(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년05월27일
(11) 등록번호 10-2256576
(24) 등록일자 2021년05월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 31/436* (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01) *A61K 9/14* (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01) *A61K 9/48* (2006.01)
A61M 15/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/0073 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7012016
(22) 출원일자(국제) 2014년10월07일
심사청구일자 2019년10월02일
(85) 번역문제출일자 2016년05월04일
(65) 공개번호 10-2016-0088300
(43) 공개일자 2016년07월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/059529
(87) 국제공개번호 WO 2015/054280
국제공개일자 2015년04월16일
(30) 우선권주장
61/888,066 2013년10월08일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20100166869 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

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

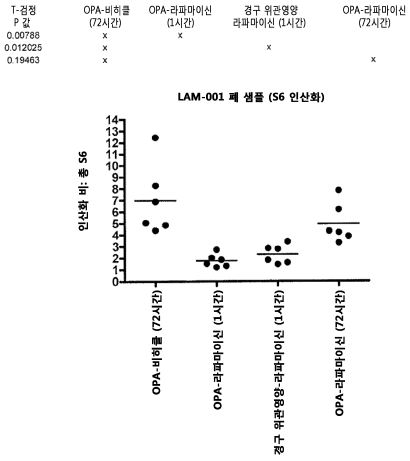
전체 청구항 수 : 총 33 항 심사관 : 강덕희

(54) 발명의 명칭 **림프관평활근종증의 치료를 위한 라파마이신**

(57) 요 약

본 발명은 림프관평활근종증의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 림프관평활근종증을 치료하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 방법은 상기 대상체에게 흡입을 통해 라파마이신 또는 그의 전구약물 또는 유도체 (유사체 포함)를 포함하는 에어로졸 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

대 표 도 - 도7



(52) CPC특허분류
A61K 31/445 (2013.01)
A61K 9/0075 (2013.01)
A61K 9/145 (2013.01)
A61K 9/1617 (2013.01)
A61K 9/1682 (2013.01)
A61K 9/4808 (2013.01)
A61K 9/4825 (2013.01)
A61M 15/00 (2013.01)
A61M 2202/064 (2013.01)
(72) 발명자
로스버그, 조나단 엠.
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트
리히텐슈타인, 헨리
미국, 코네티컷 06437, 길퍼드, 530 올드 윗필드 스트리트

명 세 서

청구범위

청구항 1

일정한 양의 약물의 미세입자, 담체의 입자, 및 1종 이상의 임의적 부형제를 포함하는, 폐 전달을 위한 건조 분말 제제로서, 상기 약물이 라파마이신인, 건조 분말 제제.

청구항 2

제1항에 있어서, 미세 입자가 1 내지 5 마이크로미터 또는 2 내지 3 마이크로미터의 질량 중앙 공기역학적 직경(Mass Median Aerodynamic Diameter, MMAD) 또는 Dv50을 갖는 약물의 입자로 이루어진 것인 건조 분말 제제.

청구항 3

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

청구항 4

제1항에 있어서, 담체의 입자가 1 내지 200 마이크로미터, 30 내지 100 마이크로미터, 또는 10 마이크로미터 미만 범위에 이르는 직경을 갖는 것인 건조 분말 제제.

청구항 5

제1항에 있어서, 담체가 제1 담체 및 제2 담체의 2종의 상이한 담체의 블렌드를 포함하거나 그로 이루어진 것인 건조 분말 제제.

청구항 6

제5항에 있어서, 담체가 2종의 상이한 락토스 담체의 블렌드로 이루어진 것인 건조 분말 제제.

청구항 7

제5항에 있어서, 제1 담체가 30-100 마이크로미터 범위에 이르는 직경을 갖는 입자로 이루어지고 제2 담체가 10 마이크로미터 미만의 직경을 갖는 입자로 이루어진 것인 건조 분말 제제.

청구항 8

제7항에 있어서, 2종의 상이한 담체의 비가 3:97 내지 97:3의 범위인 것인 건조 분말 제제.

청구항 9

제1항에 있어서, 분말 중 담체에 대한 약물의 비가 0.5% 내지 2% (w/w)인 것인 건조 분말 제제.

청구항 10

제9항에 있어서, 분말 중 담체에 대한 약물의 비가 1% (w/w)인 것인 건조 분말 제제.

청구항 11

제1항에 있어서, 약물의 양이 제제의 총 중량을 기준으로 0.5 내지 20% (w/w)인 것인 건조 분말 제제.

청구항 12

제11항에 있어서, 약물의 양이 1% 내지 2% (w/w)인 것인 건조 분말 제제.

청구항 13

제1항에 있어서, 1종 이상의 임의적 부형제가 존재하고 인지질 및 지방산의 금속 염으로부터 선택되는 것인 건조 분말 제제.

청구항 14

제13항에 있어서, 인지질이 디팔미틸포스파티딜콜린 및 레시틴으로부터 선택되는 것인 건조 분말 제제.

청구항 15

제13항에 있어서, 지방산의 금속 염이 스테아르산마그네슘인 것인 건조 분말 제제.

청구항 16

제13항에 있어서, 임의적 부형제 또는 부형제들이 담체 입자 상에 코팅되는 것인 건조 분말 제제.

청구항 17

제1항에 있어서, 약물이 mTORC1의 생물학적 활성을 억제하는 것인 건조 분말 제제.

청구항 18

제17항에 있어서, 약물이 S6 단백질의 인산화를 억제하는 것인 건조 분말 제제.

청구항 19

제1항에 있어서, 약물의 양이 폐에 전달되는 5 내지 400 마이크로그램의 흡입 가능 용량을 달성하는데 효과적인 양인 것인 건조 분말 제제.

청구항 20

제19항에 있어서, 흡입 가능 용량이 10, 50, 100 또는 250 마이크로그램인 것인 건조 분말 제제.

청구항 21

제1항에 있어서, 제제 중 약물의 양이 50 내지 500 ug, 50 내지 250 ug, 또는 50 내지 150 ug인 것인 건조 분말 제제.

청구항 22

제1항에 있어서, 1 내지 12개월 또는 1 내지 36개월의 보관 후에, 20% 초과의 미립자 분율 (FPF)을 갖고 상응하는 미립자 용량 (FPD)은 10 마이크로그램 내지 2 밀리그램, 또는 0.5 밀리그램 미만 범위에 이르는 것인 건조 분말 제제.

청구항 23

인간 대상체에서 림프관평활근종증을 치료하는데 사용하기 위한 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 건조 분말 제제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 1종 이상의 추가적 치료제를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 1종 이상의 추가적 치료제가 에스트로겐 길항제, 스타틴, src 억제제, 및 VEGF-R 억제제로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 26

제24항에 있어서, 1종 이상의 추가적 치료제가 레트로졸, 타목시펜, 심바스타틴, 사라카티닙, 파조파닙, 이마티

닙, 및 그의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 27

제23항에 있어서, 노력성 폐활량 (FVC) 및 노력성 호기량 (FEV1)에 의해 측정된 바와 같은 대상체의 폐 기능을 개선시키는데 효과적인 약물의 양을 전달하는 제약 조성물.

청구항 28

제23항에 있어서, 1일 1회 투여를 위한 제약 조성물.

청구항 29

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 약물의 수성 현탁액을 제조하는 단계, 약물 현탁액을 미분화에 적용하는 단계, 및 생성된 입자를 분무 건조시켜 건조 분말을 형성시키는 단계를 포함하는 습식 연마 공정에 의해 제조되는 건조 분말 제제.

청구항 30

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 건조 분말 제제 및 사용 설명서를 포함하는 제약 패키지 또는 키트.

청구항 31

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항의 건조 분말 제제를 함유하는 저장소를 포함하는 건조 분말 전달 장치.

청구항 32

제31항에 있어서, 저장소가 장치 내에 내장된 챔버, 캡슐, 또는 블리스터인 것인 건조 분말 전달 장치.

청구항 33

삭제

청구항 34

인간 대상체에서 림프관평활근종증을 치료하는데 있어서 사용하기 위한, 일정한 양의 약물의 미세 입자, 담체의 입자, 및 1종 이상의 임의적 부형제를 포함하는, 폐 전달을 위한 제약 건조 분말 조성물로서, 상기 약물이 라파마이신이고, 담체가 2종의 상이한 락토스 담체의 블렌드로 이루어지고, 제1 담체가 30-100 마이크로미터 범위에 이르는 평균 직경을 갖는 입자로 이루어지고 제2 담체가 10 마이크로미터 미만의 평균 직경을 갖는 입자로 이루어지고, 2종의 상이한 담체의 비가 97:3 내지 3:97이고, 라파마이신의 양이 25 내지 1400 마이크로그램인 것인 조성물.

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 림프관평활근종증의 예방 및 치료를 위한, 바람직하게는 흡입에 의해, 폐 전달을 위한 라파마이신을 포함하는 방법 및 제약 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 림프관평활근종증 (LAM)은 결절성 경화 증상군(tuberous sclerosis complex: TSC)을 가진 여성의 30-40%에 발병하는 다장기 질환, 즉 폐에 비정상적으로 성장하는 비정상 평활근-유사 세포의 광범위한 증식을 특징으로 하는 흔히 치명적인(often-fatal) 질환이다. 이들 세포 (LAM 세포로 칭해짐)의 증식은 폐에서의 낭종 및 축 림프관에서 유체로 채워진 낭종성 구조(cystic structure) [림프관근종(lymphangioleiomyoma)으로 칭해짐]의 형성을 야기한다. 결과는 폐 실질의 진행성 낭종성 파괴, 림프관, 기도의 폐쇄, 그리고 진행성 호흡 부전이다. 게다가, LAM 세포는 종양을 형성할 수 있다. 이들은 일반적으로 혈관증지방종으로 칭해지는 성장이 느린 과오종이다. 신장 혈관증지방종은 LAM 환자에서 신부전을 야기할 수 있다. LAM 세포의 비정상 증식은 적어도 부분적으로 결절성 경화 증상군 종양 억제 유전자(tumor suppressor gene), TSC1 또는 TSC2 중 하나에서 불활성화 돌연변이에 의해 유발된다. TSC 유전자는 라파마이신의 포유동물 표적 (mTOR)의 음성 조절 인자이다. mTOR 경로는 세포 성장, 대사, 및 세포 생존의 중요한 제어점이다. TSC 유전자의 불활성화의 결과로, LAM 세포는 Akt, 및 S6K를 포함한, mTOR 경로에서 많은 다른 키나제 및 mTOR의 구성적 활성화를 나타낸다.

[0003] LAM는 일반적으로 또한 남성에서 발생할 수 있지만, 일반적으로는 가임기 여성에서 발생한다. 이는 TSC를 가진 여성에서 가장 만연해 있지만, 이는 또한 TSC의 임상 증상을 갖지 않은 사람들뿐만 아니라, TSC1 또는 TSC2 종양 억제 유전자에서의 생식 세포 돌연변이를 갖지 않은 사람들에서도 발생할 수 있다. 이들 경우는 산발성 LAM으로 칭해진다. 따라서, LAM은 산발성, 비유전적 형태로뿐만 아니라 결절성 경화 증상군과 관련하여도 발생할 수 있다.

[0004] 비록 LAM이 서서히 진행될 수 있긴 하지만, 이는 궁극적으로 호흡 부전 및 사망을 야기한다. 증상 발현 후 10년에 환자의 55%는 숨이 가쁘고, 20%는 산소 호흡기에 의존하며, 10%는 사망한다. 예를 들어, 문헌 [Johnson *et al*. 2004 *Thorax*. Survival and disease progression in UK patients with lymphangioleiomyomatosis] 참조. 현재 LAM의 치료 또는 예방을 위한 승인된 약물은 없다. 주요 치료 선택법(treatment option)은 경구 라파마이신의 승인되지 않은 사용(off-label use) (장기 거부 반응의 예방 및 신장 이식을 위한 FDA 승인을 받은 시롤리무스, 이하 참조), 또는 경구 에베롤리무스의 승인되지 않은 사용을 포함한다.

[0005] 라파마이신은 스트렙토마이세스 히그로스코피쿠스(*Streptomyces hygroscopicus*)에 의해 생산된 마크로시클릭 트리엔 항생제이다. 예를 들어, 미국 특허 번호 3,929,992 참조. 라파마이신은 mTOR의 억제제이다. 라파마이신의 면역 억제 및 항염증 특성은 초기에는 이식 분야에서 및 자가면역 질환의 치료에서의 그의 사용을 나타냈다. 예를 들어, 이는 조직부적합 설치류에서, 알부민 알레르기 유발 검사(challenge)에 반응하는 체액성 (IgE-유사) 항체의 형성을 방지하고, 뮤린 T-세포 활성화를 억제하고, 장기 이식편의 생존 시간을 연장시키는 것으로 나타났다. 자가면역 질환의 설치류 모델에서, 이는 전신 홍반성 루푸스, 콜라겐 유도 관절염, 자가면역 I형 당뇨병, 자가면역 심근염, 실험적 알레르기성 뇌척수염, 이식편 대 숙주 질환, 및 자가면역 포도막망막염과 관련된 면역-매개 사례(immune-mediated event)를 억제한다.

[0006] 라파마이신은 또한 그의 일반 약물명, 시롤리무스로 칭해진다 (예를 들어, ANDA #201578 참조, 닥터 레비스 랩스 리미티드(Dr. Reddys Labs Ltd.)에 의함, 2013년 5월 28일 승인됨). 시롤리무스는 FDA 승인되고 와이어쓰(Wyeth) [화이자(Pfizer)]에 의해 라파뮨(RAPAMUNE)이라는 상표명으로 장기 거부 반응의 예방 및 신장 이식을 위해 미국에서 시판되고 있다. 이는 경구 용액 (1 mg/ml) 또는 정제 [다중 강도(multiple strength)]의 형태일 수 있다. 와이어쓰 (화이자)는 또한 정맥내 투여되는, 진행성 신장 세포암종의 치료를 위한 유도체를 상표명 토리셀(TORISEL) (템시롤리무스)에 의해 시판하고 있다. 템시롤리무스는 시롤리무스의 수용성 전구약물이다. 존슨 앤드 존슨의 자회사인 코디스(Cordis, a division of Johnson & Johnson)는, 사이퍼(CYPHER)라는 상표명으로 시롤리무스-용출 관상동맥 스텐트를 시판하고 있다. 이 맥락에서, 시롤리무스의 항증식 효과는 기구 혈관성형술 후에 관상 동맥의 재협착을 방지한다. US 2010/0305150 (Berg *et al*.) (Novartis(노바티스))는 신경피부 장애, 예컨대 결절성 경화증을 포함한 TSC에 의해 매개되는 것들, 뿐만 아니라 신경섬유종증 1형 (NF-1)에 의해 매개되는 것들을 치료하고 예방하기 위한 라파마이신을 기재한다. 라파마이신 및 그의 유도체는 추가로 문헌 [참조: Nishimura, T. *et al*. (2001) *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 163:498-502] 및 미국 특허 번호 6,384,046 및 US 6,258,823에 기재되어 있다.

[0007] 임상 승인 맥락에서 라파마이신 사용은 폐 독성 (라파뮨 라벨은 폐 이식 환자에 대해서는 적절하지 않음을 경고한다), 암 위험 증가, 및 당뇨병-유사 증상을 포함한 몇몇 공지된 유해 효과(adverse event)가 있다. 라파마이신은, 대개 간질성 폐렴의 형태로 폐 독성의 발생과 관련되어 있지만, 폐의 폐포 단백질증이 또한 문서화되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Nocera *et al*., Sirolimus Therapy in Liver Transplant Patients: An Initial Experience at a Single Center, *Transplantation Proceedings* (2008), 40(6), 1950-1952]; [Perez *et al*., Interstitial Pneumonitis Associated With Sirolimus in Liver Transplantation: A Case Report, *Transplantation Proceedings* (2007), 39(10), 3498-3499]; [Hashemi-Sadraei *et al*., Sirolimus-associated diffuse alveolar hemorrhage in a renal transplant recipient on long-term anticoagulation, *Clinical Nephrology* (2007), 68(4), 238-244]; [Pedroso *et al*., Pulmonary alveolar proteinosis - a rare pulmonary toxicity of sirolimus, *Transplant International* (2007), 20(3), 291-296] 참조. 라파마이신-유도 폐독성은 공지되어 있지 않다.

[0008] 심각한 호흡기 유해 효과는 또한 1 나노그램/mL 범위를 초과한 순환 혈중 농도를 초래하는 만성 투여 하에 항암 치료로서 시롤리무스 사용과 관련되어 있다. 예를 들어, 시롤리무스 전구약물, 템시롤리무스의 폐 독성이, "간질성 폐 질환은 신장암 환자에서 템시롤리무스 치료의 드문 부작용이다(interstitial lung disease is a rare side effect of temsirolimus treatment in renal cancer patients)"라는 점을 지적하는 2009 보고서에서 문서화되었다. [참조: Aparicio *et al*., *Clinical & Translational Oncology* (2009), 11(8), 499-510]; [참조: Vahid *et al*., Pulmonary complications of novel antineoplastic agents for solid tumors, *Chest* (2008)

133:528-538]. 게다가, 2012년 메타-분석은 템시롤리무스 또는 에베롤리무스가 투여된 암 환자의 10%가 삶의 질의 악화와 함께 가벼운 수준의 독성, 및 일부 경우에, 치료의 중단을 경험할 수 있다는 결론을 내렸다. 문헌 [Iacovelli *et al.*, Incidence and risk of pulmonary toxicity in patients treated with mTOR inhibitors for malignancy. A meta-analysis of published trials, *Acta oncologica* (2012), 51(7), 873-879.] 참조. 더욱이, 템시롤리무스로 래트에서 수행된 안전성 약리학 연구는 폐에서 폐포 대식세포 침윤 및 염증뿐만 아니라 호흡률 감소를 나타냈다 (USD FDA 웹사이트로부터 입수가능한 [Pharmacology Review for temsirolimus NDA 22088] 참조). 이들 유해 효과는 전신 투여의 결과로서 순환 혈액량 중 약물의 비교적 높은 농도의 조건 하에서 관찰되었다.

[0009] 경구 투여된 라파마이신은, 폐에 독성에 대한 그의 가능성에도 불구하고, 가능성이 있는 LAM 치료로서 예비 사전 가망(preliminary promise)을 나타냈다. 문헌 [*New Eng. J. Medicine* 364:1595-1606 (2011) and review by Hammes and Krymskaya, *Horm. Cancer* 4(2):70-7 (2013)]을 참조하고; 또한 문헌 [Ando *et al. Respir Investig.* 51(3):175-8 (2013) "The efficacy and safety of low-dose sirolimus for treatment of lymphangioleiomyomatosis"]을 참조. 그러나 임상적 증거는 또한 이 맥락에서 라파마이신의 한계 및 LAM의 치료를 위한 개선된 치료 및 치료 요법에 대한 필요성을 나타낸다. 라파마이신의 주요 한계는 약물을 만성적으로 사용할 필요가 있다는 것이고, 가장 중요하게는, 라파마이신이 (가능성이 있는 폐 독성에 더하여) 다른 유해 효과와 관련된다는 것이다. 예를 들어, 20명 환자에서 완료된 24개월 비무작위 비맹검 시험에서, 경구 투여된 시롤리무스를 TSC 또는 산발성 LAM을 가진 환자에서 신부전을 야기할 수 있는 성장이 느린 과오종인 혈관증지방종을 감소시키는 그의 능력에 대해 시험하였다. [참조: Bissler *et al.* (2008) Sirolimus for angiomyolipoma in tuberous sclerosis complex or lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med* 358(2):140-151]. 그 연구에서, 혈관증지방종은 치료 기간 동안에 "약간" 퇴축하지만 치료 중단 후 증가하는 경향이 있었다. 시롤리무스와 관련된 심각한 유해 효과는 설사, 폐렴, 신우신염, 봉와직염 (동물에게 물린 상처로부터), 구내염, 및 신장 혈관근지방종의 출혈을 포함했다. 투여는 신장 이식 환자에서 거부 반응을 예방할 혈청 표적 수준을 기준으로 하고 1 내지 15 ng/ml (혈중 시롤리무스 수준) 범위에 이르렀다. 또 다른 유사한 연구 (2상, 비무작위 비맹검 시험)에서 TSC 또는 산발성 LAM을 갖는 16명 환자를 최대 2년 동안 경구 시롤리무스로 치료하였다. [참조: Davies *et al* (2011) Sirolimus therapy for angiomyolipoma in tuberous sclerosis and sporadic lymphangioleiomyomatosis: a phase 2 trial. *Clin Cancer Res* 17(12):4071-4081]. 그 연구에서, 시롤리무스의 정상 상태의 혈중 수준은 3-10 ng/ml이었고, 환자의 절반 초과는 3-6 ng/ml의 유지 수준에서 유지하였다. 시롤리무스 치료는 신장 혈관증지방종의 지속적인 퇴축을 보였다. 그러나, 종양 반응이 치료의 지속으로 유지되었지만, 치료의 2년째 동안에는 추가 수축이 거의 일어나지 않았다. 시롤리무스와 관련된 유해 효과는 구강 점막염, 호흡기 감염, 단백뇨를 포함하였다. 문서화된 진행을 갖는 10명의 LAM 환자의 또 다른 연구에서, 심각한 재발성 하부 호흡기 감염 또는 시롤리무스-유도 폐렴 때문에 시롤리무스는 3명의 환자에서 중단되었다. [참조: *Neurohr et al.*, Is sirolimus a therapeutic option for patients with progressive pulmonary lymphangioleiomyomatosis? *Respiratory Research* (2011), 12:66]. 그 연구는 "시롤리무스가 급속히 감소하는 LAM 환자에서 치료 선택법으로서 고려될 수 있다"고 결론을 내렸지만 그의 "투여는 일부 환자에서 치료 중단을 필요로 하는 심각한 호흡기 유해 효과와 관련될 수 있다(administration may be associated with severe respiratory adverse events requiring treatment cessation in some patients)" 그리고 "시롤리무스의 중단은 폐 이식 전에 의무적이다(discontinuation of sirolimus is mandatory prior to lung transplantation)"라고 지적하였다. 마지막으로, 12개월 무작위 이중 맹검 89명 환자의 임상 시험을 LAM을 가진 46명 환자로 수행한 후에 12개월 관찰 기간을 가졌다. [참조: McCormack *et al* (2011) Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med* 364:1595-1606]. 환자를 5-15 ng/ml의 시롤리무스 혈중 수준으로 유지시켰다. 이 연구에서, 시롤리무스 치료는 폐 기능을 안정화시키고, 혈청 VEGF-D 수준을 감소시키고, 증상의 감소와 관련되고 삶의 질을 향상시켰다. 그러나 폐 기능의 안정화는 지속적인 치료를 필요로 하였다. 중요하게는, 이들 임상 연구 모두 시롤리무스의 경구 제제를 이용하였다. 이는 상기에서 인용된 논문에 의해 예시된 바와 같이, 폐에 직접 전달을 위한 라파마이신의 에어로졸 제제가 라파마이신의 널리 공지된 폐 독성의 관점에서 성공할 가능성은 매우 낮다고 여겼기 때문이다.

[0010] 2013년에 공개된 레러(Lehrer)에 의한 미국 특허 출원은 "라파마이신 (시롤리무스)은 문서에 의해 충분히 입증된 폐 독성, 간질성 폐렴 때문에 안전하게 흡입될 수 없다(rapamycin (sirolimus) cannot be safely inhaled because of its well-documented lung toxicity, interstitial pneumonitis)"는 견해를 반영한다. 문헌 [Chhajed *et al.* (2006) 73:367-374]을 인용하는 US 20130004436 참조. 레러 특허 출원은 폐암 및 림프관평활근종증을 치료하고 예방하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 비록 일부 조기 간행물, 예컨대 미국 특허

번호 5,080,899 (Sturm *et al.*) (1991년 2월에 출원됨) 및 미국 특허 번호 5,635,161 (1995년 6월에 출원됨)은, 흡입에 의해 전달을 위해 제제화되는 라파마이신의 일부 일반적인 설명을 함유하긴 하지만, 이러한 일반적인 설명은, 어떤 증거에 의해서도 뒷받침되지 않았고, 상기에서 논의된 보고에서 입증된 바와 같이, 이식의 맥락에서 면역억제제로서 및 항암의 맥락에서 세포 증식의 억제제로서 그의 더 널리 보급된 채택 후에 나타난 라파마이신-유도 폐 독성의 많은 보고된 발생률의 이전에 나온 것이었다.

[0011] WO 2011/163600은 라파마이신과 같이 마크롤리드 락톤인, 타크롤리무스의 에어로졸 제제를 기재한다. 그러나 타크롤리무스는 시롤리무스와 뚜렷이 구별되는 화학 물질이고 타크롤리무스의 분자 표적은 칼시뉴린이고, mTOR이 아니며, 라파마이신과는 달리, 타크롤리무스는 폐 독성을 보이지 않고 실제로 폐 이식 후에 거부 반응을 예방하기 위한 것으로 명시되어 있다.

[0012] 라파마이신-유도 폐 독성에 대한 가능성이 널리 퍼진 인식의 관점에서, LAM의 치료에서 폐 전달을 위한 라파마이신을 포함하는 제약 조성물은 인간에서 실행 가능한 치료 선택법으로 고려되지 않았다.

[0013] 흡입을 통해 폐에 약물 전달은 낭성 섬유증, 폐렴, 기관지 천식 및 만성 폐쇄성 폐 질환과 같은 흔한 국소 병태, 호르몬 대체, 통증 관리, 면역 결핍, 적혈구 생성, 당뇨병, 폐암 등을 포함한 일부 전신 병태를 포함한 다양한 병태를 치료하는 중요한 수단이다. 문헌 [Yi *et al. J. Aerosol Med. Pulm. DrugDeliv.* 23:181-7 (2010)]에 의한 검토 참조. 흡입에 의해 폐암의 치료용으로 명시된 작용제는 시스플라틴, 카르보플라틴, 탁산, 및 안트라시클린을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,419,900; 6,419,901; 6,451,784; 6,793,912; 및 미국 특허 출원 공개 번호 US 2003/0059375 및 US 2004/0039047 참조. 게다가, 흡입에 의해 투여된 독소루비신 및 테모졸로미드가 폐 전이를 치료하기 위해 제안되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 7,288,243 및 미국 특허 출원 공개 번호 2008/0008662 참조.

[0014] **도면의 간단한 설명**

[0015] 도 1: 마우스 혈액 중 10.6 ng/mL 라파마이신 (위) 및 내부 표준 (아래)의 LC-MS/MS 크로마토그램.

[0016] 도 2: 마우스 폐 균질액(Homogenate) 중 10.6 ng/mL 라파마이신 (위) 및 내부 표준 (아래)의 대표적 크로마토그램.

[0017] 도 3: 마우스 혈액 중 라파마이신에 대한 교정 곡선.

[0018] 도 4: 마우스 폐 균질액 중 라파마이신에 대한 교정 곡선.

[0019] 도 5: OPA에 의해 라파마이신이 투여된 마우스 2-07로부터의 혈액 중 라파마이신 (위) 및 내부 표준 (아래)의 대표적 크로마토그램.

[0020] 도 6: OPA에 의해 라파마이신이 투여된 마우스 2-07로부터의 폐 균질액 중 라파마이신 (위) 및 내부 표준 (아래)의 대표적 크로마토그램.

[0021] 도 7: OPA 및 라파마이신의 경구 투여 후에 마우스 폐에서의 S6 인산화.

[0022] 도 8: 1일 1회 반복된 폐 투여를 위한 예측 라파마이신 혈중 농도.

발명의 내용

[0023] **발명의 개요**

[0024] 본 발명은, 부분적으로, 라파마이신을 동물 연구에서 폐에 직접 전달한 경우 라파마이신의 놀라운 약물동태학의 발견을 기반으로 한다. 예기치 않게, 폐에 직접 투여는 혈액과 비교하여 폐 조직에서 라파마이신의 더 높은 농도를 초래하였다. 이는 라파마이신과 같은 매우 친유성인 소분자 약물은 전형적으로 폐에서 순환계로 급속히 확산한 다음에 분배의 부피 내에 균일하게 재분배될 것으로 예상되는 것과는 대조적이다. 게다가, 약물은 치료 효과가 충분히 높은 농도로 폐에 존속하였다. 마지막으로, 폐에 직접 투여는 또한, 특히 간질성 폐렴의 형태로 폐 독성과 라파마이신의 관련성의 관점에서 또 다른 예기치 않은 결과인, 호흡기에서의 어떤 급성 또는 만성 독성도 초래하지 못했다.

[0025] 본원에 기재된 바와 같이, TOR 신호전달 경로에 의해 영향받는 질환 및 장애의 효과적인 국소 치료 및 예방을 제공하기 위해, 바람직하게는 흡입에 의해, 폐에 직접 전달되는, 라파마이신, 그의 전구약물, 유도체, 및 유사체의 제약 제제에 대한 필요성이 있다. 이러한 국소화 치료는 약물의 전신 전달로부터 생긴 라파마이신의 상승된 농도와 관련된 것들을 포함한, 독성 및 유해 효과를 감소 또는 제거한다. 본 발명은 이러한 필요성을 해결

한다.

[0026] 본 발명은 폐 조직에 낮은 독성으로 또는 어떤 독성도 없이 폐에 mTOR 신호전달을 억제하는데 효과적인 라파마이신의 양을 제공하고, 약 1 ng/ml 미만의 라파마이신의 혈중 수준을 초래하는, 폐에 직접 전달하기 위한 라파마이신의 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은, 특별히 그의 만성 또는 장기간의 사용에 관하여, 1 ng/ml 내지 15 ng/ml의 범위의 존속 혈중 농도를 초래하는 라파마이신의 현재 투여 형태와 비교하여, 개선된 안전성 프로파일을 제시하는 것으로 예상된다. 이는 생성된 라파마이신의 매우 낮은 혈중 수준의 관점에서 라파마이신의 전신 노출로 인해 전혀 없거나 실질적으로 보다 적은 유해 효과의 개연성과 조합된 본 조성물의 낮은 폐 독성으로 인한 것으로 예상된다. 따라서, 본 발명의 조성물은 위장관을 통해 또는 정맥내로 전달되는 기존 투여 형태와 비교하여 더 큰 치료 지수를 나타낼 것으로 예상된다.

[0027] 본 발명은 바람직하게는 흡입에 의해, 폐 전달을 위해 설계된 라파마이신을 포함하는 제약 조성물을 사용하여 LAM의 치료 및 예방을 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 LAM의 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 라파마이신 (시롤리무스로도 칭해짐), 또는 그의 전구약물 또는 유도체를 포함하는 에어로졸화가능한 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 LAM의 치료 및 예방 방법을 제공한다. 본 발명의 조성물은 단독으로, 또는 LAM의 치료를 위한 하나 이상의 추가적 치료 또는 치료적 요법과 조합하여 사용될 수 있다. 게다가, 본원에 제공된 조성물은 조성물 중 단독 치료제로서, 라파마이신, 또는 그의 전구약물 또는 유도체를 포함할 수 있거나, 라파마이신은 단일회 투여 형태로 1종 이상의 추가적 치료제로 제제화될 수 있다.

[0028] 따라서, 본 발명은 인간 대상체에서 림프관평활근종증을 치료하는데 있어서 사용하기 위한, 라파마이신, 또는 그의 전구약물 또는 유도체로부터 선택된 양의 약물의 미세 입자, 담체의 입자, 및 1종 이상의 임의적 부형제를 포함하는, 폐 전달을 위한 제약 건조 분말 조성물을 제공한다.

[0029] 한 실시양태에서, 조성물 중 약물의 양은 50 내지 500 마이크로그램, 50 내지 250 마이크로그램, 또는 50 내지 150 마이크로그램이다.

[0030] 한 실시양태에서, 약물은 라파마이신이다. 한 실시양태에서, 약물은 에베롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스, 우미롤리무스, 및 조타롤리무스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0031] 한 실시양태에서, 미세 입자는 약 0.1 내지 10 마이크로미터 또는 약 1 내지 5 마이크로미터의 평균 직경을 갖는 약물의 입자로 이루어진다. 한 실시양태에서, 입자는 약 1.5 내지 4 마이크로미터, 약 1.5 내지 3.5 마이크로미터, 또는 약 2 내지 3 마이크로미터의 평균 직경을 갖는다.

[0032] 담체는 아라비노스, 글루코스, 프럭토스, 리보스, 만노스, 수크로스, 트레할로스, 락토스, 말토스, 전분, 덱스트란, 만니톨, 리신, 류신, 이소류신, 디팔미틸포스파티딜콜린, 레시틴, 폴리락트산, 폴리(락트산-코-글루탐산), 및 크실리톨, 및 이들의 임의의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 한 실시양태에서, 담체는 2종의 상이한 담체의 블렌드를 포함하거나 그로 이루어진다. 담체의 입자는 내지 200 마이크로미터, 30 내지 100 마이크로미터, 또는 10 마이크로미터 미만 범위에 이르는 직경을 가질 수 있다. 담체가 2종의 상이한 담체의 블렌드로 이루어진 경우, 각각의 담체는 평균 입자 직경으로서 측정된, 상이한 크기 범위의 입자로 이루어진다. 한 실시양태에서, 담체는 제1 담체 및 제2 담체의 2종의 상이한 담체의 블렌드로 이루어진다. 제1 담체는 약 30-100 마이크로미터 범위에 이르는 직경을 갖는 입자로 이루어지고 제2 담체는 10 마이크로미터 미만의 직경을 갖는 입자로 이루어진다. 2종의 상이한 담체의 비는 3:97 내지 97:3의 범위이다. 한 실시양태에서, 담체는 2종의 상이한 락토스 담체의 블렌드로 이루어진다.

[0033] 분말 중 담체에 대한 약물의 비는 0.5% 내지 2% (w/w)일 수 있다. 한 실시양태에서, 분말 중 담체에 대한 약물의 비는 1% (w/w)이다.

[0034] 조성물 중 약물의 양은 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.5% 내지 20% (w/w)일 수 있다. 한 실시양태에서, 약물의 양은 약 1% 내지 2% (w/w)이다.

[0035] 한 실시양태에서, 1종 이상의 임의적 부형제는 조성물에 존재하고 인지질 및 지방산의 금속 염, 및 이들의 혼합물로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 인지질은 디팔미틸포스파티딜콜린 및 레시틴으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 지방산의 금속 염은 스테아르산마그네슘이다. 한 실시양태에서, 부형제 또는 부형제들은 0.01 내지 0.5% 범위에 이르는 큰 담체 입자에 대한 부형제의 중량비로 담체 입자 상에 코팅된다.

[0036] 한 실시양태에서, 조성물 중 약물의 양은 mTORC1의 생물학적 활성을 억제하는데 효과적인 양이다. 한 실시양태

에서, 약물의 양은 S6K 단백질의 인산화를 억제하는데 효과적인 양이다. 한 실시양태에서, 약물의 양은 폐에 전달되는 5 내지 400 마이크로그램의 흡입 가능 용량(respirable dose)을 달성하는데 효과적인 양이다. 한 실시양태에서, 흡입 가능 용량은 약 10, 약 50, 약 100 또는 약 250 마이크로그램이다. 한 실시양태에서, 약물의 양은 5 ng/ml 미만, 2 ng/ml 미만, 1 ng/ml 미만, 0.5 ng/ml 미만, 또는 0.25 ng/ml 미만의 대상체에서의 혈중 최저 수준(blood trough level)을 초래하는데 효과적인 양이다. 한 실시양태에서, 혈중 최저 수준은 1 ng/ml 미만, 0.5 ng/ml 미만 또는 0.25 ng/ml 미만이다. 한 실시양태에서, 약물의 양은 1 ng/g 내지 1 마이크로그램(ug)/g의 폐 조직에서의 약물의 농도를 초래하는데 효과적인 양이다. 한 실시양태에서, 폐 조직에서의 약물의 농도는 약 10 ng/g, 약 25 ng/g, 약 50 ng/g, 약 100 ng/g, 또는 약 200 ng/g이다. 한 실시양태에서, 약물은, 바람직하게는 인간 대상체에게, 투여 후 약 6 내지 10시간, 약 6 내지 14시간, 약 6 내지 24시간, 및 약 6 내지 72시간으로부터 선택되는 기간 동안 약 1 ng/g, 약 10 ng/g, 약 25 ng/g, 약 50 ng/g, 또는 약 100 ng/g의 치료 수준으로 폐에 존속한다. 한 실시양태에서, 기간은 약 10시간, 약 14시간, 약 24시간, 및 약 72시간으로부터 선택된다.

[0037] 한 실시양태에서, 조성물은 1 내지 12개월 또는 1 내지 36개월의 보관 후에, 20% 초과의 미립자 분율(fine particle fraction: FPF)을 갖고 상응하는 미립자 용량(fine particle dose: FPD)은 10 마이크로그램 내지 2 밀리그램, 바람직하게는 0.5 밀리그램 미만 범위에 이른다. 한 실시양태에서 전달 용량(delivered dose: DD) 또는 방출 용량(emitted dose: ED)으로 칭해지는 환자에게 전달된 용량은, 25 마이크로그램 내지 2.5 밀리그램, 바람직하게는 0.5 밀리그램 미만 범위에 이른다.

[0038] 한 실시양태에서, 조성물은 추가로 1종 이상의 추가적 치료제를 포함한다. 1종 이상의 추가적 치료제는 에스트로겐 길항제 (예를 들어, 레트로졸, 타목시펜), 스타틴 (예를 들어, 심바스타틴), src 억제제 (예를 들어, 사라카티닙), 및 VEGF 수용체 억제제 (예를 들어, 파조파닙)로부터 선택될 수 있다. 한 실시양태에서, 1종 이상의 추가적 치료제는 레트로졸, 타목시펜, 심바스타틴, 사라카티닙, 파조파닙, 및 이마티닙으로부터 선택된다.

[0039] 한 실시양태에서, 조성물은 노력성 폐활량(forced vital capacity: FVC) 및 노력성 호기량(forced expiratory volume: FEV1)에 의해 측정된 바와 같은 대상체의 폐 기능을 개선시키는데 효과적인 약물의 양을 전달한다. 한 실시양태에서, 조성물은 방사선학적 검사에 의해 검출가능한 흉막 삼출액의 크기 또는 양을 감소시키는데 효과적인 약물의 양을 전달한다.

[0040] 한 실시양태에서, 조성물은 1일 1회 투여에 적합하다.

[0041] 한 실시양태에서, 조성물은 약물의 수성 현탁액을 제조하는 단계, 약물 현탁액을 미세유동화에 적용하는 단계, 및 생성된 입자를 분무 건조시켜 건조 분말을 형성시키는 단계를 포함하는 습식 연마(wet polishing) 공정에 의해 제조된다.

[0042] 한 실시양태에서, 약물은 라파마이신이고, 담체는 2종의 상이한 락토스 담체의 블렌드로 이루어지고, 제1 담체는 약 30-100 마이크로미터 범위에 이르는 평균 직경을 갖는 입자로 이루어지고 제2 담체는 10 마이크로미터 미만의 평균 직경을 갖는 입자로 이루어지고, 2종의 상이한 담체의 비는 약 97:3 내지 3:97이고, 라파마이신의 양은 25 내지 1400 마이크로그램이다.

[0043] 본 발명은 또한 약물의 양이 약 15 내지 2500 마이크로그램, 25 내지 250 마이크로그램, 또는 50 내지 150 마이크로그램인, 청구항 1 내지 청구항 31 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 림프관평활근종증을 치료하기 위한 단위 투여 형태를 제공한다. 한 실시양태에서, 약물의 양은 약 50 내지 250 마이크로그램이다. 한 실시양태에서, 투여 형태는 건조 분말 흡입기 장치에서 사용하기에 적합한 캡슐이다. 한 실시양태에서, 캡슐은 1 mg 내지 100 mg의 분말 또는 10 mg 내지 40 mg의 분말을 함유한다. 캡슐은 젤라틴, 플라스틱, 또는 셀룰로스 캡슐이거나, DPI 장치에서 사용하기에 적합한 호일/호일 또는 호일/플라스틱 블리스터의 형태일 수 있다.

[0044] 본 발명은 또한 본원에 기재된 조성물 또는 단위 투여 형태, 및 사용 설명서를 포함하는 제약 패키지 또는 키트를 제공한다.

[0045] 본 발명은 또한 본원에 기재된 조성물 또는 단위 투여 형태를 함유하는 저장소(reservoir)를 함유하는 건조 분말 전달 장치를 제공한다. 저장소는 장치 내에 내장된 챔버(integral chamber), 캡슐, 또는 블리스터일 수 있다. 한 실시양태에서, 장치는 플라스티아페(Plastiape)® RS01 모델(Model) 7, 플라스티아페® RS00 모델 8, 엑스캡스(XCaps)®, 핸디헤일러(Handihaler)®, 플로우캡스(Flowcaps)®, 트윈캡스(TwinCaps)®, 및 에어롤라이저(Aerolizer)®로부터 선택된다.

[0046] 본 발명은 또한 림프관평활근종증의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에게 흡입을 통해 본원에 기재된 조성물 또

는 단위 투여 형태를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 림프관평활근종증을 치료하는 방법을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] **발명의 상세한 설명**

[0048] 본 발명은 LAM의 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 LAM의 치료 및 예방을 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 이러한 치료를 필요로 하는 인간 대상체는 LAM으로 진단받은 대상체이다. 한 실시양태에서, 인간 대상체는 여성이다. 한 실시양태에서, 인간 대상체는 남성이다. 한 실시양태에서, 인간 대상체는 결절성 경화증상군로 진단받았다. 한 실시양태에서, 인간 대상체는 산발성 LAM으로 진단받았다. 한 실시양태에서, 방법은 대상체에게 흡입을 통해 라파마이신을 적합한 담체, 및 임의로 1종 이상의 첨가제 중에 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 용어 "라파마이신"은 본 개시내용 전반에 걸쳐 일반적으로 사용되어, 시롤리무스로도 칭해지는 라파마이신 그 자체뿐만 아니라, 그의 전구약물 (예컨대 템시롤리무스) 및 유도체를 지칭한다. 라파마이신의 유도체는 라파마이신과 구조적으로 유사하고, 동일한 화학 부류에 있으며, 라파마이신 유사체, 또는 라파마이신 또는 그의 유도체의 제약상 허용되는 염인 화합물을 포함한다. 라파마이신, 그의 전구약물 및 유도체의 추가 기재 및 예는 다음 섹션에서 제공된다.

[0049] 본원에 기재된 조성물은 라파마이신, 또는 그의 전구약물 또는 유도체 (총괄하여 "약물"로 칭해짐)를 함유하는 흡입 가능 입자 또는 액적(droplet)을 제조하는데 적합한 에어로졸화가능한 조성물이다. 한 실시양태에서, 약물은 시롤리무스, 에베롤리무스, 및 템시롤리무스로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 약물은 시롤리무스이다. 조성물은 약물, 담체, 및 임의로 1종 이상의 첨가제를 포함할 수 있다. 조성물은 "흡입용 조성물"이라는 명칭의 이하에 섹션에서 상세히 기재된 바와 같이, 수용액, 건조 분말, 또는 1종 이상의 제약상 허용되는 분사제(propellant)의 혼합물 및 담체의 형태일 수 있다.

[0050] 본 발명은 또한 본 발명의 조성물을 LAM의 치료 및 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 폐 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 LAM의 치료 및 예방을 위한 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 대상체에서 0.01 내지 0.15 ng/ml, 0.075 내지 0.350 ng/ml, 0.150 내지 0.750 ng/ml, 0.750 내지 1.5 ng/ml, 또는 1.5 내지 5 ng/ml의 약물의 혈중 최저 수준을 달성하는데 충분하다 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 대상체에서 5 ng/ml 미만, 2 ng/ml 미만, 1 ng/ml 미만, 또는 0.5 ng/ml 미만의 약물의 혈중 최저 수준을 달성하는데 충분하다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 1 ng/g 내지 1 ug/g의 범위로 폐 조직에서의 라파마이신의 농도를 초래하는데 충분하다. 바람직하게는, 라파마이신의 상기 언급된 치료 수준은 본원에 기재된 조성물을 1일 1회 투여함으로써 달성되고 바람직하게는 대상체에게 투여되는 라파마이신의 총 1일 용량은 1일 2 mg 미만 또는 1 mg 미만이다. 조합 요법을 포함한, 폐 전달 및 투여의 추가 측면은 "폐 투여 및 투여(Pulmonary Administration and Dosing)"라는 명칭의 이하에 섹션에 기재되어 있다.

[0051] 본 발명의 방법 및 조성물은 LAM의 치료를 필요로 하는 대상체, 바람직하게는 인간 대상체에서 LAM을 치료하는데 효과적이다. LAM을 치료하는데 효과적인 약물의 양 ("유효량" 또는 "치료 유효량")은 LAM의 하나 이상의 증상의 중증도 또는 발현에 관하여, 또는 LAM의 발달 또는 진행에 관하여, LAM 또는 LAM의 하나 이상의 증상의 진행, 중증도, 및/또는 지속기간을 감소 또는 개선시키거나, LAM의 진전을 예방하거나, LAM의 퇴축을 유발하거나, LAM과 관련된 하나 이상의 증상의 발달 또는 발현을 예방하거나, 또는 또 다른 치료 (예를 들어, 예방 또는 치료제)의 예방 또는 치료 효과(들)를 증진 또는 개선시키는데 충분한 약물 (예를 들어, 라파마이신)의 양을 지칭한다. 구체적 실시양태에서, LAM의 치료에 관하여, 치료 유효량은 LAM 세포의 증식을 억제 또는 감소시키거나, LAM 세포의 확산 (전이)을 억제 또는 감소시키거나, 종양의 크기를 감소시키거나 FVC 또는 FEV1을 개선시키거나 방사선학적 검사에 의해 검출가능한 흉막 삼출액의 양을 감소시키는 치료 (예를 들어, 치료제)의 양을 지칭한다. 바람직한 실시양태에서, 치료상 유효량의 치료 (예를 들어, 치료제)는 LAM 세포의 증식 또는 종양의 크기를 대조군 (예를 들어, 인산염 완충 식염수 ("PBS"))에 비해 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 감소시킨다. 따라서, 본 발명의 방법의 맥락에서, 용어 "치료하다", "치료", 및 "치료하는"은 LAM 또는 LAM과 관련된 하나 이상의 증상의 중증도, 지속기간, 또는 진행의 감소를 지칭한다. 구체적 실시양태에서, 이들 용어는 LAM 세포의 증식의 억제 또는 증식에서의 감소, LAM 세포의 확산 (전이)에서의 억제 또는 감소, LAM-관련 암의 발달 또는 진행, 또는 LAM-관련 종양의 크기에서의 감소, 또는 축 림프관의 관여의 감소를 지칭할 수 있다.

[0052] 본 발명의 방법의 한 실시양태에서, 라파마이신은 노력성 폐활량 (FVC) 및 노력성 호기량 (FEV1)에 의해 측정된 바와 같은 대상체의 폐 기능을 개선시키는데 효과적인 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 라파마이신

은 방사선학적 검사에 의해 검출가능한 대상체에서의 흉막 삼출액의 크기 또는 양을 감소시키는데 효과적인 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 하기 중 하나 이상을 개선시키는데 효과적인 용량으로 투여된다: 기능 잔존 용량(funcitional residual capacity), 혈청 VEGF-D, 삶의 질 및 기능적 수행, 6분 도보 거리, 및 일산화탄소의 폐 확산 능력. 한 실시양태에서, 폐 경로를 통해 전달된 라파마이신은 폐 및 폐로부터 떨어진 부위에서 LAM-관련 종양의 성장을 제한하는데 효과적인 라파마이신의 혈중 수준을 달성한다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량의 효능은 상기한 것들 중 어느 하나 이상에 의해 측정된다.

[0053] 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 LAM을 가진 대상체에서 LAM을 관리하는데 효과적이다. 이 맥락에서, 용어 "관리하다", "관리하는", 및 "관리"는 대상체가 치유를 초래하지 않는 치료로부터 얻는 유익한 효과를 지칭한다. 한 실시양태에서, LAM은 그의 진행이 본 발명의 방법에 따른 라파마이신으로의 치료 동안에 둔화 또는 중단되는 경우 대상체에서 관리된다. 또 다른 실시양태에서, LAM은 LAM과 관련된 하나 이상의 증상이 개선 또는 안정화되는 (즉, 증상이 치료 과정 동안에 악화되지 않는다) 경우 대상체에서 관리된다.

[0054] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 LAM에 관한 현재 이용가능한 치료에 "무반응성" 또는 "불응성"인 대상체에 관한 것이다. 이 맥락에서, 용어 "무반응성" 및 "불응성"은 LAM과 관련된 하나 이상의 증상을 완화시키는데 임상적으로 적당하지 않은 바와 같은 치료에 대한 환자의 반응을 지칭한다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 본 발명의 개시에서 교체되어 사용된다. 상기 용어는 동물, 바람직하게는 비영장류 (예를 들어, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 및 마우스) 및 영장류 (예를 들어, 침팬지, 원숭이, 예컨대 시노몰구스 원숭이 및 인간)를 포함하는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간을 지칭한다. 바람직한 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0055] 용어 "예방하다", "예방하는" 및 "예방"은 본 발명의 방법에 따라 확인된 하나 이상의 화합물의 투여 또는 질환 또는 장애용으로 공지된 치료와의 이러한 화합물의 조합의 투여로부터 생긴 LAM의 하나 이상의 증상의 재발, 발달, 진행 또는 발현의 예방을 지칭한다.

[0056] 본 발명의 제약 조성물의 맥락에서, "담체"는, 이를 이용하여 라파마이신이 전달을 위해 제제화되는, 예를 들어, 액체 또는 고체 물질, 예컨대 용매, 희석제, 안정화제, 아주반트, 부형제, 보조제, 분사제, 또는 비히클을 지칭한다. 본 발명의 조성물에서 사용하기 위한 제약상 허용되는 담체의 예는, 제한 없이, 건조 분말 담체, 예컨대 락토스, 만노스, 아미노산, 시클로덱스트린, 디팔미틸포스파티딜콜린, 탄화수소 및 플루오로카본 분사제, 압축 가스, 살균 액체, 물, 완충 식염수, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 오일, 세정제, 현탁화제, 탄수화물 (예를 들어, 글루코스, 락토스, 수크로스 또는 덱스트란), 항산화제 (예를 들어, 아스코르브산 또는 글루타티온), 킬레이트화제, 저 분자량 단백질, 또는 그의 적합한 혼합물을 포함한다. 바람직하게는, 라파마이신의 건조 분말 에어로졸 제제의 맥락에서, 담체는, 존재할 경우, 당류 및 당 알콜로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 담체는, 존재할 경우, 락토스이다.

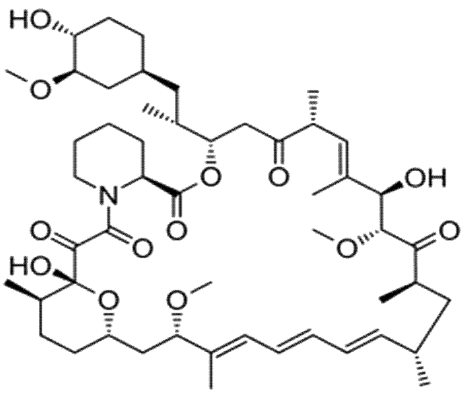
[0057] 용어 "제약상 허용되는"은 동물, 보다 특히 인간에서 사용하기 위해, 연방 또는 주 정부의 규제 기관에 의한 또는 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인정된 약전, 예컨대 유럽 약전에 기재된 승인을 나타낸다. 수 난용성 또는 수 불용성 약물을 가용화시키는 한 방법은 약물의 염을 형성시키거나 전구약물의 수용성 염을 형성시키는데 사용될 수 있는 더 가용성인 전구약물 자체를 제조하는 것이다. 염 및 제약상 허용되는 염을 형성시키는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 제한 없이, 관심 약물 또는 전구약물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 사실상 염기성인 화합물은 다양한 무기 및 유기산과 다종다양한 염을 형성할 수 있다. 이러한 염기성 화합물의 제약상 허용되는 산 부가 염을 제조하는데 사용될 수 있는 산은, 무독성 산 부가 염, 즉, 약리학상 허용되는 음이온을 함유하는 염을 형성하는 것들이며, 이에는 황산, 시트르산, 말레산, 아세트산, 옥살산, 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 히드로아이오다이드, 니트레이트, 술페이트, 비술페이트, 포스포네이트, 산 포스포네이트, 이소니코티네이트, 아세테이트, 락테이트, 살리실레이트, 시트레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레에이트, 탄네이트, 판토테네이트, 비타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레에이트, 겐티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루카로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄술포네이트, 에탄술포네이트, 벤젠술포네이트, p-톨루엔술포네이트 및 파모에이트 (즉, 1,1'-메틸렌-비스-(2-히드록시-3-나프토에이트)) 염을 포함하나 그에 제한되지는 않는다. 사실상 산성인 화합물은 다양한 약리학상 허용되는 양이온과 염기 염을 형성할 수 있다. 이러한 염의 예는 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염, 특히 칼슘, 마그네슘, 나트륨 리튬, 아연, 칼륨 및 철의 염을 포함한다.

[0058] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 라파마이신의 수용성 전구약물 또는 유도체, 바람직하게는 템시롤리무스 또는 관련 화합물을 이용한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 라파마이신 (시롤리무스)을 이용한다.

[0059] 라파마이신

[0060] 라파마이신은 스트렙토마이세스 히그로스코피쿠스에 의해 생산된 마크로시클릭 락톤이다. 그의 화학 (IUPAC) 명은 (3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13,-14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-헥사데카히드로-9,27-디히드록시-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-히드록시-3-메톡시시클로헥실]-1-메틸에틸]-10,21-디메톡시-6,8,12,14,20,26-헥사메틸-23,27-에폭시-3H-피리도[2,1-c][1,4]옥사아자시클로헨트리아콘틴-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-펜톤이다.

[0061] 그의 분자식은 $C_{51}H_{79}NO_{13}$이고 그의 분자량은 914.172 g/mol이다. 구조는 이하에 나타냈다.



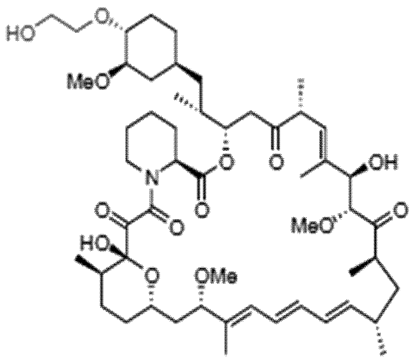
[0062]

[0063] 라파마이신은 백색 내지 회백색 분말이고 단지 2.6 μg/ml의 매우 낮은 용해도를 갖는, 물에 불용성인 것으로 여겨진다. 이는 벤질 알콜, 클로로포름, 아세톤, 및 아세토니트릴에 잘 녹는다. 라파마이신의 수 불용성은 그의 제제화에 특수한 기술적 문제를 제시한다. 경구 투여 형태로서의 그의 제제화의 맥락에서, 이는 고체 분산체 (WO 97/03654) 및 나노크기 (400 nm 미만) 입자를 함유하는 정제 (US 5,989,591)의 형태로 경구 용액으로서 제조되었다. 그러나 이들 절차는 활성 성분의 용해 그리고 그로 인해 그의 생체이용률에 상당한 변화로 인해 어려움을 겪는다. 제제화의 또 다른 방법은 결정질 분말을 이용한다. 기술 분야에서 인정된 방법에 따라, 낮은 용해도 약물의 결정질 형태의 그의 비결정질 형태로의 변환은 그의 용해도를 상당히 증가시킬 수 있다. 이는 라파마이신의 경우에도 사실이지만, 비결정질 형태는 화학적으로 매우 불안정하다. 비결정질 라파마이신 (시롤리무스)을 포함하는 제약 투여 형태는 WO 06/039237 및 WO 06/094507 (49.25%의 농도로 시롤리무스 및 글리세릴 모노스테아레이트를 포함하는 변형된 방출 제제)에 기재되어 있다. 라파마이신의 개선된 안정성 경구 투여 형태는 US 8,053,444에 기재되어 있다. 투여 형태는 조성물 중 지방산 에스테르 및 중합체 (예를 들어, 폴리비닐피롤리돈 (PVP), 히드록시프로필셀룰로스 (HPC) 또는 히드록시프로필메틸셀룰로스 (HPMC))를 사용하여 시롤리무스의 안정성을 그의 방출 속도에 악영향을 주지 않고 증가시킨다. US 8,053,444에 따르면, 10% w/w를 초과하는 지방산 에스테르 농도는 제제로부터 시롤리무스의 방출 속도를 억제하므로 피해야 하는데 그 이유는 그것이 위장관으로부터 불충분한 흡수를 야기할 수 있기 때문이다. 지방산 에스테르 (글리세롤 에스테르)의 바람직한 농도는 1% 내지 5% 또는 5% 내지 9%이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 라파마이신 조성물은 지방산 에스테르를 중합체와 조합하여 지방산을 함유하지 않는다. 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 라파마이신 조성물은 지방산 에스테르를 조성물의 10 중량%를 초과하거나 12 중량%를 초과하는 농도로 함유한다.

[0064] 본 발명의 조성물 및 방법에서 사용하기에 적합한 라파마이신 및 그의 유도체 (유사체 포함) 및 전구약물은 mTOR 세포 신호전달 경로의 억제제, 바람직하게는 mTOR 자체 억제제인, 라파마이신 (시롤리무스) 및 그의 전구약물 또는 유도체를 포함한다. 한 실시양태에서, 라파마이신 유도체 또는 전구약물은 에베롤리무스 (아피니토르(Affinitor); RAD001), 템시롤리무스 (CCI-779), 리다포롤리무스 (데포롤리무스로서 이전에 공지됨; AP23573), 우미롤리무스 (비올리무스(Biolimus) A9), 조타롤리무스 (ABT-578), 노볼리무스, 미올리무스, AP23841, KU-0063794, INK-128, EX2044, EX3855, EX7518, AZD08055 및 OSI027로 이루어진 군으로부터 선택된 mTOR 억제제이다. 추가 유도체는 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 예를 들어, O-치환 유도체를 포함하며 여기서 시롤리무스의 시클로헥실 고리 상의 히드록실 기는 $-OR_1$에 의해 대체되며, 여기서 R_1은 임의로 치환 알킬, 아실아미노알킬, 또는 아미노알킬이다.

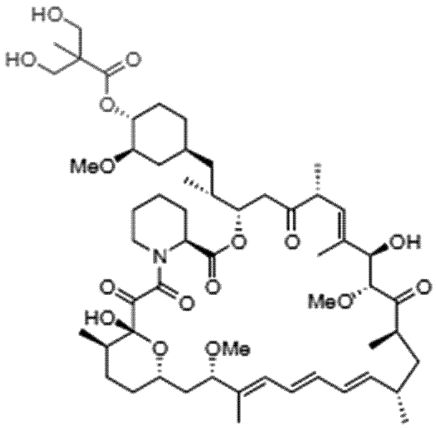
[0065] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제 및 방법에서 사용하기 위한 화합물은 에베롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스, 우미롤리무스, 및 조타롤리무스로 이루어진 군으로부터 선택된 라파마이신 유도체이다. 에베

롤리무스, 템시롤리무스, 리다포롤리무스, 우미롤리무스, 및 조타롤리무스의 화학 구조를 이하에 나타냈다.



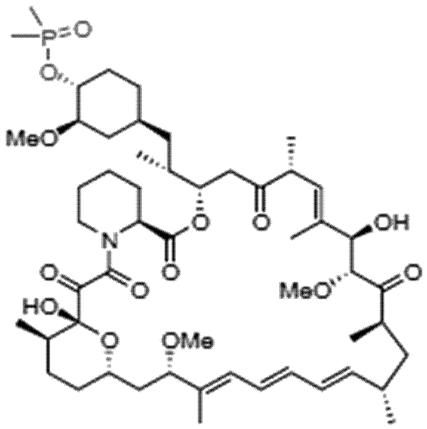
에베롤리무스 (아피니토르)

[0066]



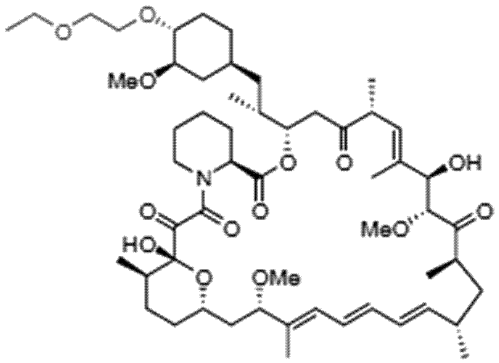
템시롤리무스 (CCI-779)

[0067]

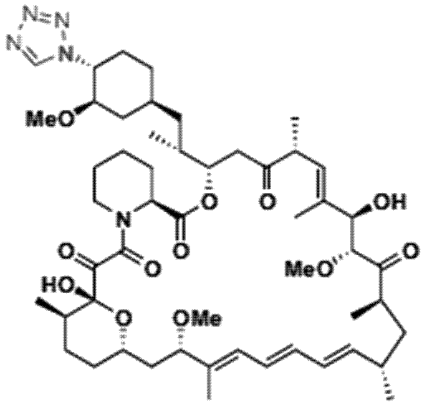


리다포롤리무스 (MK-8669)

[0068]

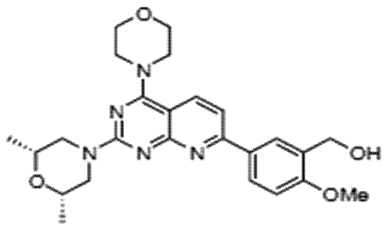


[0069] 우미롤리무스

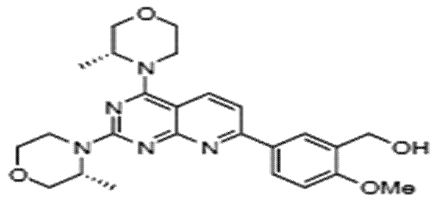


[0070] 조타롤리무스 (ABT-578)

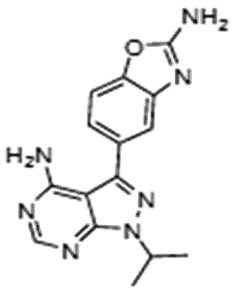
[0071] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제 및 방법에서 사용하기 위한 화합물은 KU-0063794, AZD8055, INK128, 및 OSI-027로 이루어진 군으로부터 선택된 mTOR 억제제이다. mTOR 억제제 KU-0063794, AZD8055, INK128, 및 OSI-027의 화학 구조를 이하에 나타냈다.



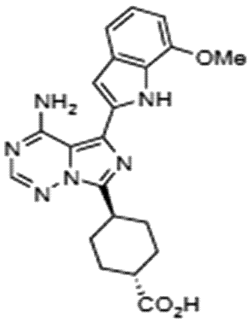
[0072] KU-0063794



[0073] AZD8055



[0074] INK128



[0075] OSI-027

[0076] 본 발명의 방법 및 조성물에서 사용하기 위한 특히 바람직한 것은 시롤리무스, 템시롤리무스, 및 에베롤리무스이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸 제제 및 방법에서 사용하기 위한 화합물은 시롤리무스, 템시롤리무스, 및 에베롤리무스로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 화합물은 시롤리무스 또는 에베롤리무스이다.

[0077] 흡입용 조성물

[0078] 본 발명은 수용액, 건조 분말, 또는 1종 이상의 제약상 허용되는 분사제의 혼합물 및 담체의 형태로, 라파마이신, 또는 그의 전구약물 또는 유도체를 포함하는, 흡입에 의해 투여하기에 적합한 제약 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 제약상 허용되는 화합물, 물질, 또는 매트릭스에 캡슐화된다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 리포솜 제제 또는 비리포솜 제제에 캡슐화된다.

[0079] 본 발명의 조성물은 흡입에 의해 인간 대상체에서 폐 약물 전달에 적합한 라파마이신의 에어로졸화가능한 제제이다. 용어 "에어로졸"은 이 맥락에서 사용되어 분산상이 고체 또는 액체 입자로 이루어지고 분산 매질이 기체인 콜로이드계를 의미한다. 한 실시양태에서, 기체는 공기이고 제제는 분무기(nebulizer)를 통해 투여하기에 적합한 용액 제제 또는 건조 분말 흡입기 장치를 통해 투여하기에 적합한 건조 분말 제제이다. 일반적으로, 흡입 가능 입자 또는 액적은 0.10 내지 10 마이크로미터의 범위의 평균 직경을 가질 것이다. 입자 또는 액적의 크기는 폐 자체 (즉, 폐가 표적 조직인 경우)에 또는 전신에 (폐가 전신 투여에 대한 대안적 경로로서 이용되는 경우) 표적 전달을 최대화하도록 선택한다. 크기는 바람직하게는, 폐 자체가 치료 표적인 경우는 약 0.5 내지 5 마이크로미터의 범위일 것이거나, 폐를 통한 전신 전달의 경우는 3 마이크로미터 미만일 것이다. 크기는 관련 기술분야에 공지된, 예를 들어, 미국 약전 905장 및 601장(U.S. Pharmacopeia at Chapters 905 and 601)에 기재된 방법에 따라 측정된다. 예를 들어, 이는 질량 중앙 공기역학적 직경(Mass Median Aerodynamic Diameter: MMAD)으로서 측정된다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 조성물을 포함하는 입자의 평균 (average or mean) 직경은 MMAD로서 측정된다.

[0080] 한 실시양태에서, 에어로졸의 분산상은 액체 입자 또는 액적으로 이루어진다. 이 맥락에서, 용어 "액체 입자" 및 "액적"은 교체되어 사용된다. 이 실시양태에서, 본 발명의 제제는 용액 제제이다. 한 실시양태에서, 에어로졸의 분산상은 고체 입자로 이루어진다. 이 실시양태에서, 본 발명의 제제는 건조 분말 제제이다. 이 크기의 미분화 입자(micronized particle)는 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해, 예를 들어 기계적 그라인딩 [mechanical grinding: 밀링(milling)], 아임계 또는 초임계 용액으로부터의 침전, 분무 건조, 동결 건조

(free-drying), 또는 얼림 건조(lyophilization)에 의해 제조될 수 있다.

[0081] 일반적으로, 흡입 입자는 두 가지 메커니즘 중에 의해 침착(deposition)된다: 보다 큰 입자의 경우 대개 우세하는 고착(impaction), 및 보다 작은 입자에 대해 보편적인 침강(sedimentation). 고착은 흡입 입자의 운동량(momentum)이 입자가 기류(air stream)를 따르지 않고 생리적 표면에 마주칠 정도로 충분히 큰 경우 발생한다. 반면에, 침강은 주로, 흡입 기류와 함께 이동한 매우 작은 입자가 기류 내에 무작위 확산의 결과로서 생리적 표면과 마주치는 경우 깊은 폐에서 발생한다. 본 발명의 에어로졸 제제는 바람직하게는, 목적하는 치료 효능을 달성하기 위해, 고착 (상부 기도에서)에 의해 또는 침강 (폐포에서)에 의해 그의 침착을 최대화하도록 적합화된다.

[0082] 전달 장치, 예컨대 분무기, pMDI 또는 DPI 장치로부터 환자에게 전달된 약물의 양은 전달 용량으로 칭해진다. 이는 모의 흡입 조작(simulated inhalation maneuver)에서 전달 장치로부터 방출된 약물의 양을 측정함으로써 시험관 내에서 추정될 수 있다. 이는 관련 기술분야에서 공지된 방법, 예를 들어 미국 및 유럽 약전에서, 예를 들어 미국 약전의 601장 및 905장에서 제시된 것들에 따라 측정된 바와 같은 방출 용량 (ED)으로 칭해진다. 따라서, "방출 용량"은 전달 용량에 대한 등가물로 여겨진다.

[0083] 전달 장치로부터 환자의 폐로 전달되는 약물의 양은 흡입 가능 용량으로 칭해진다. 이는 관련 기술분야에서 공지된 방법, 예를 들어 미국 및 유럽 약전에서, 예를 들어 미국 약전의 601장 및 905장에서 제시된 것들에 따라 케스케이드 충격기(cascade impactor), 예컨대 차세대 충격기(Next Generation Impactor: NGI)를 사용하여 측정된 바와 같은 미립자 용량 (FPD)을 측정함으로써 시험관 내에서 추정될 수 있다.

[0084] 전달 장치로부터 미세한, 흡입가능 입자에서 방출된 약물의 양은 제제의 미립자 분율 (FPF)로서 지칭된다. FPF는 잠재적으로 흡입 가능 전달 용량 중의 약물의 분율이다. 따라서, FPF는 ED (방출, 또는 전달 용량)에 대한 FPD의 비이다. 제제의 이들 특징은 관련 기술분야에서 공지된 방법, 예를 들어 미국 및 유럽 약전에서, 예를 들어 미국 약전의 601장 및 유럽 약전(Pharm Europa)의 모노그라프(monograph) 2.9.18에서 제시된 것들에 따라 측정된다.

[0085] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸화가능한 라파마이신 제제는 심지어 장기간 보관 후에도, 예를 들어 1 내지 12개월 또는 1 내지 36개월의 보관 후에, 20% 초과의 FPF을 갖고 상응하는 FPD는 10 마이크로그램 내지 2 밀리그램, 바람직하게는 0.5 밀리그램 미만 범위에 이른다. 한 실시양태에서 환자에게 전달된 용량, 전달 용량 (DD) 또는 방출 용량 (ED)은, 25 마이크로그램 내지 2.5 밀리그램, 바람직하게는 0.5 밀리그램 미만 범위에 이른다.

[0086] 특정 실시양태에서 라파마이신은 제약상 허용되는 화합물, 물질, 또는 매트릭스에 캡슐화된다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 리포솜 제제 또는 비리포솜 제제에 캡슐화된다.

[0087] 수용액 조성물

[0088] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸화가능한 조성물은 제트(jet), 진동 메시(vibrating mesh), 및 정적 메시(static mesh) 또는 오리피스(orifice) 분무기를 포함한, 분무기를 통해 폐 전달에 적합화된 라파마이신의 수용액 제제이다. 따라서, 용액 제제는 상기 기재된 바와 같이, 약 0.1 내지 10 마이크로미터 직경의 흡입 가능 범위로 에어로졸 액적 형성을 가능하게 하도록 적합화된다. 한 실시양태에서, 조성물은 물, 에탄올, 및 저분자량 폴리올에 용해된, 라파마이신 (시롤리무스) 또는 그의 전구약물 또는 유도체로 이루어지고, 임의로 계면활성제를 포함하는, 분무가능한(nebulizable) 수용액 제제이다. 한 실시양태에서, 수용액 제제는 20 mPa-s 미만, 10 mPa-s 미만, 또는 5 mPa-s 미만의 점도, 및 적어도 45 dynes/cm, 바람직하게는 60 dynes/cm 초과의 표면 장력을 갖는다. 바람직하게는, 제제는 5 mPa-s 미만의 점도, 및 45 dynes/cm 초과의 표면 장력을 갖는다. 한 실시양태에서, 조성물은 20 mPa-s 미만의 점도, 10 mPa-s 미만의 점도, 또는 5 mPa-s 미만의 점도, 및 적어도 45 dynes/cm, 바람직하게는 60 dynes/cm 초과의 표면 장력을 갖는다.

[0089] 한 실시양태에서, 수용액 제제는 라파마이신, 물, 에탄올, 및 글리세롤 및 프로필렌 글리콜로부터 선택된 저분자량 폴리올로 이루어진다. 한 실시양태에서, 수용액 제제는 라파마이신, 물, 및 글리세롤 및 프로필렌 글리콜로부터 선택된 저분자량 폴리올로 이루어지고, 에탄올은 임의적이다. 제제는 또한 임의로 비이온성 계면활성제, 바람직하게는 PEG 100, 또는 폴리소르베이트, 바람직하게는 폴리소르베이트 80 ("PS80"), 인지질, 바람직하게는 천연 인지질, 예컨대 레시틴, 바람직하게는 수소 첨가 콩 레시틴, 및 항산화제 또는 안정화제, 바람직하게는 디소듐 EDTA를 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 비이온성 계면활성제는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) PEG 100, PEG 1000, 및 폴리소르베이트 80 [트윈(Tween)™ 80, 소르비탄 모노올레에이트, 또는 폴리옥시에틸렌

소르비탄 올레에이트로도 칭해짐], 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0090] 수용액 중 라파마이신의 양은 용액의 총 중량을 기준으로 약 0.001 중량% 내지 0.01 중량% (% wt 또는 % w/w)이다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 약 0.01 mg/ml 내지 약 0.1 mg/ml의 농도로 용액에 존재한다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 양은 용액의 총 중량을 기준으로 0.001% 내지 0.01% w/w이다.

[0091] 한 실시양태에서, 용액 중 라파마이신의 농도는 약 0.01 내지 .1 mg/ml이고, 저분자량 폴리올의 양은 5 내지 35% w/w이고, 에탄올의 양은 5-20% w/w의 양으로 존재하고, 비이온성 계면활성제의 양은 1 내지 200 백만부당부 (ppm) w/w이다. 바람직하게는, 비이온성 계면활성제의 양은 100 ppm(w/w) 미만이다. 임의적 항산화제/안정화제는 0 내지 0.01% w/w 미만이다.

[0092] 한 실시양태에서, 본 발명의 수용액 제제는 폴리에틸렌 글리콜, 레시틴, EDTA, 블록 공중합체, 및 시클로덱스트린으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 첨가제 또는 부형제를 함유하지 않는다.

[0093] 수용액 제제는 라파마이신이 완전히 용해되어 있는 단일상 수용액이다. 제제 중 주된 공용매는 에탄올, 및 글리세롤 및 프로필렌 글리콜로부터 선택된 저분자량 폴리올이다. 라파마이신은 현탁액 또는 에멀젼으로 있지 않고, 콜로이드 용액 또는 분산액으로서 기재되는 용액도 아닐 수 있다. 본 발명의 수용액 제제는 콜로이드 구조, 예컨대 미셀 또는 리포솜이 결여되어 있다. 인지질의 양은, 존재할 경우, 너무 적어 리포솜을 형성하거나 라파마이신을 침전시킬 수 없다. 그리고 인지질과 비이온성 계면활성제의 합해진 양은 너무 적어 표면 장력을 개질시킬 수 없다. 그 결과, 인지질도 비이온성 계면활성제도 전통적 의미에서 계면활성제로서 작용하는데 충분한 양으로 존재하지 않는다. 이 맥락에서, 용어 계면활성제는 계면활성제가 계면활성제, 습윤제, 유화제, 또는 분산제로서 작용하도록 용액의 표면 장력 또는 액체와 용액 중의 임의의 고체 약물 입자 사이의 계면 장력을 저하시키는 작용을 하는 작용제를 지칭한다. 대신에, 본 발명의 용액 제제 중의 비이온성 계면활성제는 최종 제품이 포장된 폴리에틸렌 용기에 대한 약물의 흡착을 차단하는 역할을 하여, 용기로의 흡착을 통한 약물 효능의 손실을 방지하다.

[0094] 따라서, 한 실시양태에서 수용액 제제는 라파마이신이 완전히 용해되어 있는 단일상 수용액이고, 용액은 미셀 또는 리포솜이 결여되어 있고, 용액은 에멀젼, 분산액, 또는 현탁액이 아니다.

[0095] 한 실시양태에서, 용액 제제는 멸균된 것이다. 한 실시양태에서, 용액 제제는 0.2 마이크로 필터를 통해 멸균여과된다. 한 실시양태에서, 용액 제제는 열, 예컨대 오토클레이빙, 또는 방사선에 의해 멸균되지 않는다.

[0096] 한 실시양태에서, 본 발명은 멸균 수용액 제제로 채워진 하나 이상의 용기 또는 바이알 (이들 용어는 교체되어 사용된다)을 함유하는 패키지를 제공한다. 바람직하게는, 용기는 단위 용량 용기이다. 한 실시양태에서, 용기는 중합체 바이알, 바람직하게는 폴리에틸렌 바이알이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 멸균 수용액 제제로 채워진 용기 또는 바이알은, 취입 성형에 의해 바이알을 형성시키고 그 직후에 바이알을 무균 조건 하에 본 발명의 멸균-여과 제제로 채운 후에, 그것이 채워진 직후에 바이알을 열 밀봉하는 단계들을 포함하는 방법에 의해 제조한다.

[0097] 한 실시양태에서, 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 하기

[0098] 라파마이신 (또는 그의 전구약물 또는 유도체) 약 0.001% 내지 0.01% w/w,

[0099] 프로필렌 글리콜 약 5% 내지 35% w/w,

[0100] 에탄올 약 5% 내지 20% w/w,

[0101] 폴리소르베이트 80 약 1 내지 200 ppm w/w,

[0102] 레시틴 약 1 내지 100 ppm w/w, 및

[0103] 물

[0104] 을 포함하거나 그로 이루어지고,

[0105] 여기서 물의 양은 0.01 내지 0.1 밀리그램/밀리리터의 라파마이신의 농도를 달성하는데 충분하다. 임의로, 안정성 증진제, 예컨대 0.01% wt/wt 미만의 수준으로 디소듐 EDTA를 첨가할 수 있다.

[0106] 수성 및 다른 비가압 액체 시스템의 경우, 다양한 분무기 (작은 부피의 분무기 포함)가 제제를 에어로졸화하기 위해 입수가능하다. 압축기-구동 분무기는 제트 기술을 혼입하며 압축 공기를 사용하여 액체 에어로졸을 발생시킨다. 이러한 장치는, 예를 들어, 헬쓰다인 테크놀로지스, 인크.(Healthdyne Technologies, Inc.); 인바케

어, 인크.(Invacare, Inc.); 마운틴 메디칼 이큅먼트, 인크.(Mountain Medical Equipment, Inc.); 파리 레스퍼러토리, 인크.(Pari Respiratory, Inc.); 마다 메디칼, 인크.(Mada Medical, Inc.); 푸리탄-베넷(Puritan-Bennet); 슈코, 인크.(Schuco, Inc.), 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.(DeVilbiss Health Care, Inc.); 및 호스피탁, 인크(Hospitak, Inc.)로부터 시판된다. 초음파 분무기는 압전 결정의 진동의 형태로 기계적 에너지에 의존하여 흡입 가능 액체 액적을 발생시키고, 예를 들어, 옴론 헬쓰케어, 인크.(Omron Healthcare, Inc.) 및 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.로부터 시판된다.

[0107] 한 실시양태에서, 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 에어로겐(Aerogen), 파리(Pari), 필립스(Philips), 또는 옴론(Omron)으로부터 입수가능한 진동 분무기를 통해 전달된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 진동 메시 분무기, 예를 들어, 에어로넵(Aeroneb)® 고(Go) [에어로겐, 필립스 레스피로닉스(Philis Respironics)에 의해 배포됨), I-넵(Neb)]® (필립스) 또는 E-플로우(Flow)® (파리), 또는 유사한 분무기와 함께 사용하기에 적합한 용기에 포장된다. 한 실시양태에서 본 발명의 수성 에어로졸 제제는 오리피스 분무기, 예컨대 베링거-잉겔하임(Boehringer-Ingelheim)으로부터의 레스피매트(Respimat)®를 통해 전달된다.

[0108] 따라서, 한 실시양태에서 본 발명은 인간 대상체에게 흡입에 의해 투여하기에 적합한 분무가능한 수용액의 형태의 제약 조성물을 제공하며, 여기서 수용액은 바람직하게는 시롤리무스, 에베롤리무스, 및 템시롤리무스로부터 선택된 라파마이신 또는 그의 전구약물 또는 유도체, 물, 에탄올, 및 저분자량 폴리올로 이루어진다. 한 실시양태에서, 저분자량 폴리올은 글리세롤 또는 프로필렌 글리콜, 또는 그의 혼합물이다. 한 실시양태에서, 조성물은 추가로 PEG 100, PEG 1000, 및 폴리소르베이트 80, 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 비이온성 계면활성제를 포함한다. 한 실시양태에서, 제제 중 비이온성 계면활성제의 양은 제제의 중량을 기준으로, 1 내지 200 ppm w/w, 바람직하게는 100 ppm w/w 미만이다. 한 실시양태에서, 조성물은 추가로 인지질, 항산화제 또는 화학 안정화제를 포함한다. 한 실시양태에서, 재제 중 항산화제 또는 화학 안정화제의 양은 제제의 중량을 기준으로 0.01% w/w 미만이다. 한 실시양태에서, 항산화제 또는 화학 안정화제는 EDTA이다. 한 실시양태에서, 제제 중 라파마이신의 양은 제제의 중량을 기준으로 0.001 내지 0.01% w/w이다.

[0109] 한 실시양태에서, 조성물은 폴리에틸렌 글리콜, 레시틴, EDTA, 블록 공중합체, 및 시클로덱스트린으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 첨가제 또는 부형제를 함유하지 않는다.

[0110] 한 실시양태에서, 조성물은 미셀 및 리포솜으로부터 선택된 콜로이드 구조가 결여되어 있다.

[0111] 한 실시양태에서, 조성물은 제트 분무기, 진동 메시 분무기, 정적 메시 분무기, 및 오리피스 분무기 중 어느 한 분무기를 통한 투여에 적합하다.

[0112] 한 실시양태에서, 조성물은 20 mPa-s 미만, 바람직하게는 10 mPa-s 미만, 가장 바람직하게는 5 mPa-s 미만의 점도, 및 45 dynes/cm 이상, 바람직하게는 50 dynes/cm 이상의 표면 장력을 갖는다.

[0113] 본 발명은 또한 분무가능한 수용액의 형태로 본 발명의 제약 조성물을 제조하는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 용액을 0.2 마이크로미터 이하의 기공 크기를 갖는 필터를 통해 멸균 여과하고 멸균 여액을 무균 조건 하에 수집 용기에서 수집하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 제조 방법은 추가로 멸균 여액을 무균 조건 하에 용기 밀폐체(container closure)에 옮기는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 용기 밀폐체는 단위-용량 폴리에틸렌 바이알이다. 한 실시양태에서, 바이알은 멸균 여액을 바이알에 옮기기 직전에 취입 성형에 의해 제조한다. 한 실시양태에서, 방법은 멸균 여액을 바이알에 옮긴 직후에 바이알을 열 밀봉하는 단계를 포함한다.

[0114] 건조 분말 조성물

[0115] 한 실시양태에서, 본 발명의 에어로졸화가능한 조성물은 치료제 ("약물"로도 칭해짐)로서, 라파마이신, 또는 그의 전구약물 또는 유도체의 미분화 입자를 포함하는 건조 분말이고, 여기서 입자는 0.1 내지 10 마이크로미터의 직경 및 약 0.5 내지 4.5 마이크로미터, 약 1 내지 4 마이크로미터, 약 1 내지 3.5 마이크로미터, 약 1.5 내지 3.5 마이크로미터, 또는 약 2 내지 3 마이크로미터의 평균 직경을 갖는다. 건조 분말 제제는 건조 분말 흡입기 장치 (DPI) 또는 가압식 정량 흡입기(pressurized metered dose inhaler: pMDI)에서 사용하기에 적합하다. 건조 분말 중 라파마이신의 양은 분말의 총 중량을 기준으로 약 0.5 내지 20% (w/w)이다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 양은 약 1% 또는 2% (w/w)이다.

[0116] 한 실시양태에서, 미분화 라파마이신은 이하에 기재된 바와 같이 습식 연마 또는 제트 밀링에 의해 제조되어 약 0.5 내지 4.5 마이크로미터, 약 1 내지 4 마이크로미터, 또는 약 2 내지 3 마이크로미터의 범위의 직경을 생성시키고, 라파마이신 입자는 락토스 담체 입자 상으로, 0.5-2% w/w의 범위에 이르며 바람직한 비가 1%인 약물/담

체 비로 블렌딩된다.

[0117] 한 실시양태에서, 약물 입자는 전달 장치 (건조 분말 흡입기) 내에 함유되어 있는 부서지기 쉬운 매트릭스 내로 약하게 압축된다. 작동시 전달 장치는 매트릭스로부터 약물 입자의 부분을 마멸시키고, 이들을 약물 입자를 호흡기로 전달하는 흡기 호흡에 분산시킨다. 대안으로 약물 입자는 전달 장치 (건조 분말 흡입기)에서의 저장소 내에 함유된 자유 유동 분말일 수 있다. 저장소는 장치 내에 내장된 챔버, 또는 캡슐, 블리스터 또는 작동 전에 장치에 삽입되는 유사한 미리 형성된 저장소일 수 있다. 작동시 장치는 저장소로부터 약물 입자의 일부를 분산시키고, 이들을 약물 입자를 호흡기로 전달하는 흡입 호흡에 분산시킨다.

[0118] 한 실시양태에서, 건조 분말 조성물은 약물 입자 및 아라비노스, 글루코스, 프럭토스, 리보스, 만노스, 수크로스, 트레할로스, 락토스, 말토스, 전분, 덱스트란, 만니톨, 류신, 리신, 이소류신, 디팔미틸포스파티딜콜린, 레시틴, 폴리락트산, 폴리 (락트산-코-글루탐산), 및 크실리톨, 또는 이들의 임의의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 담체로 이루어진다. 한 실시양태에서, 담체는, 특히 일수화물 형태의 락토스이다. 한 실시양태에서, 건조 분말 조성물은 2종 이상의 담체의 블렌드를 포함한다.

[0119] 한 실시양태에서 건조 분말 조성물은 약물 및 적어도 2종의 상이한 담체의 블렌드를 포함한다. 한 실시양태에서, 담체에 대한 약물 비는 약 0.5 내지 20% (w/w)의 범위이다. 한 실시양태에서, 약물 입자는 0.1 내지 10 마이크로미터 범위에 이르는 직경을 갖고 평균 직경은 약 1 내지 4, 1 내지 3.5, 또는 1.5 내지 3.5, 또는 2 내지 3 마이크로미터이다. 담체 입자는 2 내지 200 마이크로미터 범위에 이르는 직경을 가질 수 있다.

[0120] 한 실시양태에서, 조성물은 DPI 장치의 블리스터 팩 또는 저장소에 함유된다. 한 실시양태에서, 건조 분말 조성물은 DPI 장치에서 사용하기에 적합한, 젤라틴, 전분, 셀룰로스, 또는 중합체 캡슐, 또는 호일/호일 또는 호일/플라스틱 블리스터에 미리 로딩된다. 각각의 캡슐 또는 블리스터는 1 내지 100 밀리그램의 건조 분말 조성물을 함유할 수 있다. 캡슐 또는 블리스터는 건조 분말 흡입기 (DPI) 장치, 예컨대 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8, 엑스캡스®, 플로우캡스®, 아르커스(Arcus)®, 디스크헤일러(Diskhaler)® 또는 마이크로도스(Microdose)®에 삽입될 수 있다. DPI 장치 작동시, 캡슐 또는 블리스터는 파열되고 분말은 흡기 호흡에 분산되어, 약물을 호흡기에 전달한다.

[0121] 한 실시양태에서, 건조 분말 조성물은 악쿠헤일러(Accuhaler)®, 코닉스(Conix)™, 로타헤일러(Rotahaler)®, 트윈캡스®, 엑스캡스®, 플로우캡스®, 터르부헤일러(Turbuhaler)®, 넥스트헤일러(NextHaler)®, 시클로헤일러(CycloHaler)®, 레볼라이저(Revolizer)™, 디스크헤일러®, 디스커스(Diskus)®, 스핀헤일러(Spinhaler), 핸디헤일러(Handihaler)®, 마이크로도스 인헤일러, 기로헤일러(GyroHaler)®, 옴니헤일러(OmniHaler)®, 클릭헤일러(Clickhaler)®, 듀오헤일러(Duohaler)® (벡튜라(Vectura)), 및 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스(Civitas Therapeutics))로부터 선택된 건조 분말 흡입기 (DPI) 장치에 함유된다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 건조 분말 조성물을 함유하는 DPI 장치를 제공한다. 한 실시양태에서 장치는 엑스캡스, 플로우캡스, 핸디헤일러, 트윈캡스, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 조성물을 함유하는 장치 로 기로헤일러®, 옴니헤일러®, 클릭헤일러®, 듀오헤일러®, 및 아르커스® 흡입기로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0122] 담체 입자는 바람직하게는 큰 크기 (5 마이크로미터 초과)이어서 깊은 폐에 담체 물질이 침착하지 못하도록 한다. 한 실시양태에서, 담체 입자는 1 내지 200 마이크로미터, 30 내지 100 마이크로미터, 또는 10 마이크로미터 미만 범위에 이르는 직경을 갖는다. 한 실시양태에서 담체 입자는 2종의 담체의 블렌드이며, 하나는 약 30-100 마이크로미터의 입자를 갖고 다른 하나는 10 마이크로미터 미만의 입자를 갖는다. 2종의 상이한 담체의 비는 3:97 내지 97:3의 범위이다. 한 실시양태에서, 건조 분말 조성물은 0.5-20% (w/w)의, 담체에 대한 약물 비로 이루어지고, 약물 입자는 0.1 내지 10 마이크로미터의 직경을 갖고 평균 직경은 3.5 마이크로미터 미만이다. 한 실시양태에서, 담체 물질은 결정질 담체 물질이다. 바람직하게는, 결정질 담체 물질은 적어도 90%, 바람직하게는 95% 초과의 결정질인 것이고 여기서 어떤 물도 또는 실질적으로 어떤 물도 실온에서 80% 이하의 상대 습도의 조건 하에 담체에 의해 흡수되지 않는다. 이러한 결정질 담체의 예는 락토스 일수화물 및 글루코스 일수화물이다. 담체의 양은 분말의 건조 중량 기준으로 제제의 1 내지 99.0% 이상, 바람직하게는 5 내지 99%, 10 내지 99%, 20 내지 99%, 30 내지 99%, 40 내지 99%, 또는 50 내지 99%이다.

[0123] 한 실시양태에서, 건조 분말 조성물은 전달 장치 (건조 분말 흡입기)에서의 저장소 내에 함유된다. 저장소는 장치 내에 내장된 챔버, 또는 캡슐, 블리스터 또는 작동 전에 장치에 삽입되는 유사한 미리 형성된 저장소일 수 있다. 작동시 장치는 저장소로부터 약물 입자의 부분을 분산시키고, 이들을 약물 입자를 호흡기로 전달하는 흡기 호흡에 분산시킨다.

[0124] 한 실시양태에서, 약물은 제약상 허용되는 담체와 함께 미세한 분말로서 존재한다. 문맥에서, 용어 "미세한(fine)"은 상기에서 논의된 바와 같이, 흡입가능 범위의 입자 크기를 지칭한다. 바람직하게는, 약물은 입자가 10 마이크로미터 이하의 범위의 평균 직경을 갖도록 미분화된다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 건조 분말 조성물 중 라파마이신 (또는 그의 전구약물 또는 유도체)의 입자의 평균 직경 (MMAD 또는 Dv50)은 0.5 내지 10 마이크로미터, 0.5 내지 6 마이크로미터, 1 내지 5 마이크로미터, 1 내지 4 마이크로미터, 1 내지 3 마이크로미터, 또는 2 내지 3 마이크로미터이다. MMAD 또는 Dv50 값은 그 미만에서 모집단 부피의 50%가 발생하는 입자 크기이다.

[0125] 한 실시양태에서, 라파마이신의 건조 분말 제제는 추가로 이하에 기재된 첨가제로부터 선택된 1종 이상의 첨가제를 포함한다. 한 실시양태에서, 1종 이상의 첨가제는 스테아르산마그네슘을 포함하거나 그로 이루어진다. 이 실시양태의 한 측면에서, 스테아르산마그네슘은 분말의 건조 중량 기준으로 0.001 내지 10%의 양으로, 바람직하게는 0.01 내지 5% 또는 0.01 내지 2%의 양으로 존재한다. 또 다른 실시양태에서, 첨가제는 인지질, 예컨대 레시틴 (이는 포스파티딜콜린의 혼합물임)을 분말의 건조 중량 기준으로 0.1% 내지 1%, 바람직하게는 0.2% 내지 0.6%의 양으로 포함하거나 그로 이루어진다. 이 실시양태의 한 측면에서, 첨가제는 담체를 라파마이신의 입자와 블렌딩하는 단계 전에 또는 단계와 동시에 담체 물질 상에 코팅된다. 이는, 예를 들어, 담체를 첨가제로 코팅하기 위해 고 에너지 혼합 단계를 이용함으로써, 또는 저 에너지 혼합의 장시간의 지속기간, 또는 목적하는 수준의 코팅된 담체를 달성하기 위해 저 및 고 에너지 혼합의 조합에 의해 완수될 수 있다. 블렌드를 형성시키는 건조 분말을 혼합하기 위한 저 에너지 장치는 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어, V-블렌더(blender), 더블 콘 블렌더(double cone blender), 슬랜트 콘 블렌더(slant cone blender), 큐브 블렌더(cube blender), 빈 블렌더(bin blender), 수평 또는 수직 드럼 블렌더(horizontal or vertical drum blender), 정적 연속 블렌더(static continuous blender), 및 동적 연속 블렌더(dynamic continuous blender)를 포함한다. 다른, 더 높은 에너지 장치는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 고전단 믹서를 포함한다.

[0126] 특정 실시양태에서, 건조 분말은 캡슐에 함유된다. 한 실시양태에서 캡슐은젤라틴 캡슐, 플라스틱 캡슐, 또는 셀룰로스 캡슐이거나, 호일/호일 또는 호일/플라스틱 블리스터의 형태이다. 각각의 경우에, 캡슐 또는 블리스터는 DPI 장치에서, 바람직하게는 담체와 함께 투여 형태에서, 각각의 캡슐 중 분말의 총 중량을 1 mg 내지 100 mg으로 만드는 양으로 사용하기에 적합하다. 대안으로, 건조 분말은 다중-용량 DPI 장치의 저장소에 함유될 수 있다.

[0127] 라파마이신의 입자 크기는 통상적인 방법에 의해, 예를 들어 에어-제트 밀(air-jet mill), 볼 밀(ball mill) 또는 바이브레이터 밀(vibrator mill)에서 그라인딩함으로써, 습식 연마, 아임계 또는 초임계 용액으로부터, 미량침전(microprecipitation), 분무 건조, 얼림 건조 또는 재결정화에 의해 목적하는 미립자로 감소시킬 수 있다. 제트 밀링 또는 그라인딩은 이 맥락에서 기계적 수단에 의해 건조 약물 입자의 미분화(micronization)를 지칭한다. 미분화 기술은 약물의 용액, 슬러리, 또는 현탁액을 제조하는 것을 필요로 하지 않는다. 대신에, 약물 입자는 기계적으로 크기가 감소된다. 미분화에 의해 사용되는 비교적 높은 에너지로 인해, 특정 실시양태에서 라파마이신과의 공-미분화(co-micronized) 혼합물에 담체 물질을 포함하는 것이 바람직하다. 이 맥락에서, 담체 물질은 그렇지 않으면 라파마이신의 구조에 악영향을 줄 수 있는 미분화의 에너지 일부를 흡수한다. 한 실시양태에서, 1 내지 4 또는 2 내지 3 마이크로미터의 크기 범위의 라파마이신 입자는 제트 밀링 방법에 의해 제조된다.

[0128] US2013/0203717에 의해 기재된 바와 같은 습식 연마는 고전단을 사용하여 현탁액 또는 슬러리에서 약물 입자의 입자 크기를 감소시키는 것을 포함한다. 습식 연마는 단지 약물 입자 또는 밀링 매체(milling media)로 칭해지는 추가적 미립자를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 입자 크기는 습식 연마 공정을 사용하여 목적하는 수준으로 감소될 수 있으며, 이는, 구체적으로 승온에서의 캐비테이션(cavitation)에 의한 습식 밀링을 포함하며, 여기서 라파마이신은 라파마이신이 불용성인 물 또는 다른 용매에 현탁된 다음에, 현탁액을 분무 건조시켜 라파마이신을 건조 분말로서 수득한다. 한 실시양태에서, 1 내지 4 또는 2 내지 3 마이크로미터의 크기 범위의 라파마이신 입자는 라파마이신의 현탁액을 제조하고, 현탁액을 미세유동화(microfluidization)에 적용하고, 생성된 입자를 분무 건조시켜 건조 분말을 형성시키는 것을 포함하는 습식 연마 방법에 의해 제조된다. 라파마이신은 프로필 또는 부틸 알콜, 물, 및 에틸 아세테이트로 이루어진 군으로부터 선택된 반-용매(anti-solvent)에 현탁될 수 있다. 한 실시양태에서, 현탁액은 수성 현탁액이다.

[0129] 분무 건조는 일반적으로 약물의 용액, 슬러리, 또는 현탁액을 제조하고, 용액, 슬러리, 또는 현탁액을 분사(atomizing)하여, 입자를 형성시킨 다음에, 용액, 슬러리, 또는 현탁액 매질을 증발시켜 입자를 형성시키는 것을 포함한다. 용액, 슬러리 또는 현탁액은 아임계 또는 초임계 조건 하에 형성될 수 있다. 증발 단계는 분사

(atomization)가 일어나는 대기의 온도를 상승시킴으로써, 또는 압력, 또는 이 둘의 조합을 감소시킴으로써 완수될 수 있다. 한 실시양태에서, 라파마이신을 포함하는 분말 제제는 라파마이신의 수성 분산액을 분무 건조시켜, 상기 기재된 바와 같이, 폐 전달에 적합한 크기를 갖는 라파마이신의 응집된 입자로 이루어진 건조 분말을 형성시킴으로써 제조된다. 응집체 입자 크기는 깊은 폐 또는 상부 호흡기 부위, 예컨대 상부 기관지 영역 또는 코 점막을 표적으로 조정 (증가 또는 감소)할 수 있다. 이는 예를 들어, 분무 건조된 분산액 중 라파마이신의 농도를 증가시키거나, 분무 건조기에 의해 발생된 액적 크기를 증가시킴으로써 완수될 수 있다.

[0130] 대안으로, 건조 분말은 수성 약물 용액, 분산액, 또는 에멀젼을 동결 건조 (얼림 건조)시킴으로써, 또는 분무 건조 및 동결 건조의 조합에 의해 제조될 수 있다.

[0131] 한 실시양태에서, 건조 분말 제제는 라파마이신의 수성 분산액, 및 1종 이상의 임의적 첨가제를 동결 건조시킴으로써 제조된다. 한 실시양태에서, 분말은 라파마이신 및 첨가제 (존재할 경우)의 응집체를 함유하고, 여기서 응집체는 상기 기재된 바와 같은 흡입 가능 크기 범위 내에 있다.

[0132] 한 실시양태에서, 라파마이신 및 1종 이상의 임의적 첨가제의 수성 분산액은 추가로, 용해된 희석제, 예컨대 락토스 또는 만니톨을 포함하여 분산액이 동결 건조되는 경우, 흡입 가능 희석제 입자 (각각은 하나 이상의 포매된 약물 입자 및 첨가제 입자 (존재할 경우)를 함유)가 형성되도록 한다.

[0133] 한 실시양태에서, 건조 분말은 라파마이신 로딩된 리포솜을 포함한다. 약물-로딩된 리포솜은, 예를 들어 문헌 [Chougale, *et al. Int. J. Nanomedicine* 2:625-688 (2007)]에서 타크롤리무스에 대해 기재된 기술을 사용하여, 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 간단히 말해, 라파마이신, 수소 첨가 포스파티딜콜린 (HSPC), 및 콜레스테롤을 메탄올과 클로로포름의 혼합물에 용해시킨 다음에, 예를 들어 회전식 증발기 (Rotaevaporator)에서 건조 박막(thin film) 형성에 적용한다. 리포솜을 수화시키고 리포솜 분산액을 크기 감소를 위해 고압 균질화기에 통과시킨다. 생성된 펠렛을 소포(vesicle) 크기 및 퍼센트 약물 포획으로 특성화한 다음에 라파마이신의 목적하는 양에 상당하는 펠렛을 적합한 매질에 분산시키고 분무 건조에 적용하여 흡입을 위한 목적하는 크기의 입자를 수득한다. 분무 건조된 분말을 투여를 위한 캡슐, 캐니스터, 또는 블리스터 팩에 채울 수 있다.

[0134] 한 실시양태에서 건조 분말 입자는 초임계 또는 아임계 용액으로부터 침전시켜 제조할 수 있다.

[0135] 건조 분말 조성물은 적합한 건조 분말 흡입기 장치, 또는 이러한 장치에서 사용하기 위한 캡슐 또는 블리스터에 함유될 수 있다. 이러한 장치의 예는 상기에 제공되어 있고 악쿠헤일러®, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 플라스티아페® RS00 모델 8, 코닉스™, 로타헤일러®, 트윈캡스®, 엑스캡스®, 플로우캡스®, 터르부헤일러®, 넥스트헤일러®, 시클로헤일러®, 레볼라이저™, 디스크헤일러®, 디스커스®, 스핀헤일러, 핸디헤일러®, 마이크로도스 인헤일러, 기로헤일러®, 옴니헤일러®, 클릭헤일러®, 또는 듀오헤일러® (벡튜라), 또는 호흡 작동식(breath-actuated) 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스)를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 건조 분말 조성물을 함유하는 DPI 장치를 제공한다. 한 실시양태에서 장치는 엑스캡스, 플로우캡스, 핸디헤일러, 트윈캡스, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0136] 분사제-기반 제제

[0137] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 라파마이신은 본원에서 일반적으로 "pMDI 제제"로도 칭해질 수 있는 분사제-기반 제제로 제제화된다. pMDI 제제는 가압식 정량 흡입기 (pMDI)와 같은 장치에 의한 전달에 적합하다. 한 실시양태에서, 조성물은 라파마이신, 분사제, 및 식물성유 또는 식물성유의 제약상 허용되는 유도체를 포함한다. 분사제는 바람직하게는 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 (HFA134a) 및 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 (HFA227), 또는 그의 혼합물로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 식물성 유는 올리브유, 홍화유, 및 대두유로부터 선택된다. 라파마이신은 분사제에서 용액 또는 현탁액으로 있을 수 있다. 이 맥락에서, "현탁액으로"는 라파마이신이 분사제에 분산된 미립자 형태로 존재하는 경우를 지칭한다. 한 실시양태에서, 라파마이신은 미분화되고 분사제 중 현탁액으로 존재한다. 한 실시양태에서, 제제는 추가로 습윤제 또는 공용매, 예컨대 에탄올을 포함한다. 한 실시양태에서, 제제는 추가로 폴리히드록시 알콜, 예컨대 프로필렌 글리콜을 포함한다.

[0138] 적합한 분사제는 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 할로겐-치환 탄화수소, 예를 들어 플루오린-치환 메탄, 에탄, 프로판, 부탄, 시클로프로판 또는 시클로부탄, 특히 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 (HFA134a) 및 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 (HFA227), 또는 그의 혼합물을 포함한다.

[0139] 한 실시양태에서, 제제는 미분화 라파마이신, 에탄올, 적합한 분사제, 예컨대 HFA 134a, HFA 227, 또는 적합한

분사제의 혼합물, 및 임의로 1종 이상의 계면활성제를 포함한다. 한 실시양태에서, 제제는 추가로 윤활제를 포함한다.

[0140] 한 실시양태에서, 제제는 라파마이신, 분사제, 및 식물성 유를 포함한다. 한 측면에서, 제제는 첨가제 또는 계면활성제를 포함하지 않는다. 예를 들어, 제제는 에탄올, 폴리히드록시 알콜 (예를 들어, 프로필렌 글리콜), 또는 계면활성제 (예를 들어, 소르비탄 트리올레에이트, 소르비탄 모노올레에이트, 또는 올레산)를 포함하지 않는다.

[0141] 한 실시양태에서, 분사제-기반 제제는 압축 공기, 이산화탄소, 질소, 또는 n-프로판, n-부탄, 이소부탄 또는 그의 혼합물, 또는 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 (HFA134a) 및 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 (HFA227), 또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 액화 분사제를, 알콜과 같은 극성 공용매와 함께 또는 없이, 포함한다. 조성물은 용액 또는 현탁액일 수 있다. 현탁액의 경우 약물 입자는 0.1 내지 10 마이크로미터의 직경을 갖고 평균 직경은 3.5 마이크로미터 미만이다.

[0142] 분사제-기반 제제는 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해, 예를 들어 조악한 라파마이신, 및 임의적 첨가제를, 액체 분사제 중에서, 주위 압력에서 또는 고압 조건 하에 습식 밀링함으로써 제조한다. 특정 실시양태에서, 첨가제는 응집 (케이크화 또는 결정화)을 방지하고, 균일 투여를 용이하게 하고, (또는 대안으로) 유리한 미립자 분율 (FPF)을 제공하는 역할을 하는 계면활성제이다. 한 측면에서, 계면활성제는 소르비탄 트리올레에이트, 소르비탄 모노올레에이트, 또는 올레산으로부터 선택된다. 대안으로, 약물 입자를 함유하는 건조 분말은 상기에서 논의된 바와 같이 약물 입자의 수성 분산액을 분무 건조 또는 동결 건조에 의해 제조하고 생성된 분말은 통상적인 가압식 정량 흡입기 (pMDI)에서 사용하기 위한 적합한 분사제에 분산된다. 한 실시양태에서, 흡입 장치는 레스피매트™이다.

[0143] 한 실시양태에서, 본 발명의 분사제-기반 에어로졸 라파마이신 제제는 장기간에 걸쳐 라파마이신의 결정 형태에서의 입자 크기 성장 또는 변화에 대하여 안정하다.

[0144] 멸균 단위 용량 형태의 제조 방법

[0145] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 멸균 조성물이다. 한 실시양태에서, 멸균 조성물은 멸균 단위 용량 형태이다. 한 실시양태에서, 멸균 단위 투여 형태는 분무기 장치에서 사용하기에 적합한 캡슐이다.

[0146] 한 실시양태에서, 완성 조성물(finished composition)은 열, 예를 들어, 오토클레이빙, 또는 방사선에 의해 그의 용기 밀폐체에서 멸균된다. 한 실시양태에서, 조성물의 성분 부분을 먼저 액체 성분을 위한 멸균 여과 및 고체 또는 액체를 위한 방사선 또는 오토클레이빙을 포함한 적합한 공정에 의해 멸균시키며, 여기서 공정은 추가로 밀폐 용기에서 포장하여 멸균 성분의 무균 상태를 유지하고, 적절한 비율로 혼합 용기에서 상기 성분을 합하고, 생성된 생성물을 용기 밀폐체에 채우는 것을 포함하며, 모두 무균 세트(aseptic suite)에서 수행된다. 이 공정은 고가이며 어려운 무균 처리 기술을 필요로 한다는 단점이 있다. 따라서, 멸균을 위해 서브마이크론 필터를 통과할 수 없는, 미립자 현탁액 또는 콜로이드 분산액, 리포솜 제제, 또는 에멀젼을 가공하는 것이 주로 사용된다. 마지막으로, 한 실시양태에서, 완성 조성물은 서브마이크론 필터, 바람직하게는 0.2 마이크로미터 필터를 통해 멸균 여과된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 여과 멸균 공정을 통해 멸균된 단일상 수용액이다. 반면에, 에멀젼 및 리포솜 제제는 전형적으로 여과 멸균 공정의 고전단 조건 하에 충분히 안정하지 않아, 이 공정에서 바람직하지 않다.

[0147] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 용기 밀폐체, 예를 들어, 중합체, 바람직하게는 폴리에틸렌으로 형성된 바이알, 또는 대안으로 유리 바이알에 채워지는 단일상 수용액이다. 바이알이 중합체 바이알인 경우 오토클레이빙 및 방사선은 적합하지 않은데 그 이유는 약물 및/또는 제제 부형제에서, 뿐만 아니라 용기에서 화학 불안정성을 창출할 가능성이 높기 때문이고, 그리고 바람직하지 않는 불순물이 발생하기 때문이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 열 (오토클레이빙) 또는 방사선을 포함하지 않으며, 대신에 여과 멸균 공정을 포함하는 공정에 의해 멸균된다. 바람직하게는, 이 실시양태에 따라서, 라파마이신의 단일상 수용액은 0.2 마이크로미터 이하의 기공 크기를 갖는 필터를 통한 여과에 의해 멸균된다. 한 실시양태에서, 멸균 여액은 무균 세트에 위치된 수집 용기에서 수집된다. 한 실시양태에서, 멸균 여액은 무균 세트에서 수집 용기로부터 용기 밀폐체로 옮겨진다. 바람직하게는 용기 밀폐체는 중합체 바이알, 바람직하게는 단위 용량 바이알, 가장 바람직하게는 폴리에틸렌 단위 용량 바이알이다. 한 실시양태에서, 중합체 바이알은 그것이 채워지기 직전에 취입 성형에 의해 형성된 다음에, 채워진 직후에 열 밀봉된다. 이 기술은 "성형-충전-밀봉(form-fill-seal)" 또는 "취입-충전(blow-fill)"으로도 칭해질 수 있다. 이 기술은 라파마이신의 단일상 수용액인 본 발명의 조성물의 맥락에서

특히 유리한데, 그 이유는 이 공정은 열 또는 방사선을 필요로 하지 않으며, 이들 둘 다 약물 자체, 제제 부형제, 또는 용기 밀폐체의 품질을 저하시킬 수 있기 때문이다.

[0148] 폐 투여 및 투여

[0149] 본 발명은 흡입에 의해, 라파마이신을 호흡기에, 바람직하게는 폐에 투여함으로써 LAM의 치료 및 예방을 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 폐 전달은 바람직하게는 입과 목을 통해 폐에 에어로졸의 흡입에 의해 완수되며, 또한 코를 통해 에어로졸의 흡입에 의해 완수될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서 에어로졸은 비강내 전달된다. 또 다른 실시양태에서, 에어로졸은 경구 전달된다.

[0150] 본 발명의 조성물 및 방법은 유리하게는, 동시에 혈액에서 및 전신에서 이용가능한 라파마이신의 양을 매우 낮은 또는 검출될 수 없는 수준으로 감소시키면서 폐에 치료 유효량의 라파마이신의 표적 전달을 제공한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 건조 분말 조성물의 단일회 용량 중의 라파마이신의 양은 약 5 내지 500 마이크로그램 또는 약 100 내지 300 마이크로그램, 또는 약 50 내지 250 마이크로그램이다. 전신 노출을 최소화하면서 폐에 직접 저용량 라파마이신의 표적 전달은 경구 투여 형태와 비교하여 개선된 치료 지수를 제공한다.

[0151] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법에 따른 흡입에 의한 라파마이신의 투여는 라파마이신의 치료 지수를 증가시킨다. 이 맥락에서, 인간 대상체에게 적용된 바와 같이, 치료 지수는 모집단의 50%에서 독성을 초래하는 용량(TD_{50})에 대한 치료 효과를 초래하는 용량 (ED_{50})을 비교하는 비율이다. 상기 비율은 TD_{50}/ED_{50}로서 표시된다.

한 실시양태에서, 본 발명의 방법에 따른 흡입에 의한 라파마이신의 투여는 경구 투여된 라파마이신과 관련된 하나 이상의 독성을 감소시키고, 그로 인해 라파마이신의 치료 지수를 증가시킨다.

[0152] 본 발명은 용액 및 분말의 형태로 에어로졸화가능한 제제를 포함한다. 따라서, 라파마이신은 수성 에어로졸, 건조 분말 에어로졸, 또는 분사제-기반 에어로졸의 형태로 본 발명의 방법에 따라 투여될 수 있다.

[0153] 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 대상체에서 0.01 내지 0.15 ng/ml, 0.075 내지 0.350 ng/ml, 0.150 내지 0.750 ng/ml, 0.750 내지 1.5 ng/ml 또는 1.5 내지 5 ng/ml의 혈중 최저 수준을 달성하는데 충분하다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 대상체에서 5 ng/ml 미만, 2 ng/ml 미만, 1 ng/ml 미만, 또는 0.5 ng/ml 미만의 혈중 최저 수준을 달성하는데 충분하다.

[0154] 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 1 ng/g 내지 1 ug/g의 범위로 폐 조직에서의 라파마이신의 농도를 초래하는데 충분하다.

[0155] 한 실시양태에서, 라파마이신의 투여 용량은 10 내지 100 마이크로그램, 50 내지 250 마이크로그램, 100 내지 500 마이크로그램 (0.1 내지 0.5 밀리그램), 500 내지 1000 마이크로그램 (0.5 내지 1 밀리그램) 또는 1000 내지 2000 마이크로그램 (1 내지 2 밀리그램)이다. 한 실시양태에서, 투여된 라파마이신의 양은 1 밀리그램 미만, 0.75 밀리그램 미만, 0.5 밀리그램 미만 또는 0.25 밀리그램 미만이다. 바람직하게는, 투여된 라파마이신의 양은 0.5 밀리그램 미만이다.

[0156] 한 실시양태에서, 라파마이신은 1일 1회 투여된다.

[0157] 한 실시양태에서, 라파마이신의 총 1일 용량은 10 내지 100 마이크로그램, 50 내지 250 마이크로그램, 100 내지 500 마이크로그램 (0.1 내지 0.5 밀리그램), 500 내지 1000 마이크로그램 (0.5 내지 1 밀리그램) 또는 1000 내지 2000 마이크로그램 (1 내지 2 밀리그램)의 범위이다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 총 1일 용량은 1 밀리그램 미만, 100 마이크로그램 미만, 50 마이크로그램 미만, 10 마이크로그램 미만, 또는 1 마이크로그램 미만이다. 한 실시양태에서, 라파마이신의 총 1일 용량은 500 나노그램 미만, 250 나노그램 미만, 100 나노그램 미만, 50 나노그램 미만, 또는 10 나노그램 미만이다. 한 실시양태에서, 대상체에게 투여되는 라파마이신의 총 1일 용량은 1일 2 mg 미만 또는 1 mg 미만이다.

[0158] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 1일 1회 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 1일 2회 또는 3회 대상체에게 투여된다. 바람직하게는, 조성물은 1일 1회 또는 2회, 또는 1일 1회 미만 투여된다.

[0159] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 폐 경로를 통해 라파마이신을 스타틴, 프로게스테론, 타목시펜, 고나도트로핀-방출 호르몬 (GnRH) 효능제, 독시시클린, src 억제제, 자가포식 억제제 (예를 들어 히드록시클로로퀸), VEGF-C 또는 -D 억제제, 및 VEGF 수용체 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 추가적 치료제와 조합하여 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 1종 이상의 추가적 치료제는 스타틴, 프로게스테론, 타목시

펜, 및 고나도트로핀-방출 호르몬 (GnRH) 효능제로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 1종 이상의 추가적 치료제는 에스트로겐 길항제, 스타틴, src 억제제, 및 VEGF-R 억제제로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 1종 이상의 추가적 치료제는 레트로졸, 타목시펜, 심바스타틴, 사라카티닙, 파조파닙, 이마티닙, 및 그의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 1종 이상의 추가적 작용제는 라파마이신과 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 작용제는 흡입에 의해 비강내, 경구, 또는 정맥내 투여될 수 있다.

[0160] 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 폐 경로를 통해 라파마이신을 1종 이상의 추가적 치료와 조합하여 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 1종 이상의 추가적 치료는 항에스트로겐 치료, 호르몬 치료, 항암 화학요법, 및 방사선 치료로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 폐 경로를 통해 라파마이신을 항에스트로겐 치료 또는 호르몬 치료와 조합하여 투여하는 것을 포함한다.

[0161] 특정 실시양태에서, 방법은 주요 치료로서 본 발명의 조성물의 폐 투여를 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 조성물의 투여는 아주반트 치료이다. 어느 경우에나, 본 발명의 방법은 본 발명의 조성물을 질환 또는 장애의 치료를 위한 1종 이상의 추가적 치료와 조합하여 투여하는 것을 고려한다. 용어 "치료" 및 "치료들"은 질환 또는 장애, 또는 그의 하나 이상의 증상의 예방, 치료, 관리 또는 개선에서 사용될 수 있는 임의의 방법, 프로토콜 및/또는 작용제를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 치료는 화학 요법, 방사선 치료, 호르몬 치료, 및 항에스트로겐 치료로부터 선택된다.

[0162] 바람직하게는, 본 발명의 방법에 따른 라파마이신 또는 그의 전구약물 또는 유도체를 포함하는 제약 조성물의 1종 이상의 추가적 치료와 조합된 투여는 LAM을 갖는 대상체에서 상승 반응을 제공한다. 이 맥락에서, 용어 "상승"은 조합의 효능이 단독으로 어느 하나의 단일 치료의 상가 효과(additive effect)보다 더 효과적인 것을 지칭한다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 조합 라파마이신 치료의 상승 효과로 인해, 조합 이외의 그의 용량 및/또는 빈도와 비교하여 조합에서 더 낮은 투여량 및/또는 하나 이상의 치료의 덜 빈번한 투여가 가능하게 된다. 또 다른 실시양태에서, 상승 효과는 조합에서 어느 한 치료의 단독 사용과 관련된 유해 또는 원치 않는 부작용의 회피 또는 감소에서 분명히 나타난다.

[0163] 분무기 전달

[0164] 한 실시양태에서, 라파마이신은 분무에 적합한 수용액으로서 제제화되고 분무기를 통해 전달된다. 수성 및 다른 비가압 액체 시스템의 경우, 다양한 분무기 (작은 부피의 분무기 포함)가 제제를 에어로졸화하기 위해 입수 가능하다. 압축기-구동 분무기는 제트 기술을 혼입하며 압축 공기를 사용하여 액체 에어로졸을 발생시킨다. 이러한 장치는, 예를 들어, 헬쓰다인 테크놀로지스, 인크.; 인바케어, 인크.; 마운틴 메디칼 이큅먼트, 인크.; 파리 레스퍼러토리, 인크.; 마다 메디칼, 인크.; 푸리탄-베넷; 슈코, 인크., 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.; 및 호스피탁, 인크.로부터 시판된다. 초음파 분무기는 압전 결정의 진동의 형태로 기계적 에너지에 의존하여 흡입 가능 액체 액적을 발생시키고, 예를 들어, 옴론 헬쓰케어, 인크. 및 데빌비스 헬쓰 케어, 인크.로부터 시판된다. 분무기는, 예를 들어, 1 내지 50 ml, 통상 1 내지 10 ml의 용액 제제를 함유할 수 있는, 통상적인 공기식 분무기, 예컨대 에어제트 분무기, 또는 초음파 분무기일 수 있다.

[0165] 한 실시양태에서, 본 발명의 수용액 제제는 진동 또는 고정 메시를 포함하는 분무기를 이용한 투여에 적합화된다. 예를 들어, 장치, 예컨대 AERx® (아라다임(Aradigm), 레스피매트® (베링거 잉겔하임), I-넵® (필립스), 또는 마이크로에어(MicroAire)® (옴론), 여기서 약물 용액은 피스톤 또는 공기압으로, 또는 압전 결정으로 오리피스 또는 메시를 통해 밀어진다. 대안으로, 용액은 진동 메시 분무기, 예컨대 E-플로우® (파리) 또는 에어로넵® 고 (에어로겐)를 통해 펌핑될 수 있다. 이들 장치로 인해, 통상적인 분무기보다 훨씬 더 작은 분무 부피, 예를 들어, 10 내지 100 ul, 및 더 높은 전달 효율이 가능하게 된다.

[0166] 건조 분말 전달

[0167] 한 실시양태에서, 본 발명의 건조 분말 조성물은 비분사제(non-propellant) 기반 건조 분말 흡입기 (DPI) 장치에 의해 전달된다. 한 실시양태에서, 분말은 DPI 장치에서 사용하기에 적합한, 젤라틴 또는 플라스틱의 캡슐에, 또는 블리스터에 함유된다. 한 실시양태에서, 분말은 캡슐당 5 mg 내지 100 mg의 분말의 투여 단위 및 단위 투여 형태로 공급된다. 또 다른 실시양태에서, 건조 분말은 다중-용량 건조 분말 흡입 장치의 저장소에 함유된다. 한 실시양태에서, 흡입기 장치는 정량(metered dose), 예컨대 10 내지 100 μl, 예를 들어 25 내지 50 μl의 조성물을 전달하도록 적합화된 밸브를 구비한 에어로졸 바이알, 즉 정량 흡입기로 공지된 장치을 포함한다.

[0168] 한 실시양태에서, DPI 장치는 블리스터 기반 장치, 예컨대 기로헤일러® 또는 옴니헤일러® (둘 다 벡튜라로부

터), 저장소 기반 장치, 예컨대 클릭헤일러® 또는 듀오헤일러® (벡튜라), 및 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스)이다. 한 실시양태에서, DPI 장치는 풀매트릭스(Pulmatrix)™, 및 호비온 트윈캡스(Hovione Twincaps) 및 엑스캡스™로부터 선택된다. 한 실시양태에서 장치는 엑스캡스, 플라스티아페® RS01 모델 7, 및 플라스티아페® RS00 모델 8로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0169] 한 실시양태에서, DPI 장치는 악쿠헤일러®, 에어롤라이저®, 플라스티아페® RS01 모델 7, 플라스티아페® RS00 모델 8, 코닉스™, 로타헤일러®, 트윈캡스®, 엑스캡스®, 플로우캡스®, 터르부헤일러®, 넥스트헤일러®, 시클로헤일러®, 레볼라이저™, 디스크헤일러®, 디스커스®, 스핀헤일러, 핸디헤일러®, 마이크로도스 인헤일러, 기로헤일러®, 옴니헤일러®, 클릭헤일러®, 또는 듀오헤일러® (벡튜라), 또는 호흡 작동식 아르커스® 흡입기 (시비타스 테라픽스)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0170] 한 실시양태에서, DPI 장치는 아르커스™, 아스피레어(Aspirair)™, 악사헤일러(Axahaler)™, 브리즈헤일러(Breezhaler)™, 클릭헤일러™, 코닉스 드라이(Conix Dry)™, 크릭켓(Cricket)™, 드림보우트(Dreamboat)™, 제뉴에어(Genuair)™, 제미니(Gemini)™, 인스피로매틱(Inspiromatic)™, iSPERSE™, 마이크로도스™, 넥스트(Next) DPI™, 프로헤일러(Prohaler)™, 풀모제트(Pulmojet)™, 풀비날(Pulvinal)™, 솔리스(Solis)™, 타이푼(Taifun)™, 테이퍼 드라이(Taper Dry)™, 트리바이(Trivai)™, 노볼라이저(Novolizer)™, 포드헤일러(Podhaler)™, 스카이헤일러(Skyehaler)™, 스피로맥스(Spiromax)™, 트윈캡스/플로우캡스™, 및 터르부헤일러™로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, DPI 장치는 건조 분말의 투여 단위를 함유하는 캡슐 또는 블리스터로부터의 건조 분말을 전달하도록 적합화되거나, 다중-용량 건조 분말 흡입 장치는 작동당, 예를 들어, 5-25 mg의 건조 분말을 전달하도록 적합화된다.

[0171] pMDI 전달

[0172] 또 다른 실시양태에서, 라파마이신은 분사제-기반 제제와 관련하여 상기 기재된 바와 같은 적합한 분사제를 함유하는 가압 용기 또는 디스펜서로부터 에어로졸화된 입자의 형태로 전달된다. 한 실시양태에서, 흡입기는 분사제 구동 흡입기, 예컨대 각각의 작동시 라파마이신의 정량을 방출하는 pMDI 장치이다. 전형적인 pMDI 장치는 약물을 함유하는 캐니스터, 약물 계량 밸브, 및 마우스피스(mouthpiece)를 포함한다. 이 실시양태의 한 측면에서, 라파마이신은 분사제 중 현탁액으로서 제제화된다. 이 실시양태의 맥락에서, 라파마이신은 액화 분사제 또는 분사제 블렌드에 현탁되는 미세 분말로 된다. 그 다음에 현탁액을 액체 형태로 분사제를 유지하기에 충분한 압력 하에 밀봉 캐니스터에 보관한다. 또 다른 실시양태에서, 라파마이신은 용액으로서 제제화된다. 이 실시양태의 맥락에서, 라파마이신은 액화 분사제 또는 분사제 블렌드에 가용화된다. 한 실시양태에서, 제제는 추가로, 제제의 교반 후 라파마이신의 재현가능한 투여를 가능하게 하는데 충분한 시간 동안 침강(settling), 크리밍(creaming) 또는 엉김(flocculation)에 대하여 제제를 안정화시키는데 적합한 양으로 안정화제를 포함한다. 안정화제는 에어로졸 제제의 총 중량 기준 백만부를 기준으로 약 10 중량부 내지 약 5000 중량부의 양으로 과량으로 존재할 수 있다. 한 실시양태에서, 유체 담체는 1,1,1,2-테트라플루오로에탄, 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판 또는 그의 혼합물이다. 또 다른 실시양태에서, 유체 담체는 탄화수소 (예를 들어, n-부탄, 프로판, 이소펜탄, 또는 그의 혼합물)이다. 조성물은 추가로 공용매 (예를 들어, 에탄올 또는 다른 적합한 공용매)를 포함할 수 있다.

[0173] 본 발명의 방법의 한 실시양태에서, 라파마이신을 포함하는 에어로졸 제제는 추가로 추가적 약물을 포함한다. 이 실시양태의 한 측면에서, 추가적 약물은 코르티코스테로이드, 에스트로겐 수용체 길항제, 항콜린작용제, 베타-효능제, 비스테로이드성 소염제, 마크롤라이드 항생제, 기관지 확장제, 류코트리엔 수용체 억제제, 무스카린 길항제, 크로몰린 술페이트, 및 그의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0174] 첨가제

[0175] 본 발명의 에어로졸 조성물은 제제에 존재하는 임의의 담체 또는 희석제 (예컨대 락토스 또는 만니톨)에 더하여 1종 이상의 첨가제를 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 1종 이상의 첨가제는 1종 이상의 계면활성제를 포함하거나 그로 이루어진다. 계면활성제는 전형적으로 하나 이상의 긴 지방족 쇄, 예컨대 지방산을 갖고, 이로써 이들을 세포의 지질 구조에 직접 삽입할 수 있게 하여 약물 침투 및 흡수를 증진시킨다. 계면활성제의 상대적인 친수성 및 소수성을 특성화하는데 통상 사용되는 실험적 파라미터는 친수성-친유성 평형 ("HLB" 값)이다. 낮은 HLB 값을 갖는 계면활성제는 더 소수성이고, 오일에서 더 큰 용해도를 가지며, 한편 더 높은 HLB 값을 갖는 계면활성제는 더 친수성이며, 수용액에서 더 큰 용해도를 갖는다. 따라서, 친수성 계면활성제는 일반적으로 약 10 초과의 HLB 값을 갖는 그러한 화합물들로 여겨지고, 소수성 계면활성제는 일반적으로 약 10 미만의 HLB 값을 갖는 것들이다. 그러나, 이들 HLB의 값은 단지 지침이며, 그 이유는 많은 계면활성제의 경우, HLB 값은, HLB

값을 결정하기 위해 선택된 실험적 방법에 따라, 약 8 HLB 단위 정도까지 많이 차이가 날 수 있기 때문이다.

[0176] 본 발명의 에어로졸 조성물에서 사용하기 위한 계면활성제 중에는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)-지방산 및 PEG-지방산 모노 및 디에스테르, PEG 글리세롤 에스테르, 알콜-오일 에스테르교환반응 생성물, 폴리글리세릴 지방산, 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르, 스테롤 및 스테롤 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에테르, 당 및 그의 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페놀, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 (POE-POP) 블록 공중합체, 소르비탄 지방산 에스테르, 이온성 계면활성제, 지용성 비타민 및 그의 염, 수용성 비타민 및 그의 양친매성 유도체, 아미노산 및 그의 염, 및 유기 산 및 그의 에스테르 및 무수물이 있다. 이들 각각은 이하에 보다 상세히 설명된다.

[0177] PEG 지방산 에스테르

[0178] 비록 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 그 자체가 계면활성제로 기능하지 않긴 하지만, 다양한 PEG-지방산 에스테르는 유용한 계면활성제 특성을 갖는다. PEG-지방산 모노에스테르 중에서, 라우르산, 올레산, 스테아르산의 에스테르가 본 발명의 실시양태에서 가장 유용하다. 바람직한 친수성 계면활성제는 PEG-8 라우레이트, PEG-8 올레에이트, PEG-8 스테아레이트, PEG-9 올레에이트, PEG-10 라우레이트, PEG-10 올레에이트, PEG-12 라우레이트, PEG-12 올레에이트, PEG-15 올레에이트, PEG-20 라우레이트 및 PEG-20 올레에이트를 포함한다. HLB 값은 4-20의 범위이다.

[0179] 폴리에틸렌 글리콜 지방산 디에스테르는 또한 본 발명의 실시양태의 조성물 중 계면활성제로서 사용하기에 적합하다. 가장 바람직한 친수성 계면활성제는 PEG-20 디라우레이트, PEG-20 디올레에이트, PEG-20 디스테아레이트, PEG-32 디라우레이트 및 PEG-32 디올레에이트를 포함한다. HLB 값은 5-15의 범위이다.

[0180] 일반적으로, 2종 이상의 시판 계면활성제의 혼합물뿐만 아니라 또 다른 첨가제 또는 첨가제들과 계면활성제의 혼합물을 포함한, 계면활성제의 혼합물이 또한 본 발명의 실시양태에서 유용하다. 몇몇 PEG 지방산 에스테르는 모노- 및 디에스테르의 혼합물로서 상업적으로 시판되고 있다.

[0181] 폴리에틸렌 글리콜 글리세롤 지방산 에스테르

[0182] 바람직한 친수성 계면활성제는 PEG-20 글리세릴 라우레이트, PEG-30 글리세릴 라우레이트, PEG-40 글리세릴 라우레이트, PEG-20 글리세릴 올레에이트, 및 PEG-30 글리세릴 올레에이트이다.

[0183] 알콜-오일 에스테르교환반응 생성물

[0184] 상이한 정도의 소수성 또는 친수성의 계면활성제의 대다수는 다양한 천연 및/또는 수소첨가유와 알콜 또는 다가 알콜의 반응에 의해 제조될 수 있다. 가장 일반적으로, 사용되는 오일은 피마자유 또는 수소첨가 피마자유, 또는 식용 식물성유, 예컨대 옥수수유, 올리브유, 땅콩유, 팜핵유, 행인유, 또는 아몬드유이다. 바람직한 알콜은 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비톨, 및 펜타에리트리톨을 포함한다. 이들 알콜-오일 에스테르교환된 계면활성제 중에서, 바람직한 친수성 계면활성제는 PEG-35 피마자유 (인크로카스(Incrocas)-35), PEG-40 수소첨가 피마자유 (크레모포(Cremophor) RH 40), PEG-25 트리올레에이트 (TAGAT.RTM. TO), PEG-60 옥수수 글리세리드 (크로볼(Crovol) M70), PEG-60 아몬드유 (크로볼 A70), PEG-40 팜핵유 (크로볼 PK70), PEG-50 피마자유 (에말렉스(Emalex) C-50), PEG-50 수소첨가 피마자유 (에말렉스 HC-50), PEG-8 카프릴릭/카프릭 글리세리드 (라브라솔(Labrasol)), 및 PEG-6 카프릴릭/카프릭 글리세리드 (소프티겐(Softigen) 767)이다. 이러한 부류에서의 바람직한 소수성 계면활성제는 PEG-5 수소첨가 피마자유, PEG-7 수소첨가 피마자유, PEG-9 수소첨가 피마자유, PEG-6 옥수수유 (라브라필(Labrafil).RTM. M 2125 CS), PEG-6 아몬드유 (라브라필.RTM. M 1966 CS), PEG-6 행인유 (라브라필.RTM. M 1944 CS), PEG-6 올리브유 (라브라필.RTM. M 1980 CS), PEG-6 땅콩유 (라브라필.RTM. M 1969 CS), PEG-6 수소첨가 팜핵유 (라브라필.RTM. M 2130 BS), PEG-6 팜핵유 (라브라필.RTM. M 2130 CS), PEG-6 트리올레인 (라브라필.RTM.b M 2735 CS), PEG-8 옥수수유 (라브라필.RTM. WL 2609 BS), PEG-20 옥수수 글리세리드 (크로볼 M40), 및 PEG-20 아몬드 글리세리드 (크로볼 A40)를 포함한다.

[0185] 폴리글리세릴 지방산

[0186] 지방산의 폴리글리세롤 에스테르는 또한 본 발명의 실시양태에서 사용하기 위한 적합한 계면활성제이다. 폴리글리세릴 지방산 에스테르 중에서, 바람직한 소수성 계면활성제는 폴리글리세릴 올레에이트 (플루롤 올레이크(Plurol Oleique)), 폴리글리세릴-2 디올레에이트 (니콜(Nikkol) DGDO), 폴리글리세릴-10 트리올레에이트, 폴리글리세릴 스테아레이트, 폴리글리세릴 라우레이트, 폴리글리세릴 미리스테이트, 폴리글리세릴 팔미테이트, 및

폴리글리세릴 리놀레에이트를 포함한다. 바람직한 친수성 계면활성제는 폴리글리세릴-10 라우레이트 (니콜 데카글린(Nikkol Decaglyn) 1-L), 폴리글리세릴-10 올레에이트 (니콜 데카글린 1-O), 및 폴리글리세릴-10 모노, 디올레에이트 (카프롤(Caprol).RTM. PEG 860), 폴리글리세릴-10 스테아레이트, 폴리글리세릴-10 라우레이트, 폴리글리세릴-10 미리스테이트, 폴리글리세릴-10 팔미테이트, 폴리글리세릴-10 리놀레에이트, 폴리글리세릴-6 스테아레이트, 폴리글리세릴-6 라우레이트, 폴리글리세릴-6 미리스테이트, 폴리글리세릴-6 팔미테이트, 및 폴리글리세릴-6 리놀레에이트를 포함한다. 폴리글리세릴 폴리리시놀레에이트 (폴리물스(Polymuls))가 또한 바람직한 계면활성제이다.

[0187] 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르

[0188] 프로필렌 글리콜과 지방산의 에스테르는 본 발명의 실시양태에서 사용하기 위한 적합한 계면활성제이다. 이러한 계면활성제 부류에서, 바람직한 소수성 계면활성제는 프로필렌 글리콜 모노라우레이트 (라우로글리콜(Lauroglycol) FCC), 프로필렌 글리콜 리시놀레에이트 (프로피물스(Propymuls)), 프로필렌 글리콜 모노올레에이트 (미베롤(Myverol) P-06), 프로필렌 글리콜 디카프릴레이트/디카프레이트 (카프텍스(Captex).RTM. 200), 및 프로필렌 글리콜 디옥타노에이트 (카프텍스.RTM. 800)를 포함한다.

[0189] 스테롤 및 스테롤 유도체

[0190] 스테롤 및 스테롤의 유도체는 본 발명의 실시양태에서 사용하기 위한 적합한 계면활성제이다. 바람직한 유도체는 폴리에틸렌 글리콜 유도체를 포함한다. 이 부류에서 바람직한 계면활성제는 PEG-24 콜레스테롤 에테르 (솔루탄(Solulan) C-24)이다.

[0191] 폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 지방산 에스테르

[0192] 다양한 PEG-소르비탄 지방산 에스테르가 입수가능하며 본 발명의 실시양태에서 계면활성제로서 사용하기에 적합하다. PEG-소르비탄 지방산 에스테르 중에서, 바람직한 계면활성제는 PEG-20 소르비탄 모노라우레이트 (트윈-20), PEG-20 소르비탄 모노팔미테이트 (트윈-40), PEG-20 소르비탄 모노스테아레이트 (트윈-60), 및 PEG-20 소르비탄 모노올레에이트 (트윈-80)를 포함한다.

[0193] 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에테르

[0194] 폴리에틸렌 글리콜 및 알킬 알콜의 에테르는 본 발명의 실시양태에서 사용하기 위한 적합한 계면활성제이다. 바람직한 에테르는 PEG-3 올레일 에테르 (볼포(Volpo) 3) 및 PEG-4 라우릴 에테르 (브리지(Brij) 30)를 포함한다.

[0195] 당 및 그의 유도체

[0196] 당 유도체는 본 발명의 실시양태에서 사용하기 위한 적합한 계면활성제이다. 이 부류에서 바람직한 계면활성제는 수크로스 모노팔미테이트, 수크로스 모노라우레이트, 데카노일-N-메틸글루카미드, n-데실-β-D-글루코피라노시드, n-데실-β-D-말토피라노시드, n-도데실-β-D-글루코피라노시드, n-도데실-β-D-말토시드, 헵타노일-N-메틸글루카미드, n-헵틸-β-D-글루코피라노시드, n-헵틸-β-D-티오글루코시드, n-헥실-β-D-글루코피라노시드, 노나노일-N-메틸글루카미드, n-노닐-β-D-글루코피라노시드, 옥타노일-N-메틸글루카미드, n-옥틸-β-D-글루코피라노시드, 및 옥틸-β-D-티오글루코피라노시드를 포함한다.

[0197] 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페놀

[0198] 몇몇 PEG-알킬 페놀 계면활성제, 예컨대 PEG-10-100 노닐 페놀 및 PEG-15-100 옥틸 페놀 에테르, 틸록사폴, 옥톡시놀, 노녹시놀이 입수가능하며, 본 발명의 실시양태에서 사용하기에 적합하다.

[0199] 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 (POE-POP) 블록 공중합체

[0200] POE-POP 블록 공중합체는 중합체성 계면활성제의 특유의 부류이다. 명확한 비율 및 위치에서 친수성 POE 및 소수성 POP 모이어티를 갖는 계면활성제의 특유의 구조는, 본 발명의 실시양태에서 사용하기에 적합한 다종다양한 계면활성제를 제공한다. 이들 계면활성제는 신페로닉(Synperonic) PE 시리즈 (ICI); 플루로닉(Pluronic).RTM. 시리즈 (바스프(BASF)), 엠칼릭스(Emkalyx), 루트롤(Lutrol) (바스프), 수프로닉(Supronic), 모놀란(Monolan), 플루라케어(Pluracare), 및 플루로닥(Plurodac)을 포함한 다양한 상표명으로 입수가능하다. 이들 중합체의 일반 명칭은 "폴록사머" (CAS 9003-11-6)이다. 이들 중합체는 화학식: HO(C2H4O)a(C3H6O)b(C2H4O)aH를 갖고, 여기서 "a" 및 "b"는 각각 폴리옥시에틸렌 폴리옥시프로필렌 단위의 수를 나타낸다.

[0201] 이러한 부류의 바람직한 친수성 계면활성제는 폴록사머 108, 188, 217, 238, 288, 338, 및 407을 포함한다. 이러한 부류에서의 바람직한 소수성 계면활성제는 폴록사머 124, 182, 183, 212, 331, 및 335를 포함한다

[0202] 소르비탄 지방산 에스테르

[0203] 지반산의 소르비탄 에스테르는 본 발명의 실시양태에서 사용하기 위한 적합한 계면활성제이다. 이들 에스테르 중에서, 바람직한 소수성 계면활성제는 소르비탄 모노라우레이트 (아를라셀(Arlacel) 20), 소르비탄 모노팔미테이트 (스판(Span)-40), 소르비탄 모노올레에이트 (스판-80), 소르비탄 모노스테아레이트를 포함한다.

[0204] 소르비탄 모노팔미테이트, 비타민 C의 양친매성 유도체 (이는 비타민 C 활성을 가짐)는, 가용화 시스템에서 두 가지 중요한 기능을 할 수 있다. 첫째, 이는 미세환경을 조정할 수 있는 효과적인 극성 기를 보유한다. 이들 극성 기는 가장 수용성인 유기 고체 화합물 중 하나인 비타민 C 그 자체 (아스코르브산)를 이용할 수 있게 하는 동일한 기이다: 아스코르브산은 물에 약 30 wt/wt%까지 가용성이다 (예를 들어, 염화나트륨의 용해도에 매우 가까움). 그리고 둘째, pH가 증가하는 경우 아스코르빌 팔미테이트의 분획을 더 가용성인 염, 예컨대 소듐 아스코르빌 팔미테이트로 전환시키도록 한다.

[0205] 이온성 계면활성제

[0206] 양이온성, 음이온성 및 양성이온성 계면활성제를 포함한 이온성 계면활성제는 본 발명의 실시양태에서 사용하기 위한 적합한 친수성 계면활성제이다. 바람직한 이온성 계면활성제는 4급 암모늄 염, 지방산 염 및 담즙산 염을 포함한다. 구체적으로, 바람직한 이온성 계면활성제는 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 세틸피리디늄 클로라이드, 도세실 트리메틸 암모늄 브로마이드, 소듐 도세실술페이트, 디알킬 메틸벤질 암모늄 클로라이드, 에드로포늄 클로라이드, 도미펜 브로마이드, 소듐 술폰숙신산의 디알킬에스테르, 소듐 디옥틸 술포숙시네이트, 소듐 콜레이트, 및 소듐 타우로콜레이트를 포함한다. 이들 4급 암모늄 염은 바람직한 첨가제이다. 이들은 유기 용매 (예컨대 에탄올, 아세톤, 및 톨루엔) 및 물 둘 다에 용해될 수 있다. 이는 의료 장치 코팅에 특히 유용한데 그 이유는 그것이 제조 및 코팅 공정을 단순화하고 양호한 부착성을 보유하기 때문이다. 수불용성 약물은 통상 유기 용매에 용해된다.

[0207] 지용성 비타민 및 그의 염

[0208] 비타민 A, D, E 및 K는 그의 다양한 형태 및 프로비타민 형태로 지용성 비타민으로 여겨지고 이들에 더하여 다수의 다른 비타민 및 비타민 공급원 또는 밀접한 동족류(close relatives)가 또한 지용성이고 극성 기, 및 비교적 높은 옥탄올-물 분배 계수를 갖는다. 분명히, 이러한 화합물의 일반적인 부류는 안전한 사용의 이력 및 높은 손익비를 가져, 본 발명의 실시양태에서 첨가제로서 이들을 유용하게 만든다.

[0209] 지용성 비타민 유도체 및/또는 공급원의 하기 예가 첨가제로서 유용하다: 알파-토코페롤, 베타-토코페롤, 감마-토코페롤, 델타-토코페롤, 토코페롤 아세테이트, 에르고스테롤, 1-알파-히드록시콜레칼시페롤, 비타민 D2, 비타민 D3, 알파-카로틴, 베타-카로틴, 감마-카로틴, 비타민 A, 푸르술티아민, 메틸올리보플라빈, 옥토티아민, 프로술티아민, 리보플라빈, 빈티아몰, 디히드로비타민 K1, 메나디올 디아세테이트, 메나디올 디부티레이트, 메나디올 디술페이트, 메나디올, 비타민 K1, 비타민 K1 산화물, 비타민 K2, 및 비타민 K-S(II). 엽산이 또한 이러한 유형이며, 비록 그것이 생리적 pH에서 수용성이긴 하지만, 이는 유리산 형태로 제제화될 수 있다. 본 발명의 실시양태에서 유용한 지용성 비타민의 다른 유도체는 친수성 분자와의 널리 공지된 화학 반응을 통해 용이하게 얻을 수 있다.

[0210] 수용성 비타민 및 그의 양친매성 유도체

[0211] 비타민 B, C, U, 판토텐산, 엽산, 및 일부의 메나디온-관련 비타민/프로비타민은 그의 많은 다양한 형태로 수용성 비타민으로 여겨진다. 이들은 또한 소수성 모이어티 또는 다가 이온와 컨쥬케이트되거나 착물화되어 비교적 높은 옥탄올-물 분배 계수 및 극성 기를 갖는 양친매성 형태로 될 수 있다. 다시, 이러한 화합물은 독성이 낮을 수 있고 손익비가 높아, 본 발명의 실시양태에서 첨가제로서 이들을 유용하게 만든다. 이들의 염은 또한 본 발명의 첨가제로서 또한 유용할 수 있다. 수용성 비타민 및 유도체의 예는 제한 없이, 아세티아민, 벤토티아민, 판토텐산, 세토티아민, 시클로티아민, 덱스판테놀, 니아신아미드, 니코틴산, 피리독살 5-포스페이트, 니코틴아미드 아스코르베이트, 리보플라빈, 리보플라빈 포스페이트, 티아민, 엽산, 메나디올 디포스페이트, 메나디온 소듐 비술파이트, 메나독심, 비타민 B12, 비타민 K5, 비타민 K6, 비타민 K6, 및 비타민 U를 포함한다. 또한, 상기에서 언급된 바와 같이, 엽산은 생리적 pH를 포함한 넓은 pH 범위에 걸쳐, 염으로서 수용성이다.

[0212] 아미노기 또는 다른 염기성 기가 존재하는 화합물은 쉽게 소수성 기-함유 산, 예컨대 지방산 (특히 라우르산,

올레산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 또는 2-에틸헥산산), 저-용해도 아미노산, 벤조산, 살리실산, 또는 산성 지용성 비타민 (예컨대 리보플라빈)과 간단한 산 - 염기 반응에 의해 변형될 수 있다. 이러한 산을 비타민 상의 또 다른 기, 예컨대 히드록실 기와 반응시켜 결합, 예컨대 에스테르 결합 등을 형성함으로써 다른 화합물이 수득될 수 있다. 산성 기를 함유하는 수용성 비타민은 소수성 기-함유 반응물, 예컨대 스테아릴아민 또는 리보플라빈과의 반응에서 생성되어, 예를 들어, 본 발명의 실시양태에서 유용한 화합물을 창출할 수 있다. 비타민 C에 팔미테이트 쇄의 결합은 아스코르빌 팔미테이트를 산출한다.

[0213] 아미노산 및 그의 염

[0214] 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트 산, 시스테인, 시스틴, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 프롤린, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 발린 및 그의 유도체는 본 발명의 실시양태에서 다른 유용한 첨가제이다.

[0215] 특정 아미노산은, 1가 또는 다가 이온과의 염 형태로 및/또는 그의 양성이온성 형태로, 극성 기, 비교적 높은 옥탄올-물 분배 계수를 갖고, 본 발명의 실시양태에서 유용하다. 본 개시내용의 맥락에서 본 출원인은 "저용해도 아미노산"을 약 4% (40 mg/ml) 미만의 비완충수에서의 용해도를 갖는 아미노산을 의미하도록 취한다. 이들은 시스틴, 티로신, 트립토판, 류신, 이소류신, 페닐알라닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루탐산, 및 메티오닌을 포함한다.

[0216] 유기 산 및 그의 에스테르 및 무수물

[0217] 예는 아세트산 및 무수물, 벤조산 및 무수물, 아세틸살리실산, 디플루니살, 2-히드록시에틸 살리실레이트, 디에틸렌트리아민펜타아세트산 이무수물, 에틸렌 디아민테트라아세트산 이무수물, 말레산 및 무수물, 숙신산 및 무수물, 디글리콜산 무수물, 글루타르산 무수물, 아스코르브산, 시트르산, 타르타르산, 락트산, 옥살산, 아스파르트 산, 니코틴산, 2-피롤리돈-5-카르복실산, 및 2-피롤리돈이다.

[0218] 이들 에스테르 및 무수물은 유기 용매, 예컨대 에탄올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 에틸아세테이트에 가용성이다. 수불용성 약물은 이들 에스테르 및 무수물을 갖는 유기 용매에 용해된 다음에, 의료 장치 상에서 용이하게 코팅된 다음에, 높은 pH 조건 하에 가수분해될 수 있다. 가수분해된 무수물 또는 에스테르는 산 또는 알콜이고, 이들은 수용성이며 효과적으로 약물을 장치로부터 제거하여 혈관 벽으로 운반할 수 있다.

[0219] **실시예**

[0220] 본 발명은 추가로 하기 실시예에 기재되며, 이는 청구범위에 기재된 본 발명의 범주를 제한하지 않는다.

[0221] 실시예 1: 수성 에어로졸 제제

[0222] 라파마이신의 예시적인 수성 제제를 하기 성분을 사용하여 제조하였다.

[0223]

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

[0224] 블렌딩 절차: 1000 ml 갈색 용적 플라스크에서, 250 프로필렌 글리콜을 250 에탄올과 균일할 때까지 블렌딩하였다. 그 다음에 먼저 100 mg 라파마이신 그 다음에 20 mg 폴리소르베이트 80을 프로필렌 글리콜 및 에탄올 용액에 순차적으로 용해시켰다. 물을 첨가하여 부피를 1000 ml로 만들고 균일할 때까지 교반 또는 초음파 처리하고 모든 라파마이신을 용해시켰다. 빛으로부터 떨어져 제어 온도에서 보관하였다.

[0225] 실시예 2: 건조 분말 제제

[0226] 배치(Batch) 06RP68.HQ00008 및 06RP68.HQ00009. 이들 두 제제는 각각 락토스 담체 입자의 표면 상에 분산된 미분화 약물 (라파마이신) 입자의 블렌드이었다. 각각의 배치의 최종 조성물은 각각 약 2.60 마이크로미터 및 3.00 마이크로미터의 평균 직경을 갖는 1% (w/w) 약물 입자를 포함하였다. 적합한 크기 범위를 갖는 약물 입자를 이하에 기재된 바와 같이, 습식 연마 (06RP68.HQ00008) 또는 제트 밀링 (06RP68.HQ00009)에 의해 제조하였다. 본 실시예는 1% (w/w) 라파마이신을 사용하였지만, 범위 0.5 내지 20%가 실행가능하다. 담체 입자는 2종의 담체, 즉 95.5% (w/w)로 존재하고 약 30 내지 100 마이크로미터의 입자 크기 (구체 상당 직경(equivalent

spherical diameter))를 갖는 레스피토스(Respitose)® SV003, 및 5.5% (w/w)로 존재하고 10 마이크로미터 미만의 입자 크기 (구체 상당 직경)를 갖는 레스피토스® LH300 (락토헤일(Lactohale) 300)의 블렌드로 이루어졌다. 블렌딩한 후, 블렌드를 검정하여 균질성 및 1%의 약물 함량을 확인하였다.

[0227] 약물 입자 응집을 감소시키고 약물 입자의 에어로졸화를 보조하기 위해 몇몇 다른 부형제를 임의로 첨가한다. 임의적 부형제는 인지질, 예컨대 디팔미틸포스파티딜콜린 (DPPC) 및 레시틴, 및 금속 지방산 염, 예컨대 스테아르산마그네슘을 포함한다. 이들을 0.01 내지 0.5% 범위에 이르는 큰 담체 입자에 대한 부형제의 중량비로 담체 입자 상에 코팅할 수 있다.

[0228] 캡슐 충전: 배치 06RP68.HQ00008 및 배치 06RP68.HQ00009로부터 20 밀리그램의 분말 블렌드를 크기 #3 HPMC 캡슐에 로딩하여 약물 제품을 제조하였다. 이들 블렌드의 경우 5 내지 35 밀리그램의 약물을 #3 크기 캡슐에 로딩하고 분당 60 내지 100 리터 범위에 이르는 유량으로 플라스티아페® RS01 모델 7 또는 플라스티아페® RS00 모델 8 장치에서 작동시 95% 초과의 로딩된 블렌드를 캡슐에서 비우는 것을 실행할 수 있었다.

[0229] 실시예 3: C57BL6 마우스에게 구강인두 흡인(oropharyngeal aspiration: OPA) 및 경구 위관영양(oral gavage)에 의해 투여 후에 폐 및 혈액 중의 라파마이신의 측정

[0230] 본 연구를 수행하여 위관영양 및 구강인두 흡인 (OPA)에 의해 1 mg/kg의 매우 높은 목표 용량으로 라파마이신의 투여 후 수컷 C57BL/6 마우스에서의 라파마이신의 농도를 평가하였다. 마우스 혈액 및 폐 균질액에서 라파마이신의 분석 방법을 액체 크로마토그래피와 텐덤 질량 분석법(tandem mass spectrometry) 검출 (LC-MS/MS)을 사용하여 개발하였다. 삼중 농도를 사용한 라파마이신의 교정 곡선을 마우스 혈액에서 1 ng/mL 내지 2000 ng/mL 및 마우스 폐 균질액에서 2 ng/mL 내지 20,000 ng/mL로 분석하였다. 정확도, 정밀도 및 선형성이 예상 범위 내에 있었다.

[0231] 예비 연구(pilot study)에서, 마우스 당 50 μL의 부피로 구강인두 흡인를 통해 폐에 비히클 전달의 효율을 에반스 블루(Evans Blue) 염료의 투여에 의해 평가하였다. 단지 폐에서 청색 염료의 존재가 육안으로 확인되었고, 위에서의 청색 염료의 부재는 위로의 전달이 사용된 절차에서 방지되었음을 입증하였다.

[0232] 라파마이신을 경구 또는 OPA를 통해 1.0 mg/kg의 용량으로 위관영양에 의해 수컷 C57BL/6 마우스 (N=6)에게 투여하였다. 경구 용량을 제약 경구 액체 제제 라파뮨 오랄(Rapamune Oral)® (화이자)을 사용하여 제제화하였다. OPA용 라파마이신은, 시험 물질을 적절한 부피의 에탄올에 용해시킨 다음에, 적절한 부피의 물을 첨가하여 1 mg 라파마이신/mL의 농도로 10% 에탄올 용액을 제조함으로써 제조하였다. 라파마이신을 이소플루란 마취 하에 OPA에 의해 2 그룹의 6 마리 수컷 C57BL/6 마우스에게 투여하였다. 추가 그룹의 6 마우스는 단지 비히클 (물 중 10% 에탄올)을 공급받았다. 투여 후 1시간에서 경구 및 OPA 라파마이신을 공급받은 한 그룹의 6 마우스를 안락사시키고, 심장 천자에 의해 혈액을 얻고, 폐를 제거하였다. OPA에 의해 라파마이신 또는 비히클이 투여된 각각의 그룹에서의 나머지 마우스를 추가 3일 동안 관찰하였다. 72시간 부검에서, 심장 천자에 의해 혈액을 얻고 폐를 제거하였다. 투여 후에 72시간 기간에서 라파마이신- 또는 비히클-처리 마우스에서 어떤 유해 효과도 관찰되지 않았다.

[0233] 라파마이신의 농도를 LC-MS/MS에 의해 수집 혈액 및 폐 균질액에서 측정하였다. 라파마이신의 OPA 후 1시간에서, 라파마이신의 농도는 혈액 (641 ± 220 ng/ml)에서 보다 폐 조직 (3794 ± 1259 ng/g 조직)에서 ~6배 더 높았다. 라파마이신의 유사한 용량의 경구 투여 후에, 라파마이신의 1시간 폐 및 혈중 농도는 각각 71 ± 43 ng/g 및 23 ± 16 ng/mL이었다. OPA 후 폐 균질액 농도는 라파마이신의 동일한 높은 용량 (1 mg/kg)의 경구 투여 후에 측정된 것들보다 53배 더 높았다. 데이터는 폐에 더 낮은 용량의 라파마이신 (시스템을 포화시키지 않은 용량 수준)의 전달은 경구 투여에 의해 달성될 수 있는 폐에서의 라파마이신 수준을 초래하지만 경구 투여로 발생하는 것보다 혈액 중 상당히 더 적은 라파마이신을 초래할 것이라는 점을 시사한다.

[0234] *물질 및 방법*

[0235] 시험 물질: 시롤리무스 (라파뮨, 라파마이신) MW 914.172, $C_{51}N_{79}NO_{12}$, CAS 번호: 53123-88-9. 공급원 (경구 위관영양용): 경구 투여용 라파뮨 오랄® (화이자), 로트(Lot) 번호: MWGT, 기한: 07/16. 공급원 (OPA용): 라파마이신 (시롤리무스) 고체, 엘 씨 라보라토리즈(LC Laboratories), 매사추세츠주 워번, 로트 번호: ASW-127, 기한: 12/2023.

[0236] 동물: 찰스 리버 라보라토리즈, 인크(Charles River Laboratories, Inc: 노스캐롤라이나주 롤리)로부터의 대략 8주령의 수컷 C57BL/6 마우스. 동물에게 보증 퓨리나 설치류 사료(Certified Purina Rodent Chow) #5002를 공

급하고 수돗물을 무제한으로 제공하였다. 영양소 수준과 가능한 오염 물질에 대한 각각의 사료 배치의 분석은 공급업체에 의해 수행되고, 연구 책임자에 의해 조사되고, 연구 기록으로 유지하였다. 사료는 대략 60 - 70°F에서 보관하고, 사용 기간은 밀링 일로부터 6개월을 초과하지 않았다. 마우스는 물병을 수용하는 스테인레스 강 바아(bar) 뚜껑을 갖춘 폴리카르보네이트 케이지에서 수용하였다 (케이지당 한 마리). 케이지 크기는 마우스용으로 대략 11.5" x 7.5" x 5" 높이 (70 sq. in. 바닥 면적)이었다. 접촉 베딩(Contact bedding)은 사니-칩스(Sani-Chips) 하드우드 칩(hardwood chip)이었다 (피. 제이. 머피. 포리스트 프로덕츠 캄파니(P. J. Murphy Forest Products Co.); 뉴저지주 몬트빌). 마우스를 연구에 사용 전에 5일의 기간 동안 격리시켰다. 수의사 또는 자격을 갖춘 피지명인(designee)은 동물을 격리 해제 전에 조사하였다. RTI 동물 사육실에서 온도와 상대 습도를 자동화 시스템 (시그날(Signal)® 소프트웨어에 대한 개정(Revision) 4.4.1을 갖춘 시베(Siebe)/바버-콜만 네트워크(Barber-Colman Network) 8000 시스템(System) [시베 환경 제어(Siebe Environmental Controls: SEC)/바버-콜만 캄파니(Barber-Colman Company); 일리노이주 러브즈 파크])을 사용하여, 지속적으로 모니터링하고, 제어하고, 기록하였다. 목표 환경 범위는 하루에 12시간 명 주기로, 온도의 경우는 64 내지 79°F (18℃ 내지 26℃)이고 30 내지 70% 상대 습도이었다. 생존 단계(in-life phase)의 종단에서, 마우스를 이산화탄소에 과다 노출에 의해 안락사시켰다.

[0237] 시험 화학 제조: 에반스 블루를 멸균 증류수에서 0.5% w/v로 제조하였다. 라파뮨 오랄®을 경구 투여용으로 공급된 바와 같이 투여하였다. 라파마이신 (고체)을 에탄올에 용해시키고 멸균 증류수에 희석하여 10% 에탄올 중 0.5 mg/mL의 최종 농도를 제공하였다.

[0238] 투여: 각각의 동물을 투여되는 투여량을 측정하기 위해 투여 전에 칭량하였다. 단일회 위관영양 용량을 볼 붙은(ball-tipped) 20-G 스테인레스 강 위관영양 투여 바늘 (포퍼 앤드 손즈 인크.(Popper & Sons Inc.), 뉴욕즈 뉴 하이드 파크)을 갖춘 100 μL 유리 시린지 (해밀턴(Hamilton), 네바다주 리노)를 사용하여 투여하였다. 각각의 동물에게 투여되는 용량은 전체 시린지의 중량에서 비어 있는 시린지의 중량을 감하여 측정하였다. 투여 시간을 기록하였다. 동물의 투여는 간격을 두어 적절한 시간에서 혈액 수집할 수 있도록 하였다. 각각의 그룹에게 투여된 용량 제제는 이하에 나타냈다.

[0239] 구강인두 흡인 그룹 동물의 경우, 단일회 용량의 라파마이신 (50 μL)을 볼 붙은 20-G 스테인레스 강 위관영양 투여 바늘 (포퍼 앤드 손즈 인크., 뉴욕즈 뉴 하이드 파크)을 갖춘 100 μL 유리 시린지 (해밀턴, 네바다주 리노)를 사용하여, 이소플루란 마취 하에 각각의 마우스에게 투여하였다. 마우스를 투여 전에 칭량하고, 투여된 라파마이신의 용량을 중량 기준으로 기록하였다. 각각의 마우스를 이소플루란으로 마취시키고, 입을 벌리도록 제지하였다. 혀를 겸자(forceps)로 입 한쪽으로 유지시키고, 용량을 구강의 말단 부분에 서서히 주입하였다. 콧구멍을 2회의 호흡 동안 손가락으로 덮어 반드시 흡인되도록 하였다 (Rao et al., 2003).

표 1

[0240]

연구 계획 요약								
용량 그룹	경로	화합물	동물 수	목표 용량 (mg/ml)	목표 용량 (ul)	목표 용량 (mg/kg)	수집 시간	수집된 샘플
1	OA	에반스 블루	6	-	50	0	1	혈액, 폐
2	OA	라파마이신	6	0.5	50	1.0	1	혈액, 폐
3	위관영양	라파뮨 오랄	6	1.0	25	1.0	1	혈액, 폐
4	OA	비히클	6	0	50	1.0	72	혈액, 폐
5	OA	라파마이신	6	0.5	50	1.0	72	혈액, 폐

[0241] 혈액 및 폐 샘플의 수집: 연구 종결 (투여 후 1 또는 72시간)에서, 마우스를 CO2에 노출시켜 마취시키고, 항응고제로서 디포타슘 EDTA를 이용하여 심장 천자에 의해 혈액을 수집하였다. 폐 조직을 적출하고, 좌우 폐로 분할하였다. 좌측 폐는 분석에 사용하고, 우측 폐는 액체 질소로 플래시 동결시키고 추가 분석을 위해 -70℃에서 보관하였다.

[0242] LC-MS/MS에 의한 라파마이신에 대한 샘플 분석: 폐 및 혈액 중의 라파마이신의 분석을 위해 LC-MS/MS 방법을 문헌 [Wu et al. (2012)]의 공개된 방법을 기반으로 준비하였다. 혈액 및 폐 균질액의 부피를 공개된 방법으로부터 실질적으로 감소시켰다. 트리암시놀론을 내부 표준으로 사용하였다.

[0243] SPEX에서 샘플프렙(SamplePrep) 2010 제노(Geno)/그라인더(Grinder)에서 조직 + 탈 이온수 (1:3 w/v)로 균질화기에서 2.8-mm 볼 베어링(ball bearing)으로 칭량된 폐 샘플을 균질화하여 폐 균질액을 준비하였다.

[0244] 각각의 표준이 대안적 스톡 표준으로부터 유래되도록 표준의 농도를 배열하였다. 각각 3중으로 만들어진, 6-점 교정 곡선을 분석물 정량을 위해 사용하였다. 칭량을 하거나 하지 않고 단순 선형 회귀 모델을 곡선 맞춤에 사용하였다. 측정된 농도 범위는 혈액에서 1-2000 ng/mL이고 폐 균질액에서 2-2000 ng/mL이었다.

[0245] 하기 방법 성능 파라미터가 허용되는 것으로 여겨졌다; 농도-반응 관계의 경우의 ≥0.98의 결정 계수(coefficient of determination), r2 ;공칭 값의 ≤ ± 15% (LOQ 초과의 농도의 경우) 또는 ≤ ± 20% (LOQ에서의 농도의 경우)의 정확도. r^2는 모든 분석에서 0.999 초과이었다.

[0246] 삼십 (30) μL의 매트릭스, 30 μL의 스파이킹(spiking) 용액 (블랭크 및 샘플용 메탄올), 10 μL 내부 표준 용액 (MeOH 중) 및 90 μL의 MeOH를 마이크로원심분리기 관에 피펫팅하고, 잠시 볼텍싱한 다음에, ~4℃에서 10,000 RPM에서 6분 동안 원심분리하였다. 상청액의 분취액 (90 μL)을 LC 바이알 삽입체(insert)에 옮긴 다음에, LC-MS/MS (표 2)에 의해 분석하였다.

표 2

[0247]

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

[0248] 데이터 수집 및 보고: 연구 데이터를 수집하고 데브라(Debra)™ 시스템 버전 5.5.10.72 (래블로직 시스템즈 리미티드(Lablogic Systems Ltd.), 영국, 셰필드)에서 보고하였다. 이는 동물의 체중, 투여된 용량, 투여 시간, 및 샘플 수집 시간에 대한 데이터를 포함한다. 투여된 용량 및 샘플 수집 시간의 계산을 데브라™ 시스템을 이용하여 보고하였다.

[0249] *결과*

[0250] 라파마이신 분석: 라파마이신의 분석을 30 μL 의 혈액 및 폐 균질액의 샘플 부피로 설정하였다. 실시예 크로마토그램을 혈액 및 폐에서 라파마이신 및 내부 표준에 대해 나타냈다 (도 1 및 2). 연구 샘플을 생성시키기 전에, 폐 및 혈액에 관한 삼중 교정 곡선을 생성시켜, 방법 성능을 확인하였다. 교정 범위는 혈액의 경우는 1.0-2000 ng/mL이고 폐 균질액의 경우는 1-20,000 ng/mL이었다. 3 부피의 물에서 균질화한 1 g의 폐 조직으로 폐 균질액을 제조하여, 1:4 균질액을 산출하였다. 혈액, 폐 균질액, 및 용매에 관한 교정 곡선을 도 3 및 도 4에 나타냈다.

[0251] 구강인두 흡인: 구강인두 흡인에 의한 라파마이신의 투여 전에, 에반스 블루의 투여를 사용하여 OPA가 용량을 폐에 전달했는지를 확인하였다. 마우스를 이소플루란으로 마취시키고 무딘 바늘을 갖춘 시린지를 사용하여, OPA에 의해 에반스 블루를 투여하였다. OPA 직후에, 마우스를 안락사시키고, 폐 및 위장을 육안으로 검사하여 반드시 에반스 블루 염료가 폐에 전달하고, 위에 전달되지 않도록 하였다. 네마리 마우스에게 에반스 블루가 성공적으로 투여되었고 염료 모두는 폐에 위치하고 위에는 전혀 없는 것으로 나타났다.

[0252] 라파마이신 투여: 투여된 용량 용액의 중량은 투여 전에 용량 용액으로 충전된 시린지를 칭량하고, 투여 후에 칭량함으로써 측정하였다. 투여된 용량 용액의 중량을 사용하여 투여된 라파마이신의 양을 계산하였다. 투여 시간은 0으로 기록하였다. 그룹 2 및 3에서의 동물을 투여 후 1시간에 안락사시켰다. 그룹 4 및 5에서의 동물을 투여 후 72시간 동안 관찰하였다. 어떤 심각한 임상 징후도 어떤 그룹에서도 관찰되지 않았다.

[0253] 혈액 및 폐에서 라파마이신 분석: 라파마이신을 수집된 샘플 모두에서, 마우스 혈액 및 좌측 폐 균질액에서 분석하였다 (도 6 및 7). 각각의 동물로부터 우측 폐의 샘플은 잠재적인 추가 분석을 위해 남겨 두었다. 샘플에 대한 요약 데이터는 표 3에 제공하였다.

표 3

[0254] 마우스에 라파마이신 (1 mg/kg)의 경구 및 구강인두 (OPA) 투여 후에 혈액 및 폐에서 라파마이신의 농도

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

[0255] 모든 샘플 세트에 대해, 삼중 교정 곡선을 표준 세트, 샘플 복제 1, 표준 세트, 샘플 복제 샘플 2, 표준 세트의 순서로 분석하였다. 라파마이신의 OPA 후 1시간에서, 라파마이신의 농도는 혈액 (641 ± 220 ng/ml)에서 보다 폐 조직 (3794 ± 1259 ng/g 조직)에서 ~6배 더 높았다. 라파마이신의 유사한 용량의 경구 투여 후에, 라파마이신의 1시간 폐 및 혈중 농도는 각각 71 ± 43 ng/g 및 23 ± 16 ng/mL이었다. OPA 후 폐 균질액 농도는 라파마이신의 동일한 높은 용량 (1 mg/kg)의 경구 투여 후에 측정된 것들보다 53배 더 높았다.

[0256] *논의*

[0257] 본 연구는 시판되는 경구 제제에서의 위관 영양에 의해, 및 10% 수성 에탄올 중에서 제조된 현탁액으로서 구강인두 투여 (OPA)에 의해 라파마이신의 투여 후에 혈액 및 폐 조직에서 라파마이신의 농도를 조사하였다. OPA를 통해 투여 후 72시간까지 라파마이신- 또는 비히클-처리 마우스에서 어떤 유해 효과도 관찰되지 않았다. 라파마이신의 투여 전에, 분석 방법을 개발하고, OPA에 의해 폐에 염료의 투여가 확인되었다. OPA 후 폐에서의 라파마이신의 농도는 혈액에서보다 6배 높았다. OPA 후 72시간에서, 라파마이신은 혈액에서 정량 한계 미만이었지만, 폐에서는 검출될 수 있었다. 본 연구는 라파마이신이 폐 투여 후에 전신적으로 이용가능하며, 폐 조직 농도가 폐에 전달 후에 초기 및 후기 시점에서 혈액의 농도를 크게 초과했음을 나타냈다.

[0258] 이들 결과는 폐에 직접 전달된 라파마이신은 혈액과 비교하여 폐 조직에서 약물의 예기치 않게 높은 국소 농도를 달성한다는 것을 추가로 입증한다. 이 결과는 폐 조직 및 혈액에서 약물의 대략 동등한 농도를 예측하는, 라파마이신의 약리학에 관해 공지된 것으로부터는 전적으로 예기치 못한 것이었는데, 그 이유는 라파마이신은 신체 조직 전반에 걸쳐 균일하게 분포되는 것으로 공지되어 있으며 그의 높은 친유성으로 인해 폐로부터 급속히 청소되어야 하기 때문이다. 따라서, 이들 결과는 폐에 라파마이신의 직접 투여가 치료 효능을 위해 충분히 높게 전달된 용량을 달성하면서 동시에 거의 검출될 수 없는 전신 이용률을 달성할 수 있고, 그로 인해 약물에 전신 노출로 인한, 경구 투여와 관련된 독성을 제거하는 것이 가능할 수 있음을 나타낸다. 폐 자체에 대한 독성

이 또한 이전의 연구의 관점에서 관심사이었지만, 여기서의 결과는 더 예기치 않게 비교적 많은 양의 라파마이신이 폐 조직에 격심하게 유해하지 않았다는 것을 나타낸다.

[0259] 참고문헌

[0260] Crowe, A., Bruelisauer, A. & Duerr, L. (1999). Absorption and intestinal metabolism of SDZ-RAD and rapamycin in rats. Drug Metabolism and Disposition, 27, 627-632.

[0261] Rao, G. V. S., Tinkle, S., Weissman, D. N., Antonini, J. M., Kashon, M. L., Salmen, R., Hubbs, A. F. (2003). Efficacy of a technique for exposing the mouse lung to paricles aspirated from the pharynx. Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A, 66(15), 1441-52. doi:10.1080/15287390306417.

[0262] Wu, K., Cohen, E. E. W., House, L. K., Ramirez, J., Zhang, W., Ratain, M. J., & Bies, R. R. (2012). Nonlinear population pharmacokinetics of sirolimus in patients with advanced cancer. CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology, 1(October), e17. doi:10.1038/psp.2012.18.

[0263] 실시예 4: 라파마이신의 경구 및 OPA 투여 후에 마우스 폐에서의 S6 인산화

[0264] 상기에서 논의된 바와 같이, 경구 투여 및 OPA 후에 폐 및 혈액에서 라파마이신의 조직 분포를 나타내는 본 출원인의 실험은 폐에 라파마이신의 직접 투여가 치료 효능을 위해 충분히 높게 전달된 용량을 달성하면서 동시에 약물에 매우 낮은 전신 노출을 달성할 수 있고, 그로 인해 동시에 치료 효능을 개선하고 라파마이신의 경구 투여와 관련된 많은 독성을 제거하는 것이 가능할 수 있음을 입증했다. 이러한 접근법을 검증하기 위해, 본 출원인은 mTOR 활성에 대한 바이오마커로서 뮤린 폐 조직에서의 인산화된 S6 단백질의 존재를 사용했다. 사용된 마우스 균주 (C57bl/6)에서, 마우스 기도 및 폐포 상피 세포는 본질적으로 활성 (인산화됨, "p") S6 단백질을 갖는다. S6 단백질은 전형적으로 mTORC1의 하류인 S6K에 의해 인산화되며, 예를 들어, 성장 인자, 예컨대 표피 성장 인자 (EGF), AKT, ERK, 및 RSK의 하류에서 활성화된다. mTORC1은 지질, 단백질 및 세포 소기관의 생합성과 같은 동화 과정을 자극하고, 자가포식과 같은 이화 과정을 억제함으로써 세포 성장 및 증식을 촉진한다. mTORC1 경로는 광범위한 과정, 예컨대 단백질 및 지질 합성 및 자가포식을 조절하기 위해, 성장 인자, 산소, 아미노산, 및 에너지 상태를 포함한, 세포내 및 세포외 신호를 감지하고 통합한다. mTORC1은 라파마이신에 격심하게 민감하다.

[0265] 본 연구에서, 투여 후 두 시점, 1시간 및 72시간에서 OPA (n=6)를 통해 또는 경구 위관영양 (n=6)을 통해 투여된, 비히클 (n=6), 또는 1 mg/kg 라파마이신으로, 상기에서 논의된 바와 같이 처리된 C57bl/6 마우스에서 폐 조직을 취하였다. 상기에서 논의된 바와 같이, OPA 후 1시간에서, 라파마이신을 혈액에서 641 ng/ml으로 그리고 폐에서 3794 ng/g 조직으로 검출하였고, 72시간에서 12.5 ng/g으로 폐에서 여전히 검출할 수 있었지만, 그 시점에서 혈액에서는 검출할 수 없었다. 정반대로, 경구 (위관영양) 투여 후, 1시간에서, 라파마이신은 혈액에서 23 ng/ml으로 그리고 폐에서 71 ng/g 조직으로 검출되었고, 72시간에서 폐 또는 혈액 어느 쪽에서도 검출할 수 없었다. 도 1 및 2에서의 데이터에 의해 나타낸 바와 같이, 인산화된 S6 (pS6)의 수준은 1시간에서 OPA 및 경구 투여된 라파마이신 둘 다에 의해 실질적으로 감소되었고 OPA의 경우 72시간에서 억제된 상태를 유지하였다. pS6는 비히클 대조군에서 최고이었는데, 그 이유는 이들 마우스가 본질적으로 활성 mTOR 신호전달을 갖기 때문이다. 이들 데이터는 폐에서 약 70 ng/g 약물을 달성하는데 충분한 라파마이신의 전달 용량은 pS6 단백질에 의해 측정된 바와 같이 폐 조직에서 mTOR 신호전달을 실질적으로 저지하고 mTOR 신호전달은 12.5 ng/g 만큼의 낮은 수준에서 억제된 상태를 유지함을 나타낸다. 이들 결과는 흡입된 라파마이신은 경구 투여된 라파마이신보다 훨씬 더 적은 용량으로 전달되어 동시에 높은 치료 효능 및 매우 낮은 독성을 달성할 수 있음을 입증함으로써 비정상적으로 높은 mTOR 경로 활성을 특징으로 하는 LAM과 같은 질환 및 장애의 치료를 위해 흡인된 라파마이신을 이용하는 본 출원인의 접근법을 검증한다.

[0266] 실시예 5: 흡입가능 조성물을 위한 라파마이신의 크기 감소

[0267] 라파마이신의 입자 크기를 습식 연마 또는 제트 밀링 공정을 사용하여 2.0 μm < Dv50 < 3.0 μm의 목표 범위로 감소시켰다. 제트 밀링의 경우, 제트팜(Jetpharma)으로부터의 실험실 규모 MCOne 유닛을 하기 작동 조건으로 사용하였다: 벤츄리(venturi) 압력 2-4 bar, 밀링 압력 3-5 bar, 공급량 90 g/h. 습식 연마의 경우, 공급 현탁액은 정제수를 사용하여 제조하였다. 마이크로유체공학(microfluidics) 고압 균질화기를 크기 감소 단계에 사용하고 생성된 현탁액을 분무 건조시켰다. 습식 연마 공정의 세부 사항을 이하에 제시하였다.

[0268] 습식 연마 공정의 크기 감소 단계에 사용된 고압 균질화기는 보조 가공 모듈 (200 마이크로미터) 및 100 마이크로미터 상호작용 챔버가 장착된 파일롯-규모(pilot-scale) 마이크로유체공학 고압 균질화기이었다. 유닛을

~455 bar (증압기 모듈 수압(intensifier module hydraulic pressure)에서 ~30 bar)에서 작동시켰다. 미세유동화 후 유체를 분무 건조에 의해 제거하여 건조 분말을 생성시켰다. 실험실 규모 분무 건조기, SD45 (부치(BUECHI), 모델 B-290 최신형(Advanced))에 2개의 유체 노즐 (캡 및 직경은 각각 1.4 및 0.7 mm이었다)을 장착하였다. 시리즈의 두개의 사이클론을 사용하여 (제1의 것은 표준 부치 사이클론이고 제2의 것은 고성능 부치 사이클론임) 건조된 생성물을 수집하였다. 분무 건조 유닛을 질소와 함께 및 단일 패스 모드(pass mode)로, 즉 건조 질소의 재순환 없이 작동시켰다. 질소를 취입하는 흡인기는 그의 용량(capacity)의 100%로 설정하였다 (최대 용량에서의 유량은 대략 40 kg/h임). 분사 질소의 유량을 40 ± 5 mm의 로터미터의 값으로 조정하였다. 생성물 현탁액을 공급하기 전에, 분무 건조기를 정제수로 안정화시키고, 그 동안에 유량을 6 ml/분 (연동 펌프에서 20%)으로 조정하였다. 입구 온도를 조정하여 목표 출구 온도 45℃를 달성하였다. 온도의 안정화 후, 분무 건조기의 공급을 정제수에서 생성물 현탁액으로 대체하고 (안정화 동안에 사용된 동일 유량을 유지하면서) 입구 온도를 다시 한번 조정하여 목표 출구 온도를 달성하도록 하였다. 스톡 현탁의 종단에서, 공급을 한번 더 정제수로 대체하여 공급 라인을 세정하고 제어된 셧다운을 수행하였다. 두개의 사이클론 하에 수집 플라스크 중의 건조 생성물을 칭량하고 고압 균질화기에 공급된 현탁액 중 총 고형분에 대한 건조 생성물의 질량 백분율로서 수율을 계산하였다.

[0269] 입자 크기 분포를 레이저 회절법에 의해 분석하였다. 고체 상태 특성화 (다형체 형태 및 순도에 대한)를 고압 액체 크로마토 그래피 (HPLC), X-선 분말 회절 (XRPD) 및 시차 주사 열량측정 (mDSC)에 의해 수행하였다. 수분 함량은 칼 피셔 법(Karl Fischer method)에 의해 결정하였다.

[0270] 제트 밀링은 이하에 표에 나타낸 바와 같이, 1.5 마이크로미터의 Dv10, 2.7 마이크로미터의 DV50 및 4.9 마이크로미터의 Dv 90을 갖는 단분산 입자 크기 분포를 갖는 결정질 라파마이신 분말을 생성시켰다.

[0271] 습식 연마는 1.0 마이크로미터의 Dv10, 2.4 마이크로미터의 DV50 및 5.0 마이크로미터의 Dv 90을 갖는 단분산 입자 크기 분포를 갖는 결정질 라파마이신 분말을 생성시켰다.

[0272] 두 방법 모두 목표 범위 내에 라파마이신의 입자를 생성시켰고, 어떤 공정도라파마이신의 다형체 형태 또는 순도에 영향을 나타내지 않았다. 이하에 표는 제트 밀링 및 습식 연마 공정에 대한 공정내(in-process) 제어 데이터를 나타낸다. 데이터는 두 공정 모두 API 순도 또는 다형체 형태에 영향을 미치지 않고 목표 범위 내에 API 입자 크기를 생성할 수 있었다는 것을 나타낸다.

표 4

제트 밀링 데이터

[0273]

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

표 5

습식 연마 데이터

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

[0274]

[0275] 실시예 6: 건조 분말 조성물의 에어로졸 성능 시험

[0276] 상기 실시예에서 제조된 캡슐을 이하에 표에 명시된 장치에 넣고 작동시켰다. 배치 06RP68.HQ00008 및 배치 06RP68.HQ00009로부터의 블렌드를 함유하는 장치/캡슐로부터 전달된 에어로졸 성능을 미국 약전의 905장 및 601장에 기재된 방법에 따라 차세대 충격기 (NGI)를 사용하여 특성화하였다. 에어로졸을 분당 60 및100 리터 (LPM)의 유량으로 시험하였다. 미립자 용량 (FPD) 및 미립자 분율 (FPF)을 이하에 표에 나타냈다. 질량 중앙 공기역학적 직경 (MMAD) 및 기하 표준 편차 (GSD)를 또한 나타냈다.

표 6

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

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

[0277]

표 7

06RP68.HQ00008 (습식 연마됨) + 플라스티아페RS00 모델 8

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

[0278]

표 8

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

[0279]

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

표 9

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

[0280]

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

[0281] 이들 에어로졸 성능 데이터를 기반으로, 습식 연마된 약물 입자가 바람직하다. 이로써 중앙 및 주변 폐 영역 둘 다로의 침투를 나타내고, 구강 침착을 덜 갖게 되는, 보다 높은 미립자 용량, 보다 높은 미립자 분율, 입자 크기 분포가 초래되었다.

[0282] 실시예 7: 라파마이신의 약물동태학적 모델링

[0283] 상기에서 나타낸 바와 같은 에어로졸 성능 06RP68.HQ00008 (습식 연마됨) + 플라시테이프 RS01 모델, 및 실시예 3에서의 동물 실험 결과를 기반으로, 흡입된 라파마이신의 인간에서 폐에 직접 전달은 유사하게 치료상 효과적이 될 정도로 충분히 높은 존속 폐 농도를 초래하지만, 낮은 전신 노출 (낮은 혈중 농도)로 인해 전신 노출로 인한 부작용을 효과적으로 최소화할 것이라는 점을 예상할 수 있다. 두개의 구획, 약물동태학적 모델을 개발하여 표 7에서의 제제 및 DPI 흡입기를 사용하여 반복 QD 투여 후 인간에서의 혈액 및 폐에서의 농도를 예측하였다. 약물동태학적 모델용으로, 라파뮨® (NDA 21-110, 및 NDA 21-083) 신의약품 승인 심사 개요(summary basis)로부터의 인간 PK 파라미터를 사용하였다: 분배 부피는 780 리터로 가정하고, 청소율(clearance)은 0.0003/분이고, 제거 반감기는 42.3시간이었다 (라파마이신 IV 투여에 상당하는 것으로 가정). 폐로부터 라파마이신의 흡수 반감기는 폐 흡수 데이터를 이용할 수 있는 플루티카손 프로피오네이트와 같은 다른 매우 친유성인 화합물과 유사한, 대략 0.5시간으로 추정되었다. 폐에서 라파마이신 침착의 생체 이용률을 대략 100%로 가정하였다. 점액 섬모 청소에 의해 상부 기도로부터 제거 또는 구강인두 침착을 통해 GI 경로에 의해 흡수된 라파마이신의 생체이용률은 라파뮨® 신의약품 승인 심사 개요에서 보고된 바와 같이 14%로 가정하였다. 표 7에 나타낸 바와 같은, 분당 60 리터의 유량에서의 전형적인 인간 흡기 조작의 경우, 미립자 용량은 57 마이크로그램이고, 미립자 분율은 40%이었다.

[0284] 모델은 도 8에 도시된 바와 같이 11일 후 평균 정상 상태 농도를 달성할 것으로 예측한다. 상기 도면으로부터, 폐에 전달된 57 마이크로그램의 1일 1회 반복 투여는, 실질적으로 문헌 [McCormack *et al*. (2011), "Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis", *N Engl J Med* 364:1595-1606]에 보고된 5-15 ng/ml의 농도 미만인 대략 0.150 나노그램/ml의 최저 혈중 농도를 초래함을 알 수 있다. 850 그램의 폐 조직량 (tissue mass), 폐에서의 신진 대사 없음 및 30분의 폐 흡수 반감기를 가정하면, 폐에 전달된 57 마이크로그램 라파마이신은 대략 60 ng/그램 만큼 높은 라파마이신의 국소 폐 농도로, 폐 조직에서의 치료 수준을 초래할 것이다.

[0285] **등가물**

[0286] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 단지 통상적인 실험을 사용하여, 본원에 기재된 본 발명의 구체적 실시양태에

대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 청구범위에 의해 포함되도록 의도된다.

[0287] 본원에 인용된 모든 참고문헌은, 각각의 개별 공개 또는 특허 또는 특허 출원이 모든 목적을 위해 그 전문이 참조로 구체적으로 그리고 개별적으로 포함되는 바와 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그리고 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

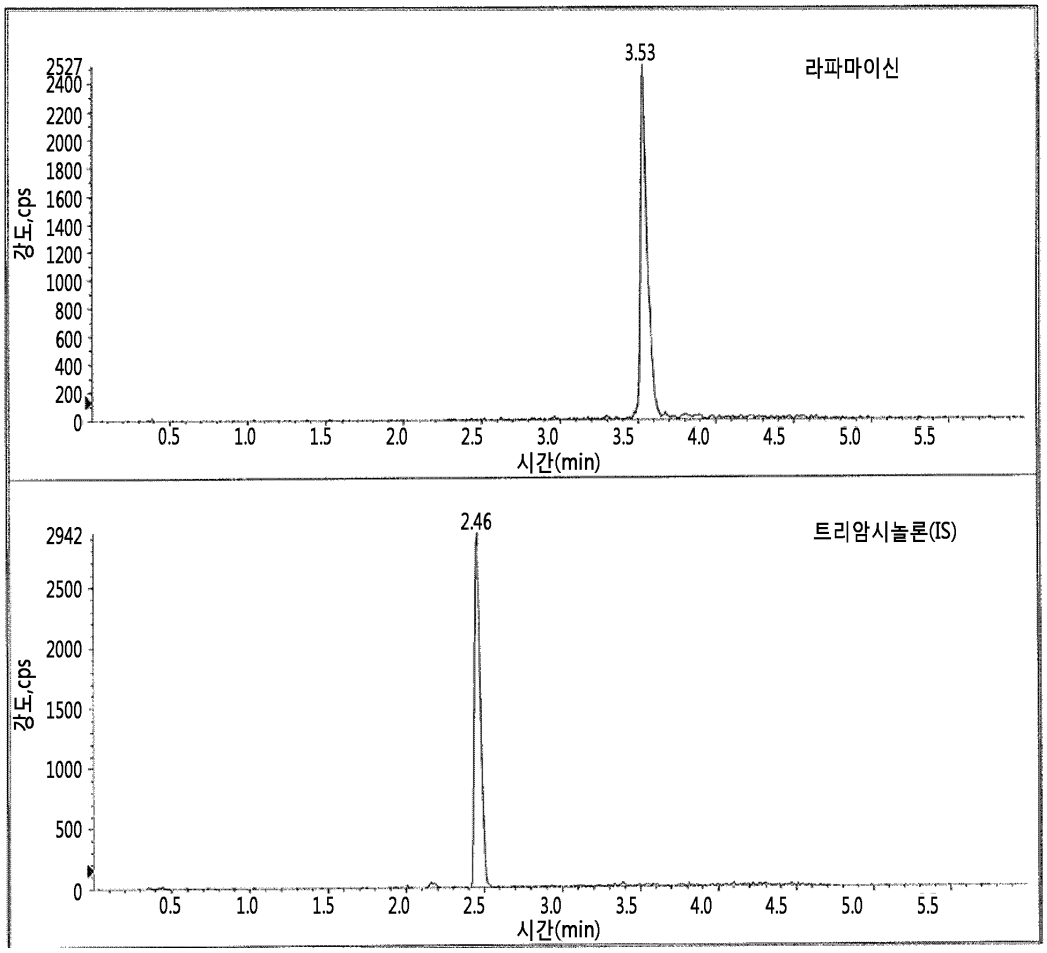
[0288] 본 발명은 본원에 개시된 구체적 실시양태에 의해 범주가 제한되지 않는다. 실제로, 본원에 기재된 것들에 더하여 본 발명의 다양한 변형은 상기 기재 및 첨부된 도면으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0289]

도면

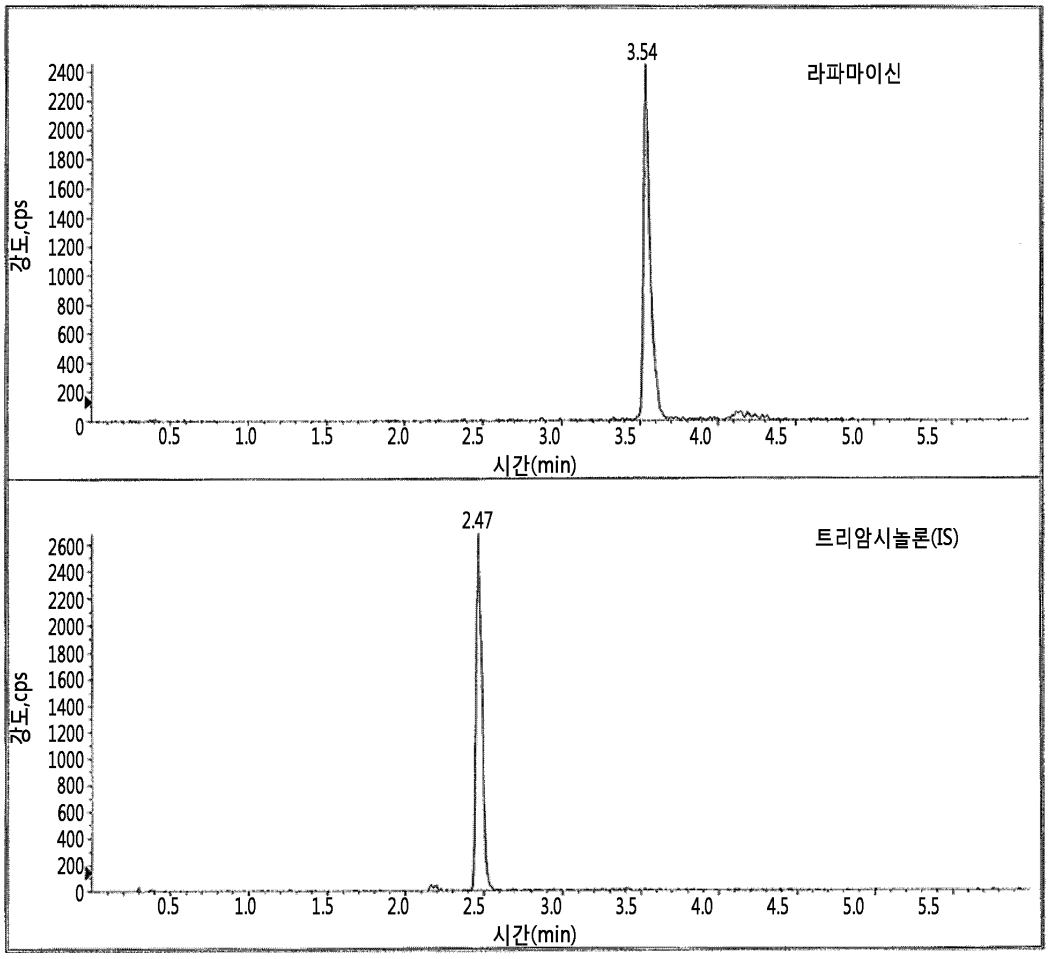
도면1

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

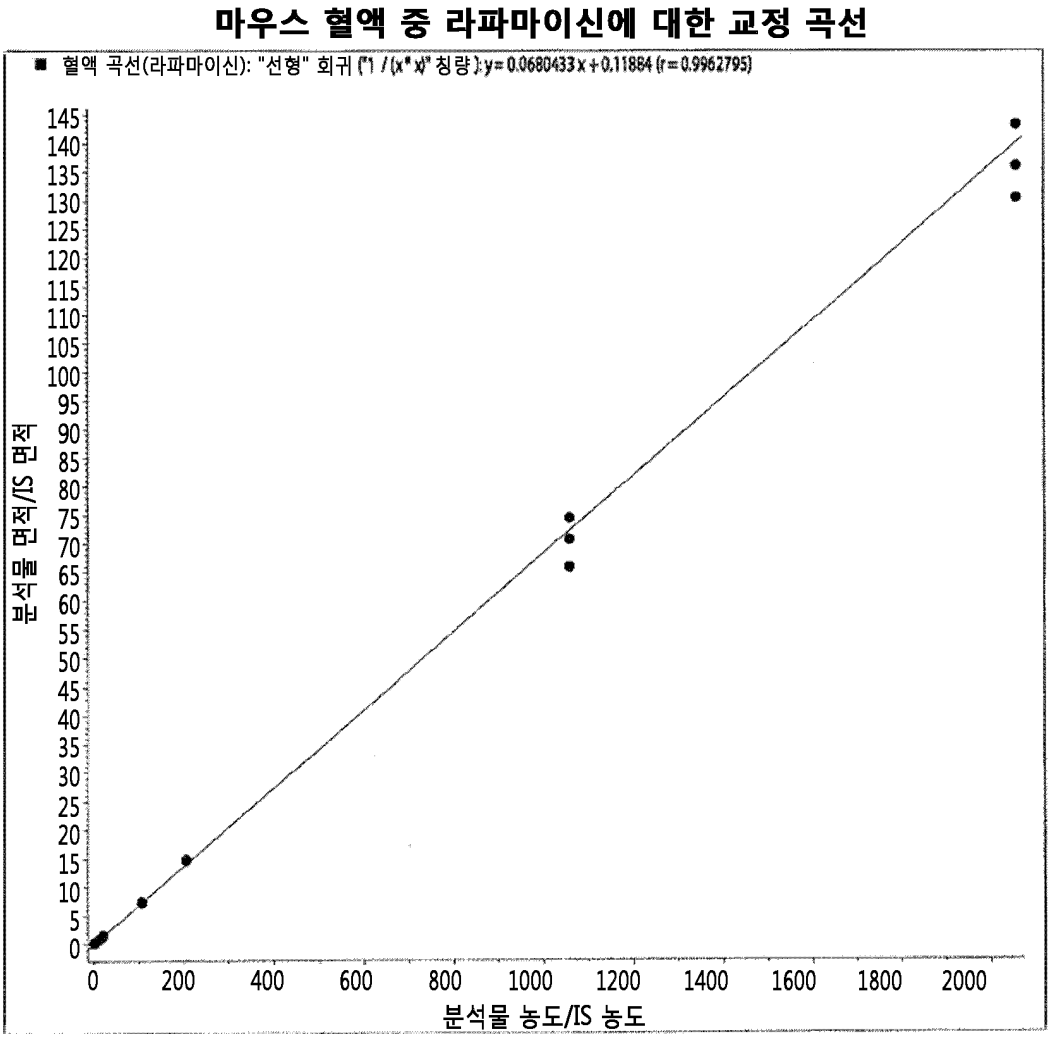


도면2

마우스 폐 균질액 중 10.6 ng/mL 라파마이신 (위) 및 내부 표준 (아래)의 대표적 크로마토그램

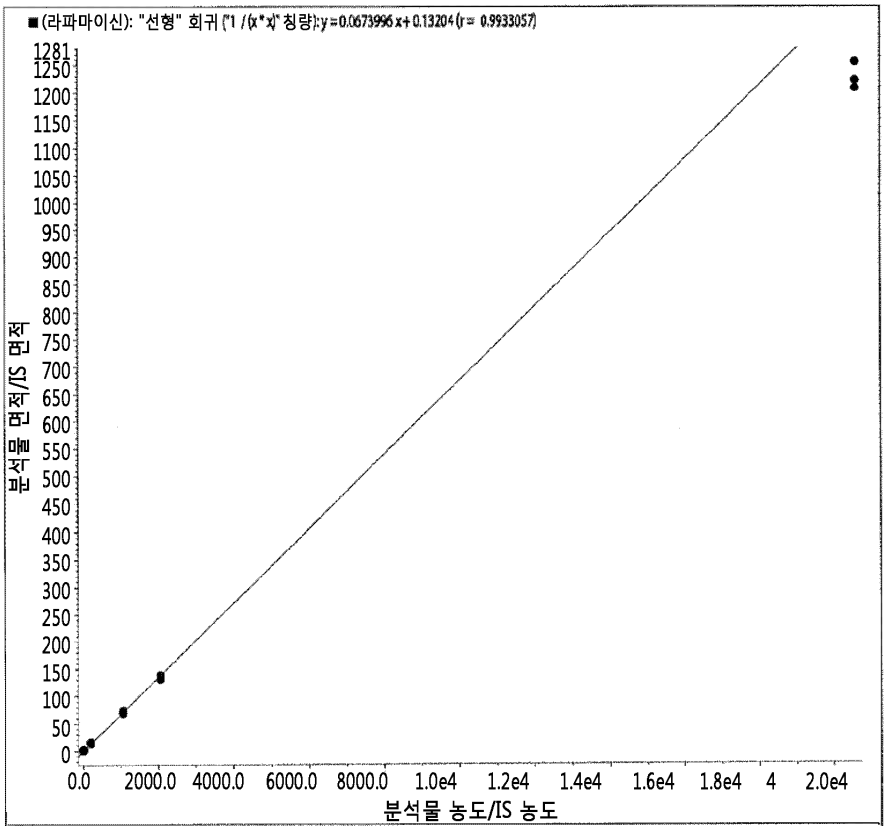


도면3


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

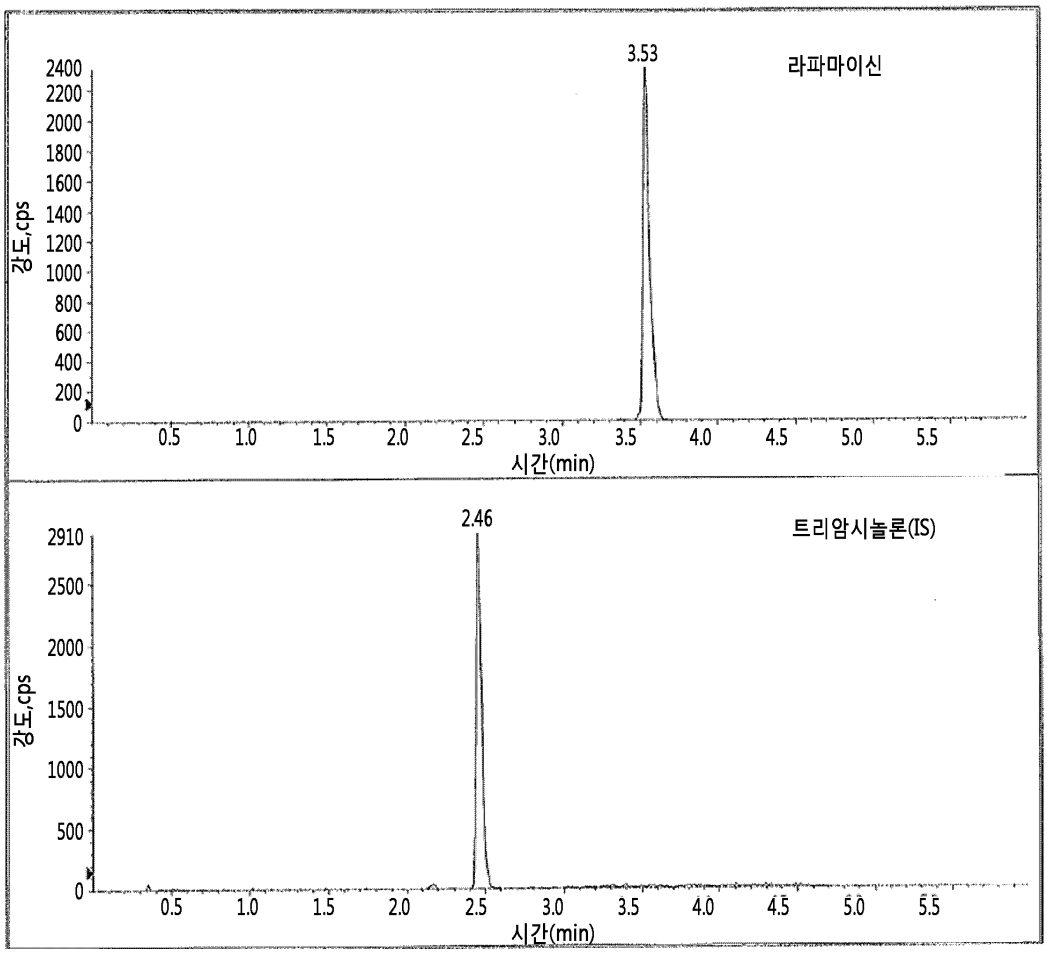
도면4

마우스 폐 균질액 중 라파마이신에 대한 교정 곡선



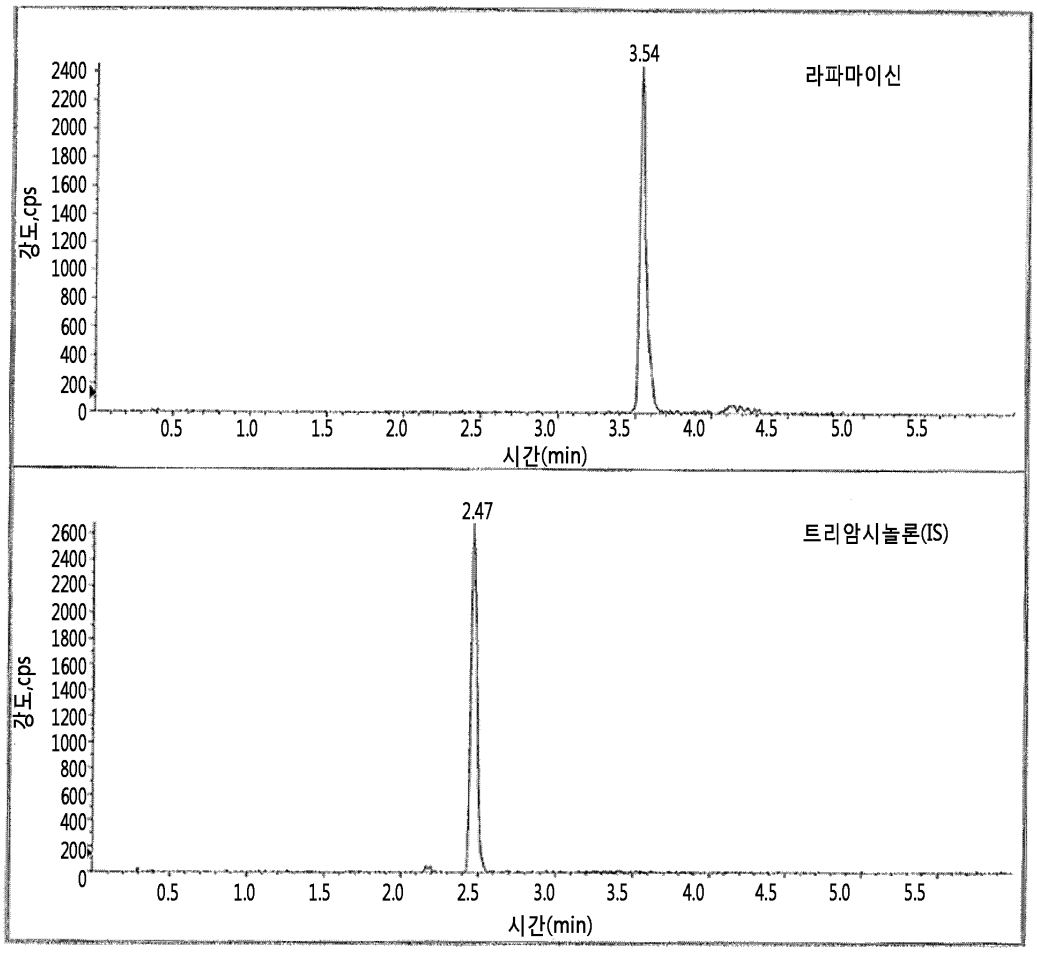
도면5

OPA 투여에 의해 라파마이신이 투여된 마우스 2-07로부터의 혈액 중 라파마이신 (위) 및 내부 표준 (아래)의 대표적 크로마토그램



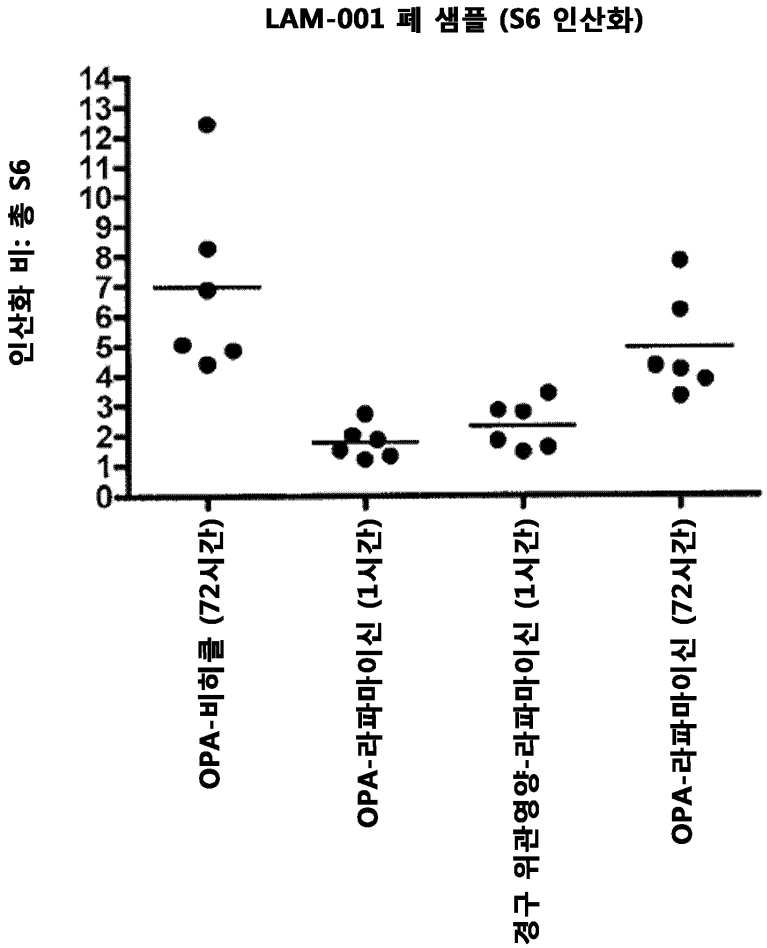
도면6

OPA 투여에 의해 라파마이신이 투여된 마우스 2-07로부터의 폐 균질액 중 라파마이신 (위) 및 내부 표준 (아래)의 대표적 크로마토그램

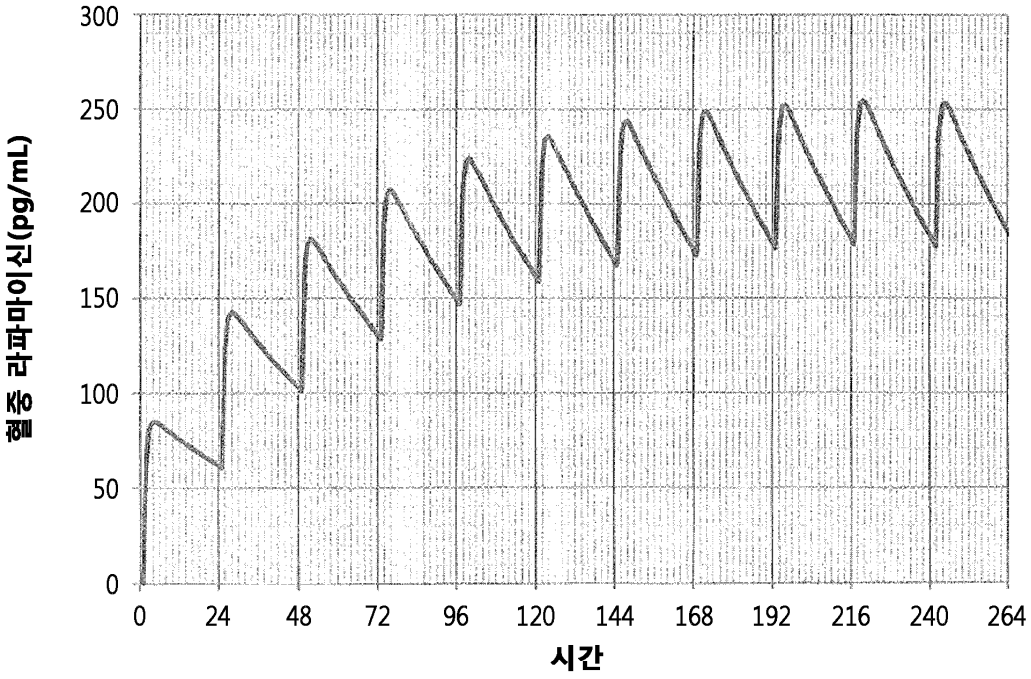


도면7

T-검정 P 값	OPA-비히클 (72시간)	OPA-라파마이신 (1시간)	경구 위관영양 라파마이신 (1시간)	OPA-라파마이신 (72시간)
0.00788	x	x		
0.012025	x		x	
0.19463	x			x



도면8


혈중 라파마이신(pg/mL)
300
250
200
150
100
50
0
0
24
48
72
96
120
144
168
192
216
240
264
시간