



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 25 019 T2 2006.08.24**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 223 915 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 25 019.9**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US00/09785**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 922 117.7**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2001/032144**

(86) PCT-Anmeldetag: **12.04.2000**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **10.05.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **24.07.2002**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **21.12.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **24.08.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 9/12 (2006.01)**  
**A61K 47/18 (2006.01)**

(30) Unionspriorität:

**162451 P 29.10.1999 US**

**164236 P 08.11.1999 US**

**172769 P 20.12.1999 US**

**178383 P 27.01.2000 US**

**178415 P 27.01.2000 US**

(74) Vertreter:

**Vossius & Partner, 81675 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(73) Patentinhaber:

**Nektar Therapeutics, San Carlos, Calif., US**

(72) Erfinder:

**LECHUGA-BALLESTEROS, David, Santa Clara,  
US; KUO, Mei-Chang, Palo Alto, US**

(54) Bezeichnung: **TROCKENPULVERZUSAMMENSETZUNGEN MIT VERBESSERTER DISPERSIVITÄT**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

**[0001]** Diese Anmeldung beansprucht den Vorteil der Priorität der folgenden provisorischen US-Patentanmeldungen: Seriennummer 60/162,451, eingereicht am 29. Oktober 1999; Seriennummer 60/164,236, eingereicht am 8. November 1999; Seriennummer 60/172,769, eingereicht am 20. Dezember 1999; Seriennummer 60/178,383, eingereicht am 27. Januar 2000 und Seriennummer 60/178,415, eingereicht am 27. Januar 2000.

**[0002]** Die vorliegende Erfindung ist auf hochdisperse Trockenpulverzusammensetzungen und insbesondere auf hochdisperse, inhalierbare Trockenpulverzusammensetzungen zur aerosolisierten Verabreichung in die Lungen gerichtet. Die erfindungsgemäßen Trockenpulver enthalten einen Wirkstoff und ein Di- oder Tripeptid, mindestens 2 Leucylreste enthaltend, und sind bei Lagerung physikalisch und chemisch stabil. Die erfindungsgemäßen Pulver zeigen außerdem besonders gutes Aerosolverhalten, sie umfassen Teilchen mit einem MMD von weniger als 10 µm.

**[0003]** Traditionell spielt die Inhalationstherapie eine relativ geringe Rolle bei der Verabreichung von Biotherapeutika und herkömmlichen Arzneimitteln im Vergleich zu traditionelleren Wegen der Arzneimittelverabreichung, wie oraler und intravenöser. Injektion ist der übliche Weg der Verabreichung von Biotherapeutika (z. B. Peptiden, Proteinen und Nukleinsäuren), und aufgrund der vielen mit Injektion verbundenen Nachteile (z. B. Unannehmlichkeiten, Beschwerden, Abneigung des Patienten gegen Verabreichungsverfahren auf Nadelbasis) werden alternative Verabreichungswege benötigt.

**[0004]** Die pulmonale Verabreichung ist ein derartiger alternativer Verabreichungsweg, welcher gegenüber der subkutanen Verabreichung einige Vorteile bieten kann. Diese Vorteile schließen die Einfachheit der Selbstverabreichung durch den Patienten, das Potenzial für verringerte Arzneimittelnebenwirkungen, die leichte Verabreichung durch Inhalation, den Ausschluss von Nadeln und dergleichen ein. Viele präklinische und klinische Studien mit inhalierten Proteinen, Peptiden, inhalierter DNA und inhalierten kleinen Molekülen haben gezeigt, dass Wirksamkeit sowohl innerhalb der Lungen als auch systemisch erzielt werden kann. Trotz derartiger Ergebnisse ist jedoch die Rolle der Inhalationstherapie auf dem Gebiet der Gesundheitsfürsorge in den letzten Jahren nicht wie erwartet gewachsen, teilweise infolge einer Reihe von Problemen, die es nur bei der Entwicklung von inhalierbaren Arzneimittelformulierungen gibt. Trockenpulverzusammensetzungen sind, obgleich sie einzigartige Vorteile gegenüber umständlichen flüssigen Dosierungsformen und treibgasgestützten Formulierungen bieten, anfällig für Aggregation und Phänomene geringer Fließfähigkeit, welche die Effizienz von Inhalationstherapien auf Trockenpulverbasis erheblich verringern.

**[0005]** Teilchenaggregation, hervorgerufen durch Teilchen-Teilchen-Wechselwirkungen, wie hydrophobe, elektrostatische und kapillare Wechselwirkungen, muss minimiert werden, um dispergierbare Pulver für wirksame Inhalationstherapien zur Verfügung zu stellen. Verschiedene Vorgehensweisen wurden bei den Versuchen, Trockenpulver mit minimaler Teilchenaggregation und guten Aerosoleigenschaften herzustellen, verwendet. Diese Vorgehensweisen schließen die Modifizierung der Oberflächenstruktur von Trockenpulverteilchen (Ganderton et al., US-Patent Nr. 5,376,386), die Mitverabreichung von großen Trägerteilchen (ohne Arzneistoff) mit therapeutischen Aerosolen zum Erzielen einer wirksamen Aerosolisierung, Teilchenüberzüge (Hanes, 5,855,913; Ruel et al., 5,663,198), aerodynamisch leichte Teilchen (Edwards et al., 5,985,309), die Verwendung von Antistatika (Simpkin et al., 5,908,639) und den Zusatz von bestimmten Exzipienten, z. B. oberflächenaktiven Mitteln (Hanes, 5,855,913; Edwards, 5,985,309) ein. Leider behindern die Bildung von Teilchenaggregaten und die Herstellung von Pulvern mit schlechten Fließeigenschaften und geringen Dispersitäten weiter die Entwicklungsbemühungen zur Herstellung aerosolisierbarer Trockenpulver für die Inhalationstherapie. Daher besteht ein Bedarf an verbesserten inhalierbaren Aerosolen zur pulmonalen Verabreichung von Therapeutika und insbesondere an Trockenpulvern mit ausgezeichneten Aerosoleigenschaften und herabgesetzten Teilchen-Teilchen-Wechselwirkungen, unabhängig vom Therapeutikum.

**[0006]** Die Einführung eines Antihafstoffes, insbesondere Leucins, in Pulver zur Verwendung in Trockenpulverinhalatoren wurde in WO 97/03649 offenbart.

**[0007]** Ein Tripeptid, das zwei Leucineinheiten, nämlich Leu-His-Leu, enthält, wurde gemäß WO 96/21461 verwendet, um stabile Arzneimittelformulierungen, die ein Wachstumshormon umfassen, zur Verfügung zu stellen.

**[0008]** Die vorliegende Erfindung basiert auf der Entdeckung einer besonderen Klasse von Exzipienten, die, wenn sie in Trockenpulverformulierungen zur Aerosolisierung und Verabreichung in die Lunge eingebracht werden, die Dispersität und Aerosolisierungseigenschaften der Trockenpulver, unabhängig von dem in der For-

mulierung enthaltenen Wirkstofftyp, beträchtlich verbessert. Ganz speziell stellt die Erfindung eine Trockenpulverzusammensetzung zur Verfügung, welche einen Wirkstoff und ein Di- oder Tripeptid, umfassend mindestens zwei Leucine, umfasst. Bevorzugte Di- und Tripeptide sind jene, welche oberflächenaktiv sind. Die Zusammensetzung umfasst Teilchen mit einem MMD von weniger als 10 µm.

**[0009]** Das erfindungsgemäße Trockenpulver enthält typischerweise 2 Gew.-% bis 99 Gew.-% Di- oder Tripeptid und kann gegebenenfalls zusätzliche Exzipienten oder Träger, wie Kohlenhydrate, Aminosäuren, Peptide, Proteine, Salze organischer Säuren und/oder Polymere, enthalten.

**[0010]** Das Vorhandensein von Di- oder Tripeptid ist wirksam, um die freigesetzte Dosis des Trockenpulvers gegenüber der freigesetzten Dosis der Pulverzusammensetzung ohne das Di- oder Tripeptid beträchtlich zu erhöhen. In einer speziellen Ausführungsform der Erfindung ist das erfindungsgemäße Trockenpulver durch eine freigesetzte Dosis von mindestens 30 % gekennzeichnet. In einer weiteren Ausführungsform ist die Konzentration des Dileucyldipeptids oder -tripeptids an der Oberfläche der Teilchen größer als in der Masse des Pulvers.

**[0011]** Zusätzliche Merkmale der erfindungsgemäßen Trockenpulverteilchen schließen, in einer Ausführungsform, einen Massenmedian des aerodynamischen Durchmessers von weniger als 10 µm ein. In noch einer anderen Ausführungsform umfasst das Trockenpulver Teilchen mit einer Schüttdichte von 0,1 bis 10 g/cm<sup>3</sup>.

**[0012]** Das erfindungsgemäße Trockenpulver ist weiter sowohl durch physikalische als auch chemische Stabilität bei Lagerung gekennzeichnet, wie in einer Ausführungsform durch einen Abfall der freigesetzten Dosis von nicht mehr als 10 % bei Lagerung unter Umgebungsbedingungen über einen Zeitraum von drei Monaten gekennzeichnet. In einer weiteren Ausführungsform ist die chemische Stabilität des Trockenpulvers durch einen Abbau des Wirkstoffs von weniger als 5 Gew.-% bei Lagerung der Trockenpulverzusammensetzung unter Umgebungsbedingungen über einen Zeitraum von 3 Monaten gekennzeichnet.

**[0013]** In einer anderen Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zur Verbesserung des Aerosolverhaltens eines Trockenpulvers zur Verfügung. In dem Verfahren wird ein Di- oder Tripeptid in eine flüssige Formulierung, die den Wirkstoff enthält, eingebracht. Die so erhaltene flüssige Formulierung wird getrocknet, um ein Trockenpulver, das den Wirkstoff und das Di- und/oder Tripeptid enthält, herzustellen, wobei das so erhaltene Trockenpulver eine freigesetzte Dosis besitzt, die gegenüber der freigesetzten Dosis eines Trockenpulvers mit den gleichen Bestandteilen, aber ohne das Di- oder Tripeptid, erhöht ist.

**[0014]** In einer Ausführungsform des Verfahrens ist die flüssige Formulierung eine wässrige Formulierung. In einer anderen speziellen Ausführungsform des Verfahrens wird die flüssige Formulierung sprühgetrocknet, um ein Trockenpulver herzustellen.

**[0015]** Diese und andere Aufgaben und Merkmale der Erfindung werden vollständig offenbar, wenn die folgende detaillierte Beschreibung in Verbindung mit den beigefügten Figuren und Beispielen gelesen wird.

## I. Definitionen

**[0016]** Die nachstehenden Begriffe, wie hierin verwendet, haben die angegebene Bedeutung.

**[0017]** „Wirkstoff“, wie hierin beschrieben, schließt jedes Mittel, jeden Arzneistoff, jede Verbindung, Stoffzusammensetzung oder jedes Gemisch ein, welche(s,r) eine gewisse pharmakologische, oft heilsame, Wirkung bereitstellt, die in vivo oder in vitro demonstriert werden kann. Dies schließt Nahrungsmittel, Nahrungsergänzungsmittel, Nährstoffe, Nutrizeutika, Arzneistoffe, Impfstoffe, Antikörper, Vitamine und andere vorteilhafte Mittel ein. Wie hierin verwendet, schließen diese Begriffe jede physiologisch oder pharmakologisch wirksame Substanz, die eine lokalisierte oder systemische Wirkung bei einem Patienten hervorruft, ein.

**[0018]** „Aminosäure“ bezieht sich auf jede Verbindung, die sowohl eine Aminogruppe als auch eine Carboxylgruppe enthält. Obwohl die Aminogruppe am häufigsten in der der Carboxyfunktion benachbarten Stellung vorkommt, kann die Aminogruppe an jeder Stelle innerhalb des Moleküls positioniert sein. Die Aminosäure kann weitere funktionelle Gruppen, wie Amino, Thio, Carboxyl, Carboxamid, Imidazol usw., enthalten. Eine Aminosäure kann synthetisch oder natürlich vorkommend sein und kann entweder in ihrer racemischen oder optisch aktiven Form (D- oder L-Form) verwendet werden.

**[0019]** „Leucin“, entweder als einzelne Aminosäure oder als Aminosäurekomponente eines Peptids vorlie-

gend, betrifft die Aminosäure Leucin, die ein racemisches Gemisch sein kann oder entweder in ihrer D- oder L-Form vorliegen kann, sowie modifizierte Formen von Leucin (d. h., wo ein oder mehrere Atome von Leucin durch ein anderes Atom oder eine funktionelle Gruppe substituiert sind), wobei die dispergierbarkeitssteigernde Wirkung der modifizierten Aminosäure oder des modifizierten Peptids gegenüber der des unmodifizierten Stoffes im Wesentlichen unverändert oder unverbessert ist.

**[0020]** „Dipeptid“, hierin auch als Dimer bezeichnet, bezieht sich auf ein aus zwei Aminosäuren bestehendes Peptid.

**[0021]** „Tripeptid“, hierin auch als Trimer bezeichnet, bezieht sich auf ein aus drei Aminosäuren bestehendes Peptid.

**[0022]** Ein „oberflächenaktiver“ Stoff ist einer mit Oberflächenaktivität (gemessen z. B. mit Tensiometrie), wie durch sein Vermögen gekennzeichnet, die Oberflächenspannung der Flüssigkeit, in welcher es gelöst ist, zu verringern. Oberflächenspannung, welche mit der Grenzfläche zwischen einer flüssigen und einer anderen Phase in Zusammenhang steht, ist die Eigenschaft einer Flüssigkeit, aufgrund welcher die Oberflächenmoleküle eine nach innen gerichtete Anziehung zeigen.

**[0023]** Typischerweise wird, im Kontext der vorliegenden Erfindung, ein oberflächenaktives Dipeptid oder Tripeptid durch Herstellen von Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen (von ungefähr 0,01 % Gew./Vol. (0,1 mg/ml) bis ungefähr 2 % Gew./Vol. (20 mg/ml)) des betreffenden Peptids in Wasser und Messen der Oberflächenspannung jeder der Lösungen festgestellt. Ein oberflächenaktives Peptid ist eines, welches, wenn es in beliebiger Konzentration in der Lösung vorhanden ist, obwohl typischerweise in einer Menge größer als 0,25 mg/ml vorliegend, wirksam ist, die Oberflächenspannung von Wasser von ihrem Regelwert aus herabzusetzen. Ein Peptid, das oberflächenaktiver als ein anderes Peptid ist, ist eins, das die Oberflächenspannung von Wasser mehr verringert, wenn es in der Flüssigkeit in derselben Konzentration vorliegt und unter den gleichen Versuchsbedingungen gemessen wird.

**[0024]** „Trockenpulver“ bezeichnet eine Pulverzusammensetzung, die typischerweise weniger als etwa 20 % Feuchtigkeit, bevorzugt weniger als 10 % Feuchtigkeit, stärker bevorzugt weniger als etwa 5–6 % Feuchtigkeit und am meisten bevorzugt weniger als etwa 3 % Feuchtigkeit, in Abhängigkeit von der Teilchenformulierung enthält.

**[0025]** Ein Trockenpulver, das „geeignet zur pulmonalen Verabreichung“ ist, bezieht sich auf eine Zusammensetzung, umfassend feste (d. h. nichtflüssige) oder teilweise feste Teilchen, die (i) in einem oder durch ein Inhalationsgerät leicht dispergiert werden können und (ii) durch einen Patienten inhaliert werden können, so dass ein Teil der Teilchen die Lungen erreicht, um das Eindringen in die Lungenbläschen zu erlauben. Solch ein Pulver wird als „lungengängig“ betrachtet.

**[0026]** „Aerosolisierte“ oder „aerosolisierbare“ Teilchen sind Teilchen, welche bei Verteilen in einen Gasstrom entweder durch ein passives oder aktives Inhalationsgerät über einen Zeitraum in dem Gas suspendiert bleiben, der für mindestens einen Teil der Teilchen ausreichend ist, um durch den Patienten inhaliert zu werden, so dass ein Teil der Teilchen die Lungen erreicht.

**[0027]** „Freigesetzte Dosis“ oder „ED“ (von „Emitted Dose“) liefert eine Angabe der Abgabe einer Arzneimitelformulierung aus einem geeigneten Inhalationsgerät nach einem Ausstoß- oder Dispergiervorgang. Genauer ist für Trockenpulverformulierungen der ED-Wert ein Maß des prozentualen Anteils des Pulvers, der aus einer Einheitsdosisverpackung entzogen wird und das das Mundstück eines Inhalationsgerätes verlässt. Der ED-Wert ist als das Verhältnis der durch ein Inhalationsgerät abgegebenen Dosis zu der Nominaldosis (d. h. der Masse des Pulvers pro Einheitsdosis, die vor dem Ausstoßen in ein geeignetes Inhalationsgerät gegeben wird) definiert. Der ED-Wert ist ein experimentell bestimmter Parameter und wird typischerweise unter Verwendung eines In-vitro-Geräteaufbaus ermittelt, welcher die Verabreichung an den Patienten imitiert. Um einen ED-Wert zu bestimmen, wird eine Nominaldosis Trockenpulver, typischerweise in Einheitsdosisform, in einen geeigneten Trockenpulverinhalator (wie den in US-Patent Nr. 5,785,049, erteilt an Inhale Therapeutic Systems, beschriebenen) gegeben, der dann betätigt wird, wodurch das Pulver dispergiert wird. Die entstehende Aerosolwolke wird anschließend durch Vakuum aus dem Gerät gezogen, wo sie auf einem ausgewogenen Filter, befestigt an dem Gerätemundstück, aufgefangen wird. Die Menge des Pulvers, die den Filter erreicht, bildet die freigesetzte Dosis. Beispielsweise, für eine 5 mg Trockenpulver enthaltende Dosierungsform, die in ein Inhalationsgerät gegeben wird, ist, wenn das Dispergieren des Pulvers zur Gewinnung von 4 mg Pulver auf einem ausgewogenen Filter führt, wie vorstehend beschrieben, dann die freigesetzte Dosis für die Trockenpul-

verzusammensetzung:  $4 \text{ mg (abgegebene Dosis)}/5 \text{ mg (Nominaldosis)} \times 100 = 80 \%$ .

**[0028]** Für nichthomogene Pulver liefern die ED-Werte eher eine Angabe der Abgabe des Arzneimittels aus einem Inhalationsgerät nach dem Ausstoßen als der des Trockenpulvers, und sie sind eher auf die Arzneimittelmenge als auf das Pulvergesamtwicht bezogen. Ebenso entspricht bei MDI- und Vernebler-Dosierungsformen der ED-Wert dem prozentualen Anteil des Arzneimittels, das aus einer Dosierungsform gezogen wird und das das Mundstück eines Inhalationsgerätes verlässt.

**[0029]** „Feinpartikeldosis“ oder „FPD“ ist als der Masseprozentsatz an Pulverteilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser von weniger als  $3,3 \mu\text{m}$  definiert, typischerweise durch Messung in einem Andersen-Kaskadenimpaktor bestimmt. Dieser Parameter liefert eine Angabe des Prozentsatzes der Teilchen mit dem größten Potenzial, die tiefe Lunge eines Patienten zur systemischen Aufnahme eines Arzneistoffs zu erreichen.

**[0030]** Ein „dispergierbares“ oder „dispersives“ Pulver ist eins mit einem ED-Wert von mindestens etwa 30 %, stärker bevorzugt 40–50 % und sogar noch stärker bevorzugt mindestens etwa 50–60 %.

**[0031]** „Massenmedian des Durchmessers“ oder „MMD“ ist ein Maß der mittleren Teilchengröße, da die erfindungsgemäßen Pulver im Allgemeinen polydispers sind (d. h. aus einem Teilchengrößenbereich bestehen). MMD-Werte, wie hier beschrieben, werden durch Zentrifugalsedimentation bestimmt, obwohl beliebig viele der im Allgemeinen verwendeten Verfahren zur Messung der mittleren Teilchengröße verwendet werden können (z. B. Elektronenmikroskopie, Lichtstreuung, Laserbeugung).

**[0032]** „Massenmedian des aerodynamischen Durchmessers“ oder „MMAD“ ist ein Maß der aerodynamischen Größe eines dispergierten Teilchens. Der aerodynamische Durchmesser wird verwendet, um ein aerosolisiertes Pulver bezüglich seines Absetzverhaltens zu beschreiben, und ist der Durchmesser einer Kugel mit Einheitsdichte mit derselben Absetzgeschwindigkeit in Luft wie das Teilchen. Der aerodynamische Durchmesser umfasst Teilchengröße, -dichte und physikalische Größe eines Teilchens. Wie hier verwendet, bezieht sich MMAD auf den Mittelpunkt oder den Median der aerodynamischen Teilchengrößenverteilung eines aerosolisierten Pulvers, ermittelt mit Kaskadenimpaktion, wenn nicht anders angegeben.

**[0033]** „Pharmazeutisch verträgliches Salz“ schließt ein, aber ist nicht beschränkt auf, mit anorganischen Säuren hergestellte Salze, wie Chlorid-, Sulfat-, Phosphat-, Diphosphat-, Hydrobromid- und Nitratsalze, oder mit einer organischen Säure hergestellte Salze, wie Malat-, Maleat-, Fumarat-, Tartrat-, Succinat-, Ethylsuccinat-, Citrat-, Acetat-, Lactat-, Methansulfonat-, Benzoat-, Ascorbat-, p-Toluolsulfonat-, Palmoat-, Salicylat- und Stearat- sowie Estolat-, Gluceptat- und Lactobionatsalze. Ähnlich schließen Salze, die pharmazeutisch verträgliche Kationen enthalten, ein, aber sind nicht beschränkt auf, Natrium, Kalium, Calcium, Aluminium, Lithium und Ammonium (einschließlich alkylsubstituierten Ammoniums).

**[0034]** „Pharmazeutisch verträglicher Exzipient oder Träger“ bezieht sich auf einen Exzipienten, der gegebenenfalls in den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen enthalten sein kann und ohne erhebliche toxikologische Nebenwirkungen auf den Patienten in die Lungen aufgenommen werden kann, insbesondere in die Lungen des Patienten.

**[0035]** „Pharmakologisch wirksame Menge“ oder „physiologisch wirksame Menge eines bioaktiven Wirkstoffs“ ist die Menge eines in einer aerosolisierbaren Zusammensetzung vorhandenen Wirkstoffs, wie hier beschrieben, die benötigt wird, um einen gewünschten Wirkstoffspiegel im Blutkreislauf oder an der Wirkungsstelle (z. B. den Lungen) eines zu behandelnden Patienten bereitzustellen, um eine erwartete physiologische Reaktion zu bewirken, wenn eine derartige Zusammensetzung pulmonal verabreicht wird. Die genaue Menge wird von zahlreichen Faktoren abhängen, z. B. dem Wirkstoff, der Wirksamkeit der Zusammensetzung, dem verwendeten Abgabegerät, den physikalischen Eigenschaften der Zusammensetzung, der beabsichtigten Verwendung beim Patienten (d. h. der Anzahl der pro Tag verabreichten Dosen), Berücksichtigungen des Patienten und dergleichen, und kann durch einen Fachmann, basierend auf den hier zur Verfügung gestellten Informationen, leicht ermittelt werden.

**[0036]** „Polymer“ betrifft eine polymere Verbindung mit hohem Molekulargewicht oder ein Makromolekül, aufgebaut durch die Wiederholung kleiner, einfacher chemischer Einheiten. Ein Polymer kann ein biologisches Polymer, d. h. natürlich vorkommendes (z. B. Proteine, Kohlenhydrate, Nukleinsäuren), oder ein nichtbiologisches, synthetisch hergestelltes Polymer (z. B. Polyethylenglycole, Polyvinylpyrrolidone, Ficoll und dergleichen), wie auf dem Fachgebiet gut bekannt, sein.

## II. Die Zusammensetzung

**[0037]** Die vorliegende Erfindung gründet sich auf die Entdeckung einer Klasse von Verbindungen, Dipeptide und Tripeptide, die mindestens zwei Leucine enthalten, welche bei Einbringen in Formulierungen zur Verabreichung in die Lunge besonders gute Aerosoleigenschaften an die so erhaltenen Formulierungen vermitteln, durch die Anmelder. Außerdem haben die Anmelder überraschend entdeckt, dass diese Di- und Tripeptide wirksam sind, die Dispergierbarkeit der so erhaltenen Formulierungen, unabhängig vom in der Formulierung vorliegenden Wirkstofftyp, erheblich zu verbessern. Daher können diese Di- und Tripeptide in vielen verschiedenen Formulierungen verwendet werden, um das Aerosolverhalten der so erhaltenen Zusammensetzungen zu verbessern und in einigen Fällen aerosolisierbare Formulierungen in Situationen bereitzustellen, in denen eine aerosolisierbare Formulierung vorher unbekannt oder nicht realisierbar war. Die vorliegende Erfindung, obwohl in einigen Gesichtspunkten auf Trockenpulverformulierungen gerichtet, soll genauso flüssige Formulierungen umfassen. Die Bestandteile der erfindungsgemäßen Formulierungen werden jetzt beschrieben.

## A. Der Wirkstoff

**[0038]** Ein Wirkstoff zum Einbringen in die hierin beschriebenen Zusammensetzungen kann eine anorganische oder organische Verbindung sein, einschließlich, ohne Beschränkung, Arzneistoffe, die auf die peripheren Nerven, adrenergen Rezeptoren, cholinergen Rezeptoren, die Skelettmuskulatur, das Herz-Kreislauf-System, die glatte Muskulatur, den Blutkreislauf, die synaptischen Stellen, Neuroeffektorverbindungsstellen, das Endokrinium und Hormonsystem, das immunologische System, das Fortpflanzungssystem, das Skelettsystem, die Autakoid-Systeme, das Verdauungs- und Ausscheidungssystem, das Histamin-System und das Zentralnervensystem wirken. Geeignete Mittel können ausgewählt sein aus z. B. Hypnotika und Sedativa, Psychoenergetika, Tranquilizern, respiratorischen Arzneimitteln, krampflösenden Mitteln, Muskelrelaxanzien, Antiparkinsonmitteln (Dopamin-Antagonisten), Analgetika, Entzündungshemmern, angstlösenden Arzneimitteln (Anxiolytika), Appetitzüglern, Antimigränemitteln, Mitteln zur Muskelanspannung, Antiinfektiva (Antibiotika, Virostatika, Antimykotika, Impfstoffe), Antiarthritismitteln, Antimalariamitteln, Antiemetika, Antiepileptika, Bronchodilatoren, Zytokinen, Wachstumsfaktoren, Antikrebsmitteln, Antithrombosemitteln, Antihypertensiva, Herz-Kreislauf-Mitteln, Antiarrhythmika, Antioxidanzien, Antiasthmamitteln, hormonellen Mitteln einschließlich Kontrazeptiva, Sympathomimetika, Diuretika, lipidregulierenden Mitteln, antiandrogenen Mitteln, antiparasitären Mitteln, Antikoagulanzen, Neoplastika, Antineoplastika, Hypoglykämika, Nahrungsmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln, Wachstumspräparaten, Mitteln gegen Enteritis, Impfstoffen, Antikörpern, diagnostischen Mitteln und Kontrastmitteln. Der Wirkstoff, wenn durch Inhalation verabreicht, kann lokal oder systemisch wirken.

**[0039]** Der Wirkstoff kann in eine von einigen Strukturklassen fallen, umfassend, aber nicht beschränkt auf kleine Moleküle, Peptide, Polypeptide, Proteine, Polysaccharide, Steroide, Proteine, die zum Auslösen physiologischer Wirkungen imstande sind, Nukleotide, Oligonukleotide, Polynukleotide, Fette, Elektrolyte und dergleichen.

**[0040]** Beispiele von Wirkstoffen, die zur Verwendung in dieser Erfindung geeignet sind, schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf Calcitonin, Erythropoietin (EPO), Faktor VIII, Faktor IX, Ceredase, Cerezyme, Cyclosporin, Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor (GCSF), Thrombopoietin (TPO), alpha-1-Proteinase-Inhibitor, Elcatonin, Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierenden Faktor (GM-CSF), Wachstumshormon, menschliches Wachstumshormon (HGH), Wachstumshormon freisetzendes Hormon (GHRH), Heparin, Heparin von niedrigem Molekulargewicht (LMWH), Interferon-alpha, Interferon-beta, Interferon-gamma, Interleukin-1-Rezeptor, Interleukin-2, Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist, Interleukin-3, Interleukin-4, Interleukin-6, luteinisierendes Hormon freisetzendes Hormon (LHRH), Faktor-IX-Insulin, Proinsulin, Insulinanaloga (z. B. monoacyliertes Insulin wie in US-Patent Nr. 5,922,675 beschrieben), Amylin, C-Peptid, Somatostatin, Somatostatinanaloga, umfassend Octreotid, Vasopressin, Follikel stimulierendes Hormon (FSH), insulinähnlichen Wachstumsfaktor (IGF), Insulinotropin, Makrophagen-Kolonie-stimulierenden Faktor (M-CSF), Nervenwachstumsfaktor (NGF), Gewebewachstumsfaktoren, Keratinozyten-Wachstumsfaktor (KGF), glialen Wachstumsfaktor (GGF), Tumornekrosefaktor (TNF), Endothel-Wachstumsfaktoren, Parathormon (PTH), glucagonähnliches Peptid Thymosin-alpha-1, IIb/IIIa-Inhibitor, alpha-1-Antitrypsin, Phosphodiesteraseverbindungen (PDE), VLA-4-Inhibitoren, Bisphosphonate, RS-Virus-Antikörper, cystische Fibrose Transmembranregulator (CFTR)-Gen, Desoxyribonuklease (DNase), bakterizides/permeabilitätssteigerndes Protein (BPI), Anti-CMV-Antikörper, 13-cis-Retinolsäure; Makrolide, wie Erythromycin, Oleandomycin, Troleandomycin, Roxithromycin, Clarithromycin, Davercin, Azithromycin, Flurithromycin, Dirithromycin, Josamycin, Spiromycin, Midecamycin, Leukomycin, Miocamycin, Rokitamycin, Andazithromycin und Swinolid A; Fluorchinolone, wie Ciprofloxacin, Ofloxacin, Levofloxacin, Trovafloxacin, Alatrofloxacin, Moxifloxacin, Norfloxacin, Enoxacin, Grepafloxacin,

Gatifloxacin, Lomefloxacin, Sparfloxacin, Temafloxacin, Pefloxacin, Amifloxacin, Fleroxacin, Tosufloxacin, Prulifloxacin, Irloxacin, Pazufloxacin, Clinafloxacin und Sitafoxacin; Aminoglycoside, wie Gentamicin, Netilmicin, Paramecin, Tobramycin, Amikacin, Kanamycin, Neomycin und Streptomycin, Vancomycin, Teicoplanin, Ramoplanin, Mideplanin, Colistin, Daptomycin, Gramicidin, Colistimethat; Polymixine, wie Polymixin B, Capreomycin, Bacitracin, Penems; Penicilline, umfassend penicillinasesensitive Mittel, wie Penicillin G, Penicillin V, penicillinaseresistente Mittel, wie Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin, Floxacillin, Nafcillin; gegen gramnegative Mikroorganismen wirksame Mittel, wie Ampicillin, Amoxicillin und Hetacillin, Cillin und Galampicillin; antipseudomonale Penicilline, wie Carbenicillin, Ticarcillin, Azlocillin, Mezlocillin und Piperacillin; Cephalosporine, wie Cefpodoxim, Cefprozil, Ceftbuten, Ceftizoxim, Ceftriaxon, Cephalothin, Cephapirin, Cephalexin, Cephadrin, Cefoxitin, Cefamandol, Cefazolin, Cephaloridin, Cefaclor, Cefadroxil, Cephaloglycin, Cefuroxim, Ceforanid, Cefotaxim, Cefatrizin, Cephacetril, Cefepim, Cefixim, Cefonicid, Cefoperazon, Cefotetan, Cefmetazol, Ceftazidim, Loracarbef und Moxalactam; Monobactame, wie Aztreonam; und Carbapeneme, wie Imipenem, Meropenem; Pentamidinethiouat, Albuterolsulfat, Lidocain, Metaproterenolsulfat, Beclomethasondipropionat, Triamcinolonacetamid, Budesonid-Acetonid, Fluticason, Ipratropiumbromid, Flunisolid, Cromolyn-Natrium, Ergotamintartrat und gegebenenfalls Analoga, Agonisten, Antagonisten, Inhibitoren und pharmazeutisch verträgliche Salzformen der vorstehenden. In Bezug auf Peptide und Proteine soll die Erfindung synthetische, native, glycosylierte, unglycosylierte, pegylierte Formen und biologisch aktive Fragmente und Analoga davon umfassen.

**[0041]** Wirkstoffe zur Verwendung in dieser Erfindung schließen weiter Nukleinsäuren, als blanke Nukleinsäuremoleküle, Vektoren, assoziierte Virenteile, Plasmid-DNA oder -RNA oder andere Nukleinsäurekonstrukte eines zur Transfektion oder Transformation von Zellen geeigneten Typs, d. h. geeignet zur Antisense einschließenden Gentherapie, ein. Außerdem kann ein Wirkstoff lebende abgeschwächte oder abgetötete Viren, die zur Verwendung als Impfstoffe geeignet sind, umfassen. Andere verwendbare Arzneistoffe schließen jene innerhalb der Physician's Desk Reference (neueste Auflage) aufgeführten ein.

**[0042]** Die Wirkstoffmenge in der Formulierung wird die nötige Menge sein, um eine therapeutisch wirksame Menge des Wirkstoffs pro Einheitsdosis zu liefern, um das gewünschte Ergebnis zu erzielen. In der Praxis wird diese in Abhängigkeit von dem speziellen Stoff, seiner Wirksamkeit, der Schwere des zu behandelnden Zustands, der Patientenpopulation, dem Dosierungsbedarf und der gewünschten therapeutischen Wirkung weit variieren. Die Zusammensetzung wird im Allgemeinen irgendwo zwischen 1 Gew.-% und 99 Gew.-% Wirkstoff, typischerweise zwischen 2 Gew.-% und 95 Gew.-% Wirkstoff und ganz typisch zwischen 5 Gew.-% und 85 Gew.-% Wirkstoff, enthalten und wird außerdem von den relativen Mengen der in der Zusammensetzung enthaltenen Zusatzstoffe abhängen. Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen sind besonders für Wirkstoffe verwendbar, die in Dosen von 0,001 mg/Tag bis 100 mg/Tag, bevorzugt in Dosen von 0,01 mg/Tag bis 75 mg/Tag und stärker bevorzugt in Dosen von 0,10 mg/Tag bis 50 mg/Tag gegeben werden.

**[0043]** Es ist selbstverständlich, dass mehr als ein Wirkstoff in die hier beschriebenen Formulierungen eingebracht werden kann und dass die Verwendung des Begriffs „Wirkstoff“ die Verwendung von zwei oder mehr derartigen Wirkstoffen in keiner Weise ausschließt.

## B. Dispergierbarkeitssteigernde Peptide

**[0044]** Erfindungsgemäße Zusammensetzungen werden ein oder mehrere Di- oder Tripeptide, die mindestens zwei Leucinreste enthalten, einschließen. Wie vorstehend erörtert, stützt sich die Erfindung auf die Entdeckung der Anmelder, dass dileucylhaltige Dipeptide (z. B. Dileucin) und Tripeptide eine hervorragende Fähigkeit aufweisen, die Dispergierbarkeit von Pulverzusammensetzungen zu steigern und, wie in den Beispielen demonstriert, bei der Verbesserung des Aerosolverhaltens unerwartet besser als Leucin sind.

**[0045]** Dileucylhaltige Tripeptide zur Verwendung in der Erfindung sind Tripeptide mit der Formel X-Y-Z, wobei mindestens X und Y oder X und Z Leucylreste sind (d. h. die Leucylreste können einander benachbart sein (in 1- und 2-Stellung) oder können die Enden des Trimers bilden (Stellungen 1 und 3 besetzend)). Die übrige in dem Trimer enthaltene Aminosäure kann jede Aminosäure sein, wie im vorstehenden Abschnitt I definiert. Geeignet sind Aminosäuren, wie Glycin (Gly), Alanin (Ala), Valin (Val), Leucin (Leu), Isoleucin (Ile), Methionin (Met), Prolin (Pro), Phenylalanin (Phe), Tryptophan (Trp), Serin (Ser), Threonin (Thr), Cystein (Cys), Tyrosin (Tyr), Asparagin (Asp), Glutaminsäure (Glu), Lysin (Lys), Arginin (Arg), Histidin (His), Norleucin (Nor), und modifizierte Formen davon. Bevorzugt, für dileucylhaltige Trimere, ist die dritte Aminosäurekomponente des Trimers eine der folgenden: Leucin (Leu), Valin (Val), Isoleucin (Ile), Tryptophan (Trp), Alanin (Ala), Methionin (Met), Phenylalanin (Phe), Tyrosin (Tyr), Histidin (His) und Prolin (Pro). Exemplarische Trimere zur Verwendung in der Erfindung schließen ein, aber sind nicht beschränkt auf die folgenden: Leu-Leu-Gly, Leu-Leu-Ala,

Leu-Leu-Val, Leu-Leu-Leu, Leu-Leu-Ile, Leu-Leu-Met, Leu-Leu-Pro, Leu-Leu-Phe, Leu-Leu-Trp, Leu-Leu-Ser, Leu-Leu-Thr, Leu-Leu-Cys, Leu-Leu-Tyr, Leu-Leu-Asp, Leu-Leu-Glu, Leu-Leu-Lys, Leu-Leu-Arg, Leu-Leu-His, Leu-Leu-Nor, Leu-Gly-Leu, Leu-Ala-Leu, Leu-Val-Leu, Leu-Ile-Leu, Leu-Met-Leu, Leu-Pro-Leu, Leu-Phe-Leu, Leu-Trp-Leu, Leu-Ser-Leu, Leu-Thr-Leu, Leu-Cys-Leu, Leu-Try-Leu, Leu-Asp-Leu, Leu-Glu-Leu, Leu-Lys-Leu, Leu-Arg-Leu, Leu-His-Leu und Leu-Nor-Leu. Besonders bevorzugte Peptide sind Dileucin und Trileucin.

**[0046]** Obwohl wegen ihrer begrenzten Löslichkeit in Wasser weniger bevorzugt, sind weitere dispergierbarkeitssteigernde Peptide zur Verwendung in der Erfindung 4-Mere und 5-Mere, die mindestens zwei Leucinreste enthalten. Die Leucinreste können jede Position innerhalb des Peptids besetzen und die restlichen Aminosäurepositionen (d. h. Nichtleucylaminosäurepositionen) sind durch eine Aminosäure, wie vorstehend beschrieben, besetzt, mit der Maßgabe, dass das so erhaltene 4-Mer oder 5-Mer eine Löslichkeit in Wasser von mindestens 1 mg/ml besitzt. Vorzugsweise sind die Nichtleucylaminosäuren in einem 4-Mer oder 5-Mer hydrophile Aminosäuren, wie Lysin, um dadurch die Löslichkeit des Peptids in Wasser zu erhöhen.

**[0047]** Außerdem bevorzugt sind Di- und Tripeptide mit einer Glasübergangstemperatur größer als etwa 40 °C.

**[0048]** Bevorzugte Di- und Tripeptide zur Verwendung in der Erfindung sind jene Peptide, die oberflächenaktiv sind. Wie aus den Oberflächenspannungsdaten in Beispiel 1 ersehen werden kann, sind Dileucin und Trileucin äußerst wirksam, selbst wenn in geringen Konzentrationen vorliegend, bei der erheblichen Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser. Außerdem kann beim Überprüfen der Ergebnisse der Oberflächenspannung in Tabelle 5 (extrapolierte Werte) erkannt werden, dass Dipeptide und Tripeptide, die mindestens zwei Leucine enthalten, eine größere Oberflächenaktivität als Dipeptide und Tripeptide, die aus weniger als zwei Leucylresten bestehen, aufweisen. Wegen ihrer stark oberflächenaktiven Beschaffenheit neigen die erfindungsgemäßen Di- und Tripeptide, wenn in Trockenpulverzusammensetzungen enthalten, dazu, sich an der Oberfläche der Pulverteilchen zu konzentrieren, wodurch den so erhaltenen Teilchen hohe Dispersivitäten verliehen werden. Dieses Merkmal der Pulver, d. h. eine mit dem Di- oder Tripeptid angereicherte Oberfläche, wird durch die in Beispiel 9 bereitgestellten ESCA-Daten veranschaulicht.

**[0049]** Überraschend war der Zusatz des repräsentativen Tripeptids, Trileucin, zu einer Calcitoninformulierung wirksam, den ED-Wert des so erhaltenen Pulvers (Beispiel 4) fast zu verdoppeln (Beispiel 4). Dieses Ergebnis ist überraschend, weil Calcitonin selbst ein oberflächenaktives Protein ist. Deshalb wurde nicht erwartet, dass das Einbringen eines anderen oberflächenaktiven Stoffes, wie Trileucin, die Dispersivität der Zusammensetzung wesentlich verbessert. Die Ergebnisse zeigten im Gegensatz zu dieser Erwartung, dass die Oberflächenaktivität allein nicht ausreichend ist, um die Dispergierbarkeit wesentlich zu steigern, und demonstrierten außerdem die außergewöhnlichen und vorteilhaften Eigenschaften der erfindungsgemäßen leucylhaltigen Peptide, insbesondere bei der Verbesserung des Aerosolverhaltens.

**[0050]** Im Allgemeinen werden die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen 1 Gew.-% bis 99 Gew.-% Di- oder Tripeptid, bevorzugt 2 Gew.-% bis 75 Gew.-% Di- oder Tripeptid und noch stärker bevorzugt 5 Gew.-% bis 50 Gew.-% Di- oder Tripeptid enthalten. Typischerweise wird die Menge an Di- oder Tripeptid experimentell bestimmt, d. h. durch Herstellen von Zusammensetzungen, die unterschiedliche Mengen an Di- oder Tripeptid enthalten (von gering bis groß reichend), Untersuchen der Dispergierbarkeiten der so erhaltenen Zusammensetzungen, wie hier beschrieben, und weiterhin Herausfinden des Bereichs, in welchem das optimale Aerosolverhalten erreicht wird. Derartige Verfahren wurden in einigen Beispielen verwendet (Beispiel 3, Beispiel 4, Beispiel 5, Beispiel 6). Im Allgemeinen scheint für trileucinhaltige Trockenpulverformulierungen eine optimale Trileucinmenge ungefähr 22–25 Gew.-% zu sein.

### C. Zusätzliche Träger und Exzipienten

**[0051]** Neben dem Wirkstoff und dem Di- oder Tripeptid können die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen gegebenenfalls einen oder mehrere pharmazeutische Exzipienten, welche zur pulmonalen Verabreichung geeignet sind, enthalten. Diese Exzipienten, wenn vorhanden, liegen im Allgemeinen in der Zusammensetzung in Mengen vor, die von etwa 0,01 Gew.-% bis 95 Gew.-%, bevorzugt von 0,5 bis 80 Gew.-% und stärker bevorzugt von etwa 1 bis 60 Gew.-% reichen. Vorzugsweise werden derartige Exzipienten zum Teil dazu dienen, die Merkmale der Wirkstoffzusammensetzung weiter zu verbessern, z. B. durch Bereitstellen einer wirksameren und reproduzierbaren Verabreichung des Wirkstoffs, Verbessern der Verarbeitungseigenschaften der Pulver (z. B. Fließfähigkeit und Konsistenz) und/oder Erleichtern der Herstellung und des Abfüllens von Einheitsdosierungsformen. Insbesondere können Exzipientenstoffe oft dazu dienen, die physikalische und chemische Stabilität des Wirkstoffs weiter zu verbessern, den Restfeuchtigkeitsgehalt herabzusetzen und Feuchtigkeits-

aufnahme zu verhindern und Teilchengröße, Aggregationsgrad, Teilchenoberflächeneigenschaften (d. h. Rundheit), Einfachheit der Inhalation und das gezielte Einbringen der Teilchen in die Lunge zu verbessern. Der/die Exzipient(en) kann/können auch einfach als Füllstoffe dienen, falls es gewünscht ist die Wirkstoffkonzentration in der Formulierung herabzusetzen.

**[0052]** In der vorliegenden Erfindung verwendbare pharmazeutische Exzipienten und Zusatzstoffe schließen ein, aber sind nicht beschränkt auf Aminosäuren, Peptide, Proteine, nichtbiologische Polymere, biologische Polymere, Kohlenhydrate (z. B. Zucker, derivatisierte Zucker, wie Alditole, Aldonsäuren, veresterte Zucker und Zuckerpolymeren), welche allein oder in Kombination vorliegen können. Geeignete Exzipienten sind jene in der Internationalen Veröffentlichung Nr. WO 96/32096 von Inhale Therapeutic Systems zur Verfügung gestellten. Außerdem bevorzugt sind Exzipienten mit Glasübergangstemperaturen ( $T_g$ ) über  $35\text{ }^\circ\text{C}$ , bevorzugt über  $40\text{ }^\circ\text{C}$ , stärker bevorzugt über  $45\text{ }^\circ\text{C}$ , am meisten bevorzugt über  $55\text{ }^\circ\text{C}$ .

**[0053]** Exemplarische Proteinexzipienten schließen Albumine, wie humanes Serumalbumin (HSA), rekombinantes humanes Albumin (rHA), Gelatine, Casein, Hämoglobin und dergleichen ein. Geeignete Aminosäuren (außer den erfindungsgemäßen Dileucylpeptiden), die auch bei einer Pufferkapazität wirken können, schließen Alanin, Glycin, Arginin, Betain, Histidin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Cystein, Lysin, Leucin, Isoleucin, Valin, Methionin, Phenylalanin, Aspartam, Tyrosin, Tryptophan und dergleichen ein. Bevorzugt sind Aminosäuren und Polypeptide, die als Dispergiermittel dienen. In diese Kategorie fallende Aminosäuren schließen hydrophobe Aminosäuren, wie Leucin, Valin, Isoleucin, Tryptophan, Alanin, Methionin, Phenylalanin, Tyrosin, Histidin und Prolin, ein. Dispergierbarkeitssteigernde Peptidexzipienten schließen Dimere, Trimere, Tetramere und Pentamere ein, die ein oder mehrere hydrophobe Aminosäurekomponenten, wie die vorstehend beschriebenen, umfassen.

**[0054]** Zur Verwendung in der Erfindung geeignete Kohlenhydratexzipienten schließen z. B. Monosaccharide, wie Fructose, Maltose, Galactose, Glucose, D-Mannose, Sorbose und dergleichen; Disaccharide, wie Lactose, Saccharose, Trehalose, Cellobiose und dergleichen; Polysaccharide, wie Raffinose, Melezitose, Maltodextrine, Dextrane, Stärken und dergleichen; und Alditole, wie Mannitol, Xylitol, Maltitol, Lactitol, Sorbitol (Glucitol), Pyranosylsorbitol, Myoinositol und dergleichen ein.

**[0055]** Die Zusammensetzungen können auch einen Puffer oder ein Mittel zur pH-Wert-Einstellung enthalten, typischerweise ein aus einer organischen Säure oder Base hergestelltes Salz. Repräsentative Puffer schließen Salze organischer Säuren von Citronensäure, Ascorbinsäure, Gluconsäure, Kohlensäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure oder Phthalsäure, Tris, Tromethamin-Hydrochlorid oder Phosphatpuffer ein.

**[0056]** Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können außerdem polymere Exzipienten/Zusatzstoffe, z. B. Polyvinylpyrrolidone, derivatisierte Cellulosen, wie Hydroxymethylcellulose, Hydroxyethylcellulose und Hydroxypropylmethylcellulose, Ficoll (ein polymerer Zucker), Hydroxyethylstärke, Dextrate (z. B. Cyclodextrine, wie 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin und Sulfobutylether- $\beta$ -cyclodextrin), Polyethylenglycole und Pectin, einschließen.

**[0057]** Die Zusammensetzungen können weiter Aromastoffe, geschmacksmaskierende Mittel, anorganische Salze (z. B. Natriumchlorid), antimikrobielle Mittel (z. B. Benzalkoniumchlorid), Süßungsmittel, Antioxidanzien, Antistatika, oberflächenaktive Mittel (z. B. Polysorbate, wie „TWEEN 20“ und „TWEEN 80“), Sorbitanester, Lipide (z. B. Phospholipide, wie Lecithin und andere Phosphatidylcholine, Phosphatidylethanolamine), Fettsäuren und Fettsäureester, Steroide (z. B. Cholesterin) und Chelatbildner (z. B. EDTA, Zink und andere geeignete Kationen) enthalten. Andere zur Verwendung in den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen geeignete pharmazeutische Exzipienten und/oder Zusatzstoffe sind in „Remington: The Science & Practice of Pharmacy“, 19. Auflage, Williams & Williams (1995) und in „Physician's Desk Reference“, 52. Auflage, Medical Economics, Montvale, New Jersey (1998) aufgeführt.

### III. Formulierungstypen

**[0058]** Die hier beschriebenen Zusammensetzungen können in Pulverform vorliegen oder können fließfähige Flüssigkeiten sein. Flüssige Formulierungen sind bevorzugt Lösungen, in welchen der Wirkstoff in einem Lösungsmittel (z. B. Wasser, Ethanol, Ethanol-Wasser, Kochsalzlösung) gelöst ist, und weniger bevorzugt sind kolloidale Suspensionen. Die flüssige Formulierung kann auch eine Lösung oder Suspension des Wirkstoffs in einem Treibmittel mit niedrigem Siedepunkt sein.

**[0059]** Flüssige Formulierungen, die die offenbarten dileucylhaltigen Peptide enthalten, sind ebenfalls leicht

dispergierbar und weisen hohe ED-Werte auf.

#### IV. Herstellung der Trockenpulver

**[0060]** Die Trockenpulverformulierungen werden vorzugsweise durch Sprühtrocknung hergestellt. Sprühtrocknung der Formulierungen wird beispielsweise durchgeführt, wie allgemein beschrieben in „Spray Drying Handbook“, 5. Auflage, K. Masters, John Wiley & Sons, Inc, New Jersey (1991) und in R. Platz et al., Internationale Offenlegungsschrift Nr. WO 97/41833 (1997).

**[0061]** Wirkstoffe mit einer Löslichkeit in Wasser von mindestens 0,10 mg/ml (z. B. Peptide, Proteine, Nukleotide und dergleichen) können aus einer wässrigen Lösung sprühgetrocknet werden. Unter Verwendung dieser Vorgehensweise wird der Wirkstoff zuerst in Wasser, das gegebenenfalls einen physiologisch verträglichen Puffer enthält, gelöst. Der pH-Bereich der wirkstoffhaltigen Lösungen liegt im Allgemeinen zwischen etwa 4 und 11, wobei pH-Werte näher am Neutralpunkt bevorzugt sind, da derartige pH-Werte zur Aufrechterhaltung der physiologischen Verträglichkeit des Pulvers nach Auflösung des Pulvers innerhalb der Lunge beitragen können. Die wässrige Formulierung kann gegebenenfalls zusätzliche wassermischbare Lösungsmittel, wie Aceton, Alkohole und dergleichen, enthalten. Repräsentative Alkohole sind niedere Alkohole, wie Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol und dergleichen. Die vorsprühgetrockneten Lösungen werden im Allgemeinen Feststoffe, gelöst in einer Konzentration von 0,01 % (Gewicht/Volumen) bis etwa 20 % (Gewicht/Volumen), gewöhnlich von 0,1 % bis 3 % (Gewicht/Volumen), enthalten.

**[0062]** Die Lösungen werden dann in einem herkömmlichen Sprühtrockner, wie jenen von kommerziellen Anbietern, wie Niro A/S (Dänemark), Büchi (Schweiz) und dergleichen, erhältlich, sprühgetrocknet, was zu einem dispergierbaren Trockenpulver führt. Die optimalen Bedingungen zur Sprühtrocknung der Lösungen werden in Abhängigkeit von den Formulierungsbestandteilen variieren und werden im Allgemeinen experimentell ermittelt. Das zum Sprühtrocknen des Stoffs verwendete Gas ist typischerweise Luft, obwohl Inertgase, wie Stickstoff oder Argon, ebenfalls geeignet sind. Außerdem ist die Temperatur sowohl des Einlasses als auch des Auslasses des Gases, das zum Trocknen des gesprühten Stoffs verwendet wird, so, dass sie keine Zersetzung des Wirkstoffs in dem gesprühten Stoff hervorruft. Derartige Temperaturen werden typischerweise experimentell bestimmt, obwohl im Allgemeinen die Einlasstemperatur zwischen 50 °C und 200 °C liegen wird, während sich die Auslasstemperatur zwischen 30 °C und 150 °C bewegen wird.

**[0063]** Variationen des Vorstehenden werden für Sprühtrocknungsformulierungen, bei denen der Wirkstoff ein hydrophober Arzneistoff ist, verwendet. Ein derartiges Verfahren ist in M. S. Gordon, J. D. Lord, US-Patent Nr. 5,985,248, erteilt an Inhale Therapeutic Systems, beschrieben. In diesem Verfahren wird ein hydrophober Arzneistoff in einem organischen Lösungsmittel- oder Co-Lösungsmittelsystem gelöst, und die hydrophilen Bestandteile (z. B. die leucylhaltigen Peptide und optionalen anderen Exzipienten) werden zumindest teilweise in demselben organischen Lösungsmittel- oder Co-Lösungsmittelsystem gelöst. Die so erhaltene Lösung wird anschließend sprühgetrocknet, um Teilchen zu erzeugen. Typischerweise wird die Löslichkeit des Wirkstoffs und des hydrophilen Bestandteils die Auswahl des organischen Lösungsmittelsystems bestimmen. Das organische Lösungsmittel wird ausgewählt, um für eine Löslichkeit des hydrophilen Bestandteils von mindestens 1 mg/ml und bevorzugt mindestens 5 mg/ml und eine Löslichkeit des hydrophoben Arzneistoffs von mindestens 0,01 mg/ml, bevorzugt mindestens 0,05 mg/ml zu sorgen.

**[0064]** In einer anderen Ausführungsform kann die Zusammensetzung durch Sprühtrocknung einer Suspension hergestellt werden, wie beschrieben in M. S. Gordon, US-Patent Nr. 5,976,574 erteilt an Inhale Therapeutic Systems. In diesem Verfahren wird der hydrophobe Arzneistoff in einem organischen Lösungsmittel, z. B. Methanol, Ethanol, Isopropanol, Aceton, Heptan, Hexan, Chloroform, Ether, gelöst, gefolgt vom Suspendieren des hydrophilen Exzipienten in dem organischen Lösungsmittel, um eine Suspension zu bilden. Die Suspension wird dann sprühgetrocknet, um Teilchen zu erzeugen. Bevorzugte Lösungsmittel für beide vorstehende Sprühtrocknungsverfahren schließen Alkohole, Ether, Ketone, Kohlenwasserstoffe, polare aprotische Lösungsmittel und Gemische davon ein.

**[0065]** Die erfindungsgemäßen Trockenpulver können auch durch Kombinieren wässriger Lösungen oder Suspensionen der Formulierungsbestandteile und deren gleichzeitiges Sprühtrocknen in einem Sprühtrockner hergestellt werden, wie beschrieben in M. Gordon, US-Patent Nr. 6,001,336, erteilt an Inhale Therapeutic Systems. In einer anderen Ausführungsform können die Trockenpulver durch Bereiten einer wässrigen Lösung eines hydrophilen Exzipienten oder Zusatzstoffes, Bereiten einer organischen Lösung eines hydrophoben Arzneistoffs und gleichzeitiges Sprühtrocknen der wässrigen Lösung und der organischen Lösung durch eine Düse, z. B. eine koaxiale Düse, um ein Trockenpulver zu erzeugen, hergestellt werden, wie beschrieben in M.

Gordon et al., Internationale Veröffentlichung Nr. WO 98/29096.

**[0066]** In einer anderen Ausführungsform können die Pulver durch Gefriertrocknung, Vakuumtrocknung, Sprühgefriertrocknung, Behandlung mit superkritischen Fluiden, Lufttrocknung oder andere Formen der Verdunstungstrocknung hergestellt werden. In einigen Fällen kann es wünschenswert sein, die Trockenpulverformulierung in einer Form zur Verfügung zu stellen, die verbesserte Gebrauchs-/Verarbeitungseigenschaften besitzt, z. B. verminderte elektrostatische Aufladung, bessere Fließfähigkeit, geringes Zusammenbacken und dergleichen, durch Herstellung von Zusammensetzungen, bestehend aus Feinteilchenaggregaten, d. h. Aggregaten oder Agglomeraten der vorstehend beschriebenen Trockenpulverteilchen, wobei die Aggregate leicht zurück in die Feinpulverbestandteile zur pulmonalen Verabreichung aufgespalten werden, wie beschrieben z. B. in K. Johnson et al., US-Patent Nr. 5,654,007, 1997.

**[0067]** Bei einer anderen Vorgehensweise können die Trockenpulver durch Agglomerieren der Pulverbestandteile, Sieben der Stoffe zum Erhalt von Agglomeraten, Sphäronisieren zum Bereitstellen eines kugelförmigeren Agglomerats und Klassieren zum Erhalt eines einheitlich großen Produkts hergestellt werden, wie beschrieben z. B. in C. Ahlneck et al., PCT-Veröffentlichung Nr. WO 95/09616, 1995.

**[0068]** Trockenpulver können auch durch Mischen, Mahlen, Sieben oder Strahlmahlen der Formulierungsbestandteile in Trockenpulverform hergestellt werden.

**[0069]** Nach ihrer Bildung werden die Trockenpulverzusammensetzungen bevorzugt unter trockenen Bedingungen (d. h. relativ geringer Feuchtigkeit) während Herstellung, Verarbeitung und Lagerung gehalten. Unabhängig von dem verwendeten Trockenverfahren wird das Verfahren vorzugsweise zu lungengängigen, leicht dispergierbaren Teilchen, die einen Wirkstoff und ein dileucylhaltiges Dimer oder Trimer umfassen, führen.

#### V. Merkmale der Trockenpulverformulierungen

**[0070]** Die erfindungsgemäßen Pulver sind weiter durch mehrere Merkmale gekennzeichnet, insbesondere (i) beständig hohe Dispersivitäten, welche selbst bei Lagerung aufrechterhalten werden (Beispiel 8), (ii) kleine aerodynamische Teilchengrößen (MMADs), (iii) verbesserte Feinpartikeldosiswerte, d. h. Pulver mit einem höheren prozentualen Anteil an Teilchen, die eine Größe von weniger als 3,3 µm MMAD aufweisen, wobei alle zu dem verbesserten Vermögen des Pulvers, in die Gewebe der tieferen Atemwege (d. h. die Lungenbläschen) entweder bei lokalisierter oder systemischer Behandlung vorzudringen, beitragen. Diese physikalischen Eigenschaften der dileucylpeptidhaltigen Trockenpulver, die nachstehend ausführlicher zu beschreiben sind, sind wichtig bei der Maximierung des Wirkungsgrades der aerosolisierten Verabreichung derartiger Pulver in die tiefe Lunge.

**[0071]** Die erfindungsgemäßen Trockenpulver bestehen aus aerosolisierbaren Teilchen die wirksam sind, in die Lungen vorzudringen. Die erfindungsgemäßen Teilchen besitzen einen Massenmedian des Durchmessers (MMD) von weniger als 10 µm, bevorzugt weniger als 7,5 µm und am meisten bevorzugt weniger als 4 µm, und liegen gewöhnlich im Bereich von 0,1 µm bis 5 µm im Durchmesser. Bevorzugte Pulver bestehen aus Teilchen mit einem MMD von 0,2 bis 4,0 µm. In einigen Fällen wird das Pulver auch nicht lungengängige Trägerteilchen, wie Lactose, enthalten, wobei die nicht lungengängigen Teilchen typischerweise größer als etwa 40 µm in der Größe sind.

**[0072]** Die erfindungsgemäßen Pulver sind weiter gekennzeichnet durch eine Aerosolteilchengrößenverteilung von weniger als 10 µm für den Massenmedian des aerodynamischen Durchmessers (MMAD) und bevorzugt weniger als 4,0 µm. Die Massenmediane des aerodynamischen Durchmessers der Pulver werden charakteristisch von 0,1 bis 10 µm, bevorzugt von 0,2 bis 5,0 µm MMAD, stärker bevorzugt von 1,0 bis 4,0 µm MMAD und noch stärker bevorzugt von 1,5 bis 3,5 µm reichen. Veranschaulichende MMAD-Werte für exemplarische dileucylpeptidhaltige Pulverzusammensetzungen werden in den Beispielen 2, 3, 4, 5 und 6 zur Verfügung gestellt. Mehrere dieser Beispiele demonstrieren eine Verbesserung der Aerosolteilchengrößenverteilung, erzielt nach Einbringen eines Dileucyldipeptids oder -tripeptids in die Formulierung.

**[0073]** Die erfindungsgemäßen Pulver können weiter durch ihre Dichten charakterisiert werden. Das Pulver wird im Allgemeinen eine Schüttdichte von 0,1 bis 10 g/cm<sup>3</sup>, bevorzugt von 0,1 bis 2 g/cm<sup>3</sup> und stärker bevorzugt von 0,15 bis 1,5 g/cm<sup>3</sup> besitzen.

**[0074]** Die Pulver werden im Allgemeinen einen Feuchtigkeitsgehalt unter 20 Gew.-%, gewöhnlich unter 10 Gew.-% und bevorzugt unter 6 Gew.-% haben. Derartige Feststoffe mit niedrigem Feuchtigkeitsgehalt neigen

dazu, eine größere Stabilität beim Verpacken und Lagern zu zeigen.

**[0075]** Eines der auffallendsten Merkmale der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen ist ihre Dispergierbarkeit, wie durch den ED-Wert angegeben. Das Vorhandensein des Dileucylpeptids in den Formulierungen ist wirksam, Formulierungen mit erheblich verbesserten Dispergierbarkeiten zur Verfügung zu stellen. Im Allgemeinen ist die freigesetzte Dosis (ED) dieser Pulver größer als 30 % und gewöhnlich größer als 40 %. Stärker bevorzugt ist der ED-Wert der erfindungsgemäßen Pulver größer als 50 % und ist oft größer als 55 %. Tatsächlich besitzen, beim Betrachten der Beispiele, die dileucylpeptidhaltigen Pulver typischerweise optimierte ED-Werte bis zu 80 % oder darüber. Außerdem veranschaulichen die Beispiele weiter, dass das Einbringen eines Dileucyldipeptids oder -tripeptids in viele Wirkstoffformulierungen in allen Fällen wirksam war, den ED-Wert der so erhaltenen Zusammensetzungen zu erhöhen und, in einigen Fällen, ihren Wert sogar zu verdoppeln. Zudem wurde diese Wirkung sowohl für Proteinpulver als auch für Pulver aus kleinemolekularen Wirkstoffen beobachtet.

**[0076]** Ein weiteres Maß zur Charakterisierung des gesamten Aerosolverhaltens eines Trockenpulvers ist die Feinpartikeldosis (FPD), welche den prozentualen Anteil des Pulvers mit einem aerodynamischen Durchmesser weniger als 3,3 µm beschreibt. Die erfindungsgemäßen Pulver sind besonders gut zur pulmonalen Verabreichung geeignet und besitzen von 35 % bis 85 % reichende FPD-Werte. Derartige Pulver enthalten mindestens 35 % Aerosolteilchengrößen unter 3,3 µm bis 0,5 µm und sind daher beim Verabreichen in aerosolisierte Form äußerst wirksam, die Lungenregionen, einschließlich der Lungenbläschen, zu erreichen.

**[0077]** Die hierin beschriebenen Zusammensetzungen besitzen außerdem gute Stabilität sowohl in Bezug auf chemische Stabilität als auch physikalische Stabilität, d. h. Aerosolverhalten im Zeitablauf (Beispiel 8). Im Allgemeinen, in Bezug auf chemische Stabilität, wird sich der in der Formulierung enthaltene Wirkstoff um nicht mehr als 10 % über einen Zeitraum von 3 Monaten, bevorzugt nicht mehr als 7 % und stärker bevorzugt nicht mehr als 5 %, bei Lagerung der Zusammensetzung unter Umgebungsbedingungen abbauen. Wie durch die exemplarische PTH-Formulierung in Beispiel 8 veranschaulicht, führte Lagerung unter beschleunigten Stabilitätsbedingungen (40 °C, Umgebungsfeuchtigkeit) über einen Zeitraum von 3 Monaten (12 Wochen) zum Abbau von nur 2,3 % Protein (von einem Ausgangswert von 97,1 % Reinheit auf 94,8 % Reinheit). Da beschleunigte Temperaturen eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit zur Folge haben, kann man folgern, dass Lagerung der gleichen Zusammensetzung unter Umgebungsbedingungen eine Abbaurate von weniger als 2,3 % ergeben würde, was weiter auf die chemische Stabilität der vorliegenden Zusammensetzungen hinweist.

**[0078]** In Bezug auf das Aerosolverhalten sind die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen im Allgemeinen durch einen Abfall der freigesetzten Dosis von nicht mehr als etwa 20 %, bevorzugt nicht mehr als 15 % und stärker bevorzugt um nicht mehr als 10 %, bei Lagerung unter Umgebungsbedingungen über einen Zeitraum von 3 Monaten gekennzeichnet. Beim Betrachten der Ergebnisse in Beispiel 8 zeigte eine exemplarische PTH-Trileucin-Formulierung im Wesentlichen keine Veränderung und insbesondere keine Beeinträchtigung der Aerosoleigenschaften (MMAD, FPD, ED) bei Lagerung unter beschleunigten Stabilitätsbedingungen (40 °C, Umgebungsfeuchtigkeit).

**[0079]** Ein anderes bevorzugtes Merkmal der erfindungsgemäßen Teilchenzusammensetzungen ist eine Anreicherung des Dileucyldipeptids oder -tripeptids an der Oberfläche der Teilchen, wie durch die Ergebnisse in Beispiel 9 gezeigt.

**[0080]** Die für die dileucyldipeptid- und dileucyltripeptidhaltige Zusammensetzung entdeckte Verbesserung der Aerosoleigenschaften (d. h. stark gesteigerte Dispergierbarkeiten, herabgesetzte Feinpartikeldosiswerte, kleinere aerodynamische Durchmesser) können einige miteinander in Zusammenhang stehende Vorteile zur Folge haben, wie (i) Verringerung von teuren Arzneistoffverlusten beim Inhalationsgerät, da mehr Pulver aerosolisiert wird und deshalb verfügbar für die Inhalation durch einen Patienten ist, (ii) Herabsetzung der pro Einheitsdosis benötigten Trockenpulvermenge, wegen des höheren Wirkungsgrades der Aerosolisierung des Pulvers, (iii) Verringerung der Anzahl der Inhalationen pro Tag durch Erhöhung der Menge an aerosolisiertem Arzneistoff, die die Lungen eines Patienten erreicht.

## VI. Verabreichung der Zusammensetzung

**[0081]** Die hier beschriebenen Formulierungen können unter Verwendung jedes geeigneten Trockenpulverinhalators (DPI), d. h. eines Inhalationsgerätes, das den inhalierten Atem des Patienten als Träger zum Überführen des Trockenpulverarzneimittels in die Lungen verwendet, verabreicht werden. Bevorzugt sind Trockenpulverinhalationsgeräte von Inhale Therapeutic Systems, wie beschrieben in J. S. Patton et al., US-Patent Nr.

5,458,135 (1995), A. E. Smith et al., US-Patent Nr. 5,740,794 (1998) und in A. E. Smith et al., US-Patent Nr. 5,785,049 (1998).

**[0082]** Wenn unter Verwendung eines Gerätes dieses Typs verabreicht, ist das Pulver in einem Behälter mit einem durchstechbaren Deckel oder einer anderen Zugriffsfläche, bevorzugt einer Blisterpackung oder Patrone, enthalten, wobei der Behälter eine einheitsdosierte Form oder mehrfachdosierte Formen enthalten kann. Günstige Verfahren zum Füllen einer großen Anzahl von Hohlräumen (d. h. Einheitsdosispackungen) mit abgemessenen Dosierungen des Trockenpulverarzneimittels sind z. B. beschrieben in D. J. Parks et al., WO 97/41031 (1997).

**[0083]** Ebenfalls geeignet zur Verabreichung der hierin beschriebenen Pulver sind Trockenpulverinhalatoren des beispielsweise in S. Coccozza et al., US-Patent Nr. 3,906,950 (1974) und in S. Coccozza et al., US-Patent Nr. 4,013,075 (1997) beschriebenen Typs, wobei eine vorabgemessene Dosis eines Trockenpulvers zur Verabreichung an einen Patienten innerhalb einer Hartgelatine kapsel enthalten ist.

**[0084]** Andere Trockenpulverdispensiergeräte zur pulmonalen Verabreichung von Trockenpulvern schließen jene ein, die beschrieben sind z. B. in R. E. Newell et al., Europäisches Patent Nr. EP 129985 (1988); in P. D. Hodson et al., Europäisches Patent Nr. EP 472598 (1996); in S. Coccozza et al., Europäisches Patent Nr. EP 467172 (1994) und in L. J. Lloyd et al., US-Patent Nr. 5,522,385 (1996). Ebenfalls geeignet zur Verabreichung der erfindungsgemäßen Trockenpulver sind Inhalationsgeräte wie der „TURBUHALER“ von Astra Draco. Dieser Gerätetyp ist detailliert beschrieben in R. Virtanen, US-Patent Nr. 4,668,281 (1987); in K. Wetterlin et al., US-Patent Nr. 4,667,668 (1987) und in K. Wetterlin et al., US-Patent Nr. 4,805,811 (1989). Andere geeignete Geräte schließen Trockenpulverinhalatoren, wie Rotahaler® (Glaxo), Discus® (Glaxo), Spiros™ Inhaler (Dura Pharmaceuticals) und Spinhaler® (Fisons), ein. Außerdem geeignet sind Geräte, welche die Verwendung eines Kolbens einsetzen, um Luft entweder zum Mitführen des Arzneimittelpulvers, zum Abheben des Arzneimittels von einem Trägersieb durch Hindurchströmen von Luft durch das Sieb oder zum Mischen von Luft mit dem Arzneimittelpulver in einer Mischkammer mit nachfolgendem Einbringen des Pulvers in den Patienten durch das Mundstück des Gerätes bereitzustellen, wie beschrieben in P. Mulhauser et al., US-Patent Nr. 5,388,572 (1997).

**[0085]** Trockenpulver können auch unter Verwendung eines unter Druck gesetzten Dosierinhalators (Metered Dose Inhaler, MDI), z. B. des Metered Dose Inhalers Ventolin®, der eine Lösung oder Suspension des Arzneistoffs in einem pharmazeutisch inerten, flüssigen Treibmittel, z. B. einem Chlorfluorkohlenwasserstoff oder Fluorkohlenwasserstoff enthält, verabreicht werden, wie beschrieben in Laube et al., US-Patent Nr. 5,320,094 (1994) und in R. M. Rubsamen et al., US-Patent Nr. 5,672,581 (1994). In einer anderen Ausführungsform können die hier beschriebenen Pulver in einem Lösungsmittel, z. B. Wasser, Ethanol oder Kochsalzlösung, gelöst oder suspendiert und durch Vernebelung verabreicht werden. Vernebler zur Verabreichung einer aerosolisierten Lösung schließen den AERx™ (Aradigm), den Ultravent® (Mallinkrodt) und den Acorn II® (Marquest Medical Products) ein.

**[0086]** Vor der Verwendung werden die Trockenpulver im Allgemeinen unter Umgebungsbedingungen und bevorzugt bei Temperaturen bei oder unter 25 °C und von 30 bis 60 % reichenden relativen Feuchtigkeiten (RH) gelagert. Stärker bevorzugte Bedingungen der relativen Feuchtigkeit, z. B. weniger als 30 %, können durch das Einbringen eines Trockenmittels in die Sekundärverpackung der Dosierungsform erreicht werden.

## VII. Nutzen

**[0087]** Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen sind nützlich, wenn sie pulmonal in einer therapeutisch wirksamen Menge an einen Säugerpatienten verabreicht werden, zur Behandlung oder Vorbeugung jedes Zustandes, der auf die Verabreichung eines Wirkstoffes reagiert, wie im vorstehenden Abschnitt II. A beschrieben.

**[0088]** Die folgenden Beispiele veranschaulichen die vorliegende Erfindung, und sind nicht als Beschränkung des Umfangs der Erfindung aufzufassen. Varianten und Äquivalente dieses Beispiels werden den Fachleuten angesichts der vorliegenden Offenbarung, der Abbildungen und der Ansprüche hierin offensichtlich werden.

## Beispiele

## Stoffe und Verfahren

## A. Stoffe

Ciprofloxacinhydrochlorid (Neuland Laboratories, Indien)  
 Gentamicinsulfat (H & A (Canada) Industrial)  
 Netilmicinsulfat (Scientific Instruments and Technology)  
 L-Leucin (Aldrich, St. Louis, Missouri)  
 Salzsäure (JT Baker, Phillipsburg, New Jersey)  
 Natriumhydroxid 0,1 N Volumetrische Lösung (JT Baker, Phillipsburg, New Jersey)  
 Ethanol, 200 proof (Ethanol, absolut) (USP/NF, Spectrum Chemical Mfg. Corp., New Brunswick, New Jersey)  
 Methanol (HPLC-grade, EM Industries, Gibbstown, New Jersey)  
 Lachscaltonin (Bachem California Inc., USA, Torrance, California)  
 Trileucin (Bachem California Inc., USA, Torrance, California).

**[0089]** Andere in Oberflächenspannungsversuchen verwendete Aminosäuren wurden von Sigma, St. Louis, Missouri bezogen.

## B. Verfahren

## Teilchengrößenmessungen (Horiba)

**[0090]** Die Massenmediane des Durchmessers (MMD) der Pulver wurden unter Verwendung eines Partikelgrößenanalysators Horiba CAPA-700 (Horiba Instruments Inc., Irvine, California) gemessen. Die Messungen basierten auf der Zentrifugalsedimentation der dispergierten Teilchen in Suspensionsmedium. Der Massenmedian des Durchmessers, welcher auf dem Stokesschen Durchmesser des Teilchens beruht, wurde unter Verwendung der Teilchendichte und der Dichte und Viskosität des Suspensionsmediums berechnet.

**[0091]** Die Dichte des Pulvers wurde mit  $1,5 \text{ g/cm}^3$  für alle Pulver angesetzt. (Dieser Nominalwert wurde für alle analysierten Pulver verwendet und liegt innerhalb eines Bereiches, der für sprühgetrocknete Pulver typisch ist). Teilchengrößenmessungen wurden mit etwa 5–10 mg Pulver, suspendiert in 5 ml Sedisperse A-11 (Micromeritics, Norcross, Georgia) und dispergiert durch Ultraschallbehandlung über 10 Minuten, durchgeführt. Der Bereich, über welchen Teilchengrößenmessungen gesammelt wurden, wurde auf 0,4 bis  $10,0 \mu\text{m}$  eingestellt.

## Messungen der aerodynamischen Teilchengröße

## Andersen-Kaskadenimpaktor.

**[0092]** Ein Andersen-Kaskadenimpaktor (ein siebähnliches Gerät mit einer Reihe von Stufen, die Teilchen auf Platten durch Trägheitsimpaktion entsprechend ihrer Größe abfangen) wurde verwendet, um den MMAD und die Teilchengrößenverteilung der aerosolisierten Pulverformulierungen in einem Luftstrom zu bestimmen. Die Platten wurden vor und nach der Untersuchung gewogen und die Masse des auf der Platte jeder Stufe abgegangenen Pulvers wurde ermittelt. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Untersuchungen unter Verwendung eines herkömmlichen Andersen-Kaskadenimpaktors mit acht Stufen (von Kopf bis Boden Stufen 0 bis 7) mit cut-off-Größen von  $9,0$  bis  $0,4 \mu\text{m}$  und einer Endfilterstufe, die Teilchen  $< 0,4 \mu\text{m}$  auffängt, wenn bei einer Flussrate von  $28,3 \text{ l/min}$  betrieben, vorgenommen. Der Geräteversuchsaufbau war ähnlich dem ED-Verfahren, außer dass der Kaskadenimpaktor und ein Durchlass nach USP (United States Pharmacopeia) (USP 23, Abschnitt (601)) an dem Gerätemundstück statt an einem Filter angebracht wurden. Mehrere Dispergierungen wurden typischerweise für jeden Kaskadenimpaktionsdurchlauf durchgeführt, um gravimetrisch korrekte Daten zu erzielen.

## Andersen-Kurzsäulen-Verfahren.

**[0093]** In dem Kurzsäulen-Verfahren wurde die Reihenfolge, in welcher die Stufen angeordnet waren, gegenüber dem vorstehend beschriebenen, herkömmlichen Aufbau des Andersen-Kaskadenimpaktors verändert. Von dem Kopf wurde Stufe 0 für die Anbringung des Einlasskonus zum Anschließen des Durchlasses verwendet. Stufe 3 wurde danach angebracht, unter Stufe 0, gefolgt von der Filterstufe (Stufe F). Der pulverhaltige Luftstrom durchströmt nur die Stufen 0 und 3; Luft (aber kein Pulver) strömt durch die anderen Stufen, welche

unter Stufe F angeordnet sind, um den Rest des Aufbaus zu fixieren. Ein vorgewogener Filter wurde auf Stufe F angebracht und fing Teilchen  $< 3,3 \mu\text{m}$  ab. Ein zweiter Filter wurde auf einer inversen Platte unter Stufe 3 angeordnet und fing Teilchen  $> 3,3 \mu\text{m}$  ab. Für die hier beschriebenen Untersuchungen wurde eine BP (Blisterpackung), die 2 mg der Pulverzusammensetzung enthielt, in einem Aerosolabgabegerät dispergiert und ein Vakuum wurde bei 28,3 l/min nach USP-Methodik gezogen. Dieses Verfahren wurde dann zweimal für eine Zielmasse von 6 mg pro Versuch wiederholt. Die Filter wurden anschließend entfernt und gewogen, um die Menge des abgeschiedenen Pulvers zu bestimmen.

#### Beispiel 1

##### Oberflächenaktivität der Di- und Tripeptide

**[0094]** Die Oberflächenspannung mehrerer repräsentativer Dipeptide, Tripeptide und Proteine wurde bei 25 °C und 45 °C gemessen, um eine Angabe ihrer relativen Oberflächenaktivitäten zu liefern. Oberflächenspannungsmessungen wurden unter Verwendung eines Krüss-Prozessor-Tensiometers K12 mit dem Wilhelmy-Verfahren (Plattenverfahren) durchgeführt.

**[0095]** Lösungen wurden durch Auflösen von entweder 0,05 %; 0,2 % oder 0,6 % Peptid/Protein (nach Gewicht) zusammen mit einer entsprechenden Raffinosemenge nach Gewicht hergestellt, um Endlösungen mit einem Feststoffgehalt von 1,0 Gew.-% bereitzustellen. Oberflächenspannungsmessungen bei 25 °C und 45 °C wurden dann für die Versuchslösungen zu drei verschiedenen Zeitpunkten (49 s, 100 s und 194 s) erhalten. Die Ergebnisse sind in den nachstehenden Tabellen 1–5 dargestellt.

**[0096]** Stark oberflächenaktive Peptide und Proteine sind jene, die wirksam sind, die Oberflächenspannung von Wasser von ihre(m,n) Regelwert(en) aus herabzusetzen. Wie sich in den Tabellen 1–4 zeigt, ist Raffinose (die zu jeder der Lösungen hinzugefügt wurde, um den Gesamtfeststoffgehalt auf 1,0 % zu bringen) nicht oberflächenaktiv und beeinflusst daher nicht die für jedes der Peptide/Proteine erhaltenen Oberflächenspannungsergebnisse.

**[0097]** Beim Betrachten der nachstehenden Ergebnisse kann man sehen, dass stark oberflächenaktive Peptide die Peptide Dileucin und Trileucin einschließen. Diese Peptide waren so wirksam wie das stark oberflächenaktive Protein Lachscalctonin bei der wesentlichen Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser. Trileucin war bei der Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser wirksamer bei höheren Konzentrationen (siehe z. B. Daten für 0,05 Gew.-%; 0,2 Gew.-% und 0,6 Gew.-% Trileucin). Im Vergleich zu Trileucin und Dileucin waren das Dimer von Isoleucin und das Dimer und Trimer von Valin nicht besonders wirksam bei der Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser.

**[0098]** Dieses Verfahren kann verwendet werden, um zusätzliche oberflächenaktive Di- und Tripeptide, die zur Verwendung in den erfindungsgemäßen Trockenpulvern geeignet sind, festzustellen.

Tabelle 1. Oberflächenspannungsmessungen

PROBE	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s
Wasser-Blindprobe-1	72.6	49	72.6	100	72.6	194
Wasser-Blindprobe-2	72.5	49	72.5	100	72.4	194
Wasser-Blindprobe-3	72.5	49	72.4	100	72.4	194
1 % Raffinose-1	72	49	72	100	72	194
1 % Raffinose-2	72	49	72	100	72	194
1 % Raffinose-3	72	49	72	100	72	194
0,2 % Trialanin-1	72.4	49	72.4	100	72.3	194
0,2 % Trialanin-2	72.2	49	72.2	100	72.2	194
0,2 % Trialanin-3	72.3	49	72.2	100	72.2	194
0,2 % Triglutamat-1	72.1	49	72.1	100	72.1	194
0,2 % Triglutamat-2	72.4	49	72.4	100	72.4	194
0,2 % Triglutamat-3	72.4	49	72.4	100	72.3	194
0,2 % Dialanin-1	72	49	72	100	71.9	194
0,2 % Dialanin-2	72	49	71.9	100	71.9	194
0,2 % Dialanin-3	72.1	49	72.1	100	72.1	194
0,2 % Dileucin-1	58.4	49	58.1	100	57.9	194
0,2 % Dileucin-2	58.7	49	58.3	100	58.2	194
0,2 % Dileucin-3	60.1	49	59.8	100	59.7	194
0,2 % Trileucin-1	51	49	50.9	100	50.9	194
0,2 % Trileucin-2	51	49	50.8	100	50.7	194
0,2 % Trileucin-3	51	49	50.8	100	50.7	194
0,2 % Lachscalctonin-1	48.7	49	48.6	100	48.5	194
0,2 % Lachscalctonin-2	48.4	49	48.4	100	48.4	194
0,2 % Lachscalctonin-3	48.4	49	48.4	100	48.4	194

[0099] Messungen durchgeführt bei 25 °C. Die Lösungen mit 0,2 % (w/v) enthalten zusätzlich Raffinose, um Lösungen mit einem Gesamtfeststoffgehalt von 1 % (w/v) zu erzeugen.

Tabelle 2. Oberflächenspannungsmessungen

PROBE	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s
Wasser-Blindprobe-1	72	49	71.8	100	71.7	194
Wasser-Blindprobe-2	72.2	49	72.2	100	72.2	194
Wasser-Blindprobe-3	71.5	49	71.6	100	71.6	194
0,2 % Diisoleucin-1	67.6	49	67.2	100	67	194
0,2 % Diisoleucin-2	68	49	67.8	100	67.6	194
0,2 % Diisoleucin-3	67.7	49	71.6	100	71.6	194
0,2 % Divalin-1	71.7	49	71.6	100	71.6	194
0,2 % Divalin-2	71.6	49	71.6	100	71.6	194
0,2 % Divalin-3	71.7	49	71.6	100	71.6	194
0,2 % Trivalin-1	68.8	49	68.8	100	68.8	194
0,2 % Trivalin-2	68.8	49	68.7	100	68.7	194
0,2 % Trivalin-3	68.7	49	68.7	100	68.7	194

[0100] Oberflächenspannungsmessungen durchgeführt bei 25 °C. Lösungen enthielten 0,20 % (w/v) eines von: Diisoleucin, Divalin, Trivalin und 0,80 % (w/v) Raffinose.

Tabelle 3. Oberflächenspannungsmessungen

PROBE	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s
1 % Raffinose (pH 4)-1	71.4	49	71.4	100	71.4	194
1 % Raffinose (pH 4)-2	71.1	49	71.1	100	71.1	194
1 % Raffinose (pH 4)-3	71.1	49	71.1	100	71.1	194
1 % Raffinose (pH 7)-1	71.1	49	71.1	100	71.1	194
1 % Raffinose (pH 7)-2	71.1	49	71.1	100	71.1	194
1 % Raffinose (pH 7)-3	71.1	49	71.1	100	71.1	194
Wasser-Blindprobe-1	72.1	49	72	100	72	194
Wasser-Blindprobe-2	72.2	49	72.1	100	72	194
Wasser-Blindprobe-3	72.2	49	72.1	100	72	194
0,05 % Leu3 (pH 4)-1	59.9	49	59.8	100	59.7	194
0,05 % Leu3 (pH 4)-2	60.4	49	60.3	100	60.2	194
0,05 % Leu3 (pH 4)-3	60.4	49	60.3	100	60.2	194
0,2 % Leu3 (pH 4)-1	51.4	49	51.2	100	51.1	194
0,2 % Leu3 (pH 4)-2	51.4	49	51.3	100	51.2	194
0,2 % Leu3 (pH 4)-3	51.4	49	51.2	100	51.1	194
0,6 % Leu3 (pH 4)-1	44.2	49	44.1	100	44	194
0,6 % Leu3 (pH 4)-2	44.3	49	44.2	100	44.2	194
0,6 % Leu3 (pH 4)-3	44.2	49	44.2	100	44.1	194
0,05 % Leu3 (pH 7)-1	60.1	49	59.8	100	59.7	194
0,05 % Leu3 (pH 7)-2	60	49	59.8	100	59.7	194
0,05 % Leu3 (pH 7)-3	60.2	49	60	100	59.8	194
0,2 % Leu3 (pH 7)-1	51	49	50.8	100	50.7	194
0,2 % Leu3 (pH 7)-2	50.9	49	50.7	100	50.6	194
0,2 % Leu3 (pH 7)-3	50.7	49	50.5	100	50.4	194
0,6 % Leu3 (pH 7)-1	43.7	49	43.7	100	43.6	194
0,6 % Leu3 (pH 7)-2	43.8	49	43.7	100	43.7	194
0,6 % Leu3 (pH 7)-3	43.8	49	43.7	100	43.7	194
Wasser-Blindprobe-5	71.7	49	71.7	100	71.6	194
Wasser-Blindprobe-6	72.2	49	72.1	100	72.1	194

[0101] Oberflächenspannungsmessungen gemessen bei 25 °C. Die Trileucinformulierungen enthalten auch Raffinose, um Lösungen mit einem Gesamtfeststoffgehalt von 1 % (w/v) bereitzustellen.

Tabelle 4. Oberflächenspannungsmessungen

PROBE	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s	OS, mN/m	Zeit, s
Wasser-Blindprobe-5	69.2	49	69.2	100	69.2	194
1 % Raffinose (pH 4)-1	67.9	49	68	100	68	194
1 % Raffinose (pH 4)-2	68.2	49	68.2	100	68.2	194
1 % Raffinose (pH 4)-3	68	49	68	100	68.1	194
1 % Raffinose (pH 7)-1	68.3	49	68.3	100	68.3	194
1 % Raffinose (pH 7)-2	68.4	49	68.4	100	68.4	194
1 % Raffinose (pH 7)-3	68.4	49	68.4	100	68.4	194
Leu-3-Formulierungen enthalten Raffinose, um einen Gesamtfeststoffgehalt von 1 % zu erzielen.						
0,05 % Leu3 (pH 4)-1	57.1	49	57	100	57	194
0,05 % Leu3 (pH 4)-2	58.1	49	57.9	100	57.8	194
0,05 % Leu3 (pH 4)-3	58	49	57.8	100	57.8	194
0,2 % Leu3 (pH 4)-1	47.9	49	47.5	100	47.4	194
0,2 % Leu3 (pH 4)-2	47.2	49	47.2	100	47.3	194
0,2 % Leu3 (pH 4)-3	47.9	49	47.3	100	47.1	194
0,6 % Leu3 (pH 4)-1	40.9	49	40.9	100	40.8	194
0,6 % Leu3 (pH 4)-2	41.1	49	41	100	40.9	194
0,6 % Leu3 (pH 4)-3	41.1	49	41	100	40.8	194
0,05 % Leu3 (pH 7)-1	58.5	49	58.4	100	58.4	194
0,05 % Leu3 (pH 7)-2	58.2	49	58.2	100	58.1	194
0,05 % Leu3 (pH 7)-3	58.2	49	58.1	100	58.1	194
0,2 % Leu3 (pH 7)-1	58.5	49	58.4	100	58.4	194
0,2 % Leu3 (pH 7)-2	58.2	49	58.2	100	58.1	194
0,2 % Leu3 (pH 7)-3	58.2	49	58.1	100	58.1	194

[0102] Oberflächenspannungsmessungen vorgenommen bei 45 °C. Die trileucinhaltigen Formulierungen enthalten auch Raffinose, um eine Lösung mit einem Gesamtfeststoffgehalt von 1 % bereitzustellen.

[0103] Weitere Oberflächenspannungsmessungen wurden erhalten, um Dimere und Trimere zur Verwendung in der Erfindung (d. h. oberflächenaktive Dimere und Trimere) zu ermitteln.

Tabelle 5. Oberflächenspannung von repräsentativen Dimeren und Trimeren

PROBE	Konzentration mg/ml	25 °C		45 °C		25 °C	45 °C
		Istwerte		Istwerte		extrapolierte Werte	extrapolierte Werte
		MW	SD	MW	SD	auf 2 mg/ml	auf 2 mg/ml
<b>Dimere</b>							
Leu-2	13.60	46.6	0.6	42.7	0.3	60.4	52.4
	4.53	54.9	0.5	48.2	0.1		
	1.51	61.5	0.6	53.2	0.1		
Leu-Val	8.80	59.1	0.2	55.7	0.3	67.2	62.3
	2.93	65	0.2	60.4	0.0		
	0.98	69.2	0.4	64.2	0.2		
Leu-Tyr	6.40	62.2	0.1	59.5	0.3	68.3	67.3
	2.13	68.0	0.1	65.6	0.3		
	0.71	71.5	0	68.0	0.1		
Val-Leu	7.80	68	0	63.5	0.2	69.8	65.3
	2.60	69.5	0.1	65.0	0.2		
	0.87	70	0.5	65.5	0.0		
Val-Ile	10.00	66.1	0	61.9	0.2	70.3	65.8
	3.33	70.1	0.3	65.3	0.1		
	1.11	71.6	0.2	66.3	0.2		
Leu	TBD	56.7	0.3	54.7	0.2		
		66.3	0.2	61.4	0.2		
		70.8	0.2	64.2	0.0		
<b>Trimere</b>							
Leu-Tyr- Leu	2.90	44.7	0.1	40.8	0.0	47.9	44.7
	0.97	51.6	0.1	49.1	0.1		
	0.32	58.4	0.1	55.4	0.3		
Leu-Phe- Leu	6.10	41.5	0.2	39.3	0.0	48.3	46.2
	2.03	48.3	0	46.2	0.1		
	0.68	54.7	0.1	53.6	0.1		
Leu-3	6.10	42.4	0	38.9	0.2	49.7	46.3
	2.03	49.7	0	46.3	0.3		
	0.68	56.9	0	52.8	0.6		
Leu-Leu- Ala	6.80	39.9	0.5	48.4	0.2	46.6	49.8
	2.27	43.5	0.8	48.2	4.3		
	0.76	60.7	0.4	58.3	0.5		
Ala-Val- Leu	8.70	55.7	0.2	53.8	0.0	65	58.9
	2.90	62.8	0.5	57.7	0.2		
	0.97	67.5	0.5	60.3	0.1		

[0104] Wie aus dem Vorstehenden entnommen werden kann, sind oberflächenaktive Dimere und Trimere, wenn in höheren Konzentrationen vorliegend, wirksamer bei der Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser. Als ein Beispiel, in einer Konzentration von 1,20 mg/ml, war das Vorhandensein von Trileucin wirksam, die Oberflächenspannung von Wasser von etwa 72 mN/m auf 42 mN/m zu senken, während in einer Konzentration von 0,68 mg/ml Trileucin wirksam bei der Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser auf etwa 57 mN/m war.

[0105] Um für die Konzentrationseffekte zu normieren, wurden die Oberflächenspannungswerte auf Lösungen mit einer Konzentration von 2 mg/ml extrapoliert (Tabelle 5, Spalten 7 und 8). Schaut man zuerst die Dimere an, war Dileucin wirksamer als jedes der anderen bei der Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser untersuchten Dimere. Betrachtet man die Daten für die Trimere, ist Leu-Tyr-Leu das oberflächenaktivste der Trimere. Trimere, die neben den beiden Leucylresten, eine hydrophobe Aminosäure, wie Tyrosin, Phenylalanin, Leucin oder Alanin, enthalten, sind oberflächenaktiver als Trimere, die weniger als zwei Leucylreste enthalten.

[0106] Zusammenfassend waren Dimere und Trimere, die mindestens zwei Leucine enthielten, bei der wesentlichen Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser wirksam (z. B. Leu-Try-Ala, Leu-Phe-Leu, Leu-Leu-Leu, Leu-Leu-Ala und dergleichen) und sind zur Verwendung in den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen bevorzugt.

#### Beispiel 2

##### Aerosoleigenschaften eines Trockenpulvers von Parathormon (PTH)-Trileucin

[0107] Trockenpulver, die ein veranschaulichendes wirksames Protein, Parathormon, in Kombination entweder mit Leucin oder Trileucin enthielten, wurden hergestellt. Ebenfalls hergestellt wurde ein Trockenpulver entweder ohne Leucin oder Trileucin, um die bedeutende Verbesserung der Aerosoleigenschaften bei Zusatz von Trileucin zu demonstrieren.

[0108] Repräsentative PTH-Pulver wurden wie folgt hergestellt.

##### A. Herstellung der Lösungsformulierungen

[0109] Wässrige Formulierungslösungen wurden mit einem Gesamtfeststoffgehalt von 1 % (w/v) hergestellt. Der pH-Wert jeder Lösung wurde bestimmt und die Lösungen wurden dann sprühgetrocknet. Tabelle 6 führt die Zusammensetzungen aller vorsprühgetrockneten PTH-Lösungen auf.

##### B. Pulverherstellung: Sprühtrocknung

[0110] Die Pulver wurden durch Sprühtrocknung wässriger Lösungen von PTH, wie in vorstehendem A. beschrieben, unter Verwendung eines Mini-Sprühtrockners Büchi 190 (Büchi Labortechnik AG, Meierseggstraße, Schweiz), ausgerüstet mit einer speziell angefertigten Düse (R. Platz et al., Internationale Offenlegungsschrift Nr. WO 97/41833, 13.11.1997, von Inhale Therapeutic Systems), und eines Zyklons hergestellt. Eine hohe Sammeleffizienz (Ausbeuten), gewöhnlich zwischen etwa 50 und 80 %, wurden erreicht.

Tabelle 6. PTH-Trockenpulverzusammensetzungen

Los Nr.	Zusammensetzung	Freigesetzte Dosis, % Mittelwert n = 10	RSD, %	MMAD (µm)	FPD
R97190	30% PTH 70% Mannitol	62	4	-	-
	30% PTH 70% Raffinose	66	9	-	-
R97191	75% PTH 25% Mannitol	51	3	-	-
	30% PTH 70% Leucin	78	-	2.43	0.58
	30% PTH 70% Tri-leucin	83	-	2.63	0.45

**[0111]** Beim Betrachten der Ergebnisse in Tabelle 6 (und auch in anderen Tabellen) kann man sehen, dass der Zusatz von Trileucin wirksam ist, das Aerosolverhalten des so erhaltenen Pulvers wesentlich zu verbessern. Das Aerosolverhalten eines PTH-Trockenpulvers, wie durch seinen ED-Wert angegeben, wurde unerwartet von 51–62 % auf 83 % durch den Zusatz von Trileucin zu der Formulierung erhöht. Diese Daten veranschaulichen eine enorme Verbesserung der freigesetzten Dosis, einfach erzielt durch Zusatz des exemplarischen oberflächenaktiven Tripeptids Trileucin zu der Formulierung. Überraschend ist Trileucin, selbst nach Korrektur auf eine mol/mol-Basis für die Anzahl der in Trileucin enthaltenen Leucinaminosäuren (3 mol Leu pro mol Trileucin), wirksamer als Leucin, auf einer gewichtsbezogenen Basis, bei der Steigerung der Dispersivität der Trockenpulverzusammensetzungen zur Verabreichung in die Lunge.

### Beispiel 3

#### Aerosoleigenschaften der Albuterol-Trileucin-Trockenpulver

**[0112]** Trockenpulver, die das kleine Molekül Albuterol enthielten, wurden hergestellt, um die Wirkungen von Trileucin auf die Dispersivität/Aerosoleigenschaften der Trockenpulver, die einen nichtproteinartigen Wirkstoff enthalten, zu untersuchen.

#### A. Herstellung der Lösungsformulierungen

**[0113]** Formulierungslösungen wurden mit einem Gesamtfeststoffgehalt von 1 % (w/v) hergestellt. Bei Lösungen mit geringem Feststoffgehalt wurde Raffinose zugegeben, um den Gesamtfeststoffgehalt auf den vorstehenden Wert zu bringen. Tabelle 7 führt die Zusammensetzungen aller versprühgetrockneten Lösungen auf.

#### B. Pulverherstellung: Sprühtrocknung

**[0114]** Die Pulver wurden durch Sprühtrocknung wässriger Lösungen von Albuterol, oberflächenaktivem Di- oder Tripeptid und/oder Exzipient(en) unter Verwendung eines Mini-Sprühtrockners Büchi 190 (Büchi Labor-technik AG, Meierseggstraße, Schweiz) wie im vorstehenden Beispiel 2 beschrieben hergestellt. Charakteristika der so erhaltenen Pulver werden in den nachstehenden Tabellen 7 und 8 zur Verfügung gestellt.

Tabelle 7. Albuterol-Trockenpulver

Formulierung	Freigesetzte Dosis, %	T <sub>g</sub> , °C
2 % Albuterol 98 % Raffinose	31	102.2
2 % Albuterol 5 % Leucin Raffinose	31	88.57
2 % Albuterol 20 % Leucin Raffinose	34	93.1
2 % Albuterol 60 % Leucin Raffinose	74	96.6
2 % Albuterol 5 % Trileucin Raffinose	62	85.3
2 % Albuterol 20 % Trileucin Raffinose	78	95.9
2 % Albuterol 60 % Trileucin Raffinose	82	88.6

Tabelle B. Weitere Aerosoleigenschaften der Albuterol-Trockenpulver

Formulierung	FPD	MMAD, $\mu\text{m}$
2 % Albuterol 60 % Leucin Raffinose	0.56	2.43
2 % Albuterol 20 % Trileucin Raffinose	0.59	2.43

[0115] Wie man aus den vorstehend bereitgestellten Ergebnissen sehen kann, erhöhte der Zusatz von Trileucin die freigesetzte Dosis von Albuterol-Trockenpulvern von etwa 30 % auf etwa 80 % – eine fast dreifache Steigerung der Dispersivität! Daher kann der Zusatz eines oberflächenaktiven Di- oder Tripeptids zu einem Wirkstoffpulver, durch bedeutende Steigerung der Dispersivität des Pulvers, (i) teure Arzneistoffverluste beim Inhalationsgerät verringern, (ii) die Anzahl der benötigten Inhalationen pro Tag durch Erhöhung der Menge an aerosolisiertem Arzneistoff, die die Lungenbläschen eines Patienten erreicht, reduzieren, (iii) die Trockenpulvermenge pro Einheitsdosis, wegen des höheren Wirkungsgrades der Aerosolisierung des Trockenpulvers, verringern und (iv) die Einfachheit der Herstellung von Einheitsdosierungsformen von Arzneimittelpulver, aufgrund der gesteigerten Fließfähigkeit des Pulvers, erhöhen.

[0116] Außerdem wurde der Zusatz von 60 Gew.-% Leucin benötigt, um denselben Dispersivitätsgrad, der durch den Zusatz von nur 20 Gew.-% Trileucin erreicht wurde, zu erzielen. Deshalb ist Trileucin bei der Verbesserung des Aerosolverhaltens der Trockenpulver viel wirksamer als Leucin. Zudem wird ein Maximum des Aerosolverhaltens typischerweise durch den Zusatz von nur etwa 5–25 Gew.-% Trileucin erzielt, größere Mengen als diese bringen üblicherweise nur schrittweise Steigerungen der Dispersität.

[0117] Die dispergierbarkeitssteigernden Wirkungen von Trileucin und anderen oberflächenaktiven Di- und Tripeptiden scheinen allgemein gültig zu sein und erstrecken sich nicht nur auf Proteinpulver, sondern auf Pulverformulierungen vieler verschiedener Wirkstoffe (z. B. kleine Moleküle, Hormone, Antibiotika und dergleichen), wie durch die hier zur Verfügung gestellten Beispiele veranschaulicht.

#### Beispiel 4

##### Aerosoleigenschaften der Lachscalcitonin-Trileucin-Trockenpulver

[0118] Die Wirkungen von Trileucin auf die Aerosolleistung der Trockenpulver, die Lachscalcitonin, ein Hormon mit einem Molekulargewicht von ungefähr 4500 Dalton, enthielten, wurden untersucht.

[0119] Obwohl Lachscalcitonin ein stark oberflächenaktives Protein ist, zeigten die sprühgetrockneten Pulver, die 5 Gew.-% Lachscalcitonin und 95 Gew.-% Raffinose enthielten, relativ geringe Werte der freigesetzten Dosis (von ungefähr 50 %). In Versuchen, die die breite Anwendbarkeit des Zusatzes von oberflächenaktiven Di- und Tripeptiden zu Pulverformulierungen zur Steigerung ihrer Dispersität weiter zu erkunden, wurde Trileucin zu den lachscalcitoninhaltigen Formulierungen hinzugegeben, um seine Wirkung auf die so erhaltenen Pulver zu untersuchen. Das Vermögen von Trileucin, die Dispergierbarkeit der lachscalcitoninhaltigen Trockenpulver zu steigern, wurde mit der Aminosäure Leucin verglichen.

[0120] Pulver mit den nachstehend angegebenen Zusammensetzungen wurden hergestellt wie in den vorstehenden Beispielen 2 und 3 beschrieben.

Tabelle 9. Lachscalctonin-Trockenpulver

Formulierung	Freigesetzte Dosis	FPD	T <sub>g</sub> , °C
5 % Lachscalctonin 95 % Raffinose	48	0.30	89.9
5 % Lachscalctonin 5 % Leucin Raffinose	47	0.31	89.3
5 % Lachscalctonin 20 % Leucin Raffinose	50	0.28	82.9
5 % Lachscalctonin 40 % Leucin Raffinose	48	0.29	82.3
5 % Lachscalctonin 60 % Leucin Raffinose	53	0.22	80.5
5 % Lachscalctonin 80 % Leucin Raffinose	64	0.29	74.5
5 % Lachscalctonin 5 % Trileucin Raffinose	58	0.46	89
5 % Lachscalctonin 20 % Trileucin Raffinose	72	0.50	91.1
5 % Lachscalctonin 40 % Trileucin Raffinose	76	0.46	83.4
5 % Lachscalctonin 60 % Trileucin Raffinose	84	0.49	94.3
5 % Lachscalctonin 80 % Trileucin Raffinose	86	0.49	115.2

[0121] Repräsentative Massenmediane des aerodynamischen Durchmessers wurden für zwei Formulierungen bestimmt.

Tabelle 10. Massenmediane des aerodynamischen Durchmessers der Calcitonin-Pulver

Formulierung	MMAD
5 % Lachscalctonin 20 % Leucin Raffinose	3.39
5 % Lachscalctonin 20 % Trileucin Raffinose	2.87

[0122] Aus den vorstehenden Daten kann entnommen werden, dass Trileucin verwendet werden kann, um die Aerosoleigenschaften von Trockenpulverformulierungen vieler verschiedener Wirkstoffe/Arzneimittel zur aerosolisierten Verabreichung in die Lunge zu verbessern.

[0123] Trileucin stellte eine fast 100%ige Steigerung des Wertes der freigesetzten Dosis eines Kontrollpulvers, das Lachscalctonin und Raffinose enthielt, bereit, wobei fast eine Verdopplung seines ED-Wertes von 48 % auf 86 % auftrat. Außerdem war Trileucin bei der Verbesserung der Pulverdispergierbarkeit wirksamer als Leucin. Während eine repräsentative Formulierung, die 80 Gew.-% Leucin enthielt, einen ED-Wert von 64 % zeigte, wiesen Formulierungen, die 60–80 % Trileucin enthielten, ED-Werte von 84–86 % auf, was weiter die Überlegenheit von Trileucin bei der wesentlichen Erhöhung der Aerosolleistung der Trockenpulver zeigt.

## Beispiel 5

## Aerosoleigenschaften der Antibiotikum-Trileucin-Trockenpulver

[0124] Das Vermögen von Trileucin, die Dispergierbarkeit von antibiotikumhaltigen Trockenpulvern zu steigern, wurde untersucht.

## A. Antibiotikum-Kontrollpulver ohne Trileucin

## Ciprofloxacin-Pulver.

[0125] Wässrige Lösungen, die die in Tabelle 9 aufgeführten Bestandteile enthielten, wurden mit einem Gesamtfeststoffgehalt von 1 % (w/v) hergestellt. Der pH-Wert jeder Lösung wurde bestimmt und die Lösungen wurden anschließend sprühgetrocknet wie in Beispiel 2 beschrieben, um Trockenpulver herzustellen.

Tabelle 11.

Chargennummer	Quantitative Zusammensetzung vor Sprühtrocknung <sup>1</sup>	Feuchtigkeitsgehalt	MMAD (µm)	Freigesetzte Dosis
(1) 1326-16	Ciprofloxacinhydrochlorid 1136 mg DI-Wasser 113 ml  Festprodukt: Cipro 100%	1.4%	2.8	42% (RSD=8)
(2) 1326-29	Ciprofloxacinhydrochlorid 2047 mg DI-Wasser 200 ml Natriumhydroxid qs auf pH = 12  Festprodukt: Cipro 100%	3.2%	4.5	51% (RSD=7)
(3) 1300-MG-7	Ciprofloxacinhydrochlorid 1995 mg Methanol 100 ml DI-Wasser 100 ml  Festprodukt: Cipro 100%	1.2%	2.9	33% (RSD=13)

## Gentamicin-, Netilmicin-Pulver

**[0126]** Gentamicin oder Netilmicin enthaltende Trockenpulverzusammensetzungen wurden durch Mischen von Gentamicinsulfat oder Netilmicinsulfat und Exzipient(en) (wenn verwendet) mit einem flüssigen Medium, um eine Lösung zu erzeugen, hergestellt. Der pH-Wert der Lösung wurde entsprechend eingestellt, um Löslichmachen und/oder Stabilisieren der Bestandteile in der Lösung zu erleichtern. Quantitative Formulierungen sind in nachstehender Tabelle 12 bestimmt. Die Lösungen wurden dann sprühgetrocknet wie in Beispiel 2 beschrieben, um Trockenpulver zu liefern. Bei Formulierungen, die organische Lösungsmittel verwendeten, wurde ein modifizierter Mini-Sprüh Trockner Büchi 190 verwendet, der mit Stickstoff als Gasquelle versorgt wurde und mit einem Sauerstoffsensoren und anderer Sicherheitsausrüstung ausgestattet war, um die Möglichkeit einer Explosion zu minimieren.

Tabelle 12. Gentamicin/Netilmicin-Trockenpulver

Chargennummer	Quantitative Zusammensetzung	Feuchtigkeitsgehalt	MMAD ( $\mu\text{m}$ )	Freigesetzte Dosis
1326-31	Gentamicinsulfat 2076 mg DI-Wasser 200 ml Salzsäure qs auf pH=5	4.1% <sup>1</sup>	3.0	37% (RSD <sup>3</sup> =6)
1326-32	Gentamicinsulfat 2053 mg DI-Wasser 200 ml Natriumhydroxid qs auf pH=10	1.1% <sup>1</sup>	2.4	40% (RSD=14)
1300-MG-11	Gentamicinsulfat 2012 mg Ethanol 40 ml DI-Wasser 160 ml	4.8% <sup>2</sup>	3.0	45% (RSD=10)
1300-MG-9	Netilmicinsulfat 1626 mg DI-Wasser 163 ml	4.2%	3.2	47% (RSD=8)
1300-MG-14	Netilmicinsulfat 1512 mg Ethanol 30 ml DI-Wasser 120 ml	5.1%	2.9	39% (RSD=7)

<sup>1</sup> Bestimmt mit titrimetrischem Verfahren mit Karl-Fischer-Reagenz

<sup>2</sup> Bestimmt mit thermogravimetrischer Analyse

<sup>3</sup> Relative Standardabweichung

## B. Trileucinhaltige Antibiotikum-Pulver

**[0127]** Wässrige Lösungen (100 ml Gesamtvolumen), die Antibiotikum und Trileucin in einem Gesamtfeststoffgehalt von 1 % enthielten, wurden hergestellt und der pH-Wert der Lösungen wurde auf pH 4 eingestellt. Die so erhaltenen Lösungen wurden anschließend sprühgetrocknet, um Pulver mit den relativen Mengen an Antibiotikum und Trileucin, die in nachstehender Tabelle 13 angegeben sind, herzustellen.

Tabelle 13. Antibiotikum-Trileucin-Trockenpulver

Formulierung	Ausbeute, %	MMAD, $\mu\text{m}$	FPD (<3.3 $\mu\text{m}$ )	ED, %
95% Cipro 5% Leu-3	64.2	2.43	0.57	77.7
75% Cipro 25% Leu-3	nv	2.65	nv	83.0
45% Cipro 55% Leu-3	55.0	2.62	0.48	70.7
95% Gent. 5% Leu-3	61.4	2.15	0.66	75.7
75% Gent. 25% Leu-3	52.0	2.25	0.66	93.9
55% Gent. 45% Leu-3	54.2	2.51	0.51	87.3
95% Netil. 5% Leu-3	62.0	2.08	0.58	82.4
75% Netil. 25% Leu-3	50.0	2.14	0.66	91.3
55% Netil. 45% Leu-3	40.0	2.73	0.49	90.4

[0128] Wie man aus den Ergebnissen in Tabelle 13 sehen kann, war der Zusatz von Trileucin wirksam, um die Dispergierbarkeit der Pulver, hergestellt aus drei verschiedenen Antibiotikaverbindungen von zwei unterschiedlichen Antibiotikaklassen, Ciprofloxacin (ein Chinolon), Gentamicin und Netilmicin (Aminoglycoside), bedeutend zu steigern. Die ED-Werte für Ciprofloxacin-Pulver erhöhten sich von Werten, die von 33 bis 51 % reichten, auf Werte, die sich zwischen 71 und 83 % bewegten. Ähnliche vorteilhafte Ergebnisse wurden für Gentamicin-Pulver, deren ED-Werte durch Zusatz von Trileucin von 37–45 % auf 76–94 % erhöht wurden, und für Netilmicin-Pulver, deren ED-Werte sich von 39–47 % auf 82–91 % erhöhten, beobachtet. Die optimale relative Menge an Trileucin wurde für jedes der drei Antibiotikum-Pulver ermittelt und mit ungefähr 25 % bestimmt, d. h. optimale ED-Werte wurden für Pulver, die 25 Gew.-% Trileucin bezüglich Antibiotikum enthielten, festgestellt.

#### Beispiel 6

[0129] Aerosoleigenschaften der Interferon- $\beta$  in Kombination mit Trileucin enthaltenden Pulver Die breite Anwendbarkeit der Verwendung von oberflächenaktiven Di- und Tripeptiden zur Steigerung der Pulverdispersität wurde in Interferon- $\beta$ -Pulvern weiter untersucht. Interferon- $\beta$  (ein Typ-I-Interferon) ist ein Zytokin mit antiviraler, antiproliferativer und immunmodulatorischer Wirkung.

[0130] Pulver, die Interferon- $\beta$  und gegebenenfalls Trileucin und/oder andere Exzipienten (Hydroxyethylstärke, HES, und Raffinose) enthielten, wurden wie vorstehend beschrieben hergestellt. Der Feststoffgehalt der vorgetrockneten Lösungen betrug 1 %, mit Ausnahme von Los Nr. RB27, welches einen Feststoffgehalt von 0,5 % besaß. Die Zusammensetzung der Endpulver wird in nachstehender Tabelle 14 angegeben.

Tabelle 14. Trileucin enthaltende Interferon- $\beta$ -Pulver

Los Nr.	Zusammensetzung	ED, % Mittelwert (n=10)	RSD, %	MMAD, $\mu\text{m}$	FPD, %	Ausbeute %	% < 5 $\mu\text{m}$ , %
RB19	10% IFN- $\beta$ 45% Leu-3 45% HES	81	7	3.2	48	56	79
RB21	10% IFN- $\beta$ 45% Leu-3 45% Raff.	80	6	2.9	46	61	85
RB24	10% IFN- $\beta$ 90% Leu-3	-	-	-	-	9*	-
RB27	10% IFN- $\beta$ 67.5% Leu-3 22.5% Raff.	74	4	2.9	49	40	81
RB29	10% IFN- $\beta$ 45% Leu-3 45% HES	79	5	3.2	41	50	83
RB36	10% IFN- $\beta$ 22.5% Leu-3 67.5% Raff.	87	3	-	-	61	-
99320	10% IFN- $\beta$ 90% Raff.	64	-	-	-	-	-

\* Keine Versuche wegen zu niedriger Ausbeute durchgeführt.

[0131] Wie bei den anderen wirkstoffhaltigen Pulvern diente der Zusatz von Trileucin zu den aus Interferon- $\beta$  bestehenden Pulvern dazu, die Dispersivität und die gesamten Aerosoleigenschaften des so erhaltenen Pulvers zu steigern. Obwohl die Steigerung nicht so auffallend wie in einigen der vorstehenden Beispiele war, erhöhte der Zusatz von Trileucin die ED-Werte eines Interferon- $\beta$ -Pulvers von 64 % auf 74–87 %. Wie in dem vorherigen Beispiel scheint es, dass eine optimale Trileucinmenge bei etwa 22–25 Gew.-% für das IFN- $\beta$ -Pulver liegt.

#### Beispiel 7

##### Faktor-IX-Trockenpulver

[0132] Pulver, die Faktor IX, ein Glycoprotein von 55.000 Dalton mit einer modularen Domänenstruktur und zahlreichen posttranslationalen Modifikationen, verwendbar bei der Behandlung von Hämophilie B, und Trileucin und/oder andere(n) Exzipienten enthielten, wurden hergestellt, um die dispersitätssteigernden Wirkungen von Trileucin und anderen oberflächenaktiven Di- und Tripeptiden auf verschiedene Arzneimittel zu untersuchen.

[0133] Faktor IX enthaltende Pulver, sowohl mit als auch ohne Leucin oder ein leucinhaltiges Dimer oder Trimer, wurden wie vorstehend beschrieben hergestellt. Der Feststoffgehalt der vorsprühgetrockneten Lösung betrug 1 Gew.-% (w/v). Die Ausbeuten der sprühgetrockneten Pulver reichten von 40 bis 60 %. Die Formulierungen der getrockneten Pulver werden in nachstehender Tabelle 15 zur Verfügung gestellt.

Tabelle 15. Faktor-IX-Pulver

Formulierung	Freigesetzte Dosis (RSD)	MMAD
93 % Faktor IX/7 % Natriumcitrat	57 (5 %)	-
37 % Faktor IX/3 % Natriumcitrat/60 % Leucin	78 (3%)	2.9
56 % Faktor IX/4 % Natriumcitrat/40 % Trileucin	89 (5%)	2.7

[0134] Die Ergebnisse in Tabelle 15 stützen weiter die Wirksamkeit von Trileucin bei einer wesentlichen Steigerung der Dispergierbarkeit der Trockenpulverzusammensetzungen, unabhängig von dem in der Zusammensetzung enthaltenen Wirkstoff. Außerdem, wie in den vorstehenden Beispielen, ist Trileucin besser als Leucin bei der wesentlichen Steigerung der Dispergierbarkeit der Zusammensetzung (von einem ED-Wert von 57 % auf 89 %) und kann eine derartige Steigerung bei Verwendung in kleineren Mengen als Leucin erzielen.

## Beispiel 8

## Stabilitätsuntersuchungen

[0135] Die chemische und physikalische Stabilität von verpackten PTH-Pulvern unter beschleunigten Stabilitätsbedingungen wurden auf Basis der Veränderung der Proteinkonzentration und Aerosoleigenschaften, gemessen zwischen dem Anfangszeitpunkt und Zeitpunkt von 3 Monaten, bewertet. PTH-Trileucin- und PTH-Leucin-Pulver wurden wie im vorstehenden Beispiel 2 hergestellt.

[0136] Die Pulver wurden von Hand in Blisterpackungen (BP) gefüllt. Die Blisterpackungen wurden in Petrischalen (20–60 BP/Schale) gelegt.

Tabelle 16. Beschleunigte Stabilitätsuntersuchung bei 40 °C/relativer Feuchtigkeit der Umgebung

Formulierung ID Zusammensetzung	Verpackter Lagerungs- zustand keine Sekundärver- packung, kein Trockenmittel, 40 °C/Umgebungs-RH	% Reinheit (per Fläche)	% Freigesetzte Dosis (RSD)	Feinparti- keldosis (FPD) < 3,3 µm	MMAD (µm)	% Gew.- Änderung (TGA)
R99484 30% PTH/ 70%Leucin	Beginn	97.0	79.6 (3)	0.58	2.5	1.4
	4 Wochen	nv	74.9 (5)	nv	nv	1.7
	6 Wochen	nv	75.2 (6)	nv	nv	nv
	8 Wochen	95.2*	78.8 (6)	0.55	2.4	2.2
	12 Wochen	nv	78.6 (3)	nv	nv	TBD
R99485 30% PTH/ 70% Trileucin	Beginn	97.1	79.4	0.45	2.9	2.6
	4 Wochen	nv	75.8	nv	nv	2.4
	6 Wochen	nv	81.6	nv	nv	nv
	8 Wochen	94.8	81.6	0.44	2.9	2.4
	12 Wochen	nv	außerhalb BP	nv	außerhalb BP	außerhalb BP

\* Die chemische Stabilität der Probe 8 Wochen, 40 °C/Umgebungs-RH ist ähnlich der Stabilität von 6 Monaten, 40 °C/trockener Probe (folienverpackte Trockenmittel) einer Formulierung von 30 % PTH/70 % Mannitol.

[0137] Beim Betrachten der Ergebnisse in Tabelle 16 kann man sehen, dass die trileucinhaltige Formulierung sowohl chemisch als auch physikalisch stabil bei Lagerung ist, selbst bei gegenüber der Umgebungstemperatur erhöhten Temperaturen. Speziell das Pulver von 30 % PTH/70 % Trileucin zeigte einen minimalen Proteinabbau über den Zeitraum von 3 Monaten, während die Aerosolleistung des Pulvers im Wesentlichen unverändert blieb.

## Beispiel 9

[0138] Elektronenspektroskopie zur Chemischen Analyse (ESCA) von Pulverformulierungen Die ESCA-Analyse wurde bei bestimmten Pulverformulierungen durchgeführt, um die Oberflächenanreicherung von Dileucyl-dipeptid oder -tripeptid in den Teilchen zu untersuchen. Die relativen Konzentrationen der Pulverbestandteile in der Masse des Pulvers werden in der Spalte „Formulierung“ zur Verfügung gestellt, die Konzentration jedes Bestandteils an der Oberfläche der Teilchen, wie durch ESCA bestimmt, wird in der Spalte „ESCA-Ergebnis“ bereitgestellt.

Tabelle 17. Lachscalctonin/Raffinose/Leucin-Formulierungen pH 7

Los Nr.		Formulierung (% w/w)	ESCA-Ergebnis (% w/w)
R99282 pH7	Lachscalctonin	5	53
	Leucin	0	-
	Raffinose	95	47
R99283 pH7	Lachscalctonin	5	11
	Leucin	5	52
	Raffinose	90	38
R99284 pH7	Lachscalctonin	5	39
	Leucin	20	28
	Raffinose	75	33
R99286 pH7	Lachscalctonin	5	26
	Leucin	80	64
	Raffinose	15	9

Tabelle 18. Leucylpeptid/Raffinose-Formulierungen

Los Nr.		Formulierung (% w/w)	ESCA-Ergebnis (% w/w)
R99337 pH7	Leucin-2	5	28.7
	Raffinose	95	71.3
R99338 pH7	Leucin-2	20	44.1
	Raffinose	80	55.9
R99339 pH7	Leucin-2	60	94.9
	Raffinose	40	5.1
R99340 pH7	Leucin-3	20	97.1
	Raffinose	80	2.9
R99342 pH7	Alanin-3	20	41.3
	Raffinose	80	58.7

Tabelle 19. Lachscalctonin/Raffinose/Trileucin-Formulierungen pH 4

Los Nr.		Formulierung (% w/w)	ESCA-Ergebnis (% w/w)
R99435 pH4	Lachscalctonin	5	36.6
	Leucin-3	0	0
	Raffinose	95	63.4
pH4	Lachscalctonin	5	17.9
	Leucin-3	5	7.0
	Raffinose	90	75.1
R99437 pH4	Lachscalctonin	5	46.4
	Leucin-3	20	24.2
	Raffinose	75	29.4
R99438 pH4	Lachscalctonin	5	22.7
	Leucin-3	40	74.8
	Raffinose	55	2.5
R99439 pH4	Lachscalctonin	5	16.4
	Leucin-3	60	81.6
	Raffinose	35	2.0

[0139] Die vorstehenden Ergebnisse zeigen, dass die einen oberflächenaktiven Stoff enthaltenden Pulver an der Oberfläche in der Konzentration des oberflächenaktiven Stoffs angereichert sind. Die Oberflächenanreicherung von Di- oder Trileucin wird sowohl für die Pulver ohne Wirkstoff in Tabelle 18 als auch für die Lachscalctonin-Pulver in Tabelle 19 beobachtet.

[0140] Obwohl die ESCA-Ergebnisse für die Calcitonin-Pulver einigen Schwankungen unterliegen (das ist auf die Schwierigkeit zurückzuführen, Beiträge von Bestandteilen mit demselben Atom innerhalb ihrer Strukturen, d. h. Calcitonin gegen Trileucin, zur Oberflächenkonzentration gegeneinander abzugrenzen), stützt die festgestellte allgemeine Tendenz den Befund, dass bei Pulvern die Oberflächenkonzentration des Dileucyldipeptids oder -tripeptids größer als in der Masse des Pulvers ist.

### Patentansprüche

1. Trockenpulverzusammensetzung, umfassend einen Wirkstoff und ein Di- oder Tripeptid, umfassend mindestens zwei Leucine, wobei die Zusammensetzung Teilchen mit einem MMD von weniger als 10 µm umfasst.
2. Trockenpulverzusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung zur Verabreichung in die Lunge oder tiefe Lunge durch Inhalieren geeignet ist.
3. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Trockenpulverteilchen, wobei die Konzentration des Di- oder Tripeptids an der Oberfläche der Teilchen größer als in der Masse des Pulvers ist.
4. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei das Di- oder Tripeptid in einer Menge vorhanden ist, die wirksam ist, die freigesetzte Dosis der Zusammensetzung gegenüber der freigesetzten Dosis der Zusammensetzung ohne das Di- oder Tripeptid zu erhöhen.
5. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend 1 Gew.-% bis 99 Gew.-% Di- oder Tripeptid.
6. Zusammensetzung gemäß Anspruch 5, umfassend 5 Gew.-% bis 75 Gew.-% Di- oder Tripeptid.
7. Zusammensetzung gemäß Anspruch 6, umfassend 5 Gew.-% bis 50 Gew.-% Di- oder Tripeptid.
8. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, weiterhin umfassend einen pharmazeutisch verträglichen Exzipienten oder Träger.

9. Zusammensetzung gemäß Anspruch 8, wobei der Exzipient aus Kohlenhydraten, Aminosäuren, Peptiden, Proteinen, Salzen organischer Säuren und Polymeren ausgewählt ist.
10. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die freigesetzte Dosis mindestens 30 % beträgt.
11. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die freigesetzte Dosis mindestens 45 % beträgt.
12. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend ein Dipeptid, wobei das Dipeptid Dileucin ist.
13. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend ein Tripeptid, welches zwei Leucine und eine Aminosäure, ausgewählt aus Leucin (Leu), Valin (Val), Isoleucin (Ile), Tryptophan (Trp), Alanin (Ala), Methionin (Met), Phenylalanin (Phe), Tyrosin (Tyr), Histidin (His), und Prolin (Pro), umfasst.
14. Zusammensetzung gemäß Anspruch 13, wobei das Tripeptid Trileucin ist.
15. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einem MMD von weniger als 4,0 µm.
16. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einem MMAD von weniger als 10 µm.
17. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einem MMAD von weniger als 4 µm.
18. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei das Di- oder Tripeptid eine Glasübergangstemperatur von mehr als 40 °C aufweist.
19. Trockenpulverzusammensetzung gemäß Anspruch 1 mit einer zeitlich stabilen Dispersität, gekennzeichnet durch einen Abfall der freigesetzten Dosis von nicht mehr als 10 %, wenn die Zusammensetzung unter Umgebungsbedingungen über einen Zeitraum von 3 Monaten gelagert wird.
20. Trockenpulverzusammensetzung gemäß Anspruch 1 mit chemischer Stabilität im Zeitablauf, gekennzeichnet durch einen Abbau des Wirkstoffs von weniger als 5 Gew.-% beim Lagern der Zusammensetzung unter Umgebungsbedingungen über einen Zeitraum von 3 Monaten.
21. Trockenpulverzusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei der Wirkstoff ausgewählt ist aus Insulin, Cyclosporin, Parahormon, Follikel stimulierendem Hormon, VLA-4-Inhibitoren, Interleukin-4R, Thrombopoietin, C-Peptid, Amylin, Proinsulin, Interleukin-1, Interleukin-2, alpha-1-Antitrypsin, Budesonid, menschlichem Wachstumshormon, Wachstumshormon freisetzendem Hormon, Interferon-alpha, Interferon-beta, growth colony-stimulierendem Faktor, Keratinozyten-Wachstumsfaktor, glialem Wachstumsfaktor, Tumornekrosefaktor, luteinisierendes Hormon freisetzendem Hormon, Calcitonin, Heparin von niedrigem Molekulargewicht, Somatostatin, RS-Virusantikörper, Erythropoietin, Faktor VIII, Faktor IX, Ceredase, Cerezym und Analoga, Agonisten und Antagonisten davon.
22. Trockenpulverzusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einer Schüttdichte von 0,1 bis 10 g/cm<sup>3</sup>.
23. Trockenpulverzusammensetzung gemäß Anspruch 22, umfassend Teilchen mit einer Schüttdichte von 0,5 bis 2,0 g/cm<sup>3</sup>.
24. Verfahren zum Verbessern des Aerosolverhaltens eines Trockenpulvers, wobei das Verfahren umfasst: Einbringen eines Di- oder Tripeptids, umfassend mindestens zwei Leucine, in eine flüssige Formulierung, umfassend einen Wirkstoff, und Trocknen der flüssigen Formulierung, so dass ein Trockenpulver, das den Wirkstoff und das Di- oder Tripeptid enthält, hergestellt wird, wobei das erhaltene Trockenpulver eine freigesetzte Dosis besitzt, die gegenüber der freigesetzten Dosis eines Trockenpulvers mit den gleichen Bestandteilen, aber ohne das Di- oder Tripeptid, erhöht ist.
25. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei der Einbringungsschritt das Einbringen eines Dipeptids umfasst, wobei das Dipeptid Dileucin ist.

26. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei der Einbringungsschritt das Einbringen eines Tripeptids, umfassend zwei Leucine und eine Aminosäure, ausgewählt aus Leucin (Leu), Valin (Val), Isoleucin (Ile), Tryptophan (Trp), Alanin (Ala), Methionin (Met), Phenylalanin (Phe), Tyrosin (Tyr), Histidin (His), und Prolin (Pro), umfasst.

27. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei die flüssige Formulierung eine wässrige Formulierung ist.

28. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei ein pharmazeutisch verträglicher Exzipient oder Träger ebenfalls in die flüssige Formulierung eingebracht wird.

29. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei der Trocknungsschritt ausgewählt ist aus Sprühtrocknen, Gefriertrocknen und Sprühgefriertrocknen.

30. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei die freigesetzte Dosis des Trockenpulvers um mindestens 5 % gegenüber einem Trockenpulver mit den gleichen Bestandteilen und ohne das Di- oder Tripeptid erhöht ist.

31. Verfahren gemäß Anspruch 30, wobei die freigesetzte Dosis des Trockenpulvers um mindestens 10 % gegenüber einem Trockenpulver mit den gleichen Bestandteilen und ohne das Di- oder Tripeptid erhöht ist.

32. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei das Trockenpulver durch eine freigesetzte Dosis von mindestens 30 % gekennzeichnet ist.

33. Verfahren gemäß Anspruch 24, wobei der Wirkstoff ausgewählt ist aus Insulin, Cyclosporin, Parahormon, Follikel stimulierendem Hormon, VLA-4-Inhibitoren, Interleukin-4R, Thrombopoietin, C-Peptide, Amylin, Proinsulin, Interleukin-1, Interleukin-2, alpha-1-Antitrypsin, Budesonid, menschlichem Wachstumshormon, Wachstumshormon freisetzendem Hormon, Interferon-alpha, Interferon-beta, growth colony-stimulierendem Faktor, Keratinozyten-Wachstumsfaktor, glialem Wachstumsfaktor, Tumornekrosefaktor, luteinisierendes Hormon freisetzendem Hormon, Calcitonin, Heparin von niedrigem Molekulargewicht, Somatostatin, RS-Virusantikörper, Erythropoietin, Faktor VIII, Faktor IX, Ceredase, Cerezyme und Analoga, Agonisten und Antagonisten davon.

34. Verwendung der Trockenpulverzusammensetzung nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Medikaments zur Verabreichung in die Lungen eines Säugerpatienten, wobei die Verabreichung das Verabreichen durch Inhalieren der Trockenpulverzusammensetzung in aerosolisierter Form umfasst.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen