

(19)日本国特許庁(JP)

**(12)特許公報(B2)**

(11)特許番号  
**特許第7195934号**  
**(P7195934)**

(45)発行日 令和4年12月26日(2022.12.26)

(24)登録日 令和4年12月16日(2022.12.16)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/145 (2006.01)	A 6 1 K	31/145
A 6 1 K	9/14 (2006.01)	A 6 1 K	9/14
A 6 1 K	47/26 (2006.01)	A 6 1 K	47/26
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04

請求項の数 19 (全33頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-563831(P2018-563831)  
 (86)(22)出願日 平成29年6月6日(2017.6.6)  
 (65)公表番号 特表2019-517541(P2019-517541)  
 A)  
 (43)公表日 令和1年6月24日(2019.6.24)  
 (86)国際出願番号 PCT/GB2017/051637  
 (87)国際公開番号 WO2017/212249  
 (87)国際公開日 平成29年12月14日(2017.12.14)  
 審査請求日 令和2年5月26日(2020.5.26)  
 (31)優先権主張番号 62/346,969  
 (32)優先日 平成28年6月7日(2016.6.7)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 1609940.0  
 (32)優先日 平成28年6月7日(2016.6.7)

最終頁に続く

(73)特許権者 508066991  
 ノバビオティクス・リミテッド  
 NOVABIOTICS LIMITED  
 イギリス国 エービー 23 8イーダブリ  
 ュー アパディーン シルバーバーン ク  
 レセント  
 (74)代理人 100147485  
 弁理士 杉村 憲司  
 (74)代理人 230118913  
 弁護士 杉村 光嗣  
 (74)代理人 100196298  
 弁理士 井上 高雄  
 (72)発明者 デボラ オネイル  
 イギリス国 アパティーンシャー エーピ  
 - 21 9ティーアール アパティーン  
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 硫黄含有化合物を含む微小粒子

**(57)【特許請求の範囲】****【請求項1】**

システアミン若しくはシスタミンまたはその薬学的に許容可能な塩、水和物、もしくはエステルと安定化剤とを含む微小粒子を含む組成物であって、  
 前記安定化剤が、トレハロース又はマンニトールであり、  
 前記微小粒子の粒子径が1~13ミクロンである、  
 組成物。

**【請求項2】**

前記薬学的に許容可能な塩が、システアミン酒石酸塩である、請求項1に記載の組成物。

**【請求項3】**

前記微小粒子の粒子径は4~8ミクロンである、請求項1又は2に記載の組成物。

**【請求項4】**

前記微小粒子の粒子径は2~4ミクロンである、請求項1又は2に記載の組成物。

**【請求項5】**

前記安定化剤はトレハロースである、請求項1~4の何れか一項に記載の組成物。

**【請求項6】**

前記安定化剤がマンニトールである、請求項1~4の何れか一項に記載の組成物。

**【請求項7】**

最大20%w/wのシステアミン若しくはシスタミンまたはその薬学的に許容可能な塩、水和物、もしくはエステルを含む、請求項1~6の何れか一項に記載の組成物。

**【請求項 8】**

約 5 ~ 10 % w / w のシステアミン若しくはシスタミンまたはその薬学的に許容可能な塩、水和物、若しくはエステルを含む、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 9】**

70 ~ 95 % w / w の安定化剤を含む、請求項 1 ~ 8 の何れか一項に記載の組成物。

**【請求項 10】**

80 ~ 95 % w / w の安定化剤を含む、請求項 1 ~ 9 の何れか一項に記載の組成物。

**【請求項 11】**

さらにロイシンを含む、請求項 1 ~ 10 の何れか一項に記載の組成物。

**【請求項 12】**

1 ~ 10 % のロイシンを含む、請求項 11 に記載の組成物。

**【請求項 13】**

肺疾患の処置または予防で使用するための、請求項 1 ~ 12 の何れか一項に記載の組成物。

10

**【請求項 14】**

前記肺疾患が呼吸器疾患である、請求項 13 に記載の組成物。

**【請求項 15】**

前記呼吸器疾患が、囊胞性線維症、慢性閉塞性肺疾患、慢性気管支炎、気管支拡張症、肺気腫、慢性閉塞性気道疾患、慢性咳、風邪、インフルエンザ、ハントウイルス、肺炎、又は胸膜炎である、請求項 14 に記載の組成物。

20

**【請求項 16】**

前記組成物が鼻腔内に又は吸入による投与に使用される、請求項 13 ~ 15 のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項 17】**

請求項 1 ~ 16 の何れか一項に記載の組成物と、少なくとも 1 つの追加の医薬品とを含む、治療用組成物。

**【請求項 18】**

前記追加の医薬品は、抗菌剤、抗生物質、粘液溶解薬、気管支拡張薬、血管拡張薬、降圧薬、循環器系薬、およびカルシウムチャネル遮断薬からなる群から選択される、請求項 17 に記載の治療用組成物。

30

**【請求項 19】**

請求項 1 ~ 12 の何れか一項に記載の組成物を含む、吸入装置。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、システアミンもしくはシスタミンなどの硫黄含有化合物、またはその薬学的に許容可能な塩、水和物、もしくはエステルを含む微小粒子に関する。

**【背景技術】****【0002】**

囊胞性線維症 (CF) は、染色体に位置する囊胞性線維症膜コンダクタンス制御因子 (CFTR) 遺伝子の変異により引き起こされる多系統疾患である。

40

**【0003】**

肺疾患は、依然として、CF 患者の病的状態および死亡率の主な原因である [Davis PB, Drumm M, Konstan MW. Cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1996; 154:1229; Goss CH, Rosenfeld M. Update on cystic fibrosis epidemiology; Curr Opin Pulm Med 2004; 10:510; Brennan AL, Geddes DM. Cystic fibrosis. Curr Opin Infect Dis 2002; 15:175; Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 2003; 168: 918.]

**【0004】**

50

C F 肺疾患の主なドライバーの 1 つは感染症である ( Sangel SD, Gibson RL, Emerson J, et al. Impact of Pseudomonas and Staphylococcus infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis. J Pediatr 2009; 154:183; Cystic Fibrosis Foundation Annual Patient Registry 2013. <http://www.cff.org/research/ClinicalResearch/PatientRegistryReport/> で利用可能 ( 2015 年 8 月 7 日にアクセス ) )。

#### 【 0 0 0 5 】

C F において感染症を処置するアプローチは多面的であり、抗生物質、肺理学療法、分泌物排除を促進する吸入薬、および抗炎症剤が含まれる。確かに、抗生物質の使用の改善が、C F 患者で生じた生存時間の増加のかなりの部分の要因である ( Brennan AL, Geddes DM. Cystic fibrosis. Curr Opin Infect Dis 2002; 15:175; Sagel SD, Gibson RL, Emerson J, et al. Impact of Pseudomonas and Staphylococcus infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis. J Pediatr 2009; 154: 183 ) 。

10

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【 0 0 0 6 】

肺疾患 / 病気、特に、C F 肺などの粘液が豊富な環境に関連するものを処置および予防するために、より良好な療法に対するニーズが残っている。さらに、細菌感染症の処置または予防において、特に C F 肺において現在利用可能な処置の有効性を高め得る、新規の補充療法または補助処置の導入と共に使用される抗生物質の量または用量を制限するニーズも残っている。

20

#### 【 0 0 0 7 】

驚くべきことに、当社は、微小粒子が、肺疾患患者へのシステアミンの有用な送達方式を提供することを示した。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【 0 0 0 8 】

本発明の第 1 様様により、硫黄含有化合物またはその薬学的に許容可能な塩、水和物、もしくはエステルを含む微小粒子または複数の微小粒子を提供する。

30

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【 0 0 0 9 】

本明細書で使用する場合、「硫黄含有化合物」は、システアミン、シスタミン、またはその誘導体を包含することを意図する。硫黄含有化合物はアミノチオールであり得る。アミノチオールの例としては、システアミンおよびその誘導体が挙げられる。用語「その誘導体」は、2 - メチルチオエチルアミン (シンナマート)、2 - メチルチオエチルウレア、N - (2 - メチルチオエチル)p - アセトアミドベンズアミド、2 - アミノエタンエチオール、N - (2 - メチルチオエチル)p - アセトアミドベンゼンスルホンアミド、N - (2 - プロピルチオエチル) - p - メトキシベンズアミド、N - (ブチルチオエチル)ニコチンアミド、N - (2 - ドデシルチオエチル)p - ブトキシベンズアミド、N - (2 - メチルチオエチル)p - トルエンスルホンアミド、N - (2 - イソプロピルチオエチル)プロピオンアミド、N - (2 - オクチルチオエチル)アセトアミド、N - (2 - ブチルチオエチル)メタンスルホンアミド、N - (2 - イソペンチルチオエチル)ブタン、ビス 1 , 4 - (2 - アセトアミドエチルチオ)、2 , 3 - ブタンジオール、2 - ヘキサデシルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - アリルチオエチルアミンマレート、9 - オクタデセン 2 - イルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - ドデシルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - イソペンチルチオエチルアミンマンデラート、2 - オクタデシルチオエチルアミンサリチラート、2 - . ベータ . - ヒドロキシエチルチオエチルウレア、2 - . ベータ . - ヒドロキシエチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - (2 , 3 - ジヒドロキシプロピルチオ)エチルアミン p - トルエンスルホネート、2 - (2 - ヒドロキシプロピルチオ)エチルアミンオキサレート、N - (2 - メチルチオエチル)フェニルアセトアミド、

40

50

2 - ( 2 , 2 - ジメトキシエチルチオ ) エチルアミンヒドロクロリド、2 - ( 2 , 2 - ジメトキシエチルチオ ) エチルアミンウンデシレナート、2 - ( 2 , 2 - ジエトキシエチルチオ ) エチルアミンウンデシレナート、2 - ( 2 , 2 - ジエトキシエチルチオ ) エチルアミンアセテート、2 - ウンデセニルチオエチルアミン、2 - . ベータ . - ウレイドエチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - . ベータ . - アセトアミドエチルチオエチルアミントロパート、2 , 2 ' - チオジエチルアミンスマート、2 , 2 ' - チオジエチルウレア、3 - . ベータ . - アミノエチルチオプロビルアミンヒドロクロリド、S - . ベータ . - ウレイドエチルチオカルバマート、2 - エトキシカルボニルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - ジメチルアミノカルボニルチオエチルアミンサルフェート、2 - ブトキシカルボニルメチルチオエチルウレア、2 - エチルオキシカルボニルメチルチオエチルアミンヒドロクロリド、メチルヒドロクロリドの6 - . ベータ . - アミノエチルチオヘキサノエート、5 - . ベータ . - アミノエチルチオペンタン酸、2 - フェニルチオエチルアミンヒドロゲンホスフェート、2 - p - t - プチルフェニルチオエチルアミントリクロロアセテート、2 - p - メトキシフェニルチオエチルアミンジタルトラート、2 - トリルチオエチルアミンヒドロプロミド、2 - ( 1 - ビフェニルチオ ) エチルアミンヒドロクロリド、2 - N - ペンタクロロフェニルチオエチルアセトアミド、2 - ベンジルチオエチルアミンマレート、2 - ベンジルチオエチルアミンニコチナート、2 - ベンジルチオ 2 - メチルプロピルアミンヒドロクロリド、2 - ベンジルチオプロピルアミンラクテート、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) ニコチンアミドヒドロクロリド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) 10  
10 - ウンデセンアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) ヘキサデカンアミド、S - . ベータ . - アミノエチルメルカプト酪酸、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) ホルムアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) フェニルアセトアミド、N - [ 2 - ( 2 , 6 - ジメチルフェニル ) エチル ] ヘキサンアミド、2 - o - アミノフェニルチオエチルアミンスクシナート、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) グルタミン、S - . ベータ . - アミノエチルメルカプト酢酸 ( 3 - S - . ベータ . - アミノエチル ) メルカプトプロピオン酸、( 3 - S - . ガンマ . - アミノプロピル ) メルカプト酢酸、S ( 2 - p - メトキシベンズアミドエチル ) メルカプト 2 - ( 2 - ナフチルメチルチオ ) エチルアミンヒドロクロリド、2 - ( 2 - ナフチルメチルチオ ) エチルアミンジスクシネート、( 2 - テニル ) 2 - チオエチルアミンヒドロプロミド、2 - N - アセチル ( 2 - テニルチオ - エチルアミン、2 - o - クロロベンジルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - p - クロロベンジルチオエチルアミングリコレート、2 - o - フルオロベンジルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - フルフリルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - テトラヒドロフルフリルチオエチルアミン p - アミノ - ベンゾエート、2 - . ベータ . - フェニルエチルチオエチルアミングルタメート、2 - ジフェニルメチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - トリフェニルメチルチオエチルアミンヒドロクロリド半水和物、2 - ( 2 - ピリジルエチルチオ ) エチルアミンヒドロクロリド、2 - ( 2 - p - トルエンスルホニアミドエチルチオ ) ピリジン N - オキシド、2 - . ベータ . - アミノエチルチオメチルピリジン N - オキシドジヒドロクロリド、2 - . ベータ . - アミノエチルチオピリジン N - オキシドヒドロクロリド、2 , 4 - ジクロロ 2 - ベンジルチオエチルアミンアスバルテート、N - [ 2 - ( 3 , 4 - ジクロロベンジルチオ ) エチル ] ブチルアミド、N - [ 2 - ( 2 , 6 - ジクロロベンジルチオ ) エチル ] ドデカンアミド、N - [ 2 - ( 3 , 5 - ジクロロベンジルチオ ) エチル ] トリフルオロアセトアミドヒドロクロリド、2 - p - エトキシベンジルチオエチルアミンヒドロクロリド、N - [ 2 - m - フルオロベンジルチオエチル ] クロロアセトアミド、2 - p - プロモベンジルチオエチルアミンスクシネート、2 - ( 3 , 4 - ジメトキシベンジルチオ ) エチルアミンマレート、2 - ( 3 , 4 - メチレンジオキシベンジルチオ ) エチルアミンヒドロクロリド、2 - ( 2 , 4 - ジクロロセチルチオ ) エチルアミン、2 ( 3 , 4 , 5 - トリメトキシベンジルチオ ) エチルアミンヒドロシナメート、2 - p - メトキシベンジルチオエチルアミンサリシレート、2 - o - メチルベンジルチオエチルアミン酢酸フェニル、N - [ 2 - p - ジメチルアミノベンジルチオエチル ] メタン - スルホニアミド、2 - p - フェノキシベンジルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - . ベータ . - アミノエチルチオ 20  
20 - [ 2 - p - ジメチルアミノベンジルチオエチル ] メタン - スルホニアミド、2 - p - フェノキシベンジルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - . ベータ . - アミノエチルチオ 30  
30 - [ 2 - p - ジメチルアミノベンジルチオエチル ] メタン - スルホニアミド、2 - p - フェノキシベンジルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - . ベータ . - アミノエチルチオ 40  
40 - [ 2 - p - ジメチルアミノベンジルチオエチル ] メタン - スルホニアミド、2 - p - フェノキシベンジルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - . ベータ . - アミノエチルチオ

ピリジンヒドロクロリド、クエン酸 2 - ベンジルチオエチルアミン、N - [ 2 - ベンジルチオエチル ] 2 , 4 - ジヒドロキシ 3 , 3 - ジメチルブチルアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) 6 , 8 - ジヒドロキシ 7 , 7 - ジメチル 5 - オキソ 4 - アザオクタンアミド、N - [ 2 - ( 2 - ピリジルチオ ) エチル ] プロピオンアミド、2 - ( 2 - ピリジルメチルチオ ) エチルアミンジヒドロクロリド、2 - ベンジルチオエチルアミンパントテナート、ベータ . - モルホリノエチルの S - ( . ベータ . - アセトアミドエチル ) メルカプトアセテート、S - ( . ベータ . - フェニルアセトアミドエチル ) メルカプトアセテート N ' - メチル 2 - ピペラジノエチル、ベータ . - ピロリジノ - エチルの S - ( . ベータ . - ウレイドエチル ) メルカプトアセテート、. ベータ . - ジメチルアミノエチルの S - ( . ベータ . - トリフルオロアセトアミドエチル ) - . ベータ . メルカプト - プロピオネート、2 - p - ニトロベンジルチオエチルアミンクロトネット、2 - . ベータ . - モルホリノカルボニルエチルチオエチルアミンヒドロクロリド、N , N - ジ ( ヒドロキシエチル ) S - ( . ベータ . - ベンズアミド - エチル ) メルカプト - アセトアミド、N [ 2 - N ' - メチルピペラジノカルボニルチオエチル ] アセトアミド、2 - ( 1 - ナフチルチオ ) エチルアミンヒドロクロリド、N - ( 3 - . ベータ . - ウレイドエチルチオプロピル ) スクシンアミド酸、3 - アリルチオプロピルアミン、3 - ( 2 , 2 ' - ジメトキシエチルチオ ) プロピルアミン、3 - ( 2 , 2 ' - ジメトキシエチルチオ ) プロピルアミンサルフェート、S - . ベータ . - アミノエチルメルカプト酢酸、S - . ベータ . - アミノエチルメルカプト酢酸の塩酸塩、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) アセトアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) プロピオンアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) ブチルアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) メタンスルホニアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) エタンスルホニアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル - プロパンスルホニアミド、N - ( 2 - ベンジルチオエチル ) ブタンスルホニアミド、S - ( 2 - p - アセトアミドベンゼンスルホニアミドエチル ) メルカプト酢酸、S - ( 2 - p - アセトアミドベンズアミドエチル ) メルカプト酢酸、N - ( 2 - テニルチオエチル ) アセトアミド、2 - ベンジルチオプロピルアミン、2 - ベンジルチオ 2 - メチルプロピルアミン、2 - ( 2 - p - トルエンスルホニアミドエチルチオ ) ピリジン N - オキシド、S - ( 2 - p - ブトキシベンズアミドエチル ) メルカプト酢酸、2 - t - ブチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - メトキシカルボニルメチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - エトキシカルボニルメチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - プロポキシカルボニルメチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - ブトキシカルボニルメチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 , 2 ' - チオジエチルアミンジヒドロクロリド、3 - ( 2 - アミノエチルチオ ) アラニンヒドロクロリド、二酸性リン酸 2 - ベンジルチオエチルアンモニウム、2 - メチルチオエチルアミン、N - ( メチルチオエチル ) p - アセトアミドベンズアミド、N - ( 2 - メチルチオエチル ) ニコチンアミド、N - ( 2 - メチルチオエチル ) ベンズアミド、N - ( 2 - メチルチオエチル ) p - ブトキシベンズアミド、N - ( 2 - メチルチオエチル ) ブチルアミド、N - ( 2 - メチルチオエチル ) プロピオンアミド、N - ( 2 - メチルチオエチル ) アセトアミド、N - ( 2 - メチルチオエチル ) ブタンスルホニアミド、N - ( 2 - オクチルチオエチル ) メタンスルホニアミド、2 - セチルチオエチルアミンヒドロクロリド、2 - ( 2 - ヒドロキシエチルチオ ) エチルアミンヒドロクロリド、2 - メチルチオエチルアミン酢酸フェニル、およびウンデシレン酸 2 - メチルチオエチルアミンが含まれる。

## 【0010】

あるいは、硫黄含有化合物は、シスタミンなどの有機ジスルフィドであり得る。

## 【0011】

本発明の硫黄含有化合物は、薬学的に許容可能な塩の形態で投与され得る。本発明の薬学的に許容可能な塩は、従来の化学法により、塩基性部分または酸性部分を含有する親化合物から合成され得る。概して、斯かる塩は、遊離酸形態または塩基形態のこれらの化合物を、水もしくは有機溶媒中のまたはその 2 つの混合物中の化学量論量の適切な塩基または酸と反応させることにより調製され得；概して、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水性媒体が好ましい。適切な塩のリ

10

20

30

40

50

ストは、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed, Mack Publishing Company, Easton, Pa., US, 1985, p. 1418に見つけられ、この開示は参照により本明細書に組み込まれるものとする；また、Stahl et al, Eds, "Handbook of Pharmaceutical Salts Properties Selection and Use", Verlag Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, 2002を参照されたい。句「薬学的に許容可能な」は、本明細書では、健全な医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症なく、合理的な利益／リスク比に見合い、ヒトまたは場合によっては動物の組織との接触用途に適切である化合物、材料、組成物、および／または剤形を指すために利用される。

#### 【0012】

したがって、本発明には、親化合物がその酸性塩または塩基性塩を作ることにより修飾された本開示の化合物の薬学的に許容可能な塩、例えば、無機または有機の酸または塩基などから形成された、慣習的な非毒性塩または第四級アンモニウム塩が含まれる。斯かる酸付加塩の例としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、クエン酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘブタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2 - ヒドロキシエタン - スルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、2 - ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩、ペクチニン酸塩、過硫酸塩、3 - フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバリン酸塩、プロピオニン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、チオシアノ酸塩、トシラート、およびウンデカン酸塩が挙げられる。塩基性塩としては、アンモニウム塩、ナトリウム塩およびカリウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩およびマグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、ジシクロヘキシリアミン塩などの有機塩基との塩、N - メチル - D - グルカミン、ならびに、アルギニン、リジン等のようなアミノ酸との塩が挙げられる。また、塩基性窒素含有基は、例えば、メチル、エチル、プロピルおよびブチルの塩化物、臭化物、およびヨウ化物などの低級アルキルハロゲン化物；ジメチル硫酸、ジエチル硫酸、ジブチル硫酸；およびジアミル硫酸のようなジアルキル硫酸、デシル、ラウリル、ミリスチルおよびステアリルの塩化物、臭化物、およびヨウ化物などの長鎖ハロゲン化物、臭化ベンジルおよび臭化フェネチルのようなアラルキルハロゲン化物などの薬剤で四級化され得る。

#### 【0013】

本発明の好適な態様では、微小粒子の粒子径は、約0.5～15ミクロン、例えば、4～8ミクロンを含む1～13ミクロンである。粒子径は、「体積平均径」として定義され得、従って、微小粒子の体積平均径は、約0.5～15ミクロン、例えば、4～8ミクロンを含む、1～13ミクロンであり得る。微小粒子の体積平均径は、2～4ミクロン／マイクロメートル(2～4 μm)であり得る。

#### 【0014】

平均は、アベレージの概念に似た計算値である。種々の平均計算がいくつかの基本資料(ISO 9276-2:2001: Representation of results of particle size analysis - Part 2: Calculation of average particle sizes/diameters and moments from particle size distributions; ASTM E 799-03 Standard Practice for Determining Data Criteria and Processing for Liquid Drop Size Analysis)で定義されている。平均値は、分布計算の根拠(数、表面、体積)と関係することから、平均には多数の定義がある。数、表面、および体積の分布の説明については、(TN154, Particle Size Result Interpretation: Number vs. Volume Distributions ([www.horiba.com/us/particle](http://www.horiba.com/us/particle)で利用可能)を参照されたい。体積平均を定義するための式を以下に示す。この計算について考える最良の方法は、nサイズのチャネルの上限と下限を示すヒストグラム表について、そのチャネル内のパーセントと共に考えることである。各チャネルのD<sub>i</sub>値は幾何平均、つまり、上方直径×下方直径の平方根である。分子には、幾何D<sub>i</sub>を四乗し、そのチャネルのパーセントを掛け、全チャネルを合計したものとる。分母には、幾何D<sub>i</sub>を三乗し、そ

10

20

30

40

50

のチャネルのパーセントを掛け、全チャネルを合計したものをとる。

【0015】

【数1】

$$D[4,3] = \frac{\sum_{i=1}^n D_{iv_i}^4}{\sum_{i=1}^n D_{iv_i}^3}$$

10

【0016】

体積平均径には、D 4 , 3 または D 5 0 / D 9 0 を含むいくつかの名前がある。

【0017】

本明細書で使用する場合、粒子に関連する用語「直径」または「d」は、特に規定がなければ、数平均粒子径を指す。数平均粒子径を説明するために使用可能な等式の例を以下に示す：

【0018】

【数2】

$$d = \frac{\sum_{i=1}^{\rho} n_i d_i}{\sum_{i=1}^{\rho} n_i}$$

20

(式中、n = 所与の直径 (d) の粒子の数)

【0019】

本明細書で使用する場合、用語「幾何学的サイズ」、「幾何学的径」、「体積平均サイズ」、「体積平均径」、または「d<sup>9</sup>」は、体積加重直径平均を指す。体積平均径を説明するために使用可能な等式の例を以下に示す：

30

【0020】

【数3】

$$d_g = \left[ \frac{\sum_{i=1}^{\rho} n_i d_i^3}{\sum_{i=1}^{\rho} n_i} \right]^{1/3}$$

40

(式中、n = 所与の直径 (d) の粒子の数)

【0021】

本明細書で使用する場合、用語「体積中央値」は、「体積加重」分布の直径中央値を指す。中央値は、全体の 5 0 5 がより小さく、5 0 % がより大きい直径であり、5 0 % 累積画分に相当する。

【0022】

幾何的粒子径分析は、当技術分野で既知であるように、Coulter カウンターにおいて、光散乱、光顕微鏡、走査型電子顕微鏡、または透過型電子顕微鏡により行なうことが

50

可能である。肺への送達についての理想的シナリオは、空気動力学径 < 5 マイクロメートルというが、一般的に信じられている考え方である。例えば、Edwards et al., J Appl. Physiol. 85(2):379-85 (1998); Suarez & Hickey, Respir. Care. 45(6):652-66 (2000)を参照。

#### 【0023】

本明細書で使用する場合、用語「空気動力学径」は、重力下で分析する粒子と同じ速度で落下する、 $1 \text{ g} / \text{mL}$  の密度の球の直径と等しい径を指す。微小粒子の空気動力学径 ( $d_a$ ) は、以下により、幾何学的径 ( $d^g$ ) およびエンベロープ密度 ( $\rho_e$ ) と関係する：

#### 【0024】

#### 【数4】

$$da = dg \sqrt{\rho_e}$$

10

#### 【0025】

空隙率はエンベロープ密度に影響を与える、これは、ひいては、空気動力学径に影響を与える。従って、空隙率を使用して、微小粒子が肺に入り込む場所と、微小粒子が肺内で医薬品を放出する速度の両方に影響を与えることが可能である。重力沈下（沈降）、慣性衝突、ブラウン拡散、妨害、および静電が、肺内の粒子付着に影響を与える。

#### 【0026】

微小粒子の空気動力学径は、約 0.5 ~ 1.5 ミクロン、例えば、4 ~ 8 ミクロンを含む、1 ~ 1.3 ミクロンであり得る。微小粒子の空気動力学径は、2 ~ 4 ミクロン / マイクロメートル (2 - 4  $\mu\text{m}$ ) であり得る。

20

#### 【0027】

さらなる態様において、本発明は、本発明の第1態様の微小粒子と安定化剤とを含む組成物を提供する。ある場合には、安定化剤は、単糖類、二糖類、三糖類、オリゴ糖類、およびそれらの対応する糖アルコール、多糖類、ならびに化学修飾された炭水化物からなる群から選択される。

#### 【0028】

さらなる態様において、本発明は、硫黄含有化合物またはその薬学的に許容可能な塩、水和物、もしくはエステルと、本明細書で定義する安定化剤とを含む、組成物を提供する。

30

#### 【0029】

安定化剤は、トレハロースなどの糖であり得る。

#### 【0030】

安定化剤は、ラクトース、エリトリトール、リビトール、キシリトール、ガラクチトール、グルシトール、およびマンニトールからなる群から選択される糖アルコールであり得る。好適には、安定化剤はマンニトールである。

#### 【0031】

本発明の好適な組成物では、組成物は、最大 20% w/w の硫黄含有化合物、例えば、約 5 ~ 10% w/w など 1 ~ 1.5% の硫黄含有化合物を含む。典型的には、組成物は、約 5 または 10% の硫黄含有化合物を含む。

40

#### 【0032】

本明細書で使用する場合、用語「約」は、特定の量を変化させて、該特定の量の + または - 10% の微量な変動を許容することを意図する。

#### 【0033】

本発明の好適な組成物では、組成物は最大 85% の安定化剤を含む。組成物は、80 ~ 95% w/w の安定化剤、例えば、85 ~ 90% w/w の安定化剤を含み得る。典型的には、組成物は、約 90% の安定化剤を含む。

#### 【0034】

トレハロースまたはマンニトールを含む本発明の組成物において、システアミンは、製

50

剤の安定性を高めることが示された。

【0035】

本発明の好適な実施形態では、硫黄含有化合物は、システアミンまたはシスタミン、好適にはシステアミンである。本発明のさらなる実施形態では、硫黄含有化合物は、システアミン酒石酸塩である。

【0036】

好適な実施形態では、組成物は、水性組成物として提供される。

【0037】

本発明の化合物は、さらにロイシンを含み得る。ロイシンは、驚くべきことに、製剤の安定性を改善することが示された。本発明の一実施形態では、組成物は、1～10%のロイシン、好適には約5%のロイシンを含む。

10

【0038】

組成物は、微小粒子、ミクロスフェア、および粉末からなる群から選択される固形剤中にあり得る。好適には、組成物は、乾燥粉末として提供される。粉末は、幾何学的径が、3～7ミクロンなどの4～8ミクロンを含む、約3～8ミクロンである粒子を含有し得る。一実施形態では、粉末は、幾何学的径が最大5ミクロン、例えば2～4ミクロンである粒子を含有する。

【0039】

本発明のさらなる態様は、肺疾患の処置または予防で使用するための、本発明の第1態様の微小粒子または本発明の組成物を提供する。

20

【0040】

本発明のさらなる態様は、本発明の第1態様の微小粒子または本発明の組成物を、肺疾患にかかっているまたは以前かかったことがある対象に投与するステップを含む、肺疾患を処置または予防する方法に関する。

【0041】

本明細書で使用する場合、用語「肺疾患」には、囊胞性線維症を含む肺の任意の疾患または病気、特に、囊胞性線維症と関連する肺感染症および慢性閉塞性肺疾患(COPD)が含まれる。COPDは、慢性気管支炎、気管支拡張症、肺気腫、および慢性閉塞性気道疾患を含む肺疾患の集合の名称である。用語肺疾患には、また、粘液または感染性要素を有する任意の呼吸器疾患、例えば、慢性咳、風邪、インフルエンザ、ハンタウイルス、肺炎、および胸膜炎が含まれることも意図される。

30

【0042】

本発明のさらなる態様は、肺疾患の処置または予防に有用であり得る、本発明の第1態様の微小粒子または本発明の組成物と、少なくとも1つの追加の医薬品とを含む治療用組成物(または組み合わせ)を提供する。追加の医薬品は、抗菌剤、例えば抗ウイルス薬、抗真菌薬、または抗菌薬(例えば、抗生物質)など、粘液溶解薬、血管拡張薬、例えば気管支拡張薬、降圧薬、循環器系薬、およびカルシウムチャネル遮断薬などからなる群から選択され得る。好適には、追加の医薬品は抗生物質である。

【0043】

用語「抗生物質」は、細菌源に由来し得る抗菌薬を指すために使用する。抗生物質剤は、殺菌性および/または静菌性であり得る。

40

【0044】

抗生物質剤は、-ラクタム環を含有し得る。-ラクタム環は、いくつかの抗生物質ファミリーのコア構造の一部であり、主な抗生物質は、ペニシリン、セファロスポリン、カルバペネム、およびモノバクタムである。これらの抗生物質剤は、-ラクタム抗生物質と呼ばれる。

【0045】

概して、抗生物質剤は、アミノグリコシド、アンサマイシン、カルバセフェム、-ラクタム-カルバペネム、セファロスポリン(第1、第2、第3、第4、および第5世代のセファロスポリンを含む)、ペニシリン、モノバクタム)、グリシリルサイクリン、リンコ

50

サミド、リポペプチド、マクロライド、ニトロフラン、オキサゾリジノン、キノロン、スルホンアミド、ポリペプチド、ならびにテトラサイクリンからなる群である。

#### 【0046】

抗生物質剤は、アミノグリコシド、アンサマイシン、カルバセフェム、カルバペネム、セファロスボリン（第1、第2、第3、第4、および第5世代のセファロスボリンを含む）、リンコサミド、マクロライド、モノバクタム、ニトロフラン、キノロン、ペニシリン、スルホンアミド、ポリペプチド、ならびにテトラサイクリンからなる群であり得る。あるいは、または、加えて、抗生物質剤は、マイコバクテリアに対し有効であり得る。

#### 【0047】

抗生物質剤は、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、トブラマイシン、またはパロモマイシンなどのアミノグリコシドであり得る。

10

#### 【0048】

抗生物質剤は、ゲルダナマイシンおよびハービマイシンなどであり得る。

#### 【0049】

あるいは、抗生物質剤は、ロラカルベフなどのカルバセフェムであり得る。

#### 【0050】

抗生物質剤は、エルタペネム、ドリペネム、イミペネム／シラスタチンまたはメロペネムなどのカルバペネムである。

#### 【0051】

あるいは、抗生物質剤は、セファドロキシル、セファゾリン、セファレキシン、セファロチン（Cefalotin）もしくはセファロチン（Cefalothin）などのセファロスボリン（第1世代）、または、あるいは、セファクロル、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、もしくはセフロキシムなどのセファロスボリン（第2世代）であり得る。あるいは、抗生物質剤は、セフィキシム、セフジニル、セフジトレーン、セフォペラゾン、セフオタキシム、セフボドキシム、セフチブテン、セフチゾキシム、およびセフトリアキソンなどのセファロスボリン（第3世代）、または、セフェピムおよびセフトビプロールなどのセファロスボリン（第4世代）であり得る。

20

#### 【0052】

抗生物質剤は、クリンダマイシンおよびアジスロマイシンなどのリンコサミド、または、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、トロレアンドマイシン、テリスロマイシン、およびスペクチノマイシンなどのマクロライドであり得る。

30

#### 【0053】

あるいは、抗生物質剤は、アズトレオナムなどのモノバクタム、または、フラゾリドンもしくはニトロフロントインなどのニトロフランであり得る。

#### 【0054】

抗生物質剤は、アモキシシリン、アンピシリン、アズロシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリングもしくはV、ピペラシリン、テモシリントリメトブリム、およびチカルシリンなどのペニシリントリメトブリムであり得る。

40

#### 【0055】

抗生物質剤は、リネゾリドまたはテジゾリドなどのオキサゾリジノンであり得る。

#### 【0056】

抗生物質剤は、マフェニド、スルホンアミドクリソイジン、スルファセタミド、スルファジアジン、スルファジアジン銀、スルファメチゾール、スルファメトキサゾール、スルファニルイミド、スルファサラジン、スルフィソキサゾール、トリメトブリム、およびトリメトブリム-スルファメトキサゾール（コトリモキサゾール）（TMP-SMX）などのスルホンアミドであり得る。

#### 【0057】

抗生物質剤は、シプロフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、レボフロキサ

50

シン、ロメフロキサシン、モキシフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、トロバフロキサシン、グレパフロキサシン、スバルフロキサシン、およびテマフロキサシンなどのキノロンであり得る。

**【0058】**

抗生物質剤は、ポリペプチドであり得る。斯かるポリペプチドの例としては、バシトラシン、コリスチン、およびポリミキシンBが挙げられる。一実施形態では、抗生物質剤は、ポリペプチドではない。

**【0059】**

抗生物質剤は、リポペプチドであり得る。斯かるリポペプチドの例としては、ダプトマイシンおよびサーファクチンが挙げられる。

10

**【0060】**

あるいは、抗生物質剤は、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、およびオキシテトラサイクリンなどのテトラサイクリンであり得る。

**【0061】**

あるいは、抗生物質剤は、グリシルサイクリンであり得る。斯かるグリシルサイクリンの例としては、チゲサイクリンが挙げられる。

**【0062】**

あるいは、または、さらに、抗生物質剤は、マイコバクテリアに対して有効であり得る。特に、抗生物質剤は、クロファジミン、ランブレン、ダブソン、カプレオマイシン、サイクロセリン、エタンブトール、エチオナミド、イソニアジド、ピラジナミド、リファンピシン、リファブチン、リファベンチン、またはストレプトマイシンであり得る。

20

**【0063】**

一実施形態では、抗生物質剤は、マクロライドおよび／またはアミノグリコシドおよび／またはスルホンアミドである。

**【0064】**

一実施形態では、抗生物質は、トブラマイシン、アジスロマイシン、テリスロマイシン、シプロフラキシン(ciprofloxacin)、セフタジジムから選択される。

**【0065】**

一実施形態では、抗生物質剤は、シプロフラキシンではない。別の実施形態では、抗生物質はトブラマイシンではない。

30

**【0066】**

抗生物質剤は、腸内細菌科細菌(例えば、*E. coli*もしくは*Klebsiella spp.*、例えば、*K. ニューモニエ*など)または*Burkholderia spp.*などの非腸内細菌科細菌により引き起こされる感染症の処置または予防において活性であり得る。

**【0067】**

概して、抗生物質剤は、グラム陰性またはグラム陽性の細菌、例えば、*Pseudomonas spp.*により引き起こされる感染症の処置または予防において活性である。

**【0068】**

本発明の一実施形態では、抗生物質は、-ラクタム抗生物質ではない。

40

**【0069】**

本発明の活性剤は、1つまたは複数の薬学的に許容可能な希釈剤、賦形剤、および／または担体をさらに含有する医薬組成物として提供され得る。例えば、追加の医薬品は、薬剤と、ラクトースまたはマンニトールなどの担体とを含む組成物として提供され得る。

**【0070】**

本発明の好適な態様では、本発明の微小粒子または組成物と、追加の医薬品は同時に、連続して、または別個に投与され得る。微小粒子または組成物と、追加の医薬品は、組み合わせパッケージとして提供され得る。組み合わせパッケージは、さらに、微小粒子または組成物と追加の医薬品のそれぞれを同時に、別個に、または連続して投与するための指示書を含み得る。連続投与では、微小粒子または組成物と追加の医薬品を、任意の順序で

50

投与することが可能である。

【 0 0 7 1 】

少なくとも 1 つの追加の医薬品は、本発明の第 1 様の前記微小粒子とは別個の微小粒子において提供され得る。あるいは、少なくとも 1 つの追加の医薬品は、微小粒子以外の形態で提供され得る。

【 0 0 7 2 】

本発明の一実施形態では、本発明の第 1 様の微小粒子または本発明の組成物は、少なくとも 1 つの追加の医薬品を含む。

【 0 0 7 3 】

本発明のさらなる実施形態では、少なくとも 1 つの追加の医薬品は、第 1 様の微小粒子または本発明の組成物とは別個の微小粒子において投与される。

10

【 0 0 7 4 】

本発明のさらなる実施形態では、少なくとも 1 つの追加の医薬品は、微小粒子以外の形態で投与される。

【 0 0 7 5 】

一実施形態では、システアミンなどの硫黄含有化合物を含む本発明の微小粒子もしくは組成物および／または硫黄含有化合物に加えて投与される追加の医薬品の体積平均径は、0.1 ~ 5 マイクロメートル（例えば、1 ~ 5 マイクロメートル、2 ~ 5 マイクロメートルなど）である。別の実施形態では、本発明の微小粒子もしくは組成物および／または追加の医薬品の体積平均径は、大きい気管支への送達を標的にしているため、最大 10 マイクロメートルである。粒子径（幾何学的径および空気動力学径）は、エアロゾル化および吸入時に、気道の標的部位（例えば、上気道、肺の深部など）にたやすく付着する一方、好適には、口腔咽頭または鼻の領域への粒子の過剰な付着を避けるまたは最小限にする、容易に分散する粉末を提供するように選択される。好適な一実施形態では、多孔性微小粒子の体積平均径は、2 ~ 5 マイクロメートル、例えば、2 ~ 4 マイクロメートルである。

20

【 0 0 7 6 】

吸入療法の効率を改善する治療用エアロゾル吸入剤の設計がかなり注目されている。Timsina et. al., Int. J Pharm., 101: 1-13 (1995); and Tansey, I. P., Spray Technol. Market, 4: 26-29 (1994)。特に、粒子凝集、つまり吸入療法の効率をかなり下げる現象を避けるというニーズの点で、乾燥粉末エアロゾルの表面テクスチャの設計も注目されている。French, D. L., Edwards, D. A. and Niven, R. W., J. Aerosol Sci., 27: 769-783 (1996)。大きな粒子径の乾燥粉末製剤（「D P F」）は、凝集の低下（Visser, J., Powder Technology 58: 1-10 (1989)）、エアロゾル化の簡易化、および食作用の可能性の低下などの、改善された流動性特徴を有する。Rudt, S. and R. H. Muller, J. Controlled Release, 22: 263-272 (1992); Tabata, Y. and Y. Bcada, J. Biomed. Mater. Res., 22: 837-858 (1988)。吸入療法用乾燥粉末エアロゾルは、概して、主に 5 マイクロメートル未満の範囲の平均幾何的径で生成される。Ganderton, D., J Biopharmaceutical Sciences, 3: 101-105 (1992); and Gonda, I. "Physico-Chemical Principles in Aerosol Delivery," in Topics in Pharmaceutical Sciences 1991, Crommelin, D. J. and K. K. Midha, Eds., Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, p. 95-115, 1992。大きな「担体」粒子（薬物を含有しない）は治療用エアロゾルと共に共送達され、他の可能性のある利点の中でも特に、効率的なエアロゾル化を達成するのに役立った。French, D. L., Edwards, D. A. and Niven, R. W., J. Aerosol Sci., 27: 769-783 (1996)。

30

【 0 0 7 7 】

吸入により現在投与される薬物は、主に、液体エアロゾル製剤にされる。しかしながら、多くの薬物および賦形剤、特にタンパク質、ペプチド（Liu, R., et al., Biotechnol. Bioeng., 37: 177-184 (1991)）、およびポリ（ラクタイド - c o - グリコライド）（PLGA）などの生分解性担体は、長期間の水性環境では不安定である。これにより、液体製剤としての保管が問題になる場合がある。さらに、タンパク質変性が、液体製剤を用い

40

50

たエアロゾル化時に生じる可能性がある。これらおよび他の制限を考えて、乾燥粉末製剤（D P F）は、肺内送達用エアロゾル製剤としてさらに高い関心を集めている。Darnms, B. and W. Bains, *Nature Biotechnology* (1996); Kobayashi, S., et al, *Pharm. Res.*, 13(1): 80-83 (1996); and Timsina, M., et al., *Int. J. Pharm.*, 101: 1-13 (1994)。しかしながら、D P F の不利益の中には、超微細な微粒子粉末は、通常、流動性およびエアロゾル化特性に乏しく、これにより、口および喉への付着から逃れる吸入エアロゾル分率である呼吸可能エアロゾル分率が比較的小さくなるというのである。Gonda, I., in *Topics in Pharmaceutical Sciences* 1991, D. Crommelin and K. Midha, Editors, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 95-117 (1992)。多くのエアロゾルに対する主な関心は、疎水性相互作用、静電相互作用、およびキャピラリー相互作用などの粒子・粒子相互作用により引き起こされる粒子の凝集である。本発明は、これらの問題に対処することを目的とする。

#### 【0078】

したがって、さらなる態様において、本発明は、本発明の第1態様の微小粒子または本発明の組成物を含む吸入装置を提供する。その装置は、乾燥粉末吸入装置および定量噴霧式吸入器から選択され得る。

#### 【0079】

本発明のさらなる態様において、組成物は、微小粒子またはスルフィドリル（S H）化合物と安定化剤との水性溶液を調製し、該溶液から水を蒸発させることによって得られる。好適には、蒸発ステップは噴霧乾燥による。

#### 【0080】

したがって、本発明のさらなる態様は、微小粒子またはスルフィドリル（S H）化合物と安定化剤との水性溶液を調製するステップと、水性溶液から水を蒸発させるステップとを含む、本発明の組成物を調製するプロセスを提供する。好適には、蒸発ステップは噴霧乾燥による。

#### 【0081】

本発明の微小粒子は、乾燥粉末の形態をとり得る。微小粒子は、ヒト対象による前記微小粒子の吸入から少なくとも2時間の期間にわたり、有効量のスルフィドリル（S H）化合物を放出し得る。好適な実施形態では、硫黄含有化合物の実質的に全てが、ヒト対象による前記微小粒子の吸入から24時間までに放出される。

#### 【0082】

微小粒子は投与するのに利便性が高く、それにより、患者の服薬遵守の度合いを高める。本発明の微小粒子または組成物は、一吹きで投与することができる。あるいは、微小粒子は、シテアミンの徐放を提供するように製剤化される。微小粒子は、シテアミンの肺への局所送達または肺を介した全身送達を容易にし得る。

#### 【0083】

本発明の微小粒子または組成物は、また、鼻腔内にまたは吸入により投与され得、適切な噴霧剤を使用して、または使用せず、乾燥粉末吸入器の形態で、または、加圧式の容器、ポンプ、スプレー、アトマイザ、ネプライザからのエアロゾルスプレーの態で送達され得る。好適には、本発明の微小粒子または組成物は、気道に投与される。

#### 【0084】

本明細書で使用する場合、用語「含む（comprise）」、「含み（comprising）」、「含む（include）」、および「含み（including）」は、反対のことが明示的に示されない限り、制限のないオープンな用語であることが意図される。

#### 【0085】

ここで、本発明を、単なる例示として、以下の図面を参照して説明する。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0086】

【図1】バッチ57 08aの粒子径分布を示すグラフである。

【図2】バッチ57 08bの粒子径分布を示すグラフである。

10

20

30

40

50

【図3】バッヂ5707(プラセボ)の粒子径分布を示すグラフである。

【図4】Lyновex(登録商標)/ラクトース研究が、*Pseudomonas*肺負荷の減少を実証することを示す図である。

【図5】Lynovex(システアミン)およびトブラマイシンの組み合わせが、肺負荷の減少を引き起こすことを示す図である。

【図6】マウスの体重が、Lynovexおよびトブラマイシンの組み合わせの存在下で減少しないことを示す図である。

#### 【実施例】

#### 【0087】

実施例1：

10

経口吸入によるシステアミン酒石酸塩の送達のための潜在的な製剤化技法としての噴霧乾燥

#### 1 材料

システアミン酒石酸塩：Recordatiにより製造され、バッヂナンバー1405  
14-1がNova Bioticsにより供給された。

オレイン酸：Fluka、75096-1L、ロットナンバーBCBN9185V

水：脱イオン、ミリポア、Rios 5システム、シリアルナンバーF8HN7 849  
1K

L-ロイシン：Sigma、L-8000、ロットナンバー91K0906

トレハロース：Sigma、T9449-1006、ロットナンバー011M7000N

#### 【0088】

20

#### 2 方法

2.1 オレイン酸およびトレハロースとともに製剤化したシステアミン酒石酸塩の溶液を使用した噴霧乾燥初期研究

システアミン酒石酸塩のいくつかのバッヂを、有効成分のみを含有する溶液ならびに有効成分と追加のトレハロースおよびオレイン酸(潜在的な味覚マスキング剤として加えた)を含有する溶液を噴霧乾燥することにより生成した。

#### 【0089】

システアミン酒石酸塩を、開封前に30分間、室温まで温めた。噴霧乾燥する各バッヂにつき、100mgのシステアミン酒石酸塩粉末を10mLの脱イオン水に加えて、総固形濃度を1%w/vにした。これを完全に溶解するまで攪拌した。

30

#### 【0090】

追加の賦形剤(オレイン酸およびトレハロース)をシステアミン酒石酸塩溶液に加えて、噴霧乾燥後の粉末特性に対する影響を評価した。高効率のサイクロンおよびBuchi二流体ノズルを備えたBuchi B290噴霧乾燥機を使用して、溶液を噴霧乾燥した。完全噴霧乾燥条件を以下の表1で提供する。

#### 【0091】

40

50

## 【表 1】

吸引器	100%
液体供給速度	2 ml/ 分
微粒化圧力	5.5 バール
入口温度	表 1 参照
出口温度	表 1 参照

10

表 1 噴霧乾燥条件

## 【0092】

これらの初期研究の結果により、製剤中にオレイン酸が存在することは、貧弱な粉末特性と回収率の低さを招くことが確認された。

## 【0093】

20

噴霧乾燥したバッチの要約を以下の表 2 に記載する。

## 【0094】

30

40

50

【表 2】

バッチ	成分 A	成分 B	成分 C	溶媒	結果	噴霧乾燥機 温度
052#053	システアミン 酒石酸塩 95%	オレイン酸 5%	N/A	EtOH : 水, 2 : 1	サイクロンの 壁に堆積する 蠅状のガラス 状固体	入口: 155 °C  出口: 83 °C
052#055	システアミン 酒石酸塩 95%	オレイン酸 5%	N/A	EtOH : 水, 2 : 1	サイクロンの 壁に堆積する 蠅状のガラス 状固体	入口: 78 °C  出口: 48 °C
052#056	システアミン 酒石酸塩 70%	オレイン酸 5%	トレハロース 25%	EtOH : 水, 2 : 1	サイクロンの 壁に堆積する 蠅状のガラス 状固体	入口: 75 °C  出口: 46 °C
052#057	システアミン 酒石酸塩 32.6 %	オレイン酸 1.7%	トレハロース 65.7%	EtOH : 水, 2 : 1	サイクロンの 壁に堆積する 蠅状のガラス 状固体	入口: 63 °C  出口: 40 °C
052#058	システアミン 酒石酸塩 95%	オレイン酸 5%	N/A	酢酸 エチル: 水, 5 : 1	サイクロンの 壁に堆積する 蠅状のガラス 状固体	入口: 50 °C  出口: 36 °C
052#059	システアミン 酒石酸塩 95%	オレイン酸 5%	N/A	水: 酢酸 エチル (形成され たAPI の結晶に 添加)	サイクロンの 壁に堆積する 蠅状のガラス 状固体	入口: 50 °C  出口: 38 °C

表 2 オレイン酸を含有する初期実行可能バッチの生成

【0095】

2 . 2 トレハロースと共に製剤化したシステアミン酒石酸塩の溶液を使用した噴霧乾燥初期研究（オレイン酸なし）

3 . 1 (以下)で得られる噴霧乾燥結果に基づき、オレイン酸を製剤から除去することにした。

【0096】

システアミン酒石酸塩を、開封前に 30 分間、室温まで温めた。噴霧乾燥する各バッチにつき、100 mg のシステアミン酒石酸塩粉末を 10 mL の脱イオン水に加えて、総固形濃度を 1% w / v にした。これを完全に溶解するまで攪拌した。

【0097】

トレハロースをシステム酒石酸塩溶液に加えて、噴霧乾燥した粉末の特性に対する

10

20

30

40

50

影響を評価した。高効率のサイクロンおよびB u c h i二流体ノズルを備えたB u c h i B 2 9 0噴霧乾燥機を使用して、溶液を噴霧乾燥した。完全噴霧乾燥条件を以下の表3で提供する。

【0098】

【表3】

吸引器	100%
液体供給速度	2 ml/分
微粒化圧力	5.5 バール
入口温度	表4参照
出口温度	表4参照

10

表3 噴霧乾燥条件

20

【0099】

噴霧乾燥したバッチの要約を以下の表4に記載する。

【0100】

30

40

50

【表 4】

バッチ	成分 A	成分 B	成分 C	溶媒	結果	噴霧乾燥機 温度
052#060*	システアミン 酒石酸塩 10%	トレハロース 90%	N/A	水	白色粉末	入口: 81 °C 出口 : 42 °C
052#062	システアミン 酒石酸塩 50%	トレハロース 50%	N/A	水	サイクロンの 壁に堆積する 螺旋状のガラス 状固体	入口: 82 °C 出口 : 44 °C
052#063	システアミン 酒石酸塩 25%	トレハロース 75%	N/A	水	白色乾燥 粉末	入口: 114 °C 出口 : 61 °C
052#064	システアミン 酒石酸塩 25%	トレハロース 75%	N/A	水	白色乾燥 粉末	入口: 136 °C 出口 : 71 °C
052#065	システアミン 酒石酸塩 25%	トレハロース 75%	N/A	水	白色乾燥 粉末	入口: 162 °C 出口 : 79 °C
052#066	システアミン 酒石酸塩 35%	トレハロース 65%	N/A	水	濡れて見える 粉末 自由な流動 なし	入口: 148 °C 出口 : 70 °C
52#67	システアミン 酒石酸塩 30%	トレハロース 70%	N/A	水	湿って見える 粉末 形態 凝集物	入口: 147 °C 出口 : 72 °C
052#097*	システアミン 酒石酸塩 25%	トレハロース 75%	N/A	水	白色乾燥 粉末	入口: 121 °C 出口 : 71 °C 噴霧圧力 5.5 バール

10

20

30

40

表 4 トレハロースの製剤化のための噴霧乾燥条件

\* 追加のデータを生成するために使用

## 【0101】

2 . 3 トレハロースおよび L - ロイシンとともに製剤化したシステアミン酒石酸塩の噴霧乾燥（噴霧乾燥したロイシンありのバッチナンバー 052 155、052 140、052 121、ロイシンなしの 052 122）

噴霧乾燥粉末の特性をさらに改善するため、L - ロイシンを製剤に加えた。

## 【0102】

システアミン酒石酸塩を、開封前に 30 分間、室温まで温めた。100 mg のシステア

50

ミン酒石酸塩粉末、50 mg の L - ロイシン、および 850 mg のトレハロースを、10 mL の脱イオン水に加えて、総固形濃度を 10% w / v にした。これを完全に溶解するまで攪拌した。バッチ 052 140 および 052 155 を調整して、2 g のバッチサイズを生成した。

#### 【0103】

高効率のサイクロンおよび Buchi 二流体ノズルを備えた Buchi B290 噴霧乾燥機を使用して、溶液を噴霧乾燥した。完全噴霧乾燥条件を以下の表 5 で提供する。

#### 【0104】

#### 【表 5】

吸引器	100%
液体供給速度	2 mL/ 分
微粒化圧力	5.5 バール
入口温度	184°C
出口温度	78°C

10

20

表 5 噴霧乾燥条件

#### 【0105】

噴霧乾燥に続き、周囲温度で一晩、第 2 真空乾燥することにより生成物の含水量をさらに減少させた。次に、最終生成物を密封ガラスバイアルに保管してからカプセル充填した。噴霧乾燥溶液について、以下の表 6 で要約する。

#### 【0106】

#### 【表 6】

溶液 ナンバー	システアミン 酒石酸塩重量	トレハロース 重量	L-ロイシン 重量	脱イオン水 体積	噴霧乾燥粉末 参照番号
1	100 mg	850 mg	50 mg	10 ml	052#121
2	100 mg	900 mg	0 mg	10 ml	052#122
3	200 mg	1700 mg	100 mg	20 ml	052#140
4	200 mg	1700 mg	100 mg	20 ml	052#155*

30

40

\* 約 1 g の 2 つのバッチとして収集

表 6 L - ロイシンを含有するシステアミン酒石酸塩製剤の噴霧乾燥

#### 【0107】

#### 2.4 粒子径分析

RODOS 分散機付きの Sympatec HELIOS 粒子径分析器を使用して、粒子径分析を実行した。約 50 mg の製剤をホッパーに入れた。2 バールの圧力の圧縮空気を使用して分散を達成した。全ての機器設定を、付録 1 の粒子径分析レポートに詳述する（データなし）。

50

**【0108】**

2.5 Andersen カスケードインパクターによる空気力学的粒子径分析

60 L / 分プレセパレータおよびステージ - 1 ~ 6 を備えた Copley Scientific 8 stage Andersen カスケードインパクター (ACI) を使用して、噴霧乾燥粉末の空気力学的粒子径を求めた。方法は、US Pharmacopiea 29 general chapter 601 および European Pharmacopeia 5.1.2.9.18 (乾燥粉末吸入用手順) に記載された通りとした。

**【0109】**

以下のパラメータを使用した：

用量：2 x カプセル

カプセル：Qualicaps HPMC 標準サイズ 3

装置：Plastiape、3444、COQ、23970000AA

プレートコーティング：なし

気流：約 60 L / 分 (装置全体で 4 KPa の圧力差として決定)

作動時間：約 4 秒 (4 リットルの体積に相当する気流により決定)

プレート洗浄：EDTA を有する 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液、pH 8

検出：適切な発色団を提供するエルマン試薬を使用する、412 nm の UV

**【0110】**

洗浄物中のシステアミン酒石酸塩濃度を、以下のセクション 3.6 に記載するように、412 nm で測定した。

**【0111】**

次に、各ステージで堆積した粉末量を、セクション 3.6 で決定する吸光係数を使用して計算した。種々のステージで堆積した薬物量を分析することにより、次に、専用 Copley Scientific ソフトウェアを使用して、収集したペプチド粒子の微細粒子量 (Fine Particle Dose (FPD))、微細粒子分率 (Fine Particle Fraction (FPF))、空気力学的質量中央値分布 (Mass Median Aerodynamic Distribution (MMAD))、および幾何標準偏差 (GSD) を計算することが可能になった。

**【0112】**

微細粒子量 (FPD) を、吸入時に肺に侵入することが可能な、つまり呼吸可能なサイズであると一般的に考えられる、吸入生成物の処方用量中の薬物量として定義した。これは、通常、約 5 ミクロン以下であると考えられる。

**【0113】**

微細粒子分率 (FPF) は、送達用量のパーセンテージとして表された FPD である。

**【0114】****2.6 システアミン酒石酸塩の定量化**

システアミン酒石酸塩の定量化を、Shimadzu UV-1650PC UV 分光計を使用して実行した。システアミン酒石酸塩が UV 発色団エルマン試薬を有さない場合は、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)を使用した。

**【0115】****2.6.1 試薬の調製**

反応緩衝液：0.1 mM の EDTA を含有する 0.1 M のリン酸ナトリウム、pH 8

エルマン試薬溶液：40 mg のエルマン試薬を 10 mL の反応緩衝液に溶解

34 mg のシステアミン酒石酸塩を 100 mL の反応試薬に溶解して、1.5 mM の溶液を生成。

**【0116】****2.6.2 検量線の準備**

システアミン酒石酸塩を以下の濃度の反応緩衝液に溶解することにより、標準を調製した：

**【0117】**

10

20

30

40

50

【表 7】

標準	反応緩衝液体積 mL	システアミン 酒石酸塩量	最終濃度
A	100	34 mg	1.5 mM
B	5	25 mLの標準A	1.25 mM
C	10	20 mLの標準A	1.0 mM
D	15	15 mLの標準A	0.75 mM
E	20	10 mLの標準A	0.5 mM
F	25	5 mLの標準A	0.25 mM
G(ブランク)	30	0 mLの標準A	0.0 mM

10

20

表 2 システアミン酒石酸塩標準

## 【0118】

50  $\mu$  L のエルマン試薬溶液と 2 . 5 mL の反応緩衝液を含有するバイアルのセットを準備した。

## 【0119】

アッセイ溶液または標準 ( 250  $\mu$  L ) を、前のステップで準備したバイアルに加えた。試薬を混ぜ、すぐに分光測光器で分析した。吸光度を 412 nm で測定した。

## 【0120】

標準より得られた値を使用して、検量線を生成した。システアミン酒石酸塩の実験サンプル濃度をこの曲線から求めた。

30

## 【0121】

## 3 結果

3 . 1 オレイン酸およびトレハロースと共にシステアミン酒石酸塩を噴霧乾燥することについての初期研究

セクション 3 . 1 に記載する初期研究により、( トレハロースありまたはなしで ) オレイン酸を含有するシステアミン酒石酸塩の溶液を噴霧乾燥することにより、適切な乾燥粉末を生成することは不可能であることが確認された。使用した全ての条件下で、結果として生じた粉末は、サイクロンおよび収集ジャーの壁に付着するガラス状の固形物質からなった。

40

## 【0122】

オレイン酸を製剤から除去すると、結果の改善が得られた ( セクション 3 . 2 参照 ) 。オレイン酸の除去は、( 蠕状の固体ではなく ) 微細の白色粉末の生成を招いた。しかしながら、粉末はなお粘着性で、比較的、流動特性は乏しかった。

## 【0123】

3 . 2 トレハロースおよび L - ロイシンを含有するシステアミン酒石酸塩製剤の噴霧乾燥 L - ロイシンを供給溶液に加えると粉末特性は改善され、白色の微細粉末が生じた。回収率 ( 収率 ) は高く ; 50 - 83 % の範囲だった。噴霧乾燥した粉末は、許容可能な取扱い特性を有し、最小の静電荷で収集容器から容易に回収することが可能だった。L - ロイシンを含有する製剤は、含有しない製剤よりも % 収率が高く、流動特徴が改善した。

50

【0124】

L - ロイシンを含有する噴霧乾燥溶液から得られた収率を、以下の表7に要約する：

【0125】

【表8】

サンプル参照番号	回収された粉末重量	% 収率 **
052#122	0.5g	50
052#121	0.7 g	70
052#140*	1.6 g	80
052#155*	1.7 g	83

10

表7 L - ロイシンを含有する製剤からの噴霧乾燥収率

\*\* 残留水分は考慮しない

\* 2 g パッチサイズ

20

【0126】

3 . 3 トレハロースとL - ロイシンを含有する噴霧乾燥システィアミン酒石酸塩製剤の粒子径分析

トレハロースとL - ロイシンを含有するシスティアミン酒石酸塩製剤の粒子径データの要約を表8に示す。

【0127】

【表9】

サンプル	X <sub>10</sub> *	X <sub>50</sub> **	X <sub>90</sub> ***	VMD****
052#122	0.88	2.28	4.61	2.56
052#121	1.46	2.65	4.59	2.89
052#140	0.93	2.75	6.39	3.34
052#155A	0.74	1.92	4.30	2.28
052#155B	1.06	2.84	6.19	3.42

30

40

表8 粒子径分析(要約)

\* 体積で微小粒子の10%以下

\*\* 体積で微小粒子の50%以下

\*\*\* 体積で微小粒子の90%以下

\*\*\*\* 体積平均径

50

## 【0128】

## 3.4 Anderson カスケードインパクターによる空気力学的粒子径分析

トレハロースおよびL-ロイシンと共に製剤化したシステアミン酒石酸塩の噴霧乾燥バッチの空気力学的粒径データの要約を表9に示す。完全な粒子径分析レポートは付録2で詳述する(データなし)。

## 【0129】

## 【表10】

バッチ	カプセルA 充填重量 (mg)	カプセルB 充填重量 (mg)	装置、 カプセルAから 放出された 製剤の重量 分析量	装置、 カプセルBから 放出された 製剤の重量 分析量	ACIから 回収された APIの質量	FPD (mg)	FPF (%)
052#121 ラン1	132.8	130.7	120.7	121.7	11.3	N/A*	N/A*
052#121 ラン2	114.8	119.6	105.0	109.5	18.5	6.9	37.7
052#122	84.0	75.2	54.8	54.9	11.2	3.0	27.0
052#140 ラン1	105.9	114.1	105.0	109.5	23.1	4.5	19.6
052#140 ラン2	96.9	100.9	90.2	93.4	25.9	5.6	21.5
052#155 ラン1	82.7	84.9	76.6	41.7	14.0	6.06	43.2
052#155 ラン2	96.2	94.3	89.5	87.8	15.3	3.6	23.7

10

20

30

40

表9 空気力学的粒子径

\* 分析法の回収プロセス内での変化により含めない

## 【0130】

## 4 結果

システアミン酒石酸塩は、トレハロースあり、かつL-ロイシンありまたはなしで、首尾よく噴霧乾燥された。これらの研究では、システアミン酒石酸塩(10% w/w)、トレハロース(85% w/w)、およびL-ロイシン(5% w/w)を含有する製剤が、粉末回収率、取扱い特性、およびカプセルへの薬物装填の点で、優れていた。

## 【0131】

50

システアミン酒石酸塩 / トレハロース / ロイシン製剤の改善された粉末取扱い特徴は、特に 5 % ロイシンを含有する製剤で、微細粒子分率 ( FPF ) の上昇につながった。

#### 【0132】

DPI 送達についての実行可能初期研究により、噴霧乾燥粉末は、ラクトース担体なしで、商業的に利用可能な DPI を使用して送達可能であることが確認された。噴霧乾燥粉末を用いた実行可能初期研究は、2つのカプセルから送達される、20% ~ 40% の FPF と 3 ~ 6.9 mg の FPM を提供した。

#### 【0133】

実施例 2 :

#### in vivo テスト用噴霧乾燥システアミン酒石酸塩製剤の生成

10

##### 5 材料

システアミン酒石酸塩は、Novabiotics (Recordati 14051 4 - 1) により供給された。他の試薬は全て、Sigma により供給され、分析グレードだった。

#### 【0134】

##### 6 方法

###### 6.1 システアミン酒石酸塩製剤の噴霧乾燥

6.1.1 システアミン酒石酸塩 5 % ( w / w ) 、 L - ロイシン 5 % ( w / w ) 、マンニトール 90 % ( w / w ) (バッチ 57 08a)

システアミン酒石酸塩粉末を、開封前に 30 分間、室温まで温めた。0.1 g のシステアミン酒石酸塩粉末、0.1 g の L - ロイシン、および 1.8 g のマンニトールを含有する溶液を、20 mL の脱イオン水において調製して、総固形濃度を 10 % w / v にした。これを完全に溶解するまで攪拌した。

20

#### 【0135】

高効率のサイクロンおよび Buchi 二流体ノズルを備えた Buchi B290 噴霧乾燥機を使用して、溶液を噴霧乾燥した。完全噴霧乾燥条件を以下の表 1 で提供する。

#### 【0136】

##### 【表 1 】

吸引器	100%
液体供給速度	2 ml/ 分
微粒化圧力	5.5 バール
入口温度	104°C
出口温度	58°C

30

表 3 バッチ 57 08a の噴霧乾燥条件

#### 【0137】

噴霧乾燥後、粉末を収集し、実験室フィルムを使用してガラスバイアルで保管し、% RH < 10 % の保護環境内でホイルをかぶせた。

#### 【0138】

6.1.2 システアミン酒石酸塩 10 % ( w / w ) 、 L - ロイシン 5 % ( w / w ) 、マンニトール 85 % ( w / w ) (バッチ 57 08b)

システアミン酒石酸塩粉末を、開封前に 30 分間、室温まで温めた。0.2 g のシステアミン酒石酸塩粉末、0.1 g の L - ロイシン、および 1.7 g のマンニトールを含有す

40

50

る溶液を、20 mL の脱イオン水において調製して、総固形濃度を 10% w / v にした。これを完全に溶解するまで攪拌した。

**【0139】**

高効率のサイクロンおよび B u c h i 二流体ノズルを備えた B u c h i B 2 9 0 噴霧乾燥機を使用して、溶液を噴霧乾燥した。完全噴霧乾燥条件を以下の表 2 で提供する。

**【0140】**

**【表 12】**

吸引器	100%
液体供給速度	2 ml/ 分
微粒化圧力	5.5 バール
入口温度	106°C
出口温度	55°C

10

表 2 バッチ 57 08 b の噴霧乾燥条件

**【0141】**

噴霧乾燥後、粉末を収集し、実験室フィルムを使用してガラスバイアルで保管し、% R H < 10% の保護環境内でホイルをかぶせた。

**【0142】**

6 . 1 . 3 L - ロイシン 5% (w / w) 、マンニトール 95% (w / w) を含有するプラセボバッチ (バッチ 57 07)

0 . 1 g の L - ロイシンおよび 1 . 9 g のマンニトールを含有する溶液を、20 mL の脱イオン水において調製して、総固形濃度を 10% w / v にした。これを完全に溶解するまで攪拌した。

30

**【0143】**

高効率のサイクロンおよび B u c h i 二流体ノズルを備えた B u c h i B 2 9 0 噴霧乾燥機を使用して、溶液を噴霧乾燥した。完全噴霧乾燥条件を以下の表 3 で提供する。

**【0144】**

**【表 13】**

吸引器	100%
液体供給速度	2 ml/ 分
微粒化圧力	5.5 バール
入口温度	100°C
出口温度	64°C

40

表 3 バッチ 57 07 の噴霧乾燥条件

**【0145】**

噴霧乾燥後、粉末を収集し、実験室フィルムを使用してガラスバイアルで保管し、% R

50

H < 10 % の保護環境内でホイルをかぶせた。

【0146】

6.2 粒子径分析

R O D O S 分散機付きの Sympatec HELIOS 粒子径分析器を使用して、粒子径分析を実行した。約 50 mg の噴霧乾燥したシステアミン酒石酸塩製剤を振動フィーダーに置き、ホッパーに供給した。2 バールの圧力の圧縮空気を使用して、分散を達成した。

【0147】

6.3 噴霧乾燥粉末におけるシステアミン酒石酸塩含有量分析

システアミン酒石酸塩の定量化を、 Shimadzu UV-1650PC UV 分光計を使用して実行した。システアミン酒石酸塩が UV 発色団エルマン試薬を有さない場合は、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)を使用して、システアミンのスルフィドリル基を測定した。

10

【0148】

6.3.1 試薬の調製

反応緩衝液：0.1 mM の EDTA を含有する 0.1 M のリン酸ナトリウム、pH 8

エルマン試薬溶液：40 mg のエルマン試薬を 10 mL の反応緩衝液に溶解

34 mg のシステアミン酒石酸塩を 100 mL の反応試薬に溶解して、1.5 mM の溶液を生成。

20

【0149】

6.3.2 検量線の準備

システアミン酒石酸塩を表 4 に示す濃度で反応緩衝液に溶解することにより、標準を調製した：

【0150】

【表 14】

標準	反応緩衝液体積 mL	システアミン 酒石酸塩量	最終濃度
A	100	34 mg	1.5 mM
B	5	25 mL の標準 A	1.25 mM
C	10	20 mL の標準 A	1.0 mM
D	15	15 mL の標準 A	0.75 mM
E	20	10 mL の標準 A	0.5 mM
F	25	5 mL の標準 A	0.25 mM
G(ブランク)	30	0 mL の標準 A	0.0 mM

30

表 4 システアミン酒石酸塩標準

【0151】

50 μL のエルマン試薬溶液と 2.5 mL の反応緩衝液を含有するバイアルのセットを準備した。

【0152】

アッセイ溶液または標準 (250 μL) を、前のステップで準備したバイアルに加えた。試薬を混ぜ、すぐに分光測光器で分析した。吸光度を 412 nm で測定した。

40

50

**【0153】**

標準より得られた値を使用して、検量線を生成した。システアミン酒石酸塩の実験サンプル濃度をこの曲線から求めた。

**【0154】****6.3.3 供給溶液および噴霧乾燥粉末におけるシステアミン含有量の分析**

2つの噴霧乾燥バッチを生成するのに使用した供給液それぞれにおいて、システアミン酒石酸塩の含有量を測定した。各溶液の $100\text{ }\mu\text{L}$ のアリコットを $10\text{ mL}$ のD I水に希釈して、検量線の線形領域内に入る溶液を生成した。セクション3.3.2に記載するようにサンプルを分析し、システアミン酒石酸塩濃度を求めた。

**【0155】**

2つの噴霧乾燥製剤におけるシステアミン酒石酸塩の含有量を測定した。 $50\text{ mg}$ の各粉末サンプルを $0.5\text{ mL}$ のD I水に希釈した。 $100\text{ }\mu\text{L}$ のアリコットを $10\text{ mL}$ のD I水に希釈して、検量線の線形領域内に入る溶液を生成した。セクション3.3.2に記載するようにサンプルを分析し、システアミン酒石酸塩濃度を求めた。

**【0156】****7 結果および考察****7.1 システアミン酒石酸塩製剤の噴霧乾燥**

全供給液は首尾よく噴霧乾燥され、白色の微細粉末が生じた。回収率を以下の表4で要約する。

**【0157】****【表15】**

バッチ No	噴霧乾燥量 (g)	回収量 (g)	収率 (%)
57#08a	2g	1.0	50
57#08b	2g	0.75	38
57#07 (プラセボ)	2g	1.1	55

10

20

30

**表5 噴霧乾燥システム製剤の回収率****【0158】**

バッチの回収率は予想より低かったが、これは、バッチサイズが小さい(2 g)ことが原因である可能性が高い。全粉末は良好な取扱い特性を有したが、10%システム製剤は、5%製剤よりわずかに粘着性が高かったことに注意されたい。

**【0159】****7.2 粒子径分析**

全時点での粒子径データの要約を表5に示し、代表的な粒子径の分布を図1-3に示す。

40

**【0160】**

50

【表 1 6】

バッチ	X <sub>10</sub> *	X <sub>50</sub> **	X <sub>90</sub> ***	VMD****
	(μm)	(μm)	(μm)	(μm)
57#08a	0.85	4.51	8.58	4.73
	0.90	4.34	7.95	4.48
	0.90	4.41	8.27	4.75
57#08b	1.62	6.61	12.69	7.16
	1.83	6.89	13.28	7.49
	1.91	6.99	13.21	7.52
57#07(プラセボ)	1.29	4.2	7.99	4.66
	1.37	4.27	8.09	4.73
	2.68	4.49	7.38	6.72

表 6 粒子径分析（要約）

\* 体積で微小粒子の 10 % 以下

\*\* 体積で微小粒子の 50 % 以下

\*\*\* 体積で微小粒子の 90 % 以下

\*\*\*\* 体積平均径

【0 1 6 1】

各バッチで得られたサイズ分布例を図 1 - 3 に示す。

【0 1 6 2】

7.3 供給液および噴霧乾燥粉末におけるシステアミン含有量の決定

生成した噴霧乾燥機供給液および噴霧乾燥粉末の両方について、システアミン含有量を分析した。得られた結果を以下の表 6 に示す。

【0 1 6 3】

10

20

30

40

50

【表 17】

サンプル	標的濃度	測定濃度
バッチ 57#08a (供給溶液)	5% (w/v)	5.9% (w/v)
バッチ 57#08a (噴霧乾燥粉末)	5% (w/w)	5.9% (w/w)
バッチ 57#08b (供給溶液)	10% (w/v)	11.5% (w/v)
バッチ 57#08b (噴霧乾燥粉末)	10% (w/w)	11.7% (w/w)

10

表 7 供給液および噴霧乾燥粉末におけるシステアミン含有量

## 【0164】

全サンプルにおいて、測定された濃度は、理論上の含有量に基づく予想濃度よりも高かった。

## 【0165】

実施例 3 :

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 のマウス IN 好中球減少性モデル（肺負荷モデル）における Lyновex（システアミン）プレップの有効性評価

## 化学

動物を、200 mg / kg または 150 mg / kg の何れかのシクロホスファミドを用いて、免疫抑制 / 予備処置した。Lyновex、化学名システアミンとビヒクルを、Lynovex とラクトースビヒクル、または Lynovex とマンニトール系ビヒクルの何れかとして調製した（両方とも Upperton より提供（Upperton 製品））。これらは、処置およびビヒクル対照用に、それぞれ単独で、および組み合わせて調製した。トブライマイシンをラクトースにおいて吸入製剤として調製した。全処置を、Penn Century 装置を使用して投与した。リン酸緩衝生理食塩水（PBS）と Pseudomonas 選択寒天が、細菌組織負荷のために必要だった。

20

## 【0166】

## 動物

オスの CD1 マウス（処置群用に n = 6、加えて予備処置群で 5、併せて 35 マウス）を本研究では使用した。-4 日目に、マウスを、200 mg / kg のシクロホスファミドを用いて腹腔内で免疫抑制 / 予備処置し；-1 日目に 150 mg / kg のシクロホスファミドを用いて腹腔内で免疫抑制 / 予備処置した。ラクトース中で調製した Lynovex 研究では、体積 40 μL で、 $5 \times 10^6$  cfu / ml の接種原を有する P. aeruginosa ATCC 27853 を鼻腔内投与して感染を成立させ、続いて、15 分間ケタミン / キシラジン麻酔剤カクテルで麻酔し、Upperton Lynovex 製品では、 $4 \times 10^6$  の接種原で感染を成立させた。

30

## 【0167】

## 処置

全処置を、Penn Century 装置を使用して気管内に投与した。

## 【0168】

Lynovex（システアミン）を 1.5 mg 単独で、および以下の濃度でラクトースと組み合わせて投与した。Lynovex 0.75 mg + 2.25 mg ラクトース粉末、Lynovex 1.5 mg + 1.5 mg ラクトース粉末、Lynovex 2.25 mg +

40

40

50

0.75 mg、およびラクトース3 mgのビヒクルのみの対照。さらに、188 µg / 用量のトプラマイシンを、測定を補助するために、ラクトースと混ぜた吸入製剤として投与した。処置は、感染の約5分後に投与した。

#### 【0169】

別的研究では、Lyновexを以下の用量で投与した：3 mgの5%Lynovexと3 mgの10%Lynovex。トプラマイシンと組み合わせたLynovexは以下の通りとした：1.5 mgのビヒクル中に3 mgの5%Lynovex + トプラマイシン0.188 mg、1.5 mgのビヒクル（マンニトール系、Upper tonが製造）中に3 mgの10%Lynovex + トプラマイシン0.188 mg、トプラマイシンのみの対照（ラクトースビヒクル中に0.188 mg / 用量）。処置は、感染の約10分後一度投与した。

10

#### 【0170】

##### 組織における細菌負荷

感染の24時間後の臨床エンドポイントにおける各動物の肺組織負荷を求めた。肺を2 mLのPBSにおいてホモジナイズし、連続してPBS中で希釈し、*Pseudomonas*選択寒天に蒔いてから24～48時間後に、37で定量化した。

#### 【0171】

Lynovex / ラクトース研究を用いて、可変性感染症を、*P. aeruginosa* ATCC 27853に感染させたマウスの肺において達成した。0.188 mgのトプラマイシン吸入製剤の気管内投与は、ビヒクル処置マウスと比較して、肺負荷を統計的に著しく減少させ（P = 0.0097 Kruskal Wallis検定）、5/6の動物が感染症を検出限界未満まで除去した。1.5 mgおよび2.25 mgのLyNovexの気管内投与もビヒクルと比較し肺負荷を減少させ（それぞれ、P = 0.0072およびP = 0.0349）、それぞれ5/6および4/6のマウスが感染症を検出限界未満まで除去した（図4）。

20

#### 【0172】

Upper ton製品を用いたLyNovex研究では、頑強な感染症を、*P. aeruginosa* ATCC 27853に感染させたマウスの肺において達成した。0.188 mgのトプラマイシン吸入製剤の気管内投与は、ビヒクル処置マウスと比較して肺負荷が平均1.611 log 10 cfu/g減少する、高度可変性負荷をもたらした（Kruskal Wallis検定）。5%または10%のLyNovex 3 mgを単剤療法として気管内投与することは、ビヒクルと比較して肺負荷を減少させなかった。しかしながら、5%または10%のLyNovexを0.188 mgのトプラマイシンと組み合わせると、ビヒクルマウスと比較し、負荷は減少した（それぞれ、P < 0.0001およびP < 0.0001）。この減少を、トプラマイシンのみの処置と比較した（5% LyNovex + トプラマイシンではP < 0.0001、10% LyNovex + トプラマイシンではP < 0.0015、Kruskal-Wallis検定）（図5）。

30

#### 【0173】

さらに、マウスの体重を感染症前後で記録した。ビヒクル、LyNovex単剤療法、またはトプラマイシン単剤療法で処置したマウスは、感染症後に体重が減少した。対照的に、LyNovex + トプラマイシンの組み合わせで処置したマウスは、感染症後も体重を維持し、該マウスが、感染症後も比較的健康であることを示した。（図6）

40

#### 【0174】

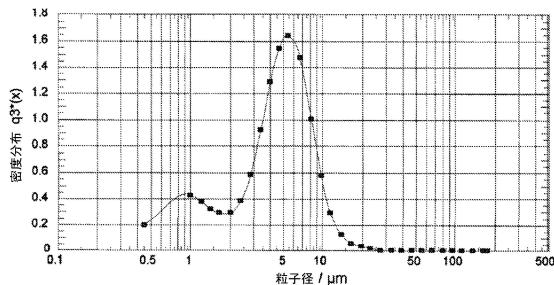
乾燥粉末吸入用のトプラマイシンは、マンニトールではなくラクトースに懸濁されたことに注意されたい。ラクトースにおける懸濁は粉末の凝集を引き起こし、これは、Pen n Century装置の多くが投与中に遮断されるような、送達上のいくつかの困難を招いた。LyNovex懸濁液は投与がはるかに容易で、送達装置が遮断されることに起因する問題もなく、全て送達された。組み合わせ療法アームにおける負荷の減少が印象的で、トプラマイシン単剤療法より著しくすぐれていた一方、トプラマイシン単剤療法で処置した一部のマウスのデータは、DPI送達の難しさにより、疑わしい可能性があった。

50

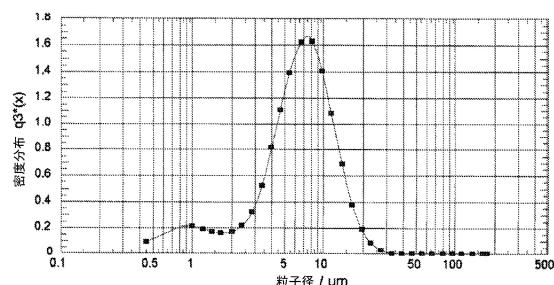
不確かなトプラマイシン処置の動物を調べた場合でも、組み合わせアームの非常に高い有効性がなお残った。

## 【図面】

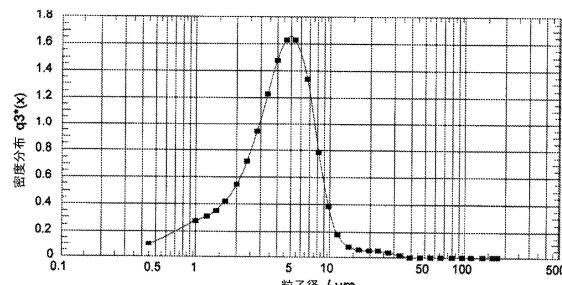
【図 1】



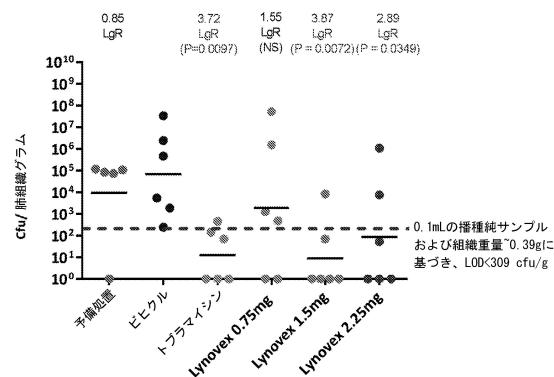
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

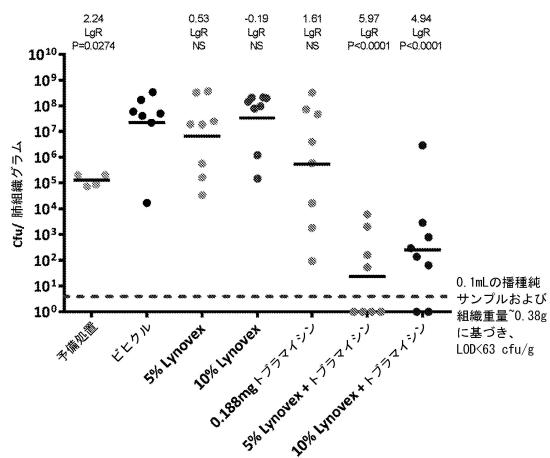
20

30

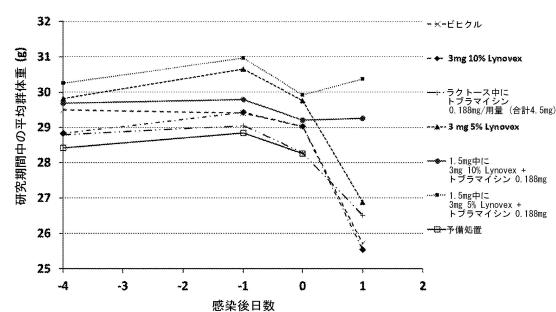
40

50

【図 5】



【図 6】



10

20

30

40

50

---

フロントページの続き

## (51)国際特許分類

	F I
A 6 1 P 9/08 (2006.01)	A 6 1 P 9/08
A 6 1 P 9/12 (2006.01)	A 6 1 P 9/12
A 6 1 P 11/08 (2006.01)	A 6 1 P 11/08
A 6 1 P 11/12 (2006.01)	A 6 1 P 11/12
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18

## (33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

クレイブストーン クルークシャンク・ビルディング ノバビオティクス・リミテッド

審査官 辰己 雅夫

## (56)参考文献

特開2013-082660 (JP, A)

特表2008-526735 (JP, A)

国際公開第2015/054574 (WO, A1)

米国特許出願公開第2012/0129946 (US, A1)

特表2014-515356 (JP, A)

国際公開第90/013538 (WO, A1)

Formulation studies on cysteamine for the treatment of nephropathic cystinosis , The Open Access Institutional Repository at Robert Gordon University , 2011年 , p.1-223

Orphanet J Rare Dis , 2014年 , Vol.9 , Article 189

## (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 )