

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4067047号  
(P4067047)

(45) 発行日 平成20年3月26日(2008.3.26)

(24) 登録日 平成20年1月18日(2008.1.18)

(51) Int.Cl.

F 1

A61K 38/28	(2006.01)	A61K 37/26
A61K 9/12	(2006.01)	A61K 9/12
A61K 9/14	(2006.01)	A61K 9/14
A61K 9/72	(2006.01)	A61K 9/72
A61K 47/12	(2006.01)	A61K 47/12

請求項の数 24 (全 40 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-506648 (P2003-506648)  
 (86) (22) 出願日 平成14年6月24日 (2002.6.24)  
 (65) 公表番号 特表2005-500309 (P2005-500309A)  
 (43) 公表日 平成17年1月6日 (2005.1.6)  
 (86) 國際出願番号 PCT/US2002/020280  
 (87) 國際公開番号 WO2003/000202  
 (87) 國際公開日 平成15年1月3日 (2003.1.3)  
 審査請求日 平成16年4月9日 (2004.4.9)  
 (31) 優先権主張番号 09/888,126  
 (32) 優先日 平成13年6月22日 (2001.6.22)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 500581847  
 アドバンスト インハレーション リサーチ, インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02139 ケンブリッジ, シドニー ストリート 88  
 (74) 代理人 100095832  
 弁理士 細田 芳徳  
 (72) 発明者 シュミットケ, ジェニファー, エル.  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02218 ボストン, ナンバー5, ショームット アベニュー 476

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】迅速な放出特性を有する吸入用粒子

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

80重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、10重量% インスリンおよび10重量% クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有してなる製剤。

## 【請求項 2】

75重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、15重量% インスリンおよび10重量% クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有してなる製剤。

## 【請求項 3】

75重量% ~ 80重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、10重量% ~ 15重量% インスリンおよび10重量% クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有してなる製剤 10  
。

## 【請求項 4】

粒子が、1.5mg ~ 20mgの質量のインスリンを含有してなる請求項 3 記載の製剤。

## 【請求項 5】

粒子が、容器当たり1.5mgの質量のインスリンを含有してなる請求項 3 記載の製剤。

## 【請求項 6】

粒子が、容器当たり5mgの質量のインスリンを含有してなる請求項 3 記載の製剤。

## 【請求項 7】

粒子が、42IU ~ 540IUのインスリンの投薬量を含有してなる請求項 3 記載の製剤。

## 【請求項 8】

粒子が、42IUのインスリンの投薬量を含有してなる請求項7記載の製剤。

【請求項9】

粒子が、84IU～294IUのインスリンの投薬量を含有してなる請求項7記載の製剤。

【請求項10】

粒子が、0.4g/cm<sup>3</sup>未満のタップ密度を有してなる請求項3記載の製剤。

【請求項11】

粒子が0.1g/cm<sup>3</sup>未満のタップ密度を有してなる請求項10記載の製剤。

【請求項12】

粒子が、5 μm～30 μmのメジアン幾何学的直径を有してなる請求項3記載の製剤。

【請求項13】

粒子が、7 μm～8 μmのメジアン幾何学的直径を有してなる請求項12記載の製剤。

10

【請求項14】

粒子が、1 μm～5 μmの空気力学的直径を有してなる請求項3記載の製剤。

【請求項15】

粒子が、1 μm～3 μmの空気力学的直径を有する請求項14記載の製剤。

【請求項16】

粒子が、3 μm～5 μmの空気力学的直径を有する請求項14記載の製剤。

【請求項17】

粒子がアミノ酸をさらに含有してなる請求項3記載の製剤。

【請求項18】

アミノ酸が、ロイシン、イソロイシン、アラニン、バリン、フェニルアラニンまたはその任意の組み合わせである請求項17記載の製剤。

20

【請求項19】

粒子が低転移温度リン脂質をさらに含有してなる請求項3記載の製剤。

【請求項20】

a) 75重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子；

b) 80重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、10重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子；ならびに

c) 75重量%～80重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、10重量%～15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子

30

からなる群より選ばれる単位投薬量を含有する2つ以上の容器を含有してなるインスリンの投与用キット。

【請求項21】

前記2つ以上の容器を使用するための説明書をさらに含有してなる請求項20記載のキット。

【請求項22】

2つ以上の容器を含有してなるインスリンの投与のためのキットであって、ここで1つ以上の容器が、40重量%～60重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、3

0重量%～50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有してなり、1つ以上の容器が、75重量%～80重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-

グリセロ-3-ホスホコリン、10重量%～15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有してなるキット。

40

【請求項23】

1つ以上の容器が60重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、30重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有してなり、1つ以上の容器が、75重量% 1,2-ジパルミトイール-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有してなる請求項22記載のキット。

【請求項24】

50

使用するための説明書をさらに含有してなる請求項 22 記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の背景

生物活性剤、例えば、治療剤、診断剤および予防剤の肺送達は、例えば、経口投与、経皮投与および非経口投与の魅力的な代替物を提供する。すなわち、肺投与は、典型的には、医学的介入の必要なしに完了され得（自己投与）、注入治療にしばしば関連する疼痛が回避され、経口治療で頻繁に遭遇する生物活性剤の酵素性分解およびpH媒介性分解の量が有意に減少されうる。さらに、肺は、薬物吸収のための大きな粘膜表面を提供し、吸収される薬物の初回通過肝臓影響がない。さらに、多くの分子、例えば、高分子の高バイオアベイラビリティが肺送達または吸入を介して達成されうることが示されている。典型的には、深肺、すなわち肺胞は、吸入された生物活性剤、特に全身送達を必要とする薬剤の主要な標的である。

【0002】

局所および／または全身循環への生物活性剤の放出動態学または放出プロフィールは、肺送達を使用する治療を含むたいていの治療において考慮される鍵である。すなわち、多くの疾病または状態は、有効な治療を提供するために定常的または持続的レベルの生物活性剤の投与を必要とする。典型的には、これは、複数の投薬療法を介して、または持続様式で医薬を放出する系を使用することにより達成されうる。

【0003】

しかし、肺系への生物活性剤の送達は、投与後の薬剤の迅速な放出を生じうる。例えば、Pattonら、米国特許第5,997,848号は、肺送達による乾燥粉体製剤の投与後のインスリンの吸収を記載している。ピークインスリンレベルは、靈長類について約30分で、ヒト被験体について約20分で達した。さらに、Heinemann、TrautおよびHeiseは、Diabetic Medicine (14:63-72)において、吸入後の作用の開始は、健康なボランティアにおけるグルコース注入速度によって評価され、約30分で最大作用の半分に達したことを教示している。

【0004】

真性糖尿病は、ヒトに発症する最も一般的な重篤な代謝病である。これは、慢性的な高血糖（すなわち、血中の過剰な糖）状態として定義され得、これはインスリン作用の相対的または絶対的欠乏から生じる。インスリンは、臍臓のランゲルハンス島内のB細胞により産生され、分泌されるペプチドホルモンである。インスリンは、グルコース利用、タンパク質合成、ならびに中性脂質の形成および貯蔵を促進する。これは、一般に、筋肉へのグルコースの浸透に必要とされる。グルコース、すなわち「血糖」は、ヒトおよび多くの他の生物にとって炭水化物エネルギーの主要な供給源である。過剰なグルコースは、グリコーゲンとして体に貯蔵され、これは、体の要求に合うように必要とされるグルコースに代謝される。

【0005】

真性糖尿病に関連する高血糖は、比較的抑制された、または実在しないレベルのインスリンによるグルコースの過小利用およびタンパク質からのグルコースの過剰生産の両方の結果である。糖尿病患者は、頻繁に、日周の、通常は複数の不快感を生じうるインスリンの注射を必要とする。この不快感は、多くの2型糖尿病患者に、必要である場合でさえもインスリン注射の使用を拒ませる。

【0006】

生物活性剤（例えば、インスリン）を含む、効率的な吸入に適切な製剤であって、製剤の生物活性剤が現在有効な、特に糖尿病の治療のための治療薬および予防薬と少なくとも同等に効率的である様式で放出される製剤が必要とされている。

【0007】

肺への送達および全身循環および／または局所循環への迅速な放出に適切な製剤もまた必要とされている。かかる製剤により、患者が快く処方された治療に応じることが増加す

10

20

30

40

50

ると期待され、改善された疾患治療および制御が達成されうる。

#### 【0008】

##### 発明の要旨

約40重量%～約60重量%DPPC、約30重量%～約50重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有する製剤が開示される。ある態様では、粒子は、40重量%～60重量%DPPC、30重量%～50重量%インスリンおよび10%クエン酸ナトリウムを含有する。別の態様では、粒子は、40重量%DPPC、50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含む。さらに別の態様では、粒子は、60重量%DPPC、30重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。

#### 【0009】

10

約75重量%～約80重量%DPPC、約10重量%～約15重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有する製剤もまた開示される。ある態様では、粒子は、75重量%～80重量%DPPC、10重量%～15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。別の態様では、粒子は、75重量%DPPC、15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。さらに別の態様では、粒子は、80重量%DPPC、10重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。

#### 【0010】

本発明はまた、約40重量%～約60重量%DPPC、約30重量%～約50重量%インスリンおよび約10%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の有効量を、治療を必要とする患者の気道に経肺投与(administering pulmonarily)することを含み、ここでインスリンの放出が迅速である、インスリンを必要とするヒト患者を治療する方法を特徴とする。ある態様では、粒子は、40重量%～60重量%DPPC、30重量%～50重量%インスリンおよび10%クエン酸ナトリウムを含有する。別の態様では、粒子は、40重量%DPPC、50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。さらに別の態様では、粒子は、60重量%DPPC、30重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。この方法は、糖尿病の治療のために特に有用である。所望される場合、粒子は、単回の呼吸動作工程で送達されうる。

20

#### 【0011】

本発明はまた、約75重量%～約80重量%DPPC、約10重量%～約15重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の有効量を、治療を必要とする患者の気道に経肺投与することを含み、ここでインスリンの放出が迅速である、インスリンを必要とするヒト患者を治療するための方法を特徴とする。ある態様では、粒子は75重量%～80重量%DPPC、10重量%～15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。別の態様では、粒子は、75重量%DPPC、15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。さらに別の態様では、粒子は、80重量%DPPC、10重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。本方法は、糖尿病の治療に特に有用である。所望される場合、粒子は、単回の呼吸動作工程で送達されうる。

30

#### 【0012】

さらに、本発明は、約40重量%～約60重量%DPPC、約30重量%～約50重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の集団を提供すること；ならびに同時に分散および吸入により粒子の集団(mass)を有する容器から粒子をヒト被験体の気道に投与することを含み、インスリンの放出が迅速である、肺系にインスリンの有効量を送達する方法を特徴とする。迅速な放出に特に有用であるのは、低転移温度リン脂質を含有する製剤である。ある態様では、粒子は、40重量%～60重量%DPPC、30重量%～50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。別の態様では、粒子は、40重量%DPPC、50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。さらに別の態様では、粒子は、60重量%DPPC、30重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。

40

#### 【0013】

本発明はまた、約75重量%～約80重量%DPPC、約10重量%～約15重量%インスリンおよ

50

び約10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の集団を提供すること；ならびに同時分散および吸入により粒子の集団を有する容器から粒子をヒト被験体の気道に投与することを含み、ここでインスリンの放出が迅速である肺系にインスリンの有効量を送達する方法を特徴とする。迅速な放出に特に有用であるのは、低転移温度リン脂質を含有する製剤である。ある態様では、粒子は、75重量%～80重量%DPPC、10重量%～15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。別の態様では、粒子は、75重量%DPPC、15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。さらに別の態様では、粒子は、80重量%DPPC、10重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する。

## 【0014】

10

本発明はまた、本明細書中に記載されるインスリン製剤から選ばれる単位投薬量を含有する2つ以上の容器を含有するキットを特徴とする。例えば、前記製剤は、約60重量%DPPC、約30重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有するか；または約40重量%DPPC、約50重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有するか；または約40重量%～約60重量%DPPC、約30重量%～約50重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有するか；または約80重量%DPPC、約10重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有するか；または約75重量%～約80重量%DPPC、約10重量%～約15重量%インスリンおよび約10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子でありうる。ある態様では、容器は、60%DPPC、30%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムの製剤を有するか；または40重量%DPPC、50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有するか；または40重量%～60重量%DPPC、30重量%～50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有するか、または80重量%DPPC、10重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有するか；または75重量%～80重量%DPPC、10重量%～15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子を含有する。同じキット内に種々の製剤を含有する容器の組み合わせもまた本発明の特徴である。例えば、キットは、40%～60%DPPC、30%～50%インスリンおよび10%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有する2つ以上の容器ならびに75重量%～80重量%DPPC、10重量%～15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有する1つ以上の容器を含有しうる。別の態様では、キットは、60%DPPC、30%インスリンおよび10%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有する1つ以上の容器ならびに80重量%DPPC、10重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有する1つ以上の容器を含有する。別の態様では、キットは、60%DPPC、30%インスリンおよび10%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の製剤を含有する1つ以上の容器ならびに75重量%DPPC、15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子の単位投薬量を含有する1つ以上の容器を含有する。

## 【0015】

30

本発明はまた、各々が吸入に適切な乾燥粉体インスリンの種々の量を含有する少なくとも2つの容器を含有するキットを特徴とする。

## 【0016】

40

別の局面では、本発明は、60重量%DPPC、30重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有する製剤を特徴とし、ここで前記製剤の調製方法は、DPPCの溶液を調製する工程；インスリンおよびクエン酸ナトリウムの溶液を調製する工程；各々の前記溶液を50℃の温度に加熱する工程；総溶質濃度が1リットル当たり3gより多くなるように（例えば、5、10、または15g/l）2つの溶液を合わせる工程；および合わせた溶液を噴霧乾燥して粒子を形成する工程を含む。ある態様では、合わせた溶液の溶質濃度は1リットル当たり15gである。

## 【0017】

さらに別の局面では、本発明は、75重量%DPPC、15重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有する製剤を特徴とし、ここで製剤の調製方法は、DP

50

PCの溶液を調製する工程；インスリンおよびクエン酸ナトリウムの溶液を調製する工程；各々の前記溶液を50 の温度に加熱する工程；総溶質濃度が1リットル当たり3 gより多くなるように（例えば、5、10、または15g/l）2つの溶液を合わせる工程；および合わせた溶液を噴霧乾燥させて粒子を形成する工程を含む。ある態様では、合わせた溶液の溶質濃度は1リットル当たり15 gである。

#### 【0018】

さらに別の局面では、本発明は、40重量%DPPC、50重量%インスリンおよび10重量%クエン酸ナトリウムを含有する粒子を有する製剤を特徴とし、ここで製剤の調製方法は、DPPCの溶液を調製する工程；インスリンおよびクエン酸ナトリウムの溶液を調製する工程；各々の前記溶液を50 の温度に加熱する工程；総溶質濃度が1リットル当たり3 gより多くなるように（例えば、5、10、または15g/l）2つの溶液を合わせる工程；および合わせた溶液を噴霧乾燥させて粒子を形成する工程を含む。ある態様では、合わせた溶液の溶質濃度は1リットル当たり15 gである。 10

#### 【0019】

別の態様では、上記粒子は、約1.5mg～約2.0mgの質量（mass）のインスリン（例えば、1.0、1.5、2.5、5、7.5、10、12.5、15、17.5、20、または25mg）を含有する。別の態様では、上記粒子の内のいずれかのインスリンの投薬量も約42IU～約540IUである。ヒトの治療のための別の有効な用量は、約155IU～約170IUである。別の態様では、上記粒子は約0.4g/cm<sup>3</sup>未満のタップ密度および/または約5 μm～約30 μmのメジアン幾何学的直径および/または約1 μm～約5 μmの空気力学的直径を有する。 20

#### 【0020】

本発明は多数の利点を有する。例えば、吸入に適した粒子は、制御可能な、特に迅速な放出プロフィールを有するように設計される。この迅速な放出プロフィールは、投与された生物活性剤、特にインスリンの肺における滞留を短縮し、治療レベルの薬剤が局所環境または全身循環に存在する時間を減少させる。薬剤の迅速な放出は、糖尿病の治療のためのインスリン等の薬剤の迅速な放出を必要とする多くの治療剤、診断剤および予防剤に現在使用されている注射治療の望ましい代替物を提供する。さらに、本発明は、吸入治療で典型的に見られる薬剤の高い初期放出が増大される、肺系への送達の方法を提供し、それにより非常に高い初期放出が与えられる。従って、投薬の頻度を減少するだけでなく、患者により受け入れられやすい治療を提供することにより患者コンプライアンスおよび快適さが増大されうる。 30

#### 【0021】

この乾燥粉体送達系は、小さく、簡便かつ安価な送達デバイスからの有効用量送達を可能にする。さらに、室温で安定な粉体を用いるシンプルかつ簡便な吸入器は、現在利用可能な注射の魅力的な代用物を提供しうる。この系は、患者がインスリン治療に快く応じることを増大することにより糖尿病を有する患者における糖血症制御の改善の達成を補助する可能性を有する。

#### 【0022】

本発明の前述および他の目的、特徴および利点は、付随する図面に示されるような、以下の本発明の好ましい態様のより詳細な記載から明らかになる。 40

#### 【0023】

##### 発明の詳細な記載

本発明は、生物活性剤、特にインスリンの迅速な様式での放出を可能にする粒子に関する。これらの粒子を用いた疾患の治療方法および肺系を介する送達方法もまた開示される。粒子辞退は、迅速な放出特性を有する。本明細書中で使用される用語「迅速な放出」は、投与後の最初の2時間、より好ましくは最初の1時間に典型的に見られる薬力学的応答（生物活性剤の血清レベルおよびグルコース浸透速度が含まれるがこれらに限定されない）の増大をいう。迅速な放出はまた、活性剤、特に吸入インスリンの放出をいい、ここで有効なレベルの薬剤の放出期間は、現在利用可能な活性剤、特にインスリンリスプロおよびレギュラー可溶性インスリンの皮下注射で見られる期間と少なくとも同一、好ましくは 50

それよりも短い。

【0024】

ある態様では、迅速に放出する粒子は、インスリン、クエン酸ナトリウムおよびリン脂質を用いて製剤化される。適切なリン脂質の選択は、下記でより詳細に記載されるような放出プロフィールに影響を及ぼすと考えられる。好ましい態様では、迅速な放出は、放出期間がより短いことおよび放出される薬剤のレベルがより高いことの両方により特徴づけられる。

【0025】

本発明の粒子は、特定の薬物放出特性を有する。放出速度は、下記に記載され、Sujit Basuら、2000年8月23日に出願された "Modulation of Release From Dry Powder Formulations" のタイトルの米国出願第09/644,736にさらに記載されるように制御されうる。

10

【0026】

薬物放出速度は、製剤からの生物活性剤の放出の半減期に関して記載されうる。本明細書で使用される用語「半減期」は、粒子に含まれる初期薬物荷重の50%を放出するのに必要とされる時間をいう。高速または迅速な薬物放出速度は、一般的に30分間未満であり、約1分～約60分間の範囲である。

【0027】

薬物放出速度はまた放出定数で記載されうる。一次放出定数は以下の等式の1つを用いて表現されうる：

20

$$M_{pw(t)} = M_{(\infty)} * e^{-kt}$$

(1)

または

$$M_{(t)} = M_{(\infty)} * (1 - e^{-kt})$$

(2)

式中、 $k$  は一次放出定数である。 $M_{(\infty)}$  は薬物送達系の薬物（例えば、乾燥粉体）の総質量であり、 $M_{pw(t)}$  は、時間  $t$  における乾燥粉末中に残存する薬物質量である。 $M_{(t)}$  は、時間  $t$  における乾燥粉末から放出された薬物質量である。この関係は以下のように表現されうる：

30

$$M_{(\infty)} = M_{pw(t)} + M_{(t)} \quad (3)$$

等式(1)、(2)および(3)は、特定容積の放出媒体において放出された薬物の量（すなわち、質量）または放出された薬物の濃度のいずれで表現してもよい。

【0028】

例えば、等式(2)は以下のように表現されうる：

$$C_{(t)} = C_{(\infty)} * (1 - e^{-kt}) \quad (4)$$

40

式中、 $k$  は一次放出定数である。 $C_{(\infty)}$  は、放出媒体における薬物の最大理論濃度であり、 $C_{(t)}$  は、時間  $t$  における乾燥粉体から放出媒体に放出された薬物の濃度である。

【0029】

一次放出速度についての「半期期」または  $t_{50\%}$  は、周知の等式、

$$t_{50\%} = 0.693 / k$$

(5)

により示される。一次放出定数および  $t_{50\%}$  に関する薬物放出速度は以下の等式を用いて計算されうる：

$$k = -\ln (M_{pw(t)} / M_{(w)}) / t \quad (6)$$

または

$$k = -\ln (M_{(w)} - M_{(t)}) / M_{(w)} / t \quad (7)$$

### 【 0 0 3 0 】

粒子からの薬物の放出速度は、該粒子の温度特性または物理的状態を調節することにより制御または至適化されうる。本発明の粒子はそれらのマトリックス転移温度を特徴とする。本明細書で使用する「マトリックス転移温度」の語とは、粒子が低い分子移動性のガラス相または固体相から、より非晶質、ゴムもしくはモルテン状態または流体様相に転換する温度をいう。本明細書で使用する「マトリックス転移温度」の語は、粒子の構造的完全性が、該粒子からの薬物のより速い放出が可能となる様式で消失する温度である。マトリックス転移温度を超えたところで、粒子構造は変化し、薬物分子の移動性が増加して、より速い放出をもたらす。対照的に、マトリックス転移温度以下では、薬物粒子の移動性は限られており、より遅い放出となる。「マトリックス転移温度」は、異なる相転移温度、たとえば、固体内で配列および/または分子移動性の変化を示す、融解温度( $T_m$ )、結晶化温度( $T_c$ )およびガラス転移温度( $T_g$ )に関連しうる。本明細書で使用する「マトリックス転移温度」の語は、それを超えた場合、それ以下より薬物の放出が速い、粒子マトリックスの複合温度または主転移温度をいう。

### 【 0 0 3 1 】

実験的に、マトリックス転移温度は当分野で公知の方法により、特に示差走査熱量計(DSC)により測定することができる。粒子または乾燥粉末のマトリックス転移挙動を特徴付けるための他の技術としては、シンクロトロンX線回折および凍結破碎電子顕微鏡が挙げられる。

### 【 0 0 3 2 】

マトリックス転移温度を用いて、所望の薬物放出速度を有する粒子を構築し、また、所望の薬物放出速度のために粒子製剤を最適化することができる。特定のマトリックス転移温度を有する粒子を調製し、インビトロもしくはインビボ放出アッセイ、薬物動態学研究および当分野で公知の他の技術により薬物放出特性について試験することができる。マトリックス転移温度と薬物放出速度との関係が一旦確立すれば、対応するマトリックス転移温度を有する粒子を形成し、送達することにより、所望の、もしくは標的化された放出速度が得られうる。薬物放出速度は、投与される粒子のマトリックス転移温度を調節することにより修飾または至適化されうる。

### 【 0 0 3 3 】

本発明の粒子は、所望のもしくは標的化された薬物放出速度を生ずるマトリックス転移温度を、単独でもしくは組合せで粒子に対し促進するかまたは与える1以上の材料を含む。好適な材料またはその組合せの特性および例をさらに以下に記載する。たとえば、薬物の迅速な放出を得るために、組み合わせた時、低いマトリックス転移温度をもたらす材料が好ましい。本明細書で使用する「低い転移温度」とは、被験体の生理学的温度以下もしくはおよそその温度であるマトリックス転移温度を有する粒子をいう。低い転移温度を有する粒子は限られた構造完全性を有し、より非晶質性、ゴム状、モルテン状態、または流体様である傾向がある。

### 【 0 0 3 4 】

作用機構のいずれの特定の解釈にも縛られることを意図せず、低いマトリックス転移温度を有する粒子については、粒子マトリックスの完全性は、体温(典型的には、約37)および高湿度(肺で100%に達する)に曝された場合、短時間で転移し、また、これらの粒子の成分は薬物を早急に放出させ、かつ取込みに利用可能である高い分子移動性を有する傾向にあると考えられる。

### 【 0 0 3 5 】

高い相転移温度を有する材料を混合して粒子を設計および構築し、得られる粒子および

10

20

30

40

50

所定の薬物についての対応する放出プロフィールのマトリックス転移温度を調節または調整することができる。

#### 【0036】

所望の転移温度を有する粒子を製造するための適当な量の材料の組合せは、実験的に、たとえば、種々の割合で所望の材料を含む粒子を形成し、その混合物のマトリックス転移温度を（たとえば、DSCにより）測定し、所望のマトリックス転移温度を有する組合せを選択し、また、任意に、使用した材料の割合をさらに至適化することにより決定しうる。

#### 【0037】

材料相互の混和性も考慮されうる。相互に混和可能な材料は、その他全ての事柄が同じであるならば、中間の全てのマトリックス転移温度をもたらす傾向がある。一方、相互に混和不可能な材料は、1つの成分が優勢に支配するか、または二相の放出特性をもたらしうる全てのマトリックス転移温度をもたらす傾向がある。

#### 【0038】

好ましい態様では、粒子は1以上のリン脂質を含む。リン脂質またはリン脂質の組合せは、特定の薬物放出特性を粒子に与えるように選択される。ヒト被験体に対する肺送達に適したリン脂質が好ましい。1つの態様では、リン脂質は肺に対し内因性である。他の態様では、リン脂質は肺に対し非内因性である。

#### 【0039】

リン脂質は粒子中に約1から約99重量%の範囲の量で存在しうる。好ましくは、粒子中に約10から約80重量%の範囲の量で存在しうる。他の例では、粒子中のリン脂質の量は、約40から約80重量%、例えば、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%または85%である。別の例では、リン脂質はDPPCである。

#### 【0040】

リン脂質の例としては、限定されるものではないが、ホスファチジン酸、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトールまたはそれらの組合せが挙げられる。修飾されたリン脂質、たとえば、それらの末端基（head group）修飾、たとえば、アルキル化またはポリエチレングリコール（PEG）修飾を有するリン脂質も使用しうる。

#### 【0041】

好ましい態様では、粒子のマトリックス転移温度は、粒子形成に使用されたリン脂質またはリン脂質の組合せの融解温度（ $T_m$ ）、結晶化温度（ $T_c$ ）およびガラス転移温度（ $T_g$ ）により規定される相転移温度に関連する。 $T_m$ 、 $T_c$ および $T_g$ の語は当分野で既知である。たとえば、これらの語はリン脂質ハンドブック（Gregor Cevc 編、1993、Marcel Dekker, Inc.）で論じられている。

#### 【0042】

リン脂質またはその組合せの相転移温度は文献から入手可能である。リン脂質の相転移温度を列挙した取得源としては、たとえば、アヴァンティ（Avanti）極性脂質（Alabaster, AL）カタログまたはリン脂質ハンドブック（Gregor Cevc 編、1993、Marcel Dekker, Inc.）が挙げられる。それらに列挙された転移温度値における小さな差は水分含量等の実験条件の結果であると推定される。

#### 【0043】

実験的に、相転移温度は、当分野で既知の方法、特に示差走査熱量計により測定可能である。リン脂質またはその組合せの相挙動を特徴付けるための他の技術としてはシンクロtron X線回折および凍結破碎電子顕微鏡法が挙げられる。

#### 【0044】

所望の相転移温度を有する組合せを形成するための2以上のリン脂質の適当な量の組合せは、たとえば、リン脂質ハンドブック（Gregor Cevc 編、1993、Marcel Dekker, Inc.）に記載されている。リン脂質相互の混和性はアヴァンティ（Avanti

10

20

30

40

50

) 極性脂質 (Alabaster, AL) カタログに認められるかもしれない。

【0045】

所望のまたは標的化されたマトリックス転移温度を有する粒子を形成するために使用されるべきリン脂質の量は、実験的に、たとえば、対象リン脂質の種々の割合の混合物を形成し、各混合物について転移温度を測定し、および標的化された転移温度を有する混合物を選択することにより決定することができる。リン脂質混合物のマトリックス転移温度に対するリン脂質混和性の影響は、第1のリン脂質と、該第1のリン脂質と種々の混和性を有する他のリン脂質とを合わせ、その組合せの転移温度を測定することにより決定しうる。

【0046】

10

1以上のリン脂質と他の材料との組合せはまた、所望のマトリックス転移温度を達成するのに使用することができる。例としては、ポリマー、および、たとえば、脂質、スフィンゴ脂質、コレステロール、界面活性剤、ポリアミノ酸、多糖類、タンパク質、塩およびその他のような他の生物材料が挙げられる。所望のまたは標的化されたマトリックス転移温度を得るために選択された量および混和性のパラメータは上記のようにして決定されうる。

【0047】

20

一般に、およそ患者の生理学的体温以下のマトリックス転移温度をもたらす、リン脂質、リン脂質の組合せ、ならびにリン脂質と他の材料との組合せは速い薬物放出特性を有する粒子を製造するのに好ましい。そのようなリン脂質またはリン脂質の組合せは、本明細書で低い転移温度を有するという。好適な低い転移温度のリン脂質の例を表1に列挙する。示された転移温度はアヴァンティ (Avanti) 極性脂質 (Alabaster, AL) カタログから入手したものである。

【0048】

【表1】

表1

	リン脂質	転移温度
1	1,2-ジラウロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (D LPC)	-1°C
2	1,2-ジトリデカノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	14°C
3	1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (D MPC)	23°C
4	1,2-ジペンタデカノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	33°C
5	1,2-ジパルミトイyl-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DPPC)	41°C
6	1-ミリストイル-2-パルミトイyl-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	35°C
7	1-ミリストイル-2-ステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	40°C
8	1-パルミトイyl-2-ミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	27°C
9	1-ステアロイル-2-ミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	30°C
10	1,2-ジラウロイル-sn-グリセロ-3-ホスフェート (DLPA)	31°C
11	1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-[ホスホ-L-セリン]	35°C
12	1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-[ホスホ-rac-(1-グリセロール)] (D MPG)	23°C
13	1,2-ジパルミトイyl-sn-グリセロ-3-[ホスホ-rac-(1-グリセロール)] (DPPG)	41°C
14	1,2-ジラウロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (DLPE)	29°C

30

40

【0049】

肺で内因的に認められるものから選択された末端基を有するリン脂質、たとえば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトールまたはそれらの組合せが好ましい。

【0050】

上記材料は単独でもしくは組み合わせて使用することができる。患者の体温以下の相転移温度を有する他のリン脂質も単独でまたは他のリン脂質もしくは材料と組み合わせて使用することができる。

【0051】

50

本発明の粒子、特に迅速放出粒子は、肺に送達される。本明細書で使用される「肺送達」という用語は、気道への送達のことを言う。本明細書で規定される「気道」は、中咽頭および咽頭を含む上気道、続いて気管支および細気管支（例えば、終末および呼吸）への分岐点へと続く気管を含む下気道を包含する。上気道および下気道は、誘導気道と呼ばれる。次いで、終末細気管支は、次いで最終の呼吸域、すなわち肺胞または深肺へ至る呼吸細気管支に分かれる。深肺または肺胞は、典型的に、全身的薬物送達のための吸入治療製剤の所望の標的である。

#### 【0052】

本明細書で使用される「肺pH範囲」という用語は、患者の肺において遭遇しうるpH範囲のことを言う。典型的には、ヒトにおいてこのpH範囲は、約6.4から約7.0、例えば6.4から約6.7である。気道内部液（ALF）のpH値がR.A.Parentによる「Comparative Biology of the Normal Lung」、CRC Press、(1991)に報告されており、6.44から6.74の範囲である。

10

#### 【0053】

治療薬、予防薬または診断薬はまた、本明細書で「生物活性剤」、「医薬」または「薬物」とも呼ばれる。粒子中に存在する治療薬、予防薬または診断薬の量は、約0.1重量%から約9.5重量%の範囲であります。1つの態様では、粒子中に存在する治療薬、予防薬または診断薬の量は、10.0重量%である。他の態様では、粒子中の生物活性剤の量は、約10%から50%、例えば、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、または55%である。

20

#### 【0054】

生物活性剤の組み合わせもまた、使用されうる。薬物が粒子のいたるところに分散されている粒子が好ましい。適切な生物活性剤としては、局部的に、全身的にまたはその組み合わせで作用しうる薬剤が挙げられる。本明細書で使用される「生物活性剤」という用語は、インビポで放出された時に、所望の生物学的活性、例えば、インビポで治療、診断および/または予防特性を所有する薬剤またはその薬学的に許容されうる塩である。

#### 【0055】

生物活性剤の例としては、治療、予防または診断活性を有する合成無機および有機化合物、タンパク質およびペプチド、多糖類および他の糖類、脂質、ならびにDNAおよびRNA核酸配列が挙げられるが、これらに限定されない。幅広い分子量（たとえば、1モル当たり100～500,000グラム以上）を有する薬剤を使用しうる。

30

#### 【0056】

薬剤は、血管作用性薬剤、神経作用性薬剤、ホルモン、抗凝固薬、免疫調節薬、細胞毒性薬剤、予防薬、抗生物質、抗ウイルス薬、アンチセンス、抗原、抗新生物薬および抗体などの種々の生物活性を有しうる。

#### 【0057】

タンパク質としては、例えば、インスリン、免疫グロブリン、抗体、サイトカイン（例えば、リンホカイン、モノカイン、ケモカイン）、インターロイキン、インターフェロン（-IFN、-IFN、-IFN）、エリスロポエチン、ヌクレアーゼ、腫瘍壊死因子、コロニー刺激因子、酵素（例えば、スーパーオキシドジムスター、組織プラスミノゲンアクチベーター）、腫瘍サプレッサー、血液タンパク質、ホルモンおよびホルモンアナログ（例えば、成長ホルモン、アドレノコルチコトロピンホルモンおよび黄体ホルモン放出ホルモン（luteinizing hormone releasing hormone）（LHRH））、ワクチン（例えば、腫瘍、細菌およびウイルス抗原）、抗原、血液凝固因子；増殖因子；顆粒球コロニー刺激因子（「G-CSF」）などの完全なタンパク質、ムテインおよびその活性断片が挙げられる；ペプチドとしては、タンパク質インヒビター、タンパク質アンタゴニスト、タンパク質アゴニスト、カルシトニンが挙げられる；核酸としては、例えば、アンチセンス分子、オリゴヌクレオチド、およびリボザイムが挙げられる。ヘパリンなどの多糖類も投与されうる。特に有用な生物活性剤はインスリンであり、Eli Lilly Co. (India napolis, IN; 100U/mL) 由来のHumulin (登録商標) Lentente (登録商標) (H

40

50

umulin (登録商標) L ; ヒトインスリン亜鉛懸濁液)、Humulin (登録商標) R (レギュラー可溶性インスリン (R I) )、Humulin (登録商標) Ultra lente (登録商標) (Humulin (登録商標) U)、およびHumalog (登録商標) 100 (インスリンリスプロ (lispro) (I L) ) が挙げられるがこれらに限定されない。

【0058】

肺の内部への局所送達のための生物活性剤としては、喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 、気腫、または囊胞性線維症の治療のためなどの薬剤が挙げられる。たとえば、囊胞性線維症などの疾患の治療のための遺伝子を、喘息のためのアゴニストステロイド、抗コリン作動性薬剤、およびロイコトリエン修飾因子と同じように、投与することができる。

【0059】

他の特定の生物活性剤としては、硫酸エステロン、硫酸アルブテロール、上皮小体ホルモン関連ペプチド、ソマトスタチン、ニコチン、クロニジン、サリチル酸塩、クロモリンナトリウム、サルメテロール、ホルメテロール、Lドバ、カルビドバまたはそれらの組み合わせ、ガバペナチン (gabapentin) 、クロラゼペート、カルバマゼピンおよびジアゼパムが挙げられる。

【0060】

核酸配列としては、遺伝子、たとえば、相補的DNAに結合して転写を阻害するアンチセンス分子、およびリボザイムが挙げられる。

【0061】

粒子は、任意の種々の診断薬を含み、患者への投与後、薬剤を局所的または全身的に送達しうる。例えば、陽電子射出断層撮影法 (PET) 、コンピュータ連動断層撮影法 (CAT) 、シングルフォトンエミッショコンピュータ断層撮影法、X線、蛍光透視法、および磁気共鳴画像法 (MRI) において使用される市販の薬剤を含む画像化剤が使用されうる。

【0062】

MRIにおける造影剤として使用するための適当な物質の例としては、ジエチレントリアミンペント酢酸 (DTPA) およびガドペントテートジメグルミン (gadopentotate dimegloquin) のような現在市販されているガドリニウムキレート、ならびに鉄、マグネシウム、マンガン、銅およびクロムが挙げられる。

【0063】

CATおよびX線のために有用な材料の例としては、ジアトリゾエートおよびイオタラメートに代表されるイオン性モノマー、およびイオン性ダイマー、たとえばイオキサガルト (ioxagalt) などの、静脈内投与のためのヨウ素ベースの材料が挙げられる。

【0064】

診断薬は、当分野で利用可能な標準技術および市販の装置を用いて検出されうる。

【0065】

粒子は、薬剤および脂質、特にリン脂質とは別に、カルボン酸をさらに含有しうる。1つの態様では、カルボン酸は、少なくとも2つのカルボキシル基を含む。カルボン酸は、その塩ならびに2つ以上のカルボン酸および/またはその塩の組み合わせを含む。好ましい態様では、カルボン酸は親水性カルボン酸またはその塩である。適切なカルボン酸としては、ヒドロキシカルボン酸、ヒドロキシトリカルボン酸などが挙げられるが、これらに限定されない。クエン酸およびクエン酸塩 (例えば、クエン酸ナトリウムなど) が好ましい。カルボン酸および/またはその塩の組み合わせまたは混合物もまた使用されうる。

【0066】

カルボン酸は約0から約80重量%の範囲の量で粒子中に存在しうる。好ましくは、カルボン酸は、約10から約20重量%、例えば、5%、10%、15%、20%または25%の量で粒子中に存在しうる。

【0067】

10

20

30

40

50

本発明における使用に適切な粒子は、さらにアミノ酸を含む。好ましい態様では、アミノ酸は疎水性である。好適な天然疎水性アミノ酸としては、限定されるものではないが、ロイシン、イソロイシン、アラニン、バリン、フェニルアラニン、グリシンおよびトリプトファンが挙げられる。疎水性アミノ酸の組合せも使用されうる。非天然アミノ酸としては、たとえば、-アミノ酸が挙げられる。疎水性アミノ酸のD、L立体配置およびラセミ混合物が使用されうる。また、好適な疎水性アミノ酸としては、アミノ酸誘導体または類似体が挙げられる。本明細書で使用するとき、アミノ酸類似体としては、下記式：-NH-CHR-CO-、(式中、Rは、脂肪族基、置換脂肪族基、ベンジル基、置換ベンジル基、芳香族基または置換芳香族基であり、Rは、天然に生じるアミノ酸の側鎖に対応しない)を有するDまたはL立体配置のアミノ酸が挙げられる。本明細書で使用するとき、脂肪族基としては、完全に飽和しており、窒素、酸素または硫黄などの1つまたは2つのヘテロ原子を含む；および/または1以上の不飽和単位を含むものである、直鎖、分岐または環状C1-C8炭化水素が挙げられる。芳香族またはアリール基としては、フェニルおよびナフチルなどの炭素環式芳香族基、ならびにイミダゾリル、インドリル、チエニル、フラニル、ピリジル、ピラニル、オキサゾリル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、キノリニル、イソキノリニルおよびアクリジンチルなどの複素環式芳香族基が挙げられる。

#### 【0068】

多くの好適なアミノ酸、アミノ酸類似体およびそれらの塩が商業的に入手されうる。その他のものは、当該技術分野において公知の方法によって合成されうる。合成手法は、たとえば、GreenとWuots、「有機合成における保護基(Protecting Groups in Organic Synthesis)」、John Wiley and Sons, 第5および7章、1991に述べられている。

#### 【0069】

疎水性は、一般に、非極性溶媒と水との間でのアミノ酸の分配に関して定義される。疎水性アミノ酸は、非極性溶媒に選択性を示す酸である。アミノ酸の相対的疎水性は、疎水性スケールで表わすことができ、グリシンは、0.5の値を持つ。かかるスケールでは、水に選択性を有するアミノ酸は、0.5以下の値を有し、非極性溶媒に選択性を有するアミノ酸は、0.5より大きい値を有する。本明細書で使用するとき、疎水性アミノ酸の語は、疎水性スケールで0.5以上の値を有する、すなわち、少なくともグリシンに等しい、非極性酸中に分配する傾向を持つアミノ酸を指す。

#### 【0070】

使用できるアミノ酸の例としては、限定されないが、グリシン、プロリン、アラニン、システイン、メチオニン、バリン、ロイシン、チロシン、イソロイシン、フェニルアラニン、トリプトファンが挙げられる。好ましい疎水性アミノ酸としては、ロイシン、イソロイシン、アラニン、バリン、フェニルアラニン、グリシンおよびトリプトファンが挙げられる。疎水性アミノ酸の組合せも使用されうる。さらに、疎水性と親水性(水に優先的に分配する)アミノ酸の組合せも、全体としての組合せが疎水性である場合には、使用されうる。1以上のアミノ酸の組合せも使用することができる。

#### 【0071】

アミノ酸は、約0重量%から60重量%の量で本発明の粒子中に存在しうる。好ましくは、アミノ酸は、約5から約30重量%の範囲の量で粒子中に存在しうる。疎水性アミノ酸の塩は、約0重量%から60重量%の量で本発明の粒子中に存在しうる。好ましくは、アミノ酸の塩は、約5から約30重量%の範囲の量で粒子中に存在する。アミノ酸を含む粒子の形成方法および送達方法は、噴霧乾燥時に多孔性粒子を形成するための単純アミノ酸の使用と題する、1999年8月25日に提出された米国特許出願第09/382,959号、および多孔性粒子を形成するための単純アミノ酸の使用と題する、2000年8月23日に提出された米国特許出願第09/644,320号の中に述べられており、その全教示はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0072】

本発明のさらなる態様では、粒子はまた、たとえば、緩衝塩、デキストラン、多糖類、

10

20

30

40

50

ラクトース、トレハロース、シクロデキストリン、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、脂肪酸、脂肪酸エステル、無機化合物、リン酸塩等の他の材料を含みうる。

【0073】

本発明の1つの態様では、粒子はポリマーをさらに含みうる。ポリマーの使用は、放出をさらに延長しうる。生体適合性または生分解性のポリマーが好ましい。そのようなポリマーは、たとえば、Edwardsらに1999年2月23日に発行された米国特許第5,874,064号に述べられている。その教示はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0074】

さらに他の態様では、粒子は、上記の荷電した脂質のいずれか以外の界面活性剤を含む。本明細書で使用する「界面活性剤」の語は、水と有機ポリマー液の間の界面、水／空気界面または有機溶媒／空気界面のような2つの不混和相の間の界面に選択的に吸着する(absorbs) いずれの薬剤をも指す。界面活性剤は一般に親水性部分と親油性部分を持つので、ミクロ粒子に吸着(absorbing) したとき、同様に被覆した粒子を誘引しない外部環境に対してそれらの部分を提示する傾向があり、それによって粒子の凝集を低下させる。界面活性剤はまた、治療薬または診断薬の吸収を促進し、薬剤のバイオアベイラビリティを高めることができる。

【0075】

本発明の粒子の製造に使用されうる好適な界面活性剤としては、限定されるものではないが、ヘキサデカノール；ポリエチレングリコール(PEG)等の脂肪アルコール；ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル；パルミチン酸またはオレイン酸等の表面活性脂肪酸；グリココレート；サーファクチン；ポロキソマー；ソルビタントリオレイン酸エステル(Span 85)等のソルビタン脂肪酸エステル；およびチロキサポールが挙げられる。

【0076】

界面活性剤は約0重量%から約60重量%の範囲の量で粒子中に存在しうる。好ましくは、約5重量%から約50重量%の範囲の量で粒子中に存在しうる。

【0077】

粒子が、カルボン酸、多価塩、アミノ酸、界面活性剤またはその任意の組み合わせを含む場合、粒子のこれらの成分と荷電した脂質との間の相互作用が生じうることが理解される。

【0078】

粒子は、本明細書では粉体とも呼ばれ、吸入に適切な乾燥粉体の形態でありうる。特定の態様では、粒子は約0.4 g / cm<sup>3</sup>未満のタップ密度を持ちうる。約0.4 g / cm<sup>3</sup>未満のタップ密度(例えば、0.4 g / cm<sup>3</sup>)を有する粒子は、本明細書中では「空気力学的に軽い粒子」と呼ばれる。約0.1 g / cm<sup>3</sup>未満のタップ密度(例えば、0.1 g / cm<sup>3</sup>)を有する粒子がより好ましい。

【0079】

空気力学的に軽い粒子は好ましいサイズ、たとえば、少なくとも約5ミクロン(μm)の体積メジアン幾何学的直径(VMGD)を有する。1つの実施態様では、VMGDは約5 μmから約30 μm(例えば、5、10、15、20、25または30 μm)である。本発明のもう1つの実施態様では、粒子は約9 μmから約30 μmの範囲のVMGDを有する。他の実施態様では、粒子は少なくとも5 μm、たとえば、約5 μmから約30 μm(例えば、5、10、15、20、25または30 μm)または約7 μmから約8 μm(例えば、6 μm、7 μmまたは8 μm)のメジアン直径、質量メジアン直径(MMD)、質量メジアンエンベロープ直径(MMED)または質量メジアン幾何学的直径(MMGD)を持つ。

【0080】

空気力学的に軽い粒子は、好ましくは約1 μmから約5 μm(例えば、1、2、3、4または5 μm)の、本明細書では「空気力学的直径」とも称される「質量メジアン空気力

10

20

30

40

50

学的直径」(M M A D)を有する。本発明の1つの実施態様では、M M A Dは約1μmから約3μmである。もう1つの実施態様では、M M A Dは約3μmから約5μmである。

【0081】

本発明のもう1つの実施態様では、粒子は、約0.4g/cm<sup>3</sup>未満の、本明細書において「質量密度」ともいうエンベロープ質量密度を有する。等方性粒子のエンベロープ質量密度は、それを中に包み込むことができる最小球体エンベロープ体積で割った粒子の質量と定義される。

【0082】

タップ密度は、デュアルプラットホームマイクロプロセッサ制御タップ密度テスター(D u a l P l a t f o r m M i c r o p r o c e s s o r C o n t r o l l e d T a p D e n s i t y T e s t e r)(V a n k e l , N C)またはGeoPyc<sup>TM</sup>装置(M i c r o m e t r i c s I n s t r u m e n t C o r p . , N o r c r o s s , G A 3 0 0 9 3)のような当業者に既知の装置を用いて測定することができる。タップ密度はエンベロープ質量密度(envelope mass density)の標準測定値である。タップ密度は、「U S Pかさ密度およびタップ密度」、米国薬局方協約、R o c k v i l l e , M D , 第10版補遺、4950~4951、1999の方法を用いて測定できる。低いタップ密度に寄与することができる特徴には不規則な表面テクスチャーと多孔性構造が含まれる。

【0083】

粒子の直径、たとえば、それらのV M G Dは、マルチサイザー(M u l t i s i z e r ) I I e(C o u l t e r E l e c t r o n i c , L u t o n , B e d s , E n g l a n d)のような電気的ゾーンセンシング装置またはレーザー回折装置(たとえば、S y m p a t e c , P r i n c e t o n , N J)によって製造されているH e l o s)を用いて測定できる。粒子直径を測定するための他の装置は当該技術分野において周知である。サンプル中の粒子の直径は、粒子組成物および合成の方法などの因子に依存して変化するであろう。サンプル中の粒子のサイズ分布は、気道内の標的部位における至適沈着を可能にするように選択できる。

【0084】

実験的には、空気力学的直径は重力沈降法を用いて測定することができ、かかる方法により、粒子全体が一定の距離を沈降するのに要する時間を使用して、直接粒子の空気力学的直径を推定する。質量メジアン空気力学的直径(M M A D)を測定するための間接的方法は多段液体インピングジャー(M S L I)である。

【0085】

空気力学的直径、d<sub>aer</sub>は、以下の等式から算出することができる：

$$d_{aer} = d_g \sqrt{\rho_{tap}}$$

式中、d<sub>g</sub>は幾何学的直径、たとえば、M M G Dであり、 $\rho$ は粉末密度である。

【0086】

約0.4g/cm<sup>3</sup>未満のタップ密度、少なくとも約5μmのメジアン直径、および約1μmから約5μm、好ましくは約1μmから約3μmの空気力学的直径を有する粒子は、口腔咽頭領域における慣性および重力沈着をより多く免れることができ、気道または深肺に標的化される。より大きな、より多孔性の粒子は、吸入治療のために現在使用されているもののようなより小さく密なエーロゾル粒子よりも効率的にエーロゾル適用することができるので、それらの使用は好都合である。

【0087】

より小さな粒子に比べて、好ましくは少なくとも約5μmのV M G Dを持つ、より大きな空気力学的に軽い粒子はまた、食細胞の細胞質ゾル空隙からの粒子のサイズ排除により、潜在的に肺胞マクロファージによる食作用吸収と肺からのクリアランスをより成功裡に

10

20

30

40

50

回避することができる。肺胞マクロファージによる粒子の食作用は、粒子直径が約 3  $\mu\text{m}$  を超えると急激に低下する。Kawaguchi, H. ら、*Biomaterials* 7: 61~66 (1986); Krenis, L. J. と Strauss, B., *Proc. Soc. Exp. Med.*, 107: 748~750 (1961); および Rudit, S. と Muller, R. H., *J. Contr. Rel.*, 22: 263~272 (1992)。粗表面を持つ球体のような統計的に等方性の形態の粒子に関しては、粒子エンベロープ体積は、完全な粒子食作用のためにマクロファージ内で必要とされる細胞質ゾル空隙の容積とほぼ等しい。

#### 【0088】

当該粒子は、深肺または上気道または中央気道のような気道の選択された領域への局所送達のために、適切な材料、表面粗度、直径およびタップ密度で製造することができる。たとえば、上気道送達のためにはより高密度またはより大きな粒子が使用でき、あるいは同じまたは異なる治療薬を1回の投与で肺の異なる領域を標的とするように投与しうることを条件として、サンプル中における異なるサイズの粒子の混合物が使用できる。約3から約5  $\mu\text{m}$  の範囲の空気力学的直径を持つ粒子が中央気道および上気道への送達にとって好みしい。深肺への送達のためには約1から約3  $\mu\text{m}$  の範囲の空気力学的直径を持つ粒子が好みしい。

#### 【0089】

一態様において、本発明の粒子は、約1.3ミクロンの空気力学的直径および2 bar / 16 mbar 壓において約7.5ミクロンの平均幾何学的直径を有する。別の態様において、粒子は、2ステージAnderson Cascade Impactor (ACI) アッセイを用いて検出される微粒子画分 (FPF) が約3.4ミクロン未満の粒子を約44~45%有する。別の態様において、粒子は、約5.6ミクロン未満の微粒子画分を有する粒子を約63~66%有する。2ステージACIアッセイを用いて微粒子画分を測定する方法は、当業者に周知である。かかるアッセイの一例は以下の通りである。微粒子画分 (FPF) を、2つのステージを有する減縮(reduced) Thermo Anderson Cascade Impactor を用いて測定する。10ミリグラムの粉体をサイズ2ヒドロキシ(hydrox)プロピルメチルセルロース (HPMC) カプセル内に計量する。60 L / 分で2秒間作動させた単回呼吸作動性乾燥粉体吸入器を用いて粉体を分散させる。これらのステージは、(1) 5.6ミクロンと3.4ミクロンの間および(2) 3.4ミクロン未満の有効排除径 (ECD) の粒子を回収するために選択し、沈着した粉体を回収するための多孔性フィルター材料を取り付ける。各ステージで沈着した質量を重量分析により測定する。次いで、FPFをカプセル内に負荷された全質量に対する割合で示す。

#### 【0090】

別の態様において、本発明の粒子は、RODOSにより測定されるように、1 barにおいて約7~約8ミクロンの平均幾何学的直径を有する。別の態様において、粒子は、本明細書に記載される、3ステージACIアッセイを用いて測定されるように、約3.3ミクロン未満の微粒子画分を有する粒子を約35~約40%、約40~約45%、または約45~約50%有する。

#### 【0091】

エーロゾルの慣性嵌入と重力沈降が通常の呼吸条件での気道および肺細葉における主要な沈着機序である。Edwards, D. A., *J. Aerosol Sci.*, 26: 293~317 (1995)。両方の沈着機序の重要性は、粒子(またはエンベロープ)体積ではなくエーロゾルの質量に比例して上昇する。肺におけるエーロゾル沈着部位はエーロゾルの質量によって決定されるので(少なくとも平均空気力学的直径が約1  $\mu\text{m}$  をこえる粒子については)、粒子表面の不規則性と粒子の多孔性を高めることによってタップ密度を低下させることにより、他の物理的パラメータがすべて等しいまま、より大きな粒子エンベロープ体積を肺に送達することができる。

#### 【0092】

10

20

30

40

50

タップ密度が低い粒子は、実際のエンベロープ球体直径に比べて小さな空気力学的直径を持つ。空気力学的直径、 $d_{aer}$  は、式：

$$d_{aer} = d\sqrt{\rho}$$

(式中、エンベロープ質量 は  $g / cm^3$  の単位である)

によってエンベロープ球体直径、 $d$  に関係づけられる (Gonda, I. 「エーロゾル送達における物理・化学的原理 (Physico-chemical principles in aerosol delivery)」Topics in Pharmaceutical Sciences 1991より (D. J. A. CrommelinとK. K. Midha編集)、p. 95~117, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1992)。ヒト肺の肺胞領域における単分散エーロゾル粒子の最大沈着 (約 60%) は、約  $d_{aer} = 3 \mu m$  の空気力学的直径について起こる。Heyder, J. ら、J. Aerosol Sci., 17: 811~825 (1986)。その小さなエンベロープ質量密度により、最大深肺沈着を示すであろう単分散吸入粉体を含む空気力学的に軽い粒子の実際の直径  $d$  は：

$$d = 3/\sqrt{\rho} \mu m \text{ (ここで } \rho < 1 g/cm^3\text{);}$$

20

(式中、 $d$  は常に  $3 \mu m$  より大きい)

である。たとえば、エンベロープ質量密度、 $\rho = 0.1 g / cm^3$  を示す空気力学的に軽い粒子は、 $9.5 \mu m$  の大きさのエンベロープ直径を持つ粒子について最大沈着を示すであろう。粒子サイズが大きくなると粒子間接着力が低下する。Visscher, J., Powder Technology, 58: 1~10。従って、大きな粒子サイズは、より低い食作用損失に寄与することに加えて、エンベロープ質量密度の低い粒子に関して深肺へのエーロゾル適用の効率を高める。

#### 【0093】

空気力学的直径は、以前に直径約 5 ミクロン未満、好ましくは約 1 から約 3 ミクロンの非常に小さな粒子の使用によって達成された肺内での最大沈着を提供するように算出される。当該粒子は次いで食作用に供される。より大きな直径を持つが十分に軽い (すなわち「空気力学的に軽い」特徴の) 粒子を選択することは、肺への等しい送達をもたらすが、より大きなサイズの粒子は食作用を受けない。なめらかな表面を持つものに比べて粗いまたは不均質な表面を持つ粒子を使用することによって送達が改善されうる。

30

#### 【0094】

好適な粒子は、予め選択されたサイズ分布を有する粒子サンプルを与えるように、たとえば、濾過または遠心分離により製造または分離することができる。たとえば、サンプル中、約 30%、50%、70%、または 80% を超える粒子が少なくとも約  $5 \mu m$  の選択された範囲内の直径を有しうる。所定の割合の粒子が分けられるべき選択された範囲は、たとえば、約 5 から約  $30 \mu m$  の間、または任意に約 5 から約  $15 \mu m$  の間であってよい。1 つの好ましい態様では、少なくとも粒子の一部は約 9 から約  $11 \mu m$  の間の直径を有する。また、少なくとも約 90%、または任意に約 95% もしくは約 99% が選択された範囲内の直径を有するように、任意に粒子サンプルを製造することができる。粒子サンプル中の空気力学的に軽い、より大きな直径の粒子のより高い割合での存在は、かかる粒子に組り込まれた治療剤または診断剤の深肺への送達を高める。大きな直径の粒子は、一般に少なくとも約  $5 \mu m$  のメジアン幾何学的直径を有する粒子を意味する。

40

#### 【0095】

粒子は、噴霧乾燥により調製され得る。たとえば、生物活性剤と、会合時に活性剤と反対の電荷を有する 1 以上の荷電リン脂質とを含む、本明細書で「原料液」または「原料混

50

合物」ともいう噴霧乾燥する混合物を噴霧乾燥機に供給する。

【0096】

例えは、タンパク質活性剤を用いる場合、該活性剤は、該活性剤のpIより大きいか、これ未満のバッファーシステムに溶解してもよい。具体的には、例えはインスリンは、水性バッファーシステム（例えは、クエン酸、リン酸、酢酸など）、または0.01N HClに溶解してもよい。次いで、得られた溶液のpHを、適切な塩基性溶液（例えは、1N NaOH）を用いて所望の値に調整し得る。好ましい一態様において、pHは、約7.4に調整され得る。このpHでは、インスリン分子は正味負電荷（pI = 5.5）を有する。別の態様において、pHは、約4.0に調整され得る。このpHでは、インスリン分子は正味正電荷（pI = 5.5）を有する。さらに、所望により、溶液をその沸点未満の温度、例えは、約50まで加熱し得る。典型的には、カチオン性リン脂質は有機溶媒または溶媒の組み合わせに溶解する。次いで、2つの溶液を互いに混合し、得られた混合物を噴霧乾燥する。

【0097】

噴霧乾燥される混合物中に存在しうる適當な有機溶媒としては、限定されないが、たとえは、エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール等のようなアルコールが挙げられる。他の有機溶媒としては、限定されないが、パーフルオロカーボン、ジクロロメタン、クロロホルム、エーテル、酢酸エチル、メチルtert-ブチルエーテル等が挙げられる。原料混合物中に存在しうる水性溶媒としては、水および緩衝液が挙げられる。有機溶媒および水性溶媒の両方が噴霧乾燥機に供給される噴霧乾燥する混合物中に存在しうる。一態様では、約50:50から約90:10の範囲のエタノール：水比率を有するエタノール水溶媒が好ましい。混合物は中性、酸性またはアルカリ性pHを有しうる。任意に、pH緩衝液を含みうる。好ましくは、pHは約3から約10の範囲をとりうる。

【0098】

噴霧乾燥される混合物中で使用された1つまたは複数の溶媒の全量は一般に約98重量%を超える。噴霧乾燥される混合物中に存在する固体（薬物、荷電脂質および他の成分）の量は約1.0重量%～約1.5重量%の間で変わり得る。

【0099】

噴霧乾燥工程で有機溶媒と水性溶媒とを含む混合物を使用することにより、親水性成分と疎水性成分との組合せが可能となるが、粒子内でそのような成分の組合せの溶解を易化するためのリポソームまたは他の構造もしくは複合体の形成を必要としない。

【0100】

適當な噴霧乾燥手法は、たとえは、K. Masters「噴霧乾燥ハンドブック（Spray Drying Handbook）」John Wiley & Sons, New York, 1984の中に述べられている。一般に、噴霧乾燥の間、加熱空気または窒素のような高温ガスからの熱を使用して、継続的な液体供給を噴霧することによって形成される小滴から溶媒を蒸発させる。他の噴霧乾燥手法は当業者に周知である。好ましい実施態様では、回転噴霧器を使用する。回転噴霧化を使用する適當な噴霧乾燥器の例としては、Niro, Denmarkによって製造されるモバイルマイナー（Mobile Minor）噴霧乾燥器が挙げられる。高温ガスは、たとえは、空気、窒素またはアルゴンでありうる。

【0101】

好ましくは、本発明の粒子は、約100から約400の入口温度と約50から約130の出口温度を使用する噴霧乾燥によって得られる。

【0102】

噴霧乾燥された粒子は、粒子の凝集を低減し、粉体の流動性を改善するために粗い表面テクスチャーを持つように製造することができる。噴霧乾燥した粒子は、乾燥粉体吸入装置を介してのエーロゾル適用を高め、口腔、咽喉および吸入装置内でのより低い沈着を導く特徴を備えて製造することができる。

10

20

30

40

50

## 【0103】

本発明の粒子は、肺系を介する薬物送達に適する組成物に使用することができる。たとえば、かかる組成物は、前記粒子、および患者への投与、好ましくは吸入を介する投与のための薬学的に許容されうる担体を含みうる。該粒子は、さらに別の薬物を含んでも含まなくてよい同様にして製造された他の粒子と同時に送達され得る。粒子の同時送達の方法は、2001年6月8日に提出された米国特許出願第09/878,146号（その全教示は参照により本明細書に取り込まれる）に開示されている。該粒子はまた、治療剤を含まない、たとえば、約50μmから約100μmの範囲の質量メジアン直径を有するより大きな担体粒子と共に同時送達することができる。該粒子は、呼吸器系への投与のために、単独で、または、液体、たとえば、食塩水、もしくは粉体等の薬学的に許容されうる任意の適当な担体中で投与されうる。

10

## 【0104】

医薬、たとえば、1以上の薬物を含む粒子を、治療、予防または診断の必要のある患者の気道に投与する。呼吸器系への粒子の投与は当分野で既知の手段により成されうる。たとえば、粒子は吸入装置から送達される。好ましい態様では、粒子は乾燥粉体吸入器（DPI）を介して投与される。定量吸入器（MDI）、ネブライザまたは点滴注入手法も使用できる。

## 【0105】

患者の気道に粒子を投与するために使用されうる種々の好適な吸入装置および吸入方法が当分野において知られている。たとえば、好適な吸入器が、Valentiniらに対して1976年8月5日に発行された米国特許第4,069,819号、Valentiniらに対して1991年2月26日に発行された米国特許第4,995,385号、およびPattonらに1999年12月7日に発行された米国特許第5,997,848号に述べられている。他の例としては、限定されないが、スピナヘイラ（Spinhaler）（登録商標）（Fisons, Loughborough, U.K.）、ロタヘイラ（Rotahaler）（登録商標）（Glaxo-Wellcome, Research Triangle Technology Park, North Carolina）、フローキャップス（FlowCaps）（登録商標）（Hovione, Loures, Portugal）、インハレーター（Inhalator）（登録商標）（Boehringer-Ingelheim, Germany）、およびエアロライザ（Aerolizer）（登録商標）（Novartis, Switzerland）、ディスクヘイラ（diskhaler）（Glaxo-Wellcome, RTP, NC）、および当業者に既知であるようなその他のものが挙げられる。好ましくは、乾燥粉体吸入器を介して乾燥粉体として粒子を投与する。

20

## 【0106】

一態様において、乾燥粉体吸入器は、簡便な呼吸作動性装置である。使用され得る好適な吸入器の一例は、代理人整理番号00166.0109.US00で2001年4月16日に出願された、David A. Edwardsらの米国特許出願、発明の名称「吸入装置および方法（Inhalation Device and Method）」に記載されている。この出願の全内容は、参照により本明細書に取り込まれる。この肺送達システムは、小分子、タンパク質およびペプチド薬物粒子の肺の奥深くへの効率的な乾燥粉体送達を可能にするため、特に好適である。送達に特に好適なことは、本明細書に記載のような、インスリン粒子などの、低質量密度で、比較的大きな幾何学的直径および至適空気力学的特性で製剤化される特有の多孔性粒子（Edwardsら、1998）である。これらの粒子は、密着力が低いため粒子が容易に解離するため、簡便な吸入装置によって効率的に分散および吸入され得る。特に、これらの粒子の特有の特性は、同時に分散および吸入される能力を付与する。

30

## 【0107】

一態様において、容器の容積は少なくとも約0.37cm<sup>3</sup>である。別の態様では、容器の容積は少なくとも約0.48cm<sup>3</sup>である。さらに別の態様は、少なくとも0.67

40

50

$\text{cm}^3$  または 0.95  $\text{cm}^3$  の容積を有する容器である。本発明はまた、カプセル、例えば、2、1、0、00 または 000 などの特定のカプセルサイズを有するように設計されたカプセルである容器を記載する。適切なカプセルが、例えば、Shionogi (Rockville, MD) から得られうる。発泡剤が、例えば、Hueck Foils (Wall, NJ) から得られうる。本発明における使用に適切な他の容器および他のその容量は当業者に公知である。

【0108】

容器は、粒子および/または粒子を含有する吸入可能な組成物を封入または貯蔵する。一態様において、粒子および/または粒子を含有する吸入可能な組成物は粉体の形態である。容器には、当該技術分野で公知のようにして、粒子および/または粒子を含有する組成物が充填される。例えば、真空充填またはタンピング技術を用い得る。一般に、容器への粉体の充填は、当該技術分野において公知の方法により行なわれ得る。本発明の一態様では、容器内に封入または貯蔵される粒子は、少なくとも約 5 ミリグラムの質量を有する。別の態様では、容器内に貯蔵または封入される粒子の質量は、少なくとも約 1.5 ミリグラム～少なくとも約 20 ミリグラムの生物活性剤の質量を含む。

10

【0109】

好ましくは、気道に投与された粒子は、上気道（中咽頭および喉頭）、その後に気管支および細気管支への分岐部に続く気管を含む下気道を通過し、その後、最終的な呼吸領域である肺胞または深肺へと至る呼吸細気管支に順番に分かれる末端細気管支を通過して運ばれる。本発明の好ましい態様において、粒子の集団のほとんどは、深肺に沈着する。本発明の別の態様において、送達は主に中央気道に対して行われる。上気道への送達もまたなされうる。

20

【0110】

本発明の一態様において、粒子の肺系への送達は、2000年6月9日に提出された米国出願第09/591,307号、発明の名称「大きな治療用質量エアゾールの高効率送達」および2001年6月8日に提出された、米国出願第09/878,146号の一部継続出願、発明の名称「大きな治療用質量エアゾールの高効率送達」（その全教示は参照により本明細書に取り込まれる）に記載のような単回の呼吸活性化ステップである。一態様では、分散および吸入は、呼吸活性化装置内の1回の呼吸で同時に起こる。使用され得る好適な吸入機の一例は、代理人整理番号 00166.0109.US00 で2001年4月16日に出願された、David A. Edwards らの米国特許出願、発明の名称「吸入装置および方法」に記載されている。この出願の全内容は、参照により本明細書に取り込まれる。本発明の別の態様において、吸入器容器に保管された粒子の質量の少なくとも 50% が、被験体の呼吸系に単回の呼吸活性化ステップで送達される。

30

【0111】

さらなる一態様において、生物活性剤の少なくとも 1.5 ミリグラム、または少なくとも 5 ミリグラムまたは少なくとも 10 ミリグラムが、単回呼吸で、容器に封入された粒子を被験体の気道に投与することにより送達される。15 ミリグラムもの生物活性剤の量が送達され得る。

【0112】

本明細書で使用される用語「有効量」は、所望の治療または診断上の効果または効力を達成するのに必要な量を意味する。薬物の実際の有効量は、利用される具体的な薬物またはその組合せ、具体的な処方組成、投与の形態、患者の年齢、体重、状態、ならびに処置される症状または状態の重篤度により変化し得る。特定の患者に対する用量は、従来の考査を用いて（例えば、適切な従来の薬理学的プロトコルにより）当業者により決定され得る。一態様では、患者に応じて、用量範囲は、約 40 IU～約 540 IU である。また、患者に応じて、好ましい用量範囲は、約 84 IU～約 294 IU である。吸入されるインスリンの別の有効用量範囲は、約 155 IU～約 170 IU である。本明細書で使用される有用な変換力値 (conversion factor) は各 1 ミリグラムの生物活性剤、特にインスリンに対して 27 IU である。

40

【0113】

50

エアゾール用量、処方および送達系もまた、特定の治療適用に対して選択され得、例えば、Gonda, I. 「気道への治療剤および診断剤の送達のためのエアゾール」Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6: 273-313, 1990; およびMoren 「エアゾール用量型および処方」Aerosols in Medicine, Principles, Diagnosis and Therapy, Morenら編、Elsevier, Amsterdam, 1985に記載されている。

【0114】

上述のように、薬物放出速度は、放出定数により表され得る。一次放出定数は、以下の等式を用いて示され得る。

【0115】

10

$$M_{(t)} = M_{(\infty)} * (1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

【0116】

式中、 $k$  は一次放出定数である。 $M_{(\infty)}$  は、薬物送達システム、例えば乾燥粉体中の薬物の総質量であり、 $M_{(t)}$  は、時間  $t$  において乾燥粉体から放出された薬物の質量である。

【0117】

等式 (1) は、放出媒体のある特定の体積において放出された薬物の量 (すなわち質量) または放出された薬物の濃度のいずれかで示され得る。例えば、等式 (1) は、

20

$$C_{(t)} = C_{(\infty)} * (1 - e^{-kt}) \quad \text{または} \quad \text{放出}_{(t)} = \text{放出}_{(\infty)} * (1 - e^{-kt}) \quad (2)$$

のように表してもよい。式中、 $k$  は一次放出定数である。 $C_{(\infty)}$  は、放出媒体における薬物の最大理論濃度であり、 $C_{(t)}$  は、時間  $t$  において乾燥粉体から放出媒体に放出される薬物の濃度である。

【0118】

一次放出定数による薬物放出速度は、以下の式：

30

$$k = -\ln(M_{(\infty)} - M_{(t)}) / M_{(\infty)} / t \quad (3)$$

を用いて計算することができる。

【0119】

表 5 に示す放出定数は、等式 (2) に採用される。

【0120】

本明細書で使用される単語「a」または「a n」は、1つまたはそれ以上をいう。

【0121】

本明細書で使用される用語「名目上の用量」は、投与の目的のための粒子の集団中に存在し、かつ投与に利用され得る生物活性剤は最大量を示す生物活性剤の総質量をいう。

40

【0122】

出願人らの技術は、個々の粒子が多孔性マトリックス内に薬物と賦形剤の両方を含有し得る大きな多孔性粒子群からなる乾燥粉体エーロゾルの肺送達に基づくものである。粒子群は幾何学的には大きいが、小さい質量密度および空気力学的サイズを有する。これは、容易に分散可能な粉体をもたらす。本明細書に記載の大きな多孔性粒子群の乾燥粉体エーロゾルの分散の容易性は、簡便な呼吸活性化カプセルベース吸入器からのタンパク質治療剤の効率的な全身送達を許容する。

【0123】

本発明はまた、それぞれの容器が吸入に適した乾燥粉体インスリンを異なる量で含む少

50

なくとも2つの容器を含んでなるキットを特徴とする。粉体は、本明細書に記載のものなどの任意の乾燥粉体インスリンであり得るが、これに限定されない。さらに、本発明はまた、本明細書に記載の生物学的活性剤製剤を含有する粒子を含む単位用量を2つ以上含む2つ以上の容器を含むキットを特徴とする。製剤中の生物活性剤のバイオアベイラビリティに応じて、製剤は、被験体の血流に送達される量より多くの生物活性剤を含み得る。例えば、以下の実施例の項に記載のように、42IU、84IUなどの単位用量が、被験体に投与される容器内に含まれ得るが、バイオアベイラビリティが100%未満であれば、生物活性剤の一部しか被験体の血流に達しない。

#### 【0124】

一態様において、生物活性剤はインスリンである。例えば、製剤は、重量で約60%のDPPC、約30%のインスリンおよび約10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で約40%のDPPC、約50%のインスリンおよび約10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で約40%～約60%のDPPC、約30%～約50%のインスリンおよび約10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で約80%のDPPC、約10%のインスリンおよび約10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で約75%のDPPC、約15%のインスリンおよび約10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で約75%～約80%のDPPC、約10%～約15%のインスリンおよび約10%のクエン酸ナトリウムを含有する粒子であり得る。製剤は、重量で60%のDPPC、30%のインスリンおよび10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で40%のDPPC、50%のインスリンおよび10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で40%～60%のDPPC、30%～50%のインスリンおよび10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で80%のDPPC、10%のインスリンおよび10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で75%のDPPC、15%のインスリンおよび10%のクエン酸ナトリウムを含むか；または重量で75%～80%のDPPC、10%～15%のインスリンおよび10%のクエン酸ナトリウムを含有する粒子であり得る。所望の投薬量は、いくつかの異なる方法で達成され得る。例えば、所望の投薬量を達成するため、容器のサイズを変える、および／または容器内に負荷する製剤の容量および／または製剤（例えば、インスリンの割合）を変えることができる。所望の投薬量は、容器内の投薬量、または被験体に生物学的利用可能な投薬量（例えば、被験体の血流内に放出される量）であり得る。容器の一部にしか製剤が充填されていない場合、容器の残部は空のままであってもよく、容量が100%になるまで充填剤を負荷してもよい。

#### 【0125】

本明細書に記載されるキットは、生物活性剤、例えばインスリンを、生物活性剤が必要な被験体に送達するために使用され得る。生物活性剤がインスリンである場合、被験体に投与される投薬量を、例えば、患者、医療従事者によって、インスリンを含有する粒子の容器（例えば、カプセル）の数を増加または減少させることによりインスリンの単位用量を増加または減少させることにより変更し得る。患者が通常より高い投薬量のインスリンを必要とする場合、患者は、インスリンの投薬量が所望量まで増加するように、自身にさらなる容器または容器の異なる組み合わせを投与することができる。逆に、患者がより少量のインスリンを必要とする場合、患者は、投薬量が所望量まで減少するように、自身により少数の容器または容器の異なる組み合わせを投与することができる。キットはまた、キット（例えば、製剤を含む容器）内の試薬を使用するための指示書を含み得る。かかるキットの使用により正確な投薬が達成され得る。

#### 【0126】

##### 実施例

##### 材料

インビボラット試験のため、噴霧乾燥を使用するためのバルクインスリンをBiolbras (Belo Horizonte, Brazil) またはSigma (Saint Louis, MO) から入手した。インビトロおよびヒトインビボ試験のため、Humulin (登録商標) Lente (登録商標) (Humulin (登録商標) Lヒトインス

10

20

30

40

50

リン亜鉛懸濁液)、Humulin(登録商標)R(レギュラー可溶性インスリン(IR))、Humulin(登録商標)Ultraente(登録商標)(Humulin(登録商標)U)、およびHumalog(登録商標)100(インスリンリスプロ lispro)(IL))を、Eli Lilly社(インディアナポリス、IN; 100U/mL)から入手した。これらの溶液を2~8で保存した。

## 【0127】

質量メジアン空気力学的直径 - MMA D(μm)

質量メジアン空気力学的直径を、Aerosizer/Aerodisperse(Amherst Process Instrument, Amherst, MA)を用いて測定した。約2mgの粉体製剤をAerodisperse内に導入し、空気力学的サイズを飛行時間型測定により測定した。

## 【0128】

微粒子画分

微粒子画分は、分散された粉体のエーロゾル特性を特徴付けする一方法として使用し得る。微粒子画分は、空気媒介性粒子のサイズ分布を示すものである。Cascadeインパクターを用いる重量分析解析は、空気媒介性粒子のサイズ分布または微粒子画分を測定する一方法である。Andersen Cascade Impactor(ACI)は、空気力学的サイズに基づいてエーロゾルを9つの異なる画分に分離しうる8ステージインパクターである。各ステージでのサイズ排除は、ACIが操作される流速に依存する。

## 【0129】

2ステージ崩壊型ACIは、微粒子画分を測定するために使用し得る。2ステージ崩壊型ACIは、8ステージACIの上2つのステージのみからなり、2つの別々の粉体画分が回収される。ACIは、一連のノズルおよび衝突表面からなる多ステージから構成される。各ステージにおいて、エーロゾル流はノズルを通過し、表面に衝突する。十分大きな慣性を有するエーロゾル流内の粒子はプレート上に衝突する。プレート上に衝突するに十分な慣性をもたない小粒子は、エーロゾル流内に留まり、次のステージに運ばれる。ACIの連続する各ステージは、ノズル内においてより高いエーロゾル速度を有するため、より小さい粒子が連続する各ステージで回収され得る。

## 【0130】

本発明の粒子は、微粒子画分を特徴とし得る。微粒子画分を測定するために2ステージ崩壊型Andersen Cascade Impactorが使用される。具体的には、2ステージ崩壊型ACIを、第1ステージで回収される粉体の画分が、5.6ミクロン未満で3.4ミクロンより大きい空気力学的直径を有する粒子からなるように較正する。したがって、第1ステージを通過し、回収フィルター上に沈着する粉体の画分は、3.4ミクロン未満の空気力学的直径を有する粒子からなる。かかる較正での空気流は約60L/分である。

## 【0131】

微粒子画分を測定するために、3ステージACIも使用され得る。3ステージACIアッセイを以下のようにして行なった。スクリーンを有する3ステージAnderson Cascade Impactor(ACI)(Anderson Instruments, Inc., Smyrna, GA)を組み立て、微粒子画分を測定するために使用した。装置では、有効排除直径が9.0、4.7および3.3ミクロンのACIステージ0、2および3(28.3±2L/分の流速で)を使用した。各ステージは、衝突プレート、スクリーン、およびジェットプレートを備えた。使用したスクリーンは、150ミクロン孔ステンレス鋼、5層焼結Dy napore積層体(Martin Kurz & Co, Inc., Mineola, NY)であった。スクリーンをメタノールで rinsし、乾燥させ、次いでHPLCグレード水に浸漬し、装置の硬質衝突プレート上に直に置いた。予め計量した81mmガラス纖維フィルター(Anderson Instruments, Inc., Smyrna, GA)を装置のフィルター媒体として使用した。

## 【0132】

10

20

30

40

50

3ステージ Andersen Cascade Impactator アッセイを 18 ~ 25 で 20 ~ 40 % 相対湿度にて行なった。装置内の空気流は 28 . 3 ± 2 L / 分に較正した。カプセルに粉体を充填し、吸入装置の内部に配置した。次いで、吸入機を用いてカプセルを穿刺し、ACI 上のマウスピースアダプター内に配置した。空気ポンプを約 4 . 2 秒間作動してカプセルから粉体を吸引した。ACI を分解し、ガラス纖維フィルターを計量した。3 . 3 ミクロン未満の微粒子画分 (FPF) を、フィルター上に沈着した粒子の質量を、カプセルに負荷した粉体の全質量で割ることにより測定した。

#### 【 0133 】

本明細書で使用される「 FPF < 5 . 6 」および「 5 . 6 ミクロン未満の微粒子画分」は、5 . 6 ミクロン未満の空気力学的直径を有する粒子のサンプルの画分をいう。 FPF (< 5 . 6 ) は、2ステージ崩壊型 ACI の第 1 ステージ上および回収フィルター上に沈着した粒子の質量を、装置に送達するカプセル内に計量された粒子の質量で割ることにより決定され得る。

#### 【 0134 】

本明細書で使用される「 FPF (< 3 . 4 ) 」および「 3 . 4 ミクロン未満の微粒子画分」は、3 . 4 ミクロン未満の空気力学的直径を有する粒子の集団の画分をいう。 FPF (< 3 . 4 ) は、2ステージ崩壊型 ACI の回収フィルター上に沈着した粒子の質量を、装置に送達するカプセル内に計量された粒子の質量で割ることにより決定され得る。

#### 【 0135 】

本明細書で使用される「 FPF (< 3 . 3 ) 」および「 3 . 3 ミクロン未満の微粒子画分」は、3 . 4 ミクロン未満の空気力学的直径を有する粒子の集団の画分をいう。 FPF (< 3 . 3 ) は、3ステージ崩壊型 ACI の回収フィルター上に沈着した粒子の質量を、装置に送達するカプセル内に計量された粒子の質量で割ることにより決定され得る。

#### 【 0136 】

「 5 . 6 ミクロン未満の FPF 」は、患者の肺内に送ることを可能にする粉体の画分との相関を示したが、「 3 . 4 未満の FPF 」(2ステージ ACI を用いる) または「 3 . 3 未満の FPF 」(3ステージ ACI を用いる) は、患者の肺深部に達する粉体の画分との相関を示した。これらの相関は、粒子至適化に使用され得る定量的目安を提供する。

#### 【 0137 】

体積メジアン幾何学的直径 - VMD ( μm )

体積メジアン幾何学的直径を、HELOS レーザー回折計 (Sympatec) と共に RODOS 乾燥粉体分散器 (Sympatec, Princeton, NJ) を用いて測定した。粉体を、RODOS 入口へ導入し、2 バールで調節した圧縮気流によって生成される剪断力によってエアロゾル化した。エアロゾル雲を、続いて HELOS の測定ゾーン (レーザービームからの光を散乱し、粒子サイズ分布を推測するため、およびメジアン値を測定するために使用されるフラウンホーファー回折パターンを生成する) へ引き寄せた。

#### 【 0138 】

注目すべき場合は、体積メジアン幾何学的直径を Coulter Multisizer II を用いて測定した。粒子の同時存在 (coincidence) が 5 ~ 8 % の間になるまで、約 5 ~ 10 mg の粉体製剤を 50 mL のイソトン (isoton) II 溶液に添加した。

#### 【 0139 】

ラットにおける血漿インスリンレベルの測定

ラット血漿中のインスリンの定量をヒトイインスリン特異的RIAキット (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, カタログ番号 HI-14K) を使用して行った。アッセイは、ラットインスリンと 0.1 % 未満の交叉反応性を示す。アッセイキット手順を改変して、ラットから得られる低血漿容積に合わせ、約 5 μU/mL の感受性を有していた。

#### 【 0140 】

インスリン製剤の調製

表 2 に列挙した粉末製剤を以下のように調製した。エタノールに脂質ならびに水にイン

10

20

30

40

50

スリン、ロイシン、および／またはクエン酸ナトリウムを溶解して噴霧乾燥前溶液を調製した。次いで、エタノール溶液を60/40エタノール／水の比で水溶液と混合した。噴霧乾燥に使用した溶液の最終の合計溶質濃度は、1g/L～3g/Lで変化した。一例として、DPPC／クエン酸塩／インスリン（60/10/30）噴霧乾燥溶液を、600mLのエタノールに600mgのDPPCを溶解し、400mLの水に100mgのクエン酸ナトリウムおよび300mgのインスリンを溶解し、次いで、2つの溶液を混合することにより調製し、合計溶質濃度1g/L（w/w）の1Lの共溶媒（cosolvent）を得た。より高い溶質濃度3g/Lを、同容積のエタノールと水に各溶質を3倍多く溶解して調製した。

## 【0141】

次いで、溶液を使用して乾燥粉末を作製した。Niro Atomizer Portable Spray Dryer（Niro, Inc., Columbus, MD）を使用した。可変圧力（1～5bar）で圧縮された空気が、乾燥機の上に配置した回転アトマイザー（2,000～30,000rpm）を動かした。種々の速度（20～66mL/分）での液体供給物を、電気的計量ポンプ（LMI、モデル番号A151-192s）によって連続的にアトマイザーへポンピングした。入口温度および出口温度の両方を測定した。入口温度を、手動で制御した；入口温度は100～400の間で変わり得、そして100、110、150、175または200で、5の制御限界で安定させた。出口温度を、入口温度ならびに気体供給速度および液体供給速度のような因子によって測定した（50～130の間で変化した）。容器を、粉末産物を収集するためにサイクロンへきつく取り付けた。

## 【0142】

## 【表2】

表2. インスリン粉末製剤

粉末製剤番号	組成（%）						
	DPePC	DSePC	DPPG	DPPC	ロイシン	クエン酸塩	インスリン
1				70	10		20
2		70			20		10
3		70			10		20
4	50						50
5			40			10	50
6	70				10		20
7	50						50
8	54.5						45.5
9	50				10		40
10	70				10		2
11	70				8	2	20
12				40		10	50
13†				60		10	30
13A†				60		10	30

† 同じ製剤の別ロット

## 【0143】

インスリン含有粉末の物理的特徴を表3に記載する。MMADおよびVMGDは先に詳述したようにして測定した。

## 【0144】

10

20

30

40

【表3】

表3. インスリン粉末製剤の物理的特性

製剤	組成 (重量%基準)	MMAD (μm) §	VMGD (μm) ¶	密度 (g/cc) ‡
1	DPPC/Leu/インスリン (Sigma) = 70/10/20	2.6	13.4	0.038
2	DSePC (Avanti)/Leu/インスリン (Sigma) = 70/10/20	3.3	10.0	0.109
3	DSePC (Avanti)/Leu/インスリン (Sigma) = 70/10/20	3.4	13.6	0.063
4	DPePC (Avanti)/インスリン (Sigma) = 50/50	3.2	15.3	0.044
5	DPPG/クエン酸ナトリウム/インスリン = 40/10/50	3.9	11.6	0.113
6	DPePC (Genzyme)/Leu/インスリン (BioBras) = 70/10/20	2.6	9.1	0.082
7	DPePC (Avanti)/インスリン (BioBras) = 50/50	2.8	11.4	0.060
8	DPePC (Genzyme)/インスリン (BioBras) = 54.5/45.5	2.8	12.6	0.049
9	DPePC (Genzyme)/Leu/インスリン (BioBras) = 50/10/40	2.2	8.4	0.069
10	DPePC (Avanti)/Leu/インスリン (BioBras) = 70/10/20	3.7	15.5	0.057
11	DPePC (Avanti)/Leu/クエン酸ナトリウム/インスリン (BioBras) = 70/8/2/20	2.6	15.3	0.029
12	DPPC/クエン酸ナトリウム/インスリン = 40/10/50	3.5	11.6	0.091
13	DPPC/インスリン/クエン酸ナトリウム = 60/30/10	1.9	8.0	0.056

§質量メアン空気力学的直径

¶2bar圧での体積メアン幾何学的直径

‡  $d_{aer} = d_g \sqrt{\rho}$  を用いて測定

## 【0145】

インスリンを含有する製剤の物理的特徴を示す表3に記載のデータにより、製剤の吸入可能性が予測される。すなわち、先に考察したように、本明細書に記載のようにして調製した粉末が有する大幾何学的直径、小空気力学的直径および低密度により、該粒子は大いに吸入可能なものとなる。

## 【0146】

## 30重量%インスリン含有粒子の調製およびパッケージのための代替方法

以下の実施例は、30wt%インスリン負荷の粒子 (DPPC/インスリン/クエン酸塩60/30/10wt%) の調製を記載する。以下の手順は、1Lの溶液バッチの調製を詳述する。バッチ調製物をより大容積の供給溶液を生じるように秤量し得る。サイズ1のNiro噴霧乾燥機についての典型的な噴霧乾燥バッチサイズ (下記参照) は約24Lである。水溶液を次のように調製した。0.4LのpH2.5クエン酸緩衝液を、1.26グラムのクエン酸一水和物を0.4Lの注射用滅菌水に溶解し、1.0NのHClでpHを2.5に調整することにより調製した。次いで、4.5G

10

20

30

40

50

ラムのインスリンをこのクエン酸緩衝液に溶解した。最後に、pHが6.7に調整されるまで1.0Nの水酸化ナトリウム(NaOH)を添加した。有機溶液を、9.0gのDPPCを600mLのエタノール(200プローフ, USP)に溶解することにより調製した。

【0147】

噴霧乾燥前に、水溶液および有機溶液と共にインラインで濾過(0.22ミクロンフィルター)し、次いで、インラインで50℃に加熱した。噴霧乾燥供給溶液を、加熱した水溶液と加熱した有機溶液とをインラインで静的混合することにより調製した。得られた水性/有機供給溶液を、15グラム/Lの溶質濃度で60%エタノール/40%水の最終容積組成を有するように混ぜた。この供給溶液を50mL/分の制御速度で噴霧乾燥チャンバ(サイズ1のNiro噴霧乾燥機、Model Mobil Minor 2000)の上部にポンピングした。噴霧乾燥チャンバに入れる際に、溶液を、70g/分の霧化気体速度で2液アトマイザー(Liquid Cap 2850およびGas Cap 67147, Spraying Systems Inc)を使用して小さな液滴に霧状にした。処理気体、-20℃露点で維持した加熱窒素、を94kg/時間の制御速度で乾燥チャンバの上部に導入した。液滴が加熱窒素に接触すると、液体が蒸発し、多孔性粒子が形成された。入口乾燥気体の温度は135℃であり、出口処理気体温度は67.5℃であった。粒子は、処理気体と共に乾燥チャンバを出て行き、下流にある生成物フィルターに入った。生成物フィルターにより処理ガス流から多孔性粒子を分離した。処理気体は収集機の上部から出て行き、排気系に指向した。定期的にフィルターを逆パルスし、生成物フィルターの底から生成物を出し、粉末収集容器に回収した。

【0148】

得られた粒子は、0.09g/cm<sup>3</sup>のタップ密度(標準的方法を使用して測定)、1barで7~8ミクロンのVMGD(RODOSにより測定)および45~50%の3.3ミクロン未満微細粒子画分(FPF)(本明細書に記載のウェットスクリーンを用いる3段階ACIアッセイを使用して測定)を有していた。

【0149】

粉末を約8.7mg量で2号サイズのヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)カプセルに充填し、次いでAclarホイルプリスターカードにパッケージした。プリスターカードをさらなる湿気保護のために小さな食品グレードの乾燥剤バッグを含むアルミニウムホイルバッグに密閉した。

【0150】

10重量%インスリン含有粒子の調製およびパッケージのための代替方法

以下の節は、10wt%インスリン負荷の粒子(DPPC/インスリン/クエン酸塩80/10/10wt%)の調製を記載する。以下の手順は、1Lの溶液バッチの調製を詳述する。水溶液を次のように調製した。0.4LのpH2.5クエン酸緩衝液を、0.168グラムのクエン酸一水和物を0.4Lの注射用滅菌水に溶解し、1.0NのHClでpHを2.5に調整することにより調製した。次いで、0.2グラムのインスリンをクエン酸緩衝液に溶解した。最後に、pHが6.7に調整されるまで1.0Nの水酸化ナトリウム(NaOH)を添加した。有機溶液を、1.2gのDPPCを600mLのエタノール(200プローフ, USP)に溶解することにより調製した。

【0151】

噴霧乾燥前に、水溶液および有機溶液と共にインラインで濾過(0.22ミクロンフィルター)し、次いで、インラインで50℃に加熱した。噴霧乾燥供給溶液を、加熱した水溶液と加熱した有機溶液とをインラインで静的混合することにより調製した。得られた水性/有機供給溶液を、2グラム/Lの溶質濃度で60%エタノール/40%水の最終容積組成を有するように混ぜた。この供給溶液を45mL/分の制御速度で噴霧乾燥チャンバ(サイズ1のNiro噴霧乾燥機、Model Mobil Minor 2000)の上部にポンピングした。噴霧乾燥チャンバに入れる際、溶液を2液アトマイザー(Liquid Cap 2850およびGas Cap 67147, Spraying Systems Inc)を使用して21.5g/分の霧化気体速度で小さな液滴に霧状にした。処理気体、加熱乾燥窒素、を90kg/時間の制御速度で乾燥チャンバの上部に導入した。液滴が加熱窒素に接触すると、液体が蒸発し、多孔性粒子が形成された。入口乾燥気体の温度は130℃であり、出口処理気体温度は67.5℃であった。粒子は、処理気体と共に乾燥チャンバを出て

10

20

30

40

50

行き、下流にある生成物フィルターに入った。生成物フィルターにより処理ガス流から多孔性粒子を分離した。処理気体は収集機の上部から出て行き、排気系に指向した。定期的にフィルターを逆パルスし、生成物フィルターの底から生成物を出し、粉末収集容器に回収した。

【 0 1 5 2 】

得られた粒子は、 $0.06\text{g}/\text{cm}^3$ のタップ密度（標準的方法を使用して測定）、1barで7~8ミクロンのVMGD (RODOSにより測定) および35~40%の3.3未満FPF (本明細書に記載のウェットスクリーンを用いる3段階ACIアッセイを使用して測定) を有していた。粉末を約12.4mg量で2号サイズのヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) カプセルに充填し、次いでAclarホイルプリスターカードにパッケージした。プリスターカードをさらなる湿気保護のために小さな食品グレードの乾燥剤バッグを含むアルミニウムホイルバッグに密閉した。 10

【 0 1 5 3 】

15重量%インスリン含有粒子の調製およびパッケージのための方法

以下の実施例は、15wt%インスリン負荷の粒子 (DPPC / インスリン / クエン酸塩75/15/10wt%) の調製を記載する。以下の手順は、1Lの溶液バッチの調製を詳述する。水溶液を次のように調製した。0.4LのpH2.5クエン酸緩衝液を、1.26gのクエン酸一水和物を0.4Lの注射用滅菌水に溶解し、1.0NのHClでpHを2.5に調整することにより調製した。次いで、2.25gのインスリンをこのクエン酸緩衝液に溶解した。最後に、pHが6.7に調整されるまで1.0Nの水酸化ナトリウム (NaOH) を添加した。有機溶液を、11.25gのDPPCを600mLのエタノール (200プローフ, USP) に溶解することにより調製した。 20

【 0 1 5 4 】

噴霧乾燥前に、水溶液および有機溶液を共にインラインで濾過 (0.22ミクロンフィルター) し、次いで、インラインで50℃に加熱した。噴霧乾燥供給溶液を、加熱した水溶液と加熱した有機溶液とをインラインで静的混合することにより調製した。得られた水性 / 有機供給溶液を、15g/Lの溶質濃度で60%エタノール / 40%水の最終容積組成を有するように混ぜた。この供給溶液を50mL/分の制御速度で噴霧乾燥チャンバ (サイズ1のNiro噴霧乾燥機、Model Mobil Minor 2000) の上部にポンピングした。噴霧乾燥チャンバに入る際、溶液を2液アトマイザー (Liquid Cap 2850およびGas Cap 67147, Spraying Systems Inc) を使用して62g/分の霧化気体速度で小さな液滴に霧状にした。処理気体、加熱乾燥窒素、を110kg/時間の制御速度で乾燥チャンバの上部に導入した。液滴が加熱窒素に接触すると、液体が蒸発し、多孔性粒子が形成された。入口乾燥気体の温度は128℃であり、出口処理気体温度は67.5℃であった。粒子は、処理気体と共に乾燥チャンバを出て行き、下流にある生成物フィルターに入った。生成物フィルターにより処理ガス流から多孔性粒子を分離した。処理気体は収集機の上部から出て行き、排気系に指向した。定期的にフィルターを逆パルスし、生成物フィルターの底から生成物を出し、粉末収集容器に回収した。 30

得られた粒子は、1barで7~8ミクロンのVMGD (RODOSにより測定) および40~45%の3.3未満FPF (ウェットスクリーンを用いる3段階ACIを使用して測定) を有していた。粉末を約8.0mg量で2号サイズのヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) カプセルに充填し、次いでAclarホイルプリスターカードにパッケージした。プリスターカードをさらなる湿気保護のために小さな食品グレードの乾燥剤バッグを含むアルミニウムホイルバッグに密閉した。 40

【 0 1 5 5 】

インビボラットインスリン実験

インスリンを含有する乾燥粉末製剤のラットへの肺投与後の、ラットの血流内へのインスリン吸収の速度および程度を測定するために、以下の実験を行った。

【 0 1 5 6 】

投与した名目上のインスリン用量は、1ラットあたり $100\mu\text{g}$ であった。名目上の用量を達成するため、1ラットあたりに投与した粉末の全重量は、各粉末の組成に応じて0.2mg~1mgの範囲とした。雄Sprague-DawleyラットをTaconic Farms (Germantown, NY) から入 50

手した。使用時、動物は平均386g (  $\pm 5$ g S.E.M. ) の体重であった。動物は食事と水に自由にアクセス可能とした。

【 0 1 5 7 】

粉末を、ラット用吸入デバイス ( PennCentury, Philadelphia, PA ) を用いて肺に送達した。粉末量を吸入試料チャンバに移した。次いで、吸入器の送達チューブを、口を介して気管へ挿入し、チューブの先端がカリナ ( 最初の分岐部 ) から約 1 センチメートルになるまで進めた。吸入器試料チャンバから粉末を送達するために使用した空気容積は3mLであった ( 10mL注射器から送達される ) 。ラットへの粉末送達を最大にするため、この注射器を、1粉末用量あたり合計で3回の空気排出をするためにもう2回再充填および排出した。

10

【 0 1 5 8 】

注射可能なインスリン製剤Humulin Lを、25  $\mu$ gインスリンの名目上の用量に対して7.2  $\mu$ Lの注射容量で皮下注射により投与した。投薬の前日にラットの頸静脈内にカテーテルを配置した。サンプリング時に、血液試料を頸静脈カテーテルから採取し、直ぐにEDTAコーティングチューブに移した。サンプリング時間は、粉末投与後0、0.25、0.5、1、2、4、6、8および24時間とした。場合によっては、さらなるサンプリング時間 ( 12 時間 ) を含め、および / または 24 時間時点を割愛した。遠心分離後、血液試料から血漿を収集した。血漿試料を、24時間以内に解析を行なう場合には4 度、または収集後24時間より後に解析を行なう場合には-75 度で保存した。血漿インスリン濃度を上記のようにして測定した。

20

【 0 1 5 9 】

表4は、上記アッセイを用いて定量したインスリン血漿レベルを含む。

【 0 1 6 0 】

【表4】

表4. ラットインスリン血漿レベル

時間 (hrs) ↓	血漿インスリン濃度 ( $\mu$ U/mL) $\pm$ S.E.M.								Humulin L
	1	2	3	4	5	6	13A		
0	5.0 $\pm 0.0$	5.2 $\pm 0.2$	5.0 $\pm 0.0$	5.0 $\pm 0.0$	5.3 $\pm 0.2$	5.7 $\pm 0.7$	5.0 $\pm 0.0$	5.0 $\pm 0.0$	
0.25	1256.4 $\pm 144.3$	61.6 $\pm 22.5$	98.5 $\pm 25.3$	518.2 $\pm 179.2$	240.8 $\pm 67.6$	206.8 $\pm 35.1$	1097.7 $\pm 247.5$	269.1 $\pm 82.8$	10
0.5	1335.8 $\pm 81.9$	85.2 $\pm 21.7$	136.7 $\pm 37.6$	516.8 $\pm 190.9$	326.2 $\pm 166.9$	177.3 $\pm 7.8$	893.5 $\pm 177.0$	459.9 $\pm 91.6$	
1	859.0 $\pm 199.4$	85.4 $\pm 17.6$	173.0 $\pm 28.8$	497.0 $\pm 93.9$	157.3 $\pm 52.5$	170.5 $\pm 32.9$	582.5 $\pm 286.3$	764.7 $\pm 178.8$	
2	648.6 $\pm 171.1$	94.8 $\pm 25.0$	158.3 $\pm 39.1$	496.5 $\pm 104.9$	167.7 $\pm 70.5$	182.2 $\pm 75.0$	208.5 $\pm 78.3$	204.4 $\pm 36.7$	20
4	277.6 $\pm 86.8$	52.5 $\pm 9.1$	98.0 $\pm 24.3$	343.8 $\pm 66.7$	144.8 $\pm 43.8$	170.2 $\pm 56.3$	34.9 $\pm 5.4$	32.1 $\pm 22.6$	
6	104.0 $\pm 43.1$	33.0 $\pm 10.7$	58.7 $\pm 4.1$	251.2 $\pm 68.4$	95.7 $\pm 27.3$	159.5 $\pm 43.4$	12.3 $\pm 2.4$	11.1 $\pm 7.5$	
8	54.4 $\pm 34.7$	30.2 $\pm 8.1$	42.5 $\pm 17.8$	63.2 $\pm 16.5$	52.5 $\pm 13.7$	94.8 $\pm 23.5$	5.2 $\pm 0.1$	5.5 $\pm 2.1$	
12				17.2 $\pm 6.5$					
24				5.0 $\pm 0.0$	5.5 $\pm 0.3$				

## 【0161】

表4のインビボ放出データは、インスリンおよび脂質DPPCを含有する粉末製剤（製剤1および13）は、例えば、インスリンおよび正に荷電した脂質（DPePCおよびDSePC）を含有する粉末製剤（6~8時間で上昇レベルを維持している）よりも速やかに放出されることを示す。

## 【0162】

## インスリン含有製剤のインビトロ解析

インスリン含有乾燥粉末製剤のインビトロ放出を、いくつか変更してGietzらによるEur. J. Pharm. Biopharm., 45:259~264(1998)に記載のようにして行なった。簡単には、20mLのスクリューキャップ付ガラス製シンチレーションバイアル内で、約10mgの各乾燥粉末製剤またはHumulin R、Humulin L、もしくはHumulin Uの溶液と4mLの加温（37℃）1%アガロース溶液とをポリスチレン搅拌棒を用いて混合した。次いで、得られた混合物を1mLのアリコートで、5個一組の新たな20mLガラス製シンチレーションバイアルに分配した。乾燥粉末含有アガロースの分散物を、遮光した周囲温度デシケーターボックス内で冷却し、ゲル化させた。約37℃の回転振盪器で放出研究を行った。予め決めた時点で、先の放出媒体（1.5mL）を除去し、新たな放出媒体（1.5mL）を各バイアルに添加した。これらの研究の代表的な時点を、5分、1、2、4、6および24時間とした。使用した放出媒体を、20mM

10

20

30

40

50

の4-(2-ヒドロキシエチル)-ピペラジン-1-エタンスルホン酸(HEPES)、138mMのNaCl、0.5%Pluronic(Synperonic PE/F68;放出媒体中でのインスリン原線維形成(fibrillation)を防止するため);pH7.4で構成した。既知濃度のインスリン標準品を用いるPierce(Rockford, IL)タンパク質アッセイキット(Anal. Biochem., 150:76~85(1985)を参照のこと)を用いて放出媒体中でのインスリン濃度をモニターした。

### 【0163】

表5に、インスリンを含有する表2の粉末製剤のインピトロ放出データおよび一次放出定数をまとめる。

### 【0164】

#### 【表5】

10

表5. インピトロインスリン放出

製剤番号	6時間で放出されたインスリンの累積%	24時間で放出されたインスリンの累積%	24時間での最大 <sup>†</sup> 放出(蓄積%)	一次 <sup>‡</sup> 放出定数( $hr^{-1}$ )
Humulin R (溶液)	92.67 ± 0.36	94.88 ± 0.22	91.6 ± 5.42	1.0105 ± 0.2602
Humulin L (溶液)	19.43 ± 0.41	29.71 ± 0.28	36.7 ± 2.56	0.0924 ± 0.0183
Humulin U (溶液)	5.17 ± 0.18	12.65 ± 0.43	46.6 ± 27.0	0.0158 ± 0.0127
2	31.50 ± 0.33	47.52 ± 0.43	48.22 ± 0.46	0.1749 ± 0.0038
3	26.34 ± 0.71	37.49 ± 0.27	38.08 ± 0.72	0.1837 ± 0.0079
4	24.66 ± 0.20	31.58 ± 0.33	31.51 ± 1.14	0.2457 ± 0.0214
5	29.75 ± 0.17	35.28 ± 0.19	33.66 ± 2.48	0.4130 ± 0.0878
6	17.04 ± 0.71	24.71 ± 0.81	25.19 ± 0.52	0.1767 ± 0.0083
7	13.53 ± 0.19	19.12 ± 0.40	19.51 ± 0.48	0.1788 ± 0.0101
8	13.97 ± 0.27	17.81 ± 0.46	17.84 ± 0.55	0.2419 ± 0.0178
9	17.47 ± 0.38	22.17 ± 0.22	21.97 ± 0.64	0.2734 ± 0.0196
10	25.96 ± 0.31	34.94 ± 0.31	35.43 ± 0.90	0.2051 ± 0.0120
11	34.33 ± 0.51	47.21 ± 0.47	47.81 ± 0.85	0.1994 ± 0.0082
12	61.78 ± 0.33	68.56 ± 0.23	65.20 ± 3.34	0.5759 ± 0.0988
13	78.47 ± 0.40	85.75 ± 0.63	84.9 ± 3.81	0.5232 ± 0.0861

<sup>†</sup> 放出<sub>(t)</sub> = 放出<sub>(0)</sub> \* (1 - e<sup>-kt</sup>)

<sup>‡</sup> 対照製剤として使用

20

30

### 【0165】

#### ヒト臨床試験

独特の空気力学的特性をもたせて工作した新規な吸入インスリンの臨床薬理学(PD)特性、安全性および許容性のヒト研究を以下に記載する。吸入器により本研究における被験体に送達したインスリンの代謝活性を評価するために正常血糖クランプ(euglycaemic clamp)を使用した。クランプは、正常なボランティアまたは糖尿病患者に低血糖症の危険なしにインスリンの投与を可能にする充分に記載された技術である(Heinemannら、Metab. Res., 26:579~583(1994);およびClemensら、Clin. Chem., 28:1899~1904(1982))。

40

### 【0166】

吸入インスリンの乾燥粉末製剤(60%DPPC、30%インスリンおよび10%クエン酸塩)をインスリンリスプロの急速作用の市販の皮下(s.c.)調製物、およびレギュラー可溶性インスリンの急速作用s.c.製剤と比較した。インスリンリスプロは、その作用の急速な開始および短持続性により選択されている。用語、吸入インスリン、乾燥粉末インスリン、およびAIは本明細書において互換的に使用される。

### 【0167】

#### 吸入インスリンの臨床評価用の被験体の選択

50

下記の臨床研究を、Helsinki, Edinburgh改正, 2000の宣言に従う正当な臨床ケアを伴つて実施し、医薬品の臨床試験の実施に関する基準ガイドラインについてのICH E6通知に従つて実施した。以下の判定基準を使用して、吸入インスリンの評価用の被験体を選択した。成人男性健康な被験体、年齢18~45歳、最近6ヶ月間喫煙なし。選択した個体はまた、予測容積の80%を超える1秒間の努力呼気量 (FEV<sub>1</sub>)、および21~27kg/m<sup>2</sup>のボディマス指数を有していた。さらに、選択した被験体は、クランプ手順前24時間激しい身体運動を控えることに同意し、正常な (4.4~6.4%) グリコシル化ヘモグロビン (HbA<sub>1c</sub>) を有していた。

#### 【0168】

以下の判定基準を使用して、研究から被験体を具体的に除いた。肺疾患または糖尿病の病歴または徵候のある患者を除外した。現在または以前の重大な任意の医学的状態または処置を有する患者も除外した。さらに、先の90日以内に薬物研究に参加したか、または任意のECG (心電図) または日常の検査室血液検査に臨床的に重大な異常を示した被験体もまた研究から具体的に除外した。

10

#### 【0169】

##### 臨床研究設計

吸入インスリンの3用量の単一のコホート、オープンラベル無作為化、交差研究を完了した。研究の被験体を、12時間の正常血糖クランプ (クランプレベル5.0mmol/L、0.15mU/kg/分の連続i.vインスリン灌流) により薬理学特性について5つの試験期間、ばらばらに3~14日間評価した。120分のベースライン期間後、12人の健常な男性ボランティア (非喫煙者、年齢28.9±5.9歳、BMI23.5±2.3kg/m<sup>2</sup>) がAI (84、168および294IU)、インスリンリスプロ (IL) (15IU) またはレギュラー可溶性インスリン (RI) (15IU) のいずれかを受けた。被験体は、単一ステップ、呼吸作動性吸入器を介して深く気楽な吸入で吸入する訓練を受けた。

20

#### 【0170】

手順を自動化正常血糖クランプの制御環境内で実施する場合、被験体に低血糖症の危険はなかった。

#### 【0171】

安全性および許容性を臨床および研究室評価により評価した。血液試料を投薬前および投薬後間をおいて採取して、インスリンリスプロとレギュラー可溶性インスリンを比較して各用量の薬物動態を評価した。具体的には、表6に記載のように、慣用的な安全性試験のため3つの血液試料を各被験体から採取した。さらに、21個に及ぶ試料を各処置日の進行にわたり採取し、試料の容積は、グルコース、血清インスリンおよびC-ペプチドの測定のため、1試料あたり2mL~3mLの範囲であった。C-ペプチドは、インスリンのC鎖であり、ヒト身体にとっては内因性である。外因性インスリンは、C鎖を含まない。従って、被験体においてC-ペプチドを測定することにより被験体の内因性インスリンのレベルが測定され得る。採取した血液試料の総容積は4週間で500mLの限度を超えた。

30

#### 【0172】

## 【表6】

表6. 1来院あたりに収集した血液容積

来院	血液試料	血液容積
来院 1	凝固試験	4 mL
	血液学 (全安全性プロフィール)	2 mL
	生化学 (全安全性プロフィール)	2 mL
	HbA <sub>1c</sub>	2 mL
来院 2, 3, 4, 5, 6	血液学 (2 mL x 5 来院)	10 mL
	グルコース測定 (2 mL x 5 来院)	10 mL
	正常血糖クランプ 2 mL/時間 (2 mL x 5 来院 x 14時間)	140 mL
	研究薬物インスリンでの試験日数 (3 mL x 1 来院 x 15 試料)	264 mL
	C-ペプチド (7 試料)1*	45 mL
来院 7	凝固試験	4 mL
	血液学 (全安全性プロフィール)	2 mL
	生化学 (全安全性プロフィール)	2 mL
総血液		487 mL

\* 3 mLは、インスリンおよびC-ペプチド試料の両方に充分な血液を含む

## 【0173】

全研究室安全性プロフィールとして、血液学測定（ヘモグロビン計数、赤血球計数、総白血球計数、および血小板計数が挙げられる）を挙げた。WBC（白血球）結果が正常範囲の10%以上外側である場合、示差白血球計数を実施した。部分トロンボプラスチン時間（PTT）および国際標準化（INR）もまた測定した。さらに、生化学測定（電解質（ナトリウム、カリウム）、クレアチニン、総タンパク質、ビリルビン、アラニントランスアミナーゼ（ALT）、GT、アルカリホスファターゼ、尿素濃度が挙げられる）も測定した。

## 【0174】

## 研究手順

## 全スケジュールおよび条件

被験体用のスケジュールは、同意、選抜、5つのユニット内試験期間、4つの洗い流し期間（ユニット外）および最終評価から構成された。ユニット内に拘束されているかまたは投薬前24時間の間、激しい運動、アルコールまたは随伴性薬物療法（医療上指示されない限り）を許さなかった。被験体には、前日の22:00から各試験期間の終了まで絶食を必要とし、投薬前12時間から各試験期間の終了までコーヒーを飲むことを慎むよう求めた。

## 【0175】

## 選抜および初期評価

被験体を来院2の21日前までに研究への参加について選抜し、インフォームドコンセントを得た時点で研究に参加させた。次いで、被験体を被験体番号に割り当て、無作為化した。この評価では、研究包含および除外判定基準（人口統計（生年月日、性別など）；一般的な過去の医学病歴；身体検査結果（生命徵候、身長および体重が挙げられる）；ECG結果；血液学、生化学および尿検査；尿薬物選抜；尿連続試験結果；HbA<sub>1c</sub>レベル；随伴

10

20

30

40

50

性薬物療法（最近14日の処方箋のみの薬剤[POM]および最近2日のOTC）；有害事象；およびベースライン肺機能試験）に従って適格性を実施し、文書で証明することにより適性を評価した。

【0176】

身体検査は、一般的試験（初期評価時の体重および身長の測定が挙げられる）から構成された。生命徵候測定としては、伏臥血圧、心拍数、呼吸速度および耳温度（伏臥姿勢で5分横になった後測定する）が挙げられる。

【0177】

各被験体の関連する薬物療法および外科手術経歴を記録した。指標としてはまた、任意の医学状態が進行しているかどうかとした。

10

【0178】

研究への参加の選抜の別要素として、12リードECGを測定し、選抜時に評価し、その後臨床的に適切であると考える場合である。

【0179】

尿検査をまた被験体選抜の要素として実施した。尿検査は、タンパク質、血液、グルコースおよびケトンについての半定量的（計量棒）解析を含んだ。

【0180】

薬物乱用のための尿検査としては、カンナビノイド、バルビツレート、アンフェタミン、ベンゾジアゼピン、フェノチアジンおよびコカインが挙げられ、被験体選抜の要素としても実施した。尿検査としてはまた、コチニンについての試験を挙げた。

20

【0181】

インスリンおよびC-ペプチドについての試料の解析を、IKFE (Mainz, Germany) により行った。慣用的な安全性試験およびHbA<sub>1c</sub>（来院1のみで評価）をFOCUS臨床Drug Development (GmbH, Neuss, Germany) で測定した。血液グルコース測定をProfil (Neuss, Germany) で行った。

【0182】

肺機能を手持ちサイズの肺活量計 (Schiller Spirovit SP 200) を使用して測定した。1秒の現実および予想努力呼気量 (FEV<sub>1</sub>)、努力肺活量 (FVC) および中間呼気流速 (FEF<sub>5-75%</sub>) を訂正した。

【0183】

30

吸入手順

吸入手順を被験体に練習させて、被験体を手順に慣れさせ、各インスリン吸入前に繰り返した。具体的には、被験体は、吸入器を介して深く気楽な吸入で吸入する訓練を受けた。研究者らはブリストーカードからカプセルを移し、使用直前に吸入器デバイスに置いた。各実施について吸入の投薬時間の文書化を記録した。

【0184】

研究薬物投与を含む試験期間

以下のベースライン評価を、正常血糖グルコースクランプを確立するために被験体をBiostatorに接続する前に簡単に実施した；選抜以後の身体状態および生命徵候の変化（伏臥血圧、心拍数、呼吸速度および耳体温）；血液学；先の来院以後の有害事象；および肺機能試験。

40

【0185】

用量投与の手順

試験期間をT = -2時間（被験体の血液グルコースレベルが自動化正常血糖グルコースクランプにより制御されたとき）で開始した。この手順はT = -2時間 ~ T = 0で続けた。

【0186】

被験体を無作為化して吸入インスリンを受けさせた。被験体は上記節に記載したような吸入手順を時間T = -2時間 ~ T = 0の間に練習した。

【0187】

時間T = 0で、被験体は、15IUインスリンリスプロ、レギュラー可溶性インスリンの皮下

50

注射、または無作為化により指示した吸入インスリンの用量を受けた。

【0188】

被験体が吸入インスリンを受ける場合、研究者らはカプセル(42IU/カプセルと等価)をプリスター カードから取り出し、使用直前に吸入器に置いた。被験体は、体を楽にし、少なくとも5呼吸通常どおり呼吸して、研究薬物処置を受けなければならなかつた。吸入マウスピースを通常の呼気の終わりに口に置いた。被験体は、肺が一杯になったと感じるまで、深く、気楽な吸入で口から吸込んだ。次いで、被験体は約5秒間呼吸を止めた(ゆっくり5まで数えることにより)。

【0189】

正確な数のカプセルを吸引して標的インスリン用量に達するまでこの手順を繰り返した(表7参照)。1カプセルあたり1呼吸のみ許した。初期カプセル吸入の開始(T=0)から最後のカプセル吸入の終わりまでの期間を記録した。

【0190】

【表7】

表7. 所望の用量のためのカプセル数

用量 F04-006 IU	カプセルの数
42	1
84	2
126	3
168	4
210	5
252	6
294	7

10

20

【0191】

インスリンレベルの測定のため、時間T=-2時間、-1時間、0(インスリンの投与前)、5、10、20、30、45分、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0時間、次いでT=12時間まで毎時間で血液試料を採取した。C-ペプチドの測定のため、T=-2、0、1、2、4、8および12時間で血液試料を採取した。

30

【0192】

ユニットから外に出る前に肺機能試験を実施した。臨床的に指示される場合、ECGならびに尿素および電解質のための血液サンプリングも実施した。

【0193】

研究薬物投与のない試験期間

研究薬物投与のない試験期間に関する来院についての手順および評価は、研究薬物を投与していないことを除き上記のとおりであった。さらに、インスリンレベルの測定用の血液試料は上記のようには収集しなったが、次の時間T=-2時間、-1時間、0時間(研究薬物投与の存在する試験期間でインスリンの投与を受けた時点)、次いでT=12時間まで毎時間収集した。C-ペプチドの測定のため、T=-2、0、1、2、4、8および12時間で血液試料を採取した。この来院では肺機能試験を実施しなかつた。

40

【0194】

最終試験

以下の最終評価を実施し、記録した:身体検査および生命徵候;血液学、生化学および尿検査結果;自発的に報告された有害事象;随伴性薬物療法;臨床的に指示された場合のECG;肺機能試験;ならびに研究完了状態。

【0195】

50

## 薬物動態

### 試料取扱い

インスリンおよびC-ペプチド測定についての試料の取扱いを以下のように実施した。収集後、血液試料を室温にて少なくとも30分間、しかし1時間以下チューブ内で凝固させた。室温での遠心分離後(2000g、10分間)、血清をスクリューキャップ付ポリプロピレンチューブ内で凍結保存した。各個体被験体由来の試料をその被験体用のパッケージとして保存した。各被験体についてのインスリンレベルをCoat-A-Coat<sup>TM</sup>インスリンRIAキット(Diagnostic Products Corporation TK1N2)を用いて測定し、C-ペプチドレベルをヒトC-ペプチドRIA(ラジオイムノアッセイ)キット(Linco Research Inc. HCP 20K)を用いて測定した。当該分野で公知の確立された手順を、インスリンの濃度-時間プロフィールおよび血清中C-ペプチドを特徴付けるために適用した。

### 【0196】

#### 研究薬物の処方単一用量

研究に使用した薬物は：吸入インスリン粉末(42IU/カプセル組み換えヒトインスリンと等価)；インスリンリスプロおよびレギュラー可溶性インスリン(各100IU/mLを提供する1.5mLカートリッジの0.150mLを投与)であった。42IU/カプセル組み換えヒトインスリンと等価の粉末化薬物物質を含むカプセルとして出願人らが、吸入用インスリンを製造し、提供した。吸入インスリンを25以上では保存しなかった。

### 【0197】

#### 結果

図1に示すように、吸入インスリンを受けた被験体におけるグルコース灌流速度は用量依存であった。さらに、図2は、168IUの吸入インスリン、インスリンリスプロ、またはレギュラー可溶性インスリンを受けている被験体におけるグルコース灌流速度を示している。168IUの吸入インスリンの薬力学特性は、インスリンリスプロおよびレギュラー可溶性インスリンに匹敵していた。

### 【0198】

吸入インスリン、インスリンリスプロ、およびレギュラー可溶性インスリンの作用開始をまた、上記研究に関与する被験体について評価した。作用開始( $T_{max50\%}$ (分)として記載)を各被験体について計算した。図3に示すように、 $T_{max50\%}$ は、インスリンリスプロおよびレギュラー可溶性インスリンと比較して、吸入インスリン調製物の全用量について低かった。具体的には、AIは、皮下インスリン製剤リスプロ(IL)およびレギュラー可溶性インスリン(RI)と比較して速い作用開始を示した(初期 $T_{max50\%}$ [分]：29(84IU)、35(168IU)、33(294IU)、41(IL)および70(RI)[RIと比較したAI(全用量)について $p<0.01$ ]。従って、これらの結果は、吸入インスリン調製物がより速い作用開始を有していたことを示している。

### 【0199】

さらに、本研究の各被験体についてGIR-AUC<sub>0-3時間</sub>を評価した。薬物投与後初期3時間(典型的な食事に関連する期間)では、図4に示すように、84IU用量の吸入インスリンがレギュラーインスリンに最も近いGIR-AUC<sub>0-3時間</sub>を与えた。

### 【0200】

84IUの吸入インスリンの生物有効性(biopotency)をインスリンリスプロおよびレギュラー可溶性インスリンの生物有効性と比較した。図5に示すように、薬物投与後初期3時間では、84IUの吸入インスリンの生物有効性は、レギュラー可溶性インスリンと比較して22%、インスリンリスプロと比較して14%であった。投与10時間後、吸入インスリン(84IU)の生物有効性は、レギュラー可溶性インスリンの生物有効性と比較して16%、インスリンリスプロと比較して18%であった。

### 【0201】

図6に示すように、時間の関数として評価されるGIR-AIUをまた各製剤について計算した。

### 【0202】

10

20

30

40

50

各被験体について、3つの異なる濃度（84IU、168IU、および294IUの自然対数）の吸入インスリンの効果をまた、グルコース灌流速度（GIR-AUC<sub>0-10時間</sub>の自然対数）への効果について、薬物投与後0～10時間の期間にわたって評価した。図7に示すように、この解析は、研究した吸入インスリン濃度の範囲にわたり線形用量応答速度を示した。

#### 【0203】

最後に、投与した各薬物についての変動係数を計算することにより、本研究で投与した薬物の薬力学特性の被験体間変動性を試験した。表8に示すように、インスリンの経口吸入後のAUC<sub>0-10時間</sub>に基づいて、被験体間変動性は、皮下注射によって投与したインスリンと類似の変動係数（CV）を示した。さらに、吸入インスリンの全用量についての被験体内CVは、AUC<sub>0-3時間</sub>で20%、AUC<sub>0-10時間</sub>で19%と推定した。これらの推定値は、無作為影響としての被験体および固定影響としての吸入インスリン用量を用いて対数変換したAUCデータの線形混合モデルを使用して得た。

#### 【0204】

##### 【表8】

表8. 薬物の被験体間変動

投与された薬物	被験体間変動係数 (%)
15 IU インスリンリスプロ	44
15 IU レギュラー可溶性インスリン	45
84 IU 吸入インスリン	48
168 IU 吸入インスリン	41
294 IU 吸入インスリン	35

#### 【0205】

本発明はその好ましい態様を参照して詳細に示され記載されているが、形態および詳細における種々の変更が、添付の特許請求の範囲に包含される本発明の範囲から逸脱せずに、その範囲内でなされ得ることを当業者により理解される。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0206】

【図1】図1は、吸入インスリンを投与した患者の時間経過におけるグルコース浸透速度（GIR）のグラフである。このグラフにおいて、84IUの吸入インスリンを投与した被験体の薬力学的プロフィールを白四角で示し；168IUの吸入インスリンを投与した被験体の薬力学的プロフィールを黒四角で示し、294IUの吸入インスリンを投与した被験体の薬力学的プロフィールを白丸で示す。

【図2】図2は、吸入インスリン（168IU）、皮下インスリンリスプロ（IL; 15IU）、または皮下レギュラー可溶性インスリン（RI; 15IU）を投与した被験体の時間経過におけるグルコース浸透速度（GIR）のグラフである。このグラフにおいて、15IUのリスプロを投与した被験体の薬力学的プロフィールを白三角で示し；15IUのレギュラー可溶性インスリンを投与した被験体の薬力学的プロフィールを黒三角で示し；168Uの吸入インスリンを投与した被験体の薬力学的プロフィールを黒四角で示す。

【図3】図3は、吸入インスリン（AI; 84IU、168IU、または294IU）、リスプロ（IL; 15IU）、またはレギュラー可溶性インスリン（RI; 15IU）の初期50%GIR<sub>max</sub>までの時間（分）として測定した、作用の開始を示す棒グラフである。

【図4】図4は、吸入インスリン（84IU）、インスリンリスプロ（IL; 15U）、またはレギュラー可溶性インスリン（RI; 15IU）に関するGIR-AUC<sub>0-3時間</sub>の棒グラフである。

10

20

30

40

50

【図5】図5は、投与の最初の3～10時間の、インスリンリスプロ(IL; 15IU)またはレギュラー可溶性インスリン(RI; 15IU)の生体作用強度(biopotency)のパーセントとして表される吸入インスリン(84IU)の生体作用強度の棒グラフである。

【図6】図6は、吸入インスリン(AI; 84IU、168IU、または294IU)、インスリンリスプロ(IL; 15IU)、またはレギュラー可溶性インスリン(RI; 15IU)に関する時間の関数として評価されるGIR-AUCの棒グラフであり、各データ点は個々の用量を示す。

【図7】図7は、吸入インスリンに関する用量の範囲(AI; 84IU、168IU、または294IU)にわたる用量応答のグラフである。

【図1】

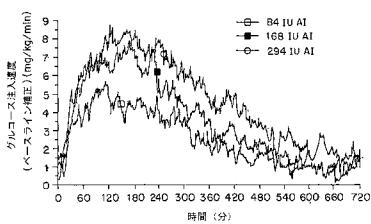


FIG. 1

【図2】

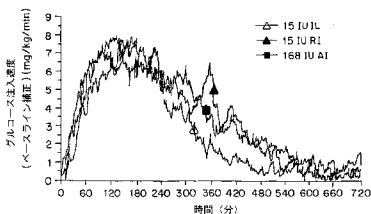


FIG. 2

【図3】

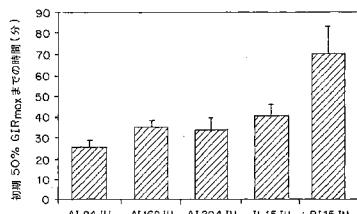


FIG. 3

【図4】

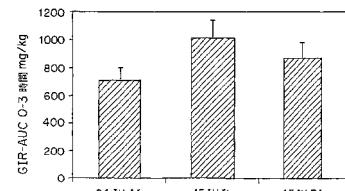


FIG. 4

【図5】

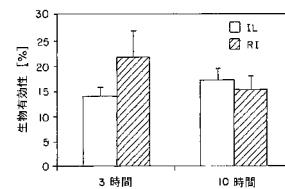


FIG. 5

【図6】

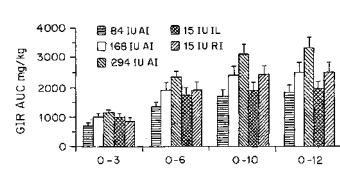


FIG. 6

【図7】

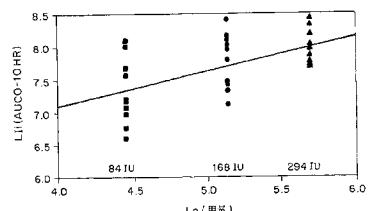


FIG. 7

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 61 K 47/16 (2006.01) A 61 K 47/16  
A 61 K 47/24 (2006.01) A 61 K 47/24  
A 61 P 3/10 (2006.01) A 61 P 3/10

(72)発明者 チエン, ドンハオ  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02420 レキシントン, エルドレッド ストリート 1  
6  
(72)発明者 バティッキー, リチャード, ピー.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02460 ニュートン, マディソン アベニュー 11  
(72)発明者 エドワーズ, デービッド, エイ.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02420 ボストン, ユニット 3, コモンウェルス ア  
ベニュー 171  
(72)発明者 フルカック, ジェフリー, エス.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02140 ケンブリッジ, ユニット 2, ケンブリッジ  
テラス 24

審査官 今村 玲英子

(56)参考文献 特表平10-501519 (JP, A)  
国際公開第98/031346 (WO, A1)  
特開昭61-050912 (JP, A)  
特開平04-041421 (JP, A)  
国際公開第01/013892 (WO, A1)  
EDWARDS, D. et al., Polymer Preprints, 1999年, Vol.40, No.1, p.328  
藤堂 浩明 他, 日本薬学会120年会講演要旨集, 2000年, 4号, p.56

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/28  
A61K 9/12