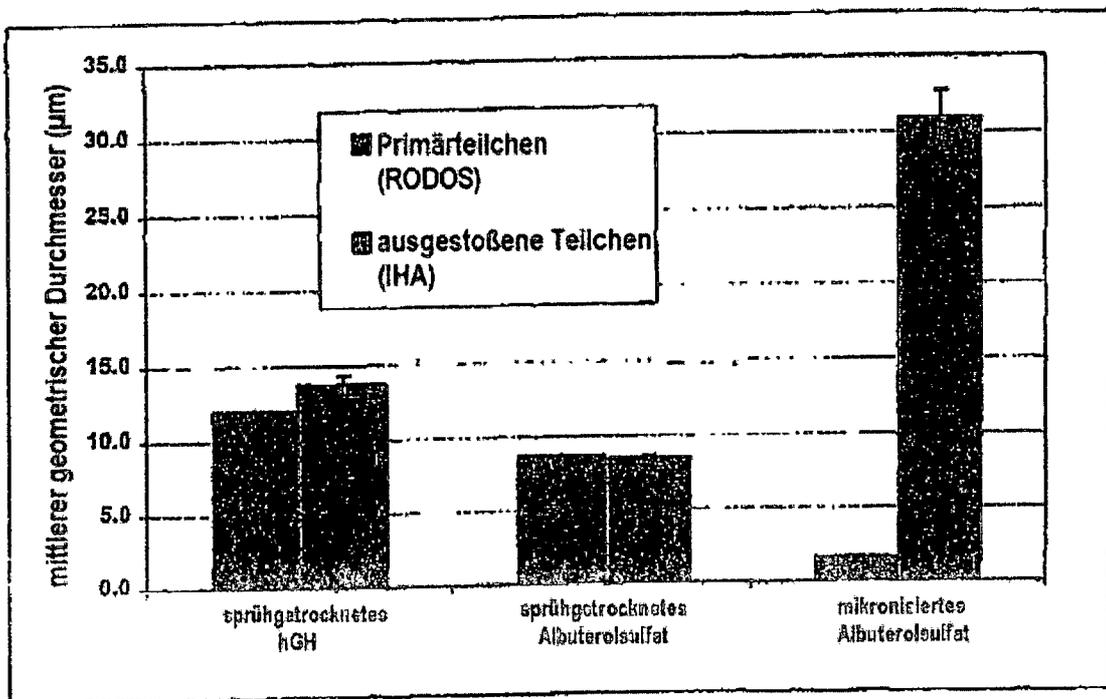


FIG. 2A

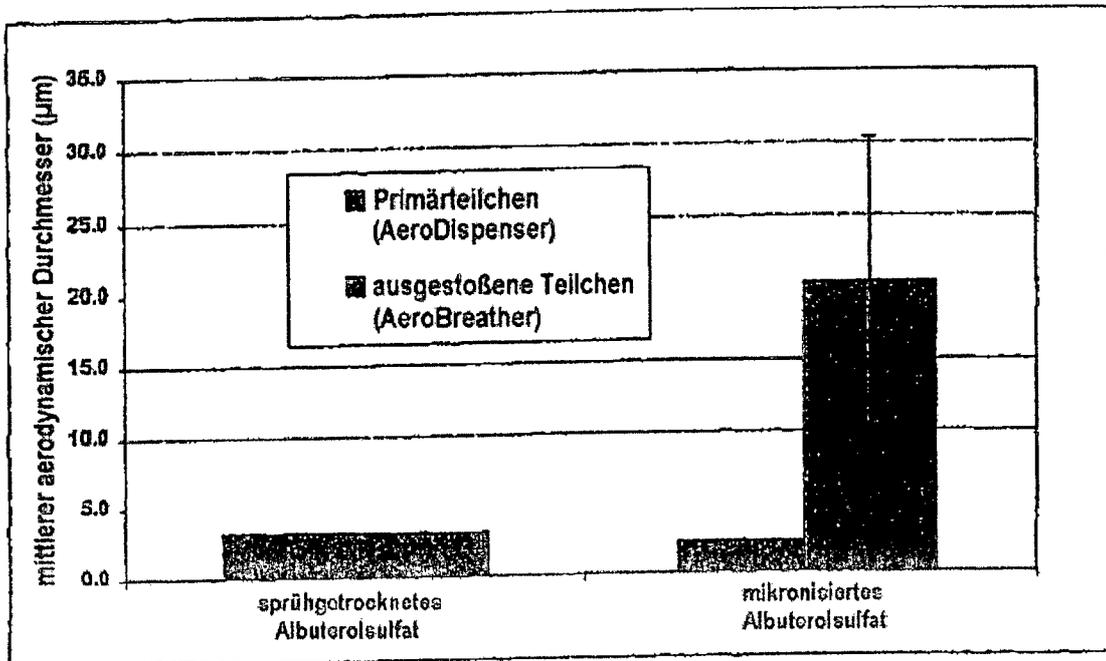


FIG. 2B

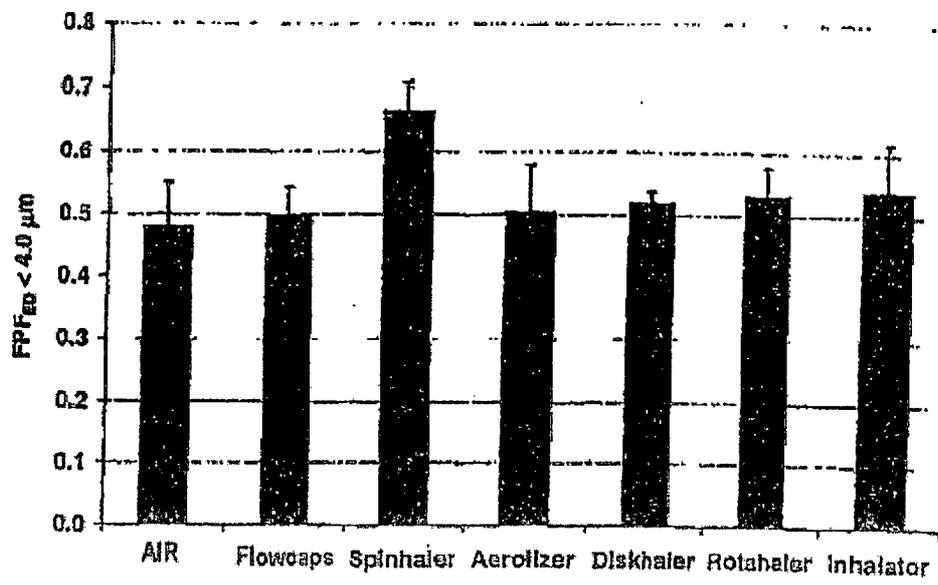


FIG. 3

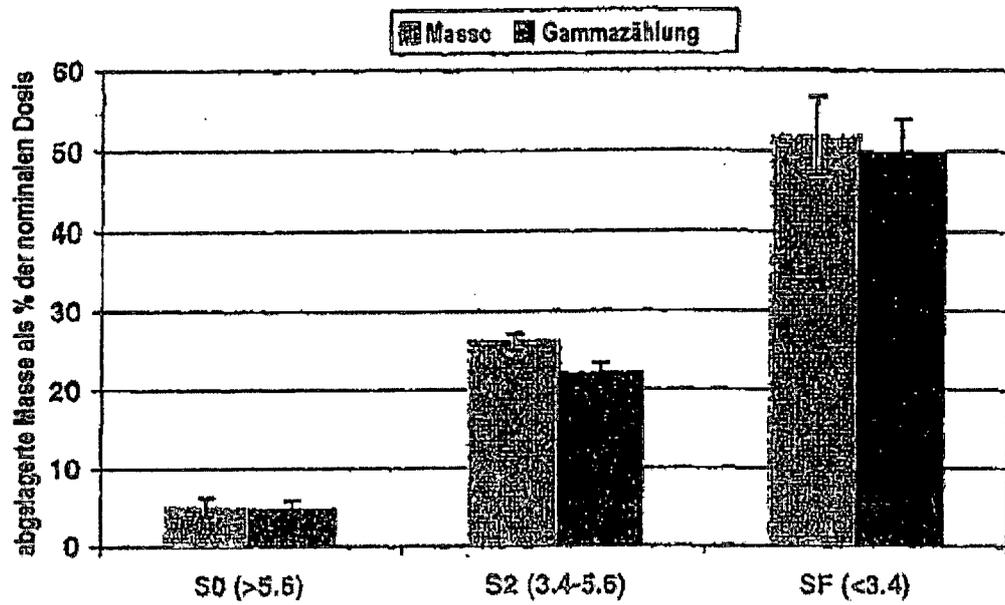


FIG. 4

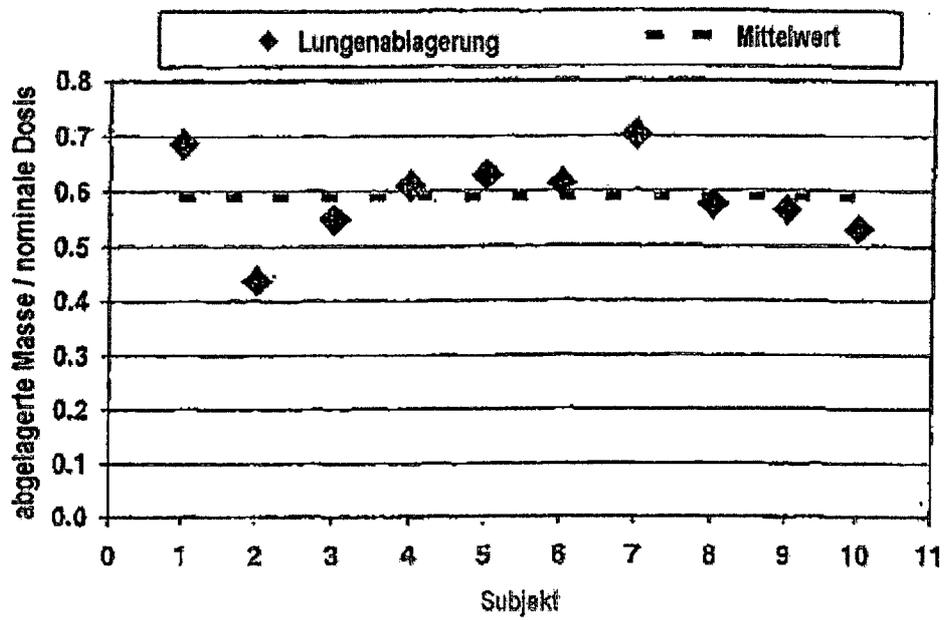


FIG. 5

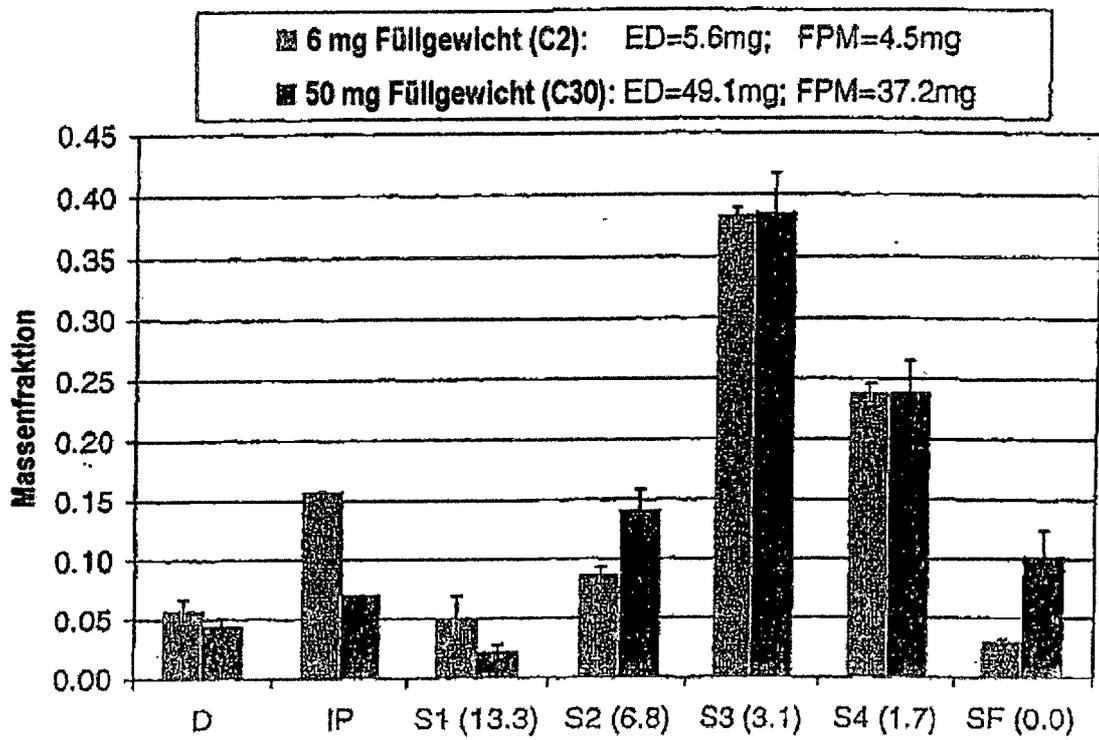


FIG. 6

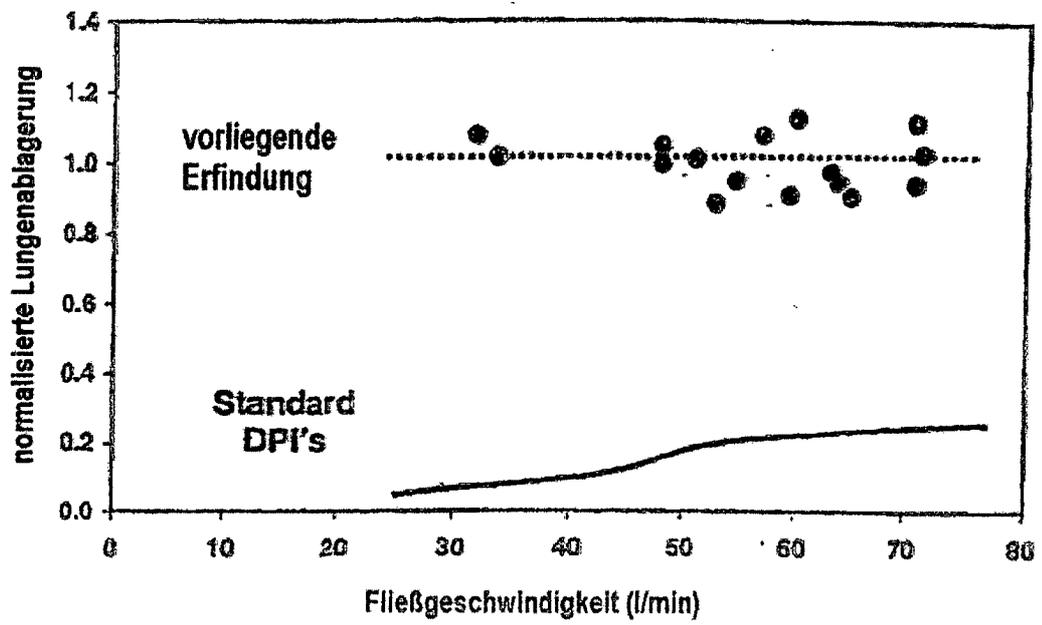


FIG. 7

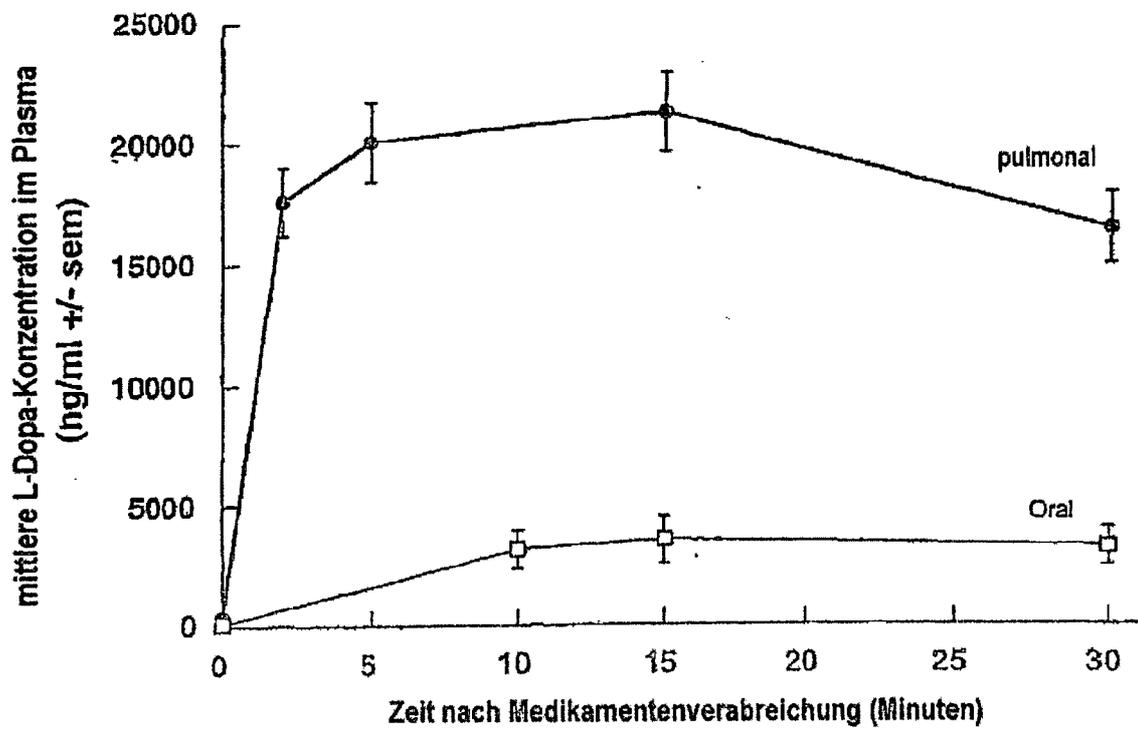


FIG. 8

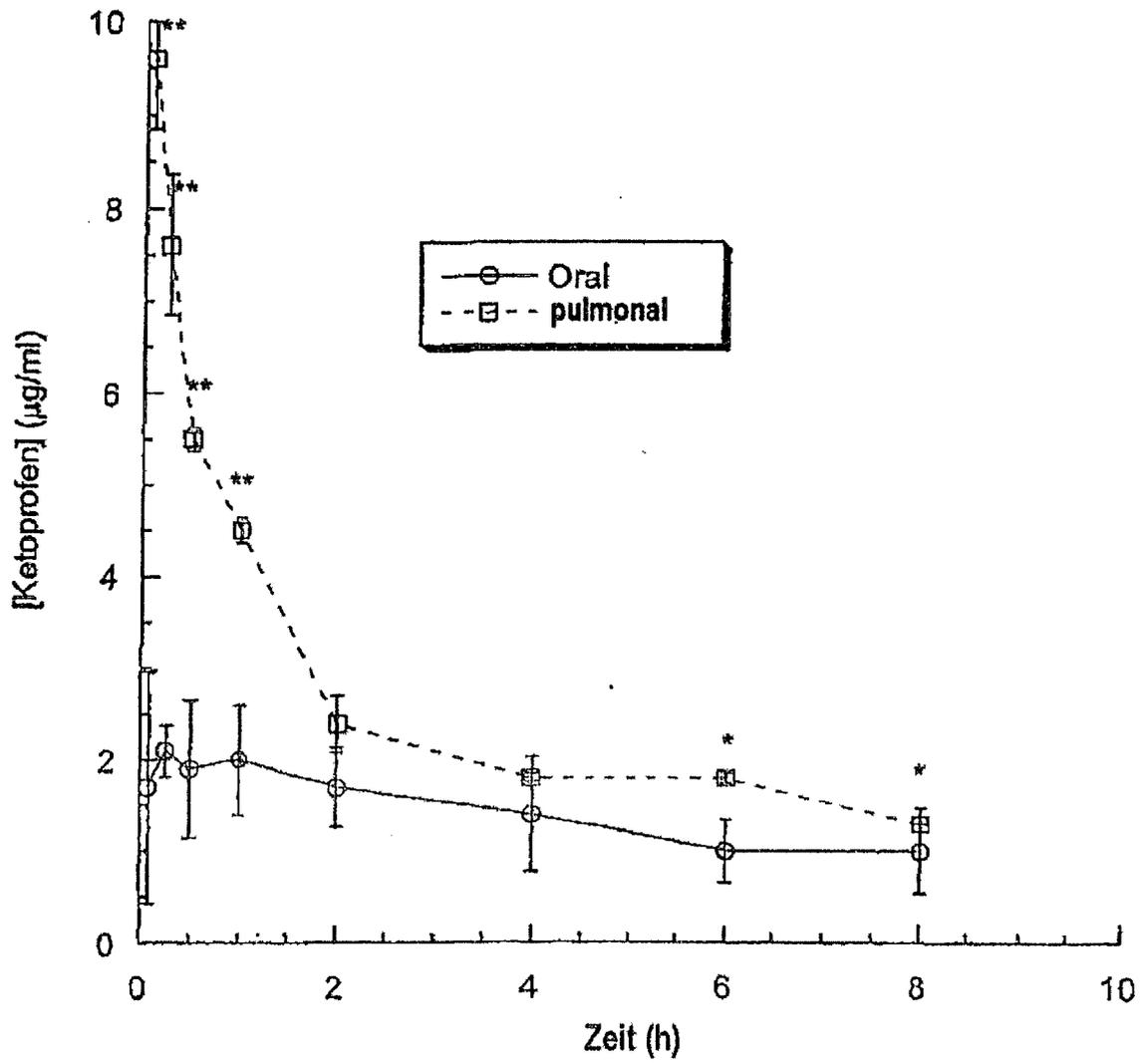


FIG. 9

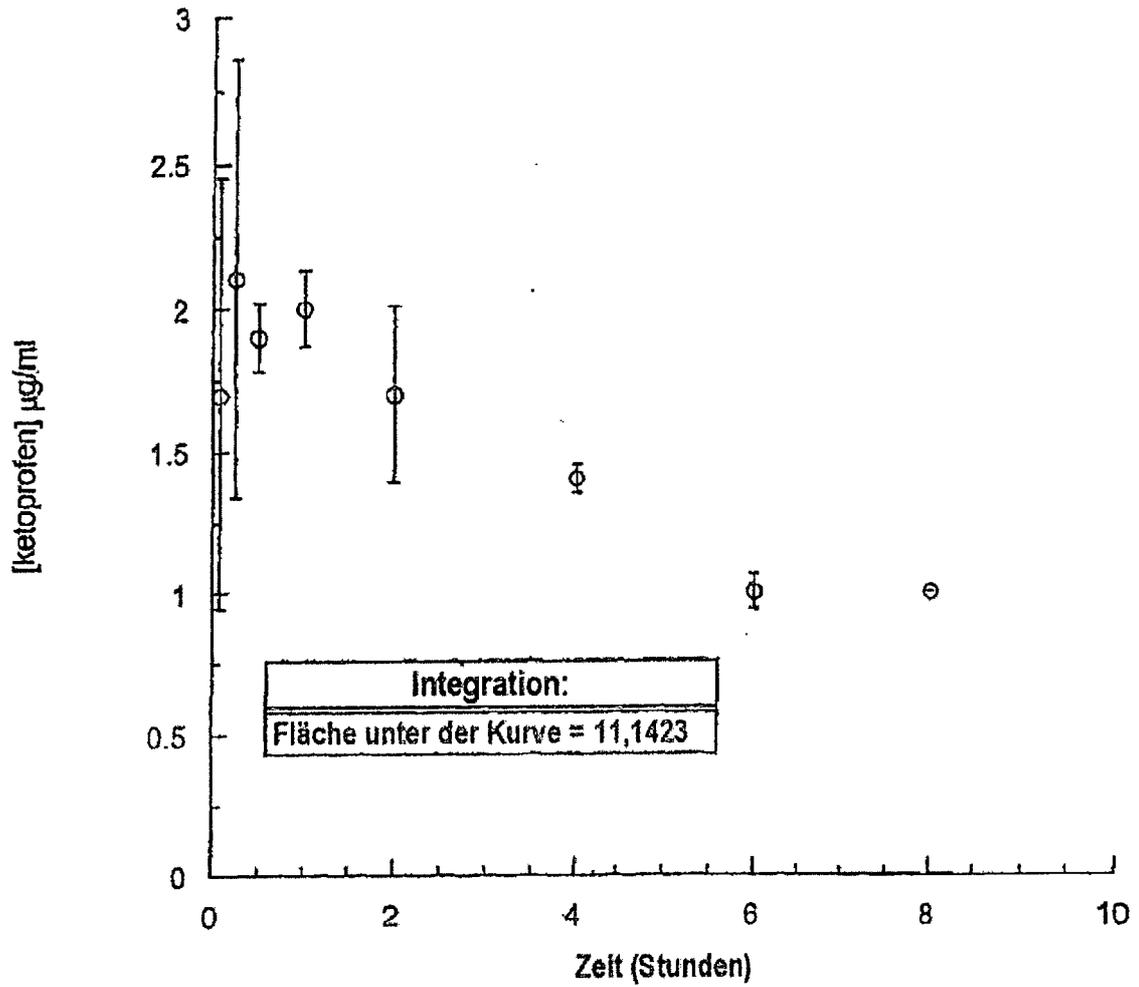


FIG. 10

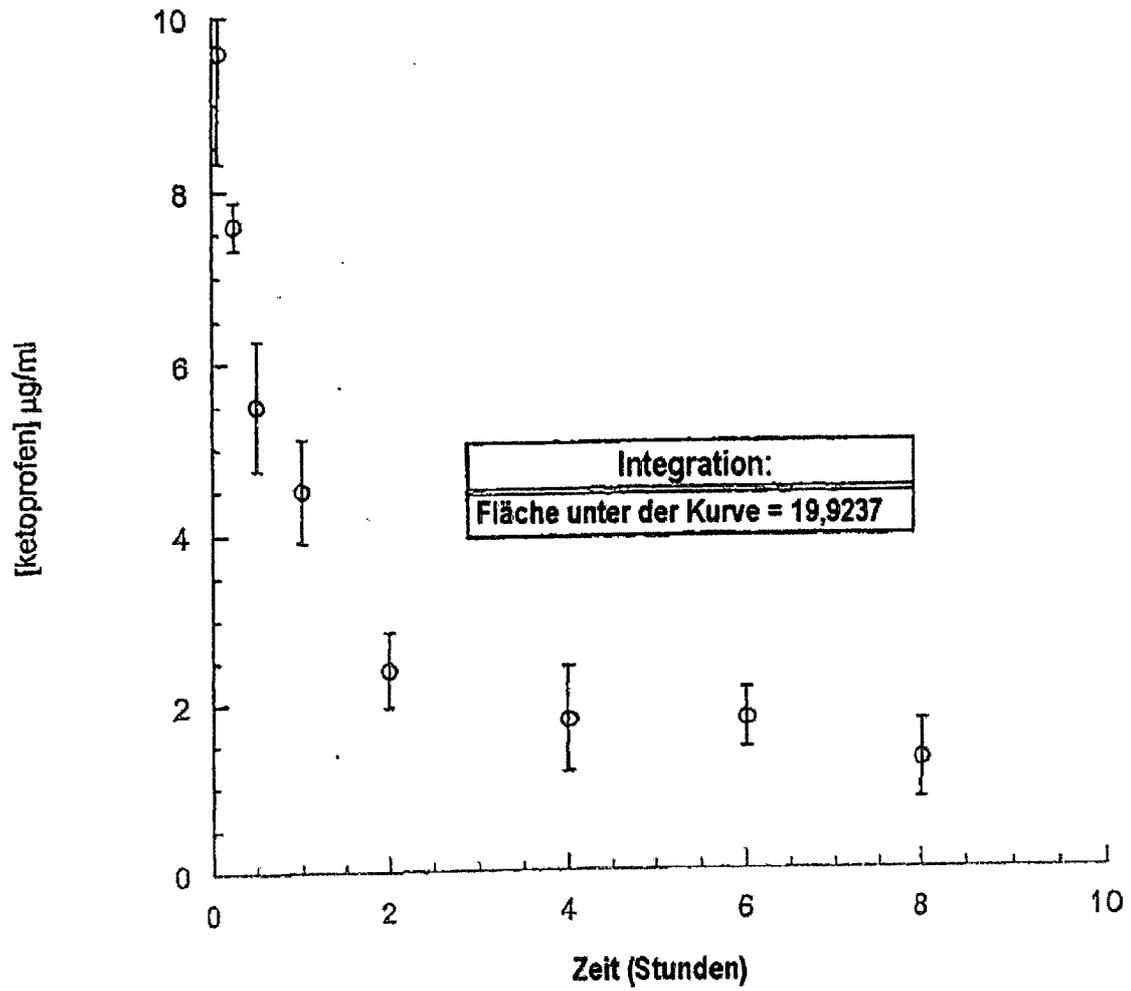


FIG. 11

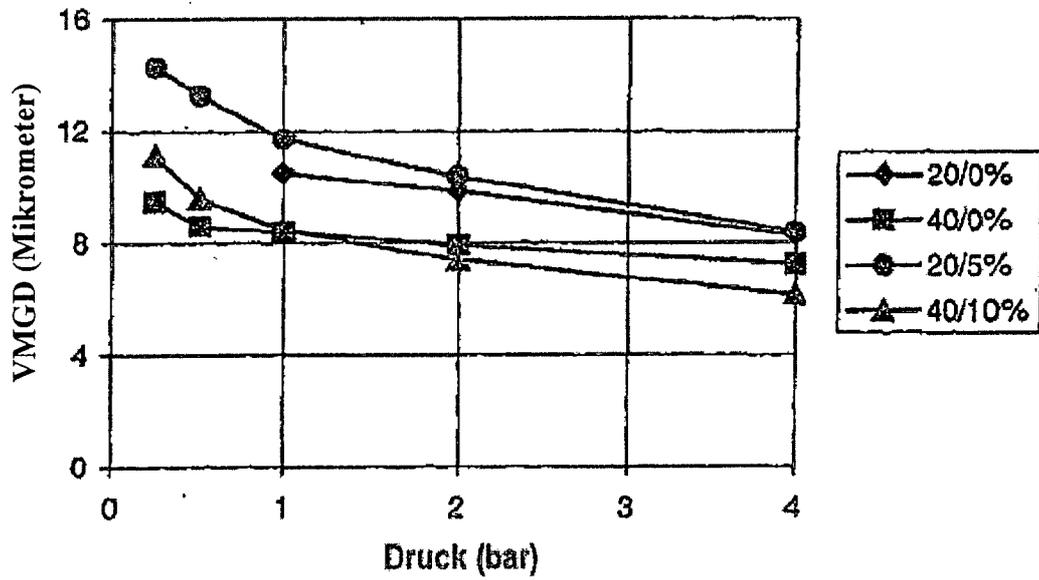


FIG. 12

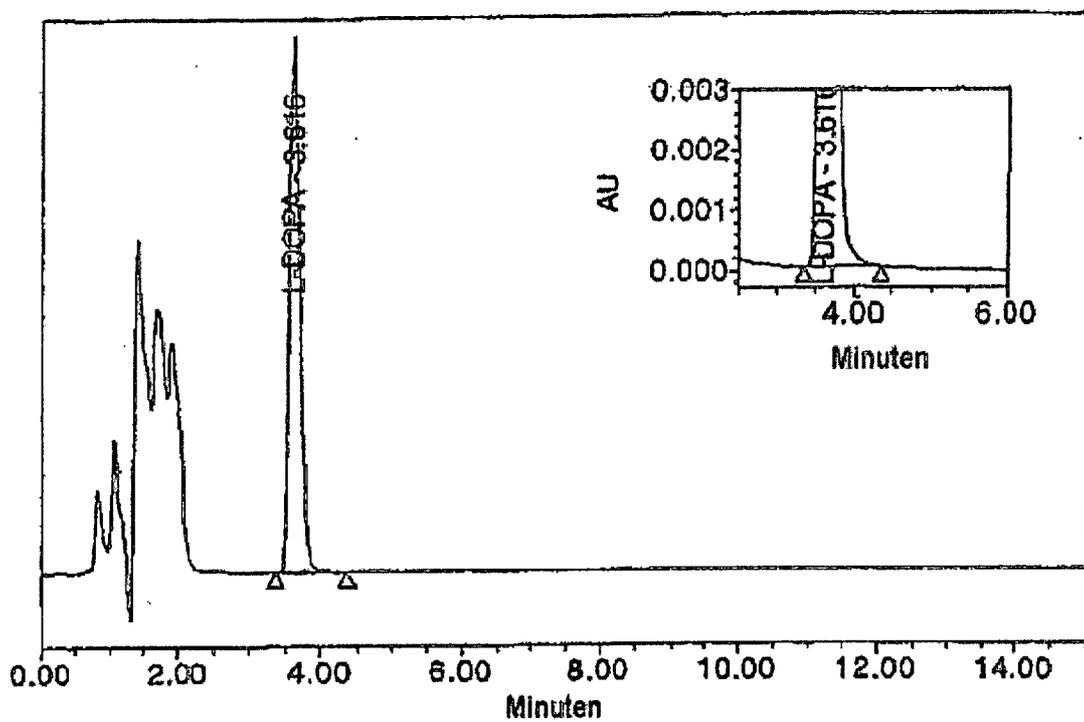


FIG. 13A

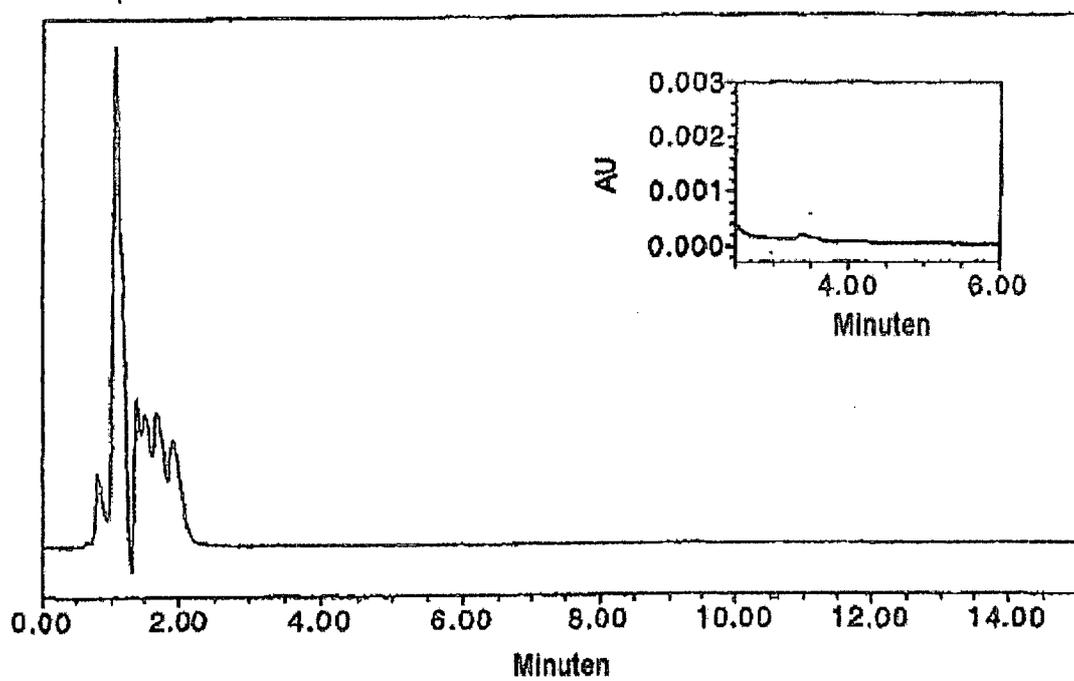


FIG. 13B

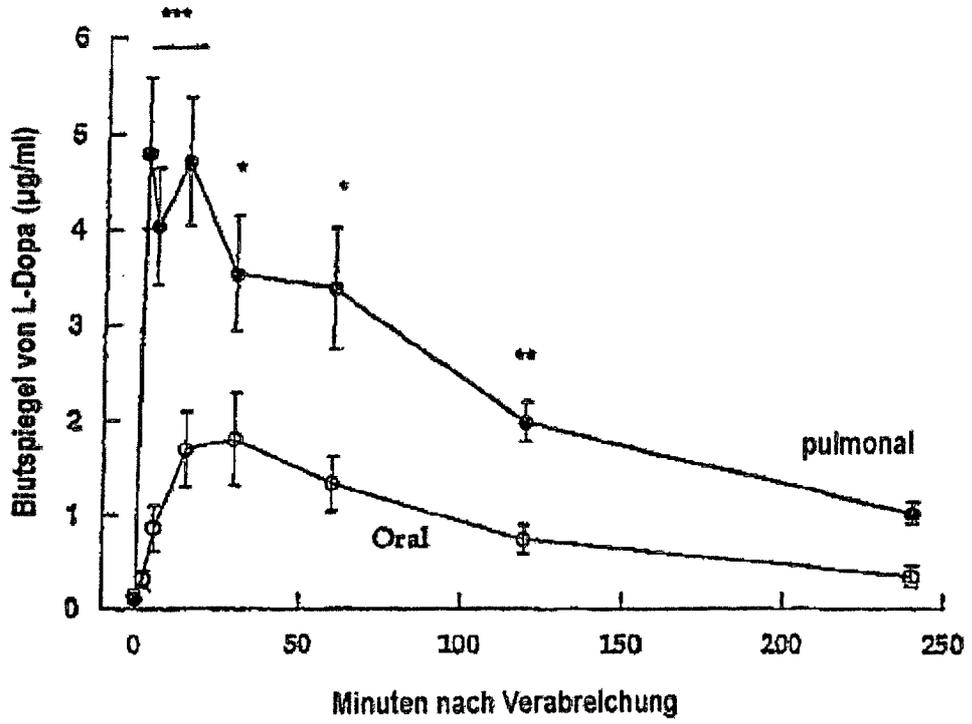


FIG. 14A

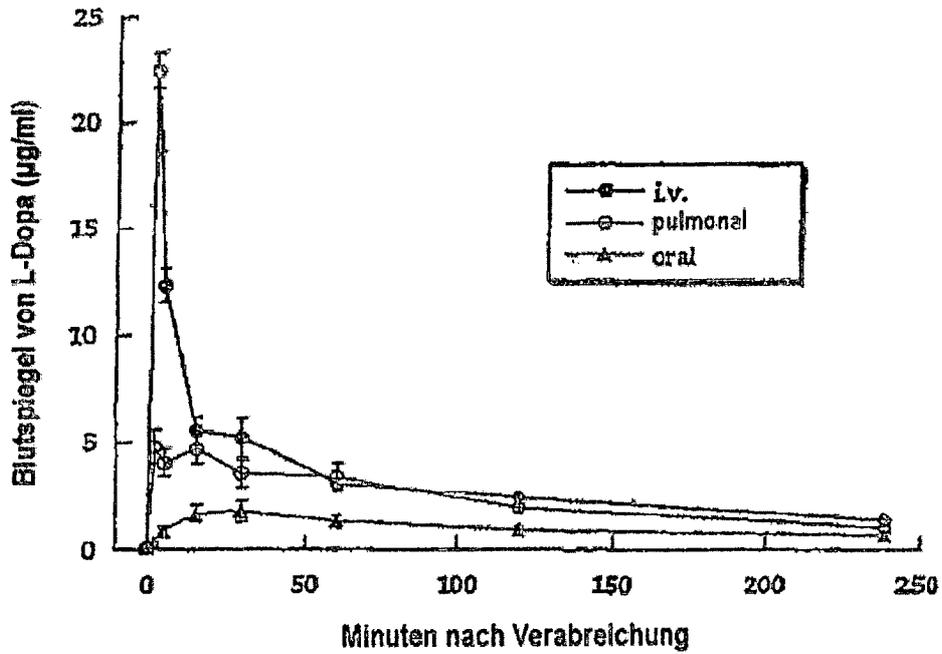


FIG. 14B

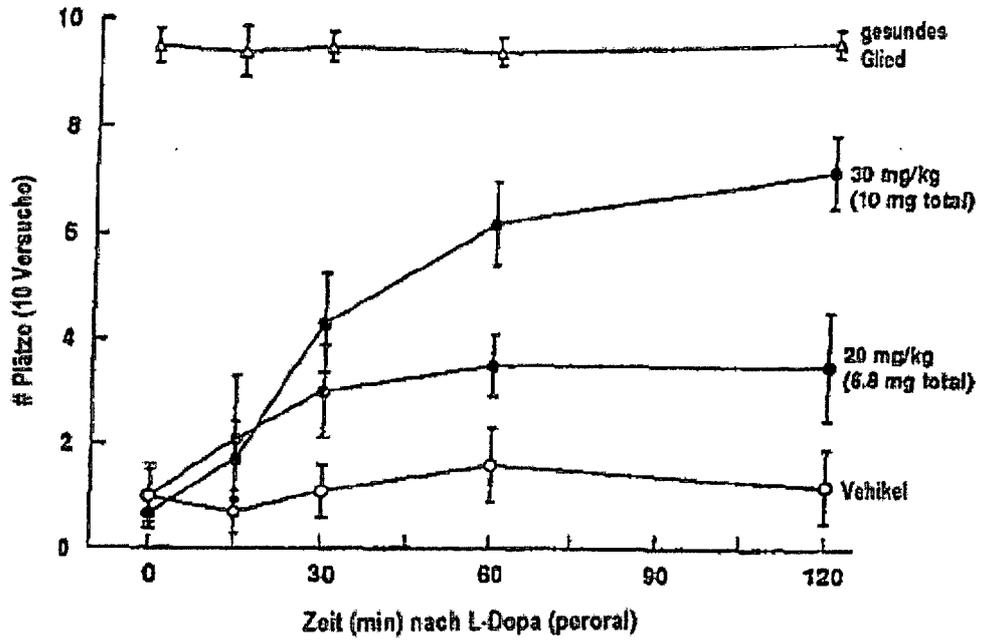


FIG. 15A

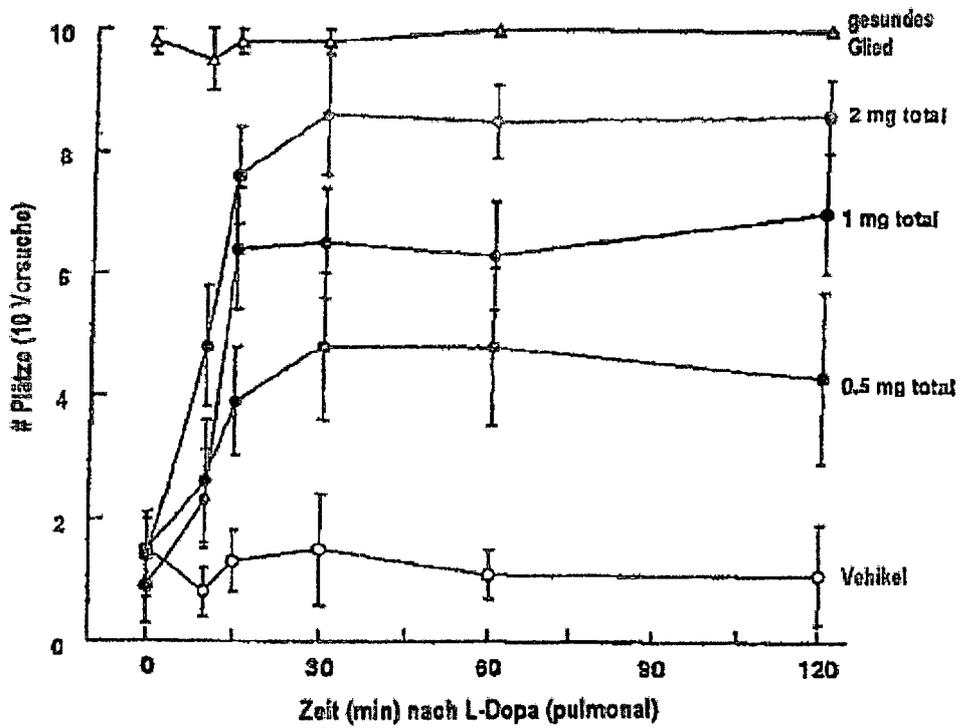


FIG. 15B

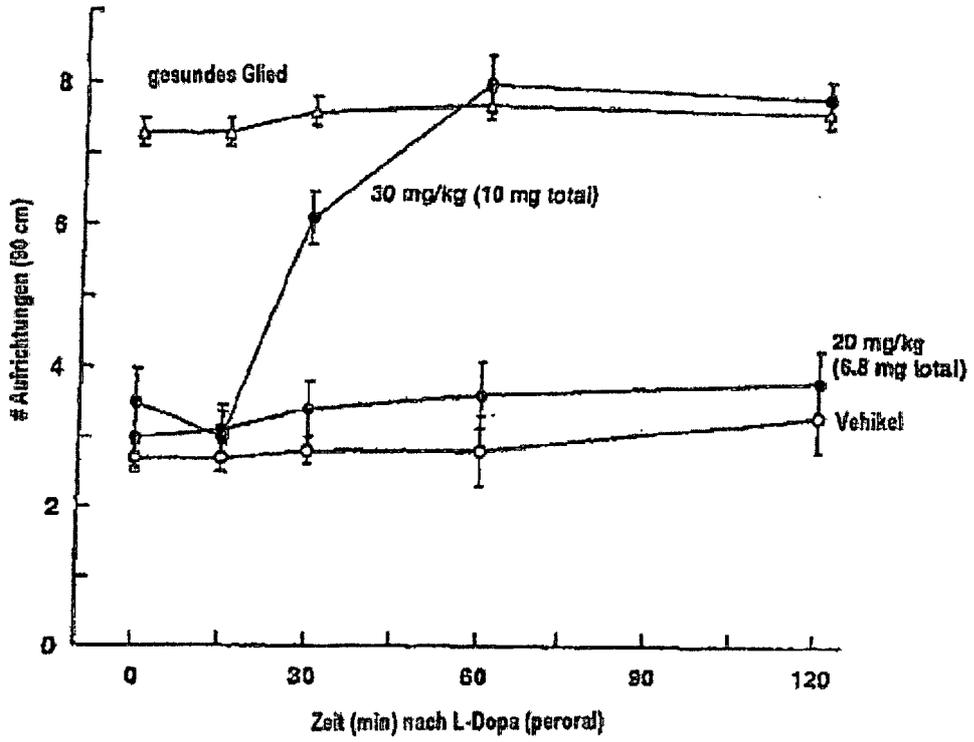


FIG. 16A

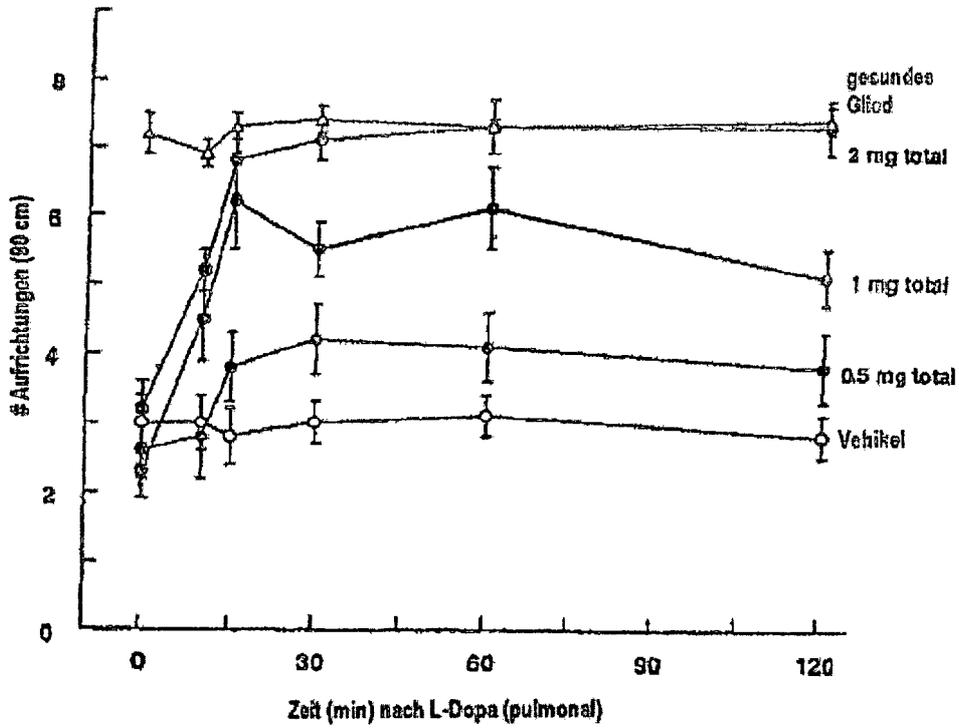


FIG. 16B

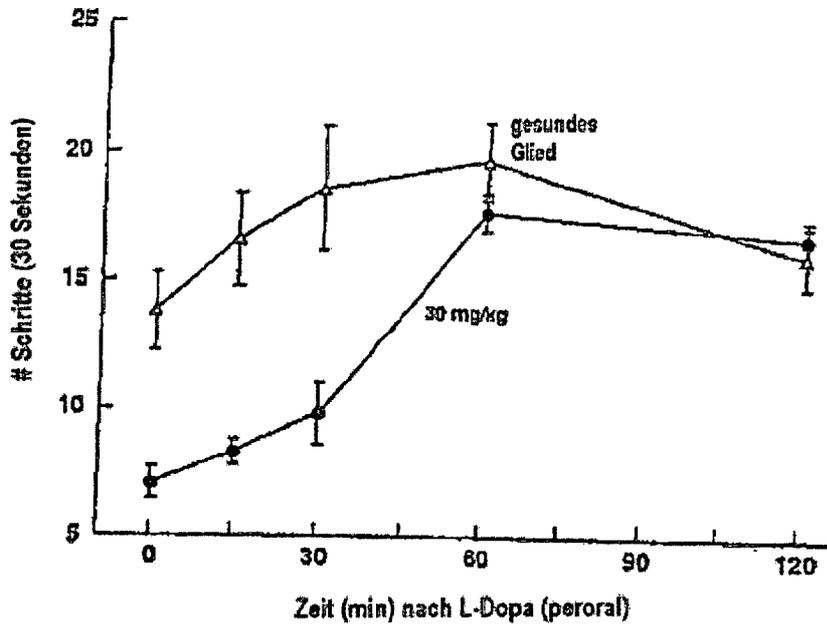


FIG. 17A

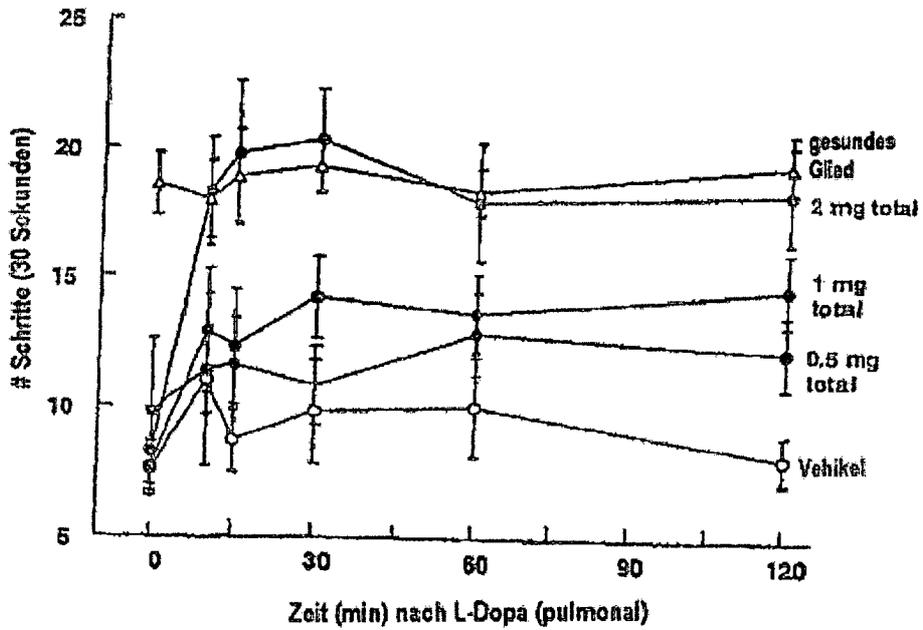


FIG. 17B

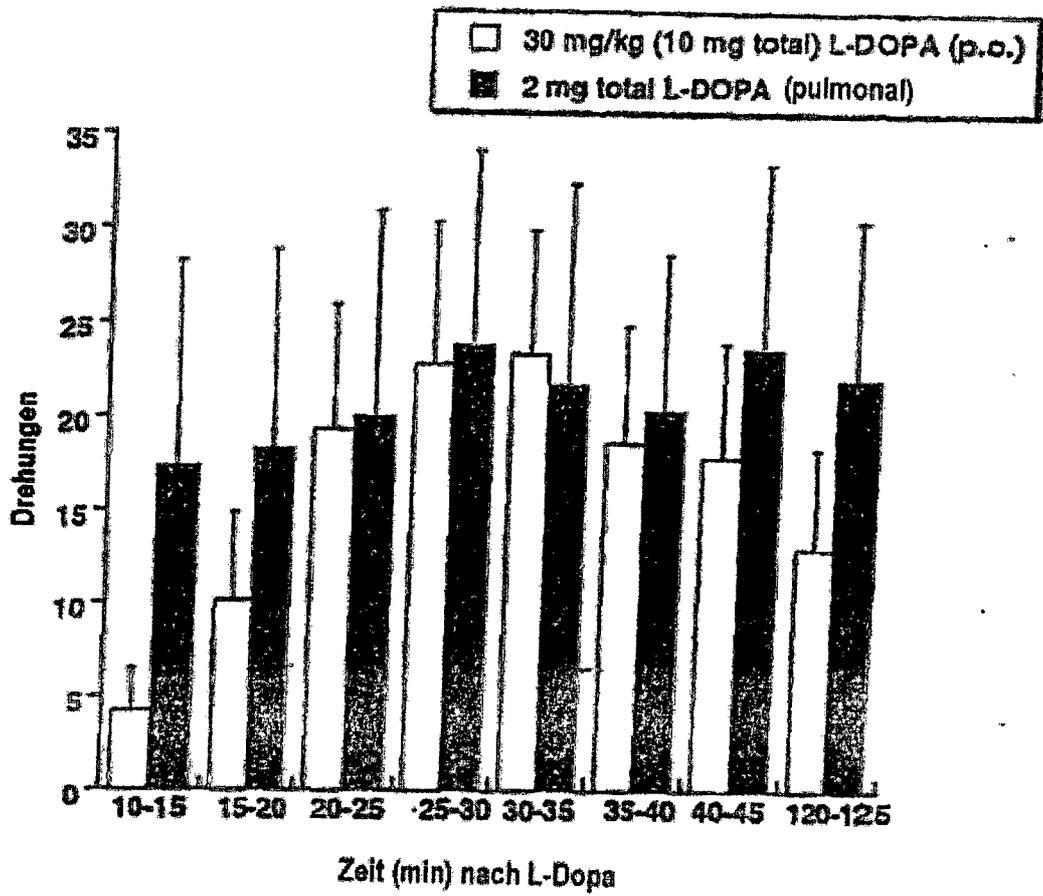


FIG. 18

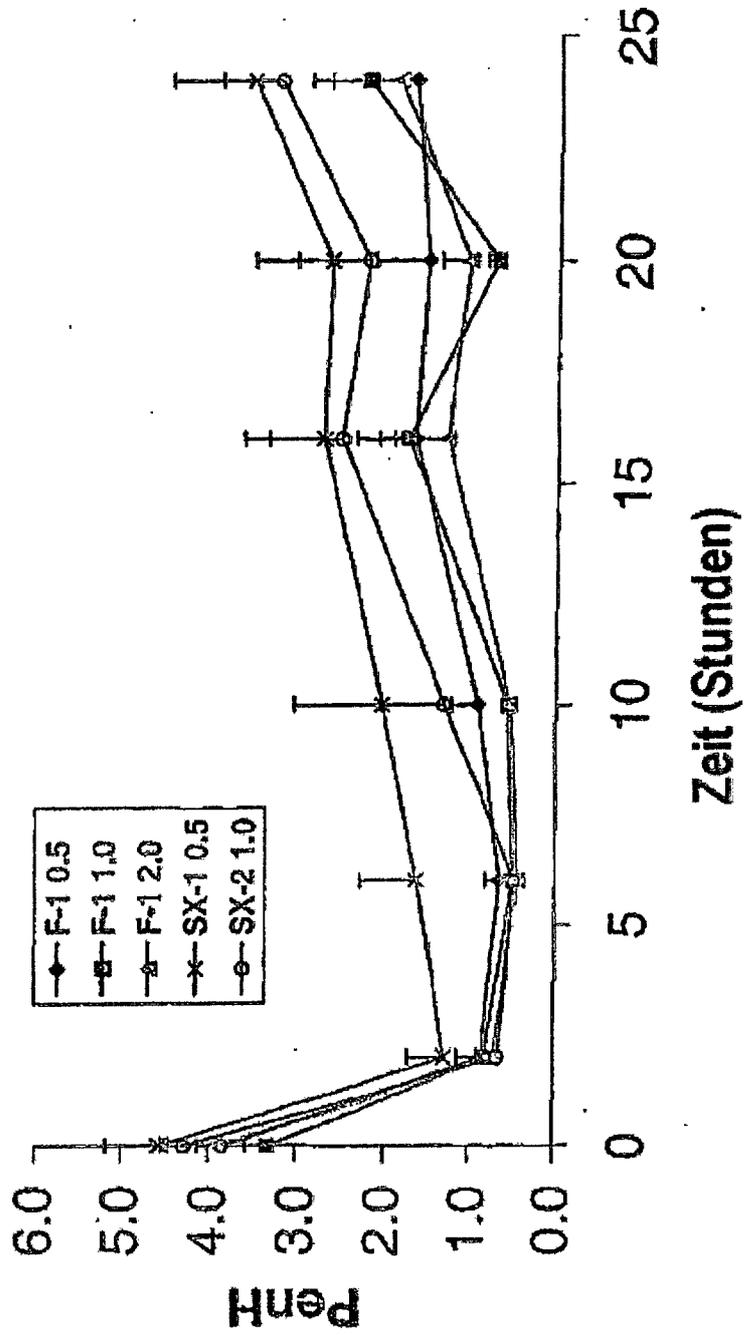


FIG. 19

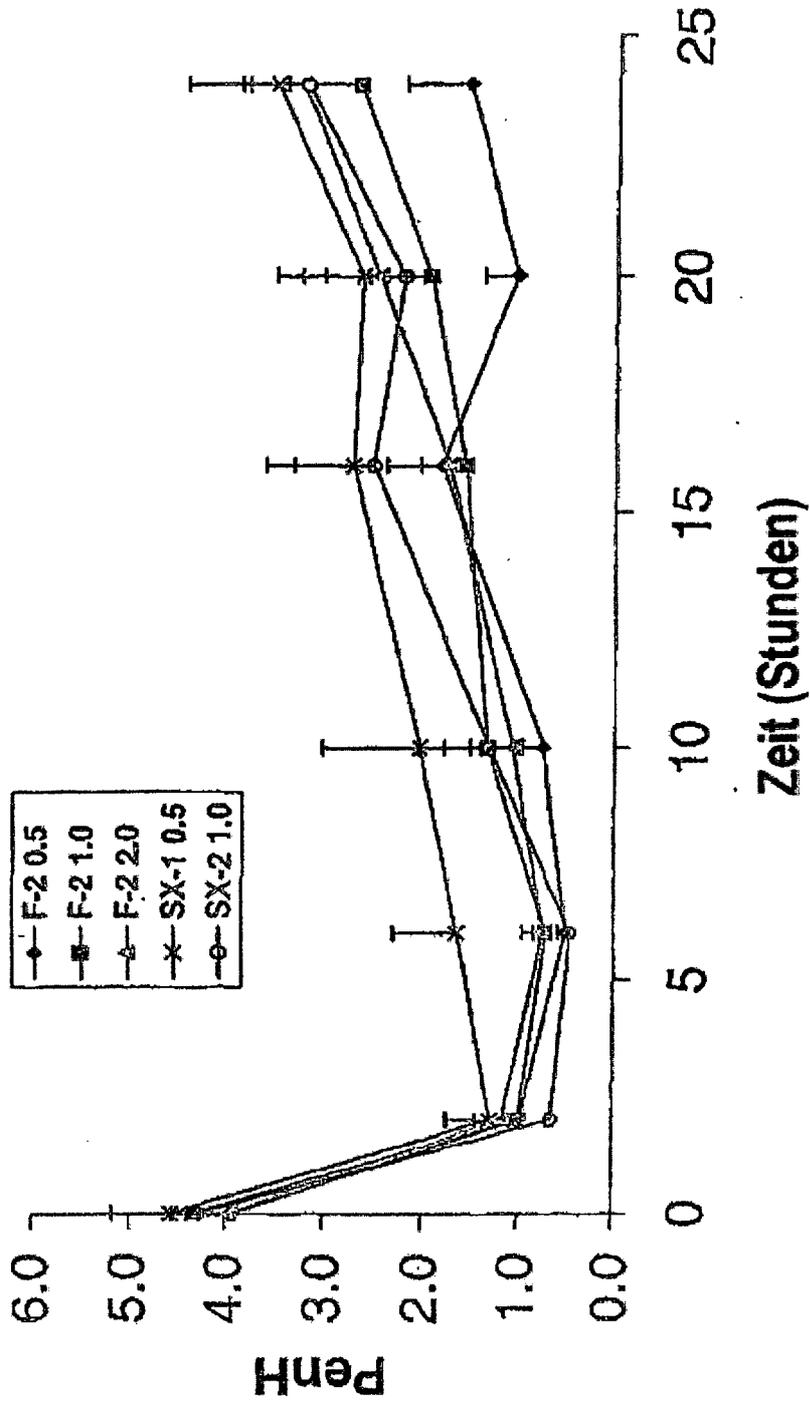


FIG. 20