

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6360039号
(P6360039)

(45) 発行日 平成30年7月18日 (2018. 7. 18)

(24) 登録日 平成30年6月29日 (2018. 6. 29)

(51) Int. Cl.	F 1
A 6 1 K 9/16 (2006. 01)	A 6 1 K 9/16
A 6 1 K 47/10 (2006. 01)	A 6 1 K 47/10
A 6 1 K 47/60 (2017. 01)	A 6 1 K 47/60

請求項の数 24 (全 88 頁)

(21) 出願番号	特願2015-510480 (P2015-510480)	(73) 特許権者	515224511
(86) (22) 出願日	平成25年5月3日 (2013. 5. 3)		カラ ファーマシューティカルズ インコ
(65) 公表番号	特表2015-519330 (P2015-519330A)		ーポレイテッド
(43) 公表日	平成27年7月9日 (2015. 7. 9)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/039467		2 4 5 2 ウォーザン ビーバー ストリ
(87) 国際公開番号	W02013/166385		ート 1 0 0 スイート 2 0 1
(87) 国際公開日	平成25年11月7日 (2013. 11. 7)	(73) 特許権者	592128319
審査請求日	平成28年4月13日 (2016. 4. 13)		ザ・ジョンズ・ホプキンス・ユニバーシテ
(31) 優先権主張番号	61/642, 227		ィ
(32) 優先日	平成24年5月3日 (2012. 5. 3)		アメリカ合衆国メリーランド州2 1 2 0 1
(33) 優先権主張国	米国 (US)		, ボルチモア, ノース・チャールズ・スト
			リート 1 0 0, フィフス・フロア
		(74) 代理人	100095407
			弁理士 木村 満

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 複数の被覆された粒子を含む組成物、医薬組成物、医薬製剤、及び当該粒子の形成方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

複数の被覆された粒子を含む組成物であって、前記被覆された粒子が、
 固体の医薬品またはその塩を含む芯粒子であって、前記医薬品またはその塩が pH 範囲
 の間の任意の箇所で 2 5 で約 1 m g / m L 以下の水溶性を有し、前記医薬品またはその
 塩が前記芯粒子の少なくとも約 8 0 重量%を構成する、芯粒子；及び

前記芯粒子を取り囲む表面改変剤を含むコーティングであって、前記表面改変剤が、親
 水性ブロック - 疎水性ブロック - 親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを
 含み、前記疎水性ブロックが、ポリ（プロピレンオキシド）であり、且つ、少なくとも約
 2 k D a の分子量を有し、前記親水性ブロックが、ポリ（エチレンオキシド）又はポリ（
 エチレングリコール）を含み、且つ、前記トリブロックコポリマーの少なくとも約 1 5 重
 量%を構成し、前記疎水性ブロックが前記芯粒子の表面と会合し、前記親水性ブロックが
 前記被覆された粒子の表面に存在し、前記被覆された粒子を親水性にし、前記表面改変剤
 が前記芯粒子の表面上に少なくとも約 0 . 0 0 1 分子 / n m ² の密度で存在する、コーテ
 イング、

を含み、前記被覆された粒子が、粘液中で 0 . 5 を超える相対速度と、少なくとも約 5
 0 n m かつ約 5 0 0 n m 以下の平均サイズとを有する、組成物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の組成物を吸入、注射、又は局所投与により対象に投与することによる
 粘液バリアを越えた医薬品の送達に使用するための、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

被覆された粒子を形成する方法であって、

芯粒子を、表面改変剤を含む溶液と組み合わせる工程、ここで前記芯粒子は、25 の溶液中で約 1 mg / mL 以下の溶解性を有し、芯粒子のそれぞれの少なくとも約 80 重量%を構成する固形の医薬品またはその塩を含む；

前記芯粒子を表面改変剤で被覆して、被覆された粒子を形成する工程、ここで前記表面改変剤は、親水性ブロック - 疎水性ブロック - 親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、前記疎水性ブロックが、ポリ(プロピレンオキシド)であり、且つ、少なくとも約 2 kDa の分子量を有し、前記親水性ブロックが、ポリ(エチレンオキシド)又はポリ(エチレングリコール)を含み、且つ、トリブロックコポリマーの少なくとも約 15 重量%を構成し、前記疎水性ブロックが、芯粒子の表面と会合し、前記親水性ブロックが、被覆された粒子の表面に存在し、被覆された粒子を親水性にし、被覆された粒子が、粘液中で 0.5 を超える相対速度と、少なくとも約 50 nm かつ約 500 nm 以下の平均サイズとを有する；

を含む、方法。

【請求項 4】

表面改変剤が、芯粒子に共有結合で結合している、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

表面改変剤が、芯粒子に非共有結合で吸着している、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

表面改変剤が、被覆された粒子の表面上に、1 平方ナノメートルにつき、少なくとも約 0.01 分子の密度で存在する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】

トリブロックコポリマーの親水性ブロックが、トリブロックコポリマーの少なくとも約 30 重量%を構成する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

トリブロックコポリマーの疎水性ブロックが、少なくとも約 3 kDa の分子量を有する、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

トリブロックコポリマーの親水性ブロックが、ポリ(エチレンオキシド)もしくはポリ(エチレングリコール)、またはこれらの誘導体を含む、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 10】

ポリ(エチレンオキシド)またはポリ(エチレングリコール)ブロックが、少なくとも約 2 kDa の分子量を有する、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

トリブロックコポリマーの疎水性ブロックが、少なくとも約 3 kDa の分子量を有する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 12】

表面改変剤が、溶液中に少なくとも約 0.1 (重量 / 容積) % の濃度で存在する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

芯粒子のそれぞれが、結晶性医薬品またはその塩を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 14】

芯粒子のそれぞれが、非晶性医薬品またはその塩を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 15】

芯粒子のそれぞれが、固体医薬品の塩を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 16】

医薬品が、治療用薬剤または診断用薬剤の少なくとも 1 種である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 17】

医薬品が、小分子、ペプチド、ペプチド模倣体、タンパク質、核酸、または脂質の少なくとも１種である、請求項１に記載の組成物。

【請求項１８】

医薬品またはその塩が、２５で約０．１ｍｇ／ｍＬ以下の水溶性を有する、請求項１に記載の組成物。

【請求項１９】

医薬品が、芯粒子の少なくとも約８５重量％を構成する、請求項１に記載の組成物。

【請求項２０】

被覆された粒子が、ヒト子宮頸腔粘液中を、１秒の時間尺度で、粒子が水中を拡散する拡散係数の１／５００を超える拡散係数で拡散する、請求項１に記載の組成物。

10

【請求項２１】

被覆された粒子が、粘液中で０．８を超える相対速度を有する、請求項１に記載の組成物。

【請求項２２】

粘液がヒト頸腔部粘液である、請求項１に記載の組成物。

【請求項２３】

請求項１に記載の組成物および１種または複数の薬学上許容される担体、添加物、および／または希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項２４】

請求項１に記載の組成物を含む、粘液膜に吸入、注射、または局所投与するのに適した医薬製剤。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願

本出願は、米国特許法第１１９条第（ｅ）項により、参照により本明細書に組み込まれる「Nanocrystals, Compositions, and Methods That Aid Particle Transport in Mucus」と題する２０１２年５月３日に出願の米国特許仮出願第６１／６４２２２７号に基づく優先権を主張する。

30

【０００２】

本発明は、一般に、粘液中での粒子輸送を助けるナノ結晶、組成物、および方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

眼、鼻、肺、消化管、および女性生殖器系をはじめとする種々の身体侵入箇所が存在する粘液層は、本質的に粘着性であり、病原体、アレルゲン、および壊死組織片を効果的に捕捉し、粘液の入れ代わりにより速やかに除去することによって、身体をそれらから保護するのに役立つ。粘液膜を介して治療、診断または造影用粒子を効果的に送達するために、粒子は、粘液への粘着および粘液による急速な排除を回避するために、粘液層に容易に浸透できなければならない。いくつかの系統の証拠が、従来のナノ粒子が粘膜バリアを横断する能力がないことを示唆している。しかし、特殊な表面コーティングで（共有結合または非共有結合により）修飾された（分解性またはそうでない）ポリマー性ナノ粒子は、生理学的に考慮された粘液サンプル中で、それらの粒子が水中に存在する場合とほぼ同じように急速に拡散できることが最近になって立証されている。ポリマーをベースにしたこのような粘液浸透性粒子（ＭＰＰ）は、薬物送達、診断、または造影での適用を可能にするため、種々の治療、造影、または診断用薬剤を封入することができる。

40

それにもかかわらず、ポリマーをベースにしたＭＰＰは、封入されていない医薬品粒子に比較して、いくつかの本質的制約を有する可能性がある。とりわけ、薬物送達での適用を考慮した場合、これらの制約としては、１）薬物装填量が本質的により少ないこと、２

50

）剤形があまり便利でないこと（ポリマー性ナノ粒子の場合、乾燥粉末での貯蔵形態からの再構成が必要とされる可能性があること）、３）毒性増加の可能性があること、４）化学的および物理的安定性に懸念があること、ならびに５）製造時の複雑性が増加すること、を挙げることができる。したがって、粘液浸透性粒子を含む組成物および方法を改善することは、医薬品の送達にとって有益である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００４】

本説明は、一般に、粘液中での粒子輸送を助けるナノ結晶、組成物、および方法に関する。一部の実施形態において、組成物および方法は、ポリマー性担体を全く用いないか、または最小限のポリマー性担体を用いた粘液浸透性粒子（ＭＰＰ）を含む。本出願の主題は、一部の事例で、相互関係のある製品、特定の問題に対する代替解決策、ならびに／あるいは構造物および組成物の複数の異なる使用を含む。

【課題を解決するための手段】

【０００５】

一組の実施形態において、被覆された粒子を形成する方法が提供される。方法は、芯粒子を、表面改変剤を含む溶液と組み合わせることを含み、芯粒子は固体の医薬品またはその塩を含み、医薬品またはその塩は、２５の溶液中で約１ｍｇ／ｍＬ以下の溶解度を有し、医薬品またはその塩は、それぞれの芯粒子の少なくとも約８０重量％を構成する。方法は、また、芯粒子を表面改変剤で被覆して、被覆された粒子を形成することを含み、表面改変剤は、親水性ブロック - 疎水性ブロック - 親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、疎水性ブロックは少なくとも約２ｋＤａの分子量を有し、親水性ブロックはトリブロックコポリマーの少なくとも約１５重量％を構成し、疎水性ブロックは芯粒子の表面と会合し、親水性ブロックは、被覆された粒子の表面に存在し、被覆された粒子を親水性にし、被覆された粒子は粘液中で０．５を超える相対速度を有する。

【０００６】

別の組の実施形態において、複数の被覆された粒子を含む組成物が提供される。被覆された粒子は、固体の医薬品またはその塩を含む芯粒子を備え、医薬品またはその塩は、ｐＨ範囲の間の任意の箇所で、２５で約１ｍｇ／ｍＬ以下の水溶性を有し、医薬品またはその塩は、芯粒子の少なくとも約８０重量％を構成する。被覆された粒子は、また、芯粒子を取り囲む表面改変剤を含むコーティングを備え、表面改変剤は、親水性ブロック - 疎水性ブロック - 親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、疎水性ブロックは少なくとも約２ｋＤａの分子量を有し、親水性ブロックはトリブロックコポリマーの少なくとも約１５重量％を構成し、疎水性ブロックは芯粒子の表面と会合し、親水性ブロックは、被覆された粒子の表面に存在し、被覆された粒子を親水性にし、表面改変剤は、芯粒子の表面上に少なくとも約０．００１分子／ｎｍ²の密度で存在する。被覆された粒子は、粘液中で０．５を超える相対速度を有する。

【０００７】

別の組の実施形態において、被覆された粒子を形成する方法は、医薬品を準備すること、および水性溶液中で表面改変剤の存在下に塩を形成することによって医薬品を沈降させて医薬品からなる芯粒子を形成することを含み、塩は、塩でない形態の医薬品に比べてより小さな水溶性を有し、塩の水溶性は、ｐＨ範囲の間の任意の箇所で、２５で約１ｍｇ／ｍＬ以下であり、表面改変剤は、水性溶液中に少なくとも約０．０１（重量／容積）％の濃度で存在する。方法は、芯粒子を表面改変剤で被覆して、被覆された粒子を形成することを含み、表面改変剤は、親水性ブロック - 疎水性ブロック - 親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、疎水性ブロックは少なくとも約２ｋＤａの分子量を有し、親水性ブロックはトリブロックコポリマーの少なくとも約１５重量％を構成し、疎水性ブロックは芯粒子の表面と会合し、親水性ブロックは、芯粒子の表面に存在し被覆された粒子を親水性にする。被覆された粒子は、粘液中で０．５を超える相対速度を有する。

【 0 0 0 8 】

別の組の実施形態において、治療方法が提供される。方法は、必要とする患者または対象に、複数の被覆された粒子を含む組成物を投与することを含む。被覆された粒子は、固体の医薬品またはその塩を含む芯粒子を備え、医薬品または塩は、pH範囲の間の任意の箇所で、25で約1mg/mL以下の水溶性を有し、医薬品またはその塩は、芯粒子の少なくとも約80重量%を構成する。被覆された粒子は、また、芯粒子を取り囲む表面改変剤を含むコーティングを含み、表面改変剤は、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、疎水性ブロックは少なくとも約2kDaの分子量を有し、親水性ブロックはトリブロックコポリマーの少なくとも約15重量%を構成し、疎水性ブロックは芯粒子の表面と会合し、親水性ブロックは、被覆された粒子の表面に存在し被覆された粒子を親水性にし、表面改変剤は、芯粒子の表面上に少なくとも約0.001分子/nm²の密度で存在する。被覆された粒子は粘液中で0.5を超える相対速度を有する。

10

【 0 0 0 9 】

本発明のその他の利点および新規な特徴は、添付の図面と一緒にして考慮すると、本発明の種々の非限定的実施形態に関する以下の詳細な説明から明らかになるであろう。本明細書と参照により組み込まれた文献とが矛盾かつ/または相反する開示を含む場合、本明細書が優先するものとする。参照により組み込まれる2つ以上の文献が、互いに矛盾かつ/または相反する開示を含む場合、より最新の有効日を有する文献が優先するものとする。

20

本発明の非限定的実施形態は、添付の図を例として参照して説明されることになるが、これらの図は概略であり、一定の縮尺で描かれるように意図されていない。図において、例示されたそれぞれの同一またはほぼ同一の成分は通常、単一の数値で表される。明瞭さの目的のため、すべての成分がすべての図の中で標識されているわけではなく、また、当業者が本発明を理解できるようにするために、例示が必要でない場合には、本発明の各実施形態のすべての成分が示されているわけでもない。図では以下の通りである。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 0 】

【図1】一組の実施形態に従いコーティングおよび固形医薬品の芯を有する粘液浸透粒子の略図である。

30

【図2A】一組の実施形態に従い、ナノ粉碎により作製され、異なる安定剤/表面改変剤でコーティングした、200nmのカルボキシル化ポリスチレン粒子（陰性対照）、200nmのPEG化ポリスチレン粒子（陽性対照）、およびナノ結晶粒子（試料）に対する、ヒト頸腔部粘液（CVM）中の集合体の平均速度 $\langle V_{mean} \rangle$ を示すプロットである。

【図2B】一組の実施形態に従い、ナノ粉碎により作製され、異なる安定剤/表面改変剤でコーティングしたナノ結晶粒子に対する、CVM中の相対速度 $\langle V_{mean} \rangle_{rel}$ を示すプロットである。

【図3A】一組の実施形態に従い異なる表面改変剤でコーティングしたナノ結晶粒子の集合体内での、CVM中の軌跡平均速度 V_{mean} の分布を示すヒストグラムである。

【図3B】一組の実施形態に従い異なる表面改変剤でコーティングしたナノ結晶粒子の集合体内での、CVM中の軌跡平均速度 V_{mean} の分布を示すヒストグラムである。

40

【図3C】一組の実施形態に従い異なる表面改変剤でコーティングしたナノ結晶粒子の集合体内での、CVM中の軌跡平均速度 V_{mean} の分布を示すヒストグラムである。

【図3D】一組の実施形態に従い異なる表面改変剤でコーティングしたナノ結晶粒子の集合体内での、CVM中の軌跡平均速度 V_{mean} の分布を示すヒストグラムである。

【図4】一組の実施形態に従い、異なるPEO-PPO-PEO Pluronic（登録商標）トリブロックコポリマーをコーティングしたCVM中の $\langle V_{mean} \rangle_{rel}$ を示すプロットであり、PPOブロックおよびPEO重量含有量（%）の分子量に関してマッピングされている。

【図5】一組の実施形態に従い、Pluronic（登録商標）F127（MPP）また

50

はドデシル硫酸ナトリウム（C P、陰性対照）のいずれかをコーティングした異なる芯材を有する固体粒子に対して、C V Mを介する輸送の質量を示すプロットである。

【図6 A】エタボン酸ロテブレドノールの処方薬、L o t e m a x（登録商標）を投与後、または一組の実施形態に従い、P l u r o n i c（登録商標）F 1 2 7でコーティングしたエタボン酸ロテブレドノールの粒子の投与後の、ニュージーランド白ウサギの眼瞼結膜（図6 A）中のエタボン酸ロテブレドノールの薬物レベルを示している。

【図6 B】エタボン酸ロテブレドノールの処方薬、L o t e m a x（登録商標）を投与後、または一組の実施形態に従い、P l u r o n i c（登録商標）F 1 2 7でコーティングしたエタボン酸ロテブレドノールの粒子の投与後の、ニュージーランド白ウサギの眼球結膜（図6 B）中のエタボン酸ロテブレドノールの薬物レベルを示している。

【図6 C】エタボン酸ロテブレドノールの処方薬、L o t e m a x（登録商標）を投与後、または一組の実施形態に従い、P l u r o n i c（登録商標）F 1 2 7でコーティングしたエタボン酸ロテブレドノールの粒子の投与後の、ニュージーランド白ウサギの角膜（図6 C）中のエタボン酸ロテブレドノールの薬物レベルを示している。

【図7 A】一組の実施形態に従い、C U R - 1 % F 1 2 7粒子の物理化学的特徴を示す図であり、F 1 2 7、未加工のクルクミン、およびC U R - 1 % F 1 2 7粒子の粉末X線回折（粉末 - X R D）ダイアグラムを示す図である。

【図7 B】一組の実施形態に従い、C U R - 1 % F 1 2 7粒子の物理化学的特徴を示す図であり、C U R - 1 % F 1 2 7粒子の代表的な透過型電子顕微鏡（T E M）画像を示す図である。

【図8 A】一組の実施形態に従い、C V M中でのC U R - 1 % F 1 2 7粒子、2 0 0 n mカルボキシル化ポリスチレン（P S C O O H）粒子、および2 0 0 n m P E G化ポリスチレン（P S P E G）粒子の、時間尺度の関数としてのアンサンブル平均二乗幾何平均変位を示す図である。

【図8 B】一組の実施形態に従い、ヒト囊胞性線維症喀痰（C F S）中でのC U R - 1 % F 1 2 7粒子、2 0 0 n mカルボキシル化ポリスチレン（P S C O O H）粒子、および2 0 0 n m P E G化ポリスチレン（P S P E G）粒子の、時間尺度の関数としてのアンサンブル平均二乗幾何平均変位を示す図である。

【図9】一組の実施形態に従い、異なる濃度のF 1 2 7中で製剤化されたC U R粒子に対する、ヒトC V M中での1秒の時間尺度での幾何アンサンブル有効拡散係数（ $\langle D_{eff} \rangle$ ）を示すプロットである。データは、各実験に対して $n = 100$ である少なくとも3つの独立実験のアンサンブル平均を表す。エラーバーは、幾何標準誤差を示す。

【図10 A】一組の実施形態に従い、異なるP l u r o n i c（登録商標）を用いて製剤化されたC U R粒子のヒトC V M中での拡散係数を示すプロットであり、P l u r o n i c（登録商標）のポリ（エチレングリコール）（P E G）セグメントおよびポリ（プロピレンオキシド）（P P O）セグメントの分子量（M W）に関する1秒の時間尺度での $\langle D_{eff} \rangle$ の分布を示す図である。各データ点は、特定タイプのP l u r o n i c（登録商標）を表す。P P OおよびP E GのM Wは、製造業者によって提示された分子量に基づいて見積もった。

【図10 B】一組の実施形態に従い、異なるP l u r o n i c（登録商標）を用いて製剤化されたC U R粒子のヒトC V M中での拡散係数を示すプロットであり、P E GセグメントのM Wの関数として1秒の時間尺度での $\langle D_{eff} \rangle$ を示す図である。挿入図は、同一プロットを線形尺度の $\langle D_{eff} \rangle$ で表し、Rは相関係数を表す。データは、各実験に対して $n = 100$ での少なくとも3つの独立実験のアンサンブル平均を意味する。エラーバーは、幾何標準誤差を示す。

【図10 C】一組の実施形態に従い、異なるP l u r o n i c（登録商標）を用いて製剤化されたC U R粒子のヒトC V M中での拡散係数を示すプロットであり、P P OセグメントのM Wの関数として1秒の時間尺度での $\langle D_{eff} \rangle$ を示す図である。挿入図は、同一プロットを線形尺度の $\langle D_{eff} \rangle$ で表し、Rは相関係数を表す。データは、各実験について $n = 100$ での少なくとも3つの独立実験のアンサンブル平均を意味する。エラーバーは

10

20

30

40

50

、幾何標準誤差を示す。

【図 1 1】一組の実施形態に従い、リン酸緩衝化生理食塩水 ($\text{pH} = 7.4$) 中での C U R - 1 % F 1 2 7 粒子の累積放出をオクタノール抽出で示すプロットである。

【図 1 2】一組の実施形態に従い、溶液中の遊離 T F V の透析バッグから通常のリン酸緩衝化生理食塩水中への累積放出を、懸濁液中の T F V - Z n 粒子のそれと対比して示すプロットである。

【図 1 3 A】一組の実施形態に従い、ヒト様発情期マウスからの扁平化腔組織上での粘液浸透性 / F 1 2 7 被覆 T F V 粒子の分布を示す画像である。腔組織は投与から 1 0 分以内に

取り出された。

【図 1 3 B】一組の実施形態に従い、ヒト様発情期マウスからの扁平化腔組織上での粘液粘着性 / P V A 被覆 T F V 粒子の分布を示す画像である。腔組織は投与から 1 0 分以内に

取り出された。

【図 1 4 A】発情期マウスの C V M 中での C P および M P P の輸送速度を示す図であり、1 秒の時間尺度でのアンサンブル平均の 1 つの S E M 内の有効拡散係数を呈示する粒子に

対する代表的な軌跡を示す図である。

【図 1 4 B】発情期マウスの C V M 中での C P および M P P の輸送速度を示す図であり、時間尺度の関数としてアンサンブル平均二乗幾何平均変位 ($\langle \text{MSD} \rangle$) を示す図である。

。生体外マウス腔組織 (m C V M) 上の粒子に対するデータを、生体外ヒト C V M (h C V M) 中の同一粒子 (S.K.Lai, Y.Y.Wang, K.Hida, R.Cone, J.Hanes, Nanoparticles reveal

that human cervicovaginal mucus is riddled with pores larger than viruses. P Nat

l Acad Sci USA 107,598-603(2010))、および 1 1 0 n m 粒子の水中での理論拡散速度 (約 $4 \mu\text{m}^2 / \text{秒}$) と比較した。

【図 1 4 C】発情期マウスの C V M 中での C P および M P P の輸送速度を示す図であり、1 秒の時間尺度での個々の粒子の有効拡散係数 (D_{eff}) の対数の分布を示す図である。

データは、各実験に対して $n = 150$ での 3 つの独立実験のアンサンブル平均を表す。点線の左に対応する拡散係数の値は、粒子直径未満の MSD 値を有する粒子を示す。

【図 1 4 D】発情期マウスの C V M 中での C P および M P P の輸送速度を示す図であり、マウス C V M の厚さ 1 0 0 μm の層に時間と共に浸透する能力のある粒子の比率を、実験的に測定される粒子の拡散係数に等しい拡散係数を有する、ランダム拡散を受けている粒子の拡散シミュレーションに関する F i c k の第 2 法則に基づいて示した図である。

【図 1 4 E】ゲル製剤、C P 製剤、および M P P 製剤からの経腔薬の送達を図解した図である。

【図 1 5 A】I E マウスの腔組織上でのナノ粒子の輸送、すなわち時間尺度の関数としてアンサンブル平均二乗幾何平均変位 ($\langle \text{MSD} \rangle$) を示すプロットである。データは、誘導発情期 (I E) および自然な周期的発情期マウスの生体外腔組織上の M P P および C P について示される。

【図 1 5 B】I E マウスの腔組織上でのナノ粒子の輸送、すなわち時間尺度の関数としてアンサンブル平均二乗幾何平均変位 ($\langle \text{MSD} \rangle$) を示すプロットである。I E 組織上の生分解性 M P P を生分解性でない M P P と比較した図である。データは、各実験に対して平均で $n = 150$ の粒子、かつ少なくとも 1 3 0 粒子を使用する少なくとも 3 つの独立実験

のアンサンブル平均を表す。データは、平均として、平均の標準誤差 (S E M) と共に提供される。

【図 1 6】マウスの腔中での粒子の分布を示す画像を含む図である。発情期および I E マウスの腔組織の横断凍結切片中での赤色蛍光性の非生分解性および生分解性 C P および M P P の分布を示す。画像は $n = 3$ のマウスを代表する。

【図 1 7】ナノ粒子での腔被覆度の定量化を示す画像およびプロットを含む図である。発情期マウスの扁平化腔組織上での赤色蛍光性の非生分解性および生分解性 C P および M P P の分布を示す。挿入図は、より高倍率での暗領域の画像である。画像は $n = 3$ のマウスに対して計算された平均に相当する。データは平均 \pm S E M である。* $P < 0.05$ 、スチューデント t 検定。

10

20

30

40

50

【図18】ナノ粒子での子宮頸部被覆度を示す画像を含む図である。発情期マウスの子宮頸部組織上での赤色蛍光性の非生分解性および生分解性CPおよびMPPの子宮頸部の分布を示す。挿入図は、より高倍率での暗領域の画像である。画像はn = 3のマウスを代表する。データは平均±SEMである。*P < 0.05、スチューデントt検定。

【図19】粘液除去の粘液粘着性ナノ粒子に対する効果を示す画像を含む図である。そのままの粘液層(No treatment)を有する、または粘液を洗浄および綿棒処理によって除去した(Mucus removed)マウスの膣組織の横断凍結切片中での赤色蛍光性の非生分解性および生分解性CPの分布を示す。画像はn = 3のマウスを代表する。

【図20】IEマウスの膣中での粒子の分布を示す画像を含む図である。IEマウスの膣組織の横断凍結切片中での赤色蛍光性非生分解性CPおよびMPPの分布を示す。画像はn = 3のマウスの代表である。

【図21A】IEマウスの子宮頸腔管における非生分解性MPPおよびCPの保持を示す画像およびプロットを示す図である。全子宮頸腔管組織におけるCPおよびMPPに関する粒子の蛍光強度と明野画像の重ね合わせを示す。

【図21B】IEマウスの子宮頸腔管における非生分解性MPPおよびCPの保持を示す画像およびプロットを示す図である。粒子の蛍光の量化に基づく、時間が経過しても残存している粒子の分率を示す図である。データは平均±SEM(n = 7)である。*P < 0.05、スチューデントt検定。

【図22】発情期マウスの膣における、ゲル形態でまたは生分解性MPP中に封入されて送達されたモデル薬物であるFITCの分布および保持を示す画像を含む図である。蛍光画像は、マウスの扁平化膣組織について24時間後に撮影された。画像はn = 3のマウスを代表する。データは平均±SEMである。*P < 0.05、スチューデントt検定。

【図23】毎日投与での急性毒性およびサイトカイン濃度を示す画像を含む図である。5%N9、PBS、CP、MPP、BD-CP、およびBD-MPPの膣内投与の24時間後に摘出されたDPマウスの膣組織のヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)で染色された断面を示す。尺度バーは、すべての画像にあてはまる。矢印は好中球のクラスターを示す。画像はn = 5のマウスを代表する。

【図24】毎日投与でのサイトカイン濃度を示すプロットである。7日間毎日経膣治療を施した後の、DPマウスの子宮頸腔部洗浄(CVL)におけるサイトカイン濃度を示す。データは平均±SEMである。*P < 0.05、スチューデントt検定。

【図25】粘液中のPluronic(登録商標)F127でコーティングしたポリスチレン粒子の相対速度と、粒子表面上のPluronic(登録商標)F127分子の密度との間の関係を示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0011】

粘液中での粒子輸送を助けるナノ結晶、組成物および方法が提供される。一部の実施形態において、組成物および方法は、ポリマー性担体を全く用いないか、最小限のポリマー性担体を用いた粘液浸透性粒子(MPP)を作製することを含む。組成物および方法は、一部の実施形態において、水/水性溶液に対して低い溶解性を有する医薬品から形成された粒子の表面コーティングを修飾することを含むことができる。このような方法および組成物を使用して、薬物送達、造影および診断での適用を含む広範な範囲の適用のために、身体中の粘液バリア中での医薬品粒子の効率的な輸送を達成することができる。特定の実施形態において、このような粒子を含む医薬組成物は、粘膜バリアを通過する粒子を必要とする投与経路に好適である。

【0012】

一部の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、芯-殻型の配置を有する。芯は、比較的水溶性の低い固形医薬品またはその塩を含むことができる。芯は、また、一部の実施形態において、ゲルまたは液体を含むことができる。後でより詳細に説明するように、一部の実施形態において、表面改変剤は、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性プロ

10

20

30

40

50

ックの配置を備えるトリブロックコポリマーを含むことができる。各親水性および疎水性ブロックの分子量は、粒子に特定の輸送特性、例えば粘液中での輸送の増加を付与するように選択することができる。

【0013】

これより、粒子の非限定的例を提供する。図1の例示的实施形態に示すように、粒子(10)は、芯(16)(粒子の形態でよく、本明細書中で芯粒子と呼ばれる)およびその芯を取り囲むコーティング(20)を含む。一組の実施形態において、芯の実質的部分は、特定の有益かつ/または治療上の効果をもたらすことのできる1種または複数の固形医薬品(例えば、薬物、治療用薬剤、診断用薬剤、造影用薬剤)から構成される。芯は、例えば、医薬品のナノ結晶(すなわち、ナノ結晶性粒子)でよい。芯は、1種または複数の表面改変剤を付着させることのできる表面(24)を含む。例えば、一部の事例で、芯(16)は、内側表面(28)および外側表面(32)を備えるコーティング(20)で取り囲まれる。コーティングは、芯の表面(24)と結び付くことのできるポリマー(例えば、ブロックコポリマー)などの1種または複数の表面改変剤(34)から少なくとも部分的には形成することができる。表面改変剤(34)は、例えば、芯粒子に共有結合で結合されること、芯粒子に非共有結合で結合されること、芯に吸着されること、またはイオン相互作用、疎水性および/または親水性相互作用、静電相互作用、ファンデルヴァールス相互作用、またはこれらの組合せを介して芯に結合されることによって、芯粒子と会合することができる。一組の実施形態において、表面改変剤またはその一部は、粘液バリア(例えば、粘液または粘膜)中での粒子の輸送を容易にするように選択される。

10

20

本明細書に記載の特定の实施形態において、1種または複数の表面改変剤(34)は、粒子のコーティング中に特定の配置で配向される。例えば、表面改変剤が、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を有するトリブロックコポリマーなどのトリブロックコポリマーである一部の实施形態では、疎水性ブロック36を、芯の表面に向かって配向し、親水性ブロック38を、芯の表面から離して(例えば、粒子の外に向かって)配向することができる。親水性ブロックは、後でより詳細に説明するように、粘膜バリア中での粒子の輸送を容易にする特性を有することができる。

【0014】

粒子(10)は、粒子に特異性を任意選択で付与することのできる標的指向部分、タンパク質、核酸、および生物活性剤などの1種または複数の成分(40)を任意選択で含むことができる。例えば、標的指向性の薬剤または分子(例えば、タンパク質、核酸、核酸類似体、炭水化物、または小分子)は、存在するなら、粒子を対象の身体中の特定位置に案内するのを助けることができる。位置は、例えば、組織、特定の細胞型、または細胞内区画であり得る。1種または複数の成分(40)は、存在するなら、芯、コーティング、またはその双方と会合することができ、例えば、それらの成分は、芯の表面(24)、コーティングの内側表面(28)、コーティングの外側表面(32)と会合し、かつ/またはコーティング中に包埋されることができる。1種または複数の成分(40)は、共有結合、吸収を介して会合すること、あるいはイオン相互作用、疎水性および/または親水性相互作用、静電相互作用、ファンデルヴァールス相互作用、またはそれらの組合せを介して付着することができる。一部の实施形態において、成分は、当業者に公知の方法を使用して、被覆された粒子の1種または複数の表面改変剤に付着(例えば、共有結合で)できる。

30

40

図1に示したまたは本明細書に記載したもの以外の成分および配置が、特定の粒子および組成物に適している可能性があること、および図1に示した成分のすべてが、一部の实施形態において必ず存在するわけではないことを理解されたい。

【0015】

一組の実施形態において、粒子(10)は、対象中に導入されると、対象中の1種または複数の構成要素、例えば、粘液、細胞、組織、臓器、粒子、体液(例えば、血液)、これらの部分、およびこれらの組合せと相互に作用することができる。一部のこのような实施形態において、粒子(10)のコーティングを、対象からの1種または複数の材料との

50

好ましい相互作用（例えば、輸送、結合、吸着）を可能にする特性を備える表面改変剤またはその他の成分を含むように設計することができる。例えば、コーティングは、対象中での特定の相互作用を促進または低下させるために、特定の親水性、疎水性、表面電荷、官能基、結合特異性、および／または密度を有する表面改変剤またはその他の成分を含むことができる。１つの特定の例は、粘液中での粒子の移動を高めるために、粒子と対象の粘液との間の物理的および／または化学的相互作用を低下させるように１種または複数の表面改変剤の特定の親水性、疎水性、表面電荷、官能基、結合特異性、および／または密度を選択することを含む。その他の例を、後でより詳細に説明する。

一部の実施形態において、粒子が、対象中の粘膜バリア（例えば、粘液または粘膜）を横切って成功裡に輸送されると、対象中での粒子間のさらなる相互作用が起こる可能性がある。相互作用は、一部の事例で、コーティングおよび／または芯を介して起こることがあり、例えば、対象の１種または複数の構成要素から粒子（１０）への、かつ／または粒子（１０）から対象の１種または複数の構成要素への材料（例えば、医薬品、治療薬、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、核酸、栄養素など）の交換を含むことができる。例えば、芯が、医薬品から形成されるか、医薬品を含む一部の実施形態において、粒子からの医薬品の崩壊、放出および／または輸送は、対象における特定の有益な効果および／または治療効果につながる可能性がある。かくして、本明細書に記載の粒子を、特定の疾患または身体状態の診断、予防、治療または管理のために使用することができる。

【００１６】

本明細書に記載の粒子の使用に関する具体例を、後に、対象中の粘膜バリア（例えば、粘液または粘膜）に投与するのに適していることの文脈中で提供する。本明細書中の多くの実施形態は、この文脈中、および材料の粘膜バリアを横切る輸送を必要とする疾患および状態に対して利益を提供することの文脈中で説明されるが、本発明は、このように限定されるものではなく、本明細書に記載の粒子、組成物、キット、および方法を使用して、その他の疾患または身体状態を予防、治療、または管理することができることを認識されたい。

【００１７】

粘液は、眼、鼻、肺、消化管、および女性生殖器系をはじめとする身体中への種々の侵入箇所で、病原体、毒素、および壊死組織片から保護する粘着性の粘弾性ゲルである。多くの合成ナノ粒子は、粘液に対して強粘液粘着性であり、急速に排除される末梢粘液層中に効果的に捕捉され、粘膜全体へのそれら粒子の分布および下にある組織に向かう浸透を大きく制約する。捕捉されたこれらの粒子の滞留時間は、器官に応じて、数秒から数時間の範囲に及ぶ末梢粘液層の入れ代わり速度によって制約される。医薬品（例えば、治療、診断および／または造影用薬剤）を含む粒子の粘液膜を介する有効な送達を確実にするため、このような粒子は、粘液バリア中で容易に拡散し、粘液への付着を回避できなければならない。

ポリマー性ナノ粒子の表面を粘液浸透性コーティングで修飾することによって、粘液への粘着を最小化し、それによって粘液バリアを横切る急速な粒子浸透を可能にすることができる。具体的には、５００ｎｍ程度のポリマー性ナノ粒子は、共有結合による低分子量PEG（２ｋDa～５ｋDa）の密なコーティングで、または非共有結合による特定のPluronic（登録商標）分子（例えば、P103、P105、F127）で被覆されると、それらのナノ粒子が純水中で移動するとほぼ同様の速さで、および同様の大きさの被覆されていないポリマー性粒子に比べてほぼ１００倍より速い速度でヒト粘液に浸透できることが示された。

しかしながら、ポリマーをベースにした粘液浸透性粒子は、一部の実施形態において、１種または複数の固有の制約を有する可能性がある。とりわけ、薬物送達への応用を考慮すると、これらの制約は、次のものの１つまたは複数を含む可能性がある：A）低い薬物封入効率および少ない薬物装填量：製造中に粒子中に封入されるのは、使用された薬物の全量の一般には１０％未満であるので、ポリマー性粒子中への薬物封入は、しばしば効率が悪い。さらに、５０％を超える薬物装填は、めったに達成されない。B）使用の簡便性

10

20

30

40

50

：一般に、薬物を装填したポリマー性粒子をベースにした製剤は、早すぎる薬物放出を回避するために乾燥粉末として貯蔵することを典型的には必要とし、したがって、使用時点での再構成または複雑な投与デバイスのいずれかを必要とする。C) 生体適合性：反復投与に続いて徐々に分解するポリマー性担体の蓄積および長期にわたるそれらの毒性は、ポリマー性薬物担体に対して重大な懸念を呈示する。D) 化学的および物理的安定性：ポリマーの分解は、封入された薬物の安定性を危うくする可能性がある。多くの封入工程において、薬物は、溶液相から固体相への移行を経験し、この移行は、出現する固体相の物理的形態（例えば、非晶性／結晶性／結晶性多形）に関して十分に制御されない。このことは、物理的および化学的安定性、ならびに放出速度論をはじめとする多様な態様の製剤性能についての懸念である。E) 製造の複雑さ：薬物を装填されたポリマー性MP Pの製造、特に大規模に実現できる可能性は、通常、多数のステップおよび相当の量の毒性有機溶媒を含むかなり複雑な工程である。

10

【0018】

本明細書に記載の一部の実施形態において、組成物、および粒子の調製方法、たとえば、特定の組成物、および粘膜バリア中での輸送が増強された粒子を調製するための方法は、前記の懸念の1つまたは複数、あるいは全部に対処する。具体的には、一部の実施形態において、組成物および方法は、ポリマー性担体中への封入を必要としないか、必要としても最小限である。有利には、医薬品（例えば、薬物、造影または診断用薬剤）をポリマー性担体中へ封入する必要性を回避または最小化することによって、薬物装填、使用の簡便性、生体適合性、安定性、および／または製造の複雑性に関するポリマー性MP Pの特定の制約に対処することができる。本明細書に記載の方法および組成物は、粘液浸透性粒子技術の臨床的開発を促進する可能性がある。

20

【0019】

芯粒子

図1に関して前に説明したように、粒子(10)は芯(16)を含みうる。芯は、有機材料、無機材料、ポリマー、またはこれらの組合せなどの任意の適切な材料から形成することができる。一組の実施形態において、芯は固体を含む。固体は、例えば、結晶性もしくは非晶性の固体、例えば、結晶性もしくは非晶性の固形医薬品（例えば、治療用薬剤、診断用薬剤、および／または造影用薬剤）またはその塩でよい。一部の実施形態において、芯中には1種を超える医薬品が存在できる。医薬品の具体例は、後でより詳細に呈示される。

30

【0020】

医薬品は、芯中に任意の適切な量で、例えば、芯の少なくとも約1重量%、少なくとも約5重量%、少なくとも約10重量%、少なくとも約20重量%、少なくとも約30重量%、少なくとも約40重量%、少なくとも約50重量%、少なくとも約60重量%、少なくとも約70重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約95重量%、または少なくとも約99重量%の量で存在することができる。一実施形態において、芯は、100重量%の医薬品から形成される。一部の事例で、医薬品は、芯中に、約100重量%以下、約90重量%以下、約80重量%以下、約70重量%以下、約60重量%以下、約50重量%以下、約40重量%以下、約30重量%以下、約20重量%以下、約10重量%以下、約5重量%以下、約2重量%以下、または約1重量%以下で存在することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約80重量%で約100重量%以下の量で存在する）も可能である。その他の範囲も可能である。

40

芯粒子が比較的多量（例えば、芯粒子の少なくとも約50重量%）の医薬品を含む実施形態において、芯粒子は、薬剤をポリマー性担体中に封入することによって形成される粒子に比較して、増大した医薬品装填量を一般には有する。薬物装填量がより多いことは、ポリマー性担体を含む粒子の使用に比較して、所望の効果を達成するのに必要とされる粒子の数がより少ないことを意味するので、このことは、薬物送達への応用にとって好都合である。

50

【0021】

一部の実施形態において、芯は、比較的水溶性の低い（すなわち、場合によっては1種または複数の緩衝液を含む水への溶解性）、および/または固体材料を表面改変剤で被覆する際の溶液への溶解性が比較的低い固体材料から形成することができる。例えば、固体材料は、25で、約5mg/mL以下、約2mg/mL以下、約1mg/mL以下、約0.5mg/mL以下、約0.1mg/mL以下、約0.05mg/mL以下、約0.01mg/mL以下、約1μg/mL以下、約0.1μg/mL以下、約0.01μg/mL以下、約1ng/mL以下、約0.1ng/mL以下、または約0.01ng/mL以下の水溶性（または被覆用溶液への溶解性）を有することができる。一部の実施形態において、固体材料は、少なくとも約1pg/mL、少なくとも約10pg/mL、少なくとも約0.1ng/mL、少なくとも約1ng/mL、少なくとも約10ng/mL、少なくとも約0.1μg/mL、少なくとも約1μg/mL、少なくとも約5μg/mL、少なくとも約0.01mg/mL、少なくとも約0.05mg/mL、少なくとも約0.1mg/mL、少なくとも約0.5mg/mL、少なくとも約1.0mg/mL、少なくとも約2mg/mLの水溶性（または被覆用溶液への溶解性）を有することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約10pg/mLかつ約1mg/mL以下の水溶性または被覆用溶液への溶解性）も可能である。その他の範囲も可能である。固体材料は、pH範囲（pH1からpH14まで）の間の任意の箇所で、これらのまたはその他の範囲の水溶性を有することができる。

10

【0022】

20

一部の実施形態において、芯は、米国薬局方の慣行によって分類される溶解性の範囲：例えば、極めて溶けやすい：>1,000mg/mL、溶けやすい：100~1,000mg/mL、やや溶けやすい：33~100mg/mL、やや溶けにくい：10~33mg/mL、溶けにくい：1~10mg/mL、極めて溶けにくい：0.1~1mg/mL、およびほとんど溶けない：<0.1mg/mLの1つに包含される材料から形成することができる。

芯は、疎水性または親水性でよいが、本明細書に記載の多くの実施形態において、芯は、実質上疎水性である。「疎水性」および「親水性」には、当業者によって理解されるような当該技術分野で通常的な意味が付与され、本明細書中の多くの例で、相対的な用語である。材料の相対的な疎水性および親水性は、測定すべき物質からなる平面上での水滴の接触角を、例えば接触角測定器などの装置および押し固めた芯材料の粉末を使用して測定することによって求めることができる。

30

【0023】

一部の実施形態において、材料（例えば、粒子の芯を形成する材料）は、少なくとも約20°、少なくとも約30°、少なくとも約40°、少なくとも約50°、少なくとも約60°、少なくとも約70°、少なくとも約80°、少なくとも約90°、少なくとも約100°、少なくとも約110°、少なくとも約120°、または少なくとも約130°の接触角を有する。一部の実施形態において、材料は、約160°以下、約150°以下、約140°以下、約130°以下、約120°以下、約110°以下、約100°以下、約90°以下、約80°以下、または約70°以下の接触角を有する。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約30°かつ約120°以下の接触角）も可能である。その他の範囲を可能である。

40

【0024】

接触角の測定は、種々の技法を使用して行うことができ、ここでは、芯を形成するのに使用される出発材料のペレットと水の玉との間の静止接触角の測定について言及する。芯を形成するのに使用される材料は、微細粉末として受け入れるか、さもなければ乳鉢および乳棒を使用して微細粉末に粉碎した。その上で測定を行うための表面を形成するため、International Crystal Labsからの7mmペレット金型セットを使用して、粉末を押し固めた。金型に材料を詰め、ペレットプレスまたは高圧を使用せず、手で圧力を印加して粉末を押し固めてペレットとした。次いで、ペレットを、試験

50

のため、ペレットの頂面および底面（それぞれ、水が添えられる表面および平行な反対側の表面として定義される）がどんな表面とも接触しないように浮かした。これは、金型セットのカラーからペレットを完全には取り出さないことによって行われた。したがって、ペレットは、側面でカラーに接触し、頂面および底面で接触しない。接触角を測定する場合、水は、ペレットの表面に30秒以上安定な接触角を有する水の球が得られるまで加えられた。水は、水の玉中に、水の玉に追加するのに使用されるピペットまたはシリンジの先端を水の玉に挿入するか接触させることによって追加された。一旦、安定な水の玉が得られたら、画像を撮影し、標準的な手段を使用して接触角を測定した。

【0025】

芯が無機材料（例えば、造影用薬剤として使用するための）を含む実施形態において、無機材料としては、例えば、金属（例えば、Ag、Au、Pt、Fe、Cr、Co、Ni、Cu、Zn、およびその他の遷移金属）、半導体（例えば、ケイ素、ケイ素化合物および合金、セレン化カドミウム、硫化カドミウム、ヒ化インジウム、およびリン化インジウム）、または絶縁材（例えば、酸化ケイ素などのセラミック）を挙げることができる。無機材料は、芯中に、任意の適切な量で、例えば、少なくとも約1重量%、少なくとも約5重量%、少なくとも約10重量%、少なくとも約20重量%、少なくとも約30重量%、少なくとも約40重量%、少なくとも約50重量%、少なくとも約75重量%、少なくとも約90重量%、または少なくとも約99重量%の量で存在することができる。一実施形態において、芯は、100重量%の無機材料から形成される。一部の事例で、無機材料は、芯中に、約100重量%以下、約90重量%以下、約80重量%以下、約70重量%以下、約60重量%以下、約50重量%以下、約40重量%以下、約30重量%以下、約20重量%以下、約10重量%以下、約5重量%以下、約2重量%以下、または約1重量%以下の量で存在することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約1重量%かつ約20重量%以下で存在）も可能である。その他の範囲も可能である。

芯は、一部の事例で、量子ドット、炭素ナノチューブ、炭素ナノワイヤ、または炭素ナノロッドの形態でありうる。一部の事例で、芯は、生物学的起源でない材料を含むか、材料から形成される。

【0026】

一部の実施形態において、芯は、合成ポリマーおよび/または天然ポリマーなどの1種または複数の有機材料を含む。合成ポリマーの例には、ポリメタクリレートなどの非分解性ポリマー、およびポリ乳酸、ポリグリコール酸およびこれらのコポリマーなどの分解性ポリマーが含まれる。天然ポリマーの例には、ヒアルロン酸、キトサン、およびコラーゲンが含まれる。芯の部分に適している可能性のあるポリマーのその他の例には、粒子上のコーティングを形成するのに適した後記のようなものが含まれる。ポリマーは、芯中に、任意の適切な量で、例えば、約100重量%以下、約90重量%以下、約80重量%以下、約70重量%以下、約60重量%以下、約50重量%以下、約40重量%以下、約30重量%以下、約20重量%以下、約10重量%以下、約5重量%以下、約2重量%以下、または約1重量%以下の量で存在することができる。一部の事例で、ポリマーは、芯の少なくとも約1重量%、少なくとも約5重量%、少なくとも約10重量%、少なくとも約20重量%、少なくとも約30重量%、少なくとも約40重量%、少なくとも約50重量%、少なくとも約75重量%、少なくとも約90重量%、または少なくとも約99重量%の量で存在することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約1重量%かつ約20重量%以下の量で存在）も可能である。その他の範囲も可能である。一組の実施形態において、芯は、ポリマー成分から形成されるか、ポリマー成分を実質上含まない。

【0027】

芯は、任意の適切な形状および/または大きさを有することができる。例えば、芯は、実質的には球状、非球状、卵状、棒形状、ピラミッド状、立方体状、円板形状、ワイヤ状、または不規則形状でよい。芯は、例えば、約10 μ m以下、約5 μ m以下、約1 μ m以下、約800nm以下、約700nm以下、約500nm以下、400nm以下、300

10

20

30

40

50

nm以下、約200nm以下、約100nm以下、約75nm以下、約50nm以下、約40nm以下、約35nm以下、約30nm以下、約25nm以下、約20nm以下、約15nm以下、または約5nm以下の最大または最少断面寸法を有することができる。一部の事例で、芯は、例えば、少なくとも約5nm、少なくとも約20nm、少なくとも約50nm、少なくとも約100nm、少なくとも約200nm、少なくとも約300nm、少なくとも約400nm、少なくとも約500nm、少なくとも約1μm、または少なくとも約5μmの最大または最少断面寸法を有することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約50nmかつ約500nm以下の最大または最少断面寸法）も可能である。その他の範囲も可能である。一部の実施形態において、本明細書に記載の方法で形成される芯の大きさは、ガウス型分布を有する。特記しない限り、本明細書の粒子/芯の大きさの測定値は、最小断面寸法を指す。

10

当業者は、粒子の大きさ（例えば、最小または最大断面寸法）を測定するための技法に精通している。適切な技法の例には、(DLS)、透過電子顕微鏡法、走査電子顕微鏡法、電気抵抗計数、およびレーザー回折が含まれる、その他の適切な技法も当業者にとって公知である。粒子の大きさを測定するための多くの方法が知られているが、本明細書に記載の大きさ（例えば、平均粒径、厚さ）は、動的光散乱によって測定された大きさである。

【0028】

芯粒子および被覆された粒子の形成方法

本明細書に記載の芯粒子は、任意の適切な方法で形成することができる。一部の実施形態では、粉碎工程を利用して固体材料の大きさを縮小して、大きさの範囲がマイクロメートルからナノメートルの粒子を形成する。ジェット粉碎、凍結粉碎、ボール粉碎、媒体粉碎、および均質化などの乾式および湿式粉碎法は、公知であり、本明細書に記載の方法でを使用することができる。一般に、湿式粉碎法では、芯として使用される予定の材料の懸濁液を、賦形剤と一緒に、または賦形剤なしで粉碎媒体と共に混合して、粒径を小さくする。乾式粉碎は、芯として使用される予定の材料を、粉碎媒体と共に、賦形剤と一緒に、または賦形剤なしで混合して、粒径を小さくする方法である。凍結粉碎法では、芯として使用される予定の材料の懸濁液を、粉碎媒体と共に、賦形剤と一緒にまたは賦形剤なしで冷却された温度下で混合する。

20

【0029】

一部の実施形態において、本明細書に記載の芯粒子は、固体材料（例えば、医薬品）を1種または複数の安定剤/表面改変剤の存在下でナノ粉碎することによって製造することができる。固体材料の小さな粒子は、粒子の懸濁液を液状溶液中での集成または凝集なしに安定化するために、とりわけ粒子の表面上への1種または複数の安定剤/表面改変剤の存在を必要とする可能性がある。一部のこのような実施形態において、安定剤は、粒子上にコーティングを形成する表面改変剤として作用することができる。

30

【0030】

本明細書に記載のように、一部の実施形態において、芯粒子を形成する方法は、ナノ粉碎および粒子上へコーティングを形成することの双方に適した安定剤を選択すること、および粒子を粘液浸透性にするを含む。例えば、後でより詳細に説明するように、Pluronic（登録商標）F127の存在下でのピレンのナノ粉碎によって製造されたモデル化合物ピレンの200~500nmのナノ粒子は、ポリマーをベースにし十分に確立されたMPPと同様の速度で生理学的粘液サンプルに浸透できる粒子をもたらすことが立証された。興味深いことに、後でより詳細に説明するように、試験されたほんの少量の安定剤/表面改変剤のみが、ナノ粉碎すること、および粒子上に粒子を粘液浸透性にするコーティングを形成することの双方に適しているとの判定基準に適合することが観察された。

40

【0031】

湿式粉碎法において、粉碎は、1種または複数の安定剤（例えば、表面改変剤）、粉碎媒体、粉碎される予定の固体（例えば、固形医薬品）、および溶媒を含む分散液（例えば

50

、水性分散液）中で実施することができる。任意の適切な量の安定剤／表面改変剤を、溶媒中に含めることができる。一部の実施形態において、安定剤／表面改変剤は、溶媒中に、重量％または重量対容積％（重量：容積）で、溶媒の少なくとも約 0.001％、少なくとも約 0.01％、少なくとも約 0.1％、少なくとも約 0.5％、少なくとも約 1％、少なくとも約 2％、少なくとも約 3％、少なくとも約 4％、少なくとも約 5％、少なくとも約 6％、少なくとも約 7％、少なくとも約 8％、少なくとも約 10％、少なくとも約 12％、少なくとも約 15％、少なくとも約 20％、少なくとも約 40％、少なくとも約 60％、または少なくとも約 80％の量で存在することができる。一部の事例において、安定剤は、溶媒中に約 100％の量で存在することができる（例えば、安定剤／表面改変剤が溶媒である事例で）。他の実施形態において、安定剤は、溶媒中に、溶媒の約 100％以下、約 80％以下、約 60％以下、約 40％以下、約 20％以下、約 15％以下、約 12％以下、約 10％以下、約 8％以下、約 7％以下、約 6％以下、約 5％以下、約 4％以下、約 3％以下、約 2％以下、または約 1％以下で存在することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、溶媒の約 5％以下かつ少なくとも約 1％）も可能である。その他の範囲も可能である。選択された特定の範囲は、粒子が粘液中に浸透する能力に影響を及ぼす可能性のある因子、例えば、粒子表面上の安定剤／表面改変剤からなるコーティングの安定性、粒子上の安定剤／表面改変剤からなるコーティングの平均厚さ、粒子上の安定剤／表面改変剤の配向、粒子上の安定剤／表面改変剤の密度、安定剤：薬物の比率、薬物濃度、形成される粒子の大きさ、および多分散性、ならびに形成される粒子の形態に影響を及ぼす可能性がある。

10

20

【0032】

医薬品（またはその塩）は、溶媒中に任意の適切な量で存在することができる。一部の実施形態において、医薬品（またはその塩）は、重量％または重量対容積％（重量：容積）で、溶媒の少なくとも約 0.001％、少なくとも約 0.01％、少なくとも約 0.1％、少なくとも約 0.5％、少なくとも約 1％、少なくとも約 2％、少なくとも約 3％、少なくとも約 4％、少なくとも約 5％、少なくとも約 6％、少なくとも約 7％、少なくとも約 8％、少なくとも約 10％、少なくとも約 12％、少なくとも約 15％、少なくとも約 20％、少なくとも約 40％、少なくとも約 60％、または少なくとも約 80％の量で存在する。一部の事例で、医薬品（またはその塩）は、溶媒中に溶媒の約 100％以下、約 90％以下、約 80％以下、約 60％以下、約 40％以下、約 20％以下、約 15％以下、約 12％以下、約 10％以下、約 8％以下、約 7％以下、約 6％以下、約 5％以下、約 4％以下、約 3％以下、約 2％以下、または約 1％以下の量で存在することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、溶媒の約 20％以下かつ少なくとも約 1％）も可能である。一部の実施形態において、医薬品は、上記範囲（但し、重量：容積）で存在する。

30

【0033】

溶媒中での安定剤／表面改変剤の医薬品（またはその塩）に対する比率は、変更することもできる。一部の実施形態において、安定剤／表面改変剤の医薬品（またはその塩）に対する比率は、重量比、モル比、または重量：容積比で、少なくとも 0.001：1、少なくとも 0.01：1、少なくとも 0.01：1、少なくとも 1：1、少なくとも 2：1、少なくとも 3：1、少なくとも 5：1、少なくとも 10：1、少なくとも 25：1、少なくとも 50：1、少なくとも 100：1、または少なくとも 500：1 でよい。一部の事例で、安定剤／表面改変剤の医薬品（またはその塩）に対する比率は、重量比またはモル比で、1000：1 以下、500：1 以下、100：1 以下、75：1 以下、50：1 以下、25：1 以下、10：1 以下、5：1 以下、3：1 以下、2：1 以下、1：1 以下、または 0.1：1 以下でよい。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも 5：1 かつ 50：1 以下の比率）も可能である。その他の範囲も可能である。

40

【0034】

安定剤／表面改変剤は、例えば、ポリマーまたは界面活性剤であり得る。ポリマーの例が、後でより詳細に説明するように、コーティング中で使用するのに適したポリマーであ

50

る。界面活性剤の非限定的例には、L - - ホスファチジルコリン (P C)、1 , 2 - ジ
パルミトイルホスファチジルコリン (D P P C)、オレイン酸、トリオレイン酸ソルビタ
ン、モノオレイン酸ソルビタン、モノラウリン酸ソルビタン、モノラウリン酸ポリオキシ
エチレンソルビタン、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン、天然レシチン、オ
レイルポリオキシエチレンエーテル、ステアリルポリオキシエチレンエーテル、ラウリル
ポリオキシエチレンエーテル、オキシエチレンとオキシプロピレンとのブロックコポリマ
ー、合成レシチン、ジオレイン酸ジエチレングリコール、オレイン酸テトラヒドロフルフ
リル、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、モノオレイン酸グリセリル、モノ
ステアリン酸グリセリル、モノリシノール酸グリセリル、セチルアルコール、ステアリル
アルコール、ポリエチレングリコール 4 0 0、セチルピリジニウムクロリド、塩化ベンザ
ルコニウム、オリーブ油、モノラウリン酸グリセリル、コーン油、綿実油、およびヒマワ
リ種子油が含まれる。上で言及した化合物の誘導体も可能である。上で言及した化合物と
本明細書に記載のその他の化合物との組合せも、本発明の粒子中の表面改変剤として使用
することができる。本明細書に記載のように、一部の実施形態において、表面改変剤は、
安定剤、界面活性剤、および / または乳化剤として作用することができる。一部の実施形
態において、表面改変剤は、粘液中での粒子輸送を助けることができる。

10

【 0 0 3 5 】

一部の実施形態において、粉碎のために使用される安定剤は、粒子表面上に粒子を粘液
浸透性にするコーティングを形成するが、他の実施形態では、安定剤を、粒子が形成され
た後に、1 種または複数の他の表面改変剤で取り代えることができる。例えば、一組の方法
において、粉碎工程中で第 1 安定剤 / 表面改変剤を使用して、芯粒子の表面を被覆する
ことができ、次いで、第 1 安定剤 / 表面改変剤の全部または一部を、第 2 安定剤 / 表面改
変剤で取り代えて、芯粒子の表面の全部または一部を被覆することができる。一部の事例
で、第 2 安定剤 / 表面改変剤は、第 1 安定剤 / 表面改変剤に比べて、粒子をより粘液浸透
性にするすることができる。一部の実施形態において、多様な表面改変剤を含むコーティング
を有する芯粒子を形成することができる。

20

【 0 0 3 6 】

粉碎には、任意の適切な粉碎媒体を使用することができる。一部の実施形態において、
セラミックおよび / またはポリマー性材料および / または金属を使用することができる。
適切な材料の例には、酸化ジルコニウム、炭化ケイ素、酸化ケイ素、窒化ケイ素、ケイ酸
ジルコニウム、酸化イットリウム、ガラス、アルミナ、 - アルミナ、酸化アルミニウム
、ポリスチレン、ポリ (メタクリル酸メチル)、チタン、鋼鉄が含まれる。粉碎媒体は、
任意の適切な大きさを有することができる。例えば、粉碎媒体は、少なくとも約 0 . 1 m
m、少なくとも約 0 . 2 m m、少なくとも約 0 . 5 m m、少なくとも約 0 . 8 m m、少な
くとも約 1 m m、少なくとも約 2 m m、または少なくとも約 5 m m の平均直径を有するこ
とができる。一部の事例で、粉碎媒体は、約 5 m m 以下、約 2 m m 以下、約 1 m m 以下、
約 0 . 8 m m 以下、約 0 . 5 m m 以下、または約 0 . 2 m m 以下の平均直径を有するこ
とができる。上で言及した範囲の組合せ (例えば、少なくとも約 0 . 5 m m かつ約 1 m m 以
下の平均直径) も可能である。その他の範囲も可能である。

30

【 0 0 3 7 】

粉碎には任意の適切な溶媒を使用することができる。溶媒の選択は、数ある因子の中
でも、粉碎される固体材料 (例えば、医薬品)、使用される安定剤 / 表面改変剤の個々の種
類 (例えば、粒子を粘液浸透性にするのできるもの)、使用される粉碎材料などの因
子に依存する可能性がある。適切な溶媒は、固体材料または粉碎材料を実質上溶解しない
が、安定剤 / 表面改変剤を適切な程度まで溶解するものでよい。溶媒の非限定的例とし
ては、医薬用賦形剤、ポリマー、医薬品、塩類、保存剤、粘度調整剤、等張性調整剤、風味
マスキング剤、酸化防止剤、p H 調整剤、およびその他の医薬用賦形剤などのその他の成
分を任意選択で含んでもよい、水、緩衝溶液、その他の水性溶液、アルコール (例え
ば、エタノール、メタノール、ブタノール)、およびこれらの混合物を挙げることができ
る。他の実施形態では、有機溶媒を使用することができる。医薬品は、これらのまたはそ

40

50

他の溶媒に対して任意の適切な溶解度を、例えば、水溶性に関して、または被覆用溶液に対する溶解性に関して前記の１種または複数の範囲の溶解度を有することができる。

【 0 0 3 8 】

他の実施形態において、芯粒子は、沈降技法により形成することができる。沈降技法（例えば、ミクロ沈降技法、ナノ沈降技法）は、芯として使用される、溶媒に実質上可溶性である材料（例えば、医薬品）および溶媒を含む第１溶液を形成することを含むことができる。この溶液を、材料が実質上不溶性である別の溶媒を含む第２溶液に添加し、それによって材料を含む複数の粒子を形成することができる。一部の事例で、１種または複数の表面改変剤、界面活性剤、材料、および／または生物活性薬剤は、第１および／または第２溶液中に存在することができる。コーティングは、芯を沈降させる工程で形成することができ（例えば、沈降および被覆ステップは実質上同時に実施することができる）。他の実施形態では、粒子を、まず沈降技法を使用して形成し、続いて粒子を表面改変剤で被覆する。

10

【 0 0 3 9 】

一部の実施形態では、沈降技法を使用して、医薬品の塩からなる粒子（例えば、ナノ結晶）を形成することができる。一般に、沈降技法は、芯として使用される予定の材料を溶媒に溶解することを含み、次いで、その溶液を、芯粒子を形成するための賦形剤を含むか、または含まない混和性反溶媒に添加する。この技法は、水性溶液に溶ける医薬品（例えば、比較的高い水溶性を有する医薬品）の粒子を調製するのに有用である可能性がある。一部の実施形態において、１つまたは複数の帯電したまたはイオン化可能な基を有する医薬品は、対イオン（例えば、カチオンまたはアニオン）と相互に作用して、塩錯体を形成することができる。例えば、医薬品テノフォビル（TFV）は、ホスホネート基およびプリン環構造を介して亜鉛カチオンと極めて強力に相互作用する。亜鉛とのこの相互作用は、結晶状態でのTFVの沈降を引き起こし、結晶を、本明細書に記載のコーティングで安定化し、凝集を停止させることができる。

20

種々の対イオンを使用して、金属（例えば、アルカリ金属、アルカリ土類金属、および遷移金属）を含む塩錯体を形成することができる。カチオン性対イオンの非限定的例には、亜鉛、カルシウム、アルミニウム、亜鉛、バリウム、マグネシウム、および銅が含まれる。アニオン性対イオンの非限定的例には、リン酸イオン、炭酸イオン、および脂肪酸が含まれる。対イオンは、例えば、一価、二価、または三価でよい。その他の対イオンも当技術分野で公知であり、本明細書に記載の実施形態で使用するすることができる。

30

【 0 0 4 0 】

沈降法では、種々の様々な酸を使用することができる。一部の実施形態において、適切な酸としては、デカン酸（decanic acid）、ヘキサン酸、粘液酸、オクタン酸を挙げることができる。他の実施形態において、適切な酸としては、酢酸、アジピン酸、L-アスコルビン酸、L-アスパラギン酸、カプリン酸（デカン酸）、炭酸、クエン酸、フマル酸、ガラクトール酸、D-グルコヘプトン酸、D-グルコン酸、D-グルクロン酸、グルタミン酸、グルタル酸、グリセロリン酸、グリコール酸、馬尿酸、塩酸、DL-乳酸、ラウリン酸、マレイン酸、（-）-L-リンゴ酸、パルミチン酸、リン酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、（+）-L-酒石酸、またはチオシアン酸を挙げることができる。他の実施形態において、適切な酸としては、アルギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、（+）-樟脳酸、カプリル酸（オクタン酸）、シクラミン酸、ドデシル硫酸、エタン-1,2-ジスルホン酸、エタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ゲンチシン酸、2-オキシグルタル酸、イソ酪酸、ラクチオン酸、マロン酸、メタンスルホン酸、ナフタレン-1,5-ジスルホン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、ニコチン酸、オレイン酸、オロチン酸、シュウ酸、パモン酸（エンボン酸）、プロピオン酸、（-）-L-ピログルタミン酸、またはp-トルエンスルホン酸を挙げることができる。さらに他の実施形態において、適切な酸としては、2,2-ジクロロ酢酸、4-アセトアミド-安息香酸、（+）-カンファ-10-スルホン酸、カプロン酸（ヘキサン酸）、桂皮酸、ギ酸、臭化水素酸、DL-マンデル酸、硝酸、サリチル酸

40

50

、4 - アミノ - サリチル酸、またはウンデシル酸（ウンデカ - 10 - エン酸）を挙げることができる。1種または複数のこのような酸の混合物も使用することができる。

【0041】

沈降法では、種々の様々な塩基を使用することができる。一部の実施形態において、適切な塩基としては、アンモニア、L - アルギニン、水酸化カルシウム、コリン、N - メチル - グルカミン、リシン、水酸化マグネシウム、水酸化カリウム、または水酸化ナトリウムが挙げられる。別の実施形態において、適切な塩基としては、ベネタミン、ベンザチン、ベタイン、デアノール、ジエチルアミン、2 - (ジエチルアミノ) - エタノール、ヒドラバピン、モルホリン、4 - (2 - ヒドロキシエチル) - 、1 - (2 - ヒドロキシエチル) - ピロリジン、またはトロメタミンを挙げることができる。他の実施形態において、適切な塩基としては、ジエタノールアミン(2, 2' - イミノビス(エタノール))、エタノールアミン(2 - アミノエタノール)、エチレンジアミン、1H - イミダゾール、ピペラジン、トリエタノールアミン(2, 2', 2'' - ニトリロトリス(エタノール))、または水酸化亜鉛を挙げることができる。1種または複数のこのような塩基の混合物も使用することができる。

10

【0042】

沈降には、粉碎に使用できる本明細書に記載の溶媒をはじめとする任意の適切な溶媒を使用することができる。一組の実施形態では、医薬用賦形剤、ポリマー、および医薬品などのその他の成分を任意選択で含んでもよい水性溶液（例えば、水、緩衝液、その他の水性溶液）、アルコール（例えば、エタノール、メタノール、ブタノール）、およびこれらの混合物が使用される。

20

【0043】

沈降法において、塩は、非塩形態の医薬品に比べて、より低い水溶性（または、塩を含む溶媒への溶解性）を有することができる。塩の水溶性（または溶媒への溶解性）は、25 で、例えば、約5 mg/mL以下、約2 mg/mL以下、約1 mg/mL以下、約0.5 mg/mL以下、約0.1 mg/mL以下、約0.05 mg/mL以下、または約0.01 mg/mL以下、約1 µg/mL以下、約0.1 µg/mL以下、約0.01 µg/mL以下、約1 ng/mL以下、約0.1 ng/mL以下、または約0.01 ng/mL以下でよい。一部の実施形態において、塩は、少なくとも約1 pg/mL、少なくとも約10 pg/mL、少なくとも約0.1 ng/mL、少なくとも約1 ng/mL、少なくとも約10 ng/mL、少なくとも約0.1 µg/mL、少なくとも約1 µg/mL、少なくとも約5 µg/mL、少なくとも約0.01 mg/mL、少なくとも約0.05 mg/mL、少なくとも約0.1 mg/mL、少なくとも約0.5 mg/mL、少なくとも約1.0 mg/mL、少なくとも約2 mg/mLの水溶性（または溶媒への溶解性）を有することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約0.001 mg/mLかつ約1 mg/mL以下の水溶性（または溶媒への溶解性））も可能である。その他の範囲も可能である。塩は、pH範囲（例えば、pH 1 ~ pH 14）の任意の箇所でこれらのまたはその他の範囲の水溶性を有することができる。

30

【0044】

一部の実施形態において、沈降のために使用される溶媒は、本明細書に記載の1種または複数の表面改変剤を含み、粒子が溶液から沈降するにつれて、1種または複数の表面改変剤からなるコーティングを粒子の周りに形成することができる。表面改変剤は、溶媒中に任意の適切な濃度で、例えば、水性溶液中に、重量/容積%で、少なくとも約0.001%、少なくとも約0.005%、少なくとも約0.01%、少なくとも約0.05%、少なくとも約0.1%、少なくとも約0.5%、少なくとも約1%、または少なくとも約5%の濃度で存在することができる。一部の事例で、表面改変剤は、溶媒中に、重量/容積%で、約5%以下、約1%以下、約0.5%以下、約0.1%以下、約0.05%以下、約0.01%以下、または約0.005%以下の濃度で存在する。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約0.01（重量/容積）%かつ約1（重量/容積）%以下の濃度）も可能である。その他の範囲も可能である。

40

50

芯粒子の別の典型的な形成方法は、凍結乾燥技法を含む。この技法では、医薬品またはその塩を、表面改変剤を含んでいてもよい水性溶液に溶解することができる。この溶液に対イオンを添加し、溶液を直ちに急速凍結し、凍結乾燥することができる。乾燥粉末を、適切な溶媒（例えば、水などの水性溶液）中で所望の濃度で再構成することができる。

【0045】

対イオンを、凍結乾燥用溶媒に任意の適切な範囲で添加することができる。一部の事例で、対イオンの医薬品（例えば、塩）に対する比率は、重量比またはモル比で、少なくとも0.1:1、少なくとも1:1、少なくとも2:1、少なくとも3:1、少なくとも5:1、少なくとも10:1、少なくとも25:1、少なくとも50:1、または少なくとも100:1でよい。一部の事例で、対イオンの医薬品（例えば、塩）に対する比率は、重量比またはモル比で、100:1以下、75:1以下、50:1以下、25:1以下、10:1以下、5:1以下、3:1以下、2:1以下、1:1以下、または0.1:1以下でよい。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも5:1かつ50:1以下の比率）も可能である。その他の範囲も可能である。

10

【0046】

表面改変剤が凍結乾燥前の溶媒中に存在するなら、表面改変剤は、任意の適切な濃度で、例えば、水性溶液中に重量/容積%で、少なくとも約0.001%、少なくとも約0.005%、少なくとも約0.01%、少なくとも約0.05%、少なくとも約0.1%、少なくとも約0.5%、少なくとも約1%、または少なくとも約5%の濃度で存在することができる。一部の例で、表面改変剤は、溶媒中に、重量/容積%で、約5%以下、約1%以下、約0.5%以下、約0.1%以下、約0.05%以下、約0.01%以下、または約0.005%以下の濃度で存在する。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約0.01（重量/容積）%かつ約1（重量/容積）%以下の濃度）も可能である。その他の範囲も可能である。

20

溶媒中に存在する表面改変剤の濃度は、表面改変剤の臨界ミセル濃度（CMC）を超えても超えなくてもよく、使用される個々の表面改変剤に依存する。例えば、実施例の部に記載のように、F127のCMCを超える（1%）およびCMC未満（0.08%）の双方のF127濃度を利用して、医薬品テノフォビルの安定なナノ結晶性粒子を被覆することができる。しかし、アシクロビルモノホスフェートのナノ結晶性粒子は、界面活性剤濃度に対してより一層敏感であり、安定なナノ結晶性粒子は、CMC（約0.1%）未満のF127濃度を利用する場合にのみ形成することができた。

30

他の実施形態において、安定な粒子は、医薬品を含む溶液に過剰な対イオンを添加することによって形成することができる。次いで、沈降物を、遠心などの種々の方法で洗浄することができる。生じたスラリーを超音波で処理することができる。1種または複数の表面改変剤を添加して、生じる粒子を安定化することができる。

【0047】

医薬品粒子を形成するその他の方法もあり得る。いわゆるトップ-ダウン技法は、例えば、粉碎技法および高圧均質化を含む。高圧均質化では、芯として使用予定の材料の懸濁液を、隙間、弁、または開口部を通して圧力下に押しやって粒径を縮小する。いわゆるボトム-アップ技法は、例えば、沈降、乳化（溶媒中に溶解された芯として使用予定の材料を、賦形剤を含むか、または含まない非混和性反溶媒に添加して、芯粒子を形成する）、および噴霧乾燥（芯として使用予定の材料の溶液を気相の反溶媒中に噴霧して芯粒子を形成する）を含む。

40

本明細書に記載の方法とその他の方法との組合せもあり得る。例えば、一部の実施形態で、まず、医薬品からなる芯を沈降によってまず形成し、次いで、芯の大きさを、粉碎工程でさらに縮小する。

【0048】

医薬品からなる粒子の形成に続いて、粒子を、粒子と結びつく、かつ/または粒子を被覆することのできる（第2）表面改変剤を含む溶液に任意選択で暴露することができる。医薬品が第1表面改変剤からなるコーティングを既に含む実施形態では、第2表面改変剤

50

の全部または一部を第2安定剤/表面改変剤で取り代えて、粒子表面の全部または一部を被覆することができる。一部の事例で、第2表面改変剤は、第1表面改変剤に比べて、粒子をより粘液浸透性にすることができる。他の実施形態では、多様な表面改変剤を含むコーティング（例えば、単層または複層の状態を）を有する粒子を形成することができる。他の実施形態では、多様なコーティング（例えば、各コーティングは、異なる表面改変剤を任意選択で含む）を有する粒子を形成することができる。一部の事例で、コーティングは、表面改変剤からなる単層の形態で存在する。その他の配置も可能である。

本明細書に記載の方法のいずれにおいても、粒子を、溶液中で表面改変剤と共に少なくとも約1分間、少なくとも約2分間、少なくとも約5分間、少なくとも約10分間、少なくとも約15分間、少なくとも約20分間、少なくとも約30分間、少なくとも約60分間、またはそれ以上インキュベートすることによって、粒子を被覆することができる。一部の事例で、インキュベーションは、約10時間以下、約5時間以下、または約60分以下で行うことができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、60分以下かつ少なくとも2分のインキュベーション時間）も可能である。

【0049】

粒子のコーティング

図1に図示した実施形態で示すように、芯(16)を、1種または複数の表面改変剤を含むコーティング(20)で取り囲むことができる。一部の実施形態において、コーティングは、芯の表面上に配置される1種または複数の表面改変剤、またはその他の分子で形成される。コーティングおよび表面改変剤の個々の化学的構成および/または成分は、粒子に特定の機能性、例えば、粘膜バリア中での増強された輸送を付与するように選択することができる。

芯を取り囲むコーティングは、芯を完全に取り囲むような実施形態もあり得るが、必ずしも完全に取り囲む必要はないことを理解されたい。例えば、コーティングは、芯の表面積の少なくとも約10%、少なくとも約30%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または少なくとも約99%を取り囲むことができる。一部の事例で、コーティングは、芯を実質的に取り囲む。他の事例で、コーティングは、芯を完全に取り囲む。他の実施形態において、コーティングは、芯の表面積の約100%以下、約90%以下、約80%以下、約70%以下、約60%以下、または約50%以下を取り囲む。上で言及した範囲の組合せ（例えば、芯の表面積の80%を超えかつ100%未満を取り囲む）も可能である。

【0050】

コーティングの成分を、一部の事例では、芯の表面の全域に均一に、他の事例では非均一に分布させることができる。例えば、コーティングは、一部の事例において、材料を全く含まない部分（例えば、孔）を含むことができる。所望なら、コーティング中へのまたはコーティングからの特定の分子および成分の浸透および/または輸送を可能にするが、コーティング中へのまたはコーティングからのその他の分子または成分の浸透および/または輸送を防止するように、コーティングを設計することができる。特定の分子がコーティング中におよび/またはコーティングを横切って浸透および/または輸送される能力は、例えば、コーティングを形成する表面改変剤の充填密度、およびコーティングを形成する成分の化学的および物理的特性に依存する可能性がある。本明細書に記載のように、コーティングは、1つの材料層を、または一部の実施形態では複数の材料層を含むことができる。単一種の表面改変剤、または複数種の表面改変剤が存在できる。

【0051】

粒子のコーティングは、任意の適切な厚さを有することができる。例えば、コーティングは、少なくとも約1nm、少なくとも約5nm、少なくとも約10nm、少なくとも約30nm、少なくとも約50nm、少なくとも約100nm、少なくとも約200nm、少なくとも約500nm、少なくとも約1μm、または少なくとも約5μmの平均厚さを有することができる。一部の事例で、コーティングの平均厚さは、約5μm以下、約1μm以下、約500nm以下、約200nm以下、約100nm以下、約50nm以下、約

30 nm以下、約10 nm以下、または約5 nm以下である。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約1 nmかつ約100 nm以下の平均厚さ）も可能である。その他の範囲も可能である。複数のコーティングを有する粒子の場合、各コーティング層は、上記の厚さの1つを有することができる。

一部の実施形態において、本明細書に記載の組成物および方法は、芯表面に対する表面改変部分の共有結合での連結を必要としないで、芯粒子を親水性表面改変部分で被覆することを可能にすることができる。一部のこのような実施形態では、疎水性表面を有する芯を、本明細書に記載のポリマーで被覆し、それによって、芯自体の特性を実質上改変することなしに、芯表面上に複数の表面改変部分を存在させることができる。例えば、表面改変剤を、芯粒子の外側表面に吸着させることができる。しかし、他の実施形態において、表面改変剤は、共有結合で芯粒子に連結される。

10

【0052】

表面改変剤が芯の表面上に吸着される特定の実施形態において、表面改変剤は、溶液中の表面改変剤の他の分子と、任意選択でその他の成分（例えば、組成物/製剤中の）と共に平衡状態で存在することができる。一部の事例で、吸着された表面改変剤は、芯の表面上に本明細書に記載の密度で存在することができる。表面改変剤は溶液中の他の成分と平衡状態で存在するので、密度は、平均密度でよい。

【0053】

本明細書に記載の粒子のコーティングおよび/または表面改変剤は、例えば、疎水性材料、親水性材料、および/または両親媒性材料などの任意の適切な材料を含むことができる。特定の実施形態において、ポリマーは合成ポリマー（すなわち、天然では產生されないポリマー）を含む。他の実施形態において、ポリマーは天然ポリマー（例えば、タンパク質、多糖、ゴム）である。特定の実施形態において、ポリマーは表面活性を有するポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは非イオン性ポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは非イオン性ブロックコポリマーである。一部の実施形態において、ポリマーは、ジブロックコポリマー、トリブロックコポリマーでよく、例えば、その1つのブロックは疎水性ポリマーであり、別のブロックは親水性ポリマーである。ポリマーは、帯電性、または非帯電性でよい。

20

【0054】

一部の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、比較的親水性のブロックおよび比較的疎水性のブロックを有するブロックコポリマーを含むコーティングを備える。一部の事例で、親水性ブロックは、実質上、粒子の外側表面に存在することができる。例えば、親水性ブロックは、コーティングの外側表面の大部分を形成することができ、粒子を含む水性溶液中で粒子を安定化するのを助けることができる。実質上、コーティングの内部および/または芯粒子の表面に存在して、例えば、コーティングが芯へ付着するのを容易にすることができる。一部の事例で、コーティングは、トリブロックコポリマーを含む表面改変剤を含み、ここで、トリブロックコポリマーは、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を含む。

30

トリブロックコポリマーの親水性ブロックおよび疎水性ブロックの分子量は、芯の粘液粘着性を低減し、かつトリブロックコポリマーと芯との十分な会合を確実にするようにそれぞれ選択することができる。本明細書に記載のように、トリブロックコポリマーの疎水性ブロックの分子量は、トリブロックコポリマーと芯との十分な会合が起こり、それによってトリブロックコポリマーが芯に粘着したままである確率を高めるように選択することができる。驚くべきことに、特定の実施形態において、トリブロックコポリマーの疎水性ブロックの分子量があまりにも小さい（例えば、約2 kDa以下）と、疎水性芯とトリブロックコポリマーとの間の十分な粘着が見込めず、そのため、このような疎水性ブロックを有する粒子は、十分に低減された粘液粘着性を呈示しない可能性のあることがわかった。

40

【0055】

特定の実施形態において、トリブロックコポリマーの疎水性ブロック（例えば、トリブ

50

ロックコポリマー PEG - PPO - PEG の PPO ブロック、ここで、PEG ブロックは PEO ブロックと互換できる) の分子量は、少なくとも約 2 kDa、少なくとも約 3 kDa、少なくとも約 4 kDa、少なくとも約 5 kDa、少なくとも約 6 kDa、少なくとも約 10 kDa、少なくとも約 20 kDa、または少なくとも約 50 kDa である。一部の実施形態において、疎水性のブロックの分子量は、約 100 kDa 以下、約 80 kDa 以下、約 50 kDa 以下、約 20 kDa 以下、約 15 kDa 以下、約 13 kDa 以下、約 12 kDa 以下、約 10 kDa 以下、約 8 kDa 以下、または約 6 kDa 以下である。上で言及した範囲の組合せ (例えば、少なくとも約 3 kDa かつ約 15 kDa 以下) も可能である。その他の範囲も可能である。

【0056】

また、特定の実施形態において、粒子が十分に低減された粘液粘着を呈示するためには、十分な量の親水性ブロック (ポリマーの全重量の関数として) が必要とされることがわかった。例えば、特定の実施形態において、トリブロックコポリマーの少なくとも約 15 重量% (例えば、少なくとも約 20 重量%、少なくとも約 25 重量%、または少なくとも約 30 重量%) を構成する親水性ブロックは、粒子を粘液浸透性にし、一方、粘液粘着性は、親水性ブロックの重量比率がこの限界未満である粒子で一般的に観察された。一部の実施形態において、トリブロックコポリマーの親水性のブロックは、トリブロックコポリマーの少なくとも約 15 重量%、少なくとも約 20 重量%、少なくとも約 25 重量%、少なくとも約 30 重量%、少なくとも約 35 重量%、少なくとも約 40 重量%、少なくとも約 45 重量%、少なくとも約 50 重量%、少なくとも約 55 重量%、少なくとも約 60 重量%、少なくとも約 65 重量%、または少なくとも約 70 重量% を構成する。一部の実施形態において、トリブロックコポリマーの親水性のブロックは、トリブロックコポリマーの約 90 重量% 以下、約 80 重量% 以下、約 60 重量% 以下、約 50 重量% 以下、または約 40 重量% 以下を構成する。上で言及した範囲の組合せ (例えば、少なくとも約 30 重量% かつ約 80 重量% 以下) も可能である。その他の範囲も可能である。

【0057】

一部の実施形態において、親水性のブロック (例えば、トリブロックコポリマー PEG - PPO - PEG の PEG (または PEO) ブロック、ここで、PEG ブロックは PEO ブロックと互換できる) の分子量は、少なくとも約 0.05 kDa、少なくとも約 0.1 kDa、少なくとも約 0.2 kDa、少なくとも約 0.3 kDa、少なくとも約 0.4 kDa、少なくとも約 0.5 kDa、少なくとも約 1 kDa、少なくとも約 2 kDa、少なくとも約 3 kDa、少なくとも約 4 kDa、少なくとも約 5 kDa、少なくとも約 6 kDa、少なくとも約 8 kDa、少なくとも約 10 kDa、少なくとも約 20 kDa、または少なくとも約 50 kDa であり得る。特定の実施形態において、親水性のブロックの分子量は、約 100 kDa 以下、約 80 kDa 以下、約 50 kDa 以下、約 20 kDa 以下、約 15 kDa 以下、約 10 kDa 以下、約 9 kDa 以下、約 8 kDa 以下、約 7 kDa 以下、約 6 kDa 以下、約 5 kDa 以下、約 3 kDa 以下、約 2 kDa 以下、または約 1 kDa 以下であり得る。上で言及した範囲の組合せ (例えば、少なくとも約 0.1 kDa かつ約 3 kDa 以下) も可能である。その他の範囲も可能である。2つの親水性ブロックが疎水性ブロックの両側に位置する実施形態において、2つの親水性ブロックの分子量は、実質上同一であるか、異なってもよい。

【0058】

特定の実施形態において、表面改変剤のポリマーはポリエーテル部分を含む。特定の実施形態において、ポリマーはポリアルキルエーテル部分を含む。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリエチレングリコールである尾部を含む。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリプロピレングリコールである中心部分を含む。特定の実施形態において、ポリマーは、中心部分としてポリブチレングリコールを含む。特定の実施形態において、ポリマーは、中心部分としてポリペンチレングリコールを含む。特定の実施形態において、ポリマーは、中心部分としてポリヘキシレングリコールを含む。特定の実施形態において、ポリマーは、本明細書に記載のポリマーの1種からなるトリブロックコポリマーであ

10

20

30

40

50

る。本明細書中で開示されるように、PEGのいかなる列挙も、ポリエチレンオキシド（PEO）で置き換えることができ、PEOのいかなる列挙もPEGで置き換えることができる。

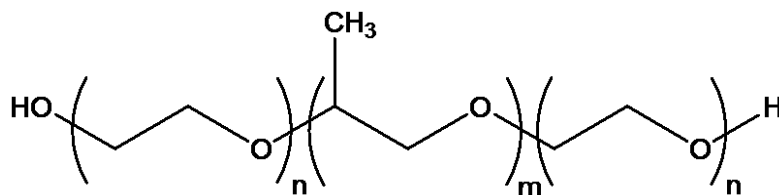
【0059】

特定の実施形態において、ポリマーは、ポリアルキルエーテル（例えば、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール）および別のポリマーからなるトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリアルキルエーテルおよび別のポリアルキルエーテルからなるトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリエチレングリコールおよび別のポリアルキルエーテルからなるトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリプロピレングリコールおよび別のポリアルキルエーテルからなるトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリアルキルエーテルの少なくとも1種の単位を含むトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、2種の異なるポリアルキルエーテルからなるトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリエチレングリコール単位を含むトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、ポリプロピレングリコール単位を含むトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、両側に2つのより親水性の単位が位置するより疎水性の単位からなるトリブロックコポリマーである。特定の実施形態において、親水性単位は、同一種のポリマーである。特定の実施形態において、ポリマーは、両側に2つのより親水性の単位が位置するポリプロピレングリコール単位を含む。特定の実施形態において、ポリマーは、より疎水性の単位が両側に位置する2つのポリエチレングリコール単位を含む。特定の実施形態において、ポリマーは、2つのポリエチレングリコール単位が両側に位置するポリプロピレングリコール単位を有するトリブロックコポリマーである。中心ブロックの両側に位置する2つのブロックの分子量は、実質上同一であるか、異なりうる。

【0060】

特定の実施形態において、ポリマーは、式：

【化1】



を有し、式中、 n は、2～1140（両端を含む）の整数であり、 m は、2～1730（両端を含む）の整数である。特定の実施形態において、 n は、10～170（両端を含む）の整数である。特定の実施形態において、 m は、5～70（両端を含む）の整数である。特定の実施形態において、 n は、少なくとも m の2倍、 m の3倍、または m の4倍である。

【0061】

特定の実施形態において、コーティングは、ポリ（エチレングリコール）-ポリ（プロピレンオキシド）-ポリ（エチレングリコール）のトリブロックコポリマー（以後、「PEG-PPG-PEGトリブロックコポリマー」）を含む表面改変剤を含む。本明細書に記載のように、一部の実施形態では、PEGブロックをPEOブロックで相互に交換することができる。PEG-PPG-PEGトリブロックコポリマーのPEG（またはPEO）およびPPG部分の分子量は、本明細書に記載のように、粒子の粘液粘着を低減するように選択することができる。理論に拘泥するものではないが、PEG-PPG-PEGトリブロックコポリマーを含むコーティングを有する粒子は、少なくとも部分的には粒子表面上に複数のPEG（またはPEO）部分が露呈されているので、対照粒子に比較して粘液粘着を低減することができる。PPG部分は、芯表面に粘着することができ（例えば、

芯表面が疎水性である場合)、そのため芯とトリブロックコポリマーとの間の強力な会合を可能にする。一部の事例で、PEG-PPO-PEGトリブロックコポリマーは、非共有結合性相互作用を介して芯と会合する。比較が目的の場合、対照粒子は、例えば、被覆された粒子と類似の大きさのカルボキシレート修飾ポリスチレン粒子でよい。

【0062】

特定の実施形態において、表面改変剤としては、商品名Pluronic(登録商標)を有するボロキサマーを含むポリマーが挙げられる。本明細書に記載の実施形態で有用である可能性のあるPluronic(登録商標)ポリマーとしては、限定はされないが、F127、F38、F108、F68、F77、F87、F88、F98、L101、L121、L31、L35、L43、L44、L61、L62、L64、L81、L92、N3、P103、P104、P105、P123、P65、P84およびP85が挙げられる。

【0063】

特定のPluronic(登録商標)分子の分子量の例を表1に示す。

【表1】

表1:Pluronic(登録商標)分子の分子量

Pluronic(登録商標)	平均分子量	MW PPO	PEO重量%	MW PEO
L31	1000	900	10	100
L44	2000	1200	40	800
L81	2667	2400	10	267
L101	3333	3000	10	333
P65	3600	1800	50	1800
L121	4000	3600	10	400
P103	4286	3000	30	1286
F38	4500	900	80	3600
P123	5143	3600	30	1543
P105	6000	3000	50	3000
F87	8000	2400	70	5600
F68	9000	1800	80	7200
F127	12000	3600	70	8400
P123	5750	4030	30	1730

【0064】

その他の範囲も、可能であり、本明細書に記載の特定の実施形態において有用である可能性があるが、一部の実施形態において、PEG-PPO-PEGトリブロックコポリマーの疎水性ブロックは、前記分子量の1つ(例えば、少なくとも約3kDaかつ約15kDa以下)を有し、親水性ブロックは、合わせて、ポリマーに対して前記範囲の1つの重量パーセント(例えば、少なくとも約15重量%、少なくとも約20重量%少なくとも約25重量%、または少なくとも約30重量%、かつ約80重量%以下)を有する。これらの基準内に包含される特定のPluronic(登録商標)ポリマーとしては、例えば、F127、F108、P105およびP103が挙げられる。驚くべきことに、例中により詳細に説明するように、これらの特定のPluronic(登録商標)ポリマーは、この基準内に包含されないその他の被試験Pluronic(登録商標)ポリマーを超えて、粒子を粘液浸透性にすることが見出された。さらに、粒子を粘液浸透性にしなかったその他の薬剤としては、ポリビニルピロリドン(PVP/Kollidon)ポリビニルアルコール-ポリエチレングリコールのグラフトコポリマー(Kollicoat IR)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(Methocel)などの特定のポリマー; Tween 20、Tween 80、ソルトールHS15、Triton X100、チロキ

サポール、クレモホールRH40などのオリゴマー；Span20、Span80、オクチルグルコシド、セチルトリメチルアンモニウムブロミド（CTAB）、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）などの小分子が挙げられる。

【0065】

本明細書中の説明の多くは、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置（例えば、PEG-PPG-PEGトリブロックコポリマー）を含むコーティングに関係するが、コーティングは、この配置に限定されるものではないこと、およびその他の配置および材料もあり得ることを認識されたい。例えば、粒子は単一のコーティングを含むが、他の実施形態において、粒子は、1つを超えるコーティング（例えば、少なくとも2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上のコーティング）を含むことができ、各コーティングは、必ずしも、粘液浸透性材料から形成される、または粘液浸透性材料を含む必要はない。一部の事例で、中間コーティング（すなわち、芯表面と外側コーティングとの間のコーティング）は、芯表面への外側コーティングの付着を容易にするポリマーを含むことができる。多くの実施形態において、粒子の外側コーティングは、粘液中での粒子の輸送を容易にする材料を含むポリマーを含む。

10

【0066】

かくして、コーティング（例えば、内側コーティング、中間コーティング、および/または外側コーティング）は、任意の適切なポリマーを含むことができる。一部の事例で、ポリマーは、生体適合性および/または生分解性でよい。一部の事例で、ポリマー性材料は、1種を超えるポリマー（例えば、少なくとも2、3、4、5種またはそれ以上のポリマー）を含むことができる。一部の事例で、ポリマーは、ランダムコポリマーまたは本明細書に記載のようなブロックコポリマー（例えば、ジブロックコポリマー、トリブロックコポリマー）でよい。

20

【0067】

適切なポリマーの非限定的例としては、ポリアミン、ポリエーテル、ポリアミド、ポリエステル、ポリカーバメート、ポリウレア、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリイミド、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリアセチレン、ポリエチレン、ポリエチレンイミン、ポリイソシアネート、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリアクリロニトリル、およびポリアリレートを挙げることができる。具体的なポリマーの非限定的例には、ポリ（カプロラクトン）（PCL）、エチレン酢酸ビニルポリマー（EVA）、ポリ（乳酸）（PLA）、ポリ（L-乳酸）（PLLA）、ポリ（グリコール酸）（PGA）、ポリ（乳酸-co-グリコール酸）（PLGA）、ポリ（L-乳酸-co-グリコール酸）（PLLGA）、ポリ（D,L-ラクチド）（PDLA）、ポリ（L-ラクチド）（PLLA）、ポリ（D,L-ラクチド-co-カプロラクトン）、ポリ（D,L-ラクチド-co-カプロラクトン-co-グリコリド）、ポリ（D,L-ラクチド-co-PEO-co-D,L-ラクチド）、ポリ（D,L-ラクチド-co-PPG-co-D,L-ラクチド）、ポリアルキルシアノアクリレート、ポリウレタン、ポリ-L-リシン（PLL）、ヒドロキシプロピルメタクリレート（HPMA）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ（ヒドロキシ酸）、ポリアンヒドリド、ポリオルトエステル、ポリ（エステルアミド）、ポリアミド、ポリ（エステルエーテル）、ポリカーボネート、ポリアルキレン（ポリエチレンおよびポリプロピレンなど）、ポリアルキレングリコール（ポリ（エチレングリコール）（PEG）、ポリアルキレンオキシド（PEO）など）、ポリアルキレンテレフタレート（ポリ（エチレンテレフタレート）など）、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル（ポリ（酢酸ビニル）など）、ポリビニルハライド（ポリ（塩化ビニル）（PVC）など）、ポリビニルピロリドン、ポリシロキサン、ポリスチレン（PS）、ポリウレタン、誘導体化されたセルロース（アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースなど）、アクリル酸のポリマー（ポリ（メチル（メタ）アクリレート）（PMMA）、ポリ（エチル（メタ）アクリレート）、ポリ（ブチル（メタ）アクリレート）、ポリ

30

40

50

(イソブチル(メタ)アクリレート)、ポリ(ヘキシル(メタ)アクリレート)、ポリ(イソデシル(メタ)アクリレート)、ポリ(ラウリル(メタ)アクリレート)、ポリ(フェニル(メタ)アクリレート)、ポリ(メチルアクリレート)、ポリ(イソプロピルアクリレート)、ポリ(イソブチルアクリレート)、ポリ(オクタデシルアクリレート)など)(本明細書中では、一緒にして「ポリアクリル酸」と呼ばれる)、およびこれらのコポリマーおよび混合物、ポリジオキサノンおよびそのコポリマー、ポリヒドロキシアルカン酸エステル、ポリプロピレンフマレート、ポリオキシメチレン、ポロキサマー、ポリ(オルト)エステル、ポリ(酪酸)、ポリ(吉草酸)、ポリ(ラクチド-co-カプロラクトン)、およびトリメチレンカーボネート、ポリビニルピロリドンを挙げることができる。

【0068】

ポリマーの分子量は、様々でよい。一部の実施形態において、分子量は、少なくとも約0.5 kDa、少なくとも約1 kDa、少なくとも約2 kDa、少なくとも約3 kDa、少なくとも約4 kDa、少なくとも約5 kDa、少なくとも約6 kDa、少なくとも約8 kDa、少なくとも約10 kDa、少なくとも約12 kDa、少なくとも約15 kDa、少なくとも約20 kDa、少なくとも約30 kDa、少なくとも約40 kDa、または少なくとも約50 kDaでよい。一部の実施形態において、分子量は、約50 kDa以下、約40 kDa以下、約30 kDa以下、約20 kDa以下、約12 kDa以下、約10 kDa以下、約8 kDa以下、約6 kDa以下、約5 kDa以下、または約4 kDa以下でよい。上で言及した範囲の組合せ(例えば、少なくとも約2 kDaかつ約15 kDa以下の分子量)も可能である。その他の範囲も可能である。分子量は、光散乱、ゲル浸透クロマトグラフィーなどの任意の公知の技法を使用して測定することができる。その他の方法も当技術分野で公知である。

【0069】

特定の実施形態において、ポリマーは生体適合性である、すなわち、ポリマーは、生存対象中に挿入または注入された場合に、有害な応答を典型的には誘導せず；例えば、それは、重大な炎症、および/または免疫系による、例えば、T細胞介在性応答を介する、ポリマーの急性拒絶を含まない。もちろん、「生体適合性」は、相対的な用語であり、生体組織と高度に適合性であるポリマーについてさえ、若干程度の免疫応答が予想されることが認識されるであろう。しかし、本明細書中で使用する場合、「生体適合性」は、免疫系の少なくとも一部による材料の急性拒絶に関連し、すなわち、対象中に埋め込まれた非生体適合性材料は、免疫系による材料の拒絶を十分に制御できないほど重症で、かつしばしば材料を対象から除去しなければならないほどの程度である対象における免疫応答を誘導する。生体適合性を測定するための1つの簡単な試験は、ポリマーをインビトロで細胞に暴露することであり：生体適合性ポリマーは、中度の濃度、例えば約50 $\mu\text{g} / 10^6$ 細胞の濃度で有意な細胞死を典型的にはもたらさないポリマーである。例えば、生体適合性ポリマーは、繊維芽細胞または上皮細胞などの細胞に暴露された場合に、このような細胞によって貪食、さもなければ取り込まれた場合でさえ、細胞死を引き起こす可能性は約20%未満である。一部の実施形態において、物質は、それをインビトロで細胞に添加することによってもたらされる細胞死が20%以下であり、かつそれらをインビボで投与することが、望ましくない炎症またはその他のこのような有害作用を誘導しないなら、「生体適合性」である。

【0070】

特定の実施形態において、生体適合性ポリマーは、生分解性でよく、すなわち、ポリマーは、体内でまたは細胞に導入された場合などの生理学的環境内で、化学的および/または生物学的に(例えば、細胞機構によってまたは加水分解によって)分解することができる。例えば、ポリマーは、水(例えば、対象内の)への暴露で自発的に加水分解するものでよく、かつ/またはポリマーは、熱(例えば約37の温度)への暴露で分解することができる。ポリマーの分解は、使用されるポリマーまたはコポリマーに応じて、様々な速度で起こり得る。例えば、ポリマーの半減期(ポリマーの50%がモノマーおよび/またはその他の非ポリマー性部分に分解される時間)は、ポリマーに応じて、数日、数週間、

10

20

30

40

50

数か月、または数年の桁でよい。ポリマーは、例えば、酵素活性または細胞機構によって、一部の事例では、例えばリソチーム（例えば、比較的低いpHを有する）への暴露を介して、生物学的に分解される可能性がある。一部の事例で、ポリマーは、モノマー、および/または細胞が細胞に対する重大な毒性効果なしに再使用または処理できる（すなわち、成分を細胞にインビトロで添加した場合に、死滅する細胞は約20%未満である）その他の非ポリマー性部分に分解される可能性がある。例えば、ポリラクチドは加水分解されて乳酸を形成し、ポリグリコリドは加水分解されてグリコール酸を形成する可能性がある、等々。

生分解性ポリマーの例には、限定はされないが、ポリ（エチレングリコール）-ポリ（プロピレンオキシド）-ポリ（エチレングリコール）トリブロックコポリマー、ポリ（ラクチド）（またはポリ（乳酸））、ポリ（グリコリド）、（またはポリ（グリコール酸））、ポリ（オルトエステル）、ポリ（カプロラクトン）、ポリリシン、ポリ（エチレンジミン）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（ウレタン）、ポリ（アンヒドリド）、ポリ（エステル）、ポリ（炭酸トリメチレン）、ポリ（エチレンジミン）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（ウレタン）、ポリ（ α -アミノエステル）など、およびこれらのおよび/またはその他のポリマーのコポリマーまたは誘導体、例えば、ポリ（ラクチド-co-グリコリド）（PLGA）が含まれる。

【0071】

特定の実施形態において、ポリマーは、所望の適用で許容される期間内で生分解性であればよい。インビボ療法などの特定の実施形態において、このような分解は、通常、温度が25~37℃でpHが6~8の生理学的溶液への暴露で、約5年、1年、6か月、3か月、1か月、15日、5日、3日以下、またはさらには1日未満（例えば、1~4時間、4~8時間、4~24時間、1~24時間）の期間で起こる。他の実施形態において、ポリマーは、所望の適用に応じて、約1時間~数週間の期間で分解する。

本明細書に記載のコーティングおよび粒子は、ポリマーを含むことができるが、一部の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、ポリマーでなく（例えば、非ポリマー）かつ医薬品でない疎水性材料を含む。例えば、一部の実施形態において、粒子の全部または一部を、不動態化層で被覆することができる。非ポリマー性材料の非限定的例としては、特定の金属、ワックス、および有機材料（例えば、有機シラン、過フッ化またはフッ化有機材料）を挙げることができる。

【0072】

粘膜粘着性が低減された粒子

本明細書に記載のように、一部の実施形態において、方法は、その粘膜粘着性を低減することが望まれる粒子などの材料を突き止めることを含む。粘液中での拡散性の増加を必要とする材料は、例えば、疎水性であり、多くの水素結合の供与体または受容体を有し、かつ/または高度に帯電性である可能性がある。一部の事例では、材料として、結晶性または非晶性の固体材料を挙げることができる。芯として役立つ可能性のある材料は、本明細書に記載の適切なポリマーで被覆されていてもよく、それによって表面上に複数の表面改変部分を伴う粒子を形成し、粘液粘着性の低減をもたらすことができる。低減された粘液粘着性を有すると記載される本明細書中の粒子は、別法として、粘液中での輸送を増加させること、粘液中で移動性があるか、または粘液浸透性（すなわち、粘液浸透性粒子）であることとして特徴付けられ、粒子は、（陰性）対照粒子に比べて、より速く粘液中で輸送されることを意味する。（陰性）対照粒子は、粘液粘着性であることが知られている粒子、例えば、本明細書に記載のコーティングで被覆されていない非修飾粒子または芯、例えば200nmのカルボキシル化ポリスチレン粒子でよい。

【0073】

特定の実施形態において、本発明の方法は、修飾された物質からなる医薬組成物または製剤を、例えば、対象の粘液または粘膜表面に送達（例えば、局所送達）するために構成された製剤の状態で調製することを含む。表面改変部分を有する医薬組成物は、例えば、粘液粘着性が低減されているため、対象の粘膜表面に送達することができ、対象中の粘膜

10

20

30

40

50

バリアを通過することができ、かつ／または粘膜表面での粒子の滞留を延長し、かつ／または均一な分布を増加させることができる。当業者にとって公知であるように、粘液は、ほとんどの外来粒子を捕捉する粘弾性のある粘着性物質である。捕捉された粒子は、下にある上皮に到達することができず、かつ／または粘液排除機構によって急速に排除される。粒子が下にある上皮に到達するため、および／または粒子が粘膜組織中に長く滞留するためには、粒子は、粘液分泌液に急速に浸透し、かつ／または粘液排除機構を回避しなければならない。粒子が粘液に実質的に粘着しないなら、粒子は、ムチン繊維間の間隙流体中に拡散し、下にある上皮に到達することができ、かつ／または粘液排除機構によって排除されない。したがって、粘液粘着性材料（例えば、疎水性である医薬品）を粒子の粘液粘着性を低減するための材料で修飾することは、下にある上皮への粒子の効率的な送達および／または粘膜表面での粒子の長い滞留を可能にすることができる。

10

【 0 0 7 4 】

さらに、一部の実施形態において、粘液粘着性が低減された本明細書に記載の粒子は、より粘液粘着性である粒子に比較して、組織表面での粒子のより良好な分布を促進し、かつ／または組織表面での存在を延長する。例えば、一部の事例で、胃腸管などの管腔空間は、粘液で被覆された表面で取り囲まれている。このような空間に送達された粘液粘着性粒子は、身体の自然な排除機構によって、管腔空間および粘液で被覆された表面から典型的には除去される。粘液粘着性が低減された本明細書に記載の粒子は、粘液粘着性粒子に比較して、管腔空間に比較的より長期間留まることができる。この長い存在が、粒子の排除を防止または低減することができ、かつ／または組織表面上への粒子のより良好な分布を可能にすることができる。長い存在は、また、管腔空間中での粒子輸送に影響を及ぼすことができ、例えば、粒子は、粘液層中に分布することができ、かつ下にある上皮に到達することができる。

20

【 0 0 7 5 】

特定の実施形態において、本明細書に記載のポリマーで被覆された材料（例えば、芯）は、対象中の粘液または粘膜バリアを通過し、かつ／または粘膜表面で粒子の長い滞留を呈示し、かつ／または粒子の均一な分布を増大させることができ、例えば、このような物質は、（陰性）対照粒子に比較して、対象の身体からより徐々に（少なくとも2倍、5倍、10倍、さらには少なくとも20倍より徐々に）排除される。（陰性）対照粒子は、粘液粘着性であることが知られている粒子、例えば、本明細書に記載のコーティングで被覆されていない非修飾粒子または芯、例えば、200 nmのカルボキシル化ポリスチレン粒子でよい。

30

特定の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、次の通り定義される特定の相対速度 $\langle V_{mean} \rangle_{rel}$ を有する：

【 数 1 】

$$\langle V_{mean} \rangle_{rel} = \frac{\langle V_{mean} \rangle_{\text{サンプル}} - \langle V_{mean} \rangle_{\text{陰性対照}}}{\langle V_{mean} \rangle_{\text{陽性対照}} - \langle V_{mean} \rangle_{\text{陰性対照}}} \quad (\text{等式1})$$

式中、 $\langle V_{mean} \rangle$ は、全平均軌跡平均速度であり、 V_{mean} は、その軌跡にわたって平均化された個々の粒子の速度であり、サンプルは、注目の粒子であり、陰性対照は、200 nmのカルボキシル化ポリスチレン粒子であり、陽性対照は、2 kDa ~ 5 kDaのPEGで密にPEG化された200 nmのポリスチレン粒子である。

40

【 0 0 7 6 】

相対速度は、多様な粒子追跡技法によって測定することができる。例えば、CCDカメラを具備した蛍光顕微鏡を使用して、各サンプル内のいくつかの領域から100Xの倍率下に、粒子、すなわちサンプル、陰性対照、および陽性対照のそれぞれの種類について、66.7 msの時間分解能で15の動画（15コマ/秒）を記録することができる。サンプル、陰性および陽性対照は、軌跡を観察するための蛍光性粒子でよい。別法として、非蛍光性粒子を、蛍光性分子、蛍光性タグを付けた表面薬剤、または蛍光性タグを付けたポ

50

リマーで被覆することができる。最新の画像処理ソフトウェア（例えば、Image P
r o または Meta Morph）を使用して、多様な粒子の少なくとも3.335秒の時
間尺度にわたる個々の軌跡（50コマ）を測定することができる。

【0077】

一部の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、粘液中で、約0.3以上、約0.
4以上、約0.5以上、約0.6以上、約0.7以上、約0.8以上、約0.9以上、約
1.0以上、約1.1以上、約1.2以上、約1.3以上、約1.4以上、約1.5以上
、約1.6以上、約1.7以上、約1.8以上、約1.9以上または約2.0以上の相対
速度を有する。一部の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、粘液中で、約10.
0以下、約8.0以下、約6.0以下、約4.0以下、約3.0以下、約2.0以下、約
1.9以下、約1.8以下、約1.7以下、約1.6以下、約1.5以下、約1.4以下
、約1.3以下、約1.2以下、約1.1以下、約1.0以下、約0.9以下、約0.8
以下、または約1.7以下の相対速度を有する。上で言及した範囲の組合せ（例えば、約
0.5以上かつ約6.0以下の相対速度）も可能である。その他の範囲も可能である。粘
液は、例えば、ヒト頸腔粘液でよい。

10

【0078】

特定の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、粘液または粘膜バリア中で、対照
粒子または対応粒子（例えば、非修飾であるおよび/または本明細書に記載のコーティ
ングで被覆されていない対応粒子）に比べて、より大きな速度または拡散率で拡散するこ
とができる。一部の事例で、本明細書に記載の粒子は、粘液または粘膜バリアを、対照粒子
または対応粒子に比べて、少なくとも約10倍、20倍、30倍、50倍、100倍、2
00倍、500倍、1000倍、2000倍、5000倍、10000倍、またはそれ以上
である速度または拡散率で通過することができる。一部の事例で、本明細書に記載の粒
子は、粘液または粘膜バリアを、対照粒子または対応粒子に比べて、約10000倍以下
、約5000倍以下、約2000倍以下、約1000倍以下、約500倍以下、約200
倍以下、約100倍以下、約50倍以下、約30倍以下、約20倍以下、または約10倍
以下である速度または拡散率で通過することができる。上で言及した範囲の組合せ（例
えば、対照粒子または対応粒子に比べて少なくとも約10倍かつ約1000倍以下）も可能
である。その他の範囲も可能である。

20

【0079】

本明細書に記載の比較の目的に関して、対応粒子は、試験粒子とほぼ同一の大きさ、形
状、および/または密度であるが、試験粒子を粘液中で移動性にするコーティングを欠い
ている。一部の事例で、測定は、約1秒、約0.5秒、約2秒、約5秒、または約10秒
の時間尺度をベースにする。当業者は、二乗幾何平均変位および速度または拡散率を測定
する方法を承知であろう。

30

さらに、本明細書に記載の粒子は、対応粒子または対照粒子に比べて、少なくとも約1
0倍、20倍、30倍、50倍、100倍、200倍、500倍、1000倍、2000
倍、5000倍、10000倍、またはそれ以上である二乗幾何平均変位で、粘液または
粘膜バリアを通過できる。一部の事例で、本明細書に記載の粒子は、対照粒子または対
照粒子に比べて、約10000倍以下、約5000倍以下、約2000倍以下、約1000
倍以下、約500倍以下、約200倍以下、約100倍以下、約50倍以下、約30倍以
下、約20倍以下、または約10倍以下である二乗幾何平均変位で粘液または粘膜バリア
を通過することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、対照粒子または対応粒
子に比べて、少なくとも約10倍かつ約1000倍以下）も可能である。その他の範囲も可
能である。

40

【0080】

一部の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、前記粒子が水中を拡散できる速度
または拡散率にほぼ等しい速度で粘膜バリア中を拡散する。一部の事例で、本明細書に記
載の粒子は、粒子が同一条件下で水中を拡散する拡散率の約1/2以下、約1/4以下、
約1/8以下、約1/16以下、約1/32以下、約1/50以下、約1/100以下、

50

約 1 / 200 以下、約 1 / 300 以下、約 1 / 400 以下、約 1 / 500 以下、約 1 / 600 以下、約 1 / 700 以下、約 1 / 800 以下、約 1 / 900 以下、約 1 / 1000 以下、約 1 / 2000 以下、約 1 / 5000 以下、約 1 / 10,000 以下である速度または拡散率で、粘膜バリアを通過することができる。一部の事例で、本明細書に記載の粒子は、粒子が同一条件下で水中を拡散する拡散率の約 1 / 10,000 以上、約 1 / 5000 以上、約 1 / 2000 以上、約 1 / 1000 以上、約 1 / 900 以上、約 1 / 800 以上、約 1 / 700 以上、約 1 / 600 以上、約 1 / 500 以上、約 1 / 400 以上、約 1 / 300 以上、約 1 / 200 以上、約 1 / 100 以上、約 1 / 50 以上、約 1 / 32 以上、約 1 / 16 以上、約 1 / 8 以上、約 1 / 4 以上、または約 1 / 2 以上である速度または拡散率で、粘膜バリアを通過することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、粒子が同一条件下で水中を拡散する拡散率の約 1 / 5000 以上かつ 1 / 500 未満）も可能である。その他の範囲も可能である。測定は、約 1 秒、約 0.5 秒、約 2 秒、約 5 秒、または約 10 秒の時間尺度をベースにすることができる。

10

【0081】

個々の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、粒子が水中を拡散する拡散率の約 1 / 500 以下である拡散率で、ヒト頸腔粘液中を拡散することができる。一部の事例で、測定は、約 1 秒、約 0.5 秒、約 2 秒、約 5 秒、または約 10 秒の時間尺度をベースにすることができる。

特定の実施形態において、本発明は、ヒト頸腔粘液などの粘液中を、特定の絶対拡散率で移動する粒子を提供する。例えば、本明細書に記載の粒子は、少なくとも約 $1 \times 10^{-4} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $2 \times 10^{-4} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $5 \times 10^{-4} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $1 \times 10^{-3} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $2 \times 10^{-3} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $5 \times 10^{-3} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $1 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $2 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $4 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $5 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $6 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $8 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $1 \times 10^{-1} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $2 \times 10^{-1} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $5 \times 10^{-1} \mu\text{m} / \text{秒}$ 、 $1 \mu\text{m} / \text{秒}$ 、または $2 \mu\text{m} / \text{秒}$ の拡散率で移動できる。一部の事例で、粒子は、約 $2 \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $1 \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $5 \times 10^{-1} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $2 \times 10^{-1} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $1 \times 10^{-1} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $8 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $6 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $5 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $4 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $2 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $1 \times 10^{-2} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $5 \times 10^{-3} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $2 \times 10^{-3} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $1 \times 10^{-3} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $5 \times 10^{-4} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、約 $2 \times 10^{-4} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下、または約 $1 \times 10^{-4} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下の拡散率で移動できる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、約 $2 \times 10^{-4} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以上かつ約 $1 \times 10^{-1} \mu\text{m} / \text{秒}$ 以下）も可能である。その他の範囲も可能である。一部の事例で、測定は、約 1 秒、約 0.5 秒、約 2 秒、約 5 秒、または約 10 秒の時間尺度をベースにしている。

20

30

【0082】

本明細書に記載の移動度（例えば、相対速度、拡散率）の多くは、ヒト頸腔粘液中で測定できるが、それらの移動度は、その他の種類の粘液中でも同様に測定できることを理解されたい。

【0083】

特定の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、表面改変部分を所定の密度で含む。表面改変部分は、例えば、粒子を含む溶媒に暴露される表面改変剤の一部でよい。例として、PEG 部分は、表面改変剤 PEG - PPO - PEG の表面改変部分であり得る。一部の事例で、表面改変部分および / または表面改変剤は、 nm^2 当たりの単位または分子数で、少なくとも約 0.001、少なくとも約 0.002、少なくとも約 0.005、少なくとも約 0.01、少なくとも約 0.02、少なくとも約 0.05、少なくとも約 0.1、少なくとも約 0.2、少なくとも約 0.5、少なくとも約 1、少なくとも約 2、少なくとも約 5、少なくとも約 10、少なくとも約 20、少なくとも約 50、少なくとも約 100 個、またはそれ以上の密度で存在する。一部の事例で、表面改変部分および / または表面改変剤は、 nm^2 当たりの単位または分子数で、約 100 以下、約 50 以下、約 20 以下、約 10 以下、約 5 以下、約 2 以下、約 1 以下、約 0.5 以下、約 0.2 以下、約 0

40

50

．1以下、約0．05以下、約0．02以下、または約0．01以下の密度で存在する。上で言及した範囲の組合せ（例えば、 nm^2 当たりの単位または分子数で少なくとも約0．01かつ約1以下）も可能である。その他の範囲も可能である。一部の実施形態において、上記の密度値は、表面改変剤が溶液中で他の成分と平衡状態で存在する場合の平均密度でよい。

【0084】

当業者は、表面改変部分の平均密度を定量化または推定する方法を承知しているであろう（例えば、そのそれぞれが、参照により本明細書に組み込まれる、S.J. Budijono et al., Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 360(2020)105-110、およびJoshi, et al., Anal. Chim. Acta 104 (1979)153-160を参照されたい）。例えば、本明細書に記載のように、表面改変部分の平均密度は、HPLC定量およびDLS分析を使用して測定することができる。表面密度の測定が課題となる粒子の懸濁液を、まずDLSを使用して大きさと分類する：少量を適切な濃度（例えば、約 $100 \mu\text{g/mL}$ ）まで希釈し、 z 平均直径を粒径の代表測定値と見なす。次いで、残りの懸濁液を2つのアリコートに分割する。HPLCを使用して、第1アリコートを、芯材量の全濃度について、および表面改変部分の全濃度についてアッセイする。再度HPLCを使用して、第2アリコートを、遊離または非拘束の表面改変部分の濃度についてアッセイする。第2アリコートから遊離または非拘束の表面改変部分のみを得るため、粒子、それゆえ任意の拘束された表面改変部分を、超遠心によって除去する。表面改変部分の全濃度から非拘束の表面改変部分の濃度を差し引くことによって、拘束された表面改変部分の濃度を求めることができる。芯材料の全濃度も、第1アリコートから求めたので、芯材料と表面改変部分との間の質量比率を求めることができる。表面改変部分の分子量を利用して、芯材料の質量に対する表面改変部分の数を計算することができる。この数を表面密度の測定に転用するために、芯材料の質量当たりの表面積を計算する必要がある。粒子の体積は、芯材料の質量当たりの表面積の計算を可能にするDLSから得られる直径を有する球のそれとして近似される。この方式で、表面積当たりの表面改変部分の数を求めることができる。この方法は、本明細書に記載の密度値を測定するのに使用された。

【0085】

密度は、また、電子顕微鏡法、光散乱、または表面相互作用の測定などの方法により芯材料の表面積を量化的または見積もること、次いで、液体クロマトグラフィーまたは質量分光法などの方法により粘着された表面改変剤を定量することによって測定することができる。（参照により本明細書に組み込まれる、例えば、Wang et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2008, 47(50), 9726-9を参照されたい）。

【0086】

特定の実施形態において、本明細書に記載の粒子は、粒子のゼータ電位に影響を及ぼす表面改変部分および/または表面改変剤を含む。被覆された粒子のゼータ電位は、例えば、少なくとも約 -100 mV 、少なくとも約 -75 mV 、少なくとも約 -50 mV 、少なくとも約 -40 mV 、少なくとも約 -30 mV 、少なくとも約 -20 mV 、少なくとも約 -10 mV 、少なくとも約 -5 mV 、少なくとも約 5 mV 、少なくとも約 10 mV 、少なくとも約 20 mV 、少なくとも約 30 mV 、少なくとも約 40 mV 、少なくとも約 50 mV 、少なくとも約 75 mV 、または少なくとも約 100 mV でよい。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約 -50 mV かつ約 50 mV 以下のゼータ電位）も可能である。その他の範囲も可能である。

【0087】

本明細書に記載の被覆された粒子は、任意の適切な形状および/または大きさを有することができる。一部の実施形態において、被覆された粒子は、芯の形状に実質上類似した形状を有する。一部の事例で、本明細書に記載の被覆された粒子は、ナノ粒子でよい、すなわち、粒子は、約 $1 \mu\text{m}$ 以下の特徴的な寸法を有し、粒子の特徴的な寸法は、粒子と同一の体積を有する完全球の直径である。他の実施形態において、より大きな大きさもあり得る（例えば、約 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ ）。複数の粒子は、一部の実施形態において、平均サイズ

で特徴づけることもできる（例えば、複数の粒子についての平均最大断面寸法、または平均最小断面寸法）。複数の粒子は、例えば、約 10 μm 以下、約 5 μm 以下、約 1 μm 以下、約 800 nm 以下、約 700 nm 以下、約 500 nm 以下、400 nm 以下、300 nm 以下、約 200 nm 以下、約 100 nm 以下、約 75 nm 以下、約 50 nm 以下、約 40 nm 以下、約 35 nm 以下、約 30 nm 以下、約 25 nm 以下、約 20 nm 以下、約 15 nm 以下、または約 5 nm 以下の平均サイズを有することができる。一部の事例で、複数の粒子は、例えば、少なくとも約 5 nm、少なくとも約 20 nm、少なくとも約 50 nm、少なくとも約 100 nm、少なくとも約 200 nm、少なくとも約 300 nm、少なくとも約 400 nm、少なくとも約 500 nm、少なくとも約 1 μm 、または少なくとも約 5 μm の平均サイズを有することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約 50 nm かつ約 500 nm 以下の平均サイズ）も可能である。その他の範囲も可能である。一部の実施形態において、本明細書に記載の方法で形成される芯の大きさは、ガウス型分布を有する。

【0088】

医薬品

一部の実施形態において、被覆された粒子は、少なくとも 1 種の医薬品を含む。医薬品は、粒子の芯中に、および/または粒子のコーティング中に存在することができる（例えば、芯および/またはコーティングの全体に分散されて）。一部の事例で、医薬品は、粒子の表面上に（例えば、コーティングの外側表面上、コーティングの内側表面、芯の表面上に）配置することができる。医薬品は、一般に公知である技法（例えば、コーティング、吸着、共有結合、またはその他の方法）を使用して、粒子内に含められ、かつ/または粒子の一部に配置されることができる。一部の事例で、医薬品は、粒子を被覆する前または間に、粒子の芯中に存在することができる。一部の事例で、医薬品は、本明細書に記載のように、粒子の芯を形成する際に存在する。

医薬品の非限定的例には、造影用薬剤、診断用薬剤、治療用薬剤、検出可能な標識を有する薬剤、核酸、核酸類似体、小分子、ペプチド模倣体、タンパク質、ペプチド、脂質、ワクチン、ウイルスベクター、ウイルス、および界面活性剤が含まれる。

【0089】

一部の実施形態において、本明細書に記載の粒子中に含まれる医薬品は、標的とされる予定の粘膜組織中で治療、診断、または造影効果を有する。粘膜組織の非限定的例には、口腔（例えば、口内および食道膜および扁桃表面を含む）、眼、消化管（例えば、胃、小腸、大腸、結腸、直腸を含む）、鼻、呼吸器（例えば、鼻、咽頭、気管および気管支の膜）、および生殖器（例えば、膣、頸管および尿道の膜）の組織が含まれる。

【0090】

任意の適切な数の医薬品が、本明細書に記載の粒子中に存在することができる。例えば、少なくとも 1 種、少なくとも 2 種、少なくとも 3 種、少なくとも 4 種、少なくとも 5 種、またはそれ以上であるが、一般には 10 種未満の医薬品が、本明細書に記載の粒子中に存在することができる。

【0091】

粘液粘着性である多くの薬物が、当技術分野で公知であり、本明細書に記載の粒子中で医薬品として使用することができる（例えば、Khanvilkar K, Donovan MD, Flanagan DR, Drug transfer through mucus, Advanced Drug Delivery Reviews 48 (2001) 173-193; Bhat PG, Flanagan DR, Donovan MD. Drug diffusion through cystic fibrotic mucus: steady-state permeation, rheologic properties, and glycoprotein morphology, J Pharm Sci, 1996 Jun;85(6):624-30を参照されたい）。医薬品のさらなる非限定的例には、造影および診断用薬剤（放射線不透過剤、標識化抗体、標識化核酸プローブ、着色または蛍光色素などの色素、等々）、ならびに補助薬（放射線増感剤、トランスフェクション増強剤、走化性薬剤および走化性誘引剤、細胞粘着および/または細胞移動性を調節するペプチド、細胞浸透化剤、ワクチン増強剤、多剤耐性抑制剤および/または流出ポンプ阻害剤、等々）が含まれる。

【 0 0 9 2 】

医薬品のさらなる非限定的例には、アロキシブリン、アウラノフィン、アザプロパゾン、ベノリレート、ジフルニサル、エトドラク、フェンブフェン、フェノプロフェンカルシウム (calcim)、フルルビプロフェン、フロセミド、イブプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、エタボン酸ロテブレドノール、メクロフェナム酸、メフェナム酸、ナブメトン、ナプロキセン、オキシフェンブタゾン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、スリンドク、アルベンダゾール、ヒドロキシナフトエ酸ベフェニウム、カンベンダゾール、ジクロロフェン、イベルメクチン、メベンダゾール、オキサムニキン、オクスフェンダゾール、エンボン酸オキサントール、プラジカンテル、エンボン酸ピランテル、チアベンダゾール、アミオダロン H C 1、ジソピラミド、酢酸フレカイニド、硫酸キニジンが含まれる。

抗菌剤：ベネタミンペニシリン、シノキサシン、シプロフロキサシン H C 1、クラリスロマイシン、クロファジミン、クロキサシリン、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、エリスロマイシン、エチオナミド、イミペネム、ナリジクス酸、ニトロフラントイン、リファンピシン、スピラマイシン、スルファベンズアミド、スルファドキシム、スルファメラジン、スルファセトアミド、スルファジアジン、スルファフラゾール、スルファメトキサゾール、スルファピリジン、テトラサイクリン、トリメトプリム、ジクマロール、ジピリダモール、ニクマロン、フェニンジオン、アモキサピン、マプロチリン H C 1、ミアンセリン H C 1、ノルトリプチリン H C 1、トラゾドン H C 1、マレイン酸トリミプラミン、アセトヘキサミド、クロルプロパミド、グリベンクラミド、グリクラジド、グリビジド、トラザミド、トルブタミド、ベクラミド、カルバマゼピン、クロナゼパム、エトトイン、メトイン、メススキシミド、メチルフェノバルビトン、オクスカルバゼピン、パラメタジオン、フェナセミド、フェノバルビトン、フェニトイン、フェンスキシミド、プリミドン、スルチアム、バルプロ酸、アンホテリシン、硝酸ブトコナゾール、クロトリマゾール、硝酸エコナゾール、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ミコナゾール、ナタマイシン、ナイスタチン、硝酸スルコナゾール、テルビナフィン H C 1、テルコナゾール、チオコナゾール、ウンデセン酸、アロプリノール、プロベネシド、スルフィン - ピラゾン、アムロジピン、ベニジピン、ダロジピン、ジリタゼム H C 1、ジアゾキシド、フェロジピン、酢酸グアナベンズ、イスラジピン、ミノキシジル、ニカルジピン H C 1、ニフェジピン、ニモジピン、フェノキシベンズアミン H C 1、プラゾシン H C 1、レセルピン、テラゾシン H C 1、アモジアキン、クロロキン、クロルプログアナニル H C 1、ハロファントリリン H C 1、メフロキン H C 1、ログアニル H C 1、プリメタミン、硫酸キニン、メシル酸ジヒドロエルゴタミン、酒石酸エルゴタミン、マレイン酸メチセルギド、マレイン酸ピゾチフェン、コハク酸スマトリブタン、アトロピン、ベンズヘキサニル H C 1、ピペリデン、エトプロパジン H C 1、ヒオスシアミン、メベンゾレートプロミド、オキシフェンシルシミン H C 1、トロピカミド、アミノグルテチミド、アムサクリン、アザチオプリン、ブスルファン、クロランブシル、シクロスポリン、ダカルバジン、エストラムスチン、エトボシド、ロムスチン、メルファラン、メルカプトプリン、メトトレキサート、マイトマイシン、ミトタン、ミトザントロン、プロカルバジン H C 1、クエン酸タモキシフェン、テストラクトン、ベンズニダゾール、クリオキノール、デコキネート、ジヨードヒドロキシキノリン、フロ酸ジロキサニド、ジニトルミド、フルゾリドン、メトロニダゾール、ニモラゾール、ニトロフラゾン、オルニダゾール、チニダゾール、カルピマゾール、プロピルチオウラシル、アルプラゾラム、アミロバルビトン、バルビトン、ペンタゼパム、プロマゼパム、プロムペリドール、プロチゾラム、ブトバルビトン、カルプロマール、クロルジアゼボキシド、クロルメチアゾール、クロルプロマジン、クロバザム、クロチアゼパム、クロザピン、ジアゼパム、ドロペリドール、エチナメート、フルナニゾン、フルニトラゼパム、フルオプロマジン、デカン酸フルベンチキソル、デカン酸フルフェナジン、フルラゼパム、ハロペリドール、ロラゼパム、ロルメタゼパム、メダゼパム、メプロバメート、メタカロン、ミダゾラム、ニトラゼパム、オキサゼパム、ペントバルビトン、ペルフェナジンピモジド、プロクロルペラジン、スルピリド、テマゼパム、チオリダジン、トリアゾラム、ゾピクロン、アセブトロール、ア

10

20

30

40

50

ルブレノロール、アテノロール、ラベタロール、メトプロロール、ナドロール、オクスブレノロール、ピンドロール、プロプラノロール、アムリノン、ジギトキシン、ジゴキシン、エノキシモン、ラナトシドC、メジゴキシン、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、ブデソニド、酢酸コルチゾン、デゾキシメタゾン、デキサメタゾン、酢酸フルドロコルチゾン、フルニソリド、フルコルトロン、プロピオン酸フルチカゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン、トリアムシノロン、アセタゾラミド、アミロリド、ベンドロフルアジド、ブメタニド、クロロチアジド、クロルサリドン、エタクリン酸、フルセミド、メトラゾン、スピロノラクトン、トリアムテレン、メシル酸プロモクリプチン、マレイン酸リスリド、ピサコジル、シメチジン、シサプリド、ジフェノキシレートH C 1、ドンペリドン、ファモチジン、ロペラミド、メサラジン、ニザチジン、オメプラゾール、オンダンセルトンH C 1、ラニチジンH C 1、スルファサラジン、アクリバステン、アステミゾール、シンナリジン、シクリジン、シプロヘプタジエン (cyproheptadine) H C 1、ジメンヒドリネート、フルナリジンH C 1、ロラタジン、メクロジンH C 1、オキサトミド、テルフェナジン、ベザフィブレート、クロフィブレート、フェノフィブレート、ゲムフィブロジル、プロブコール、硝酸アミル、三硝酸グリセリル、二硝酸イソソルビド、一硝酸イソソルビド、四硝酸ペンタエリスリトール、 β -カロテン、ビタミンA、ビタミンB 2、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK、コデイン、デキストロプロピオキシフェン、ジアモルフィン、ジヒドロコデイン、メプタジノール、メタドン、モルフィン、ナルブフィン、ペンタゾシン、クエン酸クロミフェン、ダナゾール、エチニルエストラジオール、酢酸メドロキシプロゲステロン、メストラノール、メチルテストステロン、ノルエチステロン、ノルゲストレル、エストラジオール、結合型エストロゲン (oestrogens)、プロゲステロン、スタノゾロール、スチルベストロール (stibestrol)、テストステロン、チボロン、アンフェンタミン、デクスアンフェタミン、デクスフェンフルラミン、フェンフルラミン、およびマジンドールが含まれる。

【 0 0 9 3 】

用途および医薬組成物

本明細書に記載の粒子は、任意の適切な適用分野で採用することができる。一部の事例で、粒子は、医薬組成物（例えば、本明細書に記載のような）、例えば、医薬品（例えば、薬物、治療用薬剤、診断用薬剤、造影用薬剤）を粘液または粘膜表面を通して、またはそれらに送達するのに使用される医薬組成物の一部である。医薬組成物は、少なくとも1種の本明細書に記載の粒子、および1種または複数の薬学上許容される賦形剤または担体を含むことができる。組成物は、対象の状態を治療、予防、および/または診断する際に使用することができ、方法は、対象に医薬組成物を投与することを含む。本明細書に記載の物品および方法によって治療される予定の対象または患者は、霊長類、哺乳動物、および脊椎動物など、ヒトまたは非ヒト動物を意味することができる。

【 0 0 9 4 】

対象を治療することに関連する方法は、疾患、障害および/または状態にかかりやすい可能性はあるが、それらを有するとは診断されなかった対象における疾患、障害または状態の発症を予防すること；疾患、障害または状態を抑制すること、例えば、その進行を遅らせること；ならびに疾患、障害または状態を軽減すること、例えば、疾患、障害および/または状態の退縮をもたらすことを含むことができる。疾患または状態を治療することは、たとえ根底にある病態生理学に影響を及ぼさなくても、個々の疾患または状態の少なくとも1種の症状を改善すること（例えば、このような薬剤が疼痛の原因を治療することはないにしても鎮痛薬を投与することによって対象の疼痛を治療するような）を含む。

一部の実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、例えば低減された粘液粘性のため、対象中の粘膜表面に送達され、対象中の粘膜バリア（例えば、粘液）を通過することができ、かつ/または粘膜表面で粒子の長い滞留および/または均一分布の増加を呈示することができる。粘膜組織の非限定的例には、口腔（例えば、頬側および食道の膜、ならびに扁桃表面を含む）、眼、消化管（例えば、胃、小腸、大腸、結腸、直腸を含む）、鼻腔、呼吸器（例えば、鼻腔、咽頭、気管および気管支の膜を含む）、生殖器（例え

ば、膣、頸管および尿道の膜を含む)が含まれる。

【0095】

本明細書に記載され、かつ本明細書に記載の物品および方法により使用するための医薬組成物は、薬学上許容される賦形剤または担体を含むことができる。薬学上許容される賦形剤または薬学上許容される担体としては、任意の適切な種類の非毒性で不活性な固体、半固体または液体状充填剤、希釈剤、封入用材料または製剤用補助剤を挙げることができる。薬学上許容される担体として役立つことのできる材料の若干の例が、糖(ラクトース、グルコースおよびスクロースなど)、デンプン(コーンスターチおよび馬鈴薯デンプンなど)、セルロースおよびその誘導体(カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロースなど)、粉末トラガカントゴム、麦芽、ゼラチン、タルク、カカオバターおよび坐薬用ワックスなどの賦形剤、油(ピーナツ油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油およびダイズ油など)、グリコール(プロピレングリコールなど)、エステル(オレイン酸エチルおよび라우リン酸エチルなど)、寒天、界面活性剤(Tween 80など)、緩衝剤(水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなど)、アルギン酸、パイロジェン不含有、等張生理食塩水、Ringer 溶液、エチルアルコール、リン酸緩衝溶液であり、その他の非毒性で適合性のある滑沢剤(ラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウムなど)、着色剤、放出剤、被覆剤、甘味剤、風味剤および芳香剤、保存剤および酸化防止剤も、製剤業者の判断により組成物中に存在することができる。当業者に認識されているように、賦形剤は、後で説明するような投与経路、送達される医薬品、薬剤送達のタイムコース、等々に基づいて選択することができる。

10

20

【0096】

本明細書に記載の粒子を含む医薬組成物は、当技術分野で公知の任意の経路を経て対象に投与することができる。これらの経路としては、限定はされないが、経口、舌下、経鼻、皮内、皮下、筋内、経直腸、経膣、静脈内、動脈内、槽内、腹腔内、硝子体内、眼周囲、局所(散剤、クリーム剤、軟膏剤、または点滴剤として)、頬側、および吸入投与が挙げられる。一部の実施形態において、本明細書に記載の組成物は、注射剤(静脈内、筋内または皮下)、点滴輸液調合物、または坐剤のように非経口で投与することができる。当業者に認識されているように、所望の生物学的効果を達成するための投与経路および有効投与量は、投与される薬剤、標的器官、投与される調合物、投与のタイムコース、治療される疾患、意図した用途、等々によって決めることができる。

30

例として、粒子を、経鼻スプレーとして製剤化される予定の医薬組成物中に、医薬組成物が鼻腔粘液層を横切って送達されるように含めることができる。別の例として、粒子を、吸入剤として製剤化される予定の医薬組成物中に、医薬組成物が肺粘液層を横切って送達されるように含めることができる。別の例として、組成物を経口で投与する予定なら、組成物を、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、またはシロップ剤として製剤化することができる。同様に、粒子を、眼、消化管、鼻腔、呼吸器、直腸、尿道および/または膣組織を経て送達する予定の医薬組成物中に含めることができる。

【0097】

眼粘液膜経路によって適用するため、対象組成物を、点眼薬または眼用軟膏として製剤化することができる。これらの製剤は、従来の手段で調製することができ、所望なら、対象組成物を、緩衝またはpH調整剤、張性調節剤、粘度調整剤、懸濁安定化剤、保存剤、およびその他の医薬用賦形剤などの、任意の従来の添加物と混合することができる。さらに、特定の実施形態において、本明細書に記載の対象組成物を、凍結乾燥するか、または噴霧乾燥などの別の適切な乾燥技法にかけることができる。

40

一部の実施形態において、吸入薬またはエアロゾル製剤の状態での投与できる本明細書に記載の粒子は、吸入療法で有用な補助薬、診断用薬剤、造影用薬剤、または治療用薬剤などの1種または複数の医薬品を含む。粒子状薬剤の粒径は、エアロゾル製剤の投与により、実質上すべての薬剤の肺中への吸入を可能にするようでなければならず、例えば、約20 μm以下、例えば、約1~約10 μm、例えば、約1~約5 μmでよいが、その他の範

50

囲もあり得る。薬剤の粒径は、従来の手段で、例えば粉碎またはミクロ化によって縮小することができる。別法として、粒子状薬剤を、懸濁液の霧化により肺へ投与することができる。最終的なエアロゾル製剤は、製剤の総重量に対して重量/重量%で、例えば、0.005~90%、0.005~50%、0.005~10%、約0.005~5%、または0.01~1.0%の薬剤を含むことができる。その他の範囲も可能である。

【0098】

本明細書に記載の製剤は、成層圏のオゾンの分解を誘発する可能性のある成分を含まないことが望ましいが、必須ではない。とりわけ、一部の実施形態において、 CCl_3F 、 CCl_2F_2 、および CF_3CCl_3 などのクロロフルオロカーボンを含まないか、本質的にそれらから構成されることはない噴射剤が、選択される。

10

【0099】

エアロゾルは、噴射剤を含むことができる。噴射剤は、噴射剤よりもより高い極性および/またはより高い沸点を有する補助薬を含んでいてもよい。使用できる極性補助薬としては、(例えば、 C_{2-6})脂肪族アルコールおよびポリオール、例えば、エタノール、イソプロパノールおよびプロピレングリコール、好ましくはエタノールが挙げられる。一般に、ほんの少量(例えば、0.05~3.0重量/重量%)極性補助薬が、分散液の安定性を改善するに必要とされる可能性があり、5重量/重量%の過剰量で使用すると、薬剤を溶解してしまう傾向があり得る。本明細書に記載の実施形態による製剤は、約1重量/重量%未満、例えば、約0.1重量/重量%の極性補助薬を含むことができる。しかし、本明細書に記載の製剤は、極性補助薬、特にエタノールを実質上含まなくてもよい。適切な揮発性補助薬としては、プロパン、*n*-ブタン、イソブタン、ペンタンおよびイソペンタンなどの飽和炭化水素、ならびにジメチルエーテルなどのアルキルエーテルが挙げられる。一般に、噴射剤の50重量/重量%までの揮発性補助薬、例えば、1~30重量/重量%の揮発性飽和 C_1-C_6 炭化水素を含むことができる。任意選択で、本発明によるエアロゾル製剤は、さらに、1種または複数の界面活性剤を含むことができる。界面活性剤は、吸入による投与に生理学上許容されることがある。この範疇に含まれる界面活性剤としては、例えば、*L*-ホスファチジルコリン(PC)、1,2-ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)、オレイン酸、トリオレイン酸ソルビタン、モノオレイン酸ソルビタン、モノラウリン酸ソルビタン、モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン、天然レシチン、オレイルポリオキシエチレンエーテル、ステアシルポリオキシエチレンエーテル、ラウリルポリオキシエチレンエーテル、オキシエチレンとオキシプロピレンとのブロックコポリマー、合成レシチン、ジオレイン酸ジエチレングリコール、オレイン酸テトラヒドロフルフルル、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、モノオレイン酸グリセリル、モノステアリン酸グリセリル、モノリシノール酸グリセリル、セチルアルコール、ステアシルアルコール、ポリエチレングリコール400、セチルピリジニウムクロリド、塩化ベンザルコニウム、オリーブ油、モノラウリン酸グリセリル、コーン油、綿実油、およびヒマワリ種子油が含まれる。

20

30

【0100】

本明細書に記載の製剤は、適切な容器中の選択された噴射剤および/または噴射助剤中に、例えば、超音波処理の助けを借りて、粒子を分散させることによって調製することができる。粒子を、噴射助剤中に懸濁し、適切な容器中に充填することができる。次いで、容器のバルブを所定の位置に取り付け、噴射剤を加圧し、バルブを通して従来の方式で充填することにより導入する。かくして、粒子を、液化された噴射剤中に懸濁または溶解し、定量バルブを備え作動装置に適合した容器中に密閉する。このような定用量吸入器は、当技術分野で周知である。計量バルブは、10~500 μL 、好ましくは25~150 μL を計量して供給することができる。特定の実施形態において、分散は、粒子(乾燥粉末として留まる)のための乾燥粉末吸入器(例えば、回転吸入器)を使用して達成することができる。他の実施形態では、ナノ球を水性流体中に懸濁させ、肺中でエアロゾル化される予定の微細小滴に霧化することができる。

40

50

粒子の分解をもたらす可能性のある剪断に薬剤を暴露することを最小化するので、音波式ネブライザーを使用することもできる。通常、水性エアロゾルは、粒子の水性溶液または懸濁液を薬学上許容される従来の担体および安定剤 / 表面改変剤と一緒にして製剤化することによって調製される。担体および安定剤 / 表面改変剤は、個々の組成物の要件により相違するが、典型的には、非イオン性界面活性剤 (Tween、Pluronic (登録商標)、またはポリエチレングリコール)、血清アルブミンのような無害なタンパク質、ソルビタンエステル、オレイン酸、レシチン、グリシンなどのアミノ酸、緩衝剤、塩類、糖、または糖アルコールが挙げられる。エアロゾルは、一般に、等張溶液から調製される。

【0101】

経口投与用の液状剤形としては、薬学上許容されるエマルジョン、マイクロエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップ、およびエリキシルが挙げられる。活性成分 (すなわち、ミクロ粒子、ナノ粒子、リポソーム、ミセル、ポリヌクレオチド / 脂質複合体) に加えて、液状剤形は、当技術分野で一般的に使用される不活性希釈剤、例えば、水またはその他の溶媒; 可溶化剤および乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1, 3 - ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油 (とりわけ、綿実油、落花生油、コーン油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油)、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ソルビタンのポリエチレングリコールと脂肪酸とのエステル、およびこれらの組合せを含むことができる。不活性希釈剤の他にも、経口組成物は、

【0102】

注射可能な調合物、例えば、注射可能な滅菌水性または油性懸濁液は、適切な分散または湿潤化剤および懸濁剤を使用し、公知の技術により製剤化することができる。注射可能な滅菌調合物は、また、非経口で許容される非毒性の希釈剤または溶媒中の溶液注射可能な溶液、懸濁液、または乳液、例えば 1, 3 - ブタンジオール中溶液でよい。採用できる許容される媒体および溶媒としては、数ある中でも、水、リンガー溶液、米国薬局方溶液、および等張性塩化ナトリウム溶液がある。さらに、滅菌した不揮発性油が、溶媒または懸濁媒体として通常的に採用される。この目的の場合、合成のモノまたはジグリセリドを

はじめとする任意の刺激の強くない不揮発性油を採用することができる。さらに、オレイン酸などの脂肪酸が、注射可能物質の調合物中で使用される。特定の実施形態において、粒子は、1 (重量 / 容積) % のカルボキシメチルセルロースナトリウムおよび 0.1 (容積 / 容積) % の Tween 80 を含む担体流体中に懸濁される。

【0103】

注射可能な製剤を、例えば、細菌保持性フィルターを通す濾過によって、あるいは使用前に滅菌水またはその他の注射可能な滅菌媒体中に溶解または分散させることのできる滅菌固体組成物の形態中に滅菌剤を組み込むことによって、滅菌することができる。

経直腸または経腔投与のための組成物は、外界温度で固体であるが、体温で液体であり、それゆえ直腸腔または腔腔中で融解し粒子を放出する、カカオバター、ポリエチレングリコール、または坐剤用ワックスなどの適切な非刺激性賦形剤または担体と粒子を混合することによって調製できる坐剤でよい。

【0104】

経口投与用の固形剤形としては、カプセル剤、錠剤、丸剤、散剤、および顆粒剤が挙げられる。このような固形剤形において、粒子は、少なくとも 1 種の不活性で薬学上許容される賦形剤または担体、例えば、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カリウムと、および / または a) デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、およびケイ酸などの充填剤または増量剤、b) 例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、およびアラビアゴムなどの結合剤、c) グリセロールなどの保湿剤、d) 寒天、炭酸カルシウム、馬鈴薯またはタピオカデン

ブン、アルギン酸、特定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウムなどの崩壊剤、e) パラフィンなど野嶋溶解遅延剤、f) 第四級アンモニウム化合物などの吸収加速剤、g) 例えば、セチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロールなどの湿潤化剤、h) カオリンおよびベントナイトクレーなどの吸収剤、およびi) タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固形ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、およびこれらの混合物などの滑沢剤と混合される。カプセル剤、錠剤、および丸剤の場合、剤形は、緩衝剤を含むこともできる。

【0105】

類似タイプの固形組成物を、ラクトースまたは乳糖、および高分子量ポリエチレングリコールのような賦形剤を使用する軟質および硬質充填ゼラチンカプセル剤中の充填剤として採用することもできる。

10

固形剤形の錠剤、糖衣錠、カプセル剤、丸剤、および顆粒剤は、医薬製剤の技術分野で周知の腸溶性コーティングおよびその他のコーティングなどのコーティングおよび殻を備えて調製することができる。それらは、任意選択で不透明化剤を含むことができ、かつ腸管の特定部分で活性成分のみを、またはそれらを優先的に遅延方式で放出する組成を有することもできる。使用できる包埋用組成物の例が、ポリマー性物質およびワックスである。

類似タイプの固形組成物を、ラクトースまたは乳糖、および高分子量ポリエチレングリコールのような賦形剤を使用する軟質および硬質充填ゼラチンカプセル剤中の充填剤として採用することもできる。

20

本発明の医薬組成物の局所または経皮投与のための剤形としては、軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、散剤、溶液剤、噴霧剤、吸入剤、または貼付剤が挙げられる。粒子は、滅菌条件下で、薬学上許容される担体、および必要なら任意の必要とされる保存剤または緩衝剤と混合される。眼用製剤、点耳剤、および点眼剤も、本発明の範囲内で考えられる。

【0106】

軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、およびゲル剤は、本明細書に記載の粒子に加えて、動物性および植物性脂肪、油、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカントゴム、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、タルク、および酸化亜鉛、またはこれらの混合物などの賦形剤を含むことができる。

30

散剤および噴霧剤は、本明細書に記載の粒子に加えて、ラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、およびポリアミド粉末、またはこれらの物質の混合物などの賦形剤を含むことができる。噴霧剤は、さらに、クロロフルオロ炭化水素などの通例的噴射剤を含むことができる。

経皮貼付剤は、身体への化合物の制御送達を提供する付加的利点を有する。このような剤形は、適当な媒体中にマイクロ粒子またはナノ粒子を溶解または分散させることによって調製することができる。吸収増強剤を使用して、皮膚を横切る化合物の流れを増大させることができる。速度は、速度調製膜を準備することによって、あるいは粒子をポリマーマトリックスまたはゲル中に分散させることによって調節することができる。

【0107】

40

医薬品を含む本明細書に記載の粒子を、送達すべき対象に、診断、予防または治療処置の一部として、治療有効量の組み込まれた医薬品を対象に送達するのに十分な量で、投与することができる。一般に、医薬品または成分の有効量は、所望の生物学的応答を誘発するのに必要な量を指す。粒子中の医薬品の所望濃度は、限定はされないが、薬物の吸収、不活化、および排泄速度、ならびに対象組成物からの化合物の送達速度、所望の生物学的最終目標、送達されるべき薬剤、標的組織などをはじめとする多くの因子に依存する。投与値は、また、軽減されるべき状態の重症度によって変わること留意されたい。さらに、任意の特定の対象に対して、個体の必要性および組成物の投与を管理または監督する者の専門的判断により、具体的な投与レジメンを長期にわたって調節すべきであることを理解されたい。典型的には、投与は、当業者に公知の技法を使用して決定される。

50

【 0 1 0 8 】

医薬品は、組成物および／または製剤中に、任意の適切な量で、例えば、組成物および／または製剤の少なくとも約 0.01 重量%、少なくとも約 0.1 重量%、少なくとも約 1 重量%、少なくとも約 5 重量%、少なくとも約 10 重量%、少なくとも約 20 重量%で存在することができる。一部の事例で、医薬品は、組成物および／または製剤中に、約 30 重量%以下、約 20 重量%以下、約 10 重量%以下、約 5 重量%以下、約 2 重量%以下、または約 1 重量%以下で存在することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約 0.1 重量%かつ約 10 重量%以下の量で存在）も可能である。その他の範囲も可能である。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 0.1 ~ 2 重量%で存在する。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 2 ~ 20 重量%で存在する。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 0.2 重量%で存在する。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 0.4 重量%で存在する。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 1 重量%で存在する。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 2 重量%で存在する。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 5 重量%で存在する。特定の実施形態において、医薬品は、組成物および／または製剤の約 10 重量%で存在する。

10

対象に投与すべき医薬品の濃度および／または量は、いずれも、当業者が容易に決めることができる。また、既知の方法を、局所組織中での濃度、粒子からの拡散速度、ならびに治療用製剤の投与の前および後の局所血流をアッセイするために利用可能である。

20

【 0 1 0 9 】

本明細書に記載の組成物および／または製剤は、任意の適切な容量オスマル濃度を有することができる。一部の実施形態において、本明細書に記載の組成物および／または製剤は、少なくとも約 0 mOsm/L、少なくとも約 5 mOsm/L、少なくとも約 25 mOsm/L、少なくとも約 50 mOsm/L、少なくとも約 75 mOsm/L、少なくとも約 100 mOsm/L、少なくとも約 150 mOsm/L、少なくとも約 200 mOsm/L、少なくとも約 250 mOsm/L、または少なくとも約 310 mOsm/L の容量オスマル濃度を有することができる。特定の実施形態において、本明細書に記載の組成物および／または製剤は、約 310 mOsm/L 以下、約 250 mOsm/L 以下、約 200 mOsm/L 以下、約 150 mOsm/L 以下、約 100 mOsm/L 以下、約 75 mOsm/L 以下、約 50 mOsm/L 以下、約 25 mOsm/L 以下、または約 5 mOsm/L 以下の容量オスマル濃度を有することができる。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約 0 mOsm/L かつ約 50 mOsm/L 以下の容量オスマル濃度）も可能である。その他の範囲も可能である。組成物および／または製剤の容量オスマル濃度は、例えば、組成物および／または製剤の溶媒中に存在する塩の濃度を変更することによって変えることができる。

30

【 0 1 1 0 】

一組の実施形態において、組成物および／または製剤は、1 種または複数のキレート化剤を含む。本発明で使用するキレート化剤は、金属イオンと反応して 1 つまたは複数の結合を介して錯体を形成する能力を有する化学化合物を指す。1 つまたは複数の結合は、典型的には、イオン結合または配位結合である。キレート化剤は、無機または有機化合物でよい。特定の化学反応（例えば、酸化反応）を触媒する能力のある金属イオンは、その金属イオンがキレート化剤に結合されて錯体を形成すると、その触媒活性を喪失することがある。したがって、キレート化剤は、それが金属イオンに結合されると、保存性を示す可能性がある。ホスホン酸、アミノカルボン酸、ヒドロキシカルボン酸、ポリアミン、アミノアルコール、およびポリマー性キレート化剤などの、保存性を有する任意の適切なキレート化剤を使用することができる。キレート化剤の具体例には、限定はされないが、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ニトリロ三酢酸（NTA）、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）、N-ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸（HEDTA）、テトラハウ酸塩、トリエチルアミンジアミン、ならびにこれらの塩および誘導体が含まれる

40

50

。特定の実施形態において、キレート化剤はEDTAである。特定の実施形態において、キレート化剤はEDTAの塩である。特定の実施形態において、キレート化剤はEDTA二ナトリウムである。

【0111】

キレート化剤は、本明細書に記載の被覆された粒子を含む組成物および/または製剤中に、適切な濃度で存在することができる。特定の実施形態において、キレート化剤の濃度は、約0.0003重量%以上、約0.001重量%以上、約0.003重量%以上、約0.01重量%以上、約0.03重量%以上、約0.05重量%以上、約0.1重量%以上、約0.3重量%以上、約1重量%以上、または約3重量%以上である。特定の実施形態において、キレート化剤の濃度は、約3重量%以下、約1重量%以下、約0.3重量%以下、約0.1重量%以下、約0.05重量%以下、約0.03重量%以下、約0.01重量%以下、約0.003重量%以下、約0.001重量%以下、または約0.0003重量%以下である。上で言及された範囲の組合せ（例えば、約0.01重量%以上かつ約0.3重量%以下の濃度）も可能である。その他の範囲も可能である。特定の実施形態において、キレート化剤の濃度は約0.001~0.1重量%である。特定の実施形態において、キレート化剤の濃度は約0.005重量%である。特定の実施形態において、キレート化剤の濃度は約0.01重量%である。特定の実施形態において、キレート化剤の濃度は約0.05重量%である。特定の実施形態において、キレート化剤の濃度は約0.1重量%である。

10

【0112】

20

一部の実施形態において、キレート化剤は、本明細書に記載の形成工程および/または希釈工程中に、組成物および/または製剤中に、1つまたは複数の上で言及した範囲で存在することができる。特定の実施形態において、キレート化剤は、最終製品において、組成物および/または製剤中に、1つまたは複数の上で言及した範囲で存在することができる。

一部の実施形態において、本明細書に記載の被覆された粒子を含む組成物および/または製剤中に、抗微生物薬を含めることができる。本発明で使用される抗微生物薬は、細菌、微生物、真菌、ウイルス、孢子、酵母、カビ、および感染症に一般的に付随するその他の微生物などの微生物から阻害、予防、または保護するのに有効な生物活性薬剤を指す。抗微生物薬の例には、セファロスポリン、クリンダマイシン、クロラムフェニコール(chloramphenicol)、カルバペネム、ミノサイクリン、リファンピン、ペニシリン、モンバクタム、キノロン、テトラサイクリン、マクロライド、スルファ抗生物質、トリメトプリム、フシジン酸、アミノグリコシド、アンホテリシンB、アゾール、フルシトシン、シロフンギン、殺菌性ニトロフラン化合物、金属銀または約2.5重量%の銅を含む銀合金のナノ粒子、クエン酸銀、酢酸銀、安息香酸銀、ビスマスピリチオン、亜鉛ピリチオン、過炭酸亜鉛、過ホウ酸亜鉛、ビスマス塩、パラベン（例えば、安息香酸のメチル、エチル、プロピル、ブチルおよびオクチルエステル）、クエン酸、塩化ベンザルコニウム(BAC)、リファマイシン、および過炭酸ナトリウムが含まれる。

30

【0113】

抗微生物薬は、本明細書に記載の被覆された粒子を含む組成物および/または製剤中に、適切な濃度で存在することができる。特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は、約0.0003重量%以上、約0.001重量%以上、約0.003重量%以上、約0.01重量%以上、約0.03重量%以上、約0.1重量%以上、約0.3重量%以上、約1重量%以上、または約3重量%以上でよい。特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は、約3重量%以下、約1重量%以下、約0.3重量%以下、約0.1重量%以下、約0.03重量%以下、約0.01重量%以下、約0.003重量%以下、約0.001重量%以下、または約0.0003重量%以下でよい。上で言及した範囲の組合せ（例えば、約0.001重量%以上かつ約0.1重量%以下の濃度）も可能である。その他の範囲も可能である。特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は約0.001~0.05重量%である。特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は約0.002重量%である。

40

50

特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は約 0.005 重量%である。特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は約 0.01 重量%である。特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は約 0.02 重量%である。特定の実施形態において、抗微生物薬の濃度は約 0.05 重量%である。

【0114】

一部の実施形態において、抗微生物薬は、本明細書に記載の形成工程および/または希釈工程中に、組成物および/または製剤中に、1つまたは複数の上で言及した範囲で存在することができる。特定の実施形態において、抗微生物薬は、最終製品中において、組成物および/または製剤中に、1つまたは複数の上で言及した範囲で存在することができる。

10

【0115】

一部の実施形態において、等張化剤を、本明細書に記載の被覆された粒子を含む組成物および/または製剤中に含めることができる。本発明で使用される等張化剤は、製剤の組成を所望の容量オスマル濃度範囲に調節するのに使用できる化合物または物質を指す。特定の実施形態において、所望の容量オスマル濃度範囲は、血液と適合性のある等張範囲である。特定の実施形態において、所望の容量オスマル濃度範囲は低張性である。特定の実施形態において、所望の容量オスマル濃度範囲は高張性である。等張化剤の例には、グリセリン、ラクトース、マンニトール、デキストロース、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム、ソルビトール、生理食塩水 - クエン酸ナトリウム (SSC) などが含まれる。特定の実施形態において、1種または複数の等張化剤の組合せを使用することができる。特定の実施形態において、等張化剤はグリセリンである。特定の実施形態において、等張化剤は塩化ナトリウムである。

20

【0116】

等張化剤 (本明細書に記載のような) は、本明細書に記載の被覆された粒子を含む組成物および/または製剤中に適切な濃度で存在することができる。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は、約 0.003 重量%以上、約 0.01 重量%以上、約 0.03 重量%以上、約 0.1 重量%以上、約 0.3 重量%以上、約 1 重量%以上、約 3 重量%以上、約 10 重量%以上、約 20 重量%以上、または約 30 重量%以上である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は、約 30 重量%以下、約 10 重量%以下、約 3 重量%以下、約 1 重量%以下、約 0.3 重量%以下、約 0.1 重量%以下、約 0.03 重量%以下、約 0.01 重量%以下、または約 0.003 重量%以下である。上で言及した範囲の組合せ (例えば、約 0.1 重量%以上かつ約 10 重量%以下の濃度) も可能である。その他の範囲も可能である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 0.1 ~ 1% である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 0.5 ~ 3% である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 0.25 重量%である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 0.45 重量%である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 0.9 重量%である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 1.2 重量%である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 2.4 重量%である。特定の実施形態において、等張化剤の濃度は約 5 重量%である。

30

【0117】

一部の実施形態において、等張化剤は、本明細書に記載の形成工程および/または希釈工程中に、組成物および/または製剤中に1つまたは複数の上で言及した範囲で存在することができる。特定の実施形態において、等張化剤は、最終製品中において、組成物および/または製剤中に1つまたは複数の上で言及した範囲で存在することができる。

40

【0118】

多分散性は、製剤中の粒子の大きさの不均一性に関する尺度である。粒径の不均一性は、製剤中での個々の粒径の相違および/または凝集の存在のためである可能性がある。粒子を含む製剤は、粒子が本質的に同一の大きさ、形状、および/または質量を有するなら、実質上均一または「単分散性」と考えられる。種々の大きさ、形状、および/または質量の粒子を含む製剤は、不均一または「多分散性」と考えられる。

50

一部の実施形態において、組成物および／または製剤の多分散性は、付加されたイオン強度の存在下で、および／または組成物および／または製剤の付加されたイオン強度が比較的一定に保持されるか、増加する（例えば、形成工程および／または希釈工程中で）場合に、比較的一定である。特定の実施形態において、イオン強度が少なくとも50%まで増加すると、多分散性は、約200%以下、約150%以下、約100%以下、約75%以下、約50%以下、約30%以下、約20%以下、約10%以下、約3%以下、または約1%以下まで増加する。特定の実施形態において、イオン強度を少なくとも50%まで増加させると、多分散性は、約1%以上、約3%以上、約10%以上、約30%以上、または約100%以上まで増加する。上で言及した範囲の組合せ（例えば、50%以下かつ1%以上の多分散性の増加）も可能である。その他の範囲も可能である。

10

【0119】

本明細書に記載の製剤のイオン強度は、製剤に1種または複数のイオン性等張化剤（例えば、NaClなどの塩）を添加することなどの種々の手段を介して調節することができる。特定の実施形態において、本明細書に記載の製剤のイオン強度は、約0.0005M以上、約0.001M以上、約0.003M以上、約0.01M以上、約0.03M以上、約0.1M以上、約0.3M以上、約1M以上、約3M以上、または約10M以上である。特定の実施形態において、本明細書に記載の製剤のイオン強度は、約10M以下、約3M以下、約1M以下、約0.3M以下、約0.1M以下、約0.03M以下、約0.01M以下、約0.003M以下、約0.001M以下、または約0.0005M以下である。上で言及した範囲の組合せ（例えば、約0.01M以上かつ約1M以下のイオン強度）も可能である。その他の範囲も可能である。特定の実施形態において、本明細書に記載の製剤のイオン強度は約0.1Mである。特定の実施形態において、本明細書に記載の製剤のイオン強度は約0.15Mである。特定の実施形態において、本明細書に記載の製剤のイオン強度は約0.3Mである。

20

【0120】

本明細書に記載の製剤の多分散性は、多分散性指数（PDI）により測定することができる。PDIは、粒径分布の幅を記述するのに使用され、強度自動補正機能を用いて測定された動的光散乱（DLS）のキュムラント（cumulant）解析から計算されることが多い。これらのパラメーターに関する計算は、規格ISO13321:1996EおよびISO22412:2008中で規定されている。PDIは、無次元であり、DLSで測定する場合、0.05より小さい値は高度に単分散性のサンプルを示し、0.7を超える値は極めて広範な粒径分布を示すように目盛られている。特定の実施形態において、本明細書に記載の製剤および／または組成物のPDIは、約1以下、約0.9以下、約0.8以下、約0.7以下、約0.6以下、約0.5以下、約0.4以下、約0.3以下、約0.2以下、約0.15以下、約0.1以下、約0.05以下、約0.01以下、または約0.005以下である。特定の実施形態において、本明細書に記載の製剤および／または組成物のPDIは、約0.005以上、約0.01以上、約0.05以上、約0.1以上、約0.15以上、約0.2以上、約0.3以上、約0.4以上、約0.5以上、約0.6以上、約0.7以上、約0.8以上、約0.9以上、または約1以上である。上で言及した範囲の組合せ（例えば、約0.1以上かつ約0.5以下のPDI）も可能である。その他の範囲も可能である。特定の実施形態において、製剤のPDIは約0.1である。特定の実施形態において、製剤のPDIは約0.15である。特定の実施形態において、製剤のPDIは約0.2である。

30

40

【0121】

特定の実施形態において、本明細書に記載の組成物および／または製剤は、高度に分散性であることができ、凝集体を形成する傾向がない。粒子が凝集体を形成する場合でさえも、組成物および／または製剤を激しくかき混ぜることなしに、凝集体を容易に個々の粒子に解体することができる。

【0122】

本明細書に記載の組成物および／または製剤は、任意の適切なpH値を有することがで

50

きる。用語「pH」は、特記しない限り、外界温度（例えば、約20、約23、または約25）で測定されたpHを指す。組成物および/または製剤は、例えば、酸性のpH、中性のpH、または塩基性のpHを有し、例えば、組成物および/または製剤が送達される予定である、身体中の場所に依存する可能性がある。特定の実施形態において、組成物および/または製剤は、生理学的pHを有する。特定の実施形態において、組成物および/または製剤のpH値は、少なくとも約1、少なくとも約2、少なくとも約3、少なくとも約4、少なくとも約5、少なくとも約6、少なくとも約6.2、少なくとも約6.4、少なくとも約6.6、少なくとも約6.8、少なくとも約7、少なくとも約7.2、少なくとも約7.4、少なくとも約7.6、少なくとも約7.8、少なくとも約8、少なくとも約8.2、少なくとも約8.4、少なくとも約8.6、少なくとも約8.8、少なくとも約9、少なくとも約10、少なくとも約11、または少なくとも約12である。特定の実施形態において、組成物および/または製剤のpH値は、約12以下、約11以下、約10以下、約9以下、約8.8以下、約8.6以下、約8.4以下、約8.2以下、約8以下、約7.8以下、約7.6以下、約7.4以下、約7.2以下、約7以下、約6.8以下、約6.6以下、約6.4以下、約6.2以下、約6以下、約5以下、約4以下、約3以下、約2以下、または約1以下である。上で言及した範囲の組合せ（例えば、少なくとも約5かつ約8.2以下のpH値）も可能である。その他の範囲も可能である。特定の実施形態において、本明細書に記載の組成物および/または製剤のpH値は、少なくとも約5で、かつ約8以下である。

【0123】

一組の実施形態において、複数の被覆された粒子を含む組成物が提供される。被覆された粒子は、固体の医薬品またはその塩を含むか、それらから形成される芯を備え、医薬品またはその塩は、pH範囲の間の任意の箇所で、25で約1mg/mL以下（例えば、25で約0.1mg/mL以下）の水溶性を有し、芯粒子の少なくとも約80重量%（例えば、少なくとも約90重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約99重量%）を構成する。被覆された粒子は、また、芯粒子を取り囲む表面改変剤を含むコーティングを備え、表面改変剤は、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、疎水性ブロックは少なくとも約3kDaの分子量を有し、親水性ブロックはトリブロックの少なくとも約30重量%を構成し、親水性ブロックは少なくとも約2kDaの分子量を有するポリ（エチレンオキシド）であるか、それを含み、疎水性ブロックは芯粒子の表面と会合し（例えば、吸着によって）、親水性ブロックは、被覆された粒子の表面に存在し被覆された粒子を親水性にし、表面改変剤は、芯粒子の表面上に、少なくとも約0.001分子/nm²（例えば、少なくとも約0.01分子/nm²）の密度で存在する。被覆された粒子は、粘液中で0.5を超える相対速度を有する。被覆された粒子は、少なくとも約20nmかつ約1μm以下（例えば、約500nm以下）の平均サイズを有することができる。コーティングの厚さは、例えば、約50nm以下（例えば、約30nm以下、約10nm以下）でよい。組成物は、1種または複数の薬学上許容される担体、添加物、および/または希釈剤を含む医薬組成物でよい。一部の実施形態において、複数の被覆された粒子は、組成物中に1種または複数の遊離表面改変剤（例えば、Pluronic（登録商標）P123、Pluronic（登録商標）P103、Pluronic（登録商標）P105、Pluronic（登録商標）F127、Pluronic（登録商標）F108、およびこれらの組合せから選択されるポロキサマー）と共に溶液（例えば、水性溶液）の状態で存在する。溶液中の遊離表面改変剤および粒子表面上の表面改変剤は、同一の表面改変剤でよく、かつ組成物中で互いに平衡状態で存在することができる。組成物中に存在する表面改変剤の総量は、例えば、約0.001重量%~約5重量%（例えば、約0.01重量%~約5重量%、または約0.1重量%~5重量%）でよい。一部の実施形態において、組成物のPDIは、約0.1以上かつ約0.5以下（例えば、約0.3以下、または約0.2以下）である。このような組成物の患者または対象への（例えば、粘液または粘液膜への）使用および/または送達方法も提供される。

【0124】

一組の実施形態において、複数の被覆された粒子を含む組成物が提供される。被覆された粒子は、固形医薬品またはその塩を含むか、それらから形成された芯粒子を含み、医薬品またはその塩は、pH範囲中の任意の点において25で約1mg/mL以下（例えば、25で約0.1mg/mL以下）の水溶性を有し、芯粒子の少なくとも約80重量%（例えば、少なくとも90重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約99重量%）を構成する。被覆された粒子は、また、芯粒子を取り囲む表面改変剤を含むコーティングを備え、表面改変剤は、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を有するポロキサマーであり、ポロキサマーは、Pluronic（登録商標）P123、Pluronic（登録商標）P103、Pluronic（登録商標）P105、Pluronic（登録商標）F127、Pluronic（登録商標）F108、およびこれらの組合せから選択され、疎水性ブロックは芯粒子の表面と会合し（例えば、吸着により）、親水性ブロックは被覆された粒子の表面に存在し被覆された粒子を親水性にし、表面改変剤は、芯粒子の表面上に少なくとも約0.001分子/nm²（例えば、少なくとも約0.01分子/nm²）の密度で存在する。被覆された粒子は、粘液中で0.5を超える相対速度を有する。被覆された粒子は、少なくとも約20nmかつ約1μm以下（例えば、約500nm以下）の平均サイズを有する。コーティングの厚さは、例えば、約50nm以下（例えば、約30nm以下、約10nm以下）でよい。組成物は、1種または複数の薬学上許容される担体、添加物、および/または希釈剤を含む医薬組成物でよい。一部の実施形態において、複数の被覆された粒子は、組成物中に1種または複数の遊離ポロキサマー（例えば、Pluronic（登録商標）P123、Pluronic（登録商標）P103、Pluronic（登録商標）P105、Pluronic（登録商標）F127、Pluronic（登録商標）F108、およびこれらの組合せから選択される）と共に溶液（例えば、水性溶液）の状態が存在する。溶液中の遊離ポロキサマーおよび粒子表面上のポロキサマーは、同一のポロキサマーでよく、組成物中で互いに平衡状態で存在することができる。組成物中に存在するポロキサマーの全量は、例えば、約0.001重量%~約5重量%の間（例えば、約0.01重量%~約5重量%の間、または約0.1重量%~約5重量%の間）でよい。一部の実施形態において、組成物のPDIは、約0.1以上かつ約0.5以下（例えば、約0.3以下、または約0.2以下）である。このような組成物の患者または対象への（例えば、粘液または粘液膜への）使用および/または送達方法も提供される。

【0125】

上記の特定の実施形態において、ポロキサマーは、Pluronic（登録商標）P123、Pluronic（登録商標）P103、Pluronic（登録商標）P105、Pluronic（登録商標）F127、およびこれらの組合せから選択される。一部の実施形態において、ポロキサマーは、Pluronic（登録商標）F68またはPluronic（登録商標）F108ではない。

本発明のこれらのその他の態様は、本発明の特定の個々の実施形態を例示することを意図するが、特許請求の範囲で規定されるようなその範囲を限定することを意図しない以下の例を考慮して、さらに認識されるであろう。

【実施例】

【0126】

（例1）

以下に非重合体固体粒子を粘液侵入性粒子に形成する方法の非限定的な例を述べる。疎水性天然蛍光化合物であるピレンを芯粒子として用い、種々の安定剤の存在下でナノ粉碎法により調製した。安定剤は表面改変剤としての役割を果たし、芯粒子の周囲のコーティングを形成した。粘液に侵入する被覆粒子の有効性を判定するために種々の安定剤/表面改変剤を評価した。

【0127】

ピレンを水性分散液中で種々の安定剤/表面改変剤の存在下でナノ粉碎して、特定の安

10

20

30

40

50

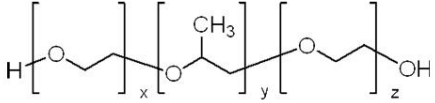
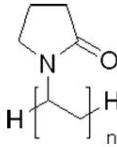
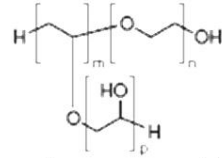
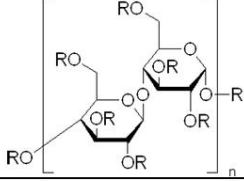
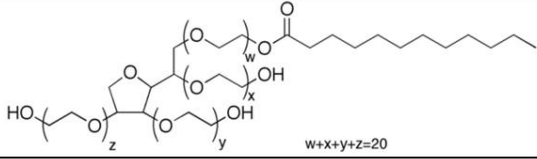
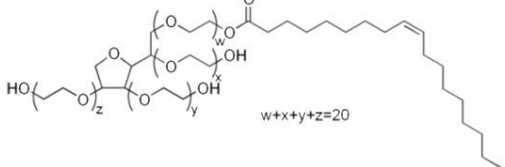
定剤／表面改変剤が１）数百ナノメートルへの粒径の減少を促進し、２）粘液成分と粒子との相互作用を最小限にし、粘液付着を妨げるような粘液不活性コーティングにより得られたナノ粒子の表面を物理的に（非共有結合により）被覆することができるかどうかを判定した。これらの実験においては、安定剤／表面改変剤は、芯粒子の周囲のコーティングとしての役割を果たし、得られた粒子を粘液中のそれらの可動性について試験したが、他の実施形態においては、安定剤／表面改変剤は、粘液中の粒子の可動性を増加させ得る他の表面改変剤と交換することができる。試験した安定剤／表面改変剤は、ポリ（エチレンオキシド）-ポリ（プロピレンオキシド）-ポリ（エチレンオキシド）ブロックコポリマー（Pluronic（登録商標））、ポリビニルピロリドン（Kollidon）およびヒドロキシプロピルメチルセルロース（Methocel）などの薬学的に適切な賦形剤を含む、表２に示す様々なポリマー、オリゴマーおよび小分子を含んでいた。

10

【 0 1 2 8 】

【表 2】

表2.モデル化合物としてのピレンとともに試験した安定剤／表面改変剤。

ポリマー安定剤／表面改変剤			
安定剤	頭字語または商品名	等級または分子量	化学構造
ポリ(エチレンオキシド)-ポリ(プロピレンオキシド)-ポリ(エチレンオキシド)ブロックコポリマー	Pluronic(登録商標)	F127, F108, F68, F87, F38, P123, P105, P103, P65, L121, L101, L81, L44, L31	
ポリビニルピロリドン	PVP	Kollidon 17 (9K), Kollidon 25 (26K), Kollidon 30 (43K)	
PVA-ポリ(エチレングリコール)グラフトコポリマー		Kollicoat IR	
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	HPMC	Methocel E50, Methocel K100	
オリゴマー安定剤／表面改変剤			
Tween 20			 <p style="text-align: center;">$w+x+y+z=20$</p>
Tween 80			 <p style="text-align: center;">$w+x+y+z=20$</p>

Solutol HS 15	
Triton X100	
Tyloxapol	
Cremophor RH 40	
小分子安定剤／表面改変剤	
Span 20	
Span 80	
オクチルグルコシド	

10

20

30

40

臭化セチルトリメチルアンモニウム(Cetytrimethylammonium bromide) (CTAB)	
ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)	

50

【 0 1 2 9 】

ピレンおよび上述の安定剤 / 表面改変剤のうちの 1 種を含む水性分散液を粉碎媒体とともに粒径が 5 0 0 n m 未満に減少するまで粉碎した。表 3 に様々な安定剤 / 表面改変剤の存在下でのナノ粉碎により得られたピレン粒子の粒径特性を示す。粒径を動的光散乱法によって測定した。P l u r o n i c s (登録商標) L 1 0 1、L 8 1、L 4 4、L 3 1、S p a n 2 0、S p a n 8 0 またはオクチルグルコシドを安定剤 / 表面改変剤として用いた場合、安定なナノ懸濁液を得ることができなかった。したがって、粒径の減少を効果的に促進できなかったため、これらの安定剤 / 表面改変剤をさらなる検討から除外した。

【 0 1 3 0 】

【表 3】

表3.種々の安定剤／表面改変剤とともにピレンを粉砕することにより得られたナノ懸濁液中のDLSにより測定した粒径。

安定剤	N平均径(nm)
Pluronic (登録商標) F127	239
Pluronic (登録商標) F108	267
Pluronic (登録商標) P105	303
Pluronic (登録商標) P103	319
Pluronic (登録商標) P123	348
Pluronic (登録商標) L121	418
Pluronic (登録商標) F68	353
Pluronic (登録商標) P65	329
Pluronic (登録商標) F87	342
Pluronic (登録商標) F38	298
Pluronic (登録商標) L101	測定できず*
Pluronic (登録商標) L81	測定できず*
Pluronic (登録商標) L44	測定できず*
Pluronic (登録商標) L31	測定できず*
PVA 13K	314
PVA 31K	220
PVA 85K	236
Kollicoat IR	192
Kollidon 17 (PVP 9K)	163
Kollidon 25 (PVP 26K)	210
Kollidon 30 (PVP 43K)	185
Methocel E50	160
Methocel K100	216
Tween 20	381
Tween 80	322
Solutol HS	378
Triton X100	305
Tyloxapol	234
Cremophor RH40	373
SDS	377
CTAB	354
Span 20	測定できず*
Span 80	測定できず*
オクチルグルコシド	測定できず*

*Pluronic(登録商標)L101、L81、L44、L31、Span20、Span80、オクチルグルコシドとともに粉砕した場合、ピレン粒径を効果的に減少させ、安定なナノ懸濁液を生成することができなかった。

【 0 1 3 1 】

ヒト子宮頸腔粘液 (CVM) 中の生成したナノ懸濁液由来のピレンナノ粒子の可動性および分布を蛍光顕微鏡および多粒子追跡ソフトウェアを用いて明らかにした。一般的な実験では、0.5 μL のナノ懸濁液 (必要な場合、界面活性剤濃度の約 1 % に希釈) を 20 μL の新鮮な CVM に対照とともに加えた。通常のナノ粒子 (Invitrogen 製

10

20

30

40

50

の200nm黄緑色蛍光カルボン酸修飾ポリスチレンマイクロスフェア)を、CVM試料のバリア特性を確認するための陰性対照として用いた。PEG5kDaを共有結合により被覆した赤色蛍光ポリスチレンナノ粒子を、安定したMPP挙動を有する陽性対照として用いた。CCDカメラを装着した蛍光顕微鏡を用いて、各種の粒子の各試料、すなわち、試料(ピレン)、陰性対照および陽性対照内の数箇所のエリアについて100倍の倍率のもとに66.7msの時間分解能で15秒の動画(15コマ/秒)を記録した(ピレンの天然青色蛍光がピレンナノ粒子を対照と別個に観察することを可能にした)。次に、高度な画像処理ソフトウェアを用いて、複数の粒子の個々の軌跡を少なくとも3.335秒(50コマ)の時間スケールにわたって測定した。得られる輸送データは、軌跡平均速度 V_{mean} 、すなわち、その軌跡にわたって平均した個々の粒子の速度、および集合体平均速度 $\langle V_{mean} \rangle$ 、すなわち、粒子の集合体にわたって平均した V_{mean} の形でここに示す。異なる試料間の容易な比較を可能にし、CVM試料の貫通性の自然変動に関して速度データを標準化するために、式1に示す式により相対試料速度 $\langle V_{mean} \rangle_{rel}$ を求めた。

10

【0132】

生成したピレンナノ粒子の可動性を定量化する前に、粘液試料中のそれらの空間分布を低倍率(10x、40x)での顕微鏡検査により評価した。ピレン/Methocelナノ懸濁液は、CVM中で均一な分布を達成せず、粘液メッシュサイズよりはるかに大きい領域に著しく凝集した(データは示さず)ことが認められた。そのような凝集は、粘液付着挙動を示唆するものであり、粘液侵入を効果的に妨げる。したがって、粒子の可動性のさらなる定量的解析は、不必要であると考えられた。陽性対照と同様に、すべての他の供試ピレン/安定剤系は、CVM中でかなり均一な分布を達成した。複数の粒子の追跡により、すべての供試試料中で陰性対照は、高度に束縛されたが、陽性対照の $\langle V_{mean} \rangle$ が陰性対照のものより有意に大きかったことによって実証された(表4)ように、陽性対照は、高度に可動性であったことが確認された。

20

【0133】

【表 4】

表4. CVM中のピレン/安定剤ナノ粒子(試料)および対照の集合体平均速度 $\langle V_{\text{mean}} \rangle$ ($\mu\text{m}/\text{秒}$)および相対試料速度 $\langle V_{\text{mean}} \rangle_{\text{rel}}$

安定剤	陰性対照		陽性対照		試料		試料(相対)	
	$\langle V_{\text{mean}} \rangle$	SD	$\langle V_{\text{mean}} \rangle$	SD	$\langle V_{\text{mean}} \rangle$	SD	$\langle V_{\text{mean}} \rangle_{\text{rel}}$	SD
Pluronic F127	0.58	0.18	5.97	0.54	6.25	0.72	1.05	0.18
Pluronic F108	0.43	0.64	5.04	1.88	4.99	1.47	0.99	0.55
Pluronic P105	0.56	0.52	4.38	1.36	4.47	2.11	1.02	0.69
Pluronic P103	0.58	0.77	4.5	2.01	4.24	1.95	0.93	0.74
Pluronic P123	0.56	0.44	4.56	1.44	3.99	1.66	0.86	0.54
Pluronic L121	0.42	0.3	4.27	2.04	0.81	0.51	0.10	0.16
Pluronic F68	0.56	0.52	4.38	1.36	0.81	0.7	0.07	0.23
Pluronic P65	0.26	0.25	4.52	2.15	0.53	0.56	0.06	0.15
Pluronic F87	0.95	1.6	5.06	1.34	0.74	0.78	-0.05	-0.43
Pluronic F38	0.26	0.1	5.73	0.84	0.54	0.29	0.05	0.06
Pluronic L101*								
Pluronic L81*								
Pluronic L44*								
Pluronic L31*								
Kollicoat IR	0.62	0.62	5.39	0.55	0.92	0.81	0.06	0.22
Kollidon 17	1.69	1.8	5.43	0.98	0.82	0.59	-0.23	-0.52
Kollidon 25	0.41	0.34	5.04	0.64	1.29	1.09	0.19	0.25
Kollidon 30	0.4	0.2	4.28	0.57	0.35	0.11	-0.01	0.06
Methocel E50**								
Methocel K100**								
Tween 20	0.77	0.93	5.35	1.76	1.58	2.02	0.18	0.49
Tween 80	0.46	0.34	3.35	1.89	0.94	0.5	0.17	0.24
Solutol HS	0.42	0.13	3.49	0.5	0.8	0.6	0.12	0.20
Triton X100	0.26	0.13	4.06	1.11	0.61	0.19	0.09	0.07
Tyloxapol	0.5	0.5	3.94	0.58	0.42	0.23	-0.02	-0.16
Cremophor RH40	0.48	0.21	3.2	0.97	0.49	0.24	0.00	0.12
Span 20*								
Span 80*								
オクチルグルコシド*								
SDS	0.3	0.12	5.99	0.84	0.34	0.15	0.01	0.03
CTAB	0.39	0.09	4.75	1.79	0.32	0.31	-0.02	-0.07

*安定なナノ懸濁液を生成せず、したがって、粘液侵入性でなかった(CVM中の速度は測定せず)

**CVM中で凝集し、したがって、粘液侵入性でなかった(CVM中の速度は測定せず)

【 0 1 3 4 】

特定(ただし、重要なことに、すべてとは限らない)の安定剤/表面改変剤の存在下で得られたナノ粒子が陽性対照と同じ速度またはほぼ同じ速度でCVM中を移動したことが発見された。具体的には、Pluronic (登録商標) F127、F108、P123、P105およびP103で安定化したピレンナノ粒子は、表4および図2Aに示すよ

うに、陰性対照のものを約1桁超え、陽性対照のものと実験誤差範囲内で区別できなかった $\langle V_{mean} \rangle$ を示した。これらの試料について、 $\langle V_{mean} \rangle_{rel}$ 値は、図2Bに示すように、0.5を超えていた。

他方で、他の安定剤/表面改変剤を用いて得られたピレンナノ粒子は、0.4以下、ほとんどの安定剤/表面改変剤について0.1以下のそれぞれの $\langle V_{mean} \rangle_{rel}$ 値(表4および図2B)によって実証されたように大部分はまたは完全に固定化していた。さらに、図3A~3Dは、粒子の集合体内の V_{mean} の分布を示すヒストグラムである。これらのヒストグラムは、Pluronic(登録商標)87およびKollidon25で安定化した試料(粘液付着性試料の代表として選択)の粘液付着挙動と対照的にPluronic(登録商標)F127およびPluronic(登録商標)F108で安定化した試料の粘液拡散挙動を示している(同様なヒストグラムがPluronic(登録商標)P123、P105およびP103で安定化した試料で得られたが、ここに示さない)。

【0135】

ピレンナノ結晶を粘液侵入性にするPluronic(登録商標)の特性を確認するために、ピレン/Pluronic(登録商標)ナノ結晶の $\langle V_{mean} \rangle_{rel}$ を、用いたPluronic(登録商標)のPPOブロックの分子量およびPEO重量含有率(%)に対してマッピングした(図4)。少なくとも3kDaのPPOブロックおよび少なくとも約30重量%のPEO含有率を有する少なくともそれらのPluronic(登録商標)がナノ結晶を粘液侵入性にしたと結論された。いかなる理論にも拘束されることを望むものではないが、PPOブロックの分子量が十分である(例えば、いくつかの実施形態において少なくとも約3kDa)場合に疎水性PPOブロックが芯粒子の表面との有効な結合をもたらすことができ、さらにPluronic(登録商標)のPEO含有率が十分である(例えば、いくつかの実施形態において少なくとも約30重量%)場合に親水性PEOブロックが被覆粒子の表面に存在し、ムチン線維との付着相互作用から被覆粒子を遮蔽することができると考えられる。本明細書で述べたように、いくつかの実施形態において表面改変剤のPEO含有率は、10重量%のPEOポーションが粒子を粘液付着性にすることから、約10重量%以上(例えば、少なくとも約15重量%または少なくとも約20重量%)となるように選択することができる。

【0136】

(例2)

この例では、種々の非重合体固体粒子を用いた粘液侵入性粒子の形成について述べる。

該アプローチの汎用性を示すために、例1で述べた技術を他の非重合体固体粒子に適用した。F127を、芯粒子として用いた種々の活性医薬品を被覆するための表面改変剤として用いた。各薬物を同じ化合物の同様なサイズとしたナノ粒子と比較するようにドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を陰性対照として選択した。医薬品およびPluronic(登録商標)F127またはSDSを含む水性分散液を粉碎媒体とともに粒径が300nm未満に減少するまで粉碎した。表5にこの方法を用いて粉碎した代表的選択薬の粒径を示す。

【0137】

10

20

30

【表 5】

表5. SDSおよびF127の存在下で粉砕した代表的選択薬の粒径。

薬物	安定剤	Z平均径(nm)	PDI
プロピオン酸フルチカゾン	F127	203	0.114
	SDS	202	0.193
フロセミド	F127	217	0.119
	SDS	200	0.146
イトラコナゾール	F127	155	0.158
	SDS	168	0.163
プレドニゾロン	F127	273	0.090
	SDS	245	0.120
エタボン酸ロテプレドノール	F127	241	0.123
	SDS	241	0.130
ブデゾニド	F127	173	0.112
	SDS	194	0.135
インドメタシン	F127	225	0.123
	SDS	216	0.154

10

【0138】

20

粘液に侵入する薬物ナノ粒子の能力を測定するために、粘液試料中へのナノ粒子の物質移動を測定する新たなアッセイを開発した。ほとんどの薬物は、自然に蛍光を發せず、したがって、粒子追跡顕微鏡法により測定することが困難である。新たに開発したバルク輸送アッセイは、解析される粒子が蛍光を發するものであることまたは色素で標識することを必要としない。この方法において、20 μ LのCVMを毛細管に収集し、一端を粘土で密封する。次いで、毛細管の開放端を0.5重量/容量%の薬物である粒子の20 μ Lの水性懸濁液中に浸す。所望の時間、一般的に18時間後に、毛細管を懸濁液から除去し、外側を拭き取る。粘液試料を含む毛細管を超遠心管に入れる。抽出媒を管に加え、混合しながら1時間インキュベートし、これにより、毛細管から粘液を除去し、粘液から薬物を抽出する。次いで、試料を遠心分離して、ムチンおよび他の不溶性成分を除去する。抽出試料中の薬物の量をHPLCを用いて定量することができる。これらの実験の結果は、顕微鏡法の結果とよく一致しており、粘液侵入性粒子と通常の粒子(CP)との間の輸送の明らかな差別化を示している。代表的選択薬の輸送結果を図5に示す。これらの結果は、ピレンに関する顕微鏡検査/粒子追跡所見を裏付けており、一般的な活性医薬化合物への拡張を実証し、F127による非重合体固体ナノ粒子の被覆は、粘液侵入を増大させる。

30

【0139】

例1~2において、子宮頸腔粘液(CVM)試料を18歳以上の健常女性志願者から得た。CVMは、Softcup(登録商標)月経収集カップを製品文献により記載されているように腔管に30秒~2分間挿入することにより収集した。除去後、50mL遠心管中で約30 \times G~約120 \times Gでの緩やかな遠心分離によりCVMをSoftcup(登録商標)から収集した。例1では、CVMを未希釈で、新鮮な状態(冷蔵条件下で7日間以下保存)で用いた。例1で用いたすべてのCVM試料のバリアおよび輸送は、陰性(200nmカルボキシル化ポリスチレン粒子)および陽性(PEG5Kで修飾した200nmポリスチレン粒子)対照を用いて確認した。例2では、CVMを凍結乾燥し、再構成した。例2では、粘液を-50℃で凍結し、次いで、凍結乾燥した。次いで、試料を-50℃で保存した。使用前に、乳鉢と乳棒を用いて固体を微粉末に粉砕し、その後、最初の容量と等しい最終容量から最初の容量の2倍の最終容量まで水を加えることにより粘液を再構成した。次いで、再構成粘液を4℃で12時間インキュベートし、例2で述べたように用いた。例2で用いたすべてのCVM試料のバリアおよび輸送は、陰性(200nmカルボキシル化ポリスチレン粒子)および陽性(F127被覆200nmポリスチレン粒子)

40

50

対照を用いて確認した。

【0140】

(例3)

この例では、薬物エタボン酸口テブレドノール(LE)を含むコアを用いた粘液侵入性粒子の形成を述べる。

非重合体固体粒子の送達における粘液侵入の促進の有用性を実証するために、エタボン酸口テブレドノールのMPP製剤(LE MPP; 例2で述べた方法により作製したPluronic(登録商標)F127で被覆されたLE粒子)を現在市販されている製剤であるLotemax(登録商標)と比較した。Lotemax(登録商標)は、眼表面炎症の治療について承認されたステロイド点眼薬である。Lotemax(登録商標)における粒子のような従来の粒子は、眼における末梢急速除去粘液層(peripheral rapidly-cleared mucus layer)に広範に捕捉され、したがって、急速に除去もされる。LE MPPは、粘液に付着することを回避し、粘液中に効果的に侵入して、下にある組織への直接の持続的な薬物放出を促進することができる。標識部位における薬物暴露の向上により、総投与量を減少させ、患者コンプライアンスおよび安全性を高くすることが可能となり得る。in vivoでは、ニュージーランドホワイトウサギへのLE MPPの単回局所点眼によって、Lotemax(登録商標)の等価用量と比較して眼瞼結膜、眼球結膜および角膜における有意に高い薬物レベルがもたらされた(図6A~6C)。2時間目においてMPPからのLEのレベルは、Lotemax(登録商標)からの値より6、3および8倍高い(それぞれ眼瞼、眼球および角膜)。特に、MPPからのLEのレベルは、30分目におけるLotemax(登録商標)からのレベルより2時間目において約2倍高い。これらの結果は、非ポリマー性固体MPP法の有用性を立証している。

【0141】

(例4)

この例では、クルクミン(CUR)を含む芯を備えた粘液浸透性粒子の形成について説明する。

固体医薬品からなる芯を有する粒子を形成するためのモデル治療薬として、種々の溶解度を有する分子を選択した。それらの1種であるクルクミンは、抗酸化、抗腫瘍、および抗炎症特性を有することが示唆されている。それは、医療でのその広範な応用の可能性のみならず、その高い疎水性および天然蛍光のため、興味ある候補である。前者の特徴は、CURが水性溶液に貧溶性であることを意味し、一方、後者は、粒子の迅速かつ標識なしでの検出および特徴付けを可能にする。粒子を界面活性剤(例えば、例4および5ではF127と略記されるPluronic(登録商標)F127)で被覆して、それらの粒子を粘液浸透性にした。

【0142】

CURの粒子を製剤化するために、超音波処理をベースにした簡単な処理法を開発した。簡潔には、5mgのCURを、シンチレーション用7mLバイアル瓶中の2mLのF125(またはその他の界面活性剤)含有水性溶液中に分散させた。懸濁液を、水浴中で20分間超音波処理した。次いで、クルクミン懸濁液を、3mmの段階プローブを備えた超音波処理器を100%の振幅で使用して30分間超音波処理した。懸濁液を2000rpmで10分間遠心分離して、破壊されていない結晶を除去した。上清を4で2時間貯蔵した。上清を16,500rpmで20分間遠心分離し、次いで、ペレットを集めた。粒子を集める前の十分なインキュベーションなしでは、被覆された粒子の拡散係数が、極めて小さいことが示され(データは示さない)、粘液浸透性粒子の生成におけるF127での密なコーティングの重要性を示唆している。

【0143】

表6および図7A~7Bに、上記の方法を利用して調製された被覆CUR粒子の物理化学的特性を要約する。1%(重量/容積)F127中で製剤化されたCUR粒子(CUR-1%F127粒子)は、133nmの平均サイズを所持し、そのサイズはTEM画像(図7B)による観察と一致していた。ゼータ電位は中性に近かった。超音波処理の際のC

UR懸濁液中のF127濃度が低下するにつれて、おそらくはCUR粒子に対する安定化効果の弱化につながるF127被覆密度の低下の結果として、CURの粒径および多分散度(PDI)はそれぞれ増加した(表6)。粒子のゼータ電位に対するF127濃度の効果はほとんど存在せず、このことは、おそらくはpH4でクルクミンのイオン性が消失するためである。CUR-1%F127粒子に関する粉末XRD測定は、CURの化学構造および結晶化度が超音波処理またはF127組み込みのいずれによっても変化しないことを示した(図7A)。

【0144】

【表6】

表6.異なる濃度のF127で調製されたCUR粒子のサイズおよびゼータ電位、ならびに水中(D_w)と比較したヒト子宮頸腺粘液中(D_m)でのそれらの拡散係数

サンプルの種類***	サイズ(nm)*	多分散指数	ゼータ電位(mV)*	D_w/D_m **
CUR-1%F127粒子	133 ± 12	0.33 ± 0.05	-0.8 ± 0.1	9
CUR-0.1% F127粒子	154 ± 4	0.50 ± 0.02	-1.4 ± 0.4	11
CUR-0.01% F127粒子	176 ± 11	0.57 ± 0.03	-1.6 ± 0.3	35
CUR-0.001% F127粒子	184 ± 30	0.72 ± 0.03	-1.3 ± 0.5	10000

*サイズおよびゼータ電位は、10mM NaCl(pH=4)中で、それぞれ動的光散乱およびレーザードップラー流速測定法によって測定した。データは平均±標準誤差(n=3)を意味する。

** D_w は平均粒径を利用し、ストークス・アインシュタイン関係式から計算し、 D_m は1秒の時間尺度で計算されたアンサンプル幾何平均有効拡散係数($\langle D_{eff} \rangle$)である。

***F127の百分率は、CUR粒子を調製する際のその濃度(%重量/容積)を示す。

【0145】

CUR-F127粒子の粘液浸透性を調べるために、CUR-1%F127粒子の輸送を、ヒト子宮頸腺粘液(CVM)およびヒト嚢胞性線維症喀痰(CFS)サンプルの双方での多粒子追跡(MPT)を利用して研究した。簡潔には、粒子を粘液サンプルに添加し、それらの運動を、高分解能落射蛍光顕微鏡法を利用して記録した。次いで、それらの軌跡および輸送速度を分析し、量化した。図8A~8Bに、CVMおよびCFSの双方中での、CUR-1%F127粒子の時間に依存するアンサンプル平均二乗幾何平均変位($\langle MSD \rangle$)を示す。200nmのPEG化(PEG)およびカルボキシル化(COOH)ポリスチレン(PS)粒子を、それぞれ粘液不活性および粘液粘着性の対照として選択した。研究した時間尺度の全領域で、CUR-1%F127粒子の $\langle MSD \rangle$ は、CVM中でのPSPEGのそれと同等であり、双方のタイプの粘液サンプル中でのPSCOOHのそれに比べて有意により大きかった。1秒の時間尺度で、CUR-1%F127粒子の $\langle MSD \rangle$ は、CVMおよびCFS中でのPSCOOHのそれより、それぞれ4400倍および220倍大きかった。CUR-1%F127粒子の1秒の時間尺度でのアンサンプル幾何平均有効拡散係数($\langle D_{eff} \rangle$)は、水中での理論計算拡散係数に比べてわずかに9分の1であった(表6)。

【0146】

粘液中でのCUR粒子の輸送に対するF127の被覆密度の効果をさらに調べるために、粒子を、種々のF127濃度で製剤化し、それらの拡散係数をヒトCVM中で特徴づけた(図9、表6)。CUR-0.1%F127粒子およびCUR-0.01%F127粒子の $\langle D_{eff} \rangle$ は、CUR-1%F127粒子のそれに比較して、類似しているか、またはわずかに低下したが、CUR-0.001%F127粒子の輸送は劇的に妨害された(図9)。CUR-0.001%F127粒子の拡散係数は、ヒトCVM中で、水中に比較して10000分の1であり、CVM中でのCUR-1%F127粒子のそれに比較して約1000分の1であった。一般に、CUR粒子の調製でF127濃度を低減させると、

おそらくはF 1 2 7濃度の低下が平衡状態でのF 1 2 7（およびそれによるPEGブラシ）の表面密度を低下させるため、拡散係数の低下をもたらす。F 1 2 7濃度が0.01（重量/容積）%に下がると、この効果はそうように顕著になることは明白でなかった。

【0147】

【表7】

表7.異なるPluronic(登録商標)中で調製されたCUR粒子のサイズおよびゼータ電位、ならびに水中(D_w)と比較したヒト子宮頸腺粘液中(D_m)でのそれらの拡散係数

サンプルの種類	サイズ(nm)*	多分散指数	ゼータ電位(mV)*	D_w/D_m^{**}
CUR-1% F38粒子	232 ± 46	0.56 ± 0.01	-1.2 ± 0.5	60
CUR-1% P65粒子	187 ± 34	0.48 ± 0.05	-1.5 ± 0.3	1600
CUR-1% P68粒子	154 ± 20	0.53 ± 0.02	-1.4 ± 0.5	150
CUR-1% P84粒子	138 ± 12	0.38 ± 0.02	-1.3 ± 0.5	30
CUR-1% P85粒子	149 ± 16	0.43 ± 0.05	-1.3 ± 0.3	30
CUR-1% F88粒子	130 ± 19	0.51 ± 0.04	-0.5 ± 0.5	20
CUR-1% F98粒子	123 ± 34	0.50 ± 0.02	-0.8 ± 0.1	12
CUR-1% P103粒子	141 ± 4	0.50 ± 0.02	-1.4 ± 0.3	8
CUR-1% P104粒子	110 ± 18	0.45 ± 0.01	-1.8 ± 0.6	12
CUR-1% P105粒子	90 ± 8	0.54 ± 0.02	-1.0 ± 0.5	15
CUR-1% F108粒子	135 ± 21	0.52 ± 0.03	-0.6 ± 0.1	11
CUR-1% P123粒子	123 ± 11	0.60 ± 0.06	-2.3 ± 0.5	9

*粒子のサイズおよびゼータ電位は、10mM NaCl(pH=4)中で、それぞれ動的光散乱およびレーザードップラー流速測定法によって測定した。データは平均±標準誤差(n=3)を意味する。

** D_w は、平均粒径を利用してストークス・アインシュタイン関係式から計算し、 D_m は1秒の時間尺度で計算されたアンサンプル平均有効拡散係数である。

【0148】

F 1 2 7に加えて種々のPluronic（登録商標）を、医薬としての適用のために使用した。異なるPluronic（登録商標）を試験して、それらが等しく十分に機能するか、または特定のものだけがCUR粒子を粘液浸透性粒子に変換するかどうかを観察した。表7中に（PPOのMWが増加する順序で）列挙したような12種のさらなるPluronic（登録商標）を選択し、対応するCUR粒子を調製した。生じるサイズは90～232nmの範囲に及び、ほとんどは100～150nmの間に留まった。すべてのタイプの粒子が、CUR-1%F 1 2 7粒子のそれ（0.33）に比べてより大きなPDIを示し、ほとんどは0.4～0.6の間にあった。これらの結果は、F 1 2 7が試験したすべてのPluronic（登録商標）の中で最強の安定化効果を有する可能性があることを意味している。ゼータ電位は、研究したすべてのCUR粒子について一様に中性であった。

【0149】

種々のPluronic（登録商標）で被覆されたCUR粒子の輸送速度を、ヒトCVM中で特徴付けた（表7）。それらの拡散係数をCUR-1%F 1 2 7粒子のそれ（ $D_w/D_m = 9$ ）と比較することによって、それらを3つの群：強く妨害された粒子運動（F 6 5、F 6 8； $D_w/D_m > 100$ ）、妨害された粒子運動（F 3 8、F 8 4、F 8 5、F 8 8； $20 < D_w/D_m < 100$ ）、急速に浸透する粒子（F 9 8、P 1 0 3、P 1 0 4、P 1 0 5、F 1 0 8、F 1 2 3； $D_w/D_m < 20$ ）に群化することができた。粒子が、すべて、中性に近い表面電荷を所持したが、特定のPluronic（登録商標）コーティングを有する製剤のみが強く妨害された拡散係数を呈示したという事実は、これらのCUR粒子と粘液成分との間の粘着性が、おそらくは疎水性相互作用によって支配され

ていることを示唆している。

【0150】

異なる Pluronic (登録商標) で被覆された CUR 粒子の拡散係数を決める因子を同定するために、CUR 粒子の $\langle D_{eff} \rangle$ (1 秒の時間尺度での) を、使用した Pluronic (登録商標) の PPO および PEG の MW について地図化した (図 10A)。PPO セグメントの長さ (Y 軸) の増大に伴って $\langle D_{eff} \rangle$ の一般的な増大が観察されたが、 $\langle D_{eff} \rangle$ と PEG MW (X 軸) との間に特異的パターンは観察されなかった。驚くべきことに、この遷移は、Pluronic (登録商標) で被覆されたポリスチレン粒子について以前に見出されたよりもより小さい、約 2000 Da の PPO MW で発生した。粒子の拡散係数は、PPO MW と強い相関を示した ($R = 0.92$) が、PEG MW との相関はほとんど示さなかった ($R = 0.14$)。それは、より長い PPO セグメントを有する Pluronic (登録商標) が、CUR 粒子の疎水性表面に対してより大きな親和性を有し、そのため、表面上により堅くつなぎ留められ、より密でより安定な遮蔽を提供すると思われる。

【0151】

Pluronic (登録商標) 以外の界面活性剤が粘液浸透性粒子を潜在的に作り出す能力を探索するために、そのいずれも PEG セグメントを含む Tween 20、Tween 80、およびビタミン E-TPGS を試験した。これらの界面活性剤中で調製された CUR 粒子の特徴を表 8 に列挙する。3 つの群は、すべて、ほぼ 150 nm の粒径および中性に近いゼータ電位を示したが、それらの拡散係数は、水中に比較して、ヒト CVM 中で著しく低下した。輸送速度が遅いほど、CUR 粒子の表面上の界面活性剤分子のコーティングが効果的でないことを示している可能性があり、このことは、F127 に比較してより短いそれらの疎水性セグメントに帰することができる。

【0152】

【表 8】

表8. Pluronic(登録商標)以外の界面活性剤中で調製されたCUR粒子のサイズおよびゼータ電位、ならびに水中(D_w)と比較したヒト子宮頸腺粘液中(D_m)でのそれらの拡散係数

サンプルの種類	直径(nm)*	多分散指数	ゼータ電位(mV)*	D_w/D_m^{**}	N_b^{\dagger}	N_m^{\ddagger}
CUR-1% Tween20粒子	153	0.56	-3.2	13000	1	1
CUR-1% Tween80粒子	155	0.60	-2.9	480	1	1
CUR-1% VitE-TPGS†粒子	135	0.68	-2.5	1700	1	1

*粒子のサイズおよびゼータ電位は、10mM NaCl(pH=4)中で、それぞれ動的光散乱およびレーザードップラー流速測定法によって測定した。データは平均±標準誤差(n=3)を意味する。

** D_w は平均粒径を利用してストークス・アインシュタイン関係式から計算し、 D_m は1秒の時間尺度で計算されたアンサンブル平均有効拡散係数である。

†VitE-TPGS: ビタミン-E TPGS(Antares Health Products, Inc(Batavia, イリノイ州)からのコハク酸d- α トコフェリルポリエチレングリコール1000)

‡ N_b : 試験された粒子のバッチ数; N_m : 試験されたヒトCVMサンプルの数

【0153】

CUR 粒子が CUR を持続性方式で送達する能力を評価するために、CUR - 1 % F127 粒子の放出プロファイルを特徴付けた。簡潔には、既知量の CUR 粒子を、50 mL

試験管中のリン酸緩衝化生理食塩水（PBS、pH 7.4）中に懸濁し、溶解されたCURを抽出するために頂部にオクタノールの層を付加した。懸濁液を、かき混ぜながら37でインキュベートした。各時点でオクタノールを集め、交換した。オクタノール中でのCUR濃度を蛍光分析で測定した。図11に示すように、CUR-1%F127粒子は、インビトロで継続的放出を24～48時間提供した。CUR含有量の約80%が最初の24時間以内に放出された。

【0154】

（例5）

この例では、疎水性薬物である5, 10, 15, 20-テトラ（p-ヒドロキシフェニル）ポルフィリン（p-THPP）を使用した粘液浸透性粒子の開発について説明する。

CURに加えて、例4に記載したと同様の方法を、疎水性薬物であるp-THPPに適用した。p-THPPは、癌を治療するための光線力学療法に使用される治療薬であり、以前の研究でモデル光増感剤として選択されている。p-THPP-1%F127粒子の、サイズ、ゼータ電位、およびヒトCVM中での拡散係数を含む基本的特性を、前に記載の手順に従って測定した（表9）。CUR-1%F127粒子と同様、p-THPP-1%F127粒子は、187nmのサイズおよび中性に近い表面電荷を示した。p-THPP-1%F127粒子のヒトCVM中での拡散係数は、水中でのそれに比べてわずかに8分の1であり、粒子は、粘液中の粘着性成分によって不動化されず、かつ粘液ゲル中で、CUR-1%F127粒子のそれと同等の速度で拡散できることを示している。

【0155】

【表9】

表9. Pluronic(登録商標)F127中で調製されたp-THPP粒子のサイズおよびゼータ電位、ならびに水中(D_w)と比較したヒト子宮頸粘液(D_m)でのそれらの拡散係数

サンプルの種類	サイズ(nm)*	多分散指数	ゼータ電位(mV)*	D_w/D_m **
p-THPP-1% F127粒子	187 ± 7	0.51	0.3 ± 0.4	8

*粒子のサイズおよびゼータ電位は、10mM NaCl(pH=4)中で、それぞれ動的光散乱およびレーザードップラー流速測定法によって測定した。データは平均±標準誤差(n=3)を表す。

** D_w は平均粒径を利用してストークス・アインシュタイン関係式から計算し、 D_m は1秒の時間尺度で計算されたアンサンプル平均有効拡散係数である。

【0156】

（例6）

この例では、高水溶性薬物であるテノフォビル（TFV）およびアシクロビルモノホスフェート（ACVp）を使用した粘液浸透性粒子の開発について説明する。

テノフォビル（TFV）は、感染性疾患を治療するのに使用される強力な抗ウイルス薬である。テノフォビル（TFV）は高水溶性であるという事実のため、テノフォビルの粘液浸透性粒子を製剤化するための方法が開発された。TFVの水溶性は、少なくとも15mg/mLであり、そのため不溶性粒子を調製するための、あるいは疎水性のポリマー性ナノ粒子中に封入するための従来の技法では成功しなかった。TFVの水溶性を低下させるために、カチオンとヌクレオチド/ヌクレオチド類似体との間の相互作用を活用した。TFVは、ホスホネート基およびプリン環構造を介して亜鉛カチオン（Zn）と極めて強力に相互作用する。亜鉛との相互作用は、TFVの沈降を引き起こして結晶をもたらし、結晶を、本明細書に記載のコーティングで安定化し、凝集を停止させ、結晶の表面特性を測定することができる。さらに、Znは、腔液中に本来的に存在し、最近では抗HIV活性を含むように拡大された公知の抗微生物特性を有する。

【0157】

結晶およびコーティングは、完全に非共有結合性相互作用から形成されるので、TFV-Zn粒子が緩衝液中で持続性放出を呈示すること保証する必要がある。遊離TFVの溶液と比較した場合、粒子は、100kDaの透析膜から、はるかにより緩慢な放出を示した(24時間経過して約40%)。

次に、TFV-Zn粒子を、F127またはPVAコーティングを使用して製剤化した。表10からわかるように、コーティングの存在は、より小さな平均サイズおよび多分散度の低下によって証明されるように、粒子を安定化した。表面上へのコーティングの存在は、また、ゼータ電位のより中性帯電に向かう変化によって示される。さらに、これらの粒子を、TFV上の遊離アミンへのAlexa Fluor(登録商標)色素の共有結合により、造影目的で蛍光標識化した。結晶は、1:50の標識化:非標識化TFVの比率で作製された場合、不安定であるが、1:200の標識化:非標識化TFVの比率で安定であり、かつ蛍光顕微鏡法で認識できることが見出された。

【0158】

【表10】

表10. TFV粒子のサイズおよびゼータ電位

コーティング	MPP/CP	サイズ(nm)	ζ電位(mV)
0.08% F127	MPP	154 ± 4	-8.7 ± 1.6
0.1% PVA	CP	165 ± 14	-7.3 ± 0.4
なし	CP	328 ± 91	-21.5 ± 0.9

【0159】

蛍光標識化された安定な粒子を得た後、F127コーティングが、被覆されたポリマー性ナノ粒子と一致して観察されるような、動物の粘膜表面での粒子の分布の改善につながるかどうかを判断した。F127またはPVAで被覆されたTFV粒子を、マウスの腔中に投与し、次いで、マウスを屠殺し、それらの腔を切開し、顕微鏡スライド上で扁平化し、造影した。図13A~13Bからわかるように、F127で被覆された粒子は、腔の全表面にわたって良好に分布され、一方、PVAで被覆された粒子は、腔の襞(粘膜襞)に侵入しないことを示す「縞形成(striping)」挙動として明白になる、腔表面の不完全な被覆度を示した。

【0160】

【表11】

表11.腔へのHSV-2負荷の結果

群	薬物の形態および濃度	媒体	マウスの数	感染数	感染%	p-値**
1	プラセボ	PBS	100	88	88.0	<0.000001
2	溶性ACV(1mg/mL)	PBS	25	21	84.0	0.002
3	溶性ACV(10 mg/mL)	PBS	100	62	62.0	0.10
4	溶性ACV(10 mg/mL)	Water	75	52	69.3	0.02
5	ACV-MPP(1 mg/mL)*	Water	45	21	46.7	N/A

*サイズ:65.3±10nm、ζ電位:-6.3±1.0mV。

**p-値、ACV-MPPに対して

【0161】

次に、単純ヘルペスウイルス2型(HSV-2)への感染を予防する上でのMPP粒子の潜在的効力を試験するのに使用するため、アシクロビルモノホスフェート(ACVp)を使用してMPP粒子を製造した。ACVpは、ウイルス抵抗性をもたらすことのある最初のリン酸化ステップのためのウイルスチミジンキナーゼに依存しない。このことが、また、ACVpに低い効力ではあるが抗HIV活性を付与する。

6～8週齢の雌性CF-1マウスに、酢酸メドロキシプロゲステロンを皮下で注射し、1週間後に、20μLの試験薬剤またはPBSを、先端熱加工されたポジティブディスプレイメント方式のキャピラリーピペット(Wiretrol、Drummond Scientific)を用いて腔内で施与した。30分後に、マウスに、HSV-2 G株(ATCC#VR-734、 2.8×10^7 TCID₅₀/mL)を含む10μLの接種物を負荷した。HSV-2を、Bartel培地で10倍希釈して、対照マウスの約85%を典型的には感染させる量であるID₅₀の10倍量を送達した。マウスを、接種の3日後の感染について、以前に報告されているように、PBS腔洗浄液をヒト包皮繊維芽細胞(Diagnostic Hybrids、MRHF ロット番号440318W)上で培養することによって評価した(R. A. Cone, T. Hoen, X. Wong, R. Abusuwwa, D. J. Anderson, T. R. Moench, Vaginal microbicides: detecting toxicities in vivo that paradoxically increase pathogen transmission. BMC Infect Dis 6, 90 (2006))。このモデルで、投与(負荷)ウイルスは、負荷の12時間以上後に捕集されるなら、洗浄液中にもはや検出できない。

【0162】

ACVp粒子は、亜鉛の存在下で、TFVと類似の相互作用(ホスフェート基およびプリン環)を介して調製できることが見出された。生存HSVを負荷する30分前に、マウスに溶性ACVpまたはMPPナノ結晶の形態のACVpを投与した。薬物およびウイルスは、双方とも腔内で投与した。MPP薬物と同一濃度で投与された溶性薬物は無効であった(対照の88%に比較して、84%が感染した)が、MPP薬物群のマウスは46.7%のみが感染した。MPP薬物の付与用量の10倍の溶性薬物を付与されたマウス群は、62%(PBS中の薬物)または69.3%(水中の薬物)の比率で感染した。溶性薬物を、同一媒体(純水)で投与されたMPP-薬物と比較すると、溶性薬物は、MPP-薬物より10倍高い濃度でさえより保護が弱かった($p = 0.02$)。

【0163】

遊離ホスフェート基を有する薬物の安定なナノ結晶を、亜鉛を用い、凍結乾燥法および超音波処理の双方を利用して形成できることが注目される。凍結乾燥の場合、薬物は、F127の水性溶液中に溶解された。酢酸亜鉛の量は、1:50～1:5(Zn:薬物)の範囲で添加され、溶液を直ちに急速凍結した。乾燥粉末は、水中で、所望濃度で再構成された。F127の臨界ミセル濃度(CMC)を超える(1%)および下回る(0.08%)双方のF127濃度を使用して、安定なTFVナノ結晶を作製することができる。しかし、ACVpナノ結晶は、界面活性剤濃度により一層敏感であった。安定なナノ結晶は、CMC(約0.1%)未満のF127濃度を利用する場合にのみ形成できた。CMCを超えるF127濃度は、試験された製剤方法に関係なく、ACVpナノ結晶のかなりの凝集および沈降を引き起こした。

【0164】

さらに、安定なナノ結晶は、薬物溶液に過剰な酢酸亜鉛を添加することによって形成することができる。沈殿物は遠心分離により3+回洗浄される。生じるスラリーを、プローブ型超音波处理器を使用して超音波処理する(界面活性剤なしで、発泡は凝集および不安定性をもたらす)。粉碎などのその他の方法も機能する可能性がある。次いで、界面活性剤を添加して、生じたナノ結晶を安定化する。界面活性剤が存在しないと、かなりの凝集および沈降が発生する。この製剤化技法を使用すると、安定なTFVナノ結晶を、例えば1%までのF127濃度を使用して作製することができた。同様に、これらの実験で、安定なACVpナノ結晶は、CMC未満のF127濃度を使用して(典型的には0.08%を使用して)のみ形成することができた。

【0165】

例4～6では、未希釈の子宮頸腔分泌液を、正常な腔叢を有する女性から、自己サンプリング式の月経捕集器具を使用し、Johns Hopkins大学の治験審査委員会により承認されたプロトコルに従って集めた。器具を腔中に約30秒間挿入し、取り出し、50mLの遠心管中に収納した。サンプルを1,000rpmで2分間遠心分離し、粘

10

20

30

40

50

液分泌物を集めた。

例 4 ~ 6 では、粒子の輸送速度を、蛍光性粒子または蛍光標識化粒子の軌跡を分析することによって測定し、100x の油浸対物レンズ (N.A.、1.46) および適切なフィルターを備えた倒立落射顕微鏡 (Zeiss、Thornwood、ニューヨーク州) 上に搭載された電子倍增電荷結合素子 (EMCCD) カメラ (Evolve 512、Photometrics、Tucson、アリゾナ州) を使用して記録した。実験は、特注のチャンバースライド中で実施され、希釈された粒子溶液 (0.0082 (重量 / 容積) %) を 20 μ L の新鮮粘液に 3 (容積 / 容積) % の最終濃度まで (最終粒子濃度、8.25 \times 10⁻⁷ 重量 / 容積) で添加し、顕微鏡観察の前に室温で安定化した。n = 100 個の粒子の軌跡を各実験について分析し、各条件に対して少なくとも 3 回の独立実験を実施した。動画を MetaMorph ソフトウェア (Universal Imaging、Glendale、ウィスコンシン州) を用い、66.7 ミリ秒の時間分解能で 20 秒間捕捉した。追跡分解能は、強力な粘着で不動化された粒子の変位を追跡することによって測定すると、10 nm であった。ナノ粒子の重心の座標を、 $\langle r^2(\Delta t) \rangle = [x(t + \Delta t) - x(t)]^2 + [y(t + \Delta t) - y(t)]^2$ として計算される時間平均 MSD に変換した。ここで、x および y は、所定時刻でのナノ粒子の座標を表し、 Δt は時間尺度または時間遅れである。MSD の分布および有効拡散係数は、このデータから計算された。粘液層中への粒子浸透は、フィックの第 2 法則および追跡実験から得られる拡散係数を使用してモデル化された。

【0166】

(例 7)

この例では、マウスの膣の粘膜表面への薬物送達を改善する粘液浸透性粒子の開発について説明する。

膣への持続性でより均一な薬物送達のための改善された方法は、女性の健康に有害な影響を与える状態、例えば、子宮頸がん、細菌性膣症、および性感染症のより効果的な予防および治療を提供する可能性がある。例えば、女性は、ある程度は女性が主導する予防方法の欠如のため、不相応に HIV に感染する。女性を膣での HIV 伝染から保護するための、容易に投与される個別かつ有効な方法は、世界的に数百万の感染症を予防できる可能性がある。しかし、性交および分娩中の伸張に適応する膣壁または「粘膜壁」は、腹腔内圧により典型的にはつぶされて、これらの壁の表面を薬物および薬物担体にとってより接近しにくくする。膣壁中への不十分な分布は、模擬性交の後でさえも、感染しやすい膣表面を感染から保護することの失敗にとって決定的因子と言及されてきた。感染しやすい標的表面の全体を覆う分布が、感染症を予防および治療するために重要であることが判明している。さらに、使用者の認容性を高めるために、膣へ送達される薬物は、膣管に長期にわたって有効濃度で保持されるべきである。持続性の局所薬物濃度を達成することは、膣上皮が小分子に対して高度に透過性であるため、また、溶性の薬物剤形 (ゲル剤、クリーム剤) が腹腔内圧及び歩行によって排除されることがあるので、難題である。最後に、薬物送達法は、膣上皮に対して安全かつ無毒性でなければならない。膣用剤形の分布、保持、および安全性プロファイルにおける改善は、効力の実質的な増大、ならびに子宮頸膣感染症および疾患に対して十分には効果的でない全身性治療によって引き起こされる副作用の減少につながる可能性がある。

【0167】

ナノ粒子は、膣への持続性局所薬物送達を提供するそれらの能力のため、かなりの注目を受けている。しかし、膣上皮を被覆している粘液層は、膣管中での一様な分布および長い保持を達成することに対してバリアを呈示する。粘液は、従来のポリマー性ナノ粒子 (CP) を含むほとんどの粒子を、粘着および立体的相互作用の双方を介して効率的に捕捉する。粘液が外来の病原体および粒子を捕捉するのに有効であることは、CP が管腔粘液層と接触すると直ちに捕捉されるに至り、粘膜壁中への浸透、したがって粘膜壁の保護を妨げることを意味する。管腔表面粘液層中に捕捉された粒子および病原体は、組織から急速に排除され、CP などの粘液粘着性材料の保持時間を制約すると予想される。

【 0 1 6 8 】

最近、感染を定着させるために粘液バリアに浸透するように進化したウイルスを模擬することによって、粘液浸透性粒子 (MPP) が、粘膜への薬物送達のために、CPを非常に高密度の低分子量ポリ (エチレングリコール) (PEG) で被覆することによって作られた。MPPは、ヒト子宮頸腔粘液 (CVM) 中で、水中でのそれらの理論的拡散に匹敵する速度で拡散する。この場合、MPPが、粘膜壁中のより緩慢に排除される粘液を含む最深部粘液層中に浸透することによって、インビボで腔中への高められた分布および増加した保持を提供し、それによって、組織への効率的な取り込みに最適な場所に薬物を放出するという仮説を試験することが求められた (図 1 4 E)。一般的なプロゲスチン誘発発情休止期 (DP) マウスモデルに加えて、マウスCVM (mCVM) がヒトCVM (hCVM) をより密接に模擬し、それゆえヒトでの使用に向けてMPPを開発および移行させるためによりヒトに似たモデルを提供する、エストラジオール誘発発情期 (IE) マウスモデルの使用が導入される。

10

【 0 1 6 9 】

カルボン酸で被覆された蛍光性ポリスチレンナノ粒子 (PS - COOH) を、以前に報告されているように、低分子量PEGの密なコーティングを共有結合で結合させることによってMPPに変えた (Y. Y. Wang, S. K. Lai, J. S. Suk, A. Pace, R. Cone, J. Hanes, *Angew Chem Int Ed Engl* 47, 9726-9729 (2008); S. K. Lai, D. E. O'Hanlon, S. Harrold, S. T. Man, Y. Y. Wang, R. Cone, L. Hanes, *Proc Natl Acad sci USA* 104, 1482-1487 (2007))。さらに、生分解性粒子は、薬物を装填することができ、かつヒトへ投与するのに適しているので、生分解性MPP (BD - MPP) を、前に報告されているように、ポリ (乳酸 - co - グリコール酸) (PLGA) の芯および物理的に吸着されたPEGコーティングを用いて製剤化した (M. Yang, S. K. Lai, Y. Y. Wang, W. Zhong, C. Happe, M. Zhang, J. Fu, J. Hanes, *Biodegradable Nanoparticles Composed Entirely of Safe Materials that Rapidly Penetrate Human Mucus*. *Angew Chem Int Ed Engl* 50, 2597-2600 (2011))。PS - COOHおよびPLGANANO粒子は、PEGで密に被覆されるとほとんど中和される高度に負の表面電荷を有する。ナノ粒子は、前に説明したようにゼータ電位を測定することによって (表 1 2)、十分に被覆されていると判定された (S. K. Lai, D. E. O'Hanlon, S. Harrold, S. T. Man, Y. Y. Wang, R. Cone, J. Hanes, *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 1482-1487 (2007))。- 10 mVより中性のゼータ電位が、hCVM中での粘液浸透特性のために必須であることが以前に見出されている (Y. Y. Wang, S. K. Lai, J. S. Suk, A. Pace, R. Cone, J. Hanes, *Addressing the PEG mucoadhesivity paradox to engineer nanoparticles that "slip" through the human mucus barrier*. *Angew Chem Int Ed Engl* 47, 9726-9729 (2008))。MPPが、本来の発情期mCVM中で粘液浸透性であることを保証するために、粒子を、発情期のマウスに腔内で投与した。次いで、腔全体を摘出、多粒子追跡 (MPT) 法 (J. Suh, M. Dawson, J. Hanes, *Adv Drug Deliv Rev* 57, 63-78 (2005)) で数百の個々の粒子の運動を可視化するために切開した。MPPについての粒子軌跡は、mCVM中の水を多く含んだ細孔中での急速な拡散を暗示するものであったが、一方、被覆されていないPS - COOHナノ粒子 (CP) の運動は、粒子直径 (約 100 nm) より小さかった (図 1 4 A)。mCVM中でのMPPのアンサンブル平均二乗平均変位 ($\langle MSD \rangle$) は、hCVM中でのMPPについて報告されたそれに匹敵し (S. K. Lai, Y. Y. Wang, K. Hida, R. Cone, J. Hanes, *Nanoparticles reveal that human cervicovaginal mucus is riddled with pores larger than viruses*. *PNatl Acad Sci USA* 107, 598-603 (2010)) (図 1 4 B)、水中での110 nm粒子の理論拡散 (約 $4 \mu m^2 / 秒$) のわずか約 8 分の 1 であるアンサンブル平均有効拡散係数 ($\langle D_{eff} \rangle$) に対応していることが見出された。

20

30

40

【 0 1 7 0 】

【表 1 2】

表12.粒子の特徴付け。すべての粒子製剤についてのサイズ、ゼータ電位、および多分散指数(PDI)

粒子の種類	サイズ(nm)	ζ 電位(mV)	PDI
PSPEG (MPP)	112 ± 3	-4.2 ± 0.6	0.03
PS (CP)	87 ± 4	-39.0 ± 2.4	0.10
PLGA/F127 (BD-MPP)	152 ± 6	-4.2 ± 0.3	0.06
PLGA/PVA (BD-CP)	161 ± 15	-6.7 ± 0.1	0.06
ACVP-MPP	65.3 ± 10	-6.3 ± 1.0	0.37

10

【 0 1 7 1】

個々の粒子について測定された D_{eff} に基づいて、MPPの約半数が、約4時間でmCVMの厚さ100 μm の層中を拡散するという拡散のFickの第2法則で評価された(図14D)が、一方、CPでは24時間後でさえも感知できるほどの浸透は存在しなかった。CPについての1秒の時間尺度での D_{eff} 値は、粒子直径未満のMSD値に相当し(点線、図14C)、おそらくは粒子の拡散ではなくムチン繊維に衝突した粒子の熱的揺らぎを示している。全体として、発情期のmCVM中でのMPPおよびCPの輸送挙動は、双方とも、hCVM中でのそれらの輸送挙動に極めて類似していた。

【 0 1 7 2】

20

保持研究のために多数のマウスを発情期の状態で同期させることは、ホルモン処理を必要とした。多くの動物モデルにおいて発情様挙動を誘発するのに定型的に使用されているエストラジオール処理(J. R. Ring, The estrogen-progesterone induction of sexual receptivity in the sprayed female mouse. *Endocrinology* 34, 269-275 (1944); およびC. A. Rubio, The exfoliating cervico-vaginal surface. II. Scanning electron microscopical studies during the estrous cycle in mice. *Anat Rec* 185, 359-372 (1976))が、分布および保持研究に先立ってMPPおよびCPの輸送挙動を変化させないことを確認するために、粒子輸送挙動をIEマウス中で試験した(図15A)。さらに、BD-MPPの輸送挙動は、IEの粘液中でMPPから区別できなかった(図15B)。

【 0 1 7 3】

30

次に、発情期マウスおよびIEマウス中で、粘液中に急速に浸透する能力が、CPに比較してより急速で均一なMPPの腔への分布につながるかどうかを調べた。浸透で駆動される水流動(移流輸送)が栄養素を腸管腔から刷子縁上皮表面へ急速に輸送する方式を模擬するために、MPPおよびCPを低浸透性媒体中に適用した。粒子投与の10分後に、腔全体を摘出し、細胞核について染色した。CPは管腔粘液中で凝集し、腔粘膜壁中に浸透しなかった(図16)。対照的に、MPPは、粘膜壁のすべての表面を含むすべての腔上皮を被覆した連続粒子層を形成した。MPPは、移流を介して約100 μm を超える粘液中、粘液中でその距離を拡散するのに必要とされる約4時間に比較して、10分以内に浸透した(図14D)。この挙動は、また、IEマウス中に投与されたBD-CPおよびBD-MPP、ならびにCPおよびMPPに関しても一致していた(図16)。hCVM中での粘液粘性CPを越えたMPPの運動を示すビデオは、ビデオ1(流動なし、拡散)およびビデオ2(流動有、移流)中に見出すことができる。

40

【 0 1 7 4】

MPPおよびCPの分布における相違を量化するために、新たに摘出し、切開し、扁平化したマウス腔組織の蛍光画像を得た。図17からわかるように、CPの腔の管腔粘液層への粘着は、粒子を含まない粘液の暗い「縞」と交番する、粒子を含む粘液の「縞」を作り出し、前者の縞は、腔組織を扁平化した場合に開放される粘膜壁に相当する。対照的に、上皮に向かう、および粘液壁中へのMPPの輸送は、扁平化された腔表面上で連続した粒子コーティングを作り出した(図17)。腔および子宮頸部組織上の蛍光の定量は、扁平化された腔表面の88%、および子宮頸部表面の87%がMPPで密に被覆され、一方

50

、膣表面のわずか30%、および子宮頸部表面の36%がCPで被覆されたことを示した。膣および子宮頸部表面のより暗い領域のより高倍率でのさらなる観察により、MPPのあまり集中していない連続コーティングが観察され(図17~18、挿入図)、膣および子宮頸部がほぼ完全に被覆されたことを意味している。CPの場合、より高倍率で、あまり集中していないコーティングは見出されなかった(図17~18、挿入図)。同様の傾向が見出され、BD-MPPでは85%の膣被覆度および86%の子宮頸部被覆度、BD-CPでは、31%の膣被覆度および27%の子宮頸部被覆度であった(図17~18)。

【0175】

次いで、BD-MPPの分布改善が、ゲル剤形に比較して、小分子の送達を改善できたかどうかを判定することが求められた。親油性分子は、おそらくは、それらが接触する最初の上皮表面に侵入し、粘膜嚢中の細胞に接触できない。逆に、親水性分子は、膣上皮中で急速に拡散することができ、血液およびリンパの循環によって運び去られ、短期間の被覆度につながる。BD-MPPに、モデル薬物として蛍光性水溶性小分子であるフルオレセインイソチオシアネート(FITC)を装填した(FITC/MPP)。従来の膣送達を模擬するために、溶性FITC(FITC/ゲル)を汎用の膣プラセボゲルであるヒドロキシエチルセルロース(HEC)中に添加した。発情期マウスに投与して24時間後に、膣組織を摘出し、扁平化して膣嚢を露出させた。FITCのパッチは、FITC/ゲルとして投与された場合、膣表面の42%を被覆し、一方、FITC/MPPは、粒子投与の24時間後でさえも、十分に保持されたFITCコーティングを膣表面の87%に提供した。

【0176】

粘液バリアの効果をさらに特徴付けるために、本発明者らは、粒子の投与に先立つ洗浄によって膣粘液を除去することが(Y. Cu, C. J. Booth, W. M. Saltzman, *In vivo distribution of surface-modified PLGA nanoparticles following intravaginal delivery*. *Journal of Controlled Release* 156, 258-264 (2011); およびK. A. Woodrow, Y. Cu, C. J. Booth, J. K. Saucier-Sawyer, M. J. Wood, W. M. Saltzman, *Intravaginal gene silencing using biodegradable polymer nanoparticles densely loaded with small-interfering RNA*. *Nat Mater* 8, 526-533 (2009))、CPの分布を顕著に改善し、それらの粘液粘着特性が膣中での均一な分布を妨げることを示していることを見出した(図19)。

【0177】

次に、本発明者らのIEモデルを使用して、膣でのMPPの保持を粘液粘着性CPと比較して測定することが求められた。蛍光性のMMPおよびCPをIEマウスに膣内で投与した。指定時点で、生殖管全体(膣および子宮角)を摘出し、蛍光画像で定量的に分析した(図21A)。MPPおよびCPに対して同様であった粒子蛍光の初期減少(おそらくは、粘液浸透に先立つ初期「押し出し(squeeze out)」による)の後に、MPPの残存量は、おおよそ60%で一定のままであった(図21B)。対照的に、CPの量は、時間と共に10%(6時間)まで着実に減少した。重要なことであるが、CPは、膣の長さに沿って分布されたが、この長さ方向の被覆度は、図16に示すように、CPが粘液に浸透して上皮にも、膣嚢の内部の表面にも到達することのないことを示す。

【0178】

免疫系は、粘膜表面で、特にヒトの子宮頸内膜中の円柱上皮などの生存細胞で覆われた表面を有する表面で高度に活性である(O. P. Mestecky J, McGhee JR, and Lambrecht B N, *Mucosal Immunology*. (Elsevier Academic Press, Burlington, ed, Third, 2005))。ナノ粒子の炎症効果を、マウスを発情休止期で同期させ、その間に膣上皮が薄くなり生存細胞で覆われるようになる長期作用性プロゲスチン処理であるDepo-Proveraで前処理されたマウスを使用して調べた。対照的に、発情期で、マウスの膣は4~7細胞層から約12細胞層に肥厚し、上皮表面は、死滅及び乾性(drying)細胞の多くの層で保護される(*Biology of the laboratory mouse*. Edited by George D. Snell, Dov

10

20

30

40

50

er Publications, Inc., New York, 1956(Reprint of first edition, 1941). Journal of the American Pharmaceutical Association 45, 819-819 (1956))。さらに、プロゲステロン誘発発情休止期 (DP) マウスの膈上皮は、増加した免疫細胞集団を有し、急性炎症応答の増大につながり、一方、発情期は、免疫細胞の不在で特徴付けられる (C. H. Hubsher, D. L. Brooks, J. R. Johnson, A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. Biotech Histochem 80, 79-87 (2005))。Depo-Provera は、数日から数週間の間、マウスを発情休止様期に効果的に同期させ、発情休止様期は、24 時間以上続く実験にとって重要である。

【0179】

標準的なヘマトキシリンおよびエオシン (H & E) 染色を利用して、膈内で投与されたナノ粒子の潜在的毒性効果を調べた。膈毒性を引き起こすことが知られている (G. Ramjee, A. Kamali, S. McCormack, The last decade of microbicide clinical trials in Africa: from hypothesis to facts. AIDS 24 Suppl 4, S40-49 (2010)) 非イオン性洗浄剤である Nonoxonyl-9 (N9) を陽性対照として使用し、PBS (生理食塩水) を陰性対照として使用した。分布および保持研究に使用された同一の (BD-) MPP および (BD-) CP を毒性について試験した。予想されたように、N9 は、24 時間で、PBS 処理の後では観察されなかった急性炎症を引き起こした (図 23)。CP は、N9 と同様、管腔中への明白な好中球浸潤を引き起こしたが、MPP は、この炎症効果を引き起こさなかった (図 23、矢印)。

【0180】

最近の研究は、膈上皮は、特定の膈用製品に反応して、性感染性感染症への感受性を高める可能性のある免疫メディエーターを分泌することができることを示している (J. E. Cummins, Jr., G. F. Doncel, Biomarkers of cervicovaginal inflammation for the assessment of microbicide safety. Sex Transm Dis 36, S84-91 (2009) ; および S. S. Wilson, N. Cheshenko, E. Fakiloglu, P. M. Mesquita, M. J. Keller, B. C. Herold, Susceptibility to genital herpes as a biomarker predictive of increased HIV risk: expansion of a murine model of microbicide safety. Antivir Ther 14, 1113-1124 (2009))。したがって、膈用製品が、とりわけ反復投与の後に、このような免疫応答を誘発しないことが重要である。本発明者らの究極の目標は、MPP を HSV-2 に対する保護に対して試験することにあつたので、本発明者らは、アシクロビルモノホスフェート (ACVp) を含む MPP 製剤を、最近のテノフォビルの臨床試験で使用される N9、HEC プラセボゲル、PBS、およびゲル媒体 (TFV の媒体) と比較した。ナノ粒子および対照製剤を、Depo-Provera で処理されたマウスに経膈で 7 日間毎日投与した。膈洗浄液を、8 日目に各マウスから集め、上皮刺激に反応して高められていることが見出されたサイトカイン：すなわち、インターロイキン 1 (IL-1)、インターロイキン 1 (IL-1)、腫瘍壊死因子 (TNF-α)、およびインターロイキン 6 (IL-6) について評価した。IL-1 および IL-1 のレベルが双方とも TFV の媒体および N9 溶液の双方に反応して上昇したことが見出された (図 24)。このことは、IL-1 および IL-1 が、損傷に反応して膈上皮によって分泌されることを考慮すると、N9 処理の場合に驚きではなかった (J.E. Cummins, Jr., G. F. Doncel, Biomarkers of cervicovaginal inflammation for the assessment of microbicide safety. Sex Transm Dis 36, S84-91 (2009))。対照的に、ACVp-MPP に伴うサイトカインレベルは、感染への感受性のいかなる増加も伴わないで臨床試験で使用されている HEC プラセボゲルに伴うレベルに同等であつた (図 24) (Q. A. Karim, S. S. A. Karim, J. A. Frohlich, A. C. Grobler, C. Baxter, L. E. Mansoor, A. B. M. Kharsany, S. Sibeko, K. P. Mlisana, Z. Omar, T. N. Gengiah, S. Maarschalk, N. Arulappan, M. Mlotshwa, L. Morris, D. Taylor, C. T. Grp, Effectiveness and Safety of Tenofovir Gel, an Antiretroviral Microbicide, for the Prevention of HIV Infection in Women. Science 329, 1168-1174 (2010) ; および D. Tien, R. L. Schnaare, F. Kang, G. Cohl, T. J. McCormick, T. R. Moench, G. Doncel, K. Watson, R. W. Buckheit, M. G. Lewis, J.

10

20

30

40

50

Schwartz, K. Douville, J. W. Romano, In vitro and in vivo characterization of a potential universal placebo designed for use in vaginal microbicide clinical trials. *AIDS Res Hum Retroviruses* 21, 845-853 (2005))。任意の膣処理に伴う I L - 6 または T N F - の、非処理対照に比較した場合の検出可能な上昇は存在しなかった。

【 0 1 8 1 】

最後に、M P P の改善された分布、保持、および毒性プロファイルが、マウスにおける経膣 H S V - 2 負荷に対する改善された保護につながるかどうかを調べた。D e p o P r o v e r a 処理は、感染症に対するマウスの膣の感受性を顕著に増大させ、候補殺菌薬は、感染性接種物の直前に投与された場合でさえも、ここで使用されたマウスモデルにおいて部分的保護を提供しただけであった (S. L. Achilles, P. B. Shete, K. J. Whaley, T. R. Moench, R. A. Cone, Microbicide efficacy and toxicity tests in a mouse model for vaginal transmission of *Chlamydia trachomatis*. *Sex Transm Dis* 29, 655-664 (2002) ; および L. Zeitlin, K. J. Whaley, T. A. Hegarty, T. R. Moench, R. A. Cone, Tests of vaginal microbicides in the mouse genital herpes model. *Contraception* 56, 329-335 (1997))。さらに、いくつかの膣用製品の賦形剤は、このモデルにおいて感染への感受性を実際に増大させる (R. A. Cone, T. Hoen, X. Wong, R. Abusuwwa, D. J. Anderson, T. R. Moench, Vaginal microbicides: detecting toxicities in vivo that paradoxically increase pathogen transmission. *BMC Infect Dis* 6, 90 (2006) ; および T. R. Moench, R. J. Mumper, T. E. Hoen, M. Sun, R. A. Cone, Microbicide excipients can greatly increase susceptibility to genital herpes transmission in the mouse. *BMC Infect Dis* 10, 331 (2010))。アシクロビルは、動物において 1 日複数回の反復投与でウイルス抑制を提供するので、A C V p を H S V - 2 感染症の膣感染を遮断することに関して試験するために選択された (E. R. Kern, Acyclovir Treatment of Experimental Genital Herpes-Simplex Virus-Infection. *Am J Med* 73, 100-108 (1982))。しかし、モルモットにおける 5 0 m g / m L (5 %) A C V p での単回膣予備処理は、対照に比較して 7 0 % の動物に感染をもたらした (E. R. Kern, J. Palmer, G. Szczech, G. Painter, K. Y. Hostetler, Efficacy of topical acyclovir monophosphate, acyclovir, or penciclovir in orofacial HSV-1 infections of mice and genital HSV-2 infections of guinea pigs. *Nucleos Nucleot Nucl* 19, 501-513 (2000))。したがって、A C V p は、M P P が、水溶性で急速に代謝される薬物による保護を、単回投与後の治療関連薬物濃度を延長することによって有意に改善できたかどうかを判定するための試験事例を提供した。さらに、A C V p などのヌクレオチド類似体の作用機構は、保護の成功が、膣および子宮頸管の粘膜中の感受性標的細胞集団における効率的な取り込みおよび保持を意味するような、細胞内ウイルス複製の妨害である。

【 0 1 8 2 】

A C V p ナノ粒子を、他のすべての研究に対して使用されるのと同じの粘液不活性コーティングを用いて製剤化した。A C V p - M P P のサイズおよび電位は、ポリスチレン (P S) をベースにした M P P に類似していた (表 1 2)。H S V - 2 を負荷する 3 0 分前に、マウスに溶性 A C V p または A C V p - M P P を膣内で投与した。A C V p - M P P と同一濃度 (1 m g / m L) で投与される溶性薬物は、マウスをウイルス感染から保護する上で効果がなかったが (対照の 8 8 % に比較して 8 4 . 0 % が感染した)、一方、A C V p - M P P 群のマウスでは 4 6 . 7 % のみが感染した (表 1 1)。A C V p - M P P 中濃度の 1 0 倍の溶性薬物を付与されたマウスの群は、やはり、6 2 . 0 % (P B S 中の薬物) または 6 9 . 3 % (水中の薬物) の比率で感染した。同一媒体 (純水) 中で溶性薬物を A C V p - M P P と比較すると、溶性薬物は、A C V p - M P P よりも 1 0 倍高い濃度でさえ、保護性が有意に弱かった (表 1 1)。膣粘膜表面でのナノ粒子の分布および保持、ならびに反復投与の効果を研究するために、6 ~ 8 週齢の C F - 1 マウス (H a r l a n) を使用した。マウスを、逆転光サイクル施設 (明 1 2 時間 / 暗 1 2 時間) 中に収容した。自然循環発情の場合には、マウスを、外的な発情様相について選択し、精密な吟味により確認した (A. K. Champlin, D. L. Dorr, A.H. Gates, Determining the stage o

f the estrous cycle in the mouse by the appearance of the vagina. Biol Reprod 8, 491-494 (1973); E. Allen, The oestrous cycle in the mouse. American Journal of Anatomy 30, 297-371 (1922)). ホルモン誘発発情 (I E) の場合には、マウスを3週間順化させ、実験に先立って100 μ gの安息香酸17-エストラジオール (Sigma) を2日間皮下で注射した。多くの研究で、エストラジオールでの処理は、類似の上皮特性および腔細胞集団を伴う「発情様」状態を誘導することが立証されている (C. G. Rosa, J. T. Velardo, Histochemical localization of vaginal oxidative enzymes and mucins in rats treated with estradiol and progesterone. Ann NY Acad Sci 83, 122-144 (1959); C. A. Rubio, The exfoliating cervico-vaginal surface, II. Scanning electron microscopical studies during the estrous cycle in mice. Anat Rec 185, 359-372 (1976); A. E. Gillgrass, S. A. Fernandez, K. L. Rosenthal, C. Kaushic, Estradiol regulates susceptibility following primary exposure to genital herpes simplex virus type 2, while progesterone induces inflammation. Journal of Virology 79, 3107-3116 (2005)). 腔毒性およびサイトカイン放出に関して、実験に先立って、マウスに2.5 mgのDepo-Provera (酢酸メドロキシプロゲステロン、150 mg/mL) (Pharmacia & Upjohn Company) を皮下で7日間注射した。

【0183】

すべての粒子溶液に対して低張性媒体として水を使用した。生体外追跡の場合、5 μ Lの粒子を腔内で投与した。ほぼ10分後に、腔を取り出し、注意して薄く切り開き、扁平にした。組織を変形させることなく、カバーガラスを頂面上に配置して粘液に接触させることができるように構成された特注の適切に構成されたウェル中に、全組織を配置した。ウェルは、標準的なガラススライドに粘着された3層の絶縁テープから切り出されたほぼ1 mm \times 0.5 mmの長方形とした。カバーガラスの縁端の周りを瞬間接着剤で密閉し、乾燥を防ぐために直ちに造影した。

【0184】

頸椎脱臼による屠殺を含む実験手順に先立って、マウスを麻酔した。すべての研究で、マウスを、腹部の周りの弱粘着性テープの罫によって自己グルーミングから、および個別ケージ中に収容することによって相互グルーミングから保護した。

【0185】

従来の粘液粘着性粒子 (CP) には、カルボキシル (COOH) で修飾された100 nmサイズの蛍光性ポリスチレン (PS) ナノ粒子 (Molecular Probes) を使用した。これらの粒子は、中性pHで負に帯電した表面を特徴とする (表12)。粘液浸透性粒子 (MPP) を製造するために、CPを、標準的な1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドカップリング反応によってアミンで修飾された5 kDaのPEG (Creative PEGworks) で共有結合により修飾した。粒径および電位を、Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments) を使用して、それぞれ動的光散乱およびレーザードップラー流速測定法によって測定した。サイズの測定は、25、90°の散乱角で実施した。サンプルを10 mM NaCl溶液 (pH7) で希釈し、装置の説明書に従って測定を実施した。レーザードップラー流速測定法で測定される中性近くの電位を利用して、PEGの複合を確認した。

【0186】

生分解性粒子には、PLGA acid 2A (50:50 Lakeshore Biomaterials)、Lutrol F127 (BASF)、およびポリ (ビニルアルコール) (PVA 25 kDa, Polysciences) を使用した。Alexa Fluor 555 を、前に記載のようにナノ沈降によってナノ粒子を製造するのに使用されるPLGAに化学的に複合させた (M. Yang, S. K. Lai, Y. Y. Wang, W. Zhong, C. Happe, M. Zhang, J. Fu, J. Hanes, Biodegradable Nanoparticles Composed Entirely of Safe Materials that Rapidly Penetrate Human Mucus. Angew Chem Int Ed Engl

50, 2597-2600 (2011))。簡潔には、10 mg/mL の標識化 PLGA をアセトンまたは THF (2 mg の FITC を含むか、含まない) 中に溶解し、40 mL の界面活性剤水性溶液に滴加した。2 時間攪拌した後、粒子を、5 μm のシリンジ式フィルター (Sorrall RC-6+, Thermo Scientific) を通して濾過し、遠心分離により集め、洗浄した。粒径および電位を記載のように測定した。

【0187】

ACVp-MPP を、ACVp を Lutrol F127 を含む超純水に溶解することによって調製した。酢酸亜鉛を、5:1 の ACVp:Zn のモル比で添加し、ACVp をキレート化し、それを非水溶性にし、次いで、直ちに急速凍結し、凍結乾燥した。粒子の特徴付けは、再構成の後に実施した。投与に先立って、超純水を用いて、粉末を、ACVp が 1 mg/mL、Lutrol が 0.8 mg/mL の最終濃度で再構成した。溶性 ACVp を、pH を 6~7 に到達させるのに必要とされるような NaOH で滴定した。粒径および電位を記載のように測定した。

【0188】

生体外腔組織サンプル中での蛍光性粒子の軌跡を、100×の油浸対物レンズ(開口数 1.3)を備えた倒立落射顕微鏡上に搭載されたシリコン増強ターゲットカメラ(VE-1000、Dage-MTI)を使用して記録した。動画を Metamorph ソフトウェア(Universal Imaging Corp.)を用い、66.7 ミリ秒の時間分解能で 20 秒間捕捉した。n>130 個の粒子の軌跡を、各実験について分析し、異なるマウスからの組織を使用して 3 つの独立実験を実施した。粒子重心の座標を、

$\langle r^2 \rangle = [x(t + \Delta t) - x(t)]^2 + [y(t + \Delta t) - y(t)]^2$ として計算される時間平均二乗幾何平均変位 ($\langle MSD \rangle$) に変換した。

【0189】

式中、 Δt は時間尺度(または時間遅れ)であり、x および y は、時刻 t での対応する粒子の座標であり、 r^2 は MSD である。この式は、以前に立証されているように、粒子の MSD および有効拡散係数 (D_{eff}) を計算するのに使用された (S. K. Lai, D. E. O' Hanlon, S. Harrold, S. T. Man, Y. Y. Wang, R. Cone, J. Hanes, Rapid transport of large polymeric nanoparticles in fresh undiluted human mucus. Proc Natl Acad Sci USA 104, 1482-1487 (2007); B. C. Tang, M. Dawson, S. K. Lai, Y. Y. Wang, J. S. Suk, M. Yang, P. Zeitlin, M. P. Boyle, J. Fu, J. Hanes, Biodegradable polymer nanoparticles that rapidly penetrate the human mucus barrier. Proc Natl Acad Sci USA 106, 19268-19273 (2009))。計算された D_{eff} 値は、以前に記載のように、粘液板中での粒子浸透をモデル化するのに使用された (B. C. Tang, M. Dawson, S. K. Lai, Y. Y. Wang, J. S. Suk, M. Yang, P. Zeitlin, M. P. Boyle, J. Fu, J. Hanes, Biodegradable polymer nanoparticles that rapidly penetrate the human mucus barrier. Proc Natl Acad Sci USA 106, 19268-19273 (2009))。

【0190】

粘液除去を伴う分布の場合、粒子投与に先立って、マウスを、50 μL の PBS で 2 回腔洗浄し、続いて先端に綿を付けたアプリーケーターで 1 回拭き取った。続いて、5 μL の CP または MPP を腔内で投与した。次いで、腔全体を取り出し、ティッシュ・テック O.C.T コンパウンド (サクラファインテック U.S.A.) 中で凍結した。Micro HM500M Cryostat (Micro International) を使用して、組織(腔口と子宮頸管との間の)の長さに沿った種々の箇所で、横断切片を得た。切片の厚さは、単一細胞層の厚さを達成するために 6 μm に設定した。次いで、細胞核を可視化し、粒子の蛍光を保持するために、切片を、DAPI を含む ProLong Gold (Invitrogen) 褪色防止用封入剤で染色した。倒立蛍光顕微鏡を用いて、切片の蛍光画像を得た。ナノ粒子の分布を量化するため、5 μL の CP または MPP を腔内で投与した。10 分以内に、腔組織を、粒子を投与していない「ブランク」組織を含めて、長さ方向に薄く切り開き、2 枚のスライドガラスの間に挟み、瞬間接着剤で密封した。この処理により、組織は完全に扁平化され、襞が露出する。「ブランク」組織は、

撮影されたすべての画像がバックグラウンドレベルを十分に超えることを保証するための、組織のバックグラウンド蛍光レベルを評価するのに使用した。低倍率での6枚の蛍光画像および高倍率での少なくとも1枚の画像を、各組織について撮影した。蛍光シグナルの周りに境界を描くために、画像に閾値を設定し、次いで、覆われた面積を、Image Jソフトウェアを使用して量化した。平均被覆度を各マウスについて求め、次いで、これらの値をn = 3のマウスの群にわたって平均化した。各マウスからの子宮頸部を、子宮角から切断し、生体外粒子追跡に使用されたと同様の特注ウェルを使用して取り付けした。ウェルをカバーガラスで密閉し、ブランク組織を使用してバックグラウンド蛍光レベルを測定した。子宮頸部のほぼ全表面を構成する1枚の蛍光画像を、低倍率で組織のバックグラウンドレベル以上で撮影した。これらの画像に同様の方式で閾値を設定し、粒子で覆われた面積を測定した。少なくとも1枚のより高倍率の画像を、各組織について撮影して、個々の粒子を示した。

10

【0191】

MPPおよびCPの移流を、特注のキャピラリー管装置を使用して可視化した。扁平キャピラリー管(0.4 mm × 4 mm × 50 mm、VitroCom)を1 mLのツベルクリンシリンジ(Becton Dickinson)に1本の可撓性プラスチックチューブを経由して取り付けした。チューブをキャピラリー管の一端に取り付け、シリコングリースを使用して密閉した。シリンジおよびチューブに生理食塩水、続いて、3% (容積/容積)の約500 nm非被覆(赤色蛍光)およびPEG被覆(緑色蛍光)ポリスチレンビーズ(Invitrogen)と混合された新鮮で希釈されていないヒトCVMを負荷した。PEGで被覆されたビーズは、マウスでの研究で使用された100 nmのMPPについて前に説明したように調製された。キャピラリー管を満たすにはほぼ80 μLの粘液が必要であり、気泡の導入を避けるように注意した。圧力を印加したか、印加しないキャピラリー管内でのMPPおよびCPの運動を示す時間経過ビデオを、Zeiss LSM 510共焦点顕微鏡(Carl Zeiss MicroImaging, LLC)上の40×対物レンズを使用して記録した。

20

【0192】

FITC色素(Sigma-Aldrich)を、T. Moench(ReproTECT)から好意で提供されたHECゲルと1 mg/mLで混合した。生分解性MPPを、説明したよう調製し、FITC色素を装填し、1% Lutrol F127中に懸濁させた。分布を評価するため、10 μLのゲルまたは粒子溶液を腔内で投与した。24時間後に、腔組織を取り出し、切開して扁平にした。次いで、組織を2枚の顕微鏡スライドの間に挟み、押しつぶして粘膜襞を扁平にした。腔組織からのバックグラウンド自己蛍光を求めるために「ブランク」組織を含めて、使用される暴露設定が、FITCの存在を示すことを確実にした。2×の対物レンズを備えたNikon E600倒立顕微鏡を使用して、扁平化された組織表面上での色素分布の蛍光画像を得た。被覆面積を測定するために、Image Jを使用する同様の方式で、これらの画像に閾値を設定した。

30

【0193】

ナノ粒子の保持を評価するために、5 μLの赤色蛍光性のCPまたはMPPを腔内で投与した。全子宮頸腔管を、0、2、4および6時間の時点で取得し、標準的な組織培養皿中に配置した。それぞれの条件および時点に対して、n > 7のマウスを使用した。組織の蛍光画像を、Xenogen IVIS Spectrum造影装置(Caliper Life Sciences)を使用して取得した。Xenogen Living Image 2.5ソフトウェアを使用して、単位面積当たりの蛍光計数の量を計算した。

40

【0194】

5 μLの粒子または対照溶液を、DPマウスモデルに腔内で投与した。24時間後、全子宮頸腔管を取得し、4%パラホルムアルデヒド溶液中で24時間固定した。組織を、70%エタノール中に入れ、パラフィン包埋およびH&E染色のために、Johns Hopkins Reference Histology Laboratoryに送った。

50

【0195】

20 μ Lの各試験薬剤を、DPマウスモデルに1日1回、7日間、膈内で投与した。H E CゲルおよびN9は、T. Moench (Reprotect)によって提供され、T F V用媒体ゲルは、C. Dezzutti (Pittsburgh大学)の好意で提供された。8日目に、各マウスを、50 μ LのPBSで2回洗浄した。各洗浄サンプルを、さらなる200 μ LのPBSで希釈し、遠心分離して粘液栓を除去した。上清(200 μ L)を取り出し、4種(IL-1、IL-1、TNF-、およびIL-6)のQuantikine ELISAキット(R&D Systems, Inc.)のそれぞれのために50 μ Lに分割した。製造業者の説明書に従ってELISAを実施した。

【0196】

すべてのデータは、示した平均値の標準誤差(SEM)を伴う平均として示される。統計的有意は、不等分散を仮定した両側スチューデントt検定($\alpha = 0.05$)によって判定した。HSV-2負荷の場合、統計的有意は、フィッシャーの直接検定、両側分布を使用して判定した。

【0197】

女性生殖管は、広範な範囲の性感染症にかかりやすい(R. Mallipeddi, L. C. Rohan, Nanoparticle-based vaginal drug delivery systems for HIV prevention. Expert Opin Drug Deliv 7, 37-48 (2010))。生物学的脆弱性、女性が主導する予防方法の欠如、およびコンドーム使用を交渉する能力の欠如は、すべて、世界的に男性から女性への伝染の一因となる(R. Mallipeddi, L. C. Rohan, Nanoparticle-based vaginal drug delivery systems for HIV prevention. Expert Opin Drug Deliv 7, 37-48 (2010); V. M. Ndesendo, V. Pillay, Y. E. Choonara, E. Buchmann, D. N. Bayever, L.C. Meyer, A Review of current intravaginal drug delivery approaches employed for the prophylaxis of HIV/AIDS and prevention of sexually transmitted infections. AAPS PharmSciTech 9, 505-520 (2008))。女性を膈HIV、HSV-2、およびその他のウイルス感染から保護するための、投与が容易で、目立たず、かつ効果的な方法は、世界的に多数の感染症を防ぐ可能性がある。11種の殺菌薬の試験で失敗した後に、CAPRISA004が、ゲル剤の状態で経膈で投与される殺菌薬(テノフォビル)を用いて、HIVに対する部分的保護を立証した最初のものであった(Q. A. Karim, S. S. A. Karim, J. A. Frohlich, A. C. Grobler, C. Baxter, L. E. Mansoor, A. B. M. Kharsany, S. Sibeko, K. P. Mlisana, Z. Omar, T. N. Gengiah, S. Maarschalk, N. Arulappan, M. Mlotshwa, L. Morris, D. Taylor, C. T. Grp, Effectiveness and Safety of Tenofovir Gel, an Antiretroviral Microbicide, for the Prevention of HIV Infection in Women. Science 329, 1168-1174 (2010))。N9などの前世代の殺菌薬と現世代の殺菌薬との間の相違は、作用部位である。ヌクレオシド類似体テノフォビルおよびアシクロビルモノホスフェートなどの現世代の多くの殺菌薬は、細胞内で作用してウイルスの複製を阻害し、一方、前世代のものは、膈腔中で病原体を直接的に不活化した。しかし、前世代の一部の殺菌薬は、感染への感受性を高めた膈上皮に対して毒性をもたらした(O. J. D'Cruz, F. M. Uckun, Dawn of non-nucleoside inhibitor-based anti-HIV microbicides. J Antimicrob Chemother 57, 411-423 (2006))。

【0198】

最大限に有効である膈への薬物送達のために、局所で送達される薬物は、均一に分布され、十分に高い濃度を維持し、かつ折りたたまれた膈上皮(粘液襞)および子宮頸部粘液に密に近接して留まるべきである。いくつかの技法、例えば、MRI(C. K. Mauck, D. Katz, E. P. Sandefer, M. D. Nasution, M. Henderson, G. A. Digenis, I. Su, R. Page, K. Barnhart, Vaginal distribution of Replens and K-Y Jelly using three imaging techniques. Contraception 77, 195-204 (2008))、ガンマ-シンチグラフィ(C. K. Mauck, D. Katz, E. P. Sandefer, M. D. Nasution, M. Henderson, G. A. Digenis, I. Su, R. Page, K. Barnhart, Vaginal distribution of Replens and K-Y Jelly using three imaging techniques. Contraception 77, 195-204 (2008); およびB. E. Chattert

10

20

30

40

50

on, S. Penglis, J. C. Kovacs, B. Presnell, B. Hunt, Retention and distribution of two ^{99m}Tc-DTPA labelled vaginal dosage forms. *Int J Pharm* 271, 137-143 (2004))、膣鏡検査 (N. Poelvoorde, H. Verstraelen, R. Verhelst, B. Saerens, E. De Backer, G. L. dos Santos Santiago, C. Vervaet, M. Vaneechoutte, F. De Boeck, L. Van Bortel, M. Temmerman, J. P. Remon, In vivo evaluation of the vaginal distribution and retention of multi-particulate pellet formulation. *Eur J Pharm Biopharm* 73, 280-284 (2009))、および光ファイバー (C. K. Mauck, D. Katz, E. P. Sandefer, M. D. Nasution, M. Henderson, G. A. Digenis, I. Su, R. Page, K. Barnhart, Vaginal distribution of Replens and K-Y Jelly using three imaging techniques. *Contraception* 77, 195-204 (2008)) を使用して、膣投与に続くゲルおよび薬物の分布を観察した。これらの技法は、膣管に沿って大まかな分布を観察するのに適しているが、膣壁中への侵入を明らかにしない。本発明者らの研究は、局所治療は、膣管の長さ方向に沿って良好に分布される可能性があるが、折りたたまれた上皮の多くは未治療および未保護のままであることもあることを立証した。このような未処置表面は、臨床試験における HIV に対するいくつかの候補殺菌薬の最近の失敗の一因である可能性がある (C. W. Hendrix, Y. J. Cao, E. J. Fuchs, Topical microbicides to prevent HIV: clinical drug development challenges. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 49, 349-375 (2009))。さらに、流体またはゲルを膣に投与すると、それは、急速に流れる外側管腔粘液層に直接的に接触する。CP などの粘液粘着性粒子は、この表在粘液層中に捕捉され、それによって、粘液壁から排除される。対照的に、本発明者らは、MPP が、マウスの粘液壁中に深く浸透する能力があり、低張性で送達されると、わずか 10 分以内に、上皮の完全な被覆度を提供した。

【0199】

粒子の拡散は、このような均一な上皮コーティングを数分以内にもたすのに十分なほど急速ではない。約 100 μm を超える拡散は、およそ数時間を必要とする。しかし、膣上皮は、浸透勾配によって誘導される流体吸収のための大きな能力を有する。粘液バリア中での水の吸収は、移流により全上皮表面に急速に到達する上で MPP を助け、次いで、装填薬物を、組織での最適な取り込みのために放出することができる。対照的に、水吸収は、CP が管腔粘液中で粘着して捕捉され、不動化されるので、CP にとって有益ではない (ビデオ 2)。

【0200】

治療上活性な化合物の膣管中での不十分な保持は、膣保護に対するもう 1 つの制約因子である。例えば、多くの膣用殺精子薬は、1 時間以下の保護を提供する (L. J. D. Zaneveld, D. P. Waller, N. Ahmad, J. Quigg, J. Kaminski, A. Nikurs, C. De Jonge, Properties of a new, long-lasting vaginal delivery system (LASRS) for contraceptive and antimicrobial agents. *J. Androl* 22, 481-490 (2001))。その他の膣用製品は、6 時間後でさえ十分に保持されず、(R. F. Omar, S. Trottier, G. Brousseau, A. Lamarré, G. Alexandre, M. G. Bergeron, Distribution of a vaginal gel (Invisible Condom) before, during and after simulated sexual intercourse and its persistence when delivered by two different vaginal applicators: a magnetic resonance imaging study. *Contraception* 77, 47-455 (2008) ; N. Poelvoorde, H. Verstraelen, R. Verhelst, B. Saerens, E. De Backer, G. L. dos Santos Santiago, C. Vervaet, M. Vaneechoutte, F. De Boeck, L. Van Bortel, M. Temmerman, J. P. Remon, In vivo evaluation of the vaginal distribution and retention of a multi-particulate pellet formulation. *Eur J Pharm Biopharm* 73, 280-284 (2009) ; B. E. Chatterton, S. Penglis, J. C. Kovacs, B. Presnell, B. Hunt, Retention and distribution of two ^{99m}Tc-DTPA labelled vaginal dosage forms. *Int J Pharm* 271, 137-143 (2004))、十分な保護のための反復投与を必要とする。同様に、CP は、粘液層中に深く浸透しないので、その 90% 超が、6 時間以内に膣から流れ出された。対照的に、MPP は、封入されたモデル薬物 (FITC) の少なくとも 24 時間の、ゲル製剤の状態の溶性薬物に比較して高められた送達を提供した。したがって、MPP は、治療のために、性感染疾患に対する殺菌薬などの強力

な1日1回の局所腔投与を達成するための手段を提供できる。

【0201】

腔管のための粘膜薬物送達システムを開発するための従来の試みにおいて、粘液バリアを減少させる種々の「予備処置」が使用されてきた。粘液粘着性の送達媒体を投与する前の、流体投与(Y. Cu, C. J. Booth, W. M. Saltzman, *In vivo* distribution of surface-modified PLGA nanoparticles following intravaginal delivery. *J. Control Release*, (10.1016/j.jconrel.2011.06.036); K. A. Woodrow, Y. Cu, C. J. Booth, J. K. Saucier-Sawyer, M. J. Wood, W. M. Saltzman, *Intravaginal gene silencing using biodegradable polymer nanoparticles densely loaded with small-interfering RNA. Nat Mater* 8, 526-533 (2009); T. Kanazawa, Y. Takashima, S. Hirayama, H. Okada, *Effects of menstrual cycle on gene transfection through mouse vagina for DNA vaccine. Int J Pharm* 360, 164-170 (2008); T. Kanazawa, Y. Takashima, Y. Shibata, M. Tsuchiya, T. Tamura, H. Okada, *Effective vaginal DNA delivery with high transfection efficiency is a good system for induction of higher local vaginal immune responses. J Pharm Pharmacol* 61, 1457-1463 (2009))、綿棒拭き取り(K. A. Woodrow, Y. Cu, J. Booth, J. K. Saucier-Sawyer, M. J. Wood, W. M. Saltzman, *Intravaginal gene silencing using biodegradable polymer nanoparticles densely loaded with small-interfering RNA. Nat Mater* 8, 526-533 (2009); A. S. Kask, X. Chen, J. O. Marshak, L. Dong, M. Saracino, D. Chen, C. Jarrahan, M. A. Kendall, D. M. Koelle, *DNA vaccine delivery by densely-packed and short microprojection arrays to skin protects against vaginal HSV-2 challenge. Vaccine* 28, 7483-7491 (2010))、または分解酵素(M. M. Seavey, T. R. Mosmann, *Estradiol-induced vaginal mucus inhibits antigen penetration and CD8(+)T cell priming in response to intravaginal immunization. Vaccine* 27, 2342-2349 (2009))が、これらの研究で達成される薬物または遺伝子送達にとっておそらくは必須である。この場合、洗浄+綿棒拭き取りの前処置は、腔中でのCPの分布を顕著に改善し、粒子が上皮を、MPPと同様に被覆することを可能にすることが見出された(図19)。バリアを除去する前処置は、ヒトに使用するには实际的でなく、特に、性感染疾患を予防することを意図した殺菌薬に対して適していない可能性がある。健康なCVM自体は、ウイルス感染に対して若干有効なバリアである(S. K. Lai, K. Hida, S. Shukair, Y. Y. Wang, A. Figueiredo, R. Cone, T. J. Hope, L. Hanes, *Human immunodeficiency virus type 1 is trapped by acidic but not by neutralized human cervicovaginal mucus. J Virol* 83, 11196-11200 (2009))。有効な上皮被覆度は、MPPを使用することによって、粘液バリアを分解または除去する必要なしに達成することができる。

【0202】

PEGコーティングは、免疫系によって容易には認識されないポリマー性薬物担体を開発する際に広範に使用されてきた(B. C. Tang, M. Dawson, S. K. Lai, Y. Y. Wang, J. S. Suk, M. Yang, P. Zeitlin, M. P. Boyle, J. Fu, J. Hanes, *Biodegradable polymer nanoparticles that rapidly penetrate the human mucus barrier. Proc Natl Acad Sci USA* 106, 19268-19273 (2009))。密なPEGコーティングは、マウスの腔管に炎症を引き起こすことなしに、粘液に急速に浸透することが立証された。対照的に、被覆されていないCPの投与は、N9の投与に類似した急性炎症応答を引き起こした。さらに、MPPの毎日投与に伴うサイトカインレベルは、HECプラセボゲルと区別がつかなかった。上皮の損傷に伴うIL-1およびIL-1レベルの上昇が、N9およびTFV用媒体ゲルの双方を用いた毎日投与後に発生した。このゲルのテノフォビル含有バージョンは、組織体外移植モデルにおいてHIVに対して完全な保護を有することが示され、完全な保護は、目に見える上皮脱落にもかかわらず発生した(L. C. Rohan, B. J. Moncla, R. P. Kunjara Na Ayudhya, M. Cost, Y. Huang, F. Gai, N. Billitto, J. D. Lynam, K. Pryke, P. Graebing, H. Hopkins, J. F. Rooney, D. Friend, C. S. Dezzutti, *In vitro and ex vivo testing of tenofovir shows it is effective as an HIV-1 microbicide. P*

LoS One 5, e9310 (2010))。以前の研究は、T F V ゲル剤中のグリセロールが、マウスで観測される毒性に責任がある可能性があることを示唆している (T. R. Moench, R. J. Mumper, T. E. Hoen, M. Sun, R. A. Cone, Microbicide excipients can greatly increase susceptibility to genital herpes transmission in the mouse. BMC Infect Dis 10, 331 (2010))。

【 0 2 0 3 】

マウスは、腔用製品を開発するのに有用な動物モデルであるが、マウスとヒトの間には、腔の生理機能に重要な相違が存在する。第 1 に、発情サイクルは、28 日であるヒトの月経周期と対照的に、4 ~ 5 日にわたる周期で発生する。ヒトの腔上皮の変化は、月経サイクル中、比較的ほんのわずかであるのに対して、マウスの発情サイクルの 4 つの段階の間、実質的な増殖に上皮の脱落が続く (B. G. Smith, E. K. Brunner, The structure of the human vaginal mucosa in relation to the menstrual cycle and to pregnancy. American Journal of Anatomy 54, 27-85 (1934) ; A. K. Ildgruben, I. M. Sjoberg, M.-L. K. C. Hammarstrom, Influence of hormonal contraceptives on the immune cells and thickness of human vaginal epithelium. Obstetrics & Gynecology 102, 571-582 (2003))。マウスの発情サイクルの発情期の末期と発情期の初期は、ヒトの腔上皮のそれに最も類似している (B. G. Smith, E. K. Brunner, The structure of the human vaginal mucosa in relation to the menstrual cycle and to pregnancy. American Journal of Anatomy 54, 27-85 (1934) ; A. W. Asscher, C. H. De Boer, C. J. Turner, Cornification of the human vaginal epithelium. J. Anat 90, 547-552 (1956))。これらの段階で、乳酸桿菌の存在のピークを含む有意な細菌定着が存在する (H. M. Cowley, G. S. Heiss, Changes in Vaginal Bacterial Flora During the Oestrous Cycle of the Mouse. Microbial Ecology in Health and Disease 4, 229-235 (1991))。さらに、エストラジオールの影響は、双方とも M P P で浸透性であり、かつおよそ数時間で排除され、ヒトに類似していることがマウスにおいて見出された粘液の活発な分泌を引き起こす (H. M. Cowley, G. S. Heiss, Changes in Vaginal Bacterial Flora During the Oestrous Cycle of the Mouse. Microbial Ecology in Health and Disease 4, 229-235 (1991) ; L. B. Corbeil, A. Chatterjee, L. Foresman, J. A. Westfall, Ultrastructure of cyclic changes in the murine uterus, cervix, and vagina. Tissue Cell 17, 53-68 (1985) ; C. G. Rosa, J. T. Velardo, Histochemical localization of vaginal oxidative enzymes and mucins in rats treated with estradiol and progesterone. Ann NY Acad Sci 83, 122-144 (1959))。したがって、I E マウスモデルは、腔への送達方法を調べるための、一般的に使用される D P モデルに加えた貴重なモデルであると考えられる。エストラジオールは、マウスを発情期で同調させるのに使用することができるが、それらのマウスを発情状態で「留める」ことはない。それらのマウスはサイクルを継続し、一方、D P 処置は、マウスを発情休止様期に数日から数週間留めることができる (C. Kaushic, A. A. Ashkar, L. A. Reid, K. L. Rosenthal, Progesterone increases susceptibility and decreases immune responses to genital herpes infection. J Virol 77, 4558-4565 (2003))。

【 0 2 0 4 】

M P P が、ヒトの子宮頸腔およびマウスの腔粘液に急速に浸透する能力があること、および M P P が、被覆の速度および均一性ならびに保持時間を従来の粘液粘着性ナノ粒子と比較して有意に改善することが示された。C P は、公知の刺激性 N 9 に類似した急性炎症応答を誘発したが、プラセボのゲル剤と同様、M P P は、検出される炎症応答を引き起こさなかった。アシクロビルモノホスフェートを装填した M P P を経腔で投与すると、溶性薬物の濃度が 10 倍より高くても、溶性薬物に比べて、腔 H S V - 2 感染からマウスを保護することに関してより効果的であった。これらの結果は、腔に安全で効果的な薬物を送達するための、性感染症、避妊、およびその他の子宮頸腔障害の治療のための M P P のさらなる開発を動機づける。

【 0 2 0 5 】

(例 8)

本非限定的例は、Pluronic (登録商標) F127 でコーティングしたポリスチレン (PS) 粒子の粘液中の相対速度と、Pluronic (登録商標) F127 の粒子表面上の密度との間の関係を示す。

一組の実験において、様々な濃度の Pluronic (登録商標) F127 の存在下、室温で少なくとも 24 時間の間、カルボキシル化 PS ナノ粒子の水性分散液 (200 nm、0.5 % w/v) を平衡化した。Pluronic (登録商標) F127 分子の、得た PS/Pluronic (登録商標) F127 ナノ粒子の表面上の密度を以下の通り定量化した。PS/Pluronic (登録商標) F127 混合物を超遠心分離機することによって、粒子の沈降を完了させた。その結果、PS に結合した Pluronic (登録商標) F127 が粒子と共に沈殿した；PS に結合していない Pluronic (登録商標) F127 は、上清中に残留した。得た上清 ($C_{F127, \text{遊離}}$) 中の Pluronic (登録商標) F127 の濃度をゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) で測定した。この実験では、G1362A 屈折率検出器および分析用 Agilent PLgel 5 μ m Mixed-C カラムを装備した Agilent 1100 HPLC システムを利用した。結合した Pluronic (登録商標) F127 ($C_{F127, \text{結合}}$) の濃度を以下のように計算した：

$C_{F127, \text{結合}} = C_{F127} - C_{F127, \text{遊離}}$
(式中、 C_{F127} は、混合物中に存在する Pluronic (登録商標) F127 の総濃度である。次いで PS 表面積 (F127 / nm^2) 当たりの Pluronic (登録商標) F127 分子の数を以下のように計算した：

$$F127/\text{nm}^2 = \frac{N_A \times C_{F127, \text{結合}}}{SA \times C_{PS}}$$

(式中、 N_A は、アヴォガドロ数であり、 $C_{F127, \text{結合}}$ は、結合した Pluronic (登録商標) F127 のモル濃度 (モル/L) であり、SA は、製造業者 (Invitrogen) 仕様から計算した PS 粒子の比表面積 (nm^2/g) であり、 C_{PS} は混合物中の PS の質量濃度 (g/L) である。製造業者 (BASF) により特定された Pluronic (登録商標) F127 の数平均分子量を計算に使用した。

【0206】

蛍光顕微鏡法および例 1 および 4 ~ 6 に記載されているような複数の粒子トラッキングソフトウェアを使用して、PS/Pluronic (登録商標) F127 粒子の粘液浸透能力をヒト頸腔部粘液中の相対速度として測定した。特に、試料は、対象となる粒子であり、陰性対照は、ポリマーコーティングのない、200 nm の蛍光性カルボキシル化 - 改変されたポリスチレン粒子であり、陽性対照は、2 または 5 kDa の PEG の高密度コーティングを有する 200 nm の蛍光性ポリスチレン粒子であった (十分に確立した、より低い粘膜付着挙動を有する)。試料、陰性対照、および陽性対照は、これらの蛍光色により互いに区別した。

【0207】

子宮頸腔粘液中での粒子の相対速度は、例 1 および 4 ~ 6 で説明したように、蛍光顕微鏡法および多粒子追跡ソフトウェアを使用して特徴付けられた。典型的な実験では、0.5 μ L の粒子懸濁液を、陽性対照および陰性対照と共に、20 μ L の新鮮な頸腔部粘液に加えた。CCD カメラを装着した蛍光性顕微鏡を使用して、66.7 ミリ秒 (15 フレーム/秒) の一時的解像度で、100 \times の倍率下で、各タイプの粒子：試料、陰性対照、および陽性対照に対する各試料内のいくつかの領域から 15 秒動画を記録した。次に、最先端の画像プロセッシングソフトウェアを使用して、少なくとも 3.335 秒 (50 フレーム) タイムスケールにわたり複数の粒子の個々の軌線を測定した。

図 25 に示されている結果は、Pluronic (登録商標) F127 でコーティングした PS 粒子の粘液中の相対速度が、粒子表面上の Pluronic (登録商標) F127 分子の密度が増加すると、増加したことを示した。

【 0 2 0 8 】

他の実施形態

本発明のいくつかの実施形態が本明細書中に記載され、例示されてきたが、当業者であれば、機能を実施するための、ならびに／または結果および／もしくは本明細書に記載されている利点のうちの1つもしくは複数を得るための様々な他の手段および／または構造を容易に想定し、このような変形および／または修正のそれぞれは、本発明の範囲内であるとみなされる。さらに一般的には、当業者は、本明細書に記載されているすべてのパラメーター、寸法、物質、および構成は例示的であることが意図されており、実際のパラメーター、寸法、物質、および／または構成は、本発明の教示が使用される特定の適用（複

数可）に依存することになることを容易に理解されよう。当業者であれば、慣用的試験だけを使用して、本明細書に記載されている本発明の特定の実施形態に対する多くの同等物を認識する、または確かめることができる。したがって、上に列挙した実施形態は、例としてのみ提示され、添付の特許請求の範囲およびこの同等物の範囲内で、具体的に記載され、特許請求されたものとは他のやり方で本発明を実施することができることが理解されるものとする。本発明は、本明細書に記載されているそれぞれ個々の特徴、システム、物品、物質、キット、および／または方法を対象とする。さらに、2種以上のこのような特徴、システム、物品、物質、キット、および／または方法のあらゆる組合せは、このような特徴、システム、物品、物質、キット、および／または方法が相互に矛盾しない場合、本発明の範囲内に含まれる。

10

【 0 2 0 9 】

不定冠詞「a」および「an」は、本明細書の明細書および特許請求の範囲の中で使用する場合、反対であると明らかに示されない限り、「少なくとも1つ」を意味すると理解されるべきである。

20

「および／または」という句は、本明細書中の明細書および特許請求の範囲において使用する場合、要素の「いずれかまたは両方」がこのように結合したことを意味する、すなわち、ある場合には接続的に存在する要素であり、他の場合には、非接続的に存在すると理解されるべきである。反対であると明らかに示されていない限り、具体的に特定されたような要素と関連しているか、または関連していないかに関わらず、「および／または」節により具体的に特定された要素以外の他の要素が存在してもよい。したがって、非限定的例として、「Aおよび／またはB」の言及は、「含む」などの制限のない言語と関連して使用された場合、一実施形態では、Bを含まないA（B以外の要素を含んでもよい）；別の実施形態では、Aを含まないB（A以外の要素を含んでもよい）；さらに別の実施形態では、AとBの両方（他の要素を含んでもよい）などを指すことができる。

30

【 0 2 1 0 】

明細書および特許請求の範囲において本明細書で使用する場合、「または」は、上記に定義されたような「および／または」と同じ意味を有すると理解されるべきである。例えば、リスト内のアイテムを分離する場合、「または」または「および／または」はすべてを含むと解釈されるものとし、すなわち、数字のうちの、または要素のリストのうちの少なくとも1つを包含するばかりでなく、1つより多くも含み、さらなる列挙されていないアイテムも含んでもよい。明らかに反対を示す唯一の用語、例えば、「～のうちの1つのみ」または「～のうちの正確に1つ」または、特許請求の範囲で使用された場合、「からなる」は、数字または要素のリストのうちの正確に1つの要素の包含を指すことになる。一般的に、「または」という用語は、本明細書で使用する場合、排他的用語、例えば、「いずれか」「～のうちの1つ」「～のうちの1つのみ」または「正確に1つの」などに先行された場合、排他的代替形態（すなわち「どれか一方であり両方ではない」）を示すように解釈されるものとする。「から基本的になる」が特許請求の範囲内で使用された場合、特許法律の分野で使用されているその通常の意味を有するべきである。

40

【 0 2 1 1 】

本明細書の明細書および特許請求の範囲で使用する場合、「少なくとも1つの」という句は、必ずしも、要素のリスト内に具体的に列挙されたそれぞれおよびすべての要素の少

50

なくとも1つを含むわけではなく、要素のリストの中の要素のいずれの組合せも除外せずに、1種または複数の要素のリストに関連して、要素のリストの中の要素のうちのいずれか1種または複数から選択される少なくとも1つの要素を意味すると理解すべきである。この定義はまた、具体的に特定されたこれらの要素と関連しているか、または関連していないかに関わらず、「少なくとも1つの」という句が指す要素のリスト内に具体的に特定された要素以外の要素が存在してもよいことを可能にする。したがって、非限定的例として、「AおよびBのうちの少なくとも1つ」（または、同等に、「AまたはBのうちの少なくとも1つ」または、同等に「Aおよび/またはBのうちの少なくとも1つ」）は、一実施形態では、Bは存在せずに、少なくとも1つのA（1つより多くのAを含んでもよい）を指すことができ（B以外の要素を含んでもよい）；別の実施形態では、Aは存在せずに、少なくとも1つのB（1つより多くのBを含んでもよい）を指すことができ（A以外の要素を含んでもよい）；さらに別の実施形態では、少なくとも1つのA（1つより多くのAを含んでもよい）および少なくとも1つのB（1つより多くのBを含んでもよい）を指すことができる（他の要素を含んでもよい）。

【0212】

特許請求の範囲、ならびに上記明細書の中で、すべてのつなぎ言葉、例えば、「含む（comprising）」、「含む（including）」、「保持する」、「有する」、「含有する」、「含む（involving）」、「保持する（holding）」などは制限のない、すなわち、これらを含むが、これらに限定されないことを意味することを理解されたい。唯一のつなぎ言葉「からなる」および「から本質的になる」は、それぞれ閉じられたまたは半ば閉じられたつなぎ言葉であるものとし、United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03に示されている通りである。

[付記]

[付記1]

複数の被覆された粒子を含む組成物であって、前記被覆された粒子が、
 固体の医薬品またはその塩を含む芯粒子であって、前記医薬品またはその塩がpH範囲の間の任意の箇所ですべて約1mg/mL以下の水溶性を有し、前記医薬品またはその塩が前記芯粒子の少なくとも約80重量%を構成する、芯粒子；及び

前記芯粒子を取り囲む表面改変剤を含むコーティングであって、前記表面改変剤が、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、前記疎水性ブロックが少なくとも約2kDaの分子量を有し、前記親水性ブロックが前記トリブロックコポリマーの少なくとも約15重量%を構成し、前記疎水性ブロックが前記芯粒子の表面と会合し、前記親水性ブロックが前記被覆された粒子の表面に存在し、前記被覆された粒子を親水性にし、前記表面改変剤が前記芯粒子の表面上に少なくとも約0.001分子/nm²の密度で存在する、コーティング、

を含み、前記被覆された粒子が、粘液中で0.5を超える相対速度を有する、組成物。

[付記2]

複数の被覆された粒子を含む組成物を粘液膜に送達することを含む方法であって、前記被覆された粒子が、

固体の医薬品またはその塩を含む芯粒子であって、前記医薬品またはその塩がpH範囲の間の任意の箇所ですべて約1mg/mL以下の水溶性を有し、前記医薬品またはその塩が前記芯粒子の少なくとも約80重量%を構成する芯粒子；及び

芯粒子を取り囲む表面改変剤を含むコーティングであって、前記表面改変剤が、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、前記疎水性ブロックが少なくとも約2kDaの分子量を有し、前記親水性ブロックが前記トリブロックコポリマーの少なくとも約15重量%を構成し、前記疎水性ブロックが、芯粒子の表面と会合し、前記親水性ブロックが前記被覆された粒子の表面に存在し、前記被覆された粒子を親水性にし、前記表面改変剤が芯粒子の表面上に少なくとも約0.001分子/nm²の密度で存在する、コーティング、

を含み、前記被覆された粒子が、粘液中で0.5を超える相対速度を有する、方法。

[付記3]

被覆された粒子を形成する方法であって、

芯粒子を、表面改変剤を含む溶液と組み合わせる工程、ここで前記芯粒子は、25の溶液中で約1mg/mL以下の溶解性を有し、芯粒子のそれぞれの少なくとも約80重量%を構成する固形の医薬品またはその塩を含む；

前記芯粒子を表面改変剤で被覆して、被覆された粒子を形成する工程、ここで前記表面改変剤は、親水性ブロック-疎水性ブロック-親水性ブロックの配置を含むトリブロックコポリマーを含み、前記疎水性ブロックが少なくとも約2kDaの分子量を有し、前記親水性ブロックがトリブロックコポリマーの少なくとも約15重量%を構成し、前記疎水性ブロックが、芯粒子の表面と会合し、前記親水性ブロックが、被覆された粒子の表面に存在し、被覆された粒子を親水性にし、被覆された粒子が、粘液中で0.5を超える相対速度を有する；

を含む、方法。

[付記4]

表面改変剤が、芯粒子に共有結合で結合している、付記1に記載の組成物。

[付記5]

表面改変剤が、芯粒子に非共有結合で吸着している、付記1に記載の組成物。

[付記6]

表面改変剤が、被覆された粒子の表面上に、1平方ナノメートルにつき、少なくとも約0.01分子の密度で存在する、付記1に記載の組成物。

[付記7]

トリブロックコポリマーの親水性ブロックが、トリブロックコポリマーの少なくとも約30重量%を構成する、付記1に記載の組成物。

[付記8]

トリブロックコポリマーの疎水性ブロックが、少なくとも約3kDaの分子量を有する、付記7に記載の組成物。

[付記9]

トリブロックコポリマーが、ポリ(エチレンオキシド)-ポリ(プロピレンオキシド)-ポリ(エチレンオキシド)またはポリ(エチレングリコール)-ポリ(プロピレンオキシド)-ポリ(エチレングリコール)である、付記8に記載の組成物。

[付記10]

トリブロックコポリマーの親水性ブロックが、ポリ(エチレンオキシド)もしくはポリ(エチレングリコール)、またはこれらの誘導体を含む、付記7に記載の組成物。

[付記11]

ポリ(エチレンオキシド)またはポリ(エチレングリコール)ブロックが、少なくとも約2kDaの分子量を有する、付記10に記載の組成物。

[付記12]

トリブロックコポリマーの疎水性ブロックが、ポリ(プロピレンオキシド)である、付記1に記載の組成物。

[付記13]

ポリ(プロピレンオキシド)ブロックが、少なくとも約3kDaの分子量を有する、付記12に記載の組成物。

[付記14]

表面改変剤が、溶液中に少なくとも約0.1(重量/容積)%の濃度で存在する、付記1に記載の組成物。

[付記15]

芯粒子のそれぞれが、結晶性医薬品またはその塩を含む、付記1に記載の組成物。

[付記16]

芯粒子のそれぞれが、非晶性医薬品またはその塩を含む、付記1に記載の組成物。

10

20

30

40

50

[付記 1 7]

芯粒子のそれぞれが、固体医薬品の塩を含む、付記 1 に記載の組成物。

[付記 1 8]

医薬品が、治療用薬剤または診断用薬剤の少なくとも 1 種である、付記 1 に記載の組成物。

[付記 1 9]

医薬品が、小分子、ペプチド、ペプチド模倣体、タンパク質、核酸、または脂質の少なくとも 1 種である、付記 1 に記載の組成物。

[付記 2 0]

医薬品またはその塩が、25 で約 0.1 mg/mL 以下の水溶性を有する、付記 1 に記載の組成物。

10

[付記 2 1]

医薬品が、芯粒子の少なくとも約 85 重量%を構成する、付記 1 に記載の組成物。

[付記 2 2]

芯粒子が、少なくとも約 20 nm かつ約 1 μm 以下の平均サイズを有する、付記 1 に記載の組成物。

[付記 2 3]

被覆された粒子が、少なくとも約 20 nm かつ約 1 μm 以下の平均サイズを有する、付記 1 に記載の組成物。

[付記 2 4]

被覆された粒子が、ヒト子宮頸腔粘液中を、1 秒の時間尺度で、粒子が水中を拡散する拡散係数の 1/500 を超える拡散係数で拡散する、付記 1 に記載の組成物。

20

[付記 2 5]

被覆された粒子が、粘液中で 0.8 を超える相対速度を有する、付記 1 に記載の組成物。

[付記 2 6]

粘液がヒト頸腔部粘液である、付記 1 に記載の組成物。

[付記 2 7]

付記 1 に記載の組成物および 1 種または複数の薬学上許容される担体、添加物、および/または希釈剤を含む医薬組成物。

30

[付記 2 8]

付記 1 に記載の組成物を含む、粘液膜に吸入、注射、または局所投与するのに適した医薬製剤。

FIG. 4

【図 5】

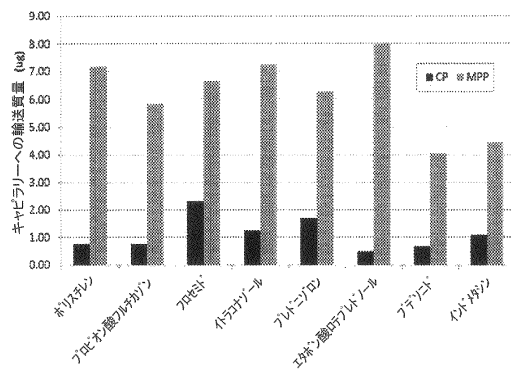
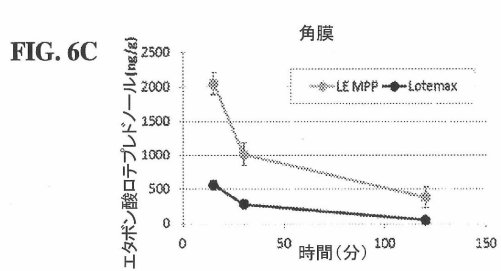
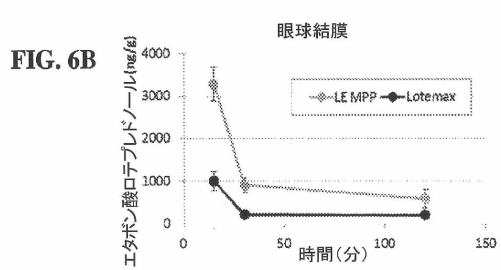
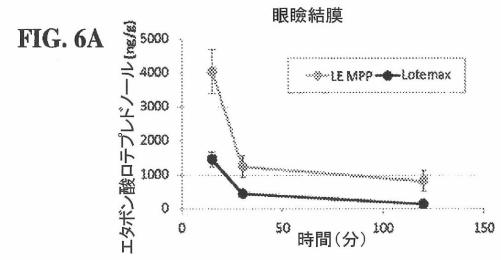
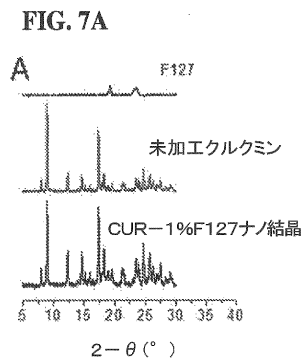


FIG. 5

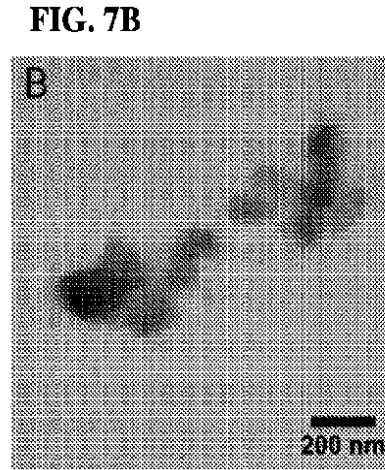
【図 6】



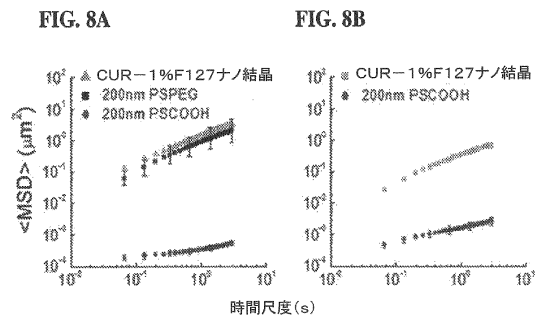
【図 7 A】



【図 7 B】



【圖 8】



【 図 9 】

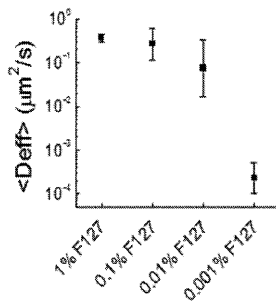
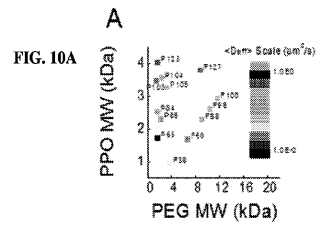
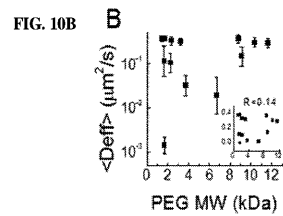


FIG. 9

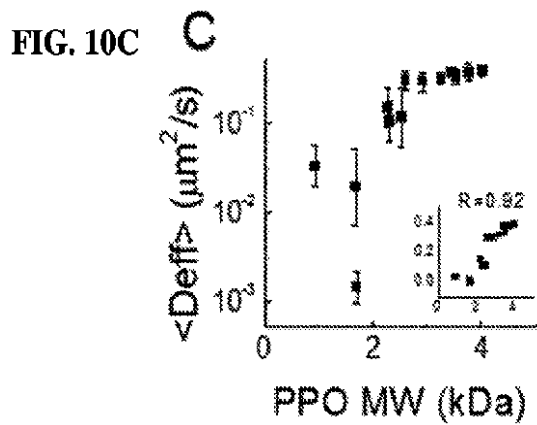
【 図 1 0 A 】



【 図 1 0 B 】



【 図 1 0 C 】



【 図 1 1 】

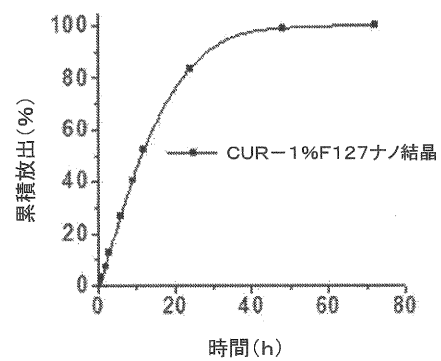


FIG. 11

【図 12】

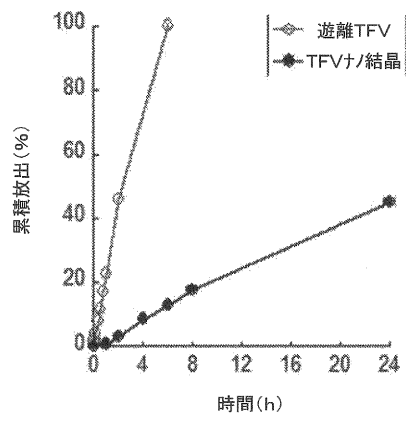


FIG. 12

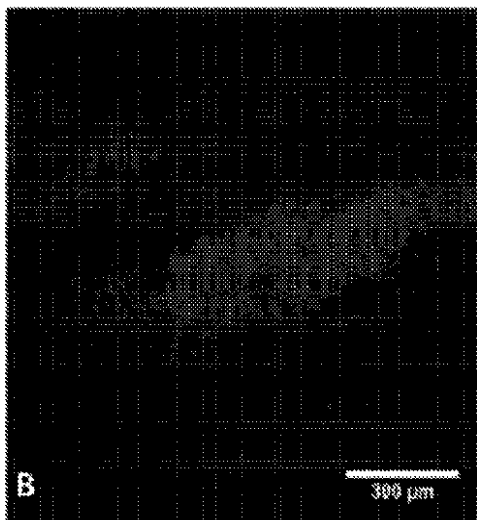
【図 13 A】

FIG. 13A



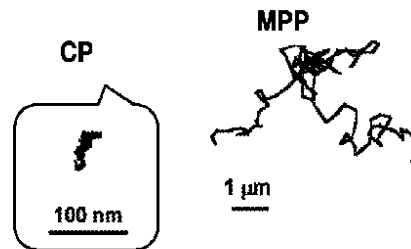
【図 13 B】

FIG. 13B



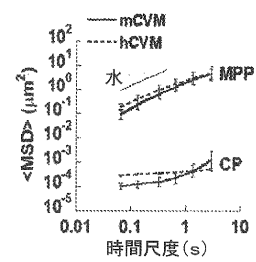
【図 14 A】

FIG. 14A

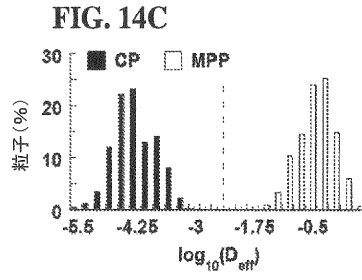


【図 14 B】

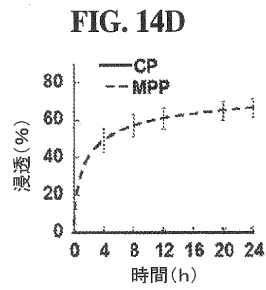
FIG. 14B



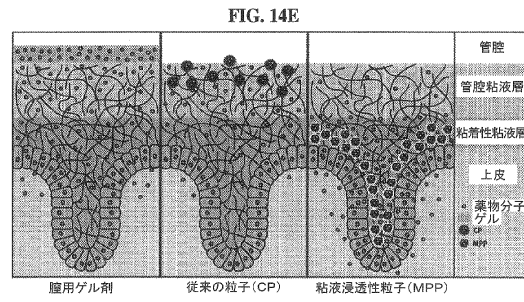
【図 14C】



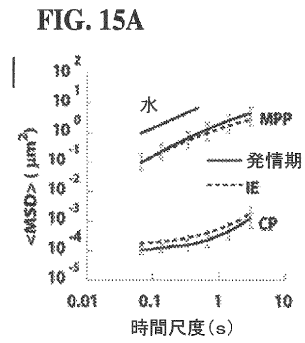
【図 14D】



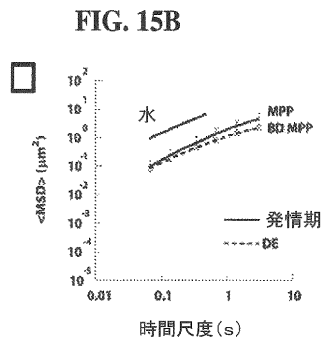
【図 14E】



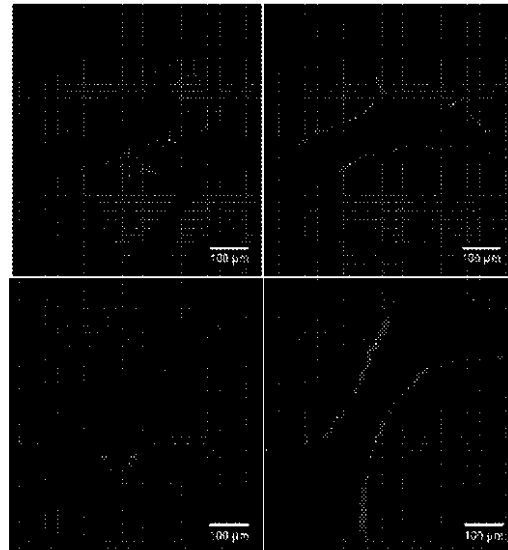
【図 15A】



【図 15B】



【図 16】

**FIG. 16**

【図 17】

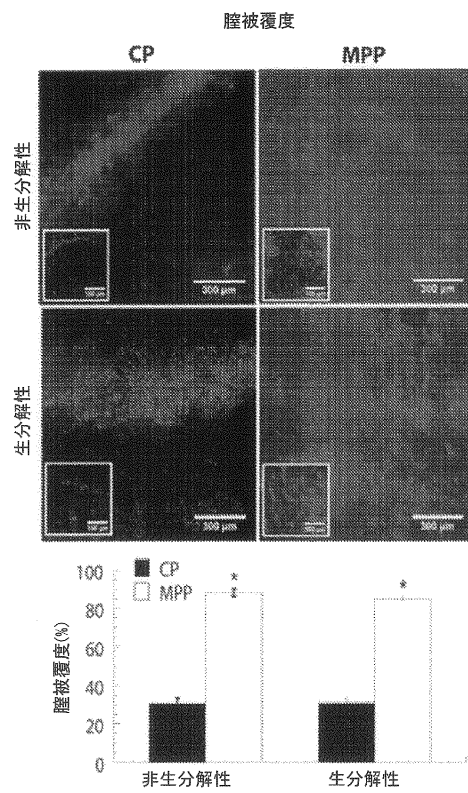


FIG. 17

【図 18】

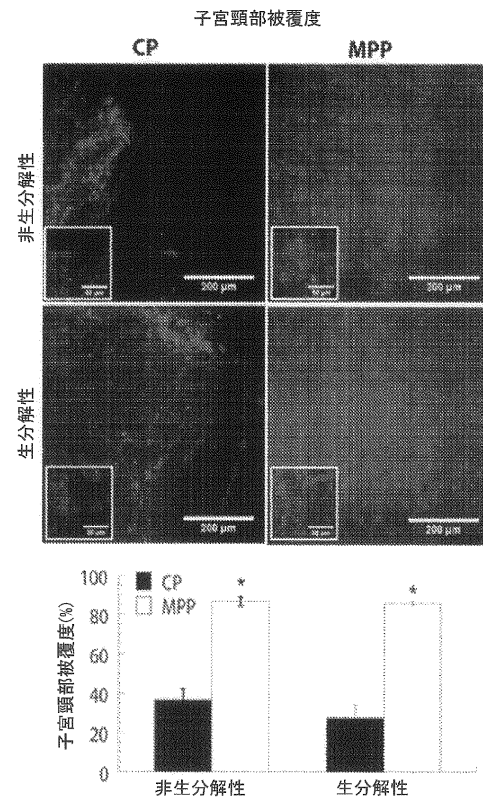


FIG. 18

【図 19】

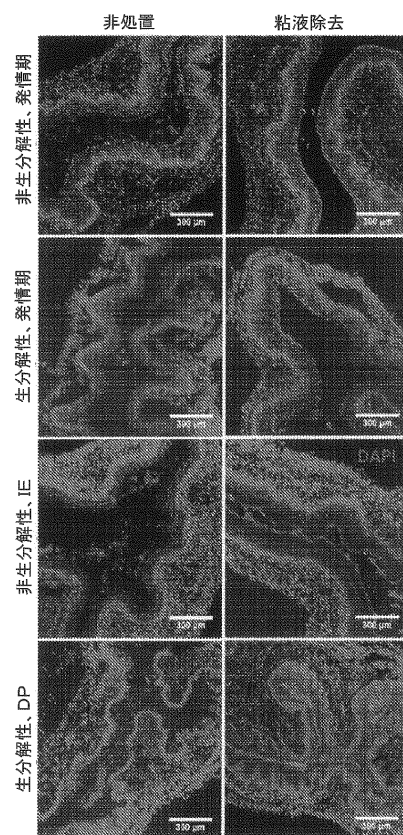


FIG. 19

【図 20】

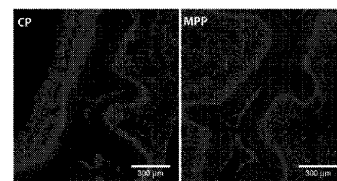
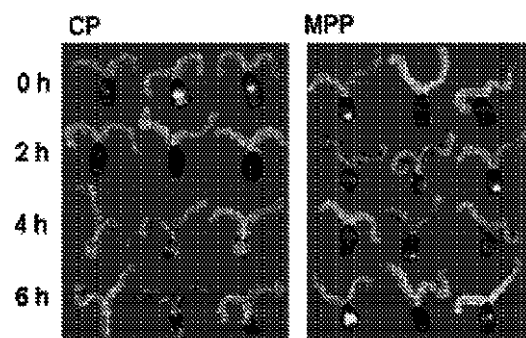


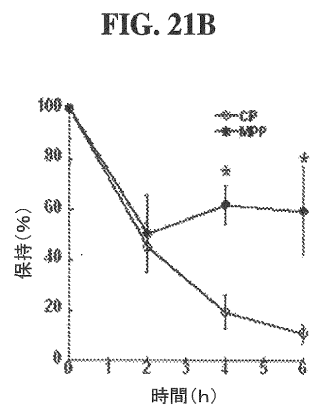
FIG. 20

【図 21 A】

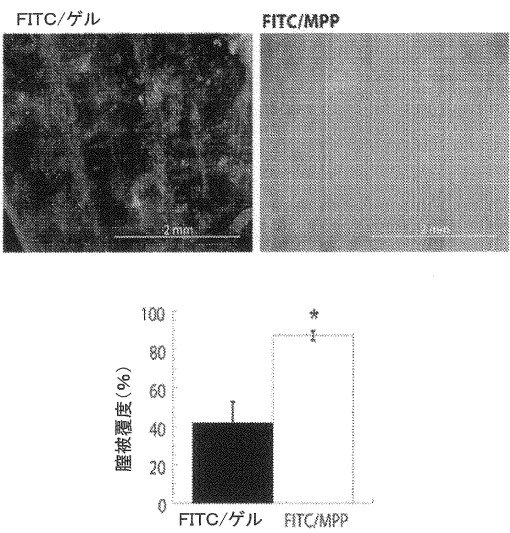
FIG. 21A



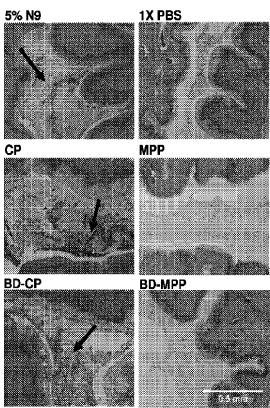
【 図 2 1 B 】



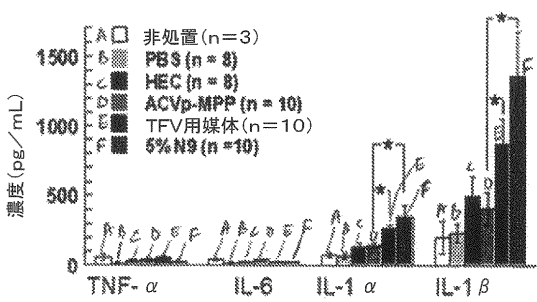
【 図 2 2 】



【 図 2 3 】



【 図 2 4 】



【図 25】

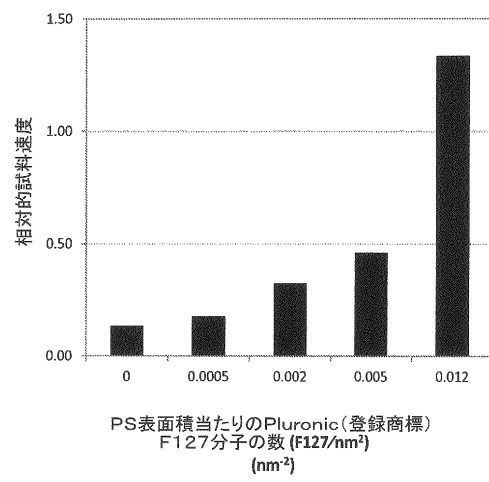


FIG. 25

フロントページの続き

- (74)代理人 100109449
弁理士 毛受 隆典
- (74)代理人 100132883
弁理士 森川 泰司
- (74)代理人 100148633
弁理士 桜田 圭
- (74)代理人 100147924
弁理士 美恵 英樹
- (72)発明者 ポポフ アレクセイ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 3 ウォーザン ホープ アベニュー 6 0
- (72)発明者 エンロー エリザベス エム
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 1 ウォーザン ブラック ベアー ドライブ
8 5 ユニット 1 6 2 4
- (72)発明者 ブラッサ ジェイムズ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 4 5 サマービル ブロードウェイ 4 2 5 アパ
ートメント 1 5
- (72)発明者 ガードナー コリン アール
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 4 2 コンコード ケータリング ハイツ 1 4 0
- (72)発明者 チェン ホンミン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 7 8 ベルモント パーチ ヒル ロード 1 6
- (72)発明者 エンサイン ローラ エム
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 2 ボルティモア レジェスター アベニュー 1 3
4
- (72)発明者 ライ サミュエル ケイ
アメリカ合衆国 ノースカロライナ州 2 7 5 1 0 キャルボロ オーク スプリング コート
1 0 6
- (72)発明者 ユー タオ
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 3 1 ボルティモア ノース ブロードウェイ 4 0 0
スミス ビルディング 6 0 0 1 ベイ エイチ 1
- (72)発明者 ヘインズ ジャスティン
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 2 ボルティモア パインハースト ロード 6 3 0
6
- (72)発明者 ヤン ミン
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 1 5 ボルティモア グレン アベニュー 2 9 0 0
アパートメント エフ

審査官 今村 明子

- (56)参考文献 特表2010-502713(JP,A)
特表2008-536812(JP,A)
特表2015-519331(JP,A)
特表2008-531591(JP,A)
特表2007-510657(JP,A)
Acta Pharmaceutica Sinica, 2008年 6月, Vol.43, No.6, p.640-646

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2
A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0

A 6 1 K 3 3 / 0 0 - 3 3 / 4 4

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

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