



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년05월16일

(11) 등록번호 10-1736502

(24) 등록일자 2017년05월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/14 (2006.01) **A61K 31/194** (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01) **A61P 3/10** (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-7011096
(22) 출원일자(국제) 2008년10월24일
심사청구일자 2013년10월22일
(85) 번역문제출일자 2010년05월20일
(65) 공개번호 10-2010-0093055
(43) 공개일자 2010년08월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2008/081218
(87) 국제공개번호 WO 2009/055740
국제공개일자 2009년04월30일
(30) 우선권주장
60/982,368 2007년10월24일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
W02007033316 A2*
JP2003503420 A*
KR1020070085224 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
팬카인드 코퍼레이션
미국 캘리포니아주 91355 발렌시아 스위트 300 라
이 캐니언 루프 25134
(72) 발명자
리차드슨 피터
미국 08551 뉴저지주 린고우즈 린베일 로드 115
보프만 로버트 에이
미국 06877 코네티컷주 리지필드 노드 로드 75
코스텔로 도널드
미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 앤도버 애비뉴
11
(74) 대리인
김태홍, 김진희

전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 **G L P-1에 의한 유해 효과의 예방 방법**

(57) 요약

일반적으로 글루카곤 유사 펩티드-1(GLP-1)의 피하 및 정맥내 투여와 관련된, 심한 발한, 오심 및 구토와 같은 유해 효과의 예방 또는 감소 방법이 제공된다. 특히, 상기 방법은 건조 분말 약물 전달계를 이용하여 폐의 폐포 모세관으로 직접, 예컨대 흡입에 의해 폐 순환으로 GLP-1 제제를 신속히 투여하는 것을 포함한다.

(30) 우선권주장

60/985,620	2007년11월05일	미국(US)
61/033,740	2008년03월04일	미국(US)
61/052,127	2008년05월09일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

고혈당증 및/또는 당뇨병을 치료하기 위한 GLP-1을 포함하는 흡입성 건조 분말 제제로서, 상기 흡입성 건조 분말 제제는 치료 유효량의 GLP-1 및 디케토피페라진 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 고혈당증 및/또는 당뇨병의 치료가 필요한 환자에게 투여되며, 상기 환자에서 심한 발한, 오심 또는 구토 없이 췌장 β -세포로부터 내인성 인슐린의 신속한 분비를 자극하고, 상기 제제 중 디케토피페라진의 GLP-1에 대한 비율이 17:3 (디케토피페라진: GLP-1) 이상인 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 환자는 2형 진성 당뇨병을 앓고 있는 포유동물인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 3

제1항에 있어서, 흡입성 건조 분말은 제제 중 GLP-1을 약 0.01 mg~약 3 mg 포함하는 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 디케토피페라진은 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴, 말레일, 및 푸마릴로 이루어진 군에서 선택됨) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 GLP-1은 GLP-1 이거나, 또는 엑세나티드 및 엑센딘-4로부터 선택되는 GLP-1 유사체인 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 X는 푸마릴인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 7

제1항에 있어서, DPP-IV 억제제를 추가로 포함하는 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 8

GLP-1 및 디케토피페라진 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고 고혈당증을 앓고 있는 2형 당뇨병 환자의 포도당 수준을 감소시키는 폐 투여용 흡입성 건조 분말 제제로서, 상기 흡입성 건조 분말 제제는 폴리소르베이트 80을 포함하는 산성 용액과 디케토피페라진 용액의 혼합물로부터 형성된 입자를 포함하며, 형성된 입자는 세척되고 접선 유동 여과로 농축되고; 상기 흡입성 건조 분말 제제는 치료 유효량의 GLP-1 분자를 포함하고 폐 투여를 통해 상기 환자에게 투여되며, 상기 제제는 상기 환자에서 심한 발한, 오심 또는 구토 없이 췌장 β -세포로부터 내인성 인슐린의 신속한 분비를 자극하고, 상기 제제 중 디케토피페라진의 GLP-1에 대한 비율이 17:3 (디케토피페라진: GLP-1) 이상인 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 9

제8항에 있어서, 흡입성 건조 분말은 흡입성 건조 분말 용량 당 GLP-1을 약 0.01 mg~약 3 mg 포함하는 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 디케토피페라진은 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴, 말레일, 및 푸마릴로 이루어진 군에서 선택됨) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염인 흡입성 건조 분말 제

제.

청구항 11

제8항에 있어서, 상기 투여는 엑세나티드 및 엑센딘-4로부터 선택되는 지속형 GLP-1 유사체를 포함하는 제제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 X는 푸마릴인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 13

제8항에 있어서, 상기 GLP-1은 GLP-1 이거나, 또는 엑세나티드 및 엑센딘-4로부터 선택되는 GLP-1 유도체인 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 제제는 인슐린을 추가로 포함하는 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 15

제1항 또는 제8항에 있어서, 위 배출의 억제가 없는 것인 흡입성 건조 분말 제제.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 전후 참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에서 2007년 10월 24일에 출원된 미국 가명세서 출원 번호 60/982,368호; 2007년 11월 5일에 출원된 60/985,620호; 2008년 3월 4일에 출원된 61/033,740호; 및 2008년 5월 9일에 출원된 61/052,127호를 우선권으로 주장한다. 이들 출원의 각각의 전문은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 명세서에는, 일반적으로 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1) 요법의 피하 및 정맥내 투여와 관련된 심한 발한, 오심 및 구토와 같은 유해 효과를 예방 또는 감소시키는 방법이 개시되어 있다. 특히, 본 방법은 건조 분말 약물 전달계를 이용하여 폐의 폐포 모세관으로, 예컨대 흡입에 의해서 폐 순환으로 GLP-1을 투여하는 것을 포함한다.

배경 기술

[0005] 활성 성분을 순환계로 도입하는 질병 치료용 약물 전달계는 많고, 경구, 경피, 피하 및 정맥내 투여를 포함한다. 이들 시스템은 매우 오랫동안 사용되어 왔으며, 여러 질병을 치료하기 위해 충분한 의약을 전달할 수 있지만, 이들 약물 전달 기전과 관련된 여러 과제가 있다. 특히, 표적 질병을 치료하기 위한 단백질 및 펩티드의 유효량의 전달이 문제가 된다. 여러 인자가 정확한 양의 활성제의 도입에 연관되어 있으며, 예를 들어 작용 부위에 유효량으로 도달할 수 있는 활성제의 양을 함유하도록 적당한 약물 전달 제제를 제조한다.

[0006] 활성제는 약물 전달 제제에서 안정해야 하며, 제제는 작용 부위에서 유효 치료 수준에 도달할 수 있도록 활성제를 순환계로 흡수시키고 활성을 유지해야 한다. 따라서, 약리학적 분야에서, 안정한 활성제를 전달할 수 있는 약물 전달계가 가장 중요하다.

[0007] 질병 치료에 치료적으로 적합한 약물 전달 제제를 제조하는 것은, 환자에게 전달하고자 하는 활성 성분 또는 활성제의 특성에 따라 다르다. 상기 특성은 비제한적인 방식으로 용해도, pH, 안정성, 독성, 방출율, 및 정상 생리학적 과정에 의한 신체로부터의 제거 용이성을 포함할 수 있다. 예를 들어, 경구 투여에 있어서 제제가 산에 민감한 경우, 위의 낮은 pH (산)에서 활성제가 방출되지 않도록 하는 약학적으로 허용되는 물질을 이용하여 장용제피를 개발하였다. 따라서, 산성 pH에서 가용성이 아닌 중합체를 사용하여 제형화하여 용량 함유 산 민감성 제제를 pH가 중성인 소장으로 전달한다. 중성 pH에서 중합체 피막이 용해되어 활성제를 방출할 수 있으며, 이후 장의 전신 순환으로 흡수된다. 경구 투여되는 활성제는 전신 순환으로 들어가서 간을 통과한다. 일부 경우에는, 표적 조직에 도달하기 전에 용량의 일부가 간에서 대사 및/또는 불활성화된다. 어떤 경우에는, 대사산물이 환자에게 독성일 수 있거나, 또는 원하지 않는 부작용을 유발할 수 있다.

[0008] 유사하게, 약학적 활성제의 피하 및 정맥내 투여로 분해 및 불활성화를 피할 수 없다. 약물을 정맥내 투여하면, 표적 조직에 도달하기 전에, 또한 약물 또는 활성 성분이, 예컨대 간에서 대사될 수 있다. 각종 단백질 및 펩티드를 비롯하여 특정 활성제를 피하 투여하면, 약물이 정맥 혈류를 통해 이동하는 동안 약물 전달 부위에서 말초 및 혈관 조직 효소가 추가로 분해 및 탈활성화시킨다. 활성제의 피하 및 정맥내 투여로 질병을 치료하기 위해 허용가능한 양을 제공하는 용량을 전달하기 위해서, 투약법은 항상 말초 및 혈관 정맥 조직과 궁극적으로는 간에 의한 활성제의 불활성화를 고려해야 할 것이다.

발명의 내용

[0009] 발명의 개요

[0010] 일반적으로 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1) 요법의 피하 및 정맥내 투여와 관련되어 있는, 심한 발한, 오심 및 구토와 같은 유해 효과를 예방 또는 감소시키는 방법이 본 명세서에 개시되어 있다. 특히, 이 방법은 건조 분말 약물 전달계를 이용하여 폐의 폐포 모세관으로, 예컨대 흡입에 의해 GLP-1을 폐 순환으로 투여하는 것을 포함한다.

[0011] 일 구체예에서, GLP-1 분자의 치료 유효량을 포함하는 흡입성 건조 분말 제제를 치료가 필요한 환자에게 식사시 투여하는 단계를 포함하는, 환자의 고혈당증 및/또는 당뇨병의 치료 방법이 제공되며, 상기 투여는 오심, 구토

및 심한 발한으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 부작용을 초래하지 않는다.

- [0012] 또 다른 구체예에서, 환자는 2형 진성 당뇨병을 앓고 있는 포유동물이다. 또 다른 구체예에서, GLP-1 제제는 제제 중 GLP-1을 약 0.5 mg 내지 약 3 mg 포함한다. 또 다른 구체예에서, 흡입성 건조 분말 제제는 DPP-IV 억제제를 더 포함한다.
- [0013] 일 구체예에서, 치료 유효량의 GLP-1 및 디케토피페라진 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 폐 투여용 흡입성 건조 분말 제제를 치료가 필요한 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 고혈당증을 앓고 있는 2형 당뇨병 환자의 포도당 수준을 감소시키는 방법이 제공된다.
- [0014] 또 다른 구체예에서, 흡입성 건조 분말 제제는 디케토피페라진을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 디케토피페라진은 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴, 말레일, 및 푸마릴로 이루어진 군에서 선택됨) 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.
- [0015] 또 다른 구체예에서, GLP-1 분자는 천연 GLP-1, GLP-1 대사물질, GLP-1 유도체, 지속형 GLP-1, GLP-1 모방체, 엑센딘 또는 이의 유사체 또는 이의 조합으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0016] 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 치료 유효량의 인슐린 분자를 환자에게 투여하는 것을 더 포함한다. 또 다른 구체예에서, 흡입성 건조 분말 제제는 인슐린 분자와 함께 공제형화된 GLP-1 분자를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 인슐린 분자를 흡입성 건조 분말 제제로서 별도로 투여한다. 또 다른 구체예에서, 인슐린은 속효성 또는 지속형 인슐린이다.
- [0017] 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 지속형 GLP-1 유사체를 포함하는 제제를 투여하는 것을 더 포함한다.
- [0018] 또 다른 구체예에서, 흡입성 건조 분말 제제는 위 배출 억제제가 없다.
- [0019] 또 다른 구체예에서, 환자에게 흡입성 제제를 투여한 후 약 4 시간 동안 포도당 수준이 약 0.1 mmol/L 내지 약 3 mmol/L로 감소된다. 또 다른 구체예에서, 흡입성 제제를 당뇨병 2형 환자에게 식사시, 식전, 식사시, 식후 또는 공복 상태에서 투여한다. 또 다른 구체예에서, GLP-1 제제는 제제 중 GLP-1 약 0.02 mg 내지 약 2 mg 포함한다.
- [0020] 한 구체예에서, a) 건조 분말 흡입기에 맞도록 작동가능하게 구성되고, GLP-1 분자와 화학식 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴, 말레일, 및 푸마릴로 이루어진 군에서 선택됨)의 디케토피페라진 또는 이의 염을 포함하는 건조 분말 제제를 포함하는 의약 카트리지를, 및 b) 카트리지를 수용/유지하고 견고하게 체결되도록 작동가능하게 구성된 흡입 장치를 포함하는 당뇨병 및/또는 고혈당증 치료용 키트가 제공된다.
- [0021] 또 다른 구체예에서, a) 건조 분말 흡입기에 맞도록 작동가능하게 구성되고, GLP-1 분자와 화학식 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴, 말레일, 및 푸마릴로 이루어진 군에서 선택됨)의 디케토피페라진 또는 이의 염을 포함하는 건조 분말 제제를 포함하는 의약 카트리지를, 및 b) 카트리지에 적합하고 견고하게 체결되도록 작동가능하게 구성된 흡입 장치를 포함하는, 폐 약물 전달계를 포함하는 2형 당뇨병 환자에서 고혈당증을 치료하기 위한 키트가 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 흡입후 각종 시점에서 측정한, 1.5 mg의 활성 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1) 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 피험체에서 GLP-1의 평균 혈장 농도를 도시한다.
- 도 2a는 흡입후 각종 시점에서 측정한, 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 피험체에서 인슐린의 평균 혈장 농도를 도시한다.
- 도 2b는 GLP-1을 피하 투여하여 치료한 피험체와 비교하여, 흡입후 각종 시점에서 측정한, 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 피험체에서 GLP-1의 평균 혈장 농도를 도시한다.
- 도 2c는 50 μ g의 정맥내 GLP-1 용량으로 치료한 피험체 및 피하 GLP-1 용량으로 치료한 피험체와 비교하여, 흡입후 각종 시점에서 측정한, 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 피험체에서 혈장 인슐린 농도를 도시한다.
- 도 3은 흡입후 각종 시점에서 측정한, 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 피험

체에서 C-펩티드의 평균 혈장 농도를 도시한다.

도 4는 흡입후 각종 시점에서 측정한, 0.05 mg, 0.45 mg, 0.75 mg, 1.05 mg 및 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 피험체에서 포도당의 평균 혈장 농도를 도시한다.

도 5는 0.05 mg, 0.45 mg, 0.75 mg, 1.05 mg 및 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 환자에서 평균 혈장 인슐린 농도를 도시한다. 데이터는 폐 GLP-1 투여에 반응하는 인슐린 분비가 용량 의존적임을 보여준다.

도 6은 0.05 mg, 0.45 mg, 0.75 mg, 1.05 mg 및 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 치료되는 환자에서 평균 혈장 글루카곤 농도를 도시한다.

도 7은 피하(SC) 투여된 엑센딘-4를 수용한 것에 비하여, 폐 통기법에 의해 엑센딘-4/FDKP(푸마릴 디케토피페라진) 분말을 수용한 수컷 Zucker Diabetic Fatty(ZDF) 래트에서 평균 혈장 엑센딘 농도를 도시한다. ■는 엑센딘-4/FDKP 분말의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. □는 SC 엑센딘-4의 투여 후 반응을 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SD로 플롯하였다.

도 8은 피하 투여된 엑센딘-4를 수용한 것에 비하여, 폐 통기법에 의해 공기 대조군, 엑센딘-4/FDKP 분말, 또는 GLP-1/FDKP 분말을 수용한 수컷 ZDF 래트에서 기준선으로부터의 혈당 농도 변화를 도시한다. 이 그래프는 또한 래트에게 폐 통기법에 의해 GLP-1/FDKP를 포함하는 흡입 분말을 투여한 후 엑센딘-4/FDKP를 포함하는 흡입 분말을 투여한 병용 실험을 도시한다. 이 그래프에서, ◇는 엑센딘-4/FDKP 분말의 폐 통기법 후의 반응을 도시한다. ○은 피하 엑센딘-4의 투여 후 반응을 도시한다. △는 GLP-1/FDKP 분말 투여 후 반응을 나타낸다. □는 공기만을 폐 통기시킨 후의 반응을 도시한다. *은 통기에 의해 래트에게 제공된 2 mg GLP-1/FDKP 이후, 또한 통기에 의해 투여되는 2 mg 엑센딘-4/FDKP 분말에 의해 얻어지는 반응을 도시한다.

도 9a는 정맥내(IV) 옥신토모듈린과 비교하여 폐 통기에 의해 옥신토모듈린/FDKP 분말을 수용한 수컷 ZDF 래트에서의 평균 혈장 옥신토모듈린 농도를 도시한다. □는 옥신토모듈린만을 IV 투여한 후의 반응을 나타낸다. △은 5% 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.15 mg 옥신토모듈린)의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. ○은 15% 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.45 mg 옥신토모듈린)의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. ▽은 30% 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.9 mg 옥신토모듈린)의 폐 흡입 후의 반응을 나타낸다. 데이터는 평균 $\pm$ SD로 플롯되어 있다.

도 9b는 폐 통기법에 의해 30% 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.9 mg 옥신토모듈린)(1); IV 주사에 의한 옥신토모듈린 단독(1 mg 옥신토모듈린)(2); 또는 공기 대조군(3)을 수용한 수컷 ZDF 래트에서의 누적 먹이 소비량을 도시한다.

도 10a는 공기 대조군과 비교하여 폐 통기에 의해 옥신토모듈린/FDKP 분말을 수용한 수컷 ZDF 래트에서의 평균 혈장 옥신토모듈린 농도를 도시한다. □는 공기 대조군 투여 후의 반응을 나타낸다. ○은 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.15 mg 옥신토모듈린)의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. △은 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.45 mg 옥신토모듈린)의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. ▽은 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.9 mg 옥신토모듈린)의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. 데이터는 평균 $\pm$ SD로 플롯되어 있다.

도 10b는 공기 대조군(4)과 비교하여 폐 통기에 의한 0.15 mg 옥신토모듈린(1); 0.45 mg 옥신토모듈린(2); 또는 0.9 mg 옥신토모듈린(3)을 포함하는 다양한 용량으로 30% 옥신토모듈린/FDKP 분말을 수용한 수컷 ZDF 래트에서의 누적 먹이 소비량을 도시하는 실험으로부터 얻은 데이터를 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SD로 플롯되어 있다. 별표(*)는 통계학적 유의성을 나타낸다.

도 11은 각종 시점에서 GLP-1을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제의 단일 용량 투여 후에 6명의 공복의 2형 당뇨병 환자로부터 얻은 포도당 수치를 도시한다.

도 12는 도 11의 6명의 공복의 2형 당뇨병 환자군에 대한 평균 포도당 수치를 도시하며, 여기서 포도당 수치는 6명의 모든 환자에 대한 0 시간(투약시)으로부터의 포도당 수치 변화로서 표시된다.

도 13은 디케토피페라진 또는 디케토피페라진의 염을 포함하는 제제 중의 엑센딘-4를 ZDF 래트에게 투여한 실험으로부터 얻은 데이터를 도시하는데, 여기서 엑센딘-4는 복강내 포도당 내성 시험(IPGTT)에서 다양한 투여 경로(액상 주입(LIS), SC, 폐 통기(INS))에 의해 제공되었다. 한 그룹에서는 폐 통기에 의해 GLP-1과 함께 엑센딘-4로 래트를 처리하였다.

도 14는 폐 통기로 공기 대조군, IV 주사로 단백질 YY(3-36)(PYY)만, 폐 주입으로 PYY만, 폐 통기로 10%

PYY/FDKP 분말(0.3 mg PYY); 폐 통기로 20% PYY/FDKP 분말(0.6 mg PYY)을 수용한 수컷 ZDF 래트에서 누적 먹이 소비량을 도시한다. 각 그룹에 대해 투약 30분 후, 투약 1 시간 후, 투약 2 시간 후, 및 투약 4 시간 후에 먹이 소비량을 측정하였다. 데이터는 평균 $\pm$ SD로 플롯되어 있다.

도 15는 용량 투여 후 각종 시점에서 정맥내 투여된 PYY에 대해 폐 통기에 의해 PYY/FDKP 분말을 투여한 암컷 ZDF 래트에서의 혈당 농도를 도시한다.

도 16은 정맥내 투여된 PYY와 비교하여 폐 통기에 의해 PYY/FDKP 분말을 수용한 암컷 ZDF의 PYY의 평균 혈장 농도를 도시한다. □는 PYY(0.6 mg)만 정맥내 투여한 후의 반응을 나타낸다. ○은 PYY(1 mg)만을 액상 주입한 후의 반응을 나타낸다. ▽은 20% PYY/FDKP 분말(0.6 mg PYY)의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. △은 10% PYY/FDKP 분말(0.3 mg PYY)의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. 좌측이 뾰족한 삼각형은 공기만의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. 데이터는 $\pm$ SD로 플롯되어 있다.

도 17은 피하 및 정맥내 투여와 비교하여 폐 흡입에 의해 투여되고 인슐린, 엑센딘, 옥신토모듈린 또는 PYY를 함유하는 본 발명의 제제의 상대적인 생체 효과 및 상대적 약물 노출을 도시한다.

도 18은 각종 흡입된 GLP-1 및 대조군 제제를 투여한 환자에서 평균 GLP-1 혈장 농도를 도시한다.

도 19는 각종 흡입된 GLP-1 및 대조군 제제를 투여한 환자에서 평균 혈장 인슐린 농도를 도시한다.

도 20은 각종 흡입된 GLP-1 및 대조군 제제를 투여한 환자에서 흡입된 GLP-1 제제에 반응한 위 배출을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

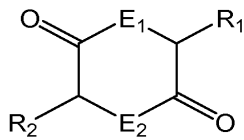
[0023] 용어의 정의

본 발명을 설명하기 전에, 이하 사용될 일부 용어를 이해하는 것이 도움이 될 것이다.

[0025] 활성제: 본 명세서에 사용된 바와 같은 "활성제"는 약물, 약학 물질 및 생물활성제를 의미한다. 활성제는 유기 거대분자, 예컨대 핵산, 합성 유기 화합물, 폴리펩티드, 펩티드, 단백질, 다당류 및 기타 당류, 지방산, 및 지질일 수 있다. 펩티드, 단백질 및 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 연결된 모든 아미노산 사슬이다. 펩티드는 일반적으로 30개 미만의 아미노산 잔기인 것으로 생각되지만, 더 많은 잔기를 포함할 수 있다. 단백질은 30개 이상의 아미노산 잔기를 포함할 수 있는 중합체이다. 당업계에서 공지되고 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 폴리펩티드는, 일반적으로 10개 이상의 아미노산을 포함할 수 있지만, 복수의 펩티드 결합을 포함하는 임의의 길이의 임의의 다른 아미노산 사슬, 펩티드 또는 단백질을 의미할 수 있다. 활성제는 혈관활성제, 신경활성제, 호르몬, 항응고제, 면역조절제, 세포독성제, 항생제, 항바이러스제, 항원 및 항체와 같은 각종 생물학적 활성 부류에 속할 수 있다. 더욱 구체적으로, 활성제는 비제한적인 방식으로 인슐린 및 그의 유사체, 성장 호르몬, 부갑상선(PTH), 그렐린(ghrelin), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1), 텍사스 레드(Texas Red), 알긴, 시클로스포린, 클로피도그렐 및 PPACK(D-페닐알라닐-L-프롤릴-L-아르기닌 클로로메틸 케톤), 항체 및 그의 단편, 예컨대 비제한적으로 인간화 또는 키메라 항체; F(ab), F(ab)₂, 또는 단독의 또는 다른 폴리펩티드에 융합된 단일쇄 항체; 사이토킨, 감염제, 염증성 조절제, 호르몬, 세포 표면 항원, 및 암 항원에 대한 치료 또는 진단 모노클로날 항체를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 용어 "약물" 및 "활성제"는 상호 교환적으로 사용된다.

[0026] 디케토피페라진: 본 명세서에서 사용된 바와 같이 "디케토피페라진" 또는 "DKP"는 하기 화학식 1(여기서, 1번 및 4번 위치의 고리 원자 E₁ 및 E₂가 O 또는 N이고 각각 3번 및 6번 위치에 위치한 측쇄 R₁ 및 R₂ 중 하나 이상이 카르복실산(카르복실레이트)기를 포함함)의 범위에 속하는 디케토피페라진 및 그의 염, 유도체, 유사체 및 변형예를 포함한다. 화학식 1에 따른 화합물은 디케토피페라진, 디케토모르폴린 및 디케토디옥산과 그의 치환 유사체를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0027] [화학식 1]



[0028]

[0029] 디케토피페라진은, 공기역학적으로 적절한 마이크로입자를 제조하는 것 외에, 순환계로의 흡수 속도를 증가시킴으로써 약물의 전달을 촉진할 수 있다. 디케토피페라진을, 약물을 도입한 입자 또는 약물이 흡착되는 입자로 형성할 수 있다. 디케토피페라진 및 약물의 조합은 약물 안정성을 개선시킬 수 있다. 각종 투여 경로에 의해 이들 입자를 투여할 수 있다. 건조 분말로서, 입자 크기에 따라서 이들 입자를 호흡계의 특정 부분으로 흡입에 의해 전달할 수 있다. 또한, 입자는 정맥내 현탁액 제형으로 도입하기에 충분히 작을 수 있다. 현탁액, 정제 또는 캡슐로 도입한 입자를 이용하여 경구 전달하는 것도 가능하다. 디케토피페라진은 연합된 약물의 흡수도 촉진할 수 있다.

[0030] 일 구체예에서, 디케토피페라진은 3,6-디(푸마릴-4-아미노부틸)-2,5-디케토피페라진(푸마릴 디케토피페라진, FDKP)이다. FDKP는 현탁액으로 투여되거나 또는 에어로졸화될 수 있는 산 형태 또는 염 형태의 마이크로입자를 포함할 수 있다.

[0031] 또 다른 구체예에서, DKP는 3,6-디(4-아미노부틸)-2,5- 디케토피페라진의 유도체로서, 아미노산 리신의 (염) 측합에 의해 형성될 수 있다. 예시적인 유도체는 3,6-디(숙시닐-4-아미노부틸)-, 3,6-디(말레일-4-아미노부틸)-, 3,6-디(글루타릴-4-아미노부틸)-, 3,6-디(말로닐-4-아미노부틸)-, 3,6-디(옥살릴-4-아미노부틸)-, 및 3,6-디(푸마릴-4-아미노부틸)-2,5-디케토피페라진을 포함한다. 약물 전달을 위한 DKP의 용도는 당업계에 공지되어 있다 (예컨대 미국 특허 5,352,461호, 5,503,852호, 6,071,497호, 및 6,331,318호 참고, 이들 각각은 디케토피페라진 및 디케토피페라진-의약 함유 약물 전달에 관한 교시를 위해 참고로 본 명세서에 포함됨). DKP 염의 용도는 디케토피페라진염에 관한 교시를 위해 참고로 본 명세서에 포함되고, 2005년 8월 23일에 제출된 공개류중인 미국 특허 출원 11/210,710호에 개시되어 있다. DKP 마이크로입자를 사용한 폐 약물 전달은 그 전문이 참고로 포함된 미국 특허 6,428,771호에 개시되어 있다. 또한, 결정질 DKP 입자 상의 활성제의 흡착에 관한 추가의 상세한 설명은 그 전문이 참고로 포함된 공개류중인 미국 특허 출원 11/532,063호 및 11/532,065호에서 확인할 수 있다.

[0032] 약물 전달계: 본 명세서에 사용된 바와 같은 "약물 전달계"는 하나 이상의 활성제를 전달하는 시스템을 의미한다.

[0033] 건조 분말: 본 명세서에 사용된 바와 같은 "건조 분말"은 추진체, 담체 또는 기타 액체 중에 현탁 또는 용해되지 않은 미립자 조성물을 의미한다. 이는 물 분자가 전혀 없다는 것을 꼭 의미하는 것은 아니다.

[0034] 초기(early phase): 본 명세서에 사용된 바와 같은 "초기"는 식사에 반응하여 유도되는 혈중 인슐린 농도의 급속한 상승을 의미한다. 식사에 반응하는 인슐린의 초기 상승은 때때로 제1기라고도 한다. 더욱 최근 자료에서는, 제1기는 식사 관련 반응과 구별하여 포도당 볼루스 IV 주사로 실현가능한 동적 프로파일의 혈중 인슐린 농도의 더욱 급격한 상승을 의미하는데 때로 사용된다.

[0035] 내분비 질환: 내분비계는 샘으로부터 호르몬을 방출하여 유기체의 여러 다양한 기능, 예컨대 심리상태, 성장 및 발육, 조직 기능 및 대사를 조절하는 특정 화학 메신저를 제공할뿐 아니라 메시지를 전송하고 이에 대해 작용하는 정보 신호계이다. 내분비계의 질병은 진성 당뇨병, 갑상선 질병 및 비만을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 내분비 질환은 호르몬 방출 조절장애(증식성 뇌하수체 선종), 신호에 대한 부적절한 반응(갑상선 기능 저하증), 샘의 파괴 또는 결함(진성 당뇨병 1형, 만성 신부전증에서의 적혈구형성 감소), 신호에 대한 반응성 감소(진성 당뇨병 2형의 인슐린 내성) 또는 목과 같은 주요 부위의 구조적 확대(중독성 다결절성 갑상선종)를 특징으로 한다. 내분비선의 기능저하는 가역성의 상실, 분비저하, 무발생증, 위축 또는 활성 파괴의 결과로 일어날 수 있다. 기능항진은 과다분비, 억제 상실, 과형성증 또는 신생물성 변화 또는 과다자극의 결과로 생길 수 있다. 용어 내분비 장애는 대사 장애를 포함한다.

[0036] 일탈(excursion): 본 명세서에 사용된 바와 같이, "일탈"은 식전 기준선 또는 다른 출발점보다 높거나 낮은 혈당 농도를 의미할 수 있다. 일탈은 일반적으로 시간에 대해 혈당을 플롯한 곡선의 곡선아래면적(AUC)으로 표시된다. AUC는 각종 방식으로 표현될 수 있다. 일부 예에서, 양의 부분과 음의 부분을 형성하는 기준선 아래의 하

강부 및 위의 상승부가 있다. 일부 계산은 양의 AUC로부터 음의 AUC를 제하지만, 다른 경우에는 절대값을 더한다. 양 및 음의 AUC는 별도로 고려될 수도 있다. 더욱 정교한 통계학적 평가를 또한 사용할 수 있다. 일부 경우에는, 정상 범위보다 높거나 낮은 범위의 혈당 농도를 의미할 수 있다. 정상 혈당 농도는 일반적으로 공복 개체에서 70~110 mg/dL, 식후 2시간 후에는 120 mg/dL 미만, 식후에는 180 mg/dL 미만이다. 본 명세서에 혈당과 관련하여 일탈을 개시하였지만, 다른 상황에서도 이 용어는 다른 분석물에 유사하게 적용할 수 있다.

- [0037] 포도당 제거율: 본 명세서에 사용된 바와 같이, "포도당 제거율"은 혈액으로부터 포도당이 없어지는 속도이다. 흔히 연구 기간 동안 약 120 mg/dL인 안정한 혈당을 유지하기 위해서 필요한 포도당 주입량으로 보통 결정된다. 포도당 제거율은 GIR로 약기되는 포도당 주입율과 같다.
- [0038] 고혈당증: 본 명세서에 사용된 바와 같이, "고혈당증"은 정상 공복 혈당 농도보다 높은 것이다. 일반적으로 126 mg/dL 이상이다. 일부 연구에서, 고혈당증 에피소드는 280 mg/dL(15.6 mM) 초과 혈당 농도로 정의된다.
- [0039] 저혈당증: 본 명세서에 사용된 바와 같이, "저혈당증"은 정상 혈당 농도보다 낮은 것이다. 일반적으로 63 mg/dL(3.5 mM)미만이다. 임상적으로 관련된 저혈당증은 혈당 농도가 63 mg/dL 미만이거나, 또는 저혈당증의 증상으로 인식되고 적절한 칼로리 섭취 후에 사라지는 긴장저하, 홍조(flush) 및 쇠약과 같은 환자 증상을 유발하는 것으로 정의된다. 심한 저혈당증은 글루카곤 주사, 포도당 주입이 필요하거나 또는 다른 사람의 도움을 받아야 하는 저혈당증 에피소드로서 정의된다.
- [0040] 즈음: 본 명세서에 사용된 바와 같이, 식사와 관련하여 사용되는 "즈음"은 식사 또는 간식의 섭취 개시 시점 근처의 기간을 의미한다.
- [0041] 마이크로입자: 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "마이크로입자"는 직경이 일반적으로 0.5~100 미크론, 특히 직경이 10 미크론 이하인 입자를 포함한다. 각종 구체에는 더욱 특이적인 크기 범위를 수반한다. 마이크로입자는 DKP 산의 pH 제어 침전으로 통상 제조되는 것과 같이 불규칙한 표면 및 내부 공극을 가지는 결정질 플레이트의 집합체일 수 있다. 그러한 구체예에서, 활성제는 마이크로입자의 결정질 표면 상에 코팅되거나 또는 침전 과정에 의해 포집될 수 있다. 마이크로입자는 전체에 활성제가 분산된 DKP 염으로 이루어진 붕괴 구형 셀 또는 구형 셀일 수 있다. 통상적으로, 상기 입자는 DKP와 활성제의 공용액을 분무건조하여 얻을 수 있다. 상기 입자의 DKP 염은 무정형일 수 있다. 상기 설명은 예시적인 것으로 이해해야 한다. 다른 형태의 마이크로입자를 고려할 수 있으며, 이 용어에 포함된다.
- [0042] 비만: 건강에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 정도로 과다한 체지방이 축적된 상태이다. 비만은 통상 BMI(체질량 지수)로 평가하며, BMI가 30 kg/m² 초과이면 비만이다.
- [0043] 말초 조직: 본 명세서에 사용된 바와 같이 "말초 조직"은 장기 또는 혈관과 관련된 임의의 결합 또는 간질 조직을 의미한다.
- [0044] 식사 주변기(periprandial): 본 명세서에서 사용된 바와 같은 "식사 주변기"는 식사 또는 간식 섭취 직전으로부터 직후까지의 기간을 의미한다.
- [0045] 식후: 본 명세서에서 사용된 바와 같은 "식후"는 식사 또는 간식 섭취 후의 기간을 의미한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 늦은 식후는 식사 또는 간식 섭취 후 3시간, 4시간 또는 그 이상의 기간을 의미한다.
- [0046] 강화 작용: 일반적으로, 강화 작용이란 일부 제제의 효능 또는 활성을, 그 제제가 도달했을 수준 이상으로 증가시키는 상태 또는 작용을 의미한다. 유사하게, 효과 또는 활성 증가를 직접적으로 의미할 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "강화 작용"은 특히, 혈중 인슐린 농도 증가가, 예를 들어 포도당 제거율을 높이기 위해 후속 인슐린 수준의 유효성을 증대시키는 능력을 의미한다.
- [0047] 식사(prandial): 본 명세서에서 사용된 식사는 식사(meal) 또는 간식을 의미한다.
- [0048] 식전: 본 명세서에서 사용된 "식전"은 식사 또는 간식 섭취 전의 기간을 의미한다.
- [0049] 폐 흡입: 본 명세서에 사용된 바와 같이, "폐 흡입"은 약학 제제가 폐에 도달하고, 특정 구체예에서 폐의 폐포 영역에 도달하도록 흡입에 의해 약학 제제를 투여하는 것을 의미하는데 사용된다. 통상적으로 흡입은 입을 통해 이루어지지만, 대안적인 구체예에서 코를 통한 흡입도 수반할 수 있다.
- [0050] 부작용 감소: 본 명세서에 사용된 바와 같이, 부작용과 관련하여 사용되는 용어 "감소"는 환자 또는 환자를 관리하는 보건 관리자에게 눈에 띄는 하나 이상의 부작용의 심각성이 감소되거나, 또는 부작용이 환자에서 더 이

상 악화되지 않거나 또는 더 이상 눈에 띄지 않게 하나 이상의 부작용이 개선되는 것을 말한다.

- [0051] 부작용(side effect): 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "부작용"은 활성제 요법으로 인해 발생하는 의도되지 않은 바람직하지 않은 결과를 말한다. 비제한적인 예로서, GLP-1의 일반적인 부작용은 오심, 구토 및 심한 오한을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 치료 유효량: 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 조성물의 "치료 유효량"은 인간 또는 인간 이외의 환자에게 투여되는 경우 증상의 개선과 같은 치료 이점을 제공하는 양, 예컨대 내인성 인슐린의 분비를 자극하는데 효과적인 양이다. 어떤 환경에서는, 장애를 앓고 있는 환자는 영향받은 증상이 나타나지 않을 수 있다. 따라서, 조성물의 치료 유효량은 또한 질병의 증상의 개시를 방지하기에 충분한 양이다.
- [0053] **상세한 설명**
- [0054] 각종 투여 경로로 2형 진성 당뇨병과 관련된 고혈당증 치료로서 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1)을 연구하였다. 문헌에 개시된 바와 같은 GLP-1은, 지방, 탄수화물 및 단백질을 섭취하면 이에 반응하여 장의 내분비 L-세포에서 방출하는 30 또는 31 아미노산 인크레틴 호르몬이다. GLP-1은 프로글루카곤의 단백질분해 절단의 결과로서 생성되며, 활성 형태는 GLP-1(7-36) 아미드로 확인된다. 이 펩티드 호르몬의 분비가 2형 진성 당뇨병 개체에서 손상된 것으로 밝혀졌으며, 상기 펩티드 호르몬은 상기 및 기타 관련 질병의 잠재적 치료를 위한 1차 후보이다.
- [0055] 비질병 상태에서, GLP-1은 경구 섭취된 영양소, 특히 당에 반응하여 장의 L-세포로부터 분비된다. GLP-1은 체장으로부터의 식사 유도 인슐린 방출의 자극을 포함하여 위장관(GI) 및 뇌에 영향을 미친다. 체장의 GLP-1 효과는 포도당 의존성이기 때문에, 호르몬이 외생적으로 투여되는 경우 GLP-1 유도된 저혈당증의 위험이 최소가 된다. 또한, GLP-1은 인슐린 생합성의 모든 단계를 촉진하고 β -세포 성장, 생존 및 분화를 직접 자극한다. 이들 효과의 조합은 β -세포량을 증가시킨다. 또한, GLP-1 수용체 신호전달은 β -세포 아포토시스 감소를 유도하고, 또한 β -세포량 증가에 기여한다.
- [0056] 위장관에서, 문헌에 보고된 바와 같은 GLP-1은 운동을 억제하고, 포도당에 반응하여 인슐린 분비를 증가시키며, 글루카곤 분비를 감소시킨다. 이들 효과가 조합되면 식후 포도당 일탈이 감소된다. 중추계 투여(뇌실내, 즉 icv)에 의해 GLP-1을 제공하는 설치류에서의 실험 결과 GLP-1이 먹이 섭취를 억제하는 것으로 나타났는데, 이는 지엽적으로 방출된 GLP-1이 전신 순환으로 들어가서 뇌에서 그 효과를 나타낼 수 있다는 것을 제시한다. 이러한 효과는 순환 GLP-1이 뇌의 활발 기관 및 최하 구역에서 GLP-1 수용체에 접근한 결과일 수 있다. 뇌의 이들 영역은 에너지 항상성 및 식욕 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다. 흥미롭게도, 위 팽창은 고립로의 꼬리핵에서 GLP-1 함유 뉴런을 활성화시키는데, 이로서 중추 발현된 GLP-1의 식욕 억제제로서의 역할이 예측된다. 이들 가설은, 반대 효과가 관찰되는 GLP-1 수용체 길항제 엑센딘(9-39)을 사용한 연구에 의해 뒷받침된다. 인간에서, 투여된 GLP-1은 포만감 효과를 가지며, 6주 요법으로 연속 피하 주입하는 경우, 당뇨병 환자는 식욕 감소를 나타내어 체중이 유의적으로 줄어든다.
- [0057] 또한, GLP-1은 2형 당뇨병 환자에게 연속 정맥내 주입으로 제공된 경우 인슐린 분비를 증가시키고 공복 및 식후 혈당을 모두 표준화하는 것으로 확인되었다. 또한, GLP-1 주입은, 비인슐린 경구 의약으로 이전에 치료한 환자와 설폰닐우레아 요법이 실패한 후에 인슐린 요법을 필요로 하는 환자에서 포도당 수준을 더 낮추는 것으로 확인되었다. 그러나, 본 기술 분야에 알려져 있고 하기 본 명세서에 개시되는 바와 같이, GLP-1의 1회 피하 주사 효과는 기대에 미치지 못하는 결과를 나타내었다. 면역반응성 GLP-1의 고 혈장 농도가 얻어지기는 했지만, 인슐린 분비가 빠르게 치료전 값으로 되돌려지고, 혈당 농도는 표준화되지 않는다. 정맥 투여시 관찰되는 것과 유사한 공복 혈당 농도를 얻기 위해 반복 피하 투여가 필요하였다. 6주간의 GLP-1의 연속 피하 투여는 공복 및 식후 혈당 농도를 낮추고 HbA1c를 낮추는 것으로 확인되었다. GLP-1의 1회 피하 주사의 일시적인 효과는 순환 불안정성과 관련이 있다. GLP-1은 디펩티딜 펩티다제-IV(DPP-IV)에 의해 시험관 내에서 혈장에서 대사된다. GLP-1은 N-말단으로부터의 아미노산 7 및 8의 제거에 의해 DPP-IV에 의해 빠르게 분해된다. 분해 산물인 GLP-1(9-36) 아미드는 활성이 아니다. DPP-4는 혈관 내에서 순환하며, 위장관 및 신장의 혈관계에 막 결합되고, 폐의 림프구 상에서 동정되었다.
- [0058] 2형 진성 당뇨병과 관련된 고혈당증 치료제로서 GLP-1 및 GLP-1 유사체의 유용성이 20년간 연구되어 왔다. 임상적으로, GLP-1은 혈당, 식후 포도당 일탈 및 식품 섭취를 감소시킨다. 또한, 이것은 포만감을 증가시킨다. 이들 작용은 함께 체중 감소를 촉진할 가능성을 가지는 항당뇨병 치료제의 고유하고 매우 바람직한 프로파일을 정한다. 이들 장점에도 불구하고, GLP-1은 주사로 투여되어야 하기 때문에 당뇨병 치료제로서의 GLP-1의 유용성이 저해되고, 효소 디펩티딜 펩티다제(DPP)-IV에 의해 빠르게 불활성화되기 때문에 GLP-1은 순환 반감기가 매우 짧

다. 따라서, GLP-1의 치료학적 유효 농도를 실현하기 위해서, 더 높은 GLP-1 용량이 필요하다. 그러나, 광범위한 문헌 평가에 기초하면, 활성 GLP-1 농도가 혈액의 혈장 중 100 pmol/L를 초과하는 경우에는 심한 발한, 오심 및 구토를 비롯한 부작용/유해 효과의 조합이 통상적으로 관찰된다.

[0059] 제한 반감기의 GLP-1의 문제를 해결하기 위해서, 몇몇 지속형 GLP-1 유사체가 개발되거나, 현재 개발중이다. 본 해에 내성이 있는 리라글루티드(liraglutide(덴마크 코펜하겐의 Novo Nordisk), 엑세나티드(엑센딘-4; Byetta[®])(미국 캘리포니아주 샌디에고의 Amylin Inc.), 및 엑세나티드-LAR(미국 인디애나주 인디애나폴리스 Eli Lilly)를 포함하는 지속형 GLP-1 유사체를 "인크레틴 모방체"라고 하며, 임상 시험에서 연구되고 있다. 엑세나티드는 2형 당뇨병 치료용으로 승인되었다. 이들 생성물은 피하 투여용 제제이고, 이들 제제는 말초 조직, 혈관 조직 및/또는 간에서 분해되기 때문에 상당한 제약을 가지는 것으로 확인되었다. 예를 들어, GLP-1과 약 50%의 아미노산 상동성을 가지는 화합물인 엑세나티드(Byetta[®], Amylin Pharmaceuticals)는 GLP-1보다 순환 반감기가 더 길다. 이 제품은 2형 진성 당뇨병과 관련된 고혈당증 치료용으로 식품의약품에 의해 승인되었다. 엑세나티드의 순환 반감기가 GLP-1보다 길지만, 환자가 매일 2회 약물을 주사해야 한다. 또한, 엑세나티드 요법은 상당한 오심 발병률을 포함하는 좋지 않은 부작용 프로파일로 또한 곤란하다. 또한, 지속형 치료법은 환자에게 편리성을 제공하고 순응성을 높일 수 있지만, 주사로 투여되는 지속형 GLP-1 유사체에 대한 약동학 프로파일은 내인성 분비 호르몬과 근본적으로 다르다. 이 요법은 효과적일 수 있지만, 정상 생리와 흡사하지 않다.

[0060] 피하 주사로 투여되는 지속형 GLP-1 유사체를 사용한 당뇨병 및/또는 고혈당증 치료에 대한 현재의 방법/진보는 당뇨병을 위한 허용가능한 치료법을 제공할 수 있지만, 이러한 치료법은 신체의 자연 생리와 흡사하지 않다. 예를 들어, 건강한 개체에서, 내인성 GLP-1은 식사후에만 분비되고 필요에 따라서 단지 짧게 급등한다. 대조적으로, 지속형 GLP-1 유사체는 식후기를 초과하는 기간 동안 약물에 노출시킨다. 따라서, 이상적인 GLP-1 요법은 약물이 식사 시간에 투여되고 노출은 식후 기간에 한정되는 것이다. 약물의 폐 투여 경로는 그러한 치료 잠재력을 제공하지만, 우리가 아는 한, 폐의 DPP-IV의 존재로 인해 이전에는 연구된 바 없다.

[0061] GLP-1의 순환 반감기를 연장시키는 대안적인 방법은, DPP-IV가 GLP-1 대사에 관여하는 효소이기 때문에, DPP-IV 억제제의 개발을 포함한다. DPP-IV 억제는 내인성 GLP-1의 반감기를 증가시키는 것으로 확인되었다. 디펩티딜 펩티다제 IV 억제제는 노바티스(스위스 바젤 소재)가 개발한 빌다글립틴(vildagliptin)(Galvus[®]) 및 머크(미국 뉴저지주 화이트하우스 스테이션 소재)가 개발한 Januvia[®](시타글립틴(sitagliptin))을 포함한다.

[0062] 건강한 개체와 대조적으로, 고혈당증 및 2형 당뇨병을 가지는 환자를 치료하는 현행 방법은 식후기를 초과하는 기간 동안 약물에 노출시키는 지속형 GLP-1 유사체와 DPP-IV 억제제를 사용한다. 따라서, 현행 방법은 환자의 삶의 질에 영향을 주는, 심한 발한, 오심 및 구토와 같은 유해하거나 또는 부정적인 부작용이 없지 않다. 따라서, 본 발명자들은 원하지 않는 부작용을 피하면서 진신 노출을 줄이고 약물에 대한 약력학 반응은 증가시키는 약물 전달계를 이용하여 질병을 치료하는 새로운 방법을 제공할 필요성을 확인하였다. 또한, 본 발명자들은 비침입적 방법을 이용하여 동맥 순환으로 직접 약물을 전달할 필요성을 확인하였다.

[0063] 본 명세서의 구체예에서, 당뇨병, 고혈당증 및 비만과 같은 내분비 질환을 비롯한 질병의 치료 방법이 개시된다. 본 발명자들은 정맥계를 통해 돌아오기 전에 표적 장기(들)에 약물이 도달하도록 비침입적 방식으로 진신 순환, 특히 동맥 순환으로 직접 약물을 전달해야 할 필요성을 확인하였다. 이 방법은 역설적으로 정맥내, 피하 또는 다른 비경구 경로를 통한 유사한 투여로부터 생기는 활성제에의 표적 장기 노출보다 더 높은 피크의 표적 장기 노출을 초래할 수 있다. 소화관에서의 분해를 방지하는 제제를 이용하더라도 흡수시 활성제가 정맥 순환으로 들어가기 때문에 경구 투여에 비해서도 유사한 장점을 얻을 수 있다.

[0064] 일 구체예에서, 경구, 정맥내, 경피 및 피하 투여와 같은 다른 투여 경로에 의해 만나는 말초 또는 혈관 정맥 조직에서, 국소 분해 효소와의 직접 접촉시 또는 다른 분해 기전, 예컨대 산화, 인산화 또는 단백질 또는 펩티드의 임의의 변형에 의해 신속하게 대사 및/또는 분해되는 임의의 종류의 활성제를 포함하는 약물 전달계를 사용할 수 있다. 이 구체예에서, 상기 방법은 그 활성이 경구, 피하 또는 정맥내 투여에 의해 대사 또는 분해되는 활성제를 확인 및 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 불안정성으로 인하여 GLP-1의 피하 주사는 혈액에서 GLP-1의 유효 수준을 초래하지 못한다. 이는 상기 투여 방식에 의해 효과적으로 전달할 수 있는 인슐린과 같은 펩티드와는 대조적이다.

[0065] 일부 구체예에서, 질병 또는 장애의 치료 방법은 흡입에 적당한 담체를 선택하고 폐의 폐포에 활성 물질을 전달하는 단계를 포함한다. 이 구체예에서, 담체는 하나 이상의 활성제와 연합하여 약물/담체 복합체를 형성할 수

있으며, 이를 폐의 말초 및 혈관 정맥 조직에서 활성제가 신속하게 분해되지 않는 조성물로서 투여할 수 있다. 일 구체예에서, 담체는 디케토피페라진이다.

[0066] 본 명세서에 개시된 방법을 이용하여 생물학적 제제를 비롯한 여러 유형의 활성제를 전달할 수 있다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 펩티드 호르몬을 비롯한 활성제의 치료량을 빠르게 동맥 순환으로 효과적으로 전달하는 약물 전달계를 이용한다. 일 구체예에서, 하나 이상의 제제는 분해 또는 탈활성화에 민감한 펩티드, 예컨대 글루카곤 유사 펩티드 1(GLP-1), 단백질, 리포카인, 소형 분자 약제, 핵산 등을 포함하나, 이에 한정되지 않으며; 활성제를 디케토피페라진 포함 건조 분말 조성물로 제제화하여 카트리지 및 건조 분말 흡입기를 사용한 폐 흡입에 의해 전신 순환으로 활성제(들)를 전달하는 것을 포함한다. 일 구체예에서, 상기 방법은 예컨대 진피 및 폐의 국소 혈관 또는 말초 조직에서 효소에 민감한 펩티드를 선택하는 것을 포함한다. 본 발명은 활성제가 말초 조직, 정맥과 접촉하거나 간 대사/분해되는 것을 피하거나 감소시킨다. 또 다른 구체예에서, 전신 전달의 경우, 활성제는 폐에서 특정 수용체를 가지지 않아야 한다.

[0067] 대안적인 구체예에서, 장애 또는 질병을 치료하기 위해 천연, 재조합 또는 합성 기원의 치료 펩티드 또는 단백질, 비제한적인 예로서 아디포넥틴, 콜레시스토키닌(CCK), 세크레틴, 가스트린, 글루카곤, 모틸린, 소마토스타틴, 뇌 나트륨이노 펩티드(BNP), 심방 나트륨이노 펩티드(ANP), 부갑상선 호르몬, 부갑상선 호르몬 관련 펩티드(PTHrP), IGF-1, 성장 호르몬 방출 인자(GHRF), 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 항-IL-8 항체, IL-8 길항제, 예컨대 ABX-IL-8; 인테그린 베타-4 전구체(ITB4) 수용체 길항제, 엔케팔린, 노시셉틴, 노시스타틴, 오르파닌 FQ2, 칼시토닌, CGRP, 안지오텐신, 물질 P, 뉴로키닌 A, 판크레아틱 폴리펩티드, 뉴로펩티드 Y, 델타 수면 유도 펩티드, 프로스타글란딘, 예컨대 PG-12, LTB 수용체 차단제, 예컨대 LY29311, BIIL284, CP105696; 혈관활성 장 펩티드; 트립탄, 예컨대 수마트립탄 및 리포킨, 예컨대 C16:1n7 또는 팔미톨레이트를 전달하는데 상기 약물 전달계를 또한 이용할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 활성제는 소형 분자 약물이다.

[0068] 일 구체예에서, 치료 방법은 예를 들어 글루카곤 유사 펩티드(GLP-1), 옥신토모둘린(OXN), 또는 펩티드 YY(3-36)(PYY)를 단독으로 또는 상호 조합하여, 또는 하나 이상의 활성제와 함께 포함하는 제제를 이용한 당뇨병, 고혈당증 및/또는 비만의 치료에 대한 것이다.

[0069] 예시적인 구체예에서, 비만, 당뇨병 및/또는 고혈당증의 치료 방법은 심한 발한, 오심 및 구토와 같은 원하지 않는 부작용을 유발하지 않고 체장 β -세포로부터 내인성 인슐린의 신속한 분비를 자극하는 GLP-1을 포함하는 건조 분말 조성물 또는 제제를 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일 구체예에서, 상기 질병 치료 방법은, 1회 용량으로 제제 중 GLP-1 약 0.02~약 3 mg 범위의 용량으로 비만, 2형 진성 당뇨병 및/또는 고혈당증을 앓고 있는 포유동물을 비롯한 환자에게 적용할 수 있다. 고혈당증, 당뇨병 및/또는 비만의 치료 방법은, 환자가 식사 또는 간식 즈음에 GLP-1 제제의 1회 이상의 용량을 수용할 수 있도록 고안할 수 있다. 이 구체예에서, 환자의 요구에 따라서 GLP-1의 용량을 선택할 수 있다. 일 구체예에서, GLP-1의 폐 투여는 2형 당뇨병을 치료하는데 있어서, 예를 들어 3 mg 이상의 GLP-1 용량을 포함할 수 있다.

[0070] 본 발명의 구체예에서, 폐 투여와 같은 흡입에 의해 GLP-1 제제를 투여한다. 이 구체예에서, 흡입용 건조 분말 제제 중에 GLP-1을 제공하여 폐 투여할 수 있다. 건조 분말 제제는 안정한 조성물이며, 흡입에 적당하고 폐에서 신속하게 용해되고 GLP-1을 폐 순환으로 빠르게 전달하는 마이크로입자를 포함할 수 있다. 폐 투여를 위한 적당한 입자 크기는 직경이 10 μm 미만, 바람직하게는 5 μm 미만일 수 있다. 폐의 폐포에 도달할 수 있는 예시적인 입자 크기는 직경이 약 0.5 μm ~약 5.8 μm 이다. 상기 크기는 특히 공기역학적 직경을 말하지만, 실제 물리적 직경에 해당하는 경우도 흔하다. 그러한 입자는 폐의 모세관에 도달할 수 있으며, 폐의 말초 조직과 집중적으로 접촉되는 것을 피할 수 있다. 이 구체예에서, 체내 표적 또는 작용 부위에 도달하기 전에 효소 또는 다른 기전에 의해 활성 성분이 분해되는 것을 방지하고 신속하게 동맥 순환으로 약물을 전달할 수 있다. 일 구체예에서, GLP-1 및 FDKP를 포함하는 폐 흡입을 위한 건조 분말 조성물은 마이크로입자를 포함할 수 있으며, 상기 마이크로입자의 약 35~약 75%는 공기역학적 직경이 5.8 μm 미만이다.

[0071] 일 구체예에서, 본 방법과 함께 사용하기 위한 건조 분말 제제는 GLP-1 분자 및 디케토피페라진 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 입자를 포함한다. 이 구체예 및 다른 구체예에서, 본 발명의 건조 분말 조성물은 천연 GLP-1, GLP-1 대사물질, 지속형 GLP-1, GLP-1 유도체, GLP-1 모방체, 엑센딘 또는 이의 유사체로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 GLP-1 분자를 포함한다. GLP-1 유사체는 GLP-1 융합 단백질, 예컨대 GLP-1에 결합된 알부민을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0072] 예시적인 구체예에서, 상기 방법은 고혈당증 및/또는 당뇨와 비만의 치료를 위해 환자에게 펩티드 호르몬 GLP-1을 투여하는 것을 포함한다. 상기 방법은 심한 발한, 오심 및 구토를 비롯하여 원하지 않는 부작용을 유발하지

않으면서 췌장 β -세포로부터 내인성 인슐린의 신속한 분비를 자극하는 GLP-1을 포함하는 건조 분말 제제를 포함하는 흡입성 조성물 또는 조제물의 유효량을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일 구체예에서, 상기 질병 치료 방법을 2형 진성 당뇨병 및/또는 고혈당증을 앓는 포유 동물을 비롯한 환자에게 건조 분말 제제 중 GLP-1 약 0.01~약 3 mg, 또는 약 0.2~약 2 mg 범위의 용량으로 적용할 수 있다. 일 구체예에서, 치료할 환자 또는 피험체는 인간이다. 식사 직전(식전), 식사시간(식사시), 및/또는 식사 후(식후) 약 15분, 30분 또는 45분에 GLP-1을 투여할 수 있다. 일 구체예에서, 1회 용량의 GLP-1을 식사 직전에 투여하고, 다른 용량을 식사 후에 투여할 수 있다. 특정 구체예에서, 식사 직전에 GLP-1 약 0.5~약 1.5 mg을 투여한 후 식사 30분 후에 0.5 mg~약 1.5 mg을 투여할 수 있다. 이 구체예에서, 약학적 담체 및 부형제의 존재 또는 부재 하에 디케토피페라진과 같은 흡입 입자와 GLP-1을 함께 제제화할 수 있다. 일 구체예에서, GLP-1 제제를 폐내 투여하면 환자에게 심한 발한, 오심 및 구토와 같은 원하지 않는 부작용을 유도하지 않고 GLP-1 100 pmol/l 이 상의 혈장 농도를 얻을 수 있다.

[0073] 또 다른 구체예에서, 2형 당뇨병 및 고혈당증을 나타내는 인간을 포함하는 환자를 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 FDKP 마이크로입자 약 0.5~약 3 mg의 농도로 GLP-1을 포함하는 흡입성 GLP-1 제제를 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 환자에게 오심 또는 구토를 유발하지 않고 상기 환자의 혈당 수준을 투약한지 약 20분 내에 공복시 혈장 포도당 농도 85~70 mg/dL로 감소시킨다. 일 구체예에서, FDKP 마이크로입자를 포함하는 제제 중 0.5 mg 이상의 농도로 GLP-1을 폐 투여하면 위 배출 억제제가 없다.

[0074] 일 구체예에서, 조성물 중의 활성 성분으로서 단독으로, 또는 시타글립틴 또는 빌다글립틴과 같은 디펩티딜 펩티다제(DPP-IV) 억제제, 또는 하나 이상의 다른 활성제와 함께 GLP-1을 투여할 수 있다. DPP-IV는 프롤린 또는 알라닌 뒤에서 펩티다제 활성을 나타내어, X-프롤린 또는 X-알라닌 후에 N-말단 영역에서 분해를 통해 생물학적 비활성 펩티드를 형성하는 편재 발현되는 세린 프로테아제로서, 상기 X는 임의의 아미노산을 의미한다. GLP-1 및 GIP(포도당 의존성 인슐린유발 펩티드)는 모두 2번 위치에서 알라닌 잔기를 가지기 때문에, DPP-IV에 대한 기질이다. DPP-IV 억제제는 인크레틴 호르몬이 급속하게 분해되는 것을 방지하여 혈당 조절을 향상시켜, 생물학적으로 활성인 온전한 GLP-1 및 GIP의 수준을 식후 증가시키는 경구 투여되는 약물이다.

[0075] 이 구체예에서, GLP-1 작용은 DPP-IV 억제제를 사용하여 필요에 따라 생체 내에서 추가로 연장 또는 증대시킬 수 있다. 고혈당증 및/또는 당뇨병의 치료를 위한 GLP-1과 DPP-IV 억제제의 병용 요법으로 환자의 β -세포로부터 적절한 인슐린 반응을 유도하는데 필요할 수 있는 활성 GLP-1의 양을 감소시킬 수 있다. 또 다른 구체예에서, 예를 들어 메트포르민과 같은 펩티드 이외의 다른 분자와 함께 GLP-1을 병용할 수 있다. 일 구체예에서, DPP-IV 억제제 또는 다른 분자, 예컨대 메트포르민은 공제제 형태로 GLP-1과 함께 건조 분말 제제로, 또는 GLP-1 투여와 동시에 또는 그 전에 투여할 수 있는 별도의 건조 분말 제제로 흡입에 의해 투여될 수 있다. 일 구체예에서, DPP-IV 억제제 또는 다른 분자, 예컨대 메트포르민을, 경구 경로를 포함하는 다른 투여 경로로 투여할 수 있다. 일 구체예에서, 환자의 요구에 따라서 약 1~약 100 mg 범위의 용량으로 환자에게 DPP-IV 억제제를 투여할 수 있다. GLP-1과 함께 제형화되거나 또는 동시 투여되는 경우, 더 낮은 농도의 DPP-IV 억제제를 사용할 수 있다. 이 구체예에서, GLP-1 치료 효능은 현재 제형과 비교하여 감소된 용량 범위에서 향상될 수 있다.

[0076] 본 명세서에 개시된 구체예에서, 식사 시간(식사 또는 간식 시간 즈음)에 GLP-1을 투여할 수 있다. 이 구체예에서, GLP-1 노출은, 현 요법의 지속 효과를 유발하지 않도록 식후 기간에 한정될 수 있다. DPP-IV 억제제가 동시 투여되는 구체예에서, 식사 시간에 GLP-1 투여 전에 DPP-IV 억제제를 환자에게 제공할 수 있다. 투여하고자 하는 DPP-IV 억제제의 양은 선택된 투여 경로에 따라서, 예컨대 약 0.10~약 100 mg 범위일 수 있다. 추가의 구체예에서, GLP-1의 1회 이상의 용량을 식사 또는 간식 시간 즈음에 투여되는 용량과 함께 또는 그 대신에 식사 시작 후에 투여할 수 있다. 예를 들어, 식사 시작 후 15~120분, 예컨대 30, 45, 60, 또는 90 분에 1회 이상의 용량을 투여할 수 있다.

[0077] 일 구체예에서, 포유동물과 같은 동물의 먹이 소비를 조절 또는 감소시켜 비만을 치료하는 방법에 본 약물 전달계를 이용할 수 있다. 이 구체예에서, 비만의 치료가 필요하거나 또는 비만으로 고생하는 환자에게, 당업계에 공지된 추가의 식욕 억제제를 포함하거나 또는 포함하지 않는, GLP-1, 엑센딘, 옥신토모들린, 펩티드 YY(3-36), 또는 이의 조합, 또는 이의 유사체를 포함하는 흡입성 조성물 또는 제제의 치료 유효량을 투여한다. 이 구체예에서, 상기 방법은 식품 소비를 줄이고, 환자의 식품 섭취를 억제하고, 식욕을 감소 또는 억제하고, 및/또는 체중을 조절하는 것을 목표로 한다.

[0078] 일 구체예에서, 흡입성 제제는 상기 활성 성분과 디케토피페라진, 예컨대 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피

페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴, 말레일, 및 푸마릴로 이루어진 군에서 선택됨) 또는 디케토피페라진의 염을 포함하는 건조 분말 제제를 포함한다. 이 구체예에서, 흡입성 제제는 상기 공기역학적 특성을 가지는 활성 성분을 포함하는 흡입용 마이크로입자를 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 당업자가 활성 성분의 양을 측정할 수 있지만, 본 발명의 마이크로입자에는 환자가 필요한 대로의 다양한 양의 활성 성분을 적절할 수 있다. 예를 들어, 옥신토모돌린의 경우, 마이크로입자는 제제의 활성 성분 약 1%(w/w)~약 75%(w/w)를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 흡입성 제제는 약학 조성물 약 10%(w/w)~약 30%(w/w)를 포함할 수 있으며, 폴리소르베이트 80과 같은 계면활성제 등의 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 또한 포함할 수 있다. 이 구체예에서, 제제의 약 0.05 mg 내지 약 5 mg 범위의 용량으로 1일 1회 내지 약 4회 또는 환자가 필요한 대로 환자에게 옥신토모돌린을 투여할 수 있다. 특히, 피험체에게 투여할 용량은 옥신토모돌린 약 0.1~약 3.0 mg 범위일 수 있다. 일 구체예에서, 흡입성 제제는 제제 중 옥신토모돌린 약 50 pmol~약 700 pmol을 포함할 수 있다.

[0079] PYY가 활성 성분으로서 사용된 본 명세서에 개시된 구체예들에서, 용량당 약 0.10~약 3.0 mg의 PYY를 포함하는 폐 흡입을 위한 건조 분말 제제를 제조할 수 있다. 특정 구체예들에서, 제제는 제제 중 펩티드 약 1~약 75%(w/w) 범위의 양으로 PYY를 포함하는 건조 분말을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 제제 중 PYY의 양은 5%, 10%, 15%, 또는 20% (w/w)일 수 있으며, 추가로 디케토피페라진을 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 디케토피페라진, 예컨대 FDKP 또는 이의 염, 예컨대 나트륨 염을 포함하는 제제로서 PYY를 투여한다. 일부 구체예에서, 투여 후 PYY의 혈장 농도가 약 4 pmol/L~약 100 pmol/L 또는 약 10 pmol/L~약 50 pmol/L가 되도록 하는 제형으로 PYY를 피험체에게 투여할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 예를 들어 제제 중 약 0.01 mg~약 30 mg, 또는 약 5 mg~약 25 mg 범위의 양으로 PYY 양을 투여할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서 중에 참고로 포함된 문헌[Savage et al. Gut 1987 Feb;28(2):166-70]에 개시된 바와 같이, PYY의 다른 양을 결정할 수 있다. PYY 및/또는 유사체, 또는 옥신토모돌린 및/또는 유사체 제제를 식전, 식사시, 식사 주변 또는 식후에 피험체에게 투여하거나, 또는 환자의 생리적 상태에 따라서 필요한 대로 투여할 수 있다.

[0080] 일 구체예에서, 활성 성분을 포함하는 제제를, 예를 들어 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 7,305,986호 및 미국 특허 출원 번호 10/655,153호(US 2004/0182387호)에 개시된 흡입기와 같은 건조 분말 흡입기를 사용하여 흡입에 의해 건조 분말 제제 형태로 환자에게 투여할 수 있다. 활성 성분을 포함하는 건조 분말 제제의 반복 흡입을, 식사와 식사 사이에 필요에 따라서 매일 투여할 수도 있다. 일부 구체예에서, 제제는 1일 1회, 2회, 3회 또는 4회 투여할 수 있다.

[0081] 또 다른 구체예에서, 고혈당증 및/또는 당뇨병의 치료 방법은 화학식 2,5-디케토-3,6-디(4-X-아미노부틸)피페라진(여기서, X는 숙시닐, 글루타릴, 말레일, 및 푸마릴로 이루어진 군에서 선택됨)을 가지는 디케토피페라진을 포함하는 흡입성 건조 분말 조성물의 투여를 포함한다. 이 구체예에서, 건조 분말 조성물은 디케토피페라진염을 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 디케토피페라진이 2,5-디케토-3,6-디-(4-푸마릴-아미노부틸)피페라진이고 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하거나 또는 포함하지 않는 건조 분말 조성물이 제공된다.

[0082] 특정 구체예에서, 치료 방법은 GLP-1 분자(여기서 GLP-1 분자는 천연 GLP-1 분자임) 또는 아미드화된 GLP-1 분자(여기서, 아미드화된 GLP-1 분자는 GLP-1(7-36) 아미드임), 또는 이의 조합을 포함하는 흡입성 건조 분말 제제를 포함할 수 있다. 일 구체예에서, GLP-1은 엑세나티드와 같은 유사체일 수 있다.

[0083] 일 구체예에서, 환자에게 일정 투약 범위로 흡입성 GLP-1 제제를 투여하며, 이 때 GLP-1의 양은 제제 약 0.01 mg~약 3 mg, 또는 약 0.02 mg~약 2.5 mg, 또는 약 0.2 mg~약 2 mg이다. 일 구체예에서, 2형 당뇨병 환자에게 3 mg 이상으로 GLP-1 용량을 제공할 수 있다. 이 구체예에서, GLP-1을 디케토피페라진과 같은 흡입 입자와 함께 약학적 담체 및 부형제의 존재 또는 부재 하에 제제화할 수 있다. 일 구체예에서, GLP-1 제제의 폐 투여는 환자에게 심한 발한, 오심 및 구토와 같은 원하지 않는 부작용을 유도하지 않고 100 pmol/L 이상의 GLP-1 혈장 농도를 제공할 수 있다.

[0084] 또 다른 구체예에서, 고혈당증 및/또는 당뇨병, 예컨대 2형 진성 당뇨병의 치료를 위해 소정의 식사 시간에 병용 요법으로서 GLP-1을 인슐린과 함께 투여할 수 있다. 이 구체예에서, GLP-1 및 인슐린을 건조 분말 제제로 동시투여하거나, 또는 각 제제로 환자에게 별도 투여할 수 있다. 일 구체예에서, GLP-1과 인슐린이 동시투여되는 경우, 양 활성 성분을 함께 제제화할 수 있는데, 예를 들면 상기 디케토피페라진 입자를 사용하여 흡입용 건조 분말 제제로서 GLP-1과 인슐린을 조제할 수 있다. 대안적으로, GLP-1과 인슐린을 별도로 제제화할 수 있으며, 이 때 각 제제는 흡입용이고, 디케토피페라진 입자를 포함한다. 일 구체예에서, GLP-1과 인슐린 제제를, 투여 전에 적당한 투약량이 되도록 각 분말 형태로 함께 혼합할 수 있다. 이 구체예에서, 인슐린은 단기, 중기 또는 장기 작용 인슐린일 수 있으며, 식사 시간 중에 투여될 수 있다.

- [0085] GLP-1과 인슐린의 동시 투여를 이용한 2형 당뇨병의 치료를 위한 일 구체예에 있어서, GLP-1의 흡입성 제제를 인슐린/FDKP와 같은 흡입성 인슐린 제제와 동시에 또는 순차적으로, 식사 시간에 환자에게 투여할 수 있다. 이 구체예에서, 2형 당뇨병에서 GLP-1은 환자 체장으로부터의 인슐린 분비를 자극할 수 있으며, 이는 (예컨대 β -세포 성장을 촉진하여) β -세포 기능을 보존하여 질병 진행을 지연시킬 수 있는 반면, 식사 시간 중에 투여된 인슐린은 식사에 대한 신체의 정상 반응을 모방하는 인슐린 대체물로서 사용될 수 있다. 병용 요법의 특정 구체예에서, 다른 투여 경로로 인슐린 제제를 투여할 수 있다. 이 구체예에서, 병용 요법은 정상 혈당 상태를 유지하기 위한 환자의 인슐린 요구를 감소시키는데 효과적일 수 있다. 일 구체예에서, 병용 요법은 10년 미만 동안 당뇨를 앓고 있고 식이 요법과 운동 또는 분비촉진물질로 잘 제어되지 않는 2형 당뇨병 및/또는 비만으로 고생하는 환자에게 적용할 수 있다. 일 구체예에서, GLP-1 및 인슐린 병용 요법을 받는 환자군은, 정상에 건강한 개체의 약 25% 이상의 β -세포 기능 및/또는, 약 8% 미만의 인슐린 내성을 특징으로 할 수 있으며/있거나, 정상적인 위 배출을 나타낼 수 있다. 일 구체예에서, 흡입성 GLP-1 및 인슐린 병용 요법은 속효성 인슐린 또는 지속형 인슐린, 예컨대 인슐린 글루리신(APIDRA[®]), 인슐린 리스프로(HUMALOG[®]) 또는 인슐린 아스파르트(NOVOLOG[®]), 또는 지속형 인슐린, 예컨대 인슐린 디터머(LEVEMIR[®]) 또는 인슐린 글라진(LANTUS[®])을 포함하며, FDKP를 또한 포함하는 흡입 분말 또는 다른 투여 경로에 의해 투여될 수 있다.
- [0086] 또 다른 구체예에서, 2형 당뇨병을 치료하기 위한 병용 요법은 인슐린과 디케토피페라진을 포함하는 흡입성 인슐린 제제의 유효량을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하고(여기서 인슐린은 천연 인슐린 펩티드, 제조합 인슐린 펩티드일 수 있음), 디케토피페라진을 포함하는 제제의 흡입에 의해 또는 피하 주사와 같은 또 다른 투여 경로에 의해 제공될 수 있는 지속형 인슐린 유사체를 환자에게 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 상기 방법은 DPP IV 억제제의 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 상기 방법은 치료가 필요한 환자에게, 속효성 또는 지속형 인슐린 분자와 디케토피페라진을 포함하는 제제를 지속형 GLP-1을 포함하는 제제와 함께 투여하는 것을 포함할 수 있으며, 이들은 별도로 및/또는 순차적으로 투여할 수 있다. 당뇨병, 특히 2형 당뇨병 치료용 GLP-1 요법은, 건조 분말 흡입성 제제로 GLP-1을 단독으로 투여하거나 또는 인슐린 또는 비인슐린 요법과 함께 사용하는 경우 저혈당증의 위험을 줄일 수 있기 때문에 유리할 수 있다.
- [0087] 또 다른 구체예에서, 속효성 GLP-1 및 디케토피페라진 제제를, 당뇨병 치료를 위해서 지속형 GLP-1, 예컨대 엑센딘과 함께 투여할 수 있으며, 이들은 둘다 폐 흡입에 의해 투여할 수 있다. 이 구체예에서, 예컨대 2형 당뇨병을 앓고 있는 당뇨병 환자에게 인슐린 분비를 촉진하도록 GLP-1을 포함하는 흡입성 제제의 유효량을 식사 중에 투여하고, 순차적으로 또는 이후 어느 시점, 식사 시간 내지 최대 약 45분에, 엑센딘-4의 용량을 투여한다. 흡입성 GLP-1의 투여는 β -세포 작용을 보존하여 질병 진행을 예방할 수 있는 반면, 엑센딘-4는 약 10 시간 간격으로 1일 2회 투여할 수 있으며, 이는 환자의 인크레틴계의 정상 생리를 모방할 수 있는 GLP-1의 기준 수치를 제공할 수 있다. 속효성 GLP-1 및 지속형 GLP-1은 둘다 별도의 흡입성 제제로 투여될 수 있다. 또는, 지속형 GLP-1은 다른 투여 방법, 예컨대 경피, 정맥내 또는 피하 투여를 포함하는 방법으로 투여될 수 있다. 일 구체예에서, 속효성 및 지속형 GLP-1의 식사중 투여는 지속형 GLP-1만을 투여한 것과 비교하여 인슐린 분비 증가, 글루카곤 억제 증가 및 위 배출 지연 연장을 유도할 수 있다. 지속형 GLP-1 투여량은 투여 경로에 따라서 달라질 수 있다. 예를 들어, 폐 투여의 경우 지속형 GLP-1은 환자에게 투여되는 GLP-1의 형태에 따라서, 식사 직전 또는 식사 시간 중에 투여 1회당 약 0.1 mg~약 1 mg의 용량으로 투여될 수 있다.
- [0088] 일 구체예에서, 비만 치료에 본 발명의 방법을 적용할 수 있다. 흡입성 GLP-1 제제의 치료 유효량을 치료가 필요한 환자에게 투여할 수 있으며, 이 때 흡입성 건조 분말 GLP-1 제제는 상기한 바와 같은 디케토피페라진과 GLP-1을 포함한다. 이 구체예에서, 흡입성 GLP-1 제제를 단독으로 또는 비만을 치료하기 위한 하나 이상의 내분비 호르몬 및/또는 비만 억제 활성제와 함께 투여할 수 있다. 예시적인 내분비 호르몬 및/또는 비만 억제 활성제는, 펩티드 YY, 옥신토모듈린, 앰리신, 앰리신 유사체, 예컨대 프람린티드 아세테이트 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 일 구체예에서, 비만억제제는 단독의 건조 분말 흡입성 조성물 또는 GLP-1과 함께, 또는 흡입을 위한 별도의 흡입성 건조 분말 조성물의 공제제로 투여될 수 있다. 또는, 하나 이상의 비만 억제제 또는 포만감을 유발할 수 있는 제제와 GLP-1의 조합에서, GLP-1 제제는 건조 분말 제제로 투여될 수 있으며, 비만 억제제는 또 다른 투여 경로로 투여될 수 있다. 이 구체예에서, DPP-IV 억제제를 투여하여 폐 동맥 순환으로의 GLP-1 전달을 향상 또는 안정화시킬 수 있다. 또 다른 구체예에서, DPP-IV 억제제를 디케토피페라진을 포함하는 인슐린 제제와 함께 제공할 수 있다. 이 구체예에서, DPP-IV 억제제는 흡입을 위한 디케토피페라진 중에 제제화되거나, 또는 피하 주사 또는 경구 투여와 같은 다른 투여 경로를 위한 기타 제제로 투여될 수 있다.

- [0089] 일 구체예에서, GLP-1 제제를 포함하는 흡입용 의약 카트리지와 카트리지에 견고하게 맞거나 또는 적합하도록 구성된 흡입 장치를 포함하는 당뇨병 및/또는 고혈당증 치료용 키트가 제공된다. 이 구체예에서, 상기 키트는 GLP-1과 함께 공제형화하거나, 또는 상기 개시된 바와 같은 흡입 또는 경구 투여용의 별도 제제로 DPP-IV 억제제를 더 포함할 수 있다. 이 구체예의 변형예에서, 키트는 별도로 제공될 수 있는 흡입 장치를 포함하지 않는다.
- [0090] 일 구체예에서, 약물 전달계를 이용한 본 병용 치료를 대사 장애 또는 증후군 치료에 적용할 수 있다. 이 구체예에서, 약물 전달 제제는 디케토피페라진 및 활성제, 예컨대 GLP-1 및/또는 지속형 GLP-1을 단독으로, 또는 대사 증후군의 치료를 목표로 하는 DPP-IV 억제제 및 엑센딘과 같은 하나 이상의 활성제와 함께 포함하는 제제를 포함할 수 있다. 이 구체예에서, 치료가 필요하고 인슐린 내성을 나타낼 수 있는 피험체에게 제공되는 활성제들 중 하나 이상을 폐 흡입으로 투여할 수 있다.
- [0091] 또 다른 구체예에서, GLP-1 및 디케토피페라진을 포함하는 흡입성 건조 분말 제제의 폐 투여를 진단 도구로서 사용하여 당뇨병 환자에서 2형 당뇨병의 진행 수준 또는 정도를 진단하여 환자 치료에 적합한 특정 치료 방법을 확인할 수 있다. 이 구체예는 당뇨병으로 확인된 환자의 당뇨병 진행 수준을 진단하는 방법으로서, 이 방법은 GLP-1 및 디케토피페라진을 포함하는 흡입성 건조 분말 제제를 소정량 환자에게 투여하는 단계, 및 내인성 인슐린 생성 또는 반응을 측정하는 단계를 포함한다. GLP-1을 포함하는 흡입성 건조 분말 제제의 투여는, 환자가 환자에 의해 요구되는 필요한 치료 요법을 결정하기 위해서 적정 수준의 인슐린 반응이 얻어질 때까지 소정량의 GLP-1로 반복할 수 있다. 이 구체예에서, 환자의 인슐린 반응이 부적절하면, 환자가 대안 요법을 필요로 할 수 있다. 요법으로서 디케토피페라진을 포함하는 GLP-1 제제를 이용하여 민감성 또는 인슐린 반응성 환자를 치료할 수 있다. 이 방식에서, 특정량의 GLP-1을 환자에게 투여하여 저혈당증을 피하는 적절한 인슐린 반응을 얻을 수 있다. 이 구체예 및 다른 구체예에서, GLP-1은 내인성 인슐린의 신속한 방출을 유도할 수 있으며, 이는 환자에서 인슐린 방출의 정상 생리학과 흡사하다.
- [0092] 일 구체예에서, 본 발명의 약물 전달계를 대사 장애 또는 증후군의 치료에 적용할 수 있다. 이 구체예에서, 약물 전달 제제는 디케토피페라진 및 활성제, 예컨대 GLP-1 및/또는 지속형 GLP-1을 단독으로, 또는 대사 증후군의 치료를 목표로 하는 DPP-IV 억제제 및 엑센딘과 같은 하나 이상의 활성제와 함께 포함하는 제제를 포함할 수 있다. 이 구체예에서, 치료가 필요하고 인슐린 내성을 나타낼 수 있는 피험체에게 제공되는 활성제들 중 하나 이상을 폐 흡입으로 투여할 수 있다.
- [0093] **실시예**
- [0094] 하기 실시예는 본 발명의 특정 구체예들을 입증하기 위해 포함된 것이다. 실시예에 개시된 기술은 본 발명의 실시예에 있어서 양호하게 작용하는 대표적인 기술을 설명하는 것임을 당업자는 이해해야 한다. 그러나, 당업자는, 본 발명의 개시 내용으로부터, 개시되어 있는 특정 구체예에서 여러가지 변화가 이루어질 수 있으며, 본 발명의 정신 및 범위를 벗어나지 않고 같거나 또는 유사한 결과가 얻어질 수 있음을 알아야 한다.
- [0095] **실시예 1**
- [0096] **건강한 성인 남성에게 흡입성 건조 분말의 GLP-1 투여**
- [0097] GLP-1은, 정맥내(iv) 또는 피하(sc) 주입 또는 다회 피하 주사로 제공되는 경우 인간의 혈당 상승을 조절할 수 있다는 것이 확인되었다. 호르몬의 반감기가 극히 짧기 때문에, 임상적 효능을 실현하는데 연속적인 피하 주입 또는 매일 다회의 피하 주사가 필요하다. 이들 경로 중 어떤 것도 장기간 임상 용도로 실시되지 않는다. 출원인은 동물 실험에서, GLP-1을 흡입에 의해 투여하면 치료 수준을 얻을 수 있다는 것을 발견하였다. 이들 연구 결과는, 예를 들어 미국 특허 출원 11/735,957호에서 발견할 수 있으며, 이의 개시 내용은 본 명세서 중에 참고로 포함된다.
- [0098] 건강한 개체에서는, 위 배출 감소, 포만감 증가 및 부적절한 글루카곤 분비의 억제를 비롯하여 몇몇 GLP-1 작용이 식사 개시에 따라서 방출되는 GLP-1 폭발과 연관된 것으로 보인다. 흡입성 분말로서 GLP-1 및 2,5-디케토-3,6-디(4-푸마릴-아미노부틸)피페라진(FDKP)의 제제로 GLP-1의 초기 급변(surge)을 보충하면, 내인성 인슐린 생성, 글루카곤 및 혈당 수준 감소를 비롯한 약동학적 반응이 당뇨병 동물에서 유발될 수 있다. 또한, 인슐린 분비 증가와 연관된 천연 GLP-1의 후기 급변은 GLP-1/FDKP 흡입 분말의 식후 투여에 의해 모방될 수 있다.
- [0099] GLP-1/FDKP 흡입 분말의 제1기 임상 시험을 고안하여 인간 피험체에서 처음으로 새로 흡입한 혈당 조절 치료물의 선택 용량에 대한 용인성 및 안전성을 시험하였다. 이전에 시험한, MedTone[®] 흡입 장치를 사용하여 GLP-

1/FDKP 흡입 분말을 투여하였다. 폐 흡입에 의해 각종 용량의 GLP-1/FDKP 흡입 분말의 안전성 및 용인성을 확인하기 위해 실험을 고안하였다. 본 명세서에 참고로 포함된 미국 출원 11/735,957호에 개시된 바와 같이 흡입에 의해 투여되는 GLP-1/FDKP를 사용한 래트 및 영장류에서의 비임상 연구로부터 얻은 동물 안전성 연구 결과에 기초하여 인간 사용을 위한 용량을 선택하였다.

[0100] 26명의 피험체를 5 코호트로 등록하여 각 코호트 1 및 2에서 최대 4명의 평가 피험체와 각 코호트 3 내지 5에서 최대 6명의 평가 피험체를 제공하였으며, 이들 피험체는 자격 기준에 부합하며, 연구를 완료하였다. 각 피험체에게 GLP-1을 GLP-1/FDKP 흡입 분말로서 1회 하기의 투약 수준으로 투약하였다: 코호트 1: 0.05 mg; 코호트 2: 0.45 mg; 코호트 3: 0.75 mg; 코호트 4: 1.05 mg 및 코호트 5: 1.5 mg GLP-1. 중도 포기자는 대체하지 않았다. 이들 용량은 체중 70 kg으로 가정한 것이다. 당업자는 본 명세서에 개시된 연구에 기초하여 추가의 용량 수준을 결정할 수 있다.

[0101] 이들 실험에서, 건강한 성인 남성 피험체에서 GLP-1/FDKP 흡입 분말을 점차 증가하는 용량으로 투여한 경우의 안전성 및 용인성을 결정하였다. GLP-1/FDKP 흡입 분말의 증가 용량의 용인성은, 보고된 유해 사례(AE), 바이탈 사인, 신체 검사, 임상 실험실 시험 및 심전도(ECG)를 비롯한 변수에 대한 약리학적 효과 또는 유해 효과를 모니터링하여 결정하였다.

[0102] 추가의 폐 안전성 및 약동학적 파라미터를 또한 평가하였다. 1차 방문(스크리닝)과 3차 방문(추적) 사이의 폐 기능의 변화 및 폐의 유병율 및 기타 유해 사례에 의해 평가되는 바와 같은 폐 안전성을 연구하였다. GLP-1/FDKP 흡입 분말을 투약한 후 혈장 GLP-1 및 혈청 푸마릴 디케토피페라진(FDKP)의 약동학적(PK) 파라미터를 $AUC_{0-120분}$ 혈장 GLP-1 및 $AUC_{0-480분}$ 혈청 FDKP로서 측정하였다. 혈장 GLP-1의 추가의 PK 파라미터는 최대 혈장 GLP-1 농도에 도달하는 시간, T_{max} 혈장 GLP-1; 혈장중 GLP-1의 최대 농도, C_{max} 혈장 GLP-1, 및 혈장 중 GLP-1의 최대 농도에 도달하는 총 시간의 1/2, $T_{1/2}$ 혈장 GLP-1을 포함하였다. 혈청 FDKP의 추가의 PK 파라미터는 T_{max} 혈청 FDKP, C_{max} 혈청 FDKP, 및 $T_{1/2}$ 혈청 FDKP를 포함하였다. 임상 시험 중점은 시험 피험체군에서 결정된 하기의 약리학적 및 안전성 파라미터의 비교에 기초하였다. 1차 중점은 기침 및 호흡곤란, 오심 및/또는 구토를 포함하는 보고된 AE의 발생 및 경증뿐 아니라, 바이탈 사인, 임상적 실험실 시험 및 신체 검사의 스크리닝 변화를 포함하였다. 2차 중점은 혈장 GLP-1 및 혈청 FDKP($AUC_{0-120분}$ 혈장 GLP-1 및 $AUC_{0-480분}$ 혈청 FDKP), 혈장 GLP-1(T_{max} 혈장 GLP-1, C_{max} 혈장 GLP-1 $T_{1/2}$ 혈장 GLP-1); 혈청 FDKP(T_{max} 혈청 FDKP, C_{max} 혈청 FDKP); 폐 기능 시험(PFTs), 및 ECG의 약동학적 성질을 포함하였다.

[0103] 임상 시험은 3회의 임상 방문으로 이루어졌다: 1) 1회 스크리닝 방문(1차 방문); 2) 1회 치료 방문(2차 방문); 및 3) 2차 방문 8~14일 후에 1회 추적 방문(3차 방문). GLP-1/FDKP 흡입 분말 1회 용량을 2차 방문시 투약하였다.

[0104] 5가지 용량의 GLP-1/FDKP 흡입 분말(0.05, 0.45, 0.75, 1.05 및 1.5 mg GLP-1)을 평가하였다. 모든 용량에 적합하도록, 제제화된 GLP-1/FDKP를, 활성제 없이 입자를 함유하는 FDKP 흡입 분말과 혼합하였다. 목적하는 용량의 GLP-1 (0.05 mg, 0.45 mg, 0.75 mg, 1.05 mg 및 1.5 mg)를 얻기 위해, GLP-1/FDKP 흡입 분말(중량을 기준으로 15 중량% GLP-1/FDKP) 그 자체로 또는 적량의 FDKP 흡입 분말과 혼합하여 이루어지는 10 mg 건조 분말을 함유하는 1회 용량 카트리지를 사용하였다. 처음 2개의 최저 용량 수준은 각각 4명의 피험체로 이루어진 2 코호트에서 평가하였고, 3개의 더 높은 용량은 각각 6명의 피험체로 이루어진 3 코호트에서 평가하였다. 각 피험체에게 평가되는 5가지 용량 수준 중 단 1가지 용량만을 투여하였다. GLP-1(활성 및 합제) 및 FDKP 측정을 위해 채혈한 혈액 외에, 글루카곤, 포도당, 인슐린 및 C-펩티드 측정을 위해 샘플을 취하였다. 이들 실험으로부터 얻은 결과는 하기 도면 및 표를 참조하여 개시한다.

[0105] 도 1은 GLP-1 용량 1.5 mg을 폐 투여한 후 코호트 5에서 활성 GLP-1 혈장 농도를 도시한다. 상기 데이터는 피크 GLP-1 농도가 제1 샘플링 시점 전 3분에 생겼으며, 이는 정맥내(IV) 볼루스 투여와 매우 유사하다는 것을 보여준다. 일부 피험체의 GLP-1 혈장 농도는 분석 한계값인 500 pmol/L보다 크다. 피크 활성 GLP-1 혈장 농도는 약 150 pmol/L~약 500 pmol/L 범위이다. 문헌(VilSBoll et al. 2000)에서 보고된 바와 같은 GLP-1의 정맥내 볼루스 투여 결과는 합제:활성 GLP-1의 비가 3.0~5.0이며, 이 값은 이 연구의 코호트 5에서의 1.5의 비와 비교된다. 유사한 활성 농도에서, 대사물질 피크는 폐 투여와 비교하여 정맥내 투여 후에 8~9배 더 크며, 이는 폐 투여가 신속히 전달하고 GLP-1을 덜 분해시킨다는 것을 제시하는 것이다.

표 1

파라미터 ^a	처리				
	0.05 mg (n = 4)	0.45 mg (n = 4)	0.75 mg (n = 6)	1.05 mg (n = 6)	1.5 mg (n = 6)
GLP-1 ^a					
AUC ₀₋₁₂₀ (분*pmol/L)	ND	n = 1 355.33	n = 6 880.12 (195.656)	n = 4 1377.88 (634.054)	n = 4 AULQ
C _{max} (pmol/L)	n = 4 2.828 (2.4507)	n = 4 24.630 (8.7291)	n = 6 81.172 (63.3601)	n = 6 147.613 (122.7014)	n = 6 310.700 (54.2431)
t _{max} (분)	n = 4 3.00 (3.00, 3.00)	n = 4 3.00 (3.00, 4.02)	n = 6 3.00 (3.00, 6.00)	n = 6 3.00 (3.00, 4.98)	n = 6 3.00 (3.00, 3.00)
T _{1/2} (분)	n = 1 6.1507	n = 3 3.0018 (0.83511)	n = 6 5.5000 (2.96928)	n = 4 3.6489 (1.88281)	n = 6 3.9410 (1.79028)
FDKP					
AUC ₀₋₁₂₀ (분*pmol/L)				n = 6 22169.2 (4766.858)	n = 6 25594.7 (5923.689)
C _{max} (pmol/L)				n = 6 184.21 (56.893)	n = 6 210.36 (53.832)
t _{max} (분)				n = 6 4.50 (3.00, 25.02)	n = 6 6.00 (3.00, 19.98)
T _{1/2} (분)				n = 6 126.71 (11.578)	n = 6 123.82 (15.640)

^a 모든 파라미터는 평균 (SD)이며, 단 tmax는 중앙값(범위)이다.

[0106]

[0107]

AULQ - 투약 그룹의 2 이상의 피험체가 AULQ인 분석물의 혈장 농도를 나타내내며; NA = 약동학적 프로파일은 짧은 샘플링 시간(20분)으로 인해 이 프로파일의 규격에 부합하지 않으며; ND = 일부 피험체에서 데이터가 불충분하여 파라미터를 측정할 수 없다.

[0108]

건강한 개체에서, GLP-1의 식후 생리학적 정맥 혈장 농도는 통상적으로 10-20 pmol/L 범위이다(Vilsbøll et al. J. Clin. Endocr. & Metabolism. 88(6):2706-13, June 2003). 0.45 mg GLP-1을 투여받은 코호트 2의 일부 피험체는 이 수준을 달성하였다. 더 높은 용량의 GLP-1은 생리적 피크 정맥 농도보다 실질적으로 높은 피크 혈장 GLP-1 농도를 생성하였다. 그러나, GLP-1의 반감기는 짧기 때문에(약 1~2분), 활성 GLP-1의 혈장 농도는 투여 9분 후에 생리적 범위로 떨어진다. 피크 농도가 정맥 순환에서 생리적으로 확인되는 것보다 훨씬 높지만, GLP-1의 국소 농도는 전신에서 확인되는 것보다 훨씬 높을 수 있다는 증거가 있다.

[0109]

표 1은 이 연구로부터 얻은 FDKP를 포함하는 제제의 GLP-1의 약동학적 프로파일을 나타낸다.

[0110]

FDKP 약동학적 파라미터는 코호트 4 및 5에 대해 표 1에 또한 제시되어 있다. 다른 코호트는 분석하지 않았다. 이 데이터는 또한 1.05 mg 및 1.5 mg GLP-1 처리된 피험체의 FDKP 평균 혈장 농도가 각각 약 184 및 211 pmol/L임을 보여준다. 최대 혈장 FDKP 농도는, 반감기가 약 2 시간(127분 및 123분)인 각 용량에 대해 투여한 지 약 4.5분 및 6분에 얻었다.

[0111]

도 2a는 1.5 mg 용량에서 GLP-1의 흡입성 건조 분말 제제로 처리한 피험체의 평균 인슐린 농도를 도시한다. 이 데이터로부터, 인슐린 농도가 모든 피험체에서 검출되기 때문에 1.5 mg GLP-1이 β-세포로부터의 내인성 인슐린 방출을 유도한다는 것과, 평균 피크 인슐린 농도 약 380 pmol/L은 투약 후 6분 또는 그 이전에 형성된다는 것을 확인할 수 있다. 인슐린 방출은 빠르지만 지속되지는 않는데, 그 이유는 혈장 인슐린 농도가 GLP-1에 대한 초기 반응 후에 급격히 떨어지기 때문이다. 도 2b는 GLP-1 용량의 피하 투여와 비교하여 폐 흡입으로 투여되는 GLP 1.5 mg 용량으로 처리한 피험체의 GLP-1 혈장 농도를 도시한다. 이 데이터는, GLP-1의 폐 투여가 비교적 빨리 일어나며 GLP-1의 피크 혈장 농도는 피하 투여의 경우보다 빠르게 나타난다는 것을 예시한다. 또한, GLP-1의 폐 흡입은 피하 투여의 경우보다 더욱 빨리 GLP-1 혈장 농도를 기본 수준으로 돌려놓는다. 따라서, 본 발명의 약물 전달계를 사용한 폐 흡입에 의해 제공되는 GLP-1에의 환자 노출은 피하 투여에 의한 노출보다 훨씬 시간이 짧으며, AUC에 의해 측정되는 GLP-1에의 총 노출은 흡입된 인슐린의 경우 더 적다. 도 2c는 GLP-1의 건조 분말 제제

의 폐 투여가 GLP-1의 정맥내 투여 후에 얻은 반응과 유사하지만, 피하 GLP-1 투여시와 비교하여 생성된 내인성 인슐린의 양 및 피크 시간이 다른 인슐린 반응을 유도함을 예시하는데, 이는 본 발명의 제제를 사용한 GLP-1의 폐 투여가 인슐린 반응을 유도하는데 더욱 효능이 있음을 나타낸다.

[0112] 도 3은 흡입 후에 여러 시점에서 측정된 1.5 mg의 GLP-1 용량을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제로 처리한 피험체의 혈장 C-펩티드 농도를 도시한다. 데이터는 GLP-1 흡입 후에 C-펩티드가 방출된다는 것을 입증하며, 이는 내인성 인슐린 방출을 확인하는 것이다.

[0113] 도 4는 GLP-1을 함유하는 GLP-1 제제로 처리한 피험체의 공복 혈장 포도당 농도를 도시한다. 평균 공복 혈장 포도당(FPG) 농도는 1.5 mg GLP-1 처리 피험체의 경우 약 4.7 mmol/L이었다. GLP-1 매개 인슐린 방출은 글루코스의 의존성이다. 저혈당증은 정상혈당 피험체에서는 역사적으로 관찰되지 않는다. 이 실험에서, 데이터는 이들 정상혈당의 건강한 피험체의 포도당 농도가 GLP-1의 폐 투여 후에 감소된다는 것을 명백하게 보여준다. 1.5 mg GLP-1 용량의 투약 후에, 6명의 피험체 중 2명은 GLP-1에 의해, 저혈당증을 정의하는 실험실 수치인 3.5 mmol/L 미만으로 포도당 농도가 낮아졌다. 혈장 포도당은 1.5 mg GLP-1 용량을 제공받은 6명의 피험체 중 2명에서 1.5 mmol/L 이상 감소하였다. 또한, 혈장 포도당 감소는 GLP-1 용량과 상관관계가 있었다. 포도당 농도의 최소 감소는 0.05 mg 용량에서 관찰되며, 최대 감소는 1.5 mg 용량에서 관찰되었다. 3가지 중간 용량의 GLP-1은 대략 비슷한 혈장 포도당 감소를 나타내었다. 이 데이터는 GLP-1 포도당 의존성이 생리학적 범위 이상의 GLP-1 농도를 기초로 하여 극복됨을 나타낸다. 정상 개체에서 GLP-1(7-36) 아미드에 대한 생리적 범위는 공복 과정에서 5~10 pmol/L 범위이고 식사 후에 15~50 pmol/L로 급격히 증가하는 것으로 보고되었다(Drucker, D. and Nauck, M. The Lancet 368:1696-1705, 2006).

[0114] 도 5는 GLP-1의 폐 투여 후의 혈장 중 인슐린 농도가 용량 의존적임을 추가로 도시한다. 대부분의 피험체에서, 혈장 인슐린 농도는 GLP-1 투여에 대한 초기 반응 후에 급격히 떨어지기 때문에, 인슐린 방출이 지속되지 않았다. 대부분의 피험체에서, 피크 혈장 인슐린 반응은 200-400 pmol/L 범위였으며, 1명의 피험체는 700 pmol/L를 초과하는 피크 혈장 인슐린 수준을 나타내었다. 따라서, 데이터는 인슐린 반응이 GLP-1 용량 의존적임을 나타낸다.

[0115] 도 6은 여러 투약 그룹에서 GLP-1 폐 투여 후 혈장중 글루카곤 농도를 도시한다. 기준선 글루카곤 수준은 여러 투약 그룹에서 13.2 pmol/L 내지 18.2 pmol/L 범위였다. 혈장 글루카곤의 최대 변화는 투약 12분 후에 관찰되었다. 혈장 글루카곤의 최대 감소는 약 2.5 pmol/L이었으며, 1.5 mg 투약 그룹에서 관찰되었다. 글루카곤 분비의 최대 억제는 과소평가되었을 가능성이 있는데, 그 이유는 최소값이 항상 12분에 얻어지는 것은 아니기 때문이다.

[0116] 표 2 및 3은 연구 환자군에 대해 기록된 유해 사례 또는 부작용 증상을 보고한다. 주사에 의해 투여된 GLP-1에 대해 문헌에 기록된 유해 사례의 목록이 광범위하지는 않지만, 기록된 사례들은 온화하거나 또는 중간 정도이고 용인가능한 것으로 개시되어 있다. 보고된 1차 유해 사례는 활성 GLP-1 농도가 100 pmol/L를 초과하는 경우 심한 발한, 오심 및 구토였다. 표 1 및 3과 도 1에 도시된 바와 같이, 1.05 mg 및 1.5 mg 용량의 폐 투여는 비경구(피하, 정맥내[볼루스 또는 주입]) GLP-1로 일반적으로 관찰되는 부작용 없이 100 pmol/L를 크게 초과하는 활성 GLP-1 농도를 형성하였다. 이 연구에서 어떤 피험체도 오심, 심한 발한 또는 구토 증상을 보고하지 않았다. 코호트 5의 피험체는, 피험체의 대부분이 유의적인 유해 사례를 보고한 50 µg/kg IV 볼루스 데이터(문헌 [Viltsbøll et al. 2000]에 보고됨)로 관찰되는 것과 유사한 C_{max} 를 나타내었다.

표 2

유해 사례

유해 사례	0.05 mg (n = 4)	0.45 mg (n = 4)	0.75 mg (n = 6)	1.05 mg (n = 6)	1.5 mg (n = 6)
기침	3	1	3	5	5
발성 장애	2	-	2	3	3
객담 동반 기침	-	-	1	-	-
인후 자극	-	-	-	1	-
두통	1	1	-	1	1
현기증	-	-	-	-	2
이상 미각	-	-	1	-	-
피로	-	-	1	1	1
계절 알레르기	-	-	-	1	-
비염	-	-	-	1	-
식욕 증가	-	-	-	-	1

[0117]

표 3

GLP-1의 비교에 의한 유해 사례: IV 대비 폐 투여

유해 사례	IV [†] (16.7 µg)	IV ^{†*} (50 µg)	폐* (1.5 mg)
혈당 감소	42%	100%	17%
오심	33%	83%	0%
심한 발한	17%	67%	0%

[†] Vilsbøll et al. Diabetes Care, June 2000; * 유사한 C_{max}

[0118]

[0119]

표 2 및 3은 폐 흡입에 의해 GLP-1을 제공받은 임의의 연구 피험체에 의해 보고되는 심각하거나 심한 유해 사건이 없음을 보여준다. 일반적으로 보고되는 대부분의 유해 사건은 건조 분말 흡입과 관련된 것들, 기침 및 인후 자극이었다. 놀랍게도, 폐 흡입으로 처리한 환자 중에서, 오심이나 불쾌감을 호소한 피험체는 없었으며, 이들 임의의 피험체와 관련된 구토 증상도 없었다. 본 발명자들은 건조 분말 제제의 GLP-1 폐 투여가 상기 피험체의 위 배출을 억제하지 않는다는 것을 발견하였다(데이터는 도시되지 않음). 위 배출 억제는 흔히 겪게 되는 표준 GLP-1 제제의 주사와 관련된 원하지 않는 부작용이다.

[0120]

요약하면, 임상 GLP-1/FDKP 분말은 최대 15 중량% GLP-1을 함유하여, 분말 10 mg 중 1.5 mg의 GLP-1 최대 용량을 제공한다. Andersen 캐스케이드 측정 결과 입자의 35~70%가 공기역학적 직경 < 5.8 µm을 나타내는 것으로 확인되었다. 1.5 mg 용량의 GLP-1은 제1 샘플링 시점(3분)에서 활성 GLP-1의 평균 피크 농도 >300 pmol/L를 형성하며; 제1 측정 시점(6분)에서 평균 피크 인슐린 농도 375 pmol/L을 나타내며; 투약 20분 후에 평균 공복 혈장 포도당을 85~70 mg/dL로 감소시키며; 용인성이 좋으며 오심이나 구토를 유발하지 않는다.

[0121]

실시예 2

[0122]

수컷 Zucker Diabetic Fatty 래트로의 GLP-1 및 엑세나티드의 폐 투여와 엑세나티드의 피하 투여의 비교

[0123]

임상적으로 유용한 치료에 도달하기 위해 순환 반감기가 더 긴 GLP-1의 유사체를 개발하는데 많은 노력을 기울이고 있다. 본 명세서에서 입증된 바와 같이, GLP-1의 폐 투여는 임상적으로 의미있는 활성을 제공한다. 따라서, 이들 2가지 방법을 비교하는 것은 흥미롭다.

[0124]

FDKP 입자 제조

[0125]

푸마릴 디케토피페라진(FDKP) 및 폴리소르베이트 80을 묶은 수성 암모니아에 용해시켜 2.5 중량% FDKP 및 0.05 중량% 폴리소르베이트 80을 함유하는 용액을 얻었다. 이어서, FDKP 용액을 폴리소르베이트 80을 함유하는 아세트산 용액과 혼합하여 입자를 형성하였다. 입자를 세척하고 접선류 여과로 농축하여 약 11 중량% 고형분을 얻었다.

- [0126] GLP-1 스톱액 제조
- [0127] 60 mg GLP-1 고형분(86.6% 펩티드)과 451 mg 탈이온수를 배합하여 10 중량% GLP-1 스톱액을 탈이온수에서 제조하였다. 빙초산 약 8 μ l를 첨가하여 펩티드를 용해시켰다.
- [0128] GLP-1/FDKP 입자의 제조
- [0129] 스톱 FDKP 현탁액 1 g 부분(108 mg 입자)을 2 ml 폴리프로필렌관으로 옮겼다. 적량의 GLP-1 스톱액(표 1)을 현탁액에 첨가하고 살짝 혼합하였다. 현탁액의 pH는 50% (v/v) 수산화암모늄 분액 1 μ l를 첨가하여 pH ~3.5에서 pH ~4.5로 조정하였다. 그 다음 GLP-1/FDKP 입자 현탁액을 액체 질소에서 펠렛화하고 동결건조시켰다. 건조 분말을 고 성능 액체 크로마토그래피(HPLC)로 분석하였으며 이론값과 유사한 것을 확인하였다.
- [0130] 엑세나티드 스톱액의 제조
- [0131] 281 mg 엑센딘 고체(88.9% 펩티드)와 2219 mg 2 중량% 아세트산을 배합하여 2 중량% 아세트산 중에서 10 중량% 엑센딘 스톱액을 제조하였다.
- [0132] 엑세나티드/FDKP 입자의 제조
- [0133] 스톱 FDKP 입자 현탁액의 1533 mg 부분(171 mg 입자)을 4 mL 유리병으로 옮겼다. 엑센딘 스톱액 304 mg을 현탁액에 첨가하고 살짝 혼합하였다. 현탁액의 pH는, 25% (v/v) 수산화암모늄 분액 3~5 μ l를 첨가하여 pH ~3.7에서 pH ~4.5로 조정하였다. 엑세나티드/FDKP 입자 현탁액을 액체 질소에서 펠렛화하고 동결건조하였다. 건조 분말을 고 성능 액체 크로마토그래피(HPLC)로 분석하였으며 이론값과 유사한 것을 확인하였다.
- [0134] 랫에서 약동학 및 약력학 평가
- [0135] 수컷 Zucker Diabetic Fatty(ZDF) 랫(5/그룹)를 4개의 시험 그룹 중 하나로 정하였다. 밤새 동물을 금식시킨 후 시제품 투약 직전에 복강내 주사로 포도당(1 g/kg)을 투여하였다. 대조 그룹의 동물에게는 폐 통기로 공기를 제공하였다. 그룹 1의 동물에게는 피하(SC) 주사로 염수(0.1 ml) 중 엑세나티드(0.3 mg)를 투여하였다. 그룹 2의 동물에게는 폐 통기로 15 중량% 엑세나티드/FDKP(2 mg)를 투여하였다. 그룹 3의 동물에게는 폐 통기로 15 중량% GLP-1/FDKP(2 mg)를 투여하였다. 투약 전과 투약 15분, 30분, 45분, 60분, 90분, 120분, 240분 및 480분 후에 꼬리로부터 혈액 샘플을 수집하였다. 혈장을 수거하였다. 혈당과 혈장 GLP-1 또는 혈장 엑세나티드 농도를 결정하였다.
- [0136] 엑세네티드 약동학은 도 7a에 보고되어 있다. 이들 데이터는 엑세네티드/FDKP 분말의 통기 후에 엑세네티드가 빠르게 흡수된다는 것을 보여준다. 흡입된 엑세네티드의 생체이용률은 피하 주사와 비교하여 94%였다. 이는 폐 투여가 엑세나티드에 대해 특히 유리하다는 것을 나타내는 것일 수 있다. 최대 피크 순환 엑세네티드 농도에 이르는 시간(T_{max})은 엑세네티드를 흡입한 랫에서 <15분인 것과 비교하여 엑세네티드를 피하 투여한 랫에서는 30분이었다. 이는 T_{max} 가 통기된 GLP-1/FDKP과 유사하다는 것을 보여준다(데이터는 도시되지 않음).
- [0137] 비교 약력학은 도 8에 보고되어 있다. 이들 데이터는 모두 4개의 시험 그룹에서의 혈당 변화를 보여준다. 내당성 시험 후의 혈당 상승은 SC 엑세네티드를 투여받은 동물과 비교하여 엑세네티드/FDKP를 흡입한 동물에서 더 낮았다. 엑세네티드 노출이 양 그룹에서 유사하기 때문에(도 7), 이들 데이터는 엑세네티드/FDKP 그룹에서 피크 엑세네티드 농도에 이르는 시간이 더 짧아서 더욱 양호하게 당 조절할 수 있다는 것을 제시한다. 또한, 혈당 일탈은 GLP-1/FDKP 또는 엑세네티드/FDKP를 투여받은 동물에서 유사하였다. 이들 데이터는 놀라운 것인데, 그 이유는 엑세네티드의 순환 반감기(89분)가 GLP-1(15분)보다 상당히 길기 때문이다. 실제로, 엑세네티드는 효능을 증가시킬 목적으로 순환 반감기를 최대화하기 위해 개발하였다. 이들 데이터는, 폐 투여를 이용하는 경우 고혈당증을 제어하는데 있어서 엑세네티드의 더 긴 반감기가 장점을 제공하지 않는다는 것을 제시한다. 또한, 어느 쪽 분자의 폐 투여도 SC 엑세나티드보다 양호한 혈당 조절을 제공한다.
- [0138] 도 7은 피하 엑센딘-4에 비하여 폐 통기에 의해 투여된 엑센딘-4/FDKP 분말 제제를 제공받은 수컷 ZDF 랫의 평균 혈장 엑센딘 농도를 도시한다. ■는 엑센딘-4/FDKP 분말의 폐 통기 후의 반응을 나타낸다. □는 피하 투여되는 엑센딘-4의 투여 후 반응을 나타낸다. 데이터는 $\pm$ 표준 편차로서 플롯되어 있다. 데이터는 0.12, 0.17, 및 0.36 mg의 GLP-1 용량을 제공하는 분말로 통기시킨 랫가 각각 2.3, 4.9 및 10.2 nM의 최대 혈장 GLP-1 농도(C_{max})와 57.1 nM·분, 92.6 nM·분, 및 227.9 nM·분의 노출(AUC)(t_{max} = 10 분, $t_{1/2}$ = 10 분)을 형성한다는 것을 보여준다. 1일 0.3 mg GLP-1을 연속 4일 투약한 후 실시한 복강내 내당성 시험에서, 처리된 동물은 대조군보다 유의적으로 낮은 포도당 농도를 나타내었다($p < 0.05$). 부하 30분 후에, 대조 동물에서는 당이 47% 증가하

였으나, 처리된 동물에서는 17%만 증가하였다.

- [0139] 도 8은 피하 액센딘-4 및 폐 통기에 의해 투여된 액센딘-4와 비교하여 폐 통기를 통한 공기 대조군, 액센딘-4/FDKP 분말, 또는 GLP-1/FDKP 분말을 제공받은 수컷 ZDF 래트에서 기준선으로부터의 혈당 변화를 도시한다. ◇는 액센딘-4/FDKP 분말의 폐 통기 후의 반응을 도시한다. ○은 피하 액센딘-4의 투여 후 반응을 도시한다. △은 GLP-1/FDKP 분말 투여 후 반응을 나타낸다. □는 공기만을 폐 통기시킨 후의 반응을 도시한다. *는 통기에 의해 래트에게 제공된 2 mg GLP-1/FDKP 이후, 또한 통기에 의해 투여되는 2 mg 액센딘-4/FDKP 분말에 의해 얻어지는 반응을 도시한다.
- [0140] **실시예 3**
- [0141] 옥신토모듈린/FDKP 분말 제제
- [0142] 글루카곤-37로 알려진 옥신토모듈린은 37 아미노산 잔기로 이루어진 펩티드이다. 미국 캘리포니아주 서니베일의 아메리칸 펩티드 캄파니 인코포레이티드로부터 상기 펩티드를 제조 및 입수하였다. 현탁액의 FDKP 입자를 옥신토모듈린 용액과 혼합한 다음, 액체 질소에서 펠릿으로서 순간 냉동시키고 동결 건조시켜 샘플 분말을 형성하였다.
- [0143] 표적 펩티드 함량이 5~30%인 6종의 분말을 제조하였다. HPLC로 측정한 실제 펩티드 함량은 4.4~28.5%였다. 10% 펩티드 함유 분말의 공기역학적 성질은 캐스케이드 임팩션을 이용하여 분석하였다.
- [0144] 그 다음 FDKP 용액을, 폴리소르베이트 80을 함유하는 아세트산 용액과 혼합하여 입자를 형성하였다. 입자를 세척하고 점진류 여과로 농축하여 약 11 중량% 고형분을 얻었다.
- [0145] FDKP 입자 현탁액(1885 mg x 11.14% 고형분 = 210 mg FDKP 입자)을 4 mL의 투명한 유리병에 칭량하였다. 병을 캡핑하고 침강을 방지하기 위해 자기 교반기를 사용하여 혼합하였다. 옥신토모듈린 용액(2 중량% 아세트산중 10% 펩티드 909 mg)을 병에 첨가하고 혼합시켰다. 최종 조성비는 약 30:70 옥신토모듈린:FDKP 입자였다. 옥신토모듈린/FDKP 현탁액은 초기 pH가 4.00이었으며, 1:4(v/v) 수산화암모늄/물 2~10 μ l 증분을 첨가하여 pH 4.48로 조정하였다. 액체 질소를 함유하는 소형 결정화 접시에서 현탁액을 펠릿화하였다. 접시를 냉동 건조기에 두고 200 mTorr에서 동결건조시켰다. 선반 온도는 0.2°C/분에서 -45°C에서 25°C로 증가하며 약 10시간 동안 25°C에서 유지하였다. 생성된 분말을 4 mL 투명한 유리병으로 옮겼다. 병으로 옮긴 후의 분말의 총 수율은 309 mg(103%)였다. 중탄산나트륨 중에서 옥신토모듈린 제제를 희석하고, 0.1% 트리플루오로아세트산(TFA)을 포함하는 탈이온수와 0.1% TFA를 함유하는 아세토니트릴을 이동상으로 이용하고 파장 검출 220 nm 및 280 nm로 설정된, Waters 2695 분리 시스템에서 고압 액체 크로마토그래피로 분석하여 옥신토모듈린 함량에 대해 샘플을 시험하였다. 데이터는 Waters Empower™ 소프트웨어 프로그램을 이용하여 분석하였다.
- [0146] 래트에서의 약동학 및 약력학 평가
- [0147] 수컷 ZDF 래트(10마리/그룹)를 4개의 그룹 중 하나로 할당하였다. 한 그룹 내의 동물에게 정맥내 주사로 옥신토모듈린을 제공하였다. 다른 3개 그룹의 동물에게는 5% 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.15 mg 옥신토모듈린 함유), 15% 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.45 mg 옥신토모듈린 함유), 또는 30% 옥신토모듈린/FDKP 분말(0.9 mg 옥신토모듈린 함유)을 폐 통기로 제공하였다. 혈장 옥신토모듈린 농도를 측정하기 위해서 투약전과 투약 후 여러 시점에서 꼬리로부터 혈액 샘플을 수집하였다(도 9a). 옥신토모듈린을 투약한 후 여러 시점에서 먹이 소비량을 또한 모니터링하였다(도 9b).
- [0148] 도 9a는 정맥 주사로 옥신토모듈린을 수용한 수컷 ZDF 래트 및 대조군 래트에서 다양한 양으로 흡입성 건조 분말 제제를 투여한 후 옥신토모듈린의 혈장 농도를 비교한 그래프이다. 이들 데이터는 옥신토모듈린/FDKP 분말의 통기 후에 옥신토모듈린이 신속하게 흡수됨을 보여준다. 최대 피크 순환 옥신토모듈린 농도에 이르는 시간(T_{max})은 흡입 옥신토모듈린을 수용한 래트에서 15분 미만이었다. 이 연구는 옥신토모듈린의 반감기가 폐 흡입 후 약 22~약 25 분임을 보여준다.
- [0149] 도 9b는 공기류를 수용한 대조군 동물과 비교하여 폐 흡입에 의해 투여된 옥신토모듈린/FDKP 분말 또는 정맥내 옥신토모듈린으로 처리한 수컷 ZDF 래트에서의 누적 먹이 소비량을 보여주는 막대 그래프이다. 이 데이터는 옥신토모듈린/FDKP의 폐 투여가 정맥내 옥신토모듈린 또는 공기 대조군을 1회 용량으로 투여한 것보다 크게 먹이 소비량을 감소시킨다는 것을 보여준다.
- [0150] 유사한 세트의 실험에서, 래트에게 폐 흡입에 의해 30% 옥신토모듈린/FDKP 분말 또는 대조군으로서 공기류(그룹

1)를 제공하였다. 옥신토모둘린/FDKP 흡입 분말을 투여하는 래트에게는 상기 개시된 바와 같이 제조한 0.15 mg 옥신토모둘린(옥신토모둘린/FDKP 분말 0.5 mg; 그룹 2), 0.45 mg 옥신토모둘린(옥신토모둘린/FDKP 분말 1.5 mg, 그룹 3) 또는 0.9 mg 옥신토모둘린(옥신토모둘린/FDKP 분말 3 mg, 그룹 4)을 제공하였다. 실험 개시 전에 24 시간 동안 금식시킨 ZDF 래트에서 연구를 실시하였다. 실험 용량을 투여받은 후에는 래트에게 먹이를 주었다. 소정량의 먹이를 래트에게 제공하고, 래트가 소비한 먹이량은 실험 시작 후 여러 시점에서 측정하였다. 옥신토모둘린/FDKP 건조 분말 제제를 폐 흡입으로 래트에게 투여하고 투약 후 여러 시점에서 먹이량 측정 및 혈액 샘플을 취하였다.

[0151] 도 10a 및 10b는 각각, 모든 시험 동물에 대한 순환 옥신토모둘린 농도와 대조군으로부터의 먹이 소비량 변화를 도시한다. 옥신토모둘린을 제공받은 래트는 투약 후 최대 6 시간 동안 대조군 래트보다 먹이 소비량이 유의적으로 적었다. 더 높은 용량을 투여한 래트는 투약 후에 측정된 모든 시점에서 최소량의 먹이를 소비하였기 때문에, 더 높은 용량의 옥신토모둘린은 더 낮은 용량에서보다 더욱 유의적으로 식욕을 억제하는 것으로 보이며, 이는 식욕 억제가 용량 의존적임을 보여준다.

[0152] 혈중 옥신토모둘린의 최대 농도는 10~30분에 검출되며, 1.5 mg 옥신토모둘린을 수용한 래트의 최대 혈장 농도가 311 $\mu\text{g/mL}$ 이고 3 mg 옥신토모둘린을 수용한 래트의 최대 혈장 농도가 660 $\mu\text{g/mL}$ 이므로, 옥신토모둘린의 최대 농도는 용량 의존적이었다. Sprague Dawley 래트에서 폐 통기에 의한 투여 후의 옥신토모둘린의 반감기($t_{1/2}$)는 약 25~51분 범위였다.

[0153] 실시예 4

[0154] 2형 당뇨병 환자로의 흡입성 건조 분말의 GLP-1의 투여

[0155] 폐 흡입에 의해 GLP-1 건조 분말 제제로 처리하기 전후에 환자의 포도당 수준을 평가하기 위해서 2형 당뇨병을 앓고 있는 환자에서 GLP-1/FDKP 흡입 분말의 1기 임상 시험을 수행하였다. 실시예 1 및 본 명세서에 개시된 바와 같이 연구를 수행하였다. 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 출원 11/735,957호에 개시된 바와 같이 GLP-1 흡입 분말을 제조하였다. 건조 흡입 분말은 1회 용량의 카트리지에 FDKP를 포함하는 건조 분말 제제 총 10 mg 중 인간 GLP-1(7-36) 아미드 1.5 mg을 함유하였다. 이 연구를 위해서, 성인 남성 및 폐경후 여성을 포함하는 2형 당뇨병 환자 20명을 밤새 금식시키고, GLP-1 흡입 분말 투여 후 4 시간 동안 금식시켰다. 건조 분말 제제는 Medtone® 건조 분말 흡입기(벤카인드 코포레이션)를 사용하여 투여하였으며, 본 명세서 중에 그 전문이 참고로 포함된 미국 특허 출원 10/655,153호에 개시되어 있다.

[0156] 처리된 환자로부터 혈청 포도당 수준을 평가하기 위한 혈액 샘플은 투약 전 30분, 투약시(0 시), 및 GLP-1 투여 후 약 2, 4, 9, 15, 30, 45, 60, 90, 120 및 240 분에 얻었다. 각 샘플에 대한 혈청 포도당 수준을 분석하였다.

[0157] 도 11은 이들 연구 결과를 나타내는 그래프이며, 각종 시점에서 GLP-1을 함유하는 흡입성 건조 분말 제제의 1회 용량을 투여한 후에 2형 당뇨병을 가진 6명의 공복 환자로부터 얻은 포도당 수준을 도시한다. 6명 모든 환자에 대한 포도당 값은 GLP-1 투여 후에 감소하였으며, 연구가 끝날 때 투여 후 4 시간 이상 동안 하락을 유지하였다.

[0158] 도 12는 포도당 수준이 도 11에 도시된 바와 같은 2형 당뇨병 공복 환자 6명의 그룹에 대한 평균 포도당 값을 보여주는 그래프이다. 도 12에서, 포도당 값은 6명 환자 모두에 대해 0시(투약시)로부터의 포도당 수준의 평균 변화로서 표시된다. 도 12는 30분 시점에서 달성되는 약 1 mmol/L의 평균 포도당 강하를 나타내며, 이는 약 18 mg/dL~약 20 mg/dL에 해당하는 것이다. 이것은 포도당 수준 강하가 120분 동안 지속됨을 의미한다. 이 변화는 더 높은 기준선 포도당을 나타내는 피험체에서 더욱 크고 기간이 긴 반면, 6명의 피험체 중 2명의 피험체는, 최저의 기준선 공복 혈당을 나타내었는데, 이 시간 동안 포도당 수준이 일시적으로 낮았다(데이타는 도시되지 않음), 공복 혈당이 더 높은 피험체는 통상적으로 더 낮은 값의 피험체와 동일한 인슐린 반응을 나타내지 않으므로, 자극시 공복 포도당이 더 높은 피험체는 포도당 수치가 정상에 더 가까운 피험체보다 더욱 큰 반응을 나타낸다는 것에 주목하였다.

[0159] 실시예 5

[0160] 온전한 GLP-1의 뇌 및 간으로의 1차 통과 분포 모델

[0161] 폐 전달 및 정맥내 볼루스 투여 후에 전신 순환을 통해서 GLP-1의 1차 통과 분포를 계산하여 GLP-1 투여의 양쪽 방법에 대한 전달 효과를 결정하였다. 다음의 가정 하에 모델을 개발하였다: (1) 폐로부터 폐 정맥으로의 GLP-1

의 흡수는 0차 역학을 나타내고; (2) 뇌 및 뇌 내의 GLP-1 분포는 순간적으로 일어나며; (3) 뇌 및 간 분포로부터의 GLP-1의 제거율은 오직 기본 혈류에 의해서만 제공된다. 이들 가정에 기초하여, 뇌 및 간에서 GLP-1의 양을 측정하는 분석은 일부 조직 및 장기에 의한 GLP-1 추출에 대한 공개 데이터(Deacon, CF. et al. "Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig." American Physiological Society, 1996, pages E458-E464), 및 인간 연구로부터 심박출량에 기인한 속도 및 신체로의 혈류 분포(Guyton Textbook of Physiology, 10th Edition; W. B. Saunders, 2000, page 176)를 기반으로 하였다. 휴식시 혈압과 같은 정상적인 생리적 파라미터를 가지는 정상 피험체(70 kg)에서, 뇌 및 간으로의 기본 혈류는 각각 700 mL/분 및 1350 mL/분이었다. 심박출량에 기초하여, 신체로의 혈류 분포는 뇌로 14%, 간으로 27% 및 남은 신체 조직으로 59%인 것으로 계산되었다(Guyton).

[0162] 상기 파라미터를 사용하여, 폐 및 정맥내 투여로 제공된 1 mg 용량에 대해 뇌와 간으로 분포되는 GLP-1의 상대량을 측정하였다. 1 mg GLP-1을 60초로 나누고, 얻어진 수를 뇌로의 혈류 분포인 14%와 곱하였다. 따라서, 매초 일정 용량의 비율이 뇌에서 나타난다. 뇌에서의 혈액이 150 mL이고 제거율이 700 mL/분임을 나타내는 입수 가능한 데이터로부터, GLP-1의 제거율에 대한 계산 결과는 약 12 mL/초이며, 이는 초당 뇌로부터 제거되는 혈액 부피 약 8%와 같다. Deacon 등이 보고한 돼지에서의 정맥내 연구에서, GLP-1의 40%는 정맥에서 순간적으로 대사되며, 10%는 또한 폐의 탈산소화 혈액에서 대사된다. 따라서, 총 GLP-1의 40%와 이어서 추가의 10%를, 정맥내 데이터 분석과 관련한 계산에서 투여된 총량으로부터 제외하였다.

[0163] 간에서 추정되는 GLP-1 양에 대해서는, IV 용량에 대해 40%와 추가의 10%의 총량 손실이 있으며, 정맥 및 폐 투여 경로에 대해 동일한 분해 가정이 이루어졌다. 남은 GLP-1의 27%는 간으로 분포되고, 이 혈액의 75%는 문맥상을 먼저 통과하는 혈액으로 분포되는 것으로 추정된다. 간에서의 혈액의 순간 분포를 추측하였다. 계산은 다음과 같다: 1 mg GLP-1을 60초로 나누고, 총 GLP-1의 40%와 이어서 추가의 10%를, 정맥내 데이터 분석과 관련한 계산에서 투여된 총량으로부터 제외하였다. 폐 투여에 대해 분해는 없다고 추정하였다. 얻어진 수에, 양 투여 경로에 대해 간으로의 유동 분포인 27%를 곱하고, 75%는 문맥상을 먼저 통과한다. Deacon 등에 의해 보고된 돼지에서의 정맥내 연구에서, 문맥상에 의한 20% 추출이 보고되었고; 따라서 GLP-1의 양의 75%는 간으로 도입되기 전에 20% 감소된다. 따라서, 매초 간에서 나타나는 GLP-1의 총량은 문맥상에서 대사를 진행하는 부분을 포함한다. 간에서의 혈액 부피가 750 mL이고 제거율이 1350 mL/분임을 나타내는 이용가능한 데이터로부터, GLP-1의 제거율에 대한 계산은 약 22.5 mL/초이며, 이는 초당 간으로부터 제거되는 혈액 부피의 약 3%이다. Deacon 등은 간에서 45% 분해를 보고하였으며, 따라서 총 GLP-1의 45%를 간에서 나타나는 총량으로부터 제하였으며, 남은 값을 총 잔여량에 더하였다.

[0164] 상기 개시된 계산 결과가 표 4 및 5에 제시되어 있다. 폐 투여 후 뇌 및 간에서의 계산된 GLP-1 분포(표 4)가 하기에 제시되어 있다:

표 4

1 mg GLP-1 의 폐 투여

시간(초)	뇌 (μg)	간 (μg)
1	2.3	2.10
5	9.94	9.91
60	29.0	58.9

[0165]

[0166] 정맥내 볼루스 투여 후에 GLP-1의 분포를 예시한 결과는 하기 표 5에 제시되어 있다:

표 5

1 분 동안 1 mg GLP-1 의 정맥내 볼루스 투여

시간(초)	뇌 (μg)	간 (μg)
1	1.26	1.14
5	5.37	5.35
60	15.6	31.7

[0167]

- [0168] 상기 데이타는 내인성 효소에 의한 GLP-1의 분해 후에 신체의 특정 조직으로의 GLP-1의 분포의 대표적인 예시를 나타낸다. 상기 측정값을 바탕으로, 폐 투여 후 뇌 및 간의 GLP-1의 양은 정맥내 볼루스 투여후 GLP-1의 양보다 약 1.82~약 1.86배 더 많다. 따라서, 투여후 여러 시점에서 GLP-1의 양이 정맥내 투여로 얻은 양의 약 2배이기 때문에, 이 데이타는 GLP-1의 정맥내 투여와 비교시 GLP-1의 폐 전달이 더욱 효과적인 전달 경로일 수 있음을 나타낸다. 따라서, 폐 투여에 의한 GLP-1을 포함하는 질병 또는 장애 치료는 동일하거나 또는 유사한 효과를 산출하는데 필요한 정맥내 GLP-1 용량의 거의 1/2, 또는 더 적은 총량을 필요로 한다.
- [0169] **실시예 6**
- [0170] 본 실시예의 연구를 실시하여, ZDF 래트에게 폐 통기에 의해 투여되는 FDKP, FDKP 이나트륨염, 숙시닐-치환-DKP(SDFP, 본 명세서에서 화합물 1이라고도 함) 또는 비대칭(푸마릴-모노치환)-DKP(본 명세서에서 또한 화합물 2라고도 함)를 포함하는 제제와 피하 투여에 의한 각종 활성제의 약력학 파라미터를 측정하였다. 래트를 8 그룹으로 나누고, 5마리의 래트를 각 그룹에 배정하였다. 그룹 1의 각 래트에게는 폐 액체 주입에 의해 인산염 완충 염수액 중 0.3 mg 엑센딘-4 용량을 제공하였으며; 그룹 2에게는 피하 주사로 인산염 완충 염수 중 0.3 mg 엑센딘-4를 제공하였다.
- [0171] 그룹 3 내지 8의 래트에게는 다음과 같이 폐 통기에 의해 활성제 또는 엑센딘-4를 투약하였다: 그룹 3에게는 폐 통기에 의해 GLP-1/FDKP 제제 2 mg을 제공한 다음, 2 mg 용량의 엑센딘-4를 제공하고; 그룹 4에게는 엑센딘-4/FDKP 제제를 제공하고; 그룹 5에게는 FDKP 이나트륨염 중 9.2% 적재량으로 제제화된 3 mg 용량의 엑센딘-4를 제공하고; 그룹 6의 래트에게는 FDKP 이나트륨염 중 13.4% 적재량으로 제제화한 2 mg 용량의 엑센딘-4를 제공하고; 그룹 7의 래트에게는 SDKP 중 14.5% 적재량으로 제제화한 2 mg 용량의 엑센딘-4를 제공하고; 그룹 8의 래트에게는 비대칭(푸마릴-모노-치환된)DKP 중 13.1% 적재량으로 제제화한 2 mg 용량의 엑센딘-4를 제공하였다.
- [0172] 많은 수의 피험체에게 적합하도록 2일 동안 동물 투약을 실시하였다. 각종 시제품을 동물에게 투여하고 투약후 여러 시점에서 혈액 샘플을 취하였다. 혈장 분리물에서 엑센딘-4 농도를 측정하였다; 결과는 도 13에 제공된다. 그래프에 도시된 바와 같이, FDKP를 함유하는 제제 중 엑센딘-4를 제공받은 그룹 4의 처리 래트는 피하 투여로 엑센딘-4를 제공받은 그룹 2의 래트보다 더 높은 수준으로 30분보다 일찍 혈액 중 더 높은 농도의 엑센딘-4를 나타내었다. 모든 그룹에서, 엑센딘-4의 수준은 투여한지 약 1 시간제에 급격히 감소하였다.
- [0173] ZDF 래트에서 폐 통기에 의한 엑센딘-4/FDKP의 투여는 피하 주사로 투여된 엑센딘-4와 유사한 용량-표준 C_{max} , AUC 및 생체이용률을 나타낸다. 폐 통기에 의해 투여된 엑센딘-4/FDKP는 피하 주사에 의한 엑센딘-4와 비교하여 반감기가 2배 이상이다. 푸마릴(단일 치환된)DKP, 또는 SDKP 제제로서 투여된 엑센딘-4는 피하 주사와 비교하여 더 낮은 용량 표준 C_{max} , AUC 및 생체이용률(약 50% 이하)을 나타내지만, 폐 흡입보다는 높은 수준이다.
- [0174] 밤새 금식시킨 후에, ZDF 래트에게 복강내 주사로 글루코스 챌린지(IPGTT)를 제공하였다. 엑센딘-4/FDKP로 처리하면 피하 경로에 의한 엑센딘-4와 비교하여 IPGTT 후의 혈당 수준이 더 감소하였다. 공기 대조군 동물과 비교하여, 각각 피하 주사에 의해 엑센딘-4를 투여한 동물 및 폐 투여에 의해 엑센딘-4/FDKP 분말을 투여한 동물에서 30분 및 60분 동안 IPGTT 후에 혈당 수준이 유의적으로 낮아졌다. 복강내 포도당 투여(IPGTT)로 처리한 후 폐 통기에 의해 엑센딘-4/FDKP 및 GLP-1로 처리한 그룹 3의 ZDF 래트는, 투약 후 30분에 단독 처리한 것과 비교하여 IPGTT 후에 혈당 수준을 유의적으로 낮추었다(-28% 대비 -24%).
- [0175] **실시예 7**
- [0176] 본 실시예의 연구는 정맥 주사와 비교하여 ZDF 래트로의 폐 투여에 의한 펩티드 YY(3-36) 제제의 약력학 및 약동학 프로파일을 측정하기 위해 실시하였다.
- [0177] 폐 전달을 위한 PYY/FDKP 제제의 제조: 이들 실험에 사용된 펩티드 YY(3-36) (PYY)는 아메리칸 펩티드로부터 입수하였으며, pH에 따라서 FDKP 입자 상에 흡착시켰다. 8 ml 투명한 병에 PYY 85.15 mg을 칭량하고 2% 수성 아세트산을 최종 중량 762 mg으로 첨가하여 10% 펩티드 스톱액을 제조하였다. 펩티드를 살짝 혼합하여 투명한 용액을 얻었다. FDKP 현탁액(4968 mg, FDKP 사전형성 입자 424 mg 함유)을 PYY 용액 함유 병에 첨가하여, PYY/FDKP 입자 현탁액을 형성하였다. 자기 교반 플레이트 상에 샘플을 두고, 실험 과정에서 철저히 혼합하였다. 마이크로 pH 전극을 사용하여 혼합물의 pH를 모니터링하였다. 14~15% 수성 암모니아액 2~3 μ l 분액을 사용하여 샘플의 pH를 점차 증가시켰다. 샘플 부피(상청액 분석을 위해서는 75 μ l; 현탁액에 대해서는 10 μ l)를 각 pH 점에서 분리하였다. 상청액 분석을 위한 샘플을 1.5 ml의 0.22 μ m 필터관으로 옮기고 원심분리하였다. 현탁액과 여과된 상청액 샘플을, 50 mM 중탄산나트륨 용액 990 μ l를 함유하는 HPLC 오토샘플러 병으로 옮겼다. HPLC로 희석된 샘

플을 분석하여 조제물의 특성을 평가하였다. 실험 결과, 예를 들어 PYY 용액의 10.2%가 pH 4.5에서 FDKP 입자로 흡착될 수 있음이 제시된다. 특정 조제물에서, 예를 들어 생성된 분말의 PYY 함량은 HPLC에 의해 14.5% (w/w)인 것으로 측정되었다. 분말의 공기역학적 특성의 캐스케이트 측정 결과는 MedTone[®] 건조 분말 흡입기(맨카인드 코포레이션)를 통해 방출되는 경우, 52%의 비율이 호흡가능하고 98% 카트리지가 배출된다는 것을 보여준다. 상기 결과를 기초로, 5%, 10%, 15% 및 20% PYY를 포함하는 PYY/FDKP 분말의 다수의 샘플 조제물을 제조하였다.

[0178] 약동학 및 약력학 연구: 이들 실험에 암컷 ZDF 래트를 사용하여 7개의 그룹으로 나누었다; 5마리의 래트를 각 그룹에 배정하였으며, 다만 그룹 1의 경우에는 3마리의 래트를 두었다. 할당 용량을 제공하기 전에 24 시간 동안 래트를 금식시키고, 투약 후에 먹이를 즉시 제공하였으며, 실험 기간 동안 원하는 대로 먹게 하였다. 그룹 1의 각 래트에게 인산염 완충염 용액 중 PYY 0.6 mg IV 용량을 제공하고; 그룹 2의 래트에게 폐 액체 주입으로 PYY 1.0 mg을 제공하고; 그룹 3의 래트를 대조군으로 지정하고 공기류를 제공하였으며; 그룹 4-7 래트에게 다음과 같이 폐 통기에 의해 투여되는 흡입용 건조 분말 제제를 투여하였다: 그룹 4 래트는 5% PYY (w/w) 적재량의 3 mg PYY/FDKP 분말 제제 중 PYY 0.15 mg을; 그룹 5 래트는 10% PYY (w/w) 적재량의 3 mg PYY/FDKP 분말 제제 중 PYY 0.3 mg을; 그룹 6 래트는 15% PYY (w/w) 적재량의 3 mg PYY/FDKP 분말 제제 중 PYY 0.45 mg을; 그룹 7 래트는 20% PYY (w/w) 적재량의 3 mg PYY/FDKP 분말 제제 중 PYY 0.6 mg을 투여받았다.

[0179] 각 래트에서 투약 후 30, 60, 90, 120, 240 분 및 24시간에 먹이 소비량을 측정하였다. 투약전과 투약후 5, 10, 20, 30, 45, 60 및 90분에 래트로부터 취한 혈액 샘플로부터 PYY 혈장 농도 및 포도당 농도를 각 래트에 대해 측정하였다. 이들 실험 결과는 도 14 내지 16과 하기 표 6에 제시되어 있다. 도 14는 각종 용량의 푸마릴-디케토피페라진을 포함하는 제제의 폐 투여에 의해 그리고 정맥내 투여에 의해 PYY 제제를 제공받은 암컷 ZDF 래트의 먹이 소비량을 측정한 실험으로부터 얻은 대표적인 데이타의 막대 그래프이다. 이 데이타는, 주입에 의해 PYY를 제공받은 그룹 2를 제외하고는 대조군과 비교하여 모두 PYY 처리된 래트의 먹이 소비량이 감소되었음을 보여준다. 래트의 먹이 소비량 감소는 대조군과 비교하여 PYY 투약 후 30, 60, 90 및 120분에 폐 통기에 의해 처리된 래트에 대해 통계학적으로 유의적이었다. 도 14의 데이타는, IV 투여(그룹 1)가 래트의 먹이 소비량을 감소시키는데 비교적 효과적이지만, FDKP 제제를 폐 경로로 투여한 동량의 PYY(0.6 mg)가 장기간 동안 먹이 섭취량을 줄이거나 또는 식욕을 억제하는데 더욱 효과적임을 보여준다. 대조군과 비교시 폐 PYY-FDKP 분말을 제공받은 모든 PYY 처리된 래트는 먹이를 덜 소비하였다.

[0180] 도 15는 PYY 제제를 IV 투여에 의해; 푸마릴-디케토피페라진을 포함하는 각종 제제를 폐 투여에 의해 제공한 암컷 ZDF 래트와 공기 대조군 래트에서 측정된 혈당 수준을 도시한다. 이 데이타는 폐 통기에 의해 PYY 처리된 래트의 혈당 수준이, PYY IV로 처리한 그룹 1의 래트를 제외하고, 대조군과 비교하여 비교적 유사하다는 것을 보여준다. 그룹 1의 래트는 투약한지 최대 약 15분에 다른 래트와 비교하여 더 낮은 초기 혈당 수준을 나타내었다.

[0181] 도 16은 투여 후 각종 시점에서 취한, PYY 제제를 IV 투여; 푸마릴-디케토피페라진을 포함하는 각종 제제를 폐 투여한 암컷 ZDF 래트와 공기 대조군 래트의 PYY의 혈장 농도를 측정한 실험으로부터 얻은 대표적인 데이타를 도시한다. 또한, 이들 측정값은 표 6에 제시되어 있다. 상기 데이타는 PYY IV를 투여한 그룹 1의 래트가 폐 통기에 의해 처리된 래트보다 더 높은 혈장 PYY 농도(30.7 $\mu\text{g/mL}$)에 도달하였음을 보여준다. PYY에 대한 피크 혈장 농도(T_{max})는 그룹 1, 6 및 7의 래트에 대해 약 5분이고, 그룹 2, 4 및 5의 래트에 대해 10분이었다. 이 데이타는 PYY/FDKP 제제를 이용한 폐 통기에 의해 처리된 모든 래트가 혈장 샘플 중에서 측정가능한 양의 PYY를 포함하지만, 그룹 7의 래트는 최대의 혈장 PYY 농도(4.9 $\mu\text{g/mL}$)를 나타내고, 값들은 투약후 최대 약 35분 동안 다른 그룹보다 높다는 것을 보여준다. 이 데이타는 또한 폐 통기에 의해 투여된 PYY의 혈장 농도가 용량 의존적임을 나타낸다. IV 주사에 의한 투여는 사용된 용량에서 PYY/FDKP의 폐 투여보다 PYY의 더 높은 정맥 혈장 농도를 얻을 수 있지만, 그럼에도 불구하고 PYY/FDKP의 폐 투여시 먹이 소비량의 억제가 더 컸다.

표 6

레트 그룹 번호	T½ (분)	Tmax (분)	Cmax (µg/mL)	AUC ₀₋₁₂ /D (분/mL)	BA (%)
1	13	5	30.7	0.61	100%
2	22	10	1.7	0.06	11
4	23	10	0.51	0.10	16
5	30	10	1.33	0.15	25
6	26	5	2.79	0.20	33
7	22	5	4.90	0.22	36

[0182]

[0183]

도 17은 인슐린, 엑센딘, 옥신토모듈린 및 PYY를 포함하는 몇몇 활성제에 대해 측정되고 여기에 예시된 바와 같은 본 약물 전달계의 효능을 예시한다. 구체적으로, 도 17은 전술한 활성제의 IV 및 SC 투여와 비교하여 폐 약물 전달계의 약물 노출 및 생체효과 사이의 관계를 입증한다. 도 17의 데이터는 본 발명의 폐 약물 전달계가 정맥내 또는 피하 투여보다 약물 노출량이 더 적고 생체효과는 더 크다는 것을 제시한다. 따라서, 표준 요법과 비교하여 목적하는 약물의 유사하거나 또는 큰 효과를 얻는데 더 적은 양의 약물 노출이 필요할 수 있다. 따라서, 일 구체예에서, 당뇨병, 고혈당증 및 비만을 비롯한 질병 치료를 위해 GLP-1, 옥신토모듈린, PYY와 같은 펩티드를 포함하는 활성제의 전달 방법은, 하나 이상의 활성제와 디케토피페라진을 포함하는 흡입성 제제를 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써, 다른 투여 방식을 이용하여 유사한 치료 효과를 얻는데 필요한 것보다 더 적은 활성제 노출에 의해 치료 효과를 얻는 것을 포함한다. 일 구체예에서, 활성제는 펩티드, 단백질, 리포킨을 포함한다.

[0184]

실시예 8

[0185]

식후 2형 진성 당뇨병의 GLP-1 활성 평가

[0186]

이 연구의 목적은 식후 포도당 농도에 대한 GLP-1 건조 분말 제제의 효과를 평가하고, 유해 사례, GLP-1 활성, 인슐린 반응 및 위 배출을 포함한 안전성을 평가하는 것이다.

[0187]

실험 디자인: 이 연구를 2 기간으로 나누고, 20세 내지 64세 연령의 2형 당뇨병으로 진단받은 20명의 환자를 참가시켰다. 제1기는 공개 연구, 1회 투약 시험으로서, 환자 중 15명을 밤새 금식시킨 후에 FDKP 중 GLP-1 1.5 mg을 포함하는 건조 분말 제제를 투여하였다. 대조군으로서, 5명의 피험체를 밤새 금식시킨 후에 FDKP 흡입 분말을 투여하였다. 제2기는 제1기 완료 후에 실시하였다. 이 부분의 연구에서는 환자를 각각 475 Kcal로 이루어지고 마커로서 ¹³C-옥타노에이트로 표지한식사 제공으로 4가지 순차 처리하였다. 이 연구는 이중맹, 이중위약, 교차의 식사 제공 연구로서 고안하였으며, 대조군으로서 염수 및 액세나티드를 식사 15분 전에 주사로 제공하였으며, 흡입성 GLP-1의 건조 분말 제제 또는 GLP-1을 포함하지 않는 건조 분말 제제로 이루어진 위약을 식사 직전에 투여하고 식후 30분에 반복하였다. 4가지 처리는 다음과 같았다: 제1 처리는 GLP-1을 포함하지 않는 건조 분말 제제 1.5 mg의 위약을 투여한 모든 환자로 이루어졌다. 제2 처리에서는, 모든 환자에게 FDKP를 포함하는 건조 분말 제제 중 1.5 mg GLP-1의 1회 용량을 투여하였다. 제3 처리에서는, 모든 환자에게 FDKP를 포함하는 건조 분말 제제 중 1.5 mg GLP-1의 2회 용량을 투여했는데, 1회는 식사 직전에, 1회는 식후 30분 내에 투여하였다. 제4 처리에서, 환자에게 피하 주사로 액세나티드 10 µg를 투여하였다. 각 환자로부터 얻은 혈액 샘플을 투약 전후 여러 시점에서 취하고, 몇몇 파라미터, 예컨대 GLP-1 농도, 인슐린 반응, 포도당 농도 및 위 배출에 대해 분석하였다. 이 연구 결과는 도 18 내지 20에 도시되어 있다.

[0188]

도 18은 상기 처리 그룹에 의한 평균 혈중 GLP-1 수준을 도시한다. 이 데이터는 FDKP 중 1.5 mg GLP-1을 포함하는 건조 분말 제제를 투여한 환자가 패널 A, B 및 C에 도시한 바와 같이 투약 직후 혈중 GLP-1을 유의적으로 더 높은 수준으로 나타내며, GLP-1의 수준이 식후 또는 공복 개체에서 투여 후에 급격히 감소한다는 것을 입증한다. 액세나티드 처리 그룹(패널 D) 또는 건조 분말 제제를 받은 대조군(패널 E)에서 GLP-1의 수준은 측정할 수 없었다.

[0189]

도 19는 처리 전 또는 후의 연구에서 환자의 인슐린 수준을 도시한다. 이 데이터는, 위약을 투여한 공복의 대조군 환자(패널 C)를 제외하고, 식사 제공 연구(패널 B)의 위약 처리 환자를 포함하는 처리 후의 모든 환자에서 내인성 인슐린이 생성된다는 것을 보여준다. 그러나, FDKP를 포함하는 건조 분말 조성물 중 GLP-1을 수용한 환자에서 인슐린 내성이 더욱 유의적이었으며, 인슐린 반응은 식후 및 공복 그룹(패널 D-F)에서 처리 직후에 관찰

되었다. 결과는 GLP-1의 건조 분말 제제로 처리한 환자에서 포도당 수준이 감소되었음을 또한 보여주었다. GLP-1의 건조 분말 제제의 투여는 혈당의 상승 지연과 포도당에의 전체 노출(AUC) 감소를 유도하였다. 상승 지연 및 노출 감소는 모두 GLP-1 흡입 분말의 2차 투여를 받은 피험체에서 더욱 현저하였다(데이터는 도시되지 않음). 인슐린 방출 범위는 환자마다 다르며, 일부는 적지만 생리적으로 관련된 수준의 인슐린을 나타내고, 나머지는 더 큰 인슐린 방출을 나타내었다. 환자간의 인슐린 반응의 차이에도 불구하고, 포도당 반응은 유사하였다. 인슐린 반응의 차이는 인슐린 내성 및 질병 진행 정도의 편차를 반영할 수 있다. 이 반응의 평가는, 더 큰 인슐린 내성과 질병 진행을 나타내는 (혈당 수준 조절시 효능 증가가 결여되는) 방출의 증가를 이용하여 질병 진행의 진단 지시자로서 이용할 수 있다.

[0190] 도 20은 처리 그룹에 의한 위 배출율(%)을 도시한다. 패널 A(제3 처리의 환자) 및 패널 B(제2 처리의 환자)는 패널 D(GLP-1 없이 FDKP를 포함하는 건조 분말 제제를 이용한 위약 처리 환자)에 제시된 대조군 환자와 유사한 위 배출 특성 또는 백분율을 나타낸다. 또한, 이 데이터는 10 μ g 용량에서도 엑세나티드로 처리한 환자가 대조군과 비교할 때 위 배출의 유의적인 지연 또는 억제를 나타낸다는 것을 보여준다. 이 데이터는 또한 FDKP 및 GLP-1을 포함하는 활성제를 전달하기 위한 본 발명의 약물 전달계가 위 배출을 억제하지 않고; GLP-1 전달 후에 신속한 인슐린 방출을 유도하며, 포도당 AUC 수준 감소를 유발한다는 것을 입증한다.

[0191] 본 발명은 특정 구체예들을 참조하여 구체적으로 제시 및 개시되어 있지만, 상기 개시한 특징 및 기능과 다른 특징 및 기능의 변화에 또는 이의 대안예가 바람직하게 다른 상이한 시스템 또는 응용으로 조합될 수 있음을 알 것이다. 또한, 하기 특허청구범위에 의해 포함되는 각종 우연한 또는 예상밖의 대안예, 변형예, 변화예 또는 개선예가 당업자에 의해 후속으로 이루어질 수 있다.

[0192] 달리 기재되어 있지 않은 한, 명세서 및 청구항에 사용된 성분의 양, 분자량과 같은 특성, 반응 조건 등을 나타내는 모든 수는 용어 "약"에 의해 모든 경우에 변경되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 반대로 언급되어 있지 않은 한, 하기 명세서 및 첨부된 특허청구범위에 기재된 수치적 파라미터는 본 발명에 의해 얻고자 하는 원하는 특성에 따라 변할 수 있는 대략적인 값이다. 여하튼, 등가물의 원칙의 적용을 특허청구범위에 제한하고자 하는 시도가 아니라, 각각의 수치적 파라미터는 적어도 보고된 유의적인 수의 견지에서, 통상의 어렵값 기술을 이용하여 해석되어야 한다. 본 발명의 광의의 범위를 기술하는 수치적 범위 및 파라미터가 대략적임에도 불구하고, 특정 실시예들에 기술된 수치적 값은 가능한 정확한 것으로 보고된다. 그러나, 임의의 수치적 값은 본래 이의 각각의 시험 측정시 발견되는 표준 편차로부터 필수적으로 생기는 일부 오차를 포함한다.

[0193] 본 발명을 기술하는 문맥상 (특히 하기 특허청구범위의 문맥상) 사용된 단수 및 유사한 지시 대상은, 본 명세서 중에 달리 언급된 바 없거나 상황상 명백한 모순이 없는 한, 단수와 복수를 모두 포괄하는 것으로 해석된다. 본 명세서에 개시된 값의 범위의 기재는 단순히, 각각의 별도의 값이 그 범위에 속한다는 것으로 개별적으로 언급하는 약식으로서 이용한 것이다. 달리 언급된 바 없다면, 각각의 개별적 값들은 본 명세서에 각각 기재된 바와 같이 명세서에 포함된다. 본 명세서에 개시된 모든 방법들은, 본 명세서에 달리 언급된 바 없거나, 또는 상황이 명백하게 모순되지 않는 한, 임의의 적당한 순서로 실시할 수 있다. 본 명세서에 제공된 임의의 모든 예, 또는 예시적인 언어(예, "와 같은")의 사용은 단지 본 발명을 더욱 분명하게 하기 위한 것이며, 청구된 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다. 명세서의 어떤 언어도 본 발명의 실시예에 필수적인 임의의 비청구 요소들을 지시하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0194] 본 명세서에 개시된 본 발명의 대안적인 요소들 또는 구체예들의 분류는 제한적인 것으로 해석되어서는 안된다. 각 그룹의 구성원은 본 명세서에서 발견되는 다른 요소 또는 그룹의 다른 구성원과 함께, 또는 개별적으로 언급되고 청구될 수 있다. 그룹의 하나 이상의 구성원이 편리성 및/또는 특허성의 이유로 그룹에 포함되거나 또는 그룹으로부터 제거될 수 있다. 임의로 포함 또는 제거하는 경우, 명세서는 변형된 대로의 그룹을 포함하는 것으로 간주되며, 따라서 특허청구범위에 사용된 모든 마쿠쉬 그룹의 기재를 충족한다.

[0195] 본 발명을 수행하기 위해 본 발명자들에게 알려진 최선의 양태를 포함하는 본 발명의 일부 구체예가 본 명세서에 개시되어 있다. 물론, 당업자는 전술한 개시내용으로부터 개시된 구체예를 명백하게 변화시킬 수 있을 것이다. 본 발명자들은 당업자가 그러한 변화예를 적절히 이용할 수 있을 것으로 예상하며, 본 발명자들은 본 명세서에 구체적으로 개시한 것 외에도 본 발명을 실시하게 하기 위한 것이다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법에서 허용되는 바와 같은 첨부된 특허청구범위에 기재된 청구 대상의 모든 변형예 및 등가예를 포함한다. 또한, 이의 모든 가능한 변화에 중 상기 개시한 실시예들의 임의의 조합은, 본 명세서에 달리 언급되거나 또는 상황상 명백하게 모순되지 않는다면 본 발명에 의해 포함된다.

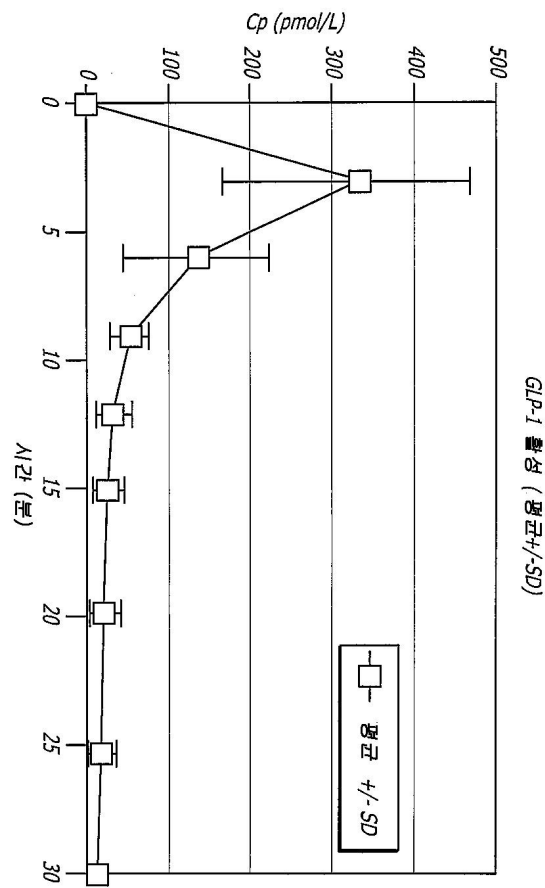
[0196] 또한, 명세서 내의 특허 및 인쇄 공개물을 참고할 수 있다. 상기 인용된 참조문헌 및 인쇄 공개물 각각은 본 명

세서 중에 개별적으로 그 전문이 참고로 포함된다.

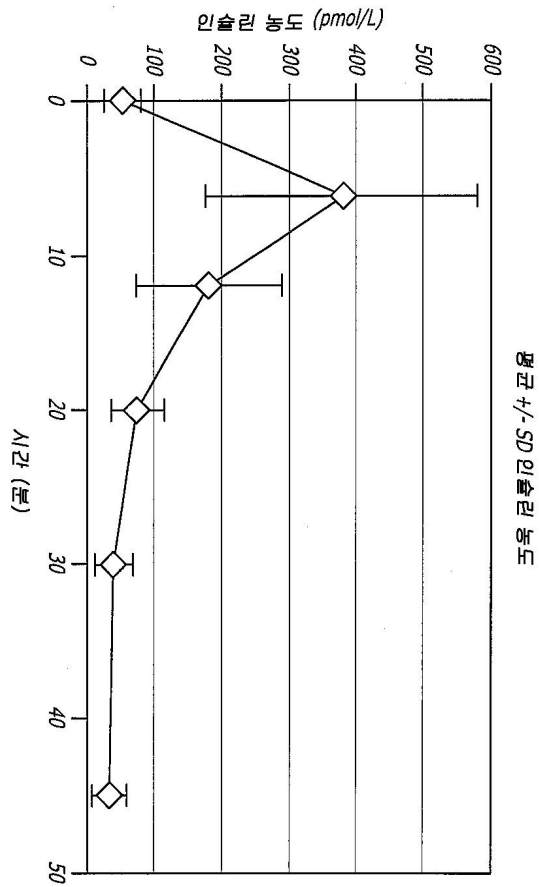
[0197] 마지막으로, 본 명세서의 구체예들은 본 발명의 원리를 예시하는 것으로 이해해야 한다. 사용할 수 있는 다른 변형예는 본 발명의 범위에 속한다. 따라서, 예로서 그러나 비제한적으로, 본 명세서의 교시 내용에 따라서 본 발명의 대안적인 구성을 이용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 정확히 제시 및 개시된 것에 한정되지 않는다.

도면

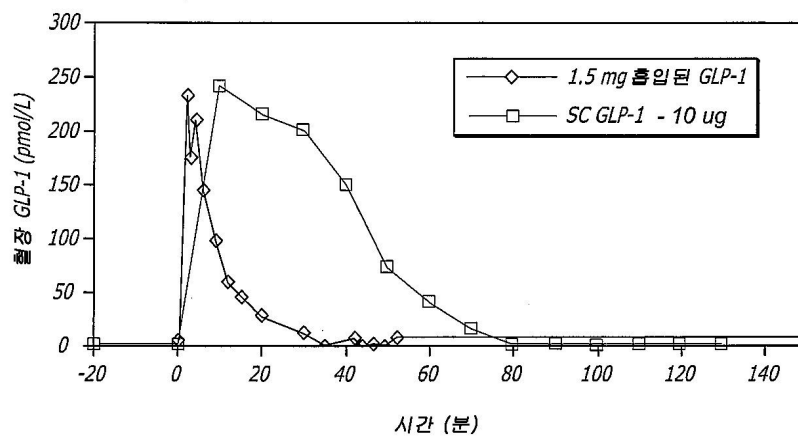
도면1



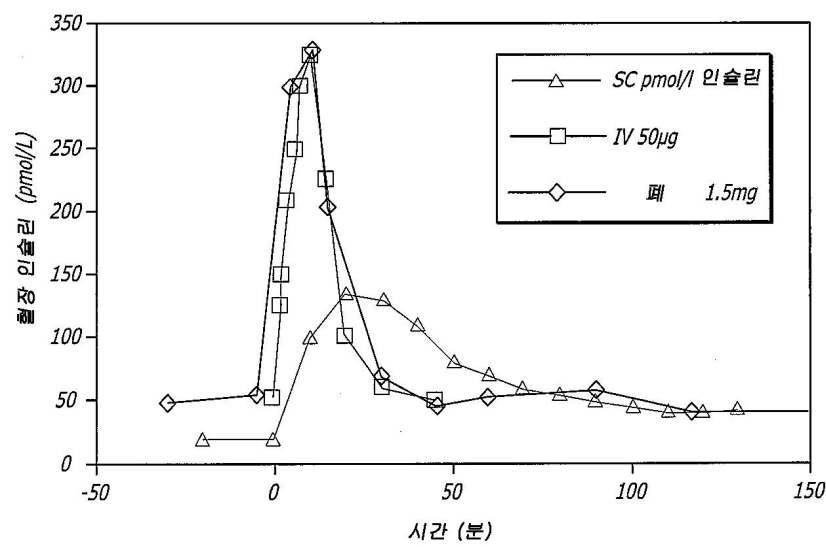
도면2a



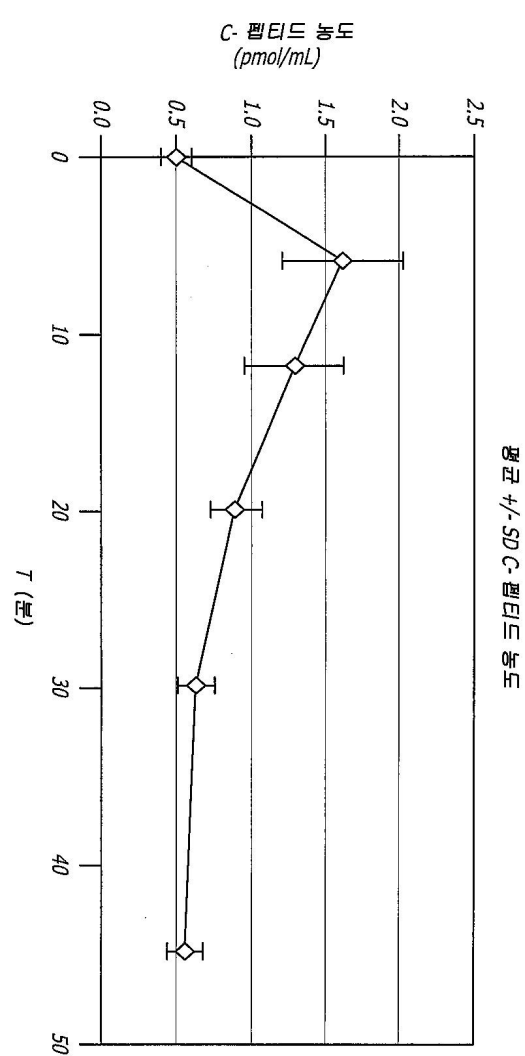
도면2b



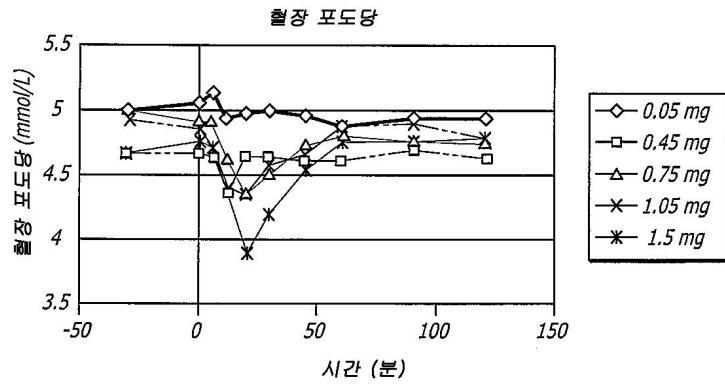
도면2c



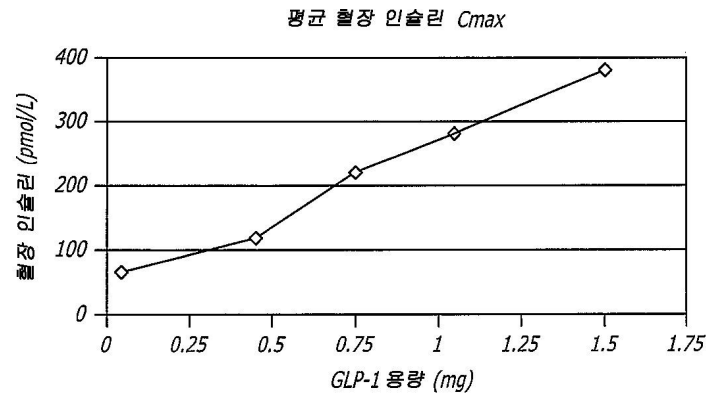
도면3



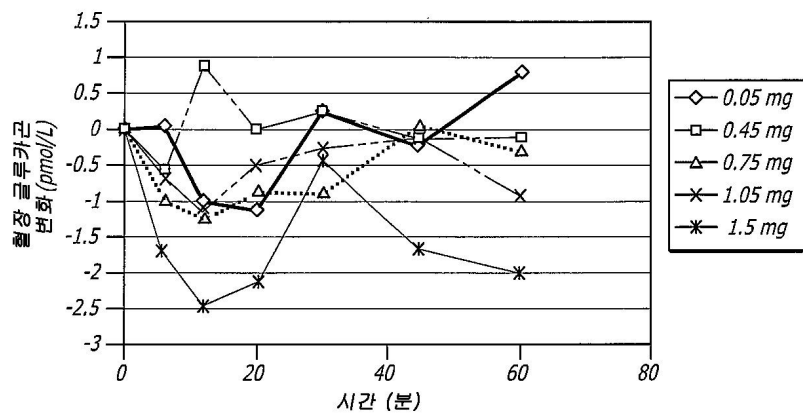
도면4



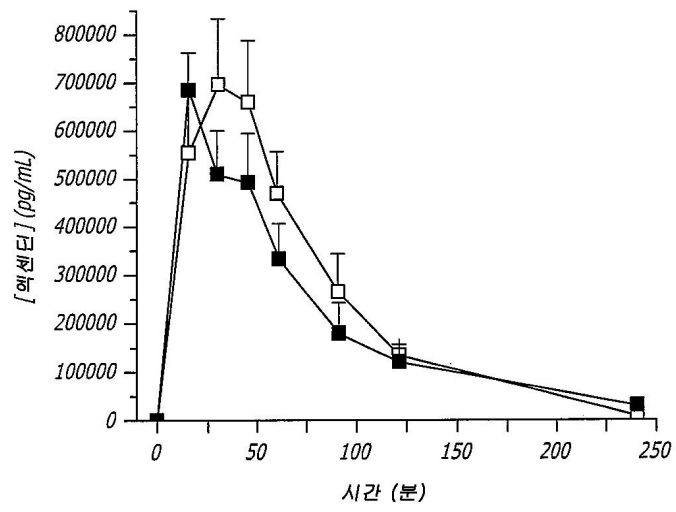
도면5



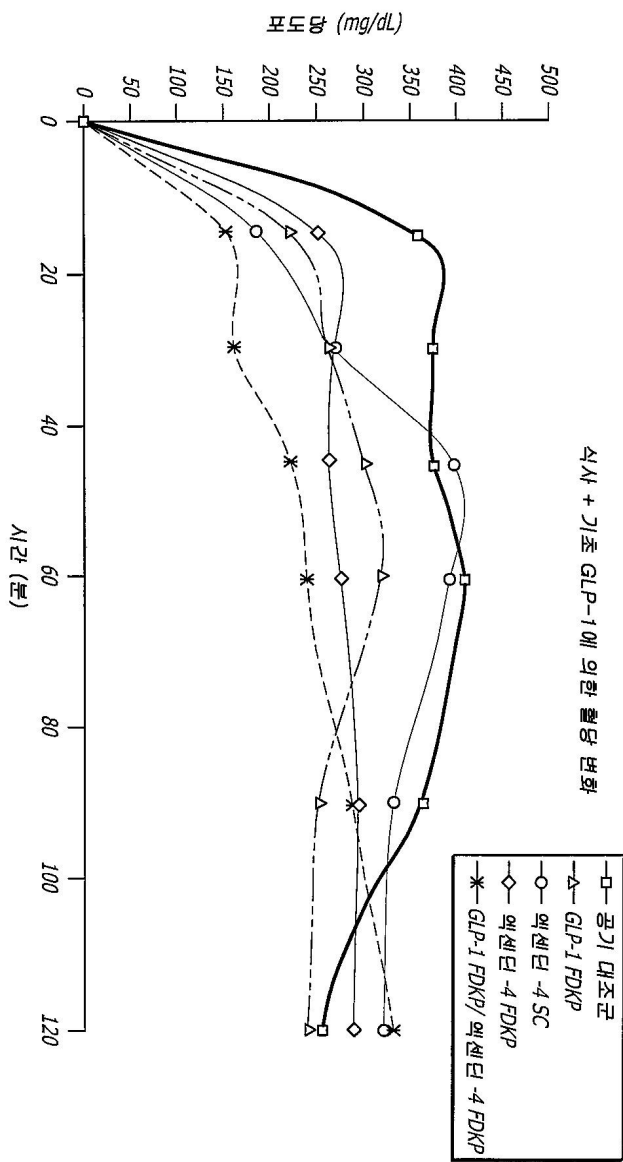
도면6



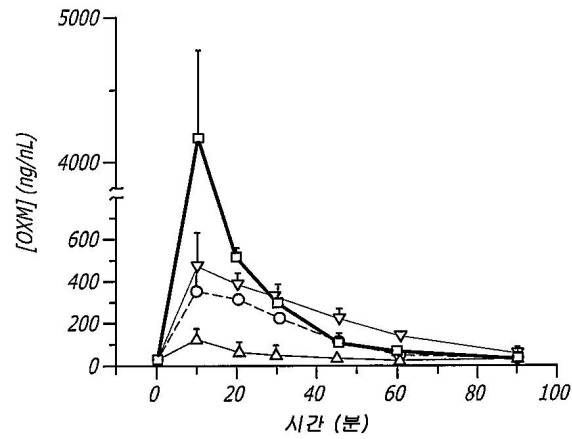
도면7



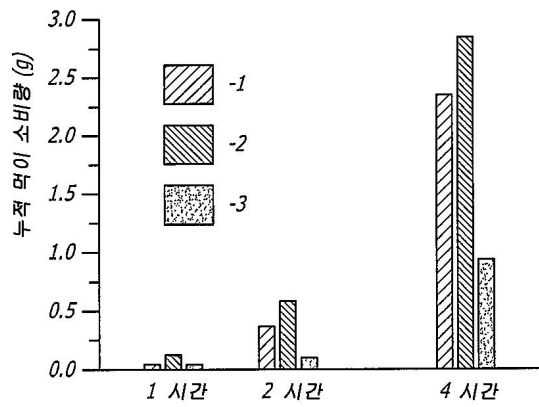
도면8



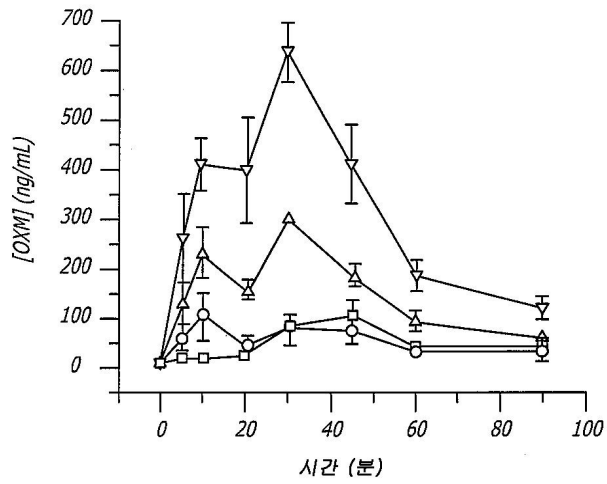
도면9a



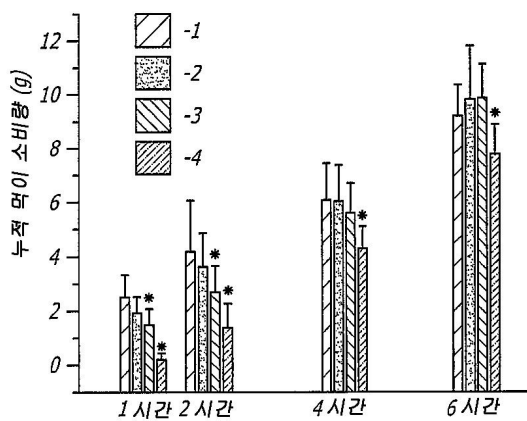
도면9b



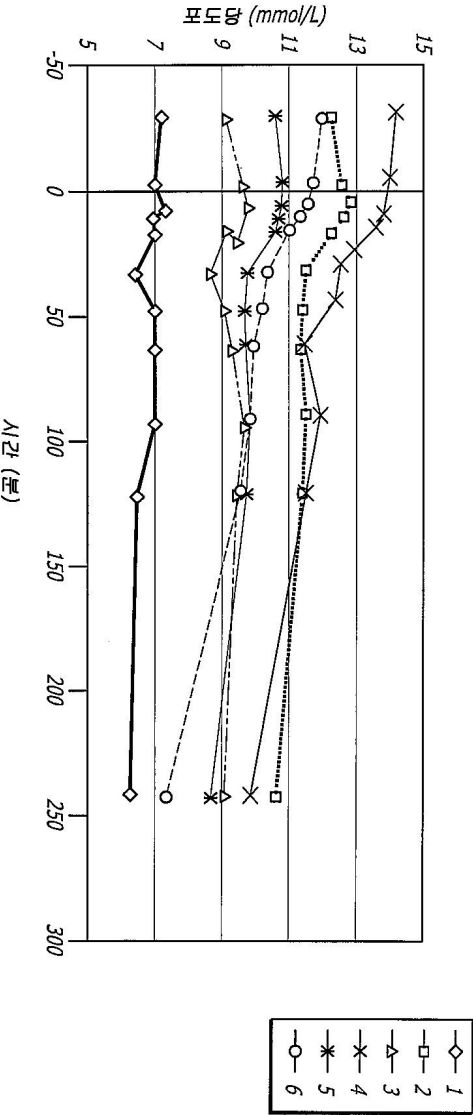
도면10a



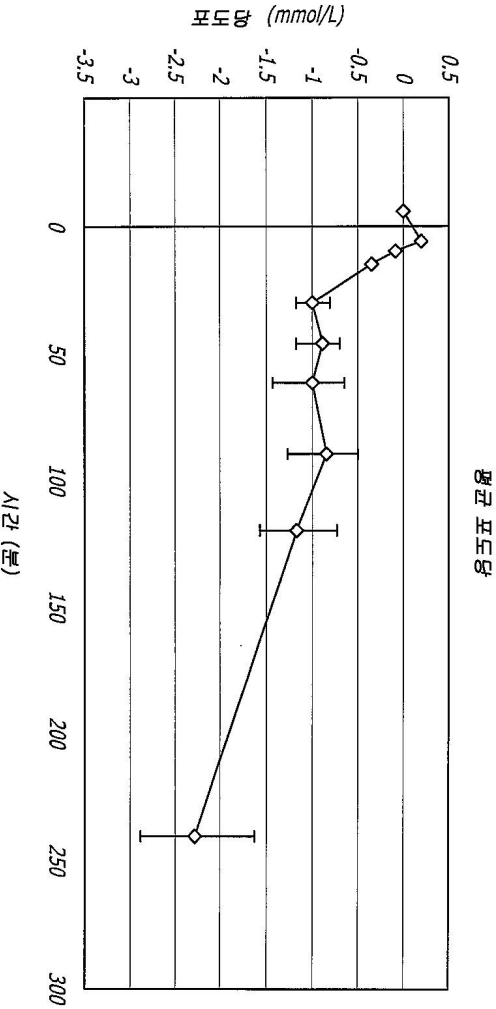
도면10b



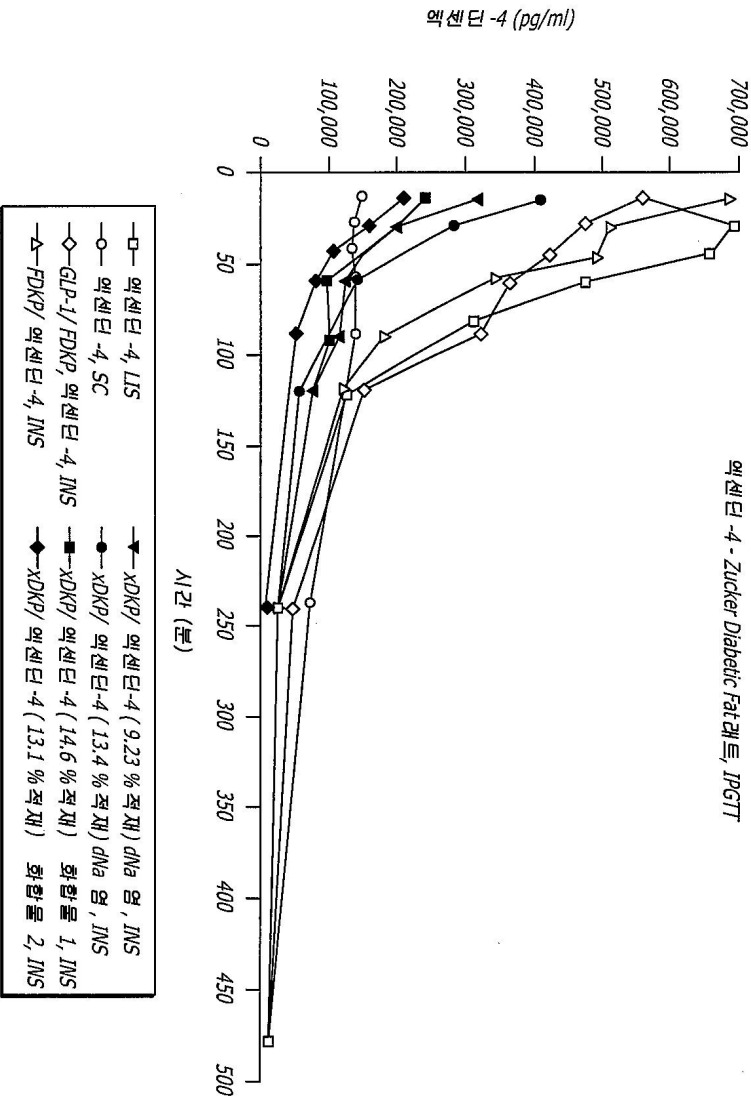
도면11



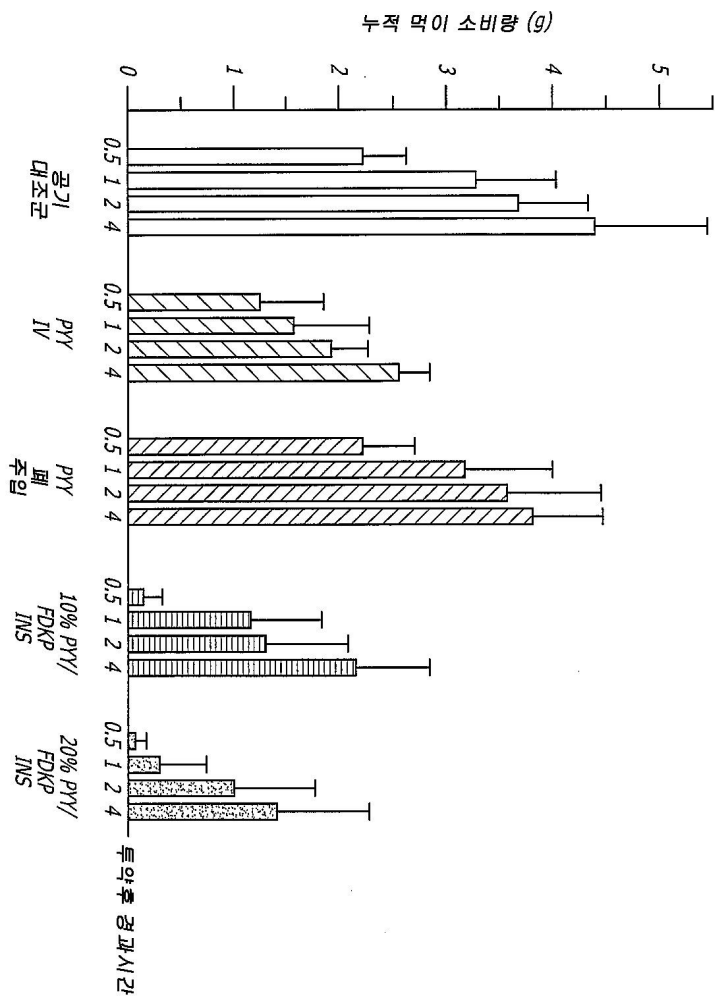
도면12



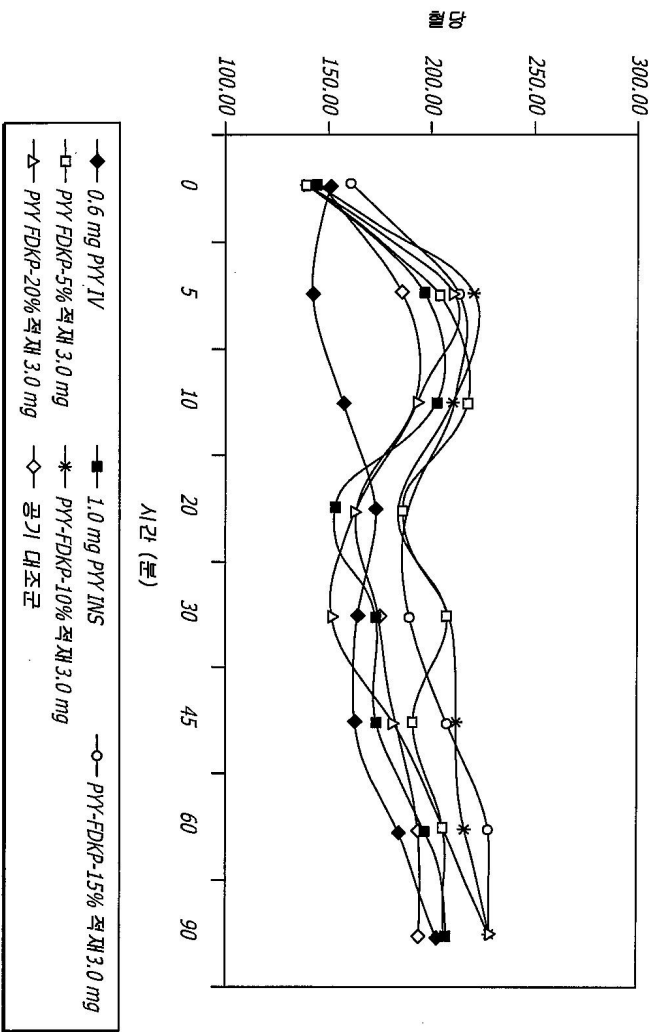
도면13



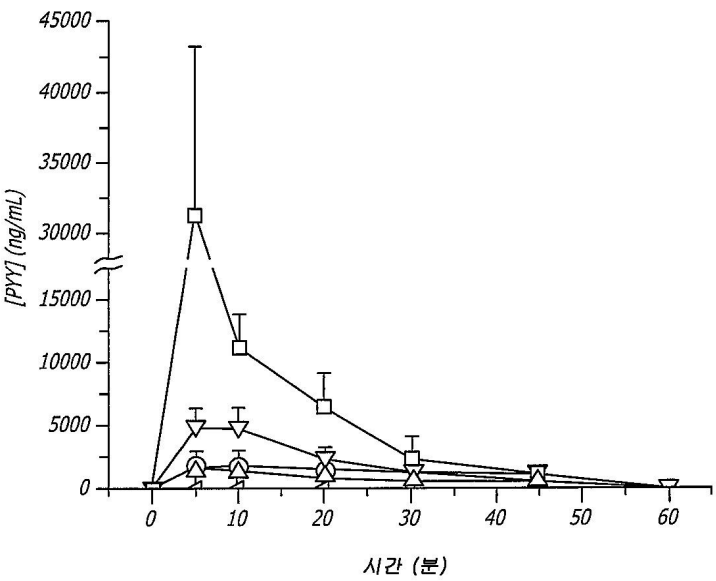
도면14



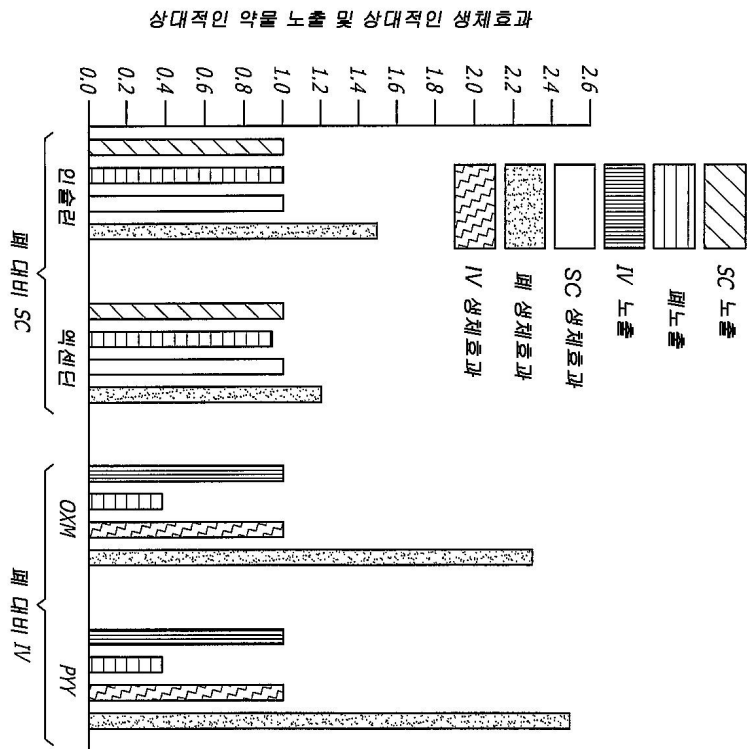
도면15



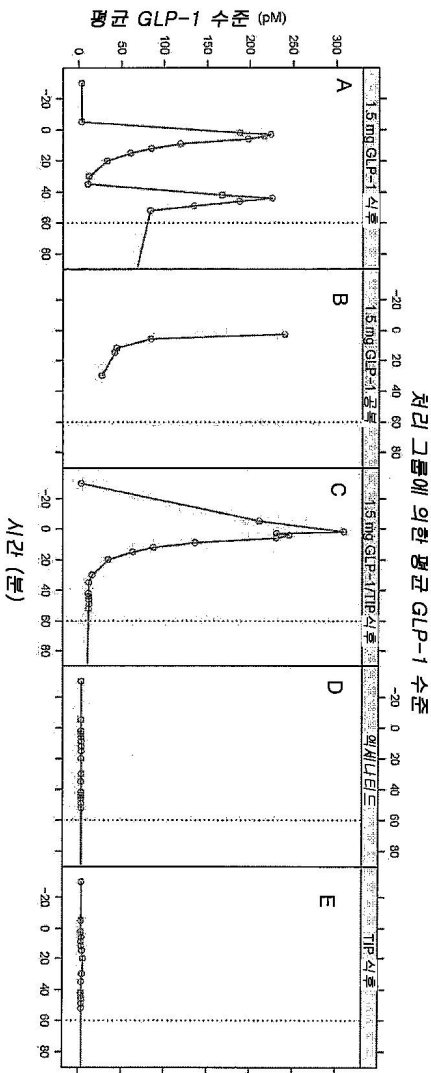
도면16



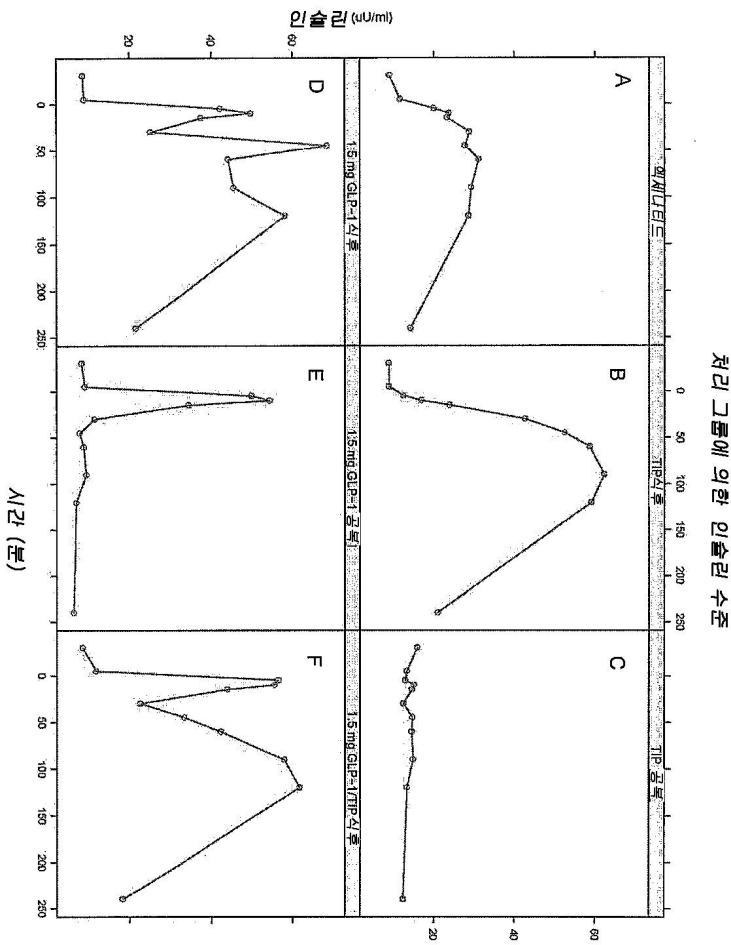
도면17



도면18



도면19



도면20

