



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106061482 A

(43)申请公布日 2016. 10. 26

(21)申请号 201480066901.9

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(22)申请日 2014.10.07

代理人 初明明 林森

(30)优先权数据

61/888066 2013.10.08 US

(51)Int.Cl.

A61K 31/436(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.06.07

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/059529 2014.10.07

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/054280 EN 2015.04.16

(71)申请人 拉姆医疗公司

地址 美国康涅狄格州

(72)发明人 J.M. 罗思伯格 H. 利钦斯坦

T.阿默 L.S.小梅尔文

权利要求书3页 说明书36页 附图8页

(54)发明名称

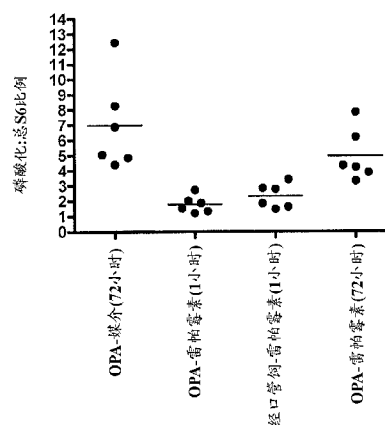
用于治疗淋巴管平滑肌瘤病的雷帕霉素

(57)摘要

本发明涉及在需要这样治疗的人类受试者中治疗淋巴管平滑肌瘤病的方法和组合物。该方法包括通过吸入给予受试者包含雷帕霉素或其前药或衍生物(包括类似物)的气溶胶组合物。

T.检验	OPA-媒介 (72小时)	OPA-雷帕霉素 (1小时)	经口管饲-雷 帕霉素(1小时)	OPA-雷帕霉素 (72小时)
P值	X	X	X	X
0.00788	X			
0.012025	X			
0.19463	X			

LAM-001肺样品(S6磷酸化)



1. 一种经肺递送的药物干粉组合物,其包含一定量的药物微粒、载体颗粒和一种或多种任选的赋形剂,用于在人类受试者中治疗淋巴管平滑肌瘤病,所述药物选自雷帕霉素或其前药或衍生物。

2. 权利要求1的组合物,其中所述微粒由具有从0.1至10微米的直径和从1至5微米的平均直径的药物颗粒组成。

3. 权利要求2的组合物,其中所述颗粒具有从1.5至4微米、从1.5至3.5微米或从2至3微米的平均直径。

4. 权利要求1-3的任一项的组合物,其中所述载体选自阿拉伯糖、葡萄糖、果糖、核糖、甘露糖、蔗糖、海藻糖、乳糖、麦芽糖、淀粉、葡聚糖、甘露醇、赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、二棕榈酰基磷脂酰胆碱、卵磷脂、聚乳酸、聚(乳酸-谷氨酸)共聚物和木糖醇,或任何上述载体的混合物。

5. 权利要求1-4的任一项的组合物,其中所述载体颗粒具有范围从1至200微米、从30至100微米、或少于10微米的直径。

6. 权利要求1-5的任一项的组合物,其中所述载体包含两种不同的载体的共混物,即第一载体和第二载体的共混物,或由这两种不同的载体的共混物组成。

7. 权利要求6的组合物,其中所述载体由两种不同的乳糖载体的共混物组成。

8. 权利要求6或7的组合物,其中第一载体由具有范围从约30至100微米的直径的颗粒组成和第二载体由具有少于10微米的直径的颗粒组成。

9. 权利要求8的组合物,其中两种不同的载体的比例是在从3:97至97:3的范围内。

10. 权利要求1-9的任一项的组合物,其中粉末中的药物与载体比率是从0.5 %至2 % (w/w)。

11. 权利要求10的组合物,其中粉末中的药物与载体比率是1 % (w/w)。

12. 权利要求1-11的任一项的组合物,其中药物的量是基于组合物的总重量的从0.5至20% (w/w)。

13. 权利要求12的组合物,其中药物的量是约1 %-2 % (w/w)。

14. 权利要求1-13的任一项的组合物,其中存在一种或多种任选的赋形剂,并且所述赋形剂选自磷脂和脂肪酸的金属盐。

15. 权利要求14的组合物,其中磷脂选自二棕榈酰基磷脂酰胆碱和卵磷脂。

16. 权利要求14的组合物,其中脂肪酸的金属盐是硬脂酸镁。

17. 权利要求14-16的任一项的组合物,其中任选的一种或多种赋形剂以范围从0.01至0.5%的赋形剂与大的载体颗粒的重量比被涂覆在载体颗粒上。

18. 权利要求1-17的任一项的组合物,其中药物的量是有效抑制mTORC1的生物活性的量。

19. 权利要求18的组合物,其中药物的量是有效抑制S6蛋白的磷酸化的量。

20. 权利要求1-19的任一项的组合物,其中药物的量是有效实现从5至400微克的可吸入剂量被递送至肺的量。

21. 权利要求20的组合物,其中可吸入剂量是约10、约50、约100或约250微克。

22. 权利要求1-21的任一项的组合物,其中药物的量是在受试者中有效产生少于5 ng/ml、少于2 ng/ml、少于1 ng/ml、少于0.5 ng/ml或少于0.25 ng/ml的血谷水平的量。

23. 权利要求22的组合物,其中血谷水平是少于1 ng/ml、少于0.5 ng/ml或少于0.25 ng/ml。

24. 权利要求1-23的任一项的组合物,其中药物的量是在肺组织中有效产生从1 ng/g至1 ug/g的药物浓度的量。

25. 权利要求24的组合物,其中在肺组织中的药物浓度是约10 ng/g、约25 ng/g、约50 ng/g、约100 ng/g或约200 ng/g。

26. 权利要求1-25的任一项的组合物,其中组合物中的药物的量是从50至500 ug,从50至250 ug,或从50至150 ug。

27. 权利要求1-26的任一项的组合物,其中所述药物在给予后,在肺中以约1 ng/g、约10 ng/g、约25 ng/g、约50 ng/g或约100 ng/g的治疗水平持续一段时间,所述一段时间选自约6-10小时、约6-14小时、约6-24小时和约6-72小时。

28. 权利要求27的组合物,其中所述一段时间选自约10小时、约14小时、约24小时和约72小时。

29. 权利要求1-28的任一项的组合物,其中所述药物是雷帕霉素。

30. 权利要求1-29的任一项的组合物,其中在1-12个月或1-36个月的贮存后,组合物具有大于20%的细颗粒分数(FPF),其相应细颗粒剂量(FPD)范围为从10微克至2毫克,优选少于0.5毫克。

31. 权利要求1-30的任一项的组合物,其还包含一种或多种另外的治疗剂。

32. 权利要求31的组合物,其中一种或多种另外的治疗剂选自雌激素拮抗剂、他汀类药物、src抑制剂和VEGF-R抑制剂。

33. 权利要求31的组合物,其中一种或多种另外的治疗剂选自来曲唑、他莫昔芬、辛伐他汀、塞卡替尼、帕唑帕尼、伊马替尼及其组合。

34. 权利要求1-33的任一项的组合物,其中组合物递送有效改善受试者的肺功能的量的药物,如通过最大肺活量(FVC)和最大呼气量(FEV1)测量的。

35. 权利要求1-34的任一项的组合物,其中组合物递送有效减少通过放射学检查可检测的胸腔积液的体积或量的量的药物。

36. 权利要求1-35的任一项的组合物,其中组合物适合每日给药一次。

37. 权利要求1-36的任一项的组合物,其由湿抛光法生产,该方法包括以下步骤:制备药物的水性混悬液,使所述药物混悬液经历微流化作用,和喷雾干燥生成的颗粒以形成干燥粉末。

38. 权利要求1-37的任一项的组合物,其中所述药物是雷帕霉素,所述载体由两种不同的乳糖载体的共混物组成,第一载体由具有范围从约30至100微米的平均直径的颗粒组成和第二载体由具有少于10微米的平均直径的颗粒组成,两种不同载体的比例是约97:3-3:97,和雷帕霉素的量是从25至1400微克。

39. 一种用于治疗淋巴管平滑肌瘤病的单位剂型,其包含权利要求1-38的任一项的组合物,其中药物的量是从约1至2500微克,从25至250微克,或从50至150微克。

40. 权利要求39的单位剂型,其中药物的量是从约50至250微克。

41. 权利要求39或40的单位剂型,其中所述剂型是适用于干粉吸入器装置的胶囊。

42. 权利要求39-41的任一项的单位剂型,其中所述胶囊包含从1 mg至100 mg的粉末。

43. 权利要求42的单位剂型,其中所述胶囊包含从10 mg至40 mg的粉末。

44. 权利要求39-43的任一项的单位剂型,其中胶囊是明胶、塑料、聚合物或纤维素胶囊,或呈现为铝箔/铝箔或铝箔/塑料泡罩包装的形式。

45. 一种药物包装或药剂盒,其包含权利要求1-38的任一项的组合物或权利要求39-44的任一项的单位剂型,和使用说明书。

46. 一种包含贮库的干粉递送装置,所述贮库包含权利要求1-38的任一项的组合物或权利要求39-44的任一项的单位剂型。

47. 权利要求46的干粉递送装置,其中所述贮库是装置内的一个完整腔室、胶囊或泡罩。

48. 权利要求46或47的干粉递送装置,其中所述装置选自Plastiape® RS01型7、Plastiape® RS00型8、XCaps®、Handihaler®、Flowcaps® TwinCaps®,和Aerolizer®。

49. 一种用于在需要这样治疗的人类受试者中治疗淋巴管平滑肌瘤病的方法,所述方法包括通过吸入给予受试者权利要求1-38的任一项的组合物或权利要求39-44的任一项的单位剂型。

用于治疗淋巴管平滑肌瘤病的雷帕霉素

发明领域

[0001] 本发明涉及用于肺部递送,优选地通过吸入,用于预防和治疗淋巴管平滑肌瘤病的方法和包含雷帕霉素的药物组合物。

[0002] 发明背景

淋巴管平滑肌瘤病(LAM)是一种影响30-40%的患有结节性硬化复合症(TSC)的女性的多系统疾病,这是一种通常致命的疾病,所述疾病的特征在于在肺中异常生长的不正常平滑肌样细胞的普遍增殖。这些细胞(称为LAM细胞)的增殖导致肺中囊肿的形成和在轴向淋巴管中充满液体的囊性结构(称为淋巴管平滑肌瘤)。结果是渐进性肺实质的囊性破坏,淋巴管、气道的阻塞,和渐进性呼吸衰竭。此外,LAM细胞可形成肿瘤。这些一般为称为血管平滑肌脂肪瘤的缓慢生长的错构瘤。肾血管平滑肌脂肪瘤可导致LAM患者中的肾衰竭。LAM细胞的异常增殖至少部分地是由于结节性硬化复合症肿瘤抑制基因,TSC1或TSC2之一的失活突变造成的。TSC基因是哺乳动物的雷帕霉素靶标(mTOR)的负调节剂。mTOR途径是细胞生长、代谢和细胞存活的重要的控制点。由于TSC基因的失活,LAM细胞显示mTOR和在mTOR途径中的许多其它的激酶包括Akt和S6K的组成性激活。

[0003] LAM一般发生在育龄妇女中,尽管它也可发生在男性中。虽然它在具有TSC的妇女中是最普遍的,它也可发生在没有TSC的临床表现的人中,以及在TSC1或TSC2肿瘤抑制基因中没有种系突变的那些人中。这些情况被称为散发LAM。因此,LAM可作为散发的、非遗传的形式以及伴随结节性硬化复合症出现。

[0004] 尽管LAM可缓慢地进展,它最终导致呼吸衰竭和死亡。症状发作后10年,55%的患者停止呼吸,20%靠吸氧维持和10%已死亡。见例如,Johnson等2004 *Thorax*. 患有淋巴管平滑肌瘤病的UK患者的存活和疾病进展(Survival and disease progression in UK patients with lymphangioleiomyomatosis)。目前尚无用于治疗或预防LAM的经批准的药物。主要治疗选项包括口服雷帕霉素的非标签使用(西罗莫司,其经FDA批准用于预防器官排斥和肾移植,见下文),或口服依维莫司的非标签使用。

[0005] 雷帕霉素是由吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)产生的大环三烯抗生素。见例如,美国专利号3,929,992。雷帕霉素是mTOR的抑制剂。雷帕霉素的免疫抑制和抗炎特性最初显示其在移植领域和在自身免疫性疾病的治疗中的应用。例如,已显示它预防响应于白蛋白过敏攻击的体液(IgE-样)抗体的形成,抑制鼠T-细胞激活,和延长在组织不相容的啮齿动物中器官移植的存活时间。在自身免疫性疾病的啮齿动物模型中,它抑制与系统性红斑狼疮、胶原诱导性关节炎、自身免疫性I型糖尿病、自身免疫性心肌炎、实验性变应性脑脊髓炎、移植物抗宿主疾病和自身免疫性葡萄膜视网膜炎相关的免疫介导的事件。

[0006] 雷帕霉素也用其药品通用名,西罗莫司(见例如,Dr. Reddys Labs Ltd.的ANDA # 201578,2013年5月28日批准)提及。西罗莫司是FDA批准的并由Wyeth (Pfizer)以商品名RAPAMUNE在美国上市,用于预防器官排斥和肾移植。它以口服溶液剂(1 mg/ml)或片剂(多规格)的形式存在。Wyeth (Pfizer)也以商品名TORISEL (坦罗莫司)上市一种治疗晚期肾细胞癌的衍生物,其经静脉内给予。坦罗莫司是西罗莫司的水溶性前药。Cordis,Johnson &

Johnson的分支机构,以商品名CYPHER上市一种西罗莫司-洗脱冠状动脉支架。在本上文中,西罗莫司的抗增殖作用在球囊血管成形术后预防冠状动脉的再狭窄。授权至Berg等(Novartis)的US 2010/0305150描述用于治疗 and 预防神经皮肤性障碍,例如由TSC介导的那些,包括结节性硬化症,以及由神经纤维瘤病1型(NF-1)介导的那些的雷帕霉素衍生物。雷帕霉素及其衍生物被进一步描述于Nishimura, T.等(2001) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163:498-502和美国专利号6,384,046和US 6,258,823中。

[0007] 雷帕霉素在其临床上批准的范围内的使用有几个已知的不利影响,包括肺毒性(RAPAMUNE标签警示,它不适用于肺移植患者)、增加的癌风险,和糖尿病-样症状。雷帕霉素与肺毒性的出现有关,通常呈现为间质性肺炎的形式,但肺泡蛋白沉积症也已有记录。见例如,Nocera等,肝移植患者中的西罗莫司疗法:单一中心的初步经验(Sirolimus Therapy in Liver Transplant Patients: An Initial Experience at a Single Center), *Transplantation Proceedings* (2008), 40(6), 1950-1952; Perez等,肝移植中与西罗莫司有关的间质性肺炎:一个病例报告(Interstitial Pneumonitis Associated With Sirolimus in Liver Transplantation: A Case Report), *Transplantation Proceedings* (2007), 39(10), 3498-3499; Hashemi-Sadraei等,在长期抗凝治疗的肾移植接受者中的西罗莫司-相关的弥漫性肺泡出血(Sirolimus-associated diffuse alveolar hemorrhage in a renal Transplant recipient on long-term anticoagulation), *Clinical Nephrology* (2007), 68(4), 238-244; Pedroso等,肺泡蛋白沉积症-西罗莫司的一种罕见的肺毒性, *Transplant International* (2007), 20(3), 291-296。雷帕霉素-诱导的肺毒性的原因尚不知道。

[0008] 严重的呼吸不利事件也与在长期给药下导致循环血浓度大于1毫微克/mL范围的使用作抗癌疗法的西罗莫司有关。例如,西罗莫司前药,坦罗莫司的肺毒性,在2009年的题目为“间质性肺疾病是坦罗莫司治疗肾癌患者的罕见副作用(interstitial lung disease is a rare side effect of temsirolimus treatment in renal cancer patients)”的报告有记录。Aparicio等, *Clinical & Translational Oncology* (2009), 11(8), 499-510; Vahid等,用于实体瘤的新型抗肿瘤剂的肺并发症(Pulmonary complications of novel antineoplastic agents for solid tumors), *Chest* (2008) 133:528-538。此外,一项2012汇总-分析的结论是给予坦罗莫司或依维莫司的10%癌症患者可能经历轻度级别的毒性,伴随生活质量的不断恶化,在一些病例中疗法中断。见Iacovelli等,用mTOR抑制剂治疗的恶性疾病患者中的肺毒性的发生率和风险(Incidence and risk of pulmonary toxicity in patients treated with mTOR inhibitors for malignancy)。一项公开的试验的汇总-分析(A meta-analysis of published trials), *Acta oncologica* (2012), 51(7), 873-879。而且,在大鼠中用坦罗莫司进行的安全性药理学研究显示呼吸速率减少以及肺泡巨噬细胞浸润和肺部炎症(见从US FDA网站获得的对坦罗莫司NDA 22088的药理学评论)。这些不利作用在所述药物由于系统给予在循环血容量中的相对高浓度的情况下被观察到。

[0009] 尽管它可能对肺有毒性,口服给予雷帕霉素作为潜在的LAM疗法已显示初步的前景。见 *New Eng. J. Medicine* 364:1595-1606 (2011)和Hammes和Krymskaya的综述, *Horm. Cancer* 4(2):70-7 (2013);也见Ando等 *Respir Investig.* 51(3):175-8 (2013)

“低剂量西罗莫司用于治疗淋巴管平滑肌瘤病的功效和安全性(The efficacy and safety of low-dose sirolimus for treatment of lymphangioleiomyomatosis)”。但临床证据也显示雷帕霉素在这种情况下的局限性和对治疗LAM的改进的疗法和治疗方案的需要。雷帕霉素的主要局限性是需要长期使用所述药物,并且最重要的是,雷帕霉素还与其它的不利事件(除了潜在的肺毒性)有关。例如,在20名患者中完成的一项24个月的非随机开放标签试验中,对口服给予的西罗莫司减少血管平滑肌脂肪瘤的能力进行了测试,血管平滑肌脂肪瘤为缓慢生长的错构瘤,其可导致患有TSC或散发LAM的患者的肾衰竭。Bissler等(2008) 用于结节性硬化复合症或淋巴管平滑肌瘤病中血管平滑肌脂肪瘤的西罗莫司(Sirolimus for angiomyolipoma in tuberous sclerosis complex or lymphangioleiomyomatosis). *N Engl J Med* 358(2):140-151。在该研究中,肿瘤血管平滑肌脂肪瘤在治疗期间“稍微”消退,但在疗法停止后趋向于增加。与西罗莫司有关的严重的不利事件包括腹泻、肺炎、肾盂肾炎、蜂窝组织炎(源自动物咬伤)、口腔炎,和肾血管平滑肌脂肪瘤出血。给药剂量基于将预防肾移植患者的排斥的血清靶标水平且范围从1至15 ng/ml (西罗莫司血水平)。在另一个类似的研究(2期,非随机开放标签试验)中,患有TSC或散发LAM的16名患者用口服西罗莫司治疗至多2年。Davies等(2011) 用于结节性硬化症和散发淋巴管平滑肌瘤病中的血管平滑肌脂肪瘤的西罗莫司疗法:一项2期试验(Sirolimus therapy for angiomyolipoma in tuberous sclerosis and sporadic lymphangioleiomyomatosis: a phase 2 trial). *Clin Cancer Res* 17(12):4071-4081。在该研究中,西罗莫司的稳态血水平是3-10 ng/ml,有超过一半的患者保持在3-6 ng/ml的维持水平。西罗莫司治疗显示肾血管平滑肌脂肪瘤的持续消退。然而,在肿瘤反应随着治疗的继续而维持的同时,很少的进一步退缩在第二年的治疗期间发生。与西罗莫司有关的不利事件包括口腔粘膜炎、呼吸道感染,和蛋白尿。在另一个已证实有进展的10位LAM患者的研究中,因为严重的复发性下呼吸道感染或西罗莫司-诱导的肺炎,有3位患者中断了西罗莫司。Neurohr等, 西罗莫司是患有渐进性肺淋巴管平滑肌瘤病的患者的一个治疗选项吗?(Is sirolimus a therapeutic option for patients with progressive pulmonary lymphangioleiomyomatosis?) *Respiratory Research* (2011), 12:66。该研究得出结论,“西罗莫司可被认为是快速减少LAM患者的一个治疗选项”,但注意到其“给药可与一些患者的需要停止治疗的严重呼吸不利事件有关”和“在肺移植之前停用西罗莫司是迫不得已的”。最后,一项12个月的随机、双盲的89名患者的临床试验用患有LAM的46名患者进行,接着是12个月的观察期。McCormack等(2011) 西罗莫司在淋巴管平滑肌瘤病中的功效和安全性. *N Engl J Med* 364:1595-1606。患者以5-15 ng/ml的西罗莫司血水平维持。在该研究中,西罗莫司治疗稳定肺功能,减少血清VEGF-D水平,并且与减少症状和改进生活质量有关。但肺功能的稳定需要连续治疗。重要的是,所有这些临床研究采用西罗莫司的口服制剂。这是因为鉴于雷帕霉素的熟知的肺毒性,直接递送至肺的雷帕霉素的气溶胶制剂被认为是极不可能成功的,如通过上文引用的文章举例说明的。

[0010] 由Lehrer在2013年发表的美国专利申请反映了这样的观点,即“雷帕霉素(西罗莫司)由于其证据充分的肺毒性,间质性肺炎而不能安全地吸入”。见US 20130004436,引用Chhajed等(2006) 73:367-374。Lehrer专利申请涉及用于治疗 and 预防肺癌和淋巴管平滑肌脂肪瘤的组合物和方法。尽管一些早期出版物,例如授予Sturm等的美国专利号5,080,899

(1991年2月提交)和美国专利号5,635,161 (1995年6月提交),包含一些配制的用于通过吸入递送的雷帕霉素的一般描述,这样的一般描述没有任何证据支持并且在许多报告的雷帕霉素-诱导的肺毒性的发生之前出现,所述肺毒性在其更广泛的接受(在移植情况下作为免疫抑制剂和在抗癌情况下作为细胞增殖抑制剂)之后出现,如通过上文讨论的报告所证实的。

[0011] WO 2011/163600描述他克莫司的气溶胶制剂,其像雷帕霉素是一种大环内酯。但他克莫司是不同于西罗莫司的独特的化学实体和他克莫司的分子靶标是钙调神经磷酸酶,而不是mTOR,和雷帕霉素不同,他克莫司不显示肺毒性并且事实上适合于在肺移植后预防排斥。

[0012] 鉴于广泛认识的雷帕霉素-诱导的肺毒性的潜在性,在治疗LAM中用于肺部递送的包含雷帕霉素的药物组合物并不被认为是在人类中的一项可行的治疗选项。

[0013] 通过吸入的方式将药物递送至肺是治疗多种病症的重要手段,所述病症包括常见的局部病症,例如囊性纤维化、肺炎、支气管哮喘和慢性阻塞性肺疾病;一些系统性病症,包括激素替代、疼痛控制、免疫缺陷、红血球生成、糖尿病、肺癌等。见Yi等的综述 *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* 23:181-7 (2010)。适合于通过吸入治疗肺癌的药物包括顺铂、卡铂、紫杉烷类和蒽环类。见例如,美国专利号6,419,900;6,419,901;6,451,784;6,793,912;和美国专利申请公布号US 2003/0059375和US 2004/0039047。此外,通过吸入给药的多柔比星和替莫唑胺已被提议用于治疗肺转移。见例如,美国专利号7,288,243和美国专利申请公布号2008/0008662。

[0014] 附图简述

图1:小鼠血中10.6 ng/mL雷帕霉素(上部)和内部标准(底部)的LC-MS/MS色谱图。

[0015] 图2:小鼠肺组织匀浆中10.6 ng/mL雷帕霉素(上部)和内部标准(底部)的代表性色谱图。

[0016] 图3:小鼠血中雷帕霉素的校准曲线。

[0017] 图4:小鼠肺组织匀浆中雷帕霉素的校准曲线。

[0018] 图5:在采自通过OPA给予雷帕霉素的小鼠2-07的血中雷帕霉素(上部)和内部标准(底部)的代表性色谱图。

[0019] 图6:在采自通过OPA给予雷帕霉素的小鼠2-07的肺组织匀浆中雷帕霉素(上部)和内部标准(底部)的代表性色谱图。

[0020] 图7:在OPA和口服给予雷帕霉素后小鼠肺中的S6磷酸化。

[0021] 图8:每日一次重复给予肺的预测雷帕霉素血浓度。

[0022] 发明概述

本发明部分基于在动物研究中当雷帕霉素直接递送至肺时,其令人吃惊的药代动力学的发现。不幸的是,直接给药至肺导致雷帕霉素在肺组织中比在血中更高的浓度。这与期望的高度亲脂性小分子药物例如雷帕霉素典型地从肺快速扩散进入循环系统,然后在分配的体积中均匀地再分配的结果相反。此外,所述药物以具有治疗效果的足够高的浓度持续存在于肺中。最后,直接给药至肺还不能在呼吸道中产生任何急性或慢性毒性,这是考虑到雷帕霉素与肺毒性的关联,特别是在间质性肺炎的形式中的另一个意外的后果。

[0023] 如本文所述,为了提供通过TOR信号传导途径影响的疾病和障碍的有效局部治疗

和预防,存在对优选地通过吸入直接递送至肺的雷帕霉素、其前药、衍生物和类似物的药物制剂的需求。这样的局部治疗减少或消除毒性和不利事件,包括与由系统递送所述药物所致的雷帕霉素在血中的升高浓度有关的那些。本发明解决了这种需求。

[0024] 本发明提供用于直接递送至肺的雷帕霉素的组合物,其提供有效抑制肺中mTOR信号传导,且对肺组织具有低或无毒性,和导致雷帕霉素的血水平少于约1 ng/ml的量的雷帕霉素。预期本发明的组合物呈现了一种改进的安全概况,特别是与导致持续在1 ng/ml-15 ng/ml范围内血浓度的目前的雷帕霉素剂型相比在它们的慢性或长期使用方面。鉴于产生的雷帕霉素的极低血水平,预期本组合物的低的肺毒性与由于系统暴露于雷帕霉素的无或基本上较少不利事件的可能性结合。因此,预期本发明的组合物显示与现有的经由胃肠道或静脉内递送的剂型比较的更大的治疗指数。

[0025] 本发明涉及使用设计用于肺部递送,优选地通过吸入的、包含雷帕霉素的药物组合物,治疗和预防LAM的组合物和方法。在一个实施方案中,本发明提供一种在需要这样治疗的人受试者中治疗和预防LAM的方法,该方法包括给予受试者包含雷帕霉素(也称为西罗莫司)或其前药或衍生物的可气溶胶化的(aerosolizable)组合物。本发明的组合物可以单独使用,或与一种或多种治疗LAM的另外的疗法或治疗方案组合。此外,本文提供的组合物可包含雷帕霉素,或其前药或衍生物,作为在组合物中的唯一的治疗剂,或雷帕霉素可与一种或多种另外的治疗剂在单一的剂型中配制。

[0026] 因此,本发明提供一种用于肺递送的药物干粉组合物,其包含一定量的药物微粒、载体颗粒和一种或多种任选的赋形剂,用于在人受试者中治疗淋巴管平滑肌瘤病,所述药物选自雷帕霉素或其前药或衍生物。

[0027] 在一个实施方案中,组合物中的药物的量是从50至500微克,从50至250微克,或从50至150微克。

[0028] 在一个实施方案中,所述药物是雷帕霉素。在一个实施方案中,所述药物选自依维莫司、坦罗莫司、地磷莫司(ridaforolimus)、乌米莫司(umiroliimus)和唑罗莫司。

[0029] 在一个实施方案中,微粒由具有从约0.1至10微米或从约1至5微米的平均直径的药物颗粒组成。在一个实施方案中,颗粒具有约1.5-4微米,约1.5-3.5微米,或约2-3微米的平均直径。

[0030] 载体可选自阿拉伯糖、葡萄糖、果糖、核糖、甘露糖、蔗糖、海藻糖、乳糖、麦芽糖、淀粉、葡聚糖、甘露醇、赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、二棕榈酰基磷脂酰胆碱、卵磷脂、聚乳酸、聚(乳酸-谷氨酸)共聚物和木糖醇,和任何前述载体的混合物。在一个实施方案中,载体包含两种不同的载体的共混物或由两种不同的载体的共混物组成。载体的颗粒可具有范围从至200微米,从30至100微米,或小于10微米的直径。其中载体由两种不同的载体的共混物组成,每种载体由测定为平均颗粒直径的不同尺寸范围的颗粒组成。在一个实施方案中,载体由两种不同的载体,第一载体和第二载体的共混物组成。第一载体由具有范围从约30至100微米的直径的颗粒组成和第二载体由具有小于10微米的直径的颗粒组成。两种不同的载体的比例是在从3:97至97:3的范围内。在一个实施方案中,载体由两种不同的乳糖载体的共混物组成。

[0031] 粉末中的药物与载体比例可以是0.5 %至2 % (w/w)。在一个实施方案中,粉末中的药物与载体比例是1 % (w/w)。

[0032] 组合物中的药物的量可以是基于组合物的总重量的从约0.5 %至20 % (w/w)。在一个实施方案中,药物的量是从约1 %至2 % (w/w)。

[0033] 在一个实施方案中,一种或多种任选的赋形剂存在于组合物中并选自磷脂和脂肪酸的金属盐,和前述赋形剂的混合物。在一个实施方案中,磷脂选自二棕榈酰基磷脂酰胆碱和卵磷脂。在一个实施方案中,脂肪酸的金属盐是硬脂酸镁。在一个实施方案中,一种或多种赋形剂以范围从0.01至0.5%的赋形剂与大的载体颗粒的重量比被涂覆在载体颗粒上。

[0034] 在一个实施方案中,在组合物中的药物的量是有效抑制mTORC1的生物活性的量。在一个实施方案中,药物的量是有效抑制S6K蛋白的磷酸化的量。在一个实施方案中,药物的量是有效实现递送至肺的从5至400微克的可吸入剂量的量。在一个实施方案中,可吸入剂量是约10、约50、约100或约250微克。在一个实施方案中,药物的量是在受试者中有效产生少于5 ng/ml,少于2 ng/ml,少于1 ng/ml,少于0.5 ng/ml,或少于0.25 ng/ml的血谷水平的量。在一个实施方案中,血谷水平是少于1 ng/ml,少于0.5 ng/ml或少于0.25 ng/ml。在一个实施方案中,药物的量是在肺组织中有效产生从1 ng/g至1微克(ug)/g的药物浓度的量。在一个实施方案中,在肺组织中的药物浓度是约10 ng/g、约25 ng/g、约50 ng/g、约100 ng/g,或约200 ng/g。在一个实施方案中,所述药物在优选给予人受试者后以约1 ng/g、约10 ng/g、约25 ng/g、约50 ng/g,或约100 ng/g的治疗水平持续存在于肺中一段时间,所述一段时间选自约6-10小时、约6-14小时、约6-24小时,和约6-72小时。在一个实施方案中,所述一段时间选自约10小时、约14小时、约24小时,和约72小时。

[0035] 在一个实施方案中,组合物在贮存1至12月或1至36月后具有范围从10微克至2毫克,优选地少于0.5毫克的相应细颗粒剂量(FPD)的大于20%的细颗粒分数(FPF)。在一个实施方案中,递送至患者的剂量,称为递送剂量(DD)或发出剂量(ED),范围从25微克至2.5毫克,优选地少于0.5毫克。

[0036] 在一个实施方案中,组合物还包含一种或多种另外的治疗剂。一种或多种另外的治疗剂可选自雌激素拮抗剂(例如来曲唑、他莫昔芬)、他汀类药物(例如辛伐他汀)、src抑制剂(例如塞卡替尼(saracatinib)),和VEGF受体抑制剂(例如帕唑帕尼)。在一个实施方案中,一种或多种另外的治疗剂选自来曲唑、他莫昔芬、辛伐他汀、塞卡替尼、帕唑帕尼和伊马替尼。

[0037] 在一个实施方案中,组合物递送有效改善受试者的肺功能的量的药物,如通过最大肺活量(FVC)和最大呼气量(FEV1)测量的。在一个实施方案中,组合物递送有效减少通过放射学检查可检测的胸腔积液的体积或量的量的药物。

[0038] 在一个实施方案中,组合物适合每日给药一次。

[0039] 在一个实施方案中,组合物由湿抛光法生产,包括制备药物的水性混悬液,使所述药物混悬液经历微流化作用,和喷雾干燥生成的颗粒以形成干燥粉末的步骤。

[0040] 在一个实施方案中,所述药物是雷帕霉素,载体由两种不同的乳糖载体的共混物组成,第一载体由具有范围从约30至100微米的平均直径的颗粒组成和第二载体由具有少于10微米的平均直径的颗粒组成,两种不同的载体的比例是约97:3-3:97,和雷帕霉素的量是从25至1400微克。

[0041] 本发明还提供一种用于治疗淋巴管平滑肌瘤病的单位剂型,其包含权利要求1至31的任一项的组合物,其中药物的量是从约15至2500微克,从25至250微克,或从50至150微

克。在一个实施方案中,药物的量是从约50至250微克。在一个实施方案中,剂型是适用于干粉吸入器装置的胶囊。在一个实施方案中,胶囊包含从1 mg至100 mg的粉末或从10 mg或40 mg的粉末。胶囊可以是明胶、塑料,或纤维素胶囊,或呈现为适用于DPI装置的铝箔/铝箔或铝箔/塑料泡罩包装的形式。

[0042] 本发明还提供一种包含本文描述的组合物或单位剂型,和使用说明书的药物包装或药剂盒。

[0043] 本发明还提供一种包含贮库的干粉递送装置,所述贮库包含本文描述的组合物或单位剂型。贮库可以是装置内的一个完整腔室、胶囊或泡罩。在一个实施方案中,装置选自Plastiap[®] RS01型7、Plastiap[®] RS00型8、XCaps[®]、Handihaler[®]、Flowcaps[®] TwinCaps[®],和Aerolizer[®]。

[0044] 本发明还提供一种用于在需要这样治疗的人受试者中治疗淋巴管平滑肌瘤病的方法,该方法包括通过吸入给予受试者本文描述的组合物或单位剂型。

[0045] 发明详述

本发明提供在需要这样治疗的人受试者中治疗和预防LAM的方法和组合物。需要这样的治疗的人受试者是已被诊断为患有LAM的人受试者。在一个实施方案中,人受试者是女性。在一个实施方案中,人受试者是男性。在一个实施方案中,人受试者已被诊断为患有结节性硬化复合症。在一个实施方案中,人受试者已被诊断为患有散发性LAM。在一个实施方案中,该方法包括通过吸入给予受试者包含在合适的载体中的雷帕霉素和任选的一种或多种添加剂的组合物。在本公开通篇内容中,术语“雷帕霉素”一般地被用来指雷帕霉素本身,也称为西罗莫司,以及指其前药(例如坦罗莫司)和衍生物。雷帕霉素的衍生物包括结构上与雷帕霉素类似的,处于相同的化学类别,为雷帕霉素类似物,或为雷帕霉素或其衍生物的药理学上可接受的盐的化合物。雷帕霉素、其前药和衍生物的进一步的描述和实例在以下章节中提供。

[0046] 本文描述的组合物是适合于产生可吸入的包含雷帕霉素或其前药或衍生物(统称为“药物”)的颗粒或小滴的可气溶胶化组合物。在一个实施方案中,所述药物选自西罗莫司、依维莫司和坦罗莫司。在一个实施方案中,所述药物是西罗莫司。组合物可包含所述药物、载体,和任选的一种或多种添加剂。组合物可呈现为水性溶液、干燥粉末,或一种或多种药理学上可接受的抛射剂和载体的混合物的形式,如在以下题为“用于吸入的组合物”的章节中详细描述。

[0047] 本发明还提供在需要这样治疗的人受试者中治疗和预防LAM的方法,该方法包括肺部给予本发明的组合物至受试者的步骤。在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量足以在受试者中获得从0.01至0.15 ng/ml,从0.075至0.350 ng/ml,从0.150至0.750 ng/ml,从0.750至1.5 ng/ml,或从1.5至5 ng/ml的药物血谷水平。在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量足以在受试者中获得少于5 ng/ml,少于2 ng/ml,少于1 ng/ml,或少于0.5 ng/ml的药物血谷水平。在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量足以在肺组织中产生在从1 ng/g至1 ug/g的范围内浓度的雷帕霉素。优选地,前述治疗水平的雷帕霉素通过每日一次给予本文描述的组合物而实现,优选地,给予受试者的雷帕霉素的总日剂量是每天少于2 mg或少于1 mg。肺递送和给药的进一步的方面,包括组合疗法,在以下题为“肺给药和剂量”的章节中描述。

[0048] 本发明的方法和组合物在需要这样的治疗的受试者,优选人受试者中有效治疗LAM。有效治疗LAM的药物的量(“有效量”或“治疗有效量”)指这样的药物(例如雷帕霉素)的量,其足以减少或改善LAM或LAM的一种或多种症状的进展、严重性和/或持续时间,预防LAM的发展,引起LAM的消退,或预防与LAM有关的一种或多种症状的发展或发生,或提高或改进涉及LAM的一种或多种症状的严重性或发生,或涉及LAM的发展或进展的另一种疗法(例如预防药或治疗剂)的预防或治疗效果。在特定的实施方案中,关于治疗LAM,治疗有效量指抑制或减少LAM细胞的增殖,抑制或减少LAM细胞的传播(转移),或减少肿瘤的尺寸或改进FVC或FEV1或减少胸腔积液量的(通过放射学检查可检测的)疗法(例如治疗剂)的量。在一优选的实施方案中,相对于对照(例如磷酸盐缓冲盐水(“PBS”)),治疗有效量的疗法(例如治疗剂)减少LAM细胞的增殖或肿瘤的尺寸至少5%,优选地至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%,或至少95%。因此,在本发明的方法的上下文中,术语“治疗”、“医治”和“处理”指减少LAM或与LAM有关的一种或多种症状的严重性、持续时间或进展。在特定的实施方案中,这些术语可指LAM细胞增殖的抑制或增殖的减少,LAM细胞的扩散(转移)的抑制或减少,或LAM-相关癌的发展或进展,或LAM-相关肿瘤尺寸的减少,或轴向淋巴管的受累的减少。

[0049] 在本发明方法的一个实施方案中,雷帕霉素以有效改善如通过最大肺活量(FVC)和最大呼气量(FEV1)测量的受试者肺功能的剂量给予。在另一个实施方案中,雷帕霉素以有效减少受试者中通过放射学检查可检测的胸腔积液的体积或量的剂量给予。在一个实施方案中,雷帕霉素以有效改进以下一或多项的剂量给予:功能残气量、血清VEGF-D、生活质量和功能表现、6分钟步行距离,和肺一氧化氮弥散量。在一个实施方案中,经由肺途径递送的雷帕霉素达到有效限制肺中和远离肺的部位的LAM-相关肿瘤生长的雷帕霉素血水平。在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量的功效通过前述的任何一种或多种方法测定。

[0050] 在某些实施方案中,本发明的方法在患有LAM的受试者中有效控制LAM。在本文中,术语“控制”、“管控”和“管理”指受试者自不导致治愈的疗法获得的有益作用。在一个实施方案中,根据本发明的方法,在用雷帕霉素治疗期间,如果LAM进展放慢或停止,则LAM在患者中受到控制。在另一个实施方案中,如果与LAM有关的一种或多种症状被改善或稳定(即,在治疗过程中症状没有恶化),则LAM在受试者中得到控制。

[0051] 在一个实施方案中,本发明的方法涉及对目前可获得的针对LAM的疗法“无反应”或“难医治的”受试者。在本文中,术语“无反应”和“难医治的”指受试者对疗法的反应在临床上不足以缓解与LAM有关的一种或多种症状。术语“受试者”和“患者”在本发明的公开内容中可互换使用。该术语指动物,优选哺乳动物包括非灵长类动物(例如牛、猪、马、猫、狗、大鼠,和小鼠)和灵长类动物(例如黑猩猩、猴例如食蟹猴和人),并最优选人。在一优选的实施方案中,受试者是人。

[0052] 术语“预防”、“防止”和“防范”指因给予根据本发明的方法鉴定的一种或多种化合物或给予这样的化合物和已知的用于疾病或障碍的疗法的组合所致的LAM的一种或多种症状的复发、发展、进展或发生的预防。

[0053] 在本发明的药物组合物的上下文中,“载体”指,例如,液体或固体材料例如溶剂、稀释剂、稳定剂、佐剂、赋形剂、辅助剂、抛射剂,或用来配制雷帕霉素以供递送的媒介。用于

本发明组合物的药学上可接受的载体的实例包括,但不限于,干燥粉末载体例如乳糖、甘露糖、氨基酸、环糊精、二棕榈酰基磷脂酰胆碱、烃和碳氟化合物抛射剂、压缩气体、无菌液体、水、缓冲盐水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、油、去垢剂、助悬剂、碳水化合物(例如葡萄糖、乳糖、蔗糖或右旋糖酐)、抗氧化剂(例如抗坏血酸或谷胱甘肽)、螯合剂、低分子量蛋白,或其合适的混合物。优选地,在雷帕霉素的干燥粉末气溶胶制剂的情况下,载体,如果存在,选自糖类和糖醇。在一个实施方案中,载体(如果存在)为乳糖。

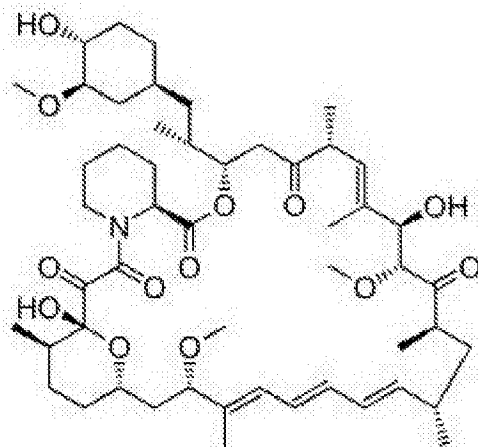
[0054] 术语“药学上可接受的”表示由联邦或州政府的监管机构批准或美国药典或其它公认的药典例如欧洲药典列出的,用于动物,和更特别是用于人的。一种用于溶解难溶于水或水不溶性药物的方法是形成所述药物的盐或制备本身更稳定或可用来形成前药的水溶性盐的前药。用于形成盐和药学上可接受的盐形式的方法是本领域已知的并包括,但不限于,可以存在于目的药物或前药中的酸性或碱性基团的盐。性质为碱性的化合物能够与各种无机和有机酸形成广泛种类的盐。可被用来制备此类碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成非-毒性酸加成盐(即包含药学上可接受的阴离子的盐)的那些,包括但不限于硫酸、柠檬酸、马来酸、乙酸、草酸、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、丹宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐(gentisinate)、富马酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐(glucaronate)、糖二酸盐(saccharate)、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对-甲苯磺酸盐和双羟萘酸(即,1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘酸))盐。性质上为酸性的化合物能够与各种药学上可接受的阳离子形成碱性盐。这样的盐的实例包括碱金属或碱土金属盐并且特别是钙、镁、钠、锂、锌、钾,和铁盐。

[0055] 在一个实施方案中,本发明的方法和组合物利用雷帕霉素的水溶性前药或衍生物,优选坦罗莫司或相关化合物。在一个实施方案中,本发明的方法和组合物利用雷帕霉素(西罗莫司)。

[0056] 雷帕霉素

雷帕霉素是由吸水链霉菌生产的大环内酯。其化学(IUPAC)名称是(3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13, -14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-十六氢-9,27-二羟基-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-羟基-3-甲氧基环己基]-1-甲基乙基]-10,21-二甲氧基-6,8,12,14,20,26-六甲基-23,27-环氧-3H-吡啶并[2,1-c][1,4]氧氮杂环三十一烷-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-戊酮(pentone)。

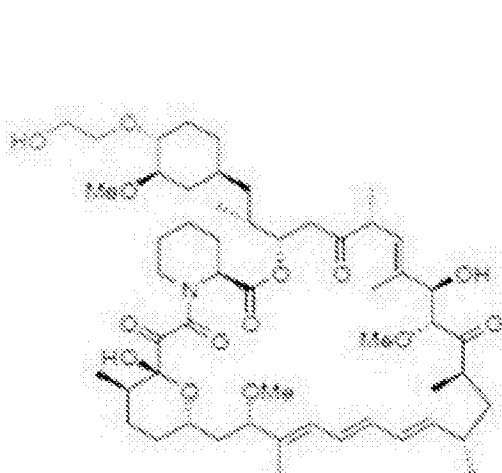
[0057] 其分子式是 $C_{51}H_{79}NO_{13}$ 和其分子量是914.172 g/mol。其结构显示于下面。



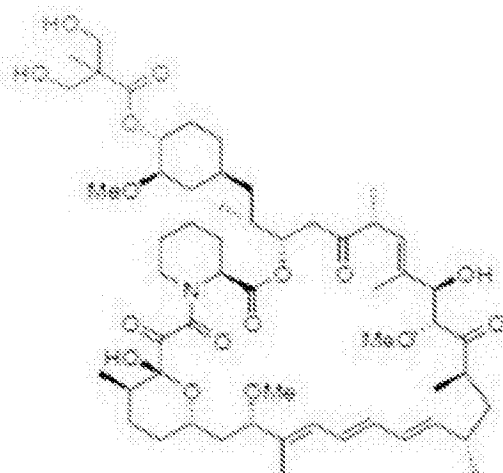
[0058] 雷帕霉素是白色至灰白色粉末并被认为是不溶于水的,仅具有2.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的极低溶解性。它易溶于苯醇、氯仿、丙酮,和乙腈。雷帕霉素的水不溶性对其制剂提出了特别的技术问题。在其配制为口服剂型的情况下,其被制备为呈现固体分散体形式的口服溶液(WO 97/03654)和包含纳米级(少于400 nm)颗粒的片剂(US 5,989,591)。但这些程序经受了活性剂的溶出并因而其生物利用度的实质性变化。另一种配制方法利用结晶粉末。根据本领域认可的方法,低溶解性药物的结晶形式转化为其无定形形式可显著地增加其溶解性。虽然这对于雷帕霉素也是确实的,无定形形式在化学上是极其不稳定的。包含无定形雷帕霉素(西罗莫司)的药物剂型被描述于WO 06/039237和WO 06/094507 (包含西罗莫司和浓度49.25%的单硬脂酸甘油酯的缓释制剂)中。改进的稳定的雷帕霉素口服剂型被描述于US 8,053,444中。该剂型在组合物中采用脂肪酸酯和聚合物(例如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、羟丙基纤维素(HPC)或羟丙基甲基纤维素(HPMC)),以增加西罗莫司的溶解性,而不有害地影响其释放速率。根据US 8,053,444,超过10% w/w的脂肪酸酯浓度抑制西罗莫司从制剂释放的速率,因此应该避免,因为这可导致自胃肠道的吸收不足。脂肪酸酯(甘油酯)的优选的浓度是1%-5%或5%-9%。在一个实施方案中,本发明的气溶胶雷帕霉素组合物不包含与聚合物组合的脂肪酸酯。在一个实施方案中,本发明的气溶胶雷帕霉素组合物包含基于组合物重量计的超过10%或超过12%浓度的脂肪酸酯。

[0059] 适合用于本发明的组合物和方法的雷帕霉素及其衍生物(包括类似物)和前药包括雷帕霉素(西罗莫司)及其前药或衍生物,其为mTOR细胞信号传导途径的抑制剂,并优选为mTOR本身的抑制剂。在一个实施方案中,雷帕霉素衍生物或前药是选自依维莫司(Affinitor; RAD001)、坦罗莫司(CCI-779)、地磷莫司(以前称为deforolimus; AP23573)、乌米莫司(umirolimus) (Biolimus A9)、唑罗莫司(ABT-578)、novolimus、myolimus、AP23841、KU-0063794、INK-128、EX2044、EX3855、EX7518、AZD08055和OSI027的mTOR抑制剂。其它的衍生物是技术人员已知的并包括,例如,0-取代的衍生物,其中西罗莫司的环己基环上的羟基被 $-\text{OR}_1$ 替代,其中 R_1 任选地是取代的烷基、酰氨基烷基,或氨基烷基。

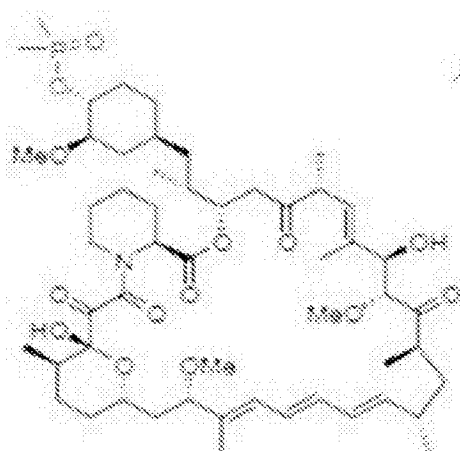
[0060] 在一个实施方案中,用于本发明的气溶胶制剂和方法的化合物是选自依维莫司、坦罗莫司、地磷莫司、乌米莫司和唑罗莫司的雷帕霉素衍生物。依维莫司、坦罗莫司、地磷莫司、乌米莫司和唑罗莫司的化学结构在下面显示。



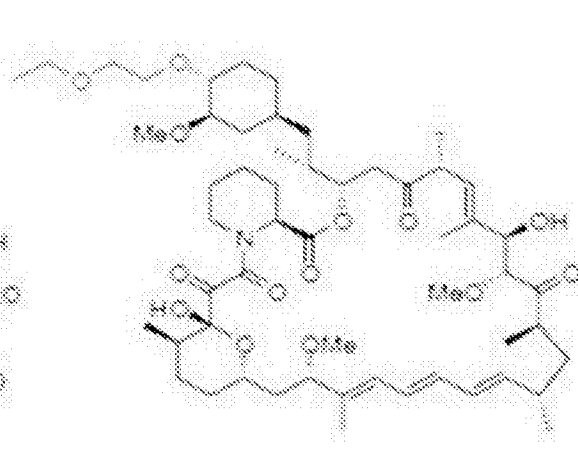
依维莫司(Affinitor)



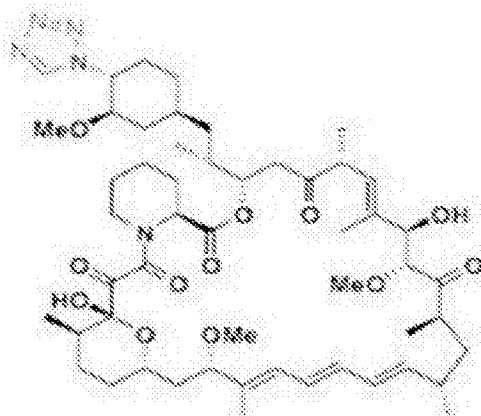
坦罗莫司(CCI-779)



地磷莫司(MK-8669)

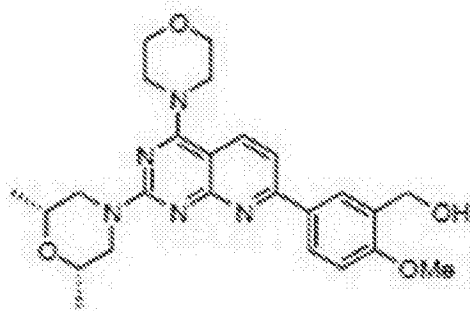


乌米莫司

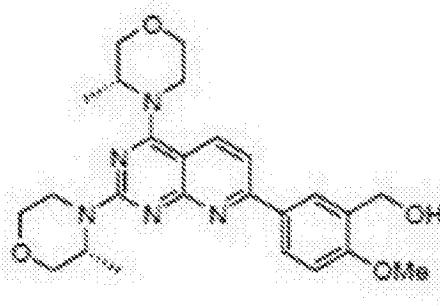


唑罗莫司(ABT-587)

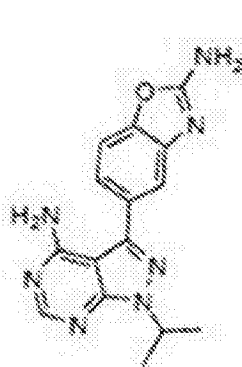
[0061] 在一个实施方案中,用于本发明的气溶胶制剂和方法的化合物是选自KU-0063794、AZD8055、INK128和OSI-027的mTOR抑制剂。mTOR抑制剂KU-0063794、AZD8055、INK128和OSI-027的化学结构在下面显示。



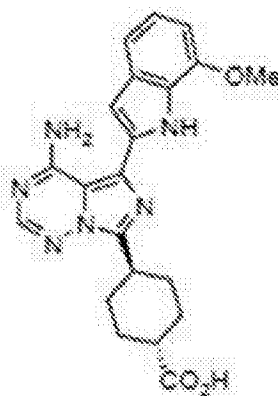
KU-0063794



AZD8055



INK128



OSI-027

[0062] 西罗莫司、坦罗莫司和依维莫司用于本发明的方法和组合物是特别优选的。在一个实施方案中,用于本发明的气溶胶制剂和方法的化合物选自西罗莫司、坦罗莫司和依维莫司。在一个实施方案中,所述化合物是西罗莫司或依维莫司。

[0063] 用于吸入的组合物

本发明提供适合于通过吸入给药的药物组合物,其包含呈现水性溶液、干燥粉末,或一种或多种药学上可接受的抛射剂和载体的混合物的形式的雷帕霉素,或其前药或衍生物。在一个实施方案中,雷帕霉素被包封在药学上可接受的化合物、材料,或基质中。在一个实施方案中,雷帕霉素被包封在脂质体制剂或非-脂质体制剂中。

[0064] 本发明的组合物是适合于人受试者通过吸入经肺药物递送的雷帕霉素的可气溶胶化制剂。术语“气溶胶”用于本上下文中,指一种胶体系统,其中分散相由固体或者液体颗粒组成,并且其中分散介质是气体。在一个实施方案中,气体是空气和制剂是适合于经由喷雾器给药的溶液制剂或适合于经由干燥粉末吸入器装置给药的干燥粉末制剂。一般来说,可吸入颗粒或小滴将具有在0.10-10微米范围内的平均直径。选择颗粒或小滴的尺寸以最大限度地靶向递送至肺本身(即,其中肺是靶组织)或者系统(其中肺被用作系统给药的可选择的途径)。尺寸将优选地在约0.5-5微米范围内,其中肺本身是治疗靶标;或对于经由肺的全身递送,少于3微米。尺寸根据本领域已知的方法测量并描述于例如美国药典905和601章中。例如,它被测量为总气体动力学中位数直径(MMAD)。在一个实施方案中,包含本文描述的组合物的颗粒的平均或中数直径被测量为MMAD。

[0065] 在一个实施方案中,气溶胶的分散相由液体颗粒或液滴组成。在本上下文中,术语

“液体颗粒”和“液滴”可互换使用。在该实施方案中，本发明的制剂是溶液制剂。在一个实施方案中，气溶胶的分散相由固体颗粒组成。在该实施方案中，本发明的制剂是干燥粉末制剂。这种尺寸的微粉化颗粒可通过本领域已知的方法，例如通过机械碾磨(研磨)、从亚临界或超临界溶液中沉淀、喷雾干燥、冷冻干燥，或冻干法生产。

[0066] 一般来说，吸入的颗粒受两种机制之一的沉积：撞击，其通常主要用于较大颗粒，和沉淀，其普遍用于较小颗粒。当吸入的颗粒的动量大到足以使颗粒不跟随气流并遇到一个生理表面时，则撞击发生。相反，当已随着吸入的气流移动的极小颗粒由于在气流内的随机扩散而遇到生理表面时，沉淀主要发生在深部肺中。本发明的气溶胶制剂优选地通过撞击(在上气道)或者通过沉淀(在肺泡)以使它们的沉积最大化，以实现所需的治疗功效。

[0067] 药物从递送装置，例如喷雾器、pMDI或DPI装置递送至患者的量，被称为递送剂量。它可在体外通过测定从递送装置在模拟的吸气动作用中发出的药物量来估算。这被称为发出剂量(ED)，如根据本领域已知的方法，例如在美国和欧洲药典，例如在USP的601章和905章提出的那些来测定的。因此，“发出剂量”被认为等同于递送剂量。

[0068] 药物从递送装置递送至患者的肺的量被称为可吸入剂量。它可通过在体外测定细颗粒剂量(FPD)估算，如根据本领域已知的方法，例如在美国和欧洲药典，例如在USP的601章和905章提出的那些方法，使用级联撞击机，例如新一代撞击机(NGI)所测定的。

[0069] 以细的、可吸入的颗粒从递送装置释放的药物的量被称为制剂的细颗粒分数(FPF)。FPF是潜在可吸入的递送剂量中的药物分数。因此，FPF是FPD与ED(发出或递送剂量)的比例。制剂的这些特征根据本领域已知的方法，例如在美国和欧洲药典，例如在USP的601章和欧洲药典的专论2.9.18中提出的那些方法测定。

[0070] 在一个实施方案中，本发明的可气溶胶化的雷帕霉素制剂具有大于20%的FPF，甚至在长期贮存后，例如在贮存1至12个月后或在1至36个月后，具有范围从10微克至2毫克，优选地少于0.5毫克的相应的FPD。在剂量递送至患者的一个实施方案中，递送剂量(DD)或发出剂量(ED)的范围是从25微克至2.5毫克，优选地少于0.5毫克。

[0071] 在某些实施方案中，雷帕霉素被包封在药学上可接受的化合物、材料，或基质中。在一个实施方案中，雷帕霉素被包封在脂质体制剂或非-脂质体制剂中。

[0072] 水性溶液组合物

在一个实施方案中，本发明的可气溶胶化的组合物是适合经由喷雾器，包括射流、振动网筛和静态网格或孔雾化器用于肺递送的雷帕霉素的水性溶液制剂。因此，溶液制剂适合于使气溶胶小滴在如上所述的从约0.1至10微米直径的可吸入范围内形成。在一个实施方案中，组合物是一种由溶于水、乙醇和低分子量多元醇的雷帕霉素(西罗莫司)或其前药或衍生物组成的可雾化水性溶液制剂，和任选地包括表面活性剂。在一个实施方案中，水性溶液制剂具有低于20 mPa-s、低于10 mPa-s，或低于5 mPa-s的粘性，和至少45达因/cm，优选地大于60达因/cm的表面张力。优选地，该制剂具有低于5 mPa-s的粘性，和超过45达因/cm的表面张力。在一个实施方案中，组合物具有低于20 mPa-s的粘性，低于10 mPa-s的粘性，或低于5 mPa-s的粘性和至少45达因/cm，优选地大于60达因/cm的表面张力。

[0073] 在一个实施方案中，水性溶液制剂由雷帕霉素、水、乙醇和选自甘油和丙二醇的低分子量多元醇组成。在一个实施方案中，水性溶液制剂由雷帕霉素、水和选自的甘油和丙二醇的低分子量多元醇组成，而乙醇是任选的。该制剂也可任选地包含非-离子表面活性剂，

优选PEG 100,或聚山梨醇酯,优选聚山梨醇酯80 (“PS80”),磷脂,优选天然磷脂例如卵磷脂,和优选氢化大豆卵磷脂,和抗氧化剂或稳定剂,优选EDTA二钠。在一个实施方案中,非-离子表面活性剂选自聚乙二醇(PEG) PEG 100、PEG 1000,和聚山梨醇酯80 (也称为Tween™ 80、单油酸脱水山梨醇酯,或聚氧乙烯油酸脱水山梨醇酯),及其混合物。

[0074] 雷帕霉素在水性溶液中的量是基于溶液的总重量的从约0.001%至0.01 %重量(% wt或% w/w)。在一个实施方案中,雷帕霉素以约0.01 mg/ml-约0.1 mg/ml的浓度存在于溶液中。在一个实施方案中,雷帕霉素的量是基于溶液的总重量的从0.001 %至0.01% w/w。

[0075] 在一个实施方案中,雷帕霉素在溶液中的浓度是从约0.01至.1 mg/ml,低分子量多元醇的量是从5至35 % w/w,乙醇的量以5-20 % w/w的量存在,和非-离子表面活性剂的量是从1至200百万分率(ppm) w/w。优选地,非-离子表面活性剂的量是少于100 ppm (w/w)。任选的抗氧化剂/稳定剂的量从0至少于0.01% w/w。

[0076] 在一个实施方案中,本发明的水性溶液制剂不包含一种或多种选自聚乙二醇、卵磷脂、EDTA、嵌段共聚物和环糊精的添加剂或赋形剂。

[0077] 水性溶液制剂是单相水性溶液,其中雷帕霉素是完全溶解的。制剂中的主要共溶剂是乙醇和选自甘油和丙二醇的低分子量多元醇。雷帕霉素既不呈现为混悬液或乳液,也可不为描述为胶体溶液或分散液的溶液。本发明的水性溶液制剂缺乏胶体结构例如胶束或脂质体。磷脂(如果存在)的量太小以致不能形成脂质体或沉淀雷帕霉素。而磷脂和非-离子表面活性剂的合并的量太小以致不能改变表面张力。结果,无论是磷脂或是非-离子表面活性剂都不以传统意义上的足以用作表面活性剂的量存在。在这种情况下,术语表面活性剂指用来降低溶液的表面张力或液体和在溶液中的任何固体药物颗粒之间的界面张力的物质,以致表面活性剂用作去垢剂、湿润剂、乳化剂或分散剂。相反,本发明的溶液制剂中的非-离子表面活性剂起着阻断所述药物吸附在最终产品被包装在其中的聚乙烯容器上的作用,从而防止通过对容器的吸附所致药物效力的损失。

[0078] 因此,在一个实施方案中,水性溶液制剂是单相水性溶液,其中雷帕霉素是完全溶解的,溶液缺乏胶束或脂质体,且溶液不是乳液、分散液或混悬液。

[0079] 在一个实施方案中,溶液制剂是无菌的。在一个实施方案中,溶液制剂通过0.2微米滤器过滤灭菌。在一个实施方案中,溶液制剂不通过加热,例如通过高压灭菌,或通过辐照灭菌进行杀菌。

[0080] 在一个实施方案中,本发明提供一种包括一或多个用无菌水性溶液制剂填充的容器或小瓶(这些术语可互换使用)的包装。优选地,容器是单位剂量容器。在一个实施方案中,容器是聚合物小瓶,优选聚乙烯小瓶。在一个实施方案中,用本发明的无菌水性溶液制剂填充的容器或小瓶通过包括以下步骤的工艺过程生产:通过吹塑成型形成小瓶,此后立即在无菌条件下用本发明的无菌-过滤的制剂填充小瓶,接着在填充后立即热密封小瓶。

[0081] 在一个实施方案中,本发明的水性气溶胶制剂包含或由以下成分组成:

从约0.001%至0.01% w/w的雷帕霉素(或其前药或衍生物),

从约5%至35% w/w的丙二醇,

从约5%至20% w/w的乙醇,

从约1至200 ppm w/w的聚山梨醇酯80,

从约1至100 ppm w/w的卵磷脂,和

水,

其中水的量是足以获得0.01至0.1毫克/毫升之间的雷帕霉素浓度。任选地,可加入稳定性增强剂,例如低于0.01% wt/wt的水平EDTA二钠。

[0082] 对于水性和其它非-加压液体系统,可获得多种喷雾器(包括小容量喷雾器)以气雾化制剂。压缩机-驱动的喷雾器结合射流技术并使用压缩空气以生成液体气溶胶。这样的装置可从例如,Healthdyne Technologies, Inc.; Invacare, Inc.; Mountain Medical Equipment, Inc.; Pari Respiratory, Inc.; Mada Medical, Inc.; Puritan-Bennet; Schuco, Inc., DeVilbiss Health Care, Inc.;和Hospitak, Inc经商业获得。超声雾化器依靠压电晶体的振动形式的机械能,以生成可吸入液体小滴并可从例如,Omron Healthcare, Inc.和DeVilbiss Health Care, Inc经商业获得。

[0083] 在一个实施方案中,本发明的水性气溶胶制剂经由可从Aerogen、Pari、Philips或Omron购得的振动喷雾器递送。在一个实施方案中,本发明的水性气溶胶制剂被包装在适合与振动网孔喷雾器,例如,Aeroneb® Go (Aerogen, 由Philips Respironics分配)、I-Neb® (Philips)或E-Flow® (Pari),或类似的喷雾器一起使用的容器中。在一个实施方案中,本发明的水性气溶胶制剂经由喷嘴喷雾器例如购自Boeringher-Ingelheim的Respimat® 递送。

[0084] 因此,在一个实施方案中,本发明提供一种适合于通过吸入给予人受试者的可雾化水性溶液形式的药物组合物,水性溶液由雷帕霉素或其前药或衍生物(优选地选自西罗莫司、依维莫司和坦罗莫司)、水、乙醇和低分子量多元醇组成。在一个实施方案中,低分子量多元醇是甘油或丙二醇,或其混合物。在一个实施方案中,组合物还包含选自PEG 100、PEG 1000和聚山梨醇酯80及其混合物的非离子表面活性剂。在一个实施方案中,非离子表面活性剂在制剂中的量是基于制剂重量的从1至200 ppm w/w,优选地少于100 ppm w/w。在一个实施方案中,组合物还包含磷脂、抗氧化剂或化学稳定剂。在一个实施方案中,抗氧化剂或化学稳定剂在制剂中的量是基于制剂重量的少于0.01 % w/w。在一个实施方案中,抗氧化剂或化学稳定剂是EDTA。在一个实施方案中,雷帕霉素在制剂中的量是基于制剂重量的从0.001至0.01 % w/w。

[0085] 在一个实施方案中,组合物不包含一种或多种选自聚乙二醇、卵磷脂、EDTA、嵌段共聚物和环糊精的添加剂或赋形剂。

[0086] 在一个实施方案中,组合物缺乏选自胶束和脂质体的胶体结构。

[0087] 在一个实施方案中,组合物适合于通过射流喷雾器、振动网筛喷雾器、静态网格雾化器和孔雾化器的任何一种给药。

[0088] 在一个实施方案中,组合物具有低于20 mPa-s,优选地低于10 mPa-s,最优选地低于5 mPa-s的粘性,和至少45达因/cm,优选地至少50达因/cm的表面张力。

[0089] 本发明还提供一种制备可雾化水性溶液形式的本发明的药物组合物的方法,该方法包括通过0.2微米或更小的孔径的滤器无菌过滤溶液并在无菌条件下,在收集容器中收集无菌滤液。在一个实施方案中,制备方法还包括将无菌滤液转移至在无菌条件下密闭的容器中。在一个实施方案中,密闭容器是单位-剂量聚乙烯小瓶。在一个实施方案中,小瓶通过吹塑成型生成,然后立即将无菌滤液转移至小瓶。在一个实施方案中,该方法还包括在无菌滤液转移至小瓶后立即热密封小瓶的步骤。

[0090] 干燥粉末组合物

在一个实施方案中,本发明的可气溶胶化的组合物是包含作为治疗剂(也称为“药物”)的雷帕霉素或其前药或衍生物的微粉化颗粒的干燥粉末,所述颗粒具有从0.1至10微米的直径和约0.5至4.5微米,约1至4微米,约1至3.5微米,约1.5至3.5微米,或约2至3微米之间的平均直径。干燥粉末制剂适合用于干燥粉末吸入器装置(DPI)或加压计量剂量吸入器(pMDI)。雷帕霉素在干燥粉末中的量是基于粉末总重量的从约0.5至20% (w/w)。在一个实施方案中,雷帕霉素的量是约1%或2% (w/w)。

[0091] 在一个实施方案中,微粉化雷帕霉素通过如下所述的湿抛光或射流研磨产生,以生成在约0.5至4.5微米,约1至4微米,或约2至3微米范围内的直径,并将雷帕霉素颗粒以药物/载体比例范围从0.5-2% w/w,优选1%的比例共混到乳糖载体颗粒中。

[0092] 在一个实施方案中,所述药物颗粒被轻轻压实成包含在递送装置(干燥粉末吸入器)内的一个易碎的基块。在驱动时,递送装置摩擦来自基块的药物颗粒的一部分,并将它们分散在递送所述药物颗粒至呼吸道的呼吸吸气流中。或者,所述药物颗粒可以是包含在递送装置(干燥粉末吸入器)的贮库内的自由流动粉末。贮库可以是在装置内的完整腔室,或胶囊、泡罩包装或在驱动前插入装置的类似的预成型的贮库。在驱动时,所述装置从贮库分发一部分所述药物颗粒并将它们分散在递送所述药物颗粒至呼吸道的呼吸吸气流中。

[0093] 在一个实施方案中,干燥粉末组合物由药物颗粒和载体组成,所述载体选自阿拉伯糖、葡萄糖、果糖、核糖、甘露糖、蔗糖、海藻糖、乳糖、麦芽糖、淀粉、葡聚糖、甘露醇、亮氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、二棕榈酰基磷脂酰胆碱、卵磷脂、聚乳酸、聚(乳酸-谷氨酸)共聚物,和木糖醇,或任何上述载体的混合物。在一个实施方案中,载体是乳糖,特别是一水合物的形式。在一个实施方案中,干燥粉末组合物包含两种或更多种载体的共混物。

[0094] 在一个实施方案中,干燥粉末组合物包含药物和至少两种不同载体的共混物。在一个实施方案中,所述药物与载体比例是在从约0.5至20% (w/w)的范围内。在一个实施方案中,所述药物颗粒具有范围从0.1至10微米的直径,以及约1-4、1-3.5,或1.5-3.5,或2-3微米的平均直径。载体颗粒可具有范围从2至200微米的直径。

[0095] 在一个实施方案中,组合物包含在泡罩包装或DPI装置的贮库中。在一个实施方案中,干燥粉末组合物被预加载到明胶、淀粉、纤维素或聚合物胶囊,或适用于DPI装置的铝箔/铝箔或铝箔/塑料泡罩包装中。每个胶囊或泡罩可包含从1至100毫克的干燥粉末组合物。胶囊或泡罩可插入干燥粉末吸入器(DPI)装置例如Aerolizer®、Plastiap® RS01型7和Plastiap® RS00型8、XCaps®、FlowCaps®、Arcus®、Diskhaler®或Microdose®中。在驱动DPI装置时,胶囊或泡罩破裂,而粉末被分散在呼吸的吸气中,递送所述药物至呼吸道。

[0096] 在一个实施方案中,干燥粉末组合物包含在干燥粉末吸入器(DPI)装置中,所述装置选自Accuhaler®、Conix™、Rotahaler®、TwinCaps®、XCaps®、FlowCaps®、Turbuhaler®、NextHaler®、CycloHaler®、Revolizer™、Diskhaler®、Diskus®、Spinhaler、Handihaler®、Microdose Inhaler、GyroHaler®、OmniHaler®、Clickhaler®、Duohaler® (Vectura),和ARCUS®吸入器(Civitas Therapeutics)。在一个实施方案中,本发明提供包含本文描述的干燥粉末组合物的DPI装置。在一个实施方案中,装置选自XCaps、FlowCaps、Handihaler、TwinCaps、Aerolizer®、Plastiap® RS01型7,和Plastiap®

RS00型8。在一个实施方案中,包含组合物的装置选自GyroHaler®、OmniHaler®、Clickhaler®、Duohaler®,和ARCUS®吸入器。

[0097] 载体颗粒优选地具有较大尺寸(大于5微米)以避免载体材料在深部肺中的沉积。在一个实施方案中,载体颗粒具有范围从1至200微米,从30至100微米,或少于10微米的直径。在一个实施方案中,载体颗粒是两种载体的共混物,一种载体具有约30-100微米的颗粒,而另一种载体具有少于10微米的颗粒。两种不同载体的比例是在从3:97至97:3的范围内。在一个实施方案中,干燥粉末组合物由0.5 -20% (w/w)药物与载体比例组成,所述药物颗粒具有从0.1至10微米的直径,平均直径少于3.5微米。在一个实施方案中,载体材料是结晶载体材料。优选地,结晶载体材料是至少90%,优选地大于95%结晶的载体材料,且其中于室温在80%或较低相对湿度的条件下,没有或基本没有水被载体吸收。这样的结晶载体的实例是乳糖一水合物和葡萄糖一水合物。载体的量是从1至99.0 %或更多的制剂(基于粉末干燥重量计),优选地是5-99%、10-99%、20-99%、30-99%、40-99%,或50-99%。

[0098] 在一个实施方案中,干燥粉末组合物包含在递送装置(干燥粉末吸入器)的贮库内。贮库可以是在装置内的完整腔室,或胶囊、泡罩包装或在驱动前插入装置的类似的预成型的贮库。在驱动时,所述装置从贮库分发一部分所述药物颗粒并将它们分散在递送所述药物颗粒至呼吸道的呼吸气流中。

[0099] 在一个实施方案中,药物作为细粉末与药学上可接受的载体一起存在。在本上下文中,术语“细粉”指在如上讨论的可吸入的范围内的粒径。优选地,所述药物被微粉化,以使颗粒具有10微米或更小范围内的平均直径。在一个实施方案中,在本文描述的干燥粉末组合物中的雷帕霉素(或其前药或衍生物)颗粒的平均直径(MMAD或Dv50)是从0.5至10微米,从0.5至6微米,从1至5微米,从1至4微米,从1至3微米,或从2至3微米。MMAD或Dv50值是50%体积的群体低于该值的粒径。

[0100] 在一个实施方案中,雷帕霉素的干燥粉末制剂还包含一种或多种选自以下描述的添加剂的添加剂。在一个实施方案中,一种或多种添加剂包含或由硬脂酸镁组成。在这个实施方案的一个方面,硬脂酸镁以基于粉末的干燥重量的0.001至10%的量,优选地以从0.01至5%或0.01至2%的量存在。在另一个实施方案中,添加剂包含或由基于粉末的干燥重量的0.1%-1%的量,优选0.2%-0.6%的量的磷脂,例如卵磷脂(其是磷脂酰胆碱的混合物)组成。在这个实施方案的一个方面,在载体与雷帕霉素颗粒共混步骤之前或同时,将添加剂涂布在载体材料上。这可例如,通过利用一个高能混合步骤用添加剂包衣载体,或长持续时间的低能混合,或低和高能混合的组合以获得所需水平的包被载体材料来实现。用于混合干燥粉末以形成共混物的低能装置是本领域已知的并包括例如,V-型搅拌机、双锥搅拌机、斜锥搅拌机、立方搅拌机、料仓搅拌机、水平或垂直滚筒搅拌机、静态连续搅拌机,和动态连续搅拌机。其它的高能装置包括本领域技术人员已知的高剪切混合器。

[0101] 在某些实施方案中,干燥粉末包含在胶囊中。在一个实施方案中,胶囊是明胶胶囊、塑料胶囊,或纤维素胶囊,或呈现为铝箔/铝箔或铝箔/塑料泡罩包装的形式。在每种情况下,胶囊或泡罩适用于DPI装置,优选地以使每个胶囊的粉末总重量至1 mg-100 mg的量与载体一起在计量单位中。或者,干燥粉末可包含在多-剂量DPI装置的贮库中。

[0102] 雷帕霉素的粒径可通过常规方法,例如通过在喷气研磨机、球磨机或振动研磨机中研磨,通过湿抛光、微量沉淀、喷雾干燥、冻干法或从亚临界或超临界溶液中再结晶,减少

至所需的微粒水平。在该上下文中的射流研磨或碾磨指干燥药物颗粒通过机械装置的微粉化。微粉化技术不需要制备所述药物的溶液、浆液或混悬液。相反,所述药物颗粒的尺寸经机械减少。由于微粉化采用相对高的能量,在某些实施方案中,在共-微粉化混合物中包括载体材料与雷帕霉素是合乎需要的。在这种情况下,载体材料吸收一些可能另外不利地影响雷帕霉素结构的微粉化的能量。在一个实施方案中,在尺寸范围从1至4或从2至3微米的雷帕霉素颗粒通过射流研磨方法生产。

[0103] 如于US2013/0203717中描述的湿抛光法包括使用高剪切以减少所述药物颗粒在混悬液或浆液中的粒径。湿抛光可仅包括所述药物颗粒或称为研磨介质的另外的颗粒。在一个实施方案中,雷帕霉素的粒径可使用湿抛光工艺(其包括湿法研磨,特别是在高压下的空化作用)减少至所需的水平,其中雷帕霉素悬浮于水或其它其不溶的溶剂中,然后接着喷雾干燥混悬液,获得作为干燥粉末的雷帕霉素。在一个实施方案中,尺寸范围从1至4或从2至3微米的雷帕霉素颗粒通过湿抛光方法生产,该方法包括制备雷帕霉素的混悬液,使混悬液经受微流化作用,并喷雾干燥生成的颗粒以形成干燥粉末。雷帕霉素可悬浮于选自丙醇或丁醇、水和乙酸乙酯的抗溶剂中。在一个实施方案中,混悬液是水性混悬液。

[0104] 喷雾干燥通常包括制备所述药物的溶液、浆液或混悬液,使溶液、浆液或混悬液雾化,形成颗粒,然后蒸发溶液、浆液或混悬液介质,形成颗粒。溶液、浆液或混悬液,可在亚临界或超临界条件下形成。蒸发步骤可通过升高雾化发生于其中的气氛的温度,或通过降低压力,或二者的组合来完成。在一个实施方案中,包含雷帕霉素的粉末制剂通过喷雾干燥雷帕霉素的水性分散体来制得,以形成由具有如上所述的适用于肺递送的尺寸的雷帕霉素的聚集颗粒组成的干燥粉末。可调整(增加或减少)聚集体粒径以靶向深部肺中或者上呼吸部位,例如上支气管区域或鼻粘膜。这可例如,通过增加雷帕霉素在喷雾干燥的分散体中的浓度或通过增加由喷雾干燥器生成的小滴尺寸来完成。

[0105] 或者,干燥粉末可通过冷冻干燥(冻干法)水性药物溶液、分散液或乳液,或通过喷雾干燥和冷冻干燥的组合来制得。

[0106] 在一个实施方案中,干燥粉末制剂通过冷冻干燥雷帕霉素的水性分散体,和一种或多种任选的添加剂制得。在一个实施方案中,粉末包含雷帕霉素和添加剂(如果存在)的聚集体,其中聚集体在如上所述的可吸入尺寸范围内。

[0107] 在一个实施方案中,雷帕霉素和一种或多种任选的添加剂的水性分散体还包含溶解的稀释剂,例如乳糖或甘露醇,以致当分散体被冷冻干燥时,形成可吸入的稀释剂颗粒,各自包含至少一种包埋的药物颗粒和添加剂颗粒(如果存在的话)。

[0108] 在一个实施方案中,干燥粉末包含雷帕霉素载荷的脂质体。药物-载荷的脂质体可通过本领域已知的方法,例如使用在M. Chougale等*Int. J. Nanomedicine* 2:625-688 (2007)对他克莫司描述的技术生产。简言之,雷帕霉素、氢化磷脂酰胆碱(HSPC)和胆固醇溶于甲醇和氯仿的混合物中,然后例如在旋转蒸发器(Rotaevaporator)中经历干燥薄膜形成。脂质体经水合,和脂质体分散体通过高-压匀化器用于尺寸减少。生成的丸粒的特征在于囊泡尺寸和%药物包埋,然后相当于所需量的雷帕霉素的丸粒被分散于合适的介质中并经受喷雾干燥,获得为吸入所需尺寸的颗粒。喷雾干燥的粉末可被填充到用于给药的胶囊、小罐或泡罩包装中。

[0109] 在一个实施方案中,干燥粉末颗粒可通过从超临界或亚临界溶液沉淀来生产。

[0110] 干燥粉末组合物可包含在合适的干燥粉末吸入器装置,或在用于这样的装置的胶囊或泡罩中。这样的装置的实例在上文中提供并包括Accuhaler®、Aerolizer®、Plastiaple® RS01型7、Plastiaple® RS00型8、Conix™、Rotahaler®、TwinCaps®、XCaps®、FlowCaps®、Turbuhaler®、NextHaler®、CycloHaler®、Revolizer™、Diskhaler®、Diskus®、Spinhaler、Handihaler®、Microdose Inhaler、GyroHaler®、OmniHaler®、Clickhaler®,或Duohaler® (Vectura),或呼吸致动的ARCUS®吸入器(Civitas Therapeutics)。在一个实施方案中,本发明提供一种包含本文描述的干燥粉末组合物的DPI装置。在一个实施方案中,装置选自XCaps、FlowCaps、Handihaler、TwinCaps、Aerolizer®、Plastiaple® RS01型7和Plastiaple® RS00型8。

[0111] 基于抛射剂的制剂

在本发明的另一个实施方案中,雷帕霉素被配制为基于抛射剂的制剂,其在此通常也可称为“pMDI制剂”。pMDI制剂适合于通过装置例如加压计量剂量吸入器(pMDI)递送。在一个实施方案中,组合物包含雷帕霉素、抛射剂和植物油或植物油的药学上可接受的衍生物。抛射剂优选地选自1,1,1,2-四氟乙烷(HFA134a)和1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷(HFA227),或其混合物。在一个实施方案中,植物油选自橄榄油、红花油和豆油。雷帕霉素可以是在抛射剂的溶液或混悬液中。在该上下文中,“在混悬液中”指雷帕霉素以分散于抛射剂中的颗粒形式存在。在一个实施方案中,雷帕霉素被微粉化并存在于抛射剂中的混悬液中。在一个实施方案中,该制剂还包含湿润剂或共溶剂例如乙醇。在一个实施方案中,制剂还包含多羟基醇例如丙二醇。

[0112] 合适的抛射剂是本领域已知的并包括,例如,卤代烃,例如氟代甲烷、乙烷、丙烷、丁烷、环丙烷或环丁烷,特别是1,1,1,2-四氟乙烷(HFA134a)和1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷(HFA227),或其混合物。

[0113] 在一个实施方案中,制剂包含微粉化雷帕霉素、乙醇、合适的抛射剂例如HFA 134a、HFA 227,或合适的抛射剂的混合物,和任选的一种或多种表面活性剂。在一个实施方案中,制剂还包含润滑剂。

[0114] 在一个实施方案中,制剂包含雷帕霉素、抛射剂和植物油。在一个方面,制剂不包含添加剂或表面活性剂。例如,制剂不包含乙醇、多羟基醇(例如丙二醇),或表面活性剂(例如三油酸脱水山梨醇酯、单油酸脱水山梨醇酯,或油酸)。

[0115] 在一个实施方案中,基于抛射剂的制剂包含压缩空气、二氧化碳、氮或选自正-丙烷、正-丁烷、异丁烷或其混合物,或1,1,1,2-四氟乙烷(HFA134a)和1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷(HFA227),或其混合物的液化抛射剂,伴有或没有极性共溶剂例如醇。组合物可以是溶液或混悬液。对于混悬液,所述药物颗粒具有从0.1至10微米的直径,少于3.5微米的平均直径。

[0116] 基于抛射剂的制剂通过本领域已知的方法,例如无论是在环境压力还是在高压条件下,通过在液体抛射剂中湿法研磨粗糙的雷帕霉素,和任选的添加剂制备。在某些实施方案中,添加剂是表面活性剂,其起着预防聚集(结块或结晶),促进均匀给药,和(或备选地)提供有利的细颗粒分数(FPF)的作用。在一个方面,表面活性剂选自三油酸脱水山梨醇酯、单油酸脱水山梨醇酯,或油酸。或者,包含药物颗粒的干燥粉末通过如上讨论的喷雾干燥或冷冻干燥药物颗粒的水性分散液并使生成的粉末分散到用于常规加压计量剂量吸入器

(pMDIs)的合适的抛射剂中制备。在一个实施方案中,吸入装置是Respimat™。

[0117] 在一个实施方案中,本发明的基于抛射剂的气溶胶雷帕霉素制剂在延长的时间段针对雷帕霉素的粒径生长或晶体形态的变化是稳定的。

[0118] 制备无菌单位剂型的方法

在一个实施方案中,本发明的组合物是无菌组合物。在一个实施方案中,无菌组合物是无菌单位剂型。在一个实施方案中,无菌单位剂型是适用于喷雾器装置中的胶囊。

[0119] 在一个实施方案中,最终组合物在其密闭容器中通过加热,例如高压灭菌,或通过辐照灭菌进行杀菌。在一个实施方案中,组合物的组分部分首先通过合适的方法包括用于液体组分的无菌过滤和用于固体或液体的辐照或高压灭菌进行杀菌,该方法还包括通过在密闭容器内包装来维持无菌组分的无菌状态,在混合容器中以适宜的比例合并各组分,和将生成的产物填充到密闭容器中,全部均在无菌套件中进行。这种方法具有花费昂贵和需要困难的无菌处理技术的缺点。因此,它主要用于处理颗粒悬浮液或胶体分散液、脂质体制剂,或乳剂,其不能通过用于灭菌的亚微米滤器。最后,在一个实施方案中,最终组合物通过亚微米滤器,优选0.2微米滤器过滤灭菌。在一个实施方案中,本发明的组合物是经由过滤灭菌方法灭菌的单相水性溶液。相反,乳剂和脂质体制剂在过滤灭菌方法的高剪切条件下通常是不够稳定的,因此这种方法不是优选的。

[0120] 在一个实施方案中,本发明的组合物是被填充到密闭容器,例如聚合物优选聚乙烯形成的小瓶,或者可供选择的玻璃小瓶的单相水性溶液。当小瓶是聚合物小瓶时,高压灭菌和辐照是不合适的,因为非常可能在药物和/或制剂赋形剂中,以及在容器中造成化学不稳定性,并且因为会生成不需要的杂质。在一个实施方案中,本发明的组合物通过不包括加热(高压灭菌)或辐照的方法灭菌,而是代之以包括过滤灭菌的方法。优选地,根据这个实施方案,雷帕霉素的单相水性溶液通过具有孔径小于或等于0.2微米的滤器过滤灭菌。在一个实施方案中,无菌滤液被收集在位于无菌套件中的收集容器中。在一个实施方案中,无菌滤液被从收集容器转移到无菌套件的密闭容器中。优选地,密闭容器是聚合物小瓶,优选单位剂量小瓶,且最优选聚乙烯单位剂量小瓶。在一个实施方案中,聚合物小瓶通过吹塑成型形成,随后立即填充,然后在填充后即刻热封。这种技术也可被称为“成型-填充-密封(form-fill-seal)”或“吹填(blow-fill)”。这种技术在本发明的组合物为雷帕霉素的单相水性溶液的情况下是特别有利的,因为这种方法不需要加热或辐照,这两者均可降解所述药物本身、制剂赋形剂或者密闭容器。

[0121] 肺给药和剂量

本发明提供通过吸入给予雷帕霉素至呼吸道、优选至肺的治疗和预防LAM的组合物和方法。肺递送优选地通过口和咽喉吸入气溶胶进入肺实现,但也可通过鼻吸入气溶胶实现。因此,在一个实施方案中,气溶胶经鼻内递送。在另一个实施方案中,气溶胶经口递送。

[0122] 本发明的组合物和方法有利地提供靶向递送至肺的治疗有效量的雷帕霉素,同时将雷帕霉素在血和可全身利用的量减少至极低或不能检测的水平。在一个实施方案中,本文描述的干燥粉末组合物的单一剂量中的雷帕霉素量是从约5至500微克或从约100至300微克,或从约50至250微克。与口服剂型比较,低剂量雷帕霉素的直接靶向递送至肺同时使系统暴露最小化提供了改进的治疗指数。

[0123] 在一个实施方案中,根据本发明的方法,通过吸入给予雷帕霉素增加雷帕霉素的

治疗指数。在该上下文中,如应用于人受试者时,治疗指数是在50%的群体中产生治疗效果的剂量(ED₅₀)与产生毒性的剂量(TD₅₀)的比率。该比率表示为TD₅₀/ED₅₀。在一个实施方案中,根据本发明的方法,通过吸入给予雷帕霉素减少一种或多种与口服给予雷帕霉素相关的毒性,由此增加雷帕霉素的治疗指数。

[0124] 本发明包括溶液和粉末形式的可气溶胶化制剂。因此,根据本发明的方法,雷帕霉素可以水性气溶胶、干燥粉末气溶胶,或基于抛射剂的气溶胶的形式给予。

[0125] 在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量足以在受试者中获得从0.01至0.15 ng/ml,从0.075至0.350 ng/ml,从0.150至0.750 ng/ml,从0.750至1.5 ng/ml或从1.5至5 ng/ml的血谷水平。在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量足以在受试者中获得少于5 ng/ml,少于2 ng/ml,少于1 ng/ml,或少于0.5 ng/ml的血谷水平。

[0126] 在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量是足以在肺组织中产生从1 ng/g至1 ug/g的范围内的雷帕霉素浓度。

[0127] 在一个实施方案中,雷帕霉素的给予剂量是从10至100微克,从50至250微克,从100至500微克(0.1至0.5毫克),从500至1000微克(0.5至1毫克)或从1000至2000微克(1至2毫克)。在一个实施方案中,给予的雷帕霉素的量是少于1毫克,少于0.75毫克、少于0.5毫克或少于0.25毫克。优选地,给予的雷帕霉素的量是少于0.5毫克。

[0128] 在一个实施方案中,雷帕霉素每日一次给予。

[0129] 在一个实施方案中,雷帕霉素的总的日剂量是在从10至100微克,从50至250微克,从100至500微克(0.1至0.5毫克),从500至1000微克(0.5至1毫克)或从1000至2000微克(1至2毫克)的范围内。在一个实施方案中,雷帕霉素的总的日剂量是少于1毫克、少于100微克、少于50微克、少于10微克,或少于1微克。在一个实施方案中,雷帕霉素的总的日剂量是少于500毫微克、少于250毫微克、少于100毫微克、少于50毫微克,或少于10毫微克。在一个实施方案中,雷帕霉素给予至受试者的总的日剂量是少于2 mg或少于1 mg/天。

[0130] 在一个实施方案中,本发明的组合物每天一次给予受试者。在一个实施方案中,本发明的组合物一天给予2次或3次。优选地,组合物每日给予一次或两次,或少于每日一次。

[0131] 在一个实施方案中,本发明的方法包括经由肺途径与一种或多种另外的治疗剂联合给予雷帕霉素,所述另外的治疗剂选自他汀类药物、孕酮、他莫昔芬、促性腺素释放激素(GnRH)激动剂、多西环素、src抑制剂、自吞噬抑制剂(如羟基氯喹)、VEGF-C或-D抑制剂,和VEGF受体抑制剂。在一个实施方案中,一种或多种另外的治疗剂选自他汀类药物、孕酮、他莫昔芬,和促性腺素释放激素(GnRH)激动剂。在一个实施方案中,一种或多种另外的治疗剂选自雌激素拮抗剂、他汀类药物、src抑制剂,和VEGF-R抑制剂。在一个实施方案中,一种或多种另外的治疗剂选自来曲唑、他莫昔芬、辛伐他汀、帕唑帕尼、伊马替尼,及其组合。一种或多种另外的药物可通过与雷帕霉素相同或不同的给药途径给予。例如,所述药物可通过吸入、鼻内、口服或静脉内给予。

[0132] 在一个实施方案中,本发明的方法包括经由肺途径与一种或多种另外的疗法联合给予雷帕霉素。在一个实施方案中,一种或多种另外的疗法选自抗雌激素疗法、激素疗法、抗癌化学疗法,和辐射疗法。在一个实施方案中,本发明的方法包括经由肺途径与抗雌激素疗法或激素疗法联合给予雷帕霉素。

[0133] 在某些实施方案中,所述方法包括经肺给予作为主要疗法的本发明的组合物。在

其它实施方案中,本发明的组合物的给药是辅助疗法。在任一情况下,本发明的方法涵盖与一种或多种另外的治疗疾病或障碍的疗法联合给予本发明的组合物。术语“疗法”和“治疗”指可用于预防、治疗、控制或改善疾病或障碍或其一种或多种症状的任何方法、方案和/或药物。在某些实施方案中,疗法选自化学疗法、辐射疗法、激素疗法和抗雌激素疗法。

[0134] 优选地,根据本发明的方法,与一种或多种另外疗法联合给予包含雷帕霉素或其前药或衍生物的药物组合物在患有LAM的受试者中提供协同反应。在本文中,术语“协同的”指组合的功效比任一单独的单一疗法的加合作用更有效。在一个实施方案中,与该组合之外的其剂量和/或频率比较,根据本发明的雷帕霉素联合疗法的协同效果允许使用该组合中的至少一种疗法的较低剂量和/或较低频率给药。在另一个实施方案中,协同效果表现在避免或减少了与使用组合中的任一单独疗法相关的不利或不需要的副作用。

[0135] 喷雾器递送

在一个实施方案中,雷帕霉素被配制为适合于雾化的水性溶液并经由喷雾器递送。对于水性和其它非-加压液体系统,多种喷雾器(包括小容量喷雾器)可用来使制剂气溶胶化。压缩机-驱动的喷雾器结合射流技术并使用压缩空气生成液体气溶胶。这样的装置可从例如,Healthdyne Technologies, Inc.;Invacare, Inc.;Mountain Medical Equipment, Inc.;Pari Respiratory, Inc.;Mada Medical, Inc.;Puritan-Bennet;Schuco, Inc., DeVilbiss Health Care, Inc.;和Hospitak, Inc经市售获得。超声喷雾器依赖压电晶体的振动形式的机械能生成可吸入的液体小滴并可从例如,Omron Healthcare, Inc.和 DeVilbiss Health Care, Inc经市售获得。喷雾器可以是例如,常规气动喷雾器例如喷气雾化器,或超声喷雾器,其可包含例如从1至50 ml,通常1至10 ml的溶液制剂。

[0136] 在一个实施方案中,本发明的水性溶液制剂适合于用包括振动或固定筛目的喷雾器给药。例如,装置例如AERx® (Aradigm)、RESPIMAT® (Boehringer Ingelheim)、I-Neb® (Philips),或MicroAire® (Omron),其中药物溶液用活塞或气动压力,或用压电晶体通过孔或网目推出。或者,溶液可通过振动筛目喷雾器例如E-Flow® (Pari)或Aeroneb® Go (Aerogen)泵出。这些装置允许比常规喷雾器更小得多的雾化量,例如10-100 μ l,和更高的递送效率。

[0137] 干燥粉末递送

在一个实施方案中,本发明的干燥粉末组合物通过基于非-抛射剂的干燥粉末吸入器(DPI)装置递送。在一个实施方案中,粉末包含在适用于DPI装置的明胶或塑料胶囊中,或在泡罩包装中。在一个实施方案中,粉末以单位剂型和以每胶囊从5 mg至100 mg粉末的剂量单位提供。在另一个实施方案中,干燥粉末包含在多-剂量干燥粉末吸入装置的贮库中。在一个实施方案中,吸入器装置包含用适合于递送计量剂量,例如10-100 μ l,如25-50 μ l的组合物的阀提供的气溶胶小瓶,即一种已知为计量剂量吸入器的装置。

[0138] 在一个实施方案中,DPI装置是基于泡罩的装置例如GyroHaler® 或OmniHaler® (二者购自Vectura),基于贮库的装置例如Clickhaler® 或Duohaler® (Vectura),和ARCUS® 吸入器(Civitas Therapeutics)。在一个实施方案中,DPI装置选自Pulmatrix™, 和Hovione Twincaps和XCaps™。在一个实施方案中,装置选自XCaps、Plastiapex® RS01型7,和Plastiapex® RS00型8。

[0139] 在一个实施方案中,DPI装置选自Accuhaler®、Aerolizer®、Plastiapex® RS01

型7、Plastiap[®] RS00型8、ConixTM、Rotahaler[®]、TwinCaps[®]、XCaps[®]、FlowCaps[®]、Turbuhaler[®]、NextHaler[®]、CycloHaler[®]、RevolizerTM、Diskhaler[®]、Diskus[®]、Spinhaler、Handihaler[®]、Microdose Inhaler、GyroHaler[®]、OmniHaler[®]、Clickhaler[®]，或Duohaler[®] (Vectura)，或呼吸致动的ARCUS[®]吸入器(Civitas Therapeutics)。

[0140] 在一个实施方案中，DPI装置选自ArcusTM、AspirairTM、AxahalerTM、BreezhalerTM、ClickhalerTM、Conix DryTM、CricketTM、DreamboatTM、GenuairTM、GeminiTM、InspiromaticTM、iSPERSETM、MicroDoseTM、Next DPITM、ProhalerTM、PulmojetTM、PulvinalTM、SolisTM、TaifunTM、Taper DryTM、TrivaiTM、NovolizerTM、PodhalerTM、SkyehalerTM、SpiromaxTM、Twincaps/FlowcapsTM，和TurbuhalerTM。在一个实施方案中，DPI装置适合于从包含剂量单位的干燥粉末的胶囊或泡罩或多-剂量干燥粉末吸入装置递送干燥粉末，所述装置适合于每次驱动递送例如5-25 mg干燥粉末。

[0141] pMDI递送

在另一个实施方案中，雷帕霉素以气溶胶化颗粒的形式从包含如上所述的与基于抛射剂的制剂组合的合适抛射剂的加压容器或分配器递送。在一个实施方案中，吸入器是抛射剂驱动的吸入器，例如pMDI装置，其在每次驱动时释放计量剂量的雷帕霉素。一个典型的pMDI装置包括包含药物的小罐、药物计量阀和喷嘴。在这个实施方案的一个方面，雷帕霉素被配制为在抛射剂中的混悬液。在这个实施方案的情况下，雷帕霉素被制成悬浮于液化抛射剂或抛射剂共混物中的细粉末。然后将混悬液在足够的压力下贮存于密封小罐中，以维持液体形式的抛射剂。在另一个实施方案中，雷帕霉素被配制为溶液。在这个实施方案的情况下，雷帕霉素溶解于液化抛射剂或抛射剂共混物中。在一个实施方案中，制剂还包含适合稳定制剂一定的时间以防止沉降、分层或絮凝的量的稳定剂，这段时间足以在搅动制剂后允许雷帕霉素的可再次给予。稳定剂可以基于气溶胶制剂总重量一百万份之约10重量份-约5000重量份的量过量存在。在一个实施方案中，液体载体是1,1,1,2-四氟乙烷、1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷或其混合物。在另一个实施方案中，液体载体是烃(例如正-丁烷、丙烷、异戊烷，或其混合物)。组合物还可包含共溶剂(例如乙醇或其它合适的共溶剂)。

[0142] 在本发明的方法的一个实施方案中，包含雷帕霉素的气溶胶制剂还包含另外的药物。在这个实施方案的一个方面，另外的药物选自皮质类固醇、雌激素受体拮抗剂、抗胆碱能药物、 β -受体激动剂、非-甾体类抗炎药、大环内酯类抗生素、支气管扩张剂、白三烯受体抑制剂、毒蕈碱拮抗剂、硫酸色甘酸，及其组合。

[0143] 添加剂

除了存在于制剂中的任何载体或稀释剂(例如乳糖或甘露醇)外，本发明的气溶胶组合物还可包含一种或多种添加剂。在一个实施方案中，一种或多种添加剂包含或由一种或多种表面活性剂组成。表面活性剂通常具有一或多个长脂肪链例如脂肪酸，其能使它们直接插入细胞的脂质结构以增强药物的渗透和吸收。一个通常用来表征表面活性剂的相对亲水性和疏水性的经验参数是亲水性-亲脂性平衡值(“HLB”值)。具有较低HLB值的表面活性剂是更加疏水的，并在油中具有较大的溶解性，而具有较高HLB值的表面活性剂是更加亲水的，并在水性溶液具有较大的溶解性。因此，亲水性表面活性剂通常被认为是具有HLB值大于约10的那些化合物，和疏水性表面活性剂通常是具有HLB值少于约10的那些化合物。然而，这些HLB值只是一种指导，因为对于许多表面活性剂，HLB值可相差高达约8个HLB单位，

这取决于所选择的测定HLB值的经验方法。

[0144] 在用于本发明的气溶胶组合物的表面活性剂中有聚乙二醇(PEG)-脂肪酸和PEG-脂肪酸一和二酯、PEG甘油酯、醇-油酯交换产品、聚甘油脂肪酸、丙二醇脂肪酸酯、甾醇和甾醇衍生物、聚乙二醇脱水山梨醇脂肪酸酯、聚乙二醇烷基醚、糖及其衍生物、聚乙二醇烷基酚、聚氧乙烯-聚氧丙烯(POE-POP)嵌段共聚物、脱水山梨醇脂肪酸酯、离子表面活性剂、脂溶性维生素和它们的盐、水溶性维生素和它们的两性分子衍生物、氨基酸和它们的盐,和有机酸和它们的酯和酐。这些中的每一个在下文更详细地描述。

[0145] PEG脂肪酸酯

尽管聚乙二醇(PEG)本身不作为表面活性剂起作用,多种PEG-脂肪酸酯具有有用的表面活性剂特性。在PEG-脂肪酸一酯中,月桂酸、油酸和硬脂酸的酯在本发明的实施方案中是最有用的。优选的亲水性表面活性剂包括PEG-8月桂酸酯、PEG-8油酸酯、PEG-8硬脂酸酯、PEG-9油酸酯、PEG-10月桂酸酯、PEG-10油酸酯、PEG-12月桂酸酯、PEG-12油酸酯、PEG-15油酸酯、PEG-20月桂酸酯和PEG-20油酸酯。HLB值在4-20的范围内。

[0146] 聚乙二醇脂肪酸二酯也适合在本发明的实施方案的组合物中用作表面活性剂。最优选的亲水性表面活性剂包括PEG-20二月桂酸酯、PEG-20二油酸酯、PEG-20二硬脂酸酯、PEG-32二月桂酸酯和PEG-32二油酸酯。HLB值在5-15的范围内。

[0147] 一般来说,表面活性剂的混合物,包括两种或更多种市售表面活性剂的混合物以及表面活性剂与另一种添加剂或多种添加剂的混合物,在本发明的实施方案中也是有用的。几种PEG-脂肪酸酯作为一-和二酯的混合物经市场售得。

[0148] 聚乙二醇甘油脂肪酸酯

优选的亲水性表面活性剂是PEG-20甘油月桂酸酯、PEG-30甘油月桂酸酯、PEG-40甘油月桂酸酯、PEG-20甘油油酸酯,和PEG-30甘油油酸酯。

[0149] 醇-油酯交换产物

大量不同程度的疏水性或亲水性的表面活性剂可通过醇或多元醇与多种天然和/或氢化油的反应来制备。最常见的是,所用的油是蓖麻油或氢化蓖麻油,或食用植物油例如玉米油、橄榄油、花生油、棕榈仁油、杏树仁油(apricot kernel oil),或杏仁油(almond oil)。优选的醇包括甘油、丙二醇、乙二醇、聚乙二醇、山梨醇,和季戊四醇。在这些醇-油酯交换的表面活性剂中,优选的亲水性表面活性剂是PEG-35蓖麻油(Incrocas-35)、PEG-40氢化蓖麻油(Cremophor RH 40)、PEG-25三油酸酯(TAGAT.RTM. T0)、PEG-60玉米甘油酯(Crovol M70)、PEG-60杏仁油(Crovol A70)、PEG-40棕榈仁油(Crovol PK70)、PEG-50蓖麻油(Emalex C-50)、PEG-50氢化蓖麻油(Emalex HC-50)、PEG-8辛酸/癸酸甘油酯(Labrasol),和PEG-6辛酸/癸酸甘油酯(Softigen 767)。在这种类别中的优选的疏水性表面活性剂包括PEG-5氢化蓖麻油、PEG-7氢化蓖麻油、PEG-9氢化蓖麻油、PEG-6玉米油(Labrafil.RTM. M 2125 CS)、PEG-6杏仁油(Labrafil.RTM. M 1966 CS)、PEG-6杏仁油(Labrafil.RTM. M 1944 CS)、PEG-6橄榄油(Labrafil.RTM. M 1980 CS)、PEG-6花生油(Labrafil.RTM. M 1969 CS)、PEG-6氢化棕榈仁油(Labrafil.RTM. M 2130 BS)、PEG-6棕榈仁油(Labrafil.RTM. M 2130 CS)、PEG-6三油精(Labrafil.RTM.b M 2735 CS)、PEG-8玉米油(Labrafil.RTM. WL 2609 BS)、PEG-20玉米甘油酯(Crovol M40),和PEG-20杏仁甘油酯(Crovol A40)。

[0150] 聚甘油脂肪酸

脂肪酸的聚甘油酯也是用于本发明的实施方案的合适表面活性剂。在聚甘油脂肪酸酯中,优选的疏水性表面活性剂包括聚甘油油酸酯(Plurol Oleique)、聚甘油-2二油酸酯(Nikkol DGD0)、聚甘油-10三油酸酯、聚甘油硬脂酸酯、聚甘油月桂酸酯、聚甘油肉豆蔻酸酯、聚甘油棕榈酸酯,和聚甘油亚油酸酯。优选的亲水性表面活性剂包括聚甘油-10月桂酸酯(Nikkol Decaglyn 1-L)、聚甘油-10油酸酯(Nikkol Decaglyn 1-0),和聚甘油-10一、二油酸酯(Caprol.RTM. PEG 860)、聚甘油-10硬脂酸酯、聚甘油-10月桂酸酯、聚甘油-10肉豆蔻酸酯、聚甘油-10棕榈酸酯、聚甘油-10亚油酸酯、聚甘油-6硬脂酸酯、聚甘油-6月桂酸酯、聚甘油-6肉豆蔻酸酯、聚甘油-6棕榈酸酯,和聚甘油-6亚油酸酯。聚甘油聚蓖麻醇酸酯(Polymuls)也是优选的表面活性剂。

[0151] 丙二醇脂肪酸酯

丙二醇和脂肪酸的酯是用于本发明的实施方案的合适表面活性剂。在这类表面活性剂中,优选的疏水性表面活性剂包括丙二醇一月桂酸酯(Lauroglycol FCC)、丙二醇蓖麻醇酸酯(Propymuls)、丙二醇一油酸酯(Myverol P-06)、丙二醇二辛酸酯/二癸酸酯(Captex.RTM. 200),和丙二醇二辛酸酯(Captex.RTM. 800)。

[0152] 甾醇和甾醇衍生物

甾醇和甾醇的衍生物是用于本发明的实施方案的合适表面活性剂。优选的衍生物包括聚乙二醇衍生物。这类的一个优选的表面活性剂是PEG-24胆固醇醚(Solulan C-24)。

[0153] 聚乙二醇脱水山梨醇脂肪酸酯

多种PEG-脱水山梨醇脂肪酸酯是可利用的并适合用作本发明的实施方案中的表面活性剂。在PEG-脱水山梨醇脂肪酸酯中,优选的表面活性剂包括PEG-20脱水山梨醇一月桂酸酯(吐温-20)、PEG-20脱水山梨醇一棕榈酸酯(吐温-40)、PEG-20脱水山梨醇一硬脂酸酯(吐温-60),和PEG-20脱水山梨醇单油酸酯(吐温-80)。

[0154] 聚乙二醇烷基醚

聚乙二醇和烷基醇的醚是用于本发明的实施方案的合适表面活性剂。优选的醚包括PEG-3油醚(Volpo 3)和PEG-4月桂基醚(Brij 30)。

[0155] 糖及其衍生物

糖衍生物是用于本发明的实施方案的合适表面活性剂。在这类中的优选的表面活性剂包括蔗糖一棕榈酸酯、蔗糖一月桂酸酯、癸酰基-N-甲基葡萄糖酰胺、正-癸基-β-D-吡喃葡萄糖苷、正-癸基-β-D-吡喃麦芽糖苷、正-十二烷基-β-D-吡喃葡萄糖苷、正-十二烷基-β-D-麦芽糖苷、庚酰基-N-甲基葡萄糖酰胺、正-庚基-β-D-吡喃葡萄糖苷、正-庚基-β-D-硫代葡萄糖苷、正-己基-β-D-吡喃葡萄糖苷、壬酰基-N-甲基葡萄糖酰胺、正-壬基-β-D-吡喃葡萄糖苷、辛酰基-N-甲基葡萄糖酰胺、正-辛基-β-D-吡喃葡萄糖苷,和辛基-β-D-硫代吡喃葡萄糖苷。

[0156] 聚乙二醇烷基酚

几种PEG-烷基酚表面活性剂是可获得的,例如PEG-10-100壬基酚和PEG-15-100辛基酚醚、泰洛沙泊、辛苯聚醇、壬苯醇醚,并适合用于本发明的实施方案中。

[0157] 聚氧乙烯-聚氧丙烯(POE-POP)嵌段共聚物

POE-POP嵌段共聚物是一类独特的聚合物表面活性剂。表面活性剂的独特结构,具有在良好-限定的比例和位置的亲水性POE和疏水性POP部分,提供适合用于本发明实施方案的广泛种类的表面活性剂。这些表面活性剂可以各种商品名,包括Synperonic PE系列(ICI);

Pluronic.RTM.系列(BASF)、Emkalyx、Lutrol (BASF)、Supronic、Monolan、Pluracare和Plurodac获得。用于这些聚合物的通用术语是“泊洛沙姆”(CAS 9003-11-6)。这些聚合物具有下式： $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a\text{H}$ ，其中“a”和“b”分别表示聚氧乙烯和聚氧丙烯单位的数目。

[0158] 这种类别的优选的亲水性表面活性剂包括泊洛沙姆108、188、217、238、288、338，和407。在这种类别中的优选的疏水性表面活性剂包括泊洛沙姆124、182、183、212、331，和335。

[0159] 脱水山梨醇脂肪酸酯

脂肪酸的脱水山梨醇酯是用于本发明的实施方案的合适表面活性剂。在这些酯中，优选的疏水性表面活性剂包括脱水山梨醇一月桂酸酯(Arlacel 20)、脱水山梨醇一棕榈酸酯(Span-40)、脱水山梨醇一油酸酯(Span-80)、脱水山梨醇一硬脂酸酯。

[0160] 脱水山梨醇一棕榈酸酯，一种维生素C的两性分子衍生物(其具有维生素C活性)，可在增溶系统中发挥两种重要的功能。第一，它具有有效的可调节微环境的极性基团。这些极性基团是相同的基团，其使得维生素C本身(抗坏血酸)成为可获得的最易溶于水的有机固体化合物之一：抗坏血酸可以约30 wt/wt %溶于水(例如，非常接近氯化钠的溶解性)。并且第二，当pH增加时，部分抗坏血酸棕榈酸酯会转化为更易溶解的盐，例如抗坏血酸棕榈酸钠。

[0161] 离子表面活性剂

离子表面活性剂，包括阳离子、阴离子和两性离子表面活性剂，是用于本发明实施方案的合适的亲水性表面活性剂。优选的离子表面活性剂包括季铵盐、脂肪酸盐和胆盐。特别地，优选的离子表面活性剂包括苯扎氯铵、苄索氯铵、西吡氯铵、十二烷基三甲基溴化铵、十二烷基硫酸钠、二烷基甲基苄基氯化铵、依酚氯铵、度米芬；磺基琥珀酸钠、二辛基磺基琥珀酸钠、胆酸钠和牛磺胆酸钠的二烷基酯。这些季铵盐是优选的添加剂。它们可溶于有机溶剂(例如乙醇、丙酮，和甲苯)和水二者中。这对医学装置涂料是特别有用的，因为它简化了制备和涂布工艺并具有良好的粘附特性。水不溶性药物通常溶于有机溶剂。

[0162] 脂溶性维生素及其盐

以许多维生素的各种形式和原维生素形式存在的维生素A、D、E和K被认为是脂溶性维生素，并且除了这些外，许多其它的维生素和维生素源或近亲也是脂溶性的并具有极性基团，和相对高的辛醇-水分配系数。明显地，这样的化合物的一般类别具有安全使用的历史和高的收益风险比，使得它们可用作本发明的实施方案中的添加剂。

[0163] 脂溶性维生素衍生物和/或来源的以下实例也可用作添加剂： α -生育酚、 β -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚、醋酸生育酚、麦角甾醇、1- α -羟基胆钙化醇、维生素D2、维生素D3、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、 γ -胡萝卜素、维生素A、呋喃硫胺、羟甲基核黄素、奥托硫胺、丙硫硫胺、核黄素、乙烯硫莫、二氢维生素K1、醋酸甲萘氢醌、丁酸甲萘氢醌(menadiol dibutyrate)、硫酸甲萘氢醌(menadiol disulfate)、甲萘氢醌、维生素K1、维生素K1氧化物、维生素K2，和维生素K—S(II)。叶酸也属于这种类型，尽管它在生理pH下是水溶性的，它可被配制为游离酸形式。用于本发明实施方案中的脂溶性维生素的其它衍生物可容易地经由熟知的与亲水性分子的化学反应获得。

[0164] 水溶性维生素和它们的两性分子衍生物

维生素B、C、U、泛酸、叶酸,和一些以许多它们的各种形式存在的甲萘醌-相关维生素/原维生素被认为是水溶性维生素。这些也可与疏水性部分或多价离子结合或络合成具有相对高的辛醇-水分配系数和极性基团的两性分子形式。此外,这样的化合物可具有低毒性和高收益-风险比,使得它们可用作本发明的实施方案中的添加剂。这些化合物的盐也可用作本发明的添加剂。水溶性维生素和衍生物的实例包括,但不限于,乙酰硫胺、苯磷硫胺、泛酸、西托硫胺、环硫胺、泛醇、烟酰胺、烟酸、5-磷酸吡哆醛、抗坏血酸烟酰胺、核黄素、磷酸核黄素、硫胺、叶酸、磷酸甲萘氢醌、甲萘醌亚硫酸氢钠、甲萘多昔(menadoxime)、维生素B12、维生素K5、维生素K6、维生素K6,和维生素U。此外,如上所提及的,叶酸作为盐在广泛的pH范围(包括生理pH)内是水溶性的。

[0165] 其中存在氨基或其它碱性基团的化合物可容易地通过与含有疏水基团的酸例如脂肪酸(特别是月桂酸、油酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸,或2-乙基己酸)、低-溶解性氨基酸、苯甲酸、水杨酸,或酸性脂溶性维生素(例如核黄素)的简单的酸-碱反应来修饰。其它的化合物可通过这样一种酸与维生素上的另一基团例如羟基反应形成键例如酯键等而获得。包含酸性基团的水溶性维生素的衍生物可在与含有疏水基团的反应物例如硬脂胺或核黄素的反应中生成,例如产生可用于本发明的实施方案中的化合物。棕榈酸酯链与维生素C的键接产生抗坏血酸棕榈酸酯。

[0166] 氨基酸和它们的盐

丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、脯氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸,和它们的衍生物是本发明实施方案中的其它有用的添加剂。

[0167] 某些以它们的两性离子形式和/或以具有单价或多价离子的盐形式存在的氨基酸具有极性基团,相对高的辛醇-水分配系数,并可用于本发明的实施方案中。在本公开内容的上下文中,发明人采用“低-溶解性氨基酸”意味着氨基酸在未缓冲的水中具有低于约4%(40 mg/ml)的溶解性。这些包括胱氨酸、酪氨酸、色氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酸和甲硫氨酸。

[0168] 有机酸和它们的酯和酐

实例是乙酸和酐、苯甲酸和酐、乙酰基水杨酸、二氟尼柳、2-羟基乙基水杨酸酯、二乙三胺五乙酸二酐、乙二胺四乙酸二酐、马来酸和酐、琥珀酸和酐、二甘醇酸酐、戊二酸酐、抗坏血酸、柠檬酸、酒石酸、乳酸、草酸、天冬氨酸、烟酸、2-吡咯烷酮-5-甲酸和2-吡咯烷酮。

[0169] 这些酯和酐可溶于有机溶剂例如乙醇、丙酮、甲乙酮、乙酸乙酯。具有这些酯和酐的水不溶性药物可溶于有机溶剂,然后容易地涂布在医疗装置上,然后在高pH条件下水解。经水解的酐或酯为酸或醇,其为水溶性的并可有效地携带所述药物离开装置进入脉管壁。

实施例

[0170] 本发明在以下实施例中进一步描述,所述实施例不限制在权利要求书描述的本发明的范围。

[0171] 实施例1:水性气溶胶制剂

雷帕霉素的示例性水性制剂使用以下组分制备:

组分	量(g)	质量分数(w/w)
----	------	-----------

雷帕霉素	0.1	0.01 %
乙醇	250	25 %
丙二醇	250	25 %
聚山梨醇酯80	0.02	0.002 %
水	500	50 %
总计	1000	

混合程序: 在一个1000 ml琥珀容量瓶中, 混合250丙二醇与250乙醇直至均匀。然后依次先溶解100 mg雷帕霉素, 然后溶解20 mg聚山梨醇酯80于丙二醇和乙醇溶液中。加入水使体积为1000 ml并搅拌或超声处理直至均匀和所有的雷帕霉素溶解。在控制的温度下避光贮存。

[0172] 实施例2: 干燥粉末制剂

批号06RP68.HQ00008和06RP68.HQ00009。这两个制剂各自是分散到乳糖载体颗粒表面的微粉化药物(雷帕霉素)颗粒的共混物。各批的最终组成包含分别具有平均直径约2.60微米和3.00微米的1% (w/w)药物颗粒。具有合适的尺寸范围的药物颗粒通过如下所述的湿抛光(06RP68.HQ00008)或射流研磨(06RP68.HQ00009)制得。虽然这个实施例使用1% (w/w)雷帕霉素, 但范围0.5-20%是可行的。载体颗粒由两种载体, 以95.5% (w/w)存在并具有约30-100微米的粒径(等同于球径)的Respitose® SV003, 和以5.5% (w/w)存在并具有少于10微米的粒径(等同于球径)的Respitose® LH300 (Lactohale 300)的共混物组成。混合后, 测定共混物以证实均匀性和1%的药物含量。

[0173] 为减少药物颗粒聚集和帮助药物颗粒的气溶胶化, 任选地包括几种其它的赋形剂。任选的赋形剂包括磷脂, 例如二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)和卵磷脂, 和脂肪酸金属盐, 例如硬脂酸镁。这些可以赋形剂与大载体颗粒的范围从0.01至0.5%的重量比被涂布在载体颗粒上。

[0174] 胶囊填充: 将得自批号06RP68.HQ00008和批号06RP68.HQ00009的20毫克粉末共混物装载到3号尺寸的HPMC胶囊中以产生药物产品。对于这些共混物, 可行的是将5-35毫克药物装载到3号尺寸胶囊中并在Plastiape® RS01型7或Plastiape® RS00型8装置中以每分钟范围从60至100升的流速驱动时, 从胶囊排空大于95%的载荷的共混物。

[0175] 实施例3: 在经口咽吸入(OPA)和口服管饲给药至C57BL6小鼠后, 在肺和血中的雷帕霉素的测定

进行该研究以在经管饲和口咽吸入(OPA)给予极高靶向剂量1 mg/kg的雷帕霉素后, 评价雄性C57BL/6小鼠中雷帕霉素的浓度。已开发使用带有串联质谱检测的液相色谱(LC-MS/MS), 在小鼠血和肺组织匀浆中分析雷帕霉素的方法。在小鼠血中, 使用一式三份浓度, 在1 ng/mL和2000 ng/mL之间, 和在小鼠肺组织匀浆中, 在2 ng/mL和20,000 ng/mL之间分析雷帕霉素校准曲线。准确度、精密度和线性度均在预期范围内。

[0176] 在初步研究中, 媒介按每只小鼠50 µL的体积经由口咽吸入递送至肺的效率通过给予伊文思蓝染色(Evans blue dye)来评价。蓝色染料仅存在于肺中在视觉上查证, 而在胃中缺乏蓝色染料证实在所用的程序中避免了递送至胃。

[0177] 雷帕霉素经管饲以1.0 mg/kg的剂量口服或者经由OPA给予雄性C57BL/6小鼠(N=6)。口服剂量使用药物口服液体制剂Rapamune Oral® (Pfizer)配制。用于OPA的雷帕霉素

通过将试验物品溶于适量的乙醇中,然后加入适量的水,制备1 mg雷帕霉素/mL浓度的10%乙醇溶液来制备。在异氟烷麻醉下,将雷帕霉素经OPA给予2组各6只雄性C57BL/6小鼠。另一组6只小鼠仅接受媒介(10%乙醇在水中)。在给予后1小时,对口服和OPA接受雷帕霉素的一组6只小鼠实施安乐死,并经心脏穿刺获得血液,并移出肺。观察每组经OPA给予雷帕霉素或媒介的剩余小鼠另外3天。在72-小时的尸检时,通过心脏穿刺获得血液并移出肺。在给药后的72 h期间,在雷帕霉素-或媒介-处理的小鼠中未观察到不利作用。

[0178] 在收集的血和在肺组织匀浆中通过LC-MS/MS检测雷帕霉素的浓度。在OPA雷帕霉素后1小时,肺组织(3794 ± 1259 ng/g组织)中的雷帕霉素浓度为血(641 ± 220 ng/ml)中的大约6倍。在口服给予类似剂量的雷帕霉素后,1-h的肺和血的雷帕霉素浓度分别为 71 ± 43 ng/g和 23 ± 16 ng/ml。在OPA后,肺组织匀浆浓度为在口服给予相同高剂量(1 mg/kg)的雷帕霉素后测量的那些的53倍。数据提示递送较低剂量的雷帕霉素至肺(不饱和系统的剂量水平)将导致可达到通过口服实现的肺中的雷帕霉素水平,但血中的雷帕霉素显著地低于口服给药出现的。

[0179] 材料和方法

试验物质:西罗莫司(Rapamune,雷帕霉素) MW 914.172、 $C_{51}N_7O_{12}$, CAS号:53123-88-9。来源(用于口服管饲):用于口服给药的Rapamune Oral® (Pfizer),批号:MWGT, 失效期:07/16。来源(用于OPA):雷帕霉素(西罗莫司)固体, LC Laboratories, Woburn MA, 批号:ASW-127, 失效期:12/2023。

[0180] 动物:雄性C57BL/6小鼠,大约8周龄,来自Charles River Laboratories, Inc, Raleigh, NC。动物喂饲认证的Purina啮齿动物饲料#5002并自由供给自来水。对每批饲料的营养素水平和可能的污染物的分析由供应商进行,由研究指导者检查,并保持在研究记录中。饲料在约60-70°F下贮存,且使用期从研磨之日起不超过6个月。小鼠被关养(每笼1只)在带有不锈钢棒盖的、容纳一个水瓶的聚碳酸酯笼中。用于小鼠的笼子尺寸为约11.5" x 7.5" x 5"高(70平方英寸地板空间)。接触垫料为Sani-Chips硬木碎屑(P. J. Murphy Forest Products Co.; Montville, NJ)。小鼠在用于研究前检疫5天的时间。兽医或有资格的指定者检查动物,然后将它们从检疫中释放。使用自动系统(具有Signal®软件的修订本4.4.1的Siebe/Barber-Colman Network 8000系统[Siebe Environmental Controls (SEC)/Barber-Colman Company; Loves Park, IL]),连续监测、控制和记录RTI动物房的温度和相对湿度。目标环境范围是64-79°F (18°C-26°C)的温度和30-70%的相对湿度,伴有每天12-h的光照循环。在生命期结束时,通过过度暴露于二氧化碳使小鼠安乐死。

[0181] 试验化学剂制备:伊文思蓝以0.5% w/v在无菌蒸馏水制备。Rapamune Oral® 作为口服剂量供应给予。使雷帕霉素(固体)溶于乙醇并用无菌蒸馏水稀释,以提供在10%乙醇中的0.5 mg/mL的最终浓度。

[0182] 剂量:每只动物在投药之前称重以测定欲给予的剂量的量。单一管饲剂量使用配置有球触点的20-G不锈钢管饲给药针(Popper & Sons Inc., New Hyde Park, NY)的100-μL玻璃注射器(Hamilton, Reno, NV)给予。给予每只动物的剂量从充满注射器的重量减去排空注射器的重量测定。记录给药时间。动物的给药相隔开来以允许在适当的时间收集血。给予每组的剂量制剂在下面显示。

[0183] 对于口咽吸入组动物,在异氟烷麻醉下,使用配置有球触点的24-G不锈钢管饲给

药针(Popper & Sons Inc., New Hyde Park, NY)的100 μ L玻璃注射器(Hamilton, Reno, NV),给予每只小鼠的单一剂量的雷帕霉素(50 μ L)。在投药之前对小鼠称重,而给予的雷帕霉素剂量按重量记录。每只小鼠用异氟烷麻醉,并用限制口打开。用镊子将舌头保持在口的一侧,而剂量被缓慢地注入到口腔的远侧部分。鼻孔用手指挡住呼吸两次以确保吸入(Rao等, 2003)。

[0184] 表1:研究设计概述

剂量组	途径	化合物	动物数	目标剂量(mg/ml)	目标剂量(μ L)	目标剂量(mg/kg)	收集时间	收集样品
1	OA	伊文思蓝	6	-	50	0	1	血, 肺
2	OA	雷帕霉素	6	0.5	50	1.0	1	血, 肺
3	管饲	口服雷帕霉素	6	1.0	25	1.0	1	血, 肺
4	OA	媒介	6	0	50	1.0	72	血, 肺
5	OA	雷帕霉素	6	0.5	50	1.0	72	血, 肺

收集血和肺样品:在研究终止时(在给药后1或72 h),小鼠经暴露于CO₂麻醉,血液通过心脏穿刺获得,用EDTA二钾作为抗凝血剂。切除肺组织并分成右肺和左肺。左肺用于分析,和右肺在液氮中快速冷冻并于-70℃贮存用于进一步分析。

[0185] 经LC-MS/MS分析样品的雷帕霉素:用于分析肺和血中的雷帕霉素的LC-MS/MS方法基于Wu等(2012)公布的方法准备。血和肺组织匀浆的体积从公布的方法显著地减少。曲安西龙被用作内部标准。

[0186] 肺组织匀浆经称重的肺样品在匀化器中用2.8-mm滚珠,在SPEX SamplePrep 2010 Geno/Grinder中,用组织 + 去离子水(1:3 w/v)匀化制备。

[0187] 排列标准的浓度,以使每一标准来自备选的储备标准。一个6-点校准曲线,每一点按一式三份获得,被用于分析物定量。采用一个有或没有权重的简单的线性回归模型用于曲线拟合。确定的浓度范围在血中是1-2000 ng/mL和在肺组织匀浆中是从2-2000 ng/mL。

[0188] 以下方法性能参数被认为是可接受的;对于浓度-反应关系,决定系数, r^2 , ≥ 0.98 ;标称值的 $\leq \pm 15\%$ (对于LOQ以上的浓度)或 $\leq \pm 20\%$ (对于LOQ的浓度)的精确度。在所有的分析中 r^2 是大于0.999。

[0189] 三十(30) μ L基质、30 μ L尖峰溶液(spiking solution) (用于空白的甲醇和样品)、10 μ L内部标准溶液(在MeOH中)和90 μ L MeOH被移液到微量离心管中,短暂涡流,然后于~4℃以10,000 RPM离心6分钟。上清液的等分液(90 μ L)被转移至LC小瓶插入物,然后经LC-MS/MS分析(表2)。

[0190] 表2:LC-MS/MS方法

柱	具有VanGuard 2.1 x 5 mm HSS T3 1.8 μ m的Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8 μ m, 2.1 x 50 mm.
流动相A	10 mM乙酸铵在水中,0.1%乙酸
流动相B	MeOH
注射体积	2 μ L
流速	0.5 mL/min
梯度	70% A 1 min,线性梯度至5% A,1-3 min, 保持1 min,线性梯度至70% A,4-5.1 min,和保持在70%直至6 min
雷帕霉素MRM	931.70→864.70
曲安西龙(IS MRM)	395.30→357.20

数据收集和报告:收集研究数据并报告在Debra™ 系统版本5.5.10.72 (Lablogic Systems Ltd., Sheffield, England)中。这包括动物体重、给予剂量、给药时间和样品收集时间的数据。剂量给予的计算和样品收集时间用Debra™ 系统报告。

[0191] 结果

雷帕霉素分析:雷帕霉素的分析建立在30 μ L的血和肺组织匀浆的样品体积上。示例色谱图显示血和肺中的雷帕霉素和内部标准(图1和2)。在生成研究样品之前,生成针对肺和血的一式3份重复校准曲线,以验证方法性能。校准范围对于血是1.0-2000 ng/mL和对于肺组织匀浆是1-20,000 ng/mL。肺组织匀浆用1 g肺组织在3体积水中匀化,生成1:4组织匀浆来制备。在图3和4中显示血、肺组织匀浆和溶剂的校准曲线。

[0192] 口咽吸入:在通过口咽吸入给予雷帕霉素之前,给予伊文思蓝用来验证OPA递送剂量至肺。小鼠用异氟烷麻醉并通过OPA,使用装配有钝针的注射器给予伊文思蓝。紧随OPA后,使小鼠安乐死并视觉检查肺和胃,以确保伊文思蓝染料递送至肺,而不递送至胃。4只小鼠被成功地给予伊文思蓝,所有染料出现位于肺部而不在胃部。

[0193] 雷帕霉素给药:给予的剂量溶液的重量通过在给药前称量用剂量溶液充满的注射器,并在给药后称量来确定。给予的剂量溶液的重量被用来计算给予的雷帕霉素的量。给药时间被记录为0。在组2和3中的动物在给药后1 h被实施安乐死。在组4和5中的动物在给药后观察72 h。在任何组中均未观察到显著的临床体征。

[0194] 血和肺中的雷帕霉素分析:在所有收集样品的小鼠血和左肺组织匀浆中分析雷帕霉素(图6和7)。来自每只动物右肺的样品被保留用于潜在的进一步分析。对于样品的概要数据提供于表3中。

[0195] 表3:经口和口咽(OPA)给予雷帕霉素至小鼠(1 mg/kg)后在血和中的雷帕霉素浓度

动物编号	给药途径	给药后时间(h)	肺(ng/g组织)	血(ng/ml)
2-07	OPA	1	5040	615.5
2-08	OPA	1	2642	455.5
2-09	OPA	1	4500	622
2-10	OPA	1	1874	364.5
2-11	OPA	1	4006	937
2-12	OPA	1	4700	848.5
均值			3794	641
SD			1259	220
3-13	管饲	1	109.8	49.85
3-14	管饲	1	24.66	11.3
3-15	管饲	1	122.8	28.7
3-16	管饲	1	54	28.35
3-17	管饲	1	<LOQ	2.845
3-18	管饲	1	43	19.35
均值			71	23
SD			43	16
5-25	OPA	72	11.7	<ELOQ

5-26	OPA	72	11.4	<ELOQ
5-27	OPA	72	15.7	<ELOQ
5-28	OPA	72	10.8	<ELOQ
5-29	OPA	72	11.9	<ELOQ
5-30	OPA	72	13.6	<ELOQ
均值			12.5	
SD			1.9	

对于所有的样品组,按照标准组、样品复制1、标准组、样品复制样品2、标准组的顺序分析一式三份的校准曲线。在OPA雷帕霉素后1 h,雷帕霉素的浓度在肺组织(3794 ± 1259 ng/g组织)为血中(641 ± 220 ng/ml)的~6倍。在口服给予类似剂量的雷帕霉素后,1-h的雷帕霉素的肺和血浓度分别为 71 ± 43 ng/g和 23 ± 16 ng/ml。在OPA后的肺组织匀浆浓度为在口服给予相同的高剂量(1 mg/kg)雷帕霉素后测定的那些浓度的53倍。

[0196] 讨论

该研究调查了在通过管饲给予雷帕霉素的市售口服制剂,和通过口咽给予(OPA)在10%乙醇水溶液中制备的混悬液后,雷帕霉素在血和肺组织中的浓度。在经由OPA给药后至多72 h,在雷帕霉素-或媒介-处理的小鼠中未观察到不利作用。在给予雷帕霉素之前,开发了一种分析方法,并验证经OPA给予染料至肺。在OPA后,雷帕霉素在肺中的浓度为在血中的6-倍。在OPA后72 h,雷帕霉素低于血液的定量限,但在肺中是可检测的。这个研究表明,雷帕霉素在肺部给药后是可全身利用的,并且在递送至肺后的早期和晚期时间点,肺组织浓度大大超过血中的浓度。

[0197] 这些结果进一步证实,直接递送至肺的雷帕霉素在肺组织中达到比血中意外更高的局部药物浓度。这个结果从已知的有关雷帕霉素的药理学(其预测所述药物在肺组织和血中的浓度大致相等,因为已知雷帕霉素均匀分布在整个身体组织中,并由于其高的亲脂性而应快速地从肺中清除)而言是完全出乎意料的。因此,这些结果表明,直接给予雷帕霉素至肺应该能够达到用于治疗功效的足够高的递送剂量,同时在相同的时间实现几乎不能检测的系统可利用性,从而消除与口服给药有关的因系统暴露于药物的毒性。虽然对肺本身的毒性也在有关早期的研究中有关,本文的结果进一步出乎意料地表明,相对高量的雷帕霉素对肺组织没有急性毒性。

[0198] 参考文献

Crowe, A., Bruelisauer, A. & Duerr, L. (1999). 在大鼠中SDZ-RAD和雷帕霉素的吸收和肠道代谢(Absorption and intestinal metabolism of SDZ-RAD and rapamycin in rats). *Drug Metabolism and Disposition*, 27, 627-632.

Rao, G. V. S., Tinkle, S., Weissman, D. N., Antonini, J. M., Kashon, M. L., Salmen, R., Hubbs, A. F. (2003). 使小鼠肺暴露于从咽吸入颗粒的技术功效(Efficacy of a technique for exposing the mouse lung to particles aspirated from the pharynx). *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 66 (15), 1441-52. doi:10.1080/15287390306417.

Wu, K., Cohen, E. E. W., House, L. K., Ramírez, J., Zhang, W., Ratain, M.

J., & Bies, R. R. (2012). 西罗莫司在晚期癌症患者中的非线性群体药代动力学 (Nonlinear population pharmacokinetics of sirolimus in patients with advanced cancer). CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology, 1(October), e17. doi: 10.1038/psp. 2012. 18.

实施例4: 在口服和OPA给予雷帕霉素后的小鼠肺中的S6磷酸化

如上所讨论的, 显示雷帕霉素在口服和OPA给药后在肺和血中的组织分布的发明人的实验证实, 直接给予雷帕霉素至肺应该能够达到用于治疗功效的足够高的递送剂量, 同时在相同的时间实现对所述药物的极低的全身暴露, 从而同时改进治疗功效并消除许多与口服给予雷帕霉素有关的毒性。为了验证这种方法, 发明人使用在鼠肺组织中存在的磷酸化S6蛋白作为对mTOR活性的生物标记物。在使用的小鼠品系(C57b1/6)中, 小鼠气道和肺泡上皮细胞有组成性活性(磷酸化的, “p”) S6蛋白。S6蛋白通常由S6K磷酸化, S6K在mTORC1的下游并例如由生长因子例如表皮生长因子(EGF)、AKT、ERK和RSK的下游激活。mTORC1通过刺激合成代谢的过程例如脂质、蛋白和细胞器的生物合成, 并抑制分解代谢过程例如自吞噬, 来促进细胞生长和增殖。mTORC1途径感觉和整合细胞内和细胞外信号, 包括生长因子、氧、氨基酸和能量状态, 以调节广泛范围的过程, 例如蛋白和脂质合成和自吞噬。mTORC1对雷帕霉素是明显敏感的。

[0199] 在本研究中, 从如上所讨论的, 在给药后的两个时间点(1小时和72小时), 从用经由OPA (n=6)或经由口服管饲(n=6)给予的1 mg/kg雷帕霉素或媒介(n=6)处理的C57b1/6小鼠中取出肺组织。如上所讨论的, 在OPA给予后1 hr, 雷帕霉素被检测在血中为641 ng/ml和在肺中为3794 ng/g组织, 和在72 hr在肺中仍检出12.5 ng/g, 而在该时间点在血中未能检测出。相反地, 在口服(管饲)给药后, 在1 hr, 雷帕霉素被检测在血中为23 ng/ml和在肺中为71 ng/g组织, 而在72 hr无论是在肺或是在血中均未能检测到。如图1和2中的数据所示, 磷酸化S6 (pS6)的水平通过OPA和口服给予雷帕霉素后1 hr均显著减少, 而对于OPA在72 hr仍受到抑制。pS6在媒介对照中最高, 因为这些小鼠具有组成性活性的mTOR信号传导。这些数据显示, 雷帕霉素的足以在肺中达到约70 ng/g药物的递送剂量在肺组织中基本上消除mTOR信号传导, 如通过pS6蛋白所测量的, 并且在低至12.5 ng/g的水平时, mTOR信号传导仍受到抑制。这些结果证实, 发明人的方法利用吸入的雷帕霉素治疗其特征是异常高的mTOR途径活性的疾病和障碍例如LAM, 这由吸入的雷帕霉素可以比口服给予雷帕霉素低得多的剂量递送, 以同时实现高治疗功效和极低毒性所证实。

[0200] 实施例5: 用于可吸入组合物的尺寸减少的雷帕霉素

使用湿抛光或者射流研磨工艺, 将雷帕霉素的粒径减少至 $2.0\mu\text{m} < D_{v50} < 3.0\mu\text{m}$ 的目标范围。对于射流研磨, 使用来自Jetpharma的实验室规模的MCOne单元, 采用以下操作条件: 文丘里压力2-4巴, 研磨压力3-5巴, 进料速率90 g/h。对于湿抛光, 饲料混悬液使用纯净水制备。微流体高压匀化器被用于尺寸减少步骤, 生成的混悬液经喷雾干燥。湿抛光工艺的细节在下文提出。

[0201] 用于湿抛光工艺的尺寸减少步骤的高压力匀化器是配备有辅助处理模块(200微米)的小试规模的微流体高压匀化器并使用100微米的互动室。所述单元在~455巴(增强模块液压压力~30巴)下操作。在微流化作用后, 液体通过喷雾干燥除去以生成干燥粉末。一个实验室规模喷雾干燥器, SD45 (BÜCHI, B-290 Advanced型)装配有两个液体喷嘴(帽和直径

分别为1.4和0.7 mm)。两个旋流净化器串联使用(第一标准Buchi旋流净化器和第二高性能Buchi旋流净化器),以收集干燥的产物。喷雾干燥单元用氮并以单通模式操作,即无干燥氮气再循环。吸气器,吹出氮,设定在其能力的100%(最大能力的流速是大约40 kg/h)。雾化氮气的流速被调节至旋转式流量计的 40 ± 5 mm的值。在送入产物混悬液之前,用纯净水稳定喷雾干燥器,在此期间将流速调节至6 ml/min (20%在蠕动泵中)。调节进口温度以达到目标出口温度(45℃)。在温度稳定后,喷雾干燥器的进料从纯净水至产物混悬液交换(保持在稳定期间采用的相同流速)并再次调节进口温度以达到目标出口温度。在储备混悬液结束时,进料再次交换为纯净水,以冲洗进料线并进行受控的关闭。对在两个旋流净化器下收集瓶中的干燥产物称量,而产量计算为干燥产物相对于送入高压匀化器的混悬液中的总固体的质量百分比。

[0202] 粒径分布通过激光衍射法分析。固态表征(多形性形式和纯度)通过高压液相色谱(HPLC)、X-线粉末衍射(XRPD)和差示扫描量热法(mDSC)进行。水含量用Karl Fischer方法测定。

[0203] 射流研磨产生具有1.5微米的Dv10,2.7微米的Dv50和4.9微米的Dv 90的单分散粒径分布的结晶雷帕霉素粉末,如下表所示的。

[0204] 湿抛光产生具有1.0微米的Dv10,2.4微米的Dv50和5.0微米的Dv 90的单分散粒径分布的结晶雷帕霉素粉末。

[0205] 两种方法产生在目标范围内的雷帕霉素颗粒,而无论是那种方法均未显示出对雷帕霉素的多形性形式或纯度的影响。下表显示对射流研磨和湿抛光工艺的过程控制数据。数据表明两种工艺能够产生在目标范围内的API粒径,而不影响API纯度或多形性形式。

[0206] 表4:射流研磨数据

PSD	μm	Dv10	Dv50	Dv90
		1.51	2.74	4.91
XRPD	-	类似于API (西罗莫司) 衍射图		
mDSC	(起始T, °C)	182.2		
KF	% w/w	0.30		
HPLC	测定(% w/w)	99.5		
(%面积)	西罗莫司	99.35		

表5:湿抛光数据

PSD	μm	Dv10	Dv50	Dv90
		1.05	2.42	4.97
XRPD	-	类似于API (西罗莫司) 衍射图		
mDSC	(起始T, °C)	185.7		
KF	% w/w	0.30		
HPLC	测定(% w/w)	99.0		
(%面积)	西罗莫司	99.42		

实施例6:干燥粉末组合物的气溶胶性能测试

在以上实施例中生产的胶囊被放置在下面的表格中指定的装置中并启动。从包含来自批号06RP68.HQ00008和批号06RP68.HQ00009的共混物的装置/胶囊递送的气溶胶性能使用新一代撞击器(NGI),根据被描述于USP的905和601章的方法表征。以60和100升/每分钟(LPM)的流速测试气溶胶。细颗粒剂量(FPD)和细颗粒分数(FPF)显示于下表中。也示出总气体动力学中位数直径(MMAD)和几何标准偏差(GSD)。

[0207] 表6:06RP68.HQ00008 (湿抛光) + Plasiatape RS01型7

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

表7:06RP68.HQ00008 (湿抛光) + Plasiatape RS00型8

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

表8:06RP68.HQ00009 (射流研磨) + Plasiatape RS01型7

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

表9:06RP68.HQ00009 (射流研磨) + Plasiatape RS00型8

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

基于这些气溶胶性能数据,湿抛光药物颗粒是优选的。它们导致较高的细颗粒剂量、较高的细颗粒分数、将显示渗透进入中心和周围肺区和将具有较少的口服沉积的粒径分布。

[0208] 实施例7:雷帕霉素的药代动力学模型

基于如上所示的气溶胶性能06RP68.HQ00008 (湿抛光) + Plasiatape RS01型,和在实施例3的动物实验结果,可期望吸入的雷帕霉素直接递送至人肺将类似地导致持久的肺浓度,其为足够高的治疗有效浓度,且具有低的全身暴露(低血浓度),由此有效地使由于全身暴露的副作用最小化。一个两室、药代动力学模型被开发以预测在使用表7中的制剂和DPI吸入器,重复QD给予后在人血和肺中的浓度。对于药代动力学模型,使用来自批准的Rapamune® (NDA 21-110,和NDA 21-083)概要基础的人PK参数:分配的体积被假定为780

升,清除率是0.0003/分钟,和消除半衰期是42.3小时(假设等同于雷帕霉素IV给药)。从肺部吸收雷帕霉素的半衰期被估计是约0.5小时,类似于其它高亲脂性化合物,例如丙酸氟替卡松,对于其肺吸收数据是可利用的。沉积在肺中的雷帕霉素的生物利用度被假定是约100%。通过口咽沉积,由GI途径吸收的或通过粘液纤毛清除从上气道除去的雷帕霉素的生物利用度被假定是14%,如在批准的Rapamune® 概要基础所报告的。对于普通人以每分钟60升的流速的吸气动作,如在表7中所示,细颗粒剂量是57微克,和细颗粒分数是40%。

[0209] 如在图8中所示,模型预测在11天后达到平均稳态浓度。从图中可见,每日一次重复剂量57微克递送至肺导致约0.150毫微克/ml的谷血浓度,显著低于在McCormack等(2011),“西罗莫司在淋巴管平滑肌瘤病中的功效和安全性(Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis)”, *N Engl J Med* 364: 1595-1606中报道的5-15 ng/ml的浓度。假定850克的肺组织质量,在肺中没有代谢和肺吸收半衰期30分钟,57微克雷帕霉素递送至肺将导致在肺组织中的治疗水平,雷帕霉素的局部肺浓度高达约60 ng/克。

[0210] 等价物

本领域技术人员将认识或能够使用不超过常规的实验确定,许多与本文描述的本发明的具体实施方案的等价物。这样的等价物打算由以下的权利要求书涵盖。

[0211] 本文引用的所有的参考文献通过引用以其全文结合到本文中并用于所有的目的,如同各个单独的出版物或专利或专利申请特别地和单独地指明通过引用以其全文结合到本文中并用于所有的目的的相同程度一样。

[0212] 本发明不受本文描述的具体实施方案的范围的限制。事实上,对本领域技术人员而言,本发明的各种修饰,除了本文描述的那些外,将从前面的描述和附图而变得显而易见。这样的修饰打算落入所附权利要求书的范围内。

小鼠血中10.6 ng/mL雷帕霉素(上部)和内部标准(底部)
的LC-MS/MS色谱图

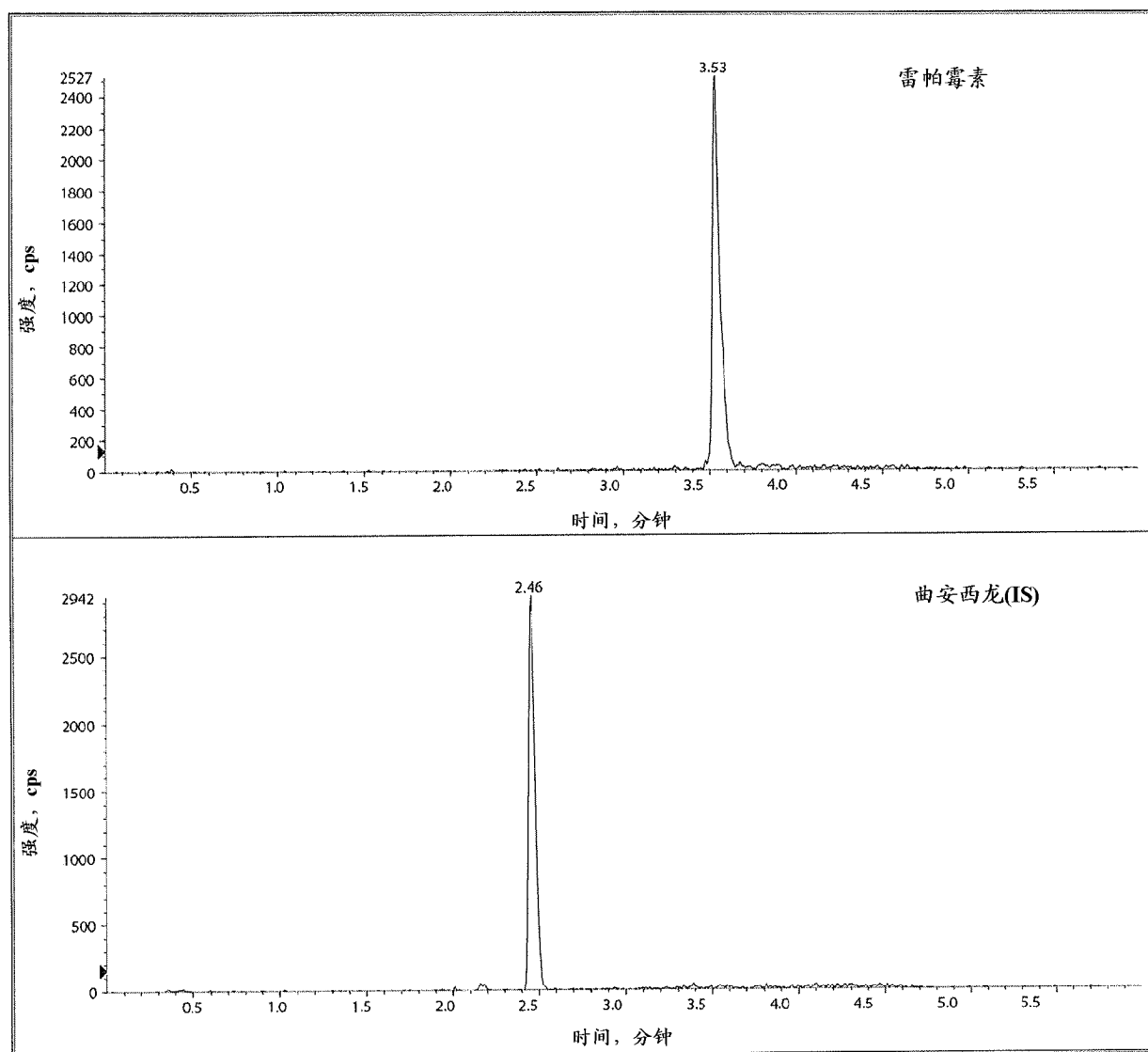


图 1

小鼠肺组织匀浆中10.6 ng/mL雷帕霉素(上部)和内部标准
(底部)的代表性色谱图

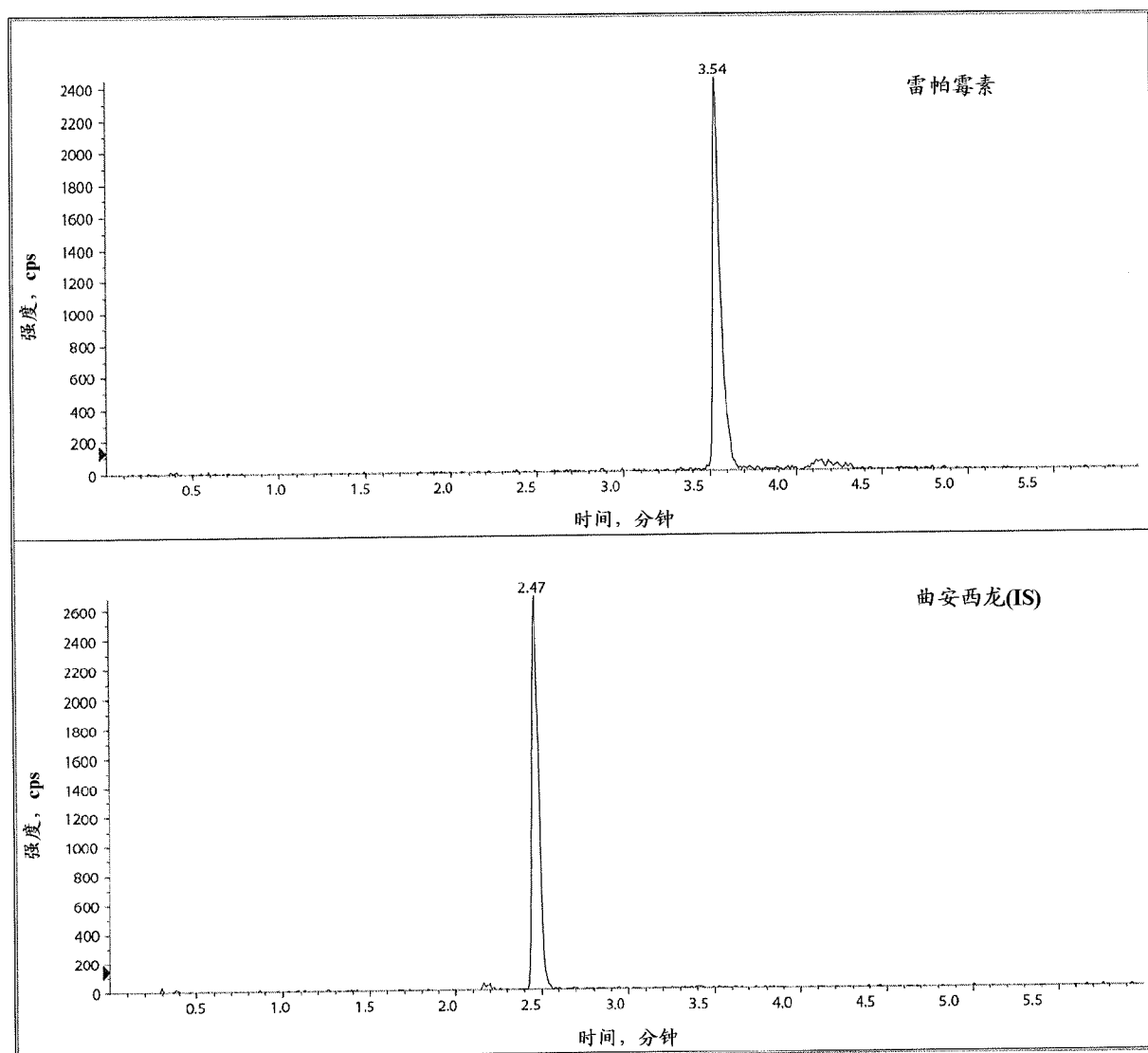


图 2

小鼠血中雷帕霉素的校准曲线

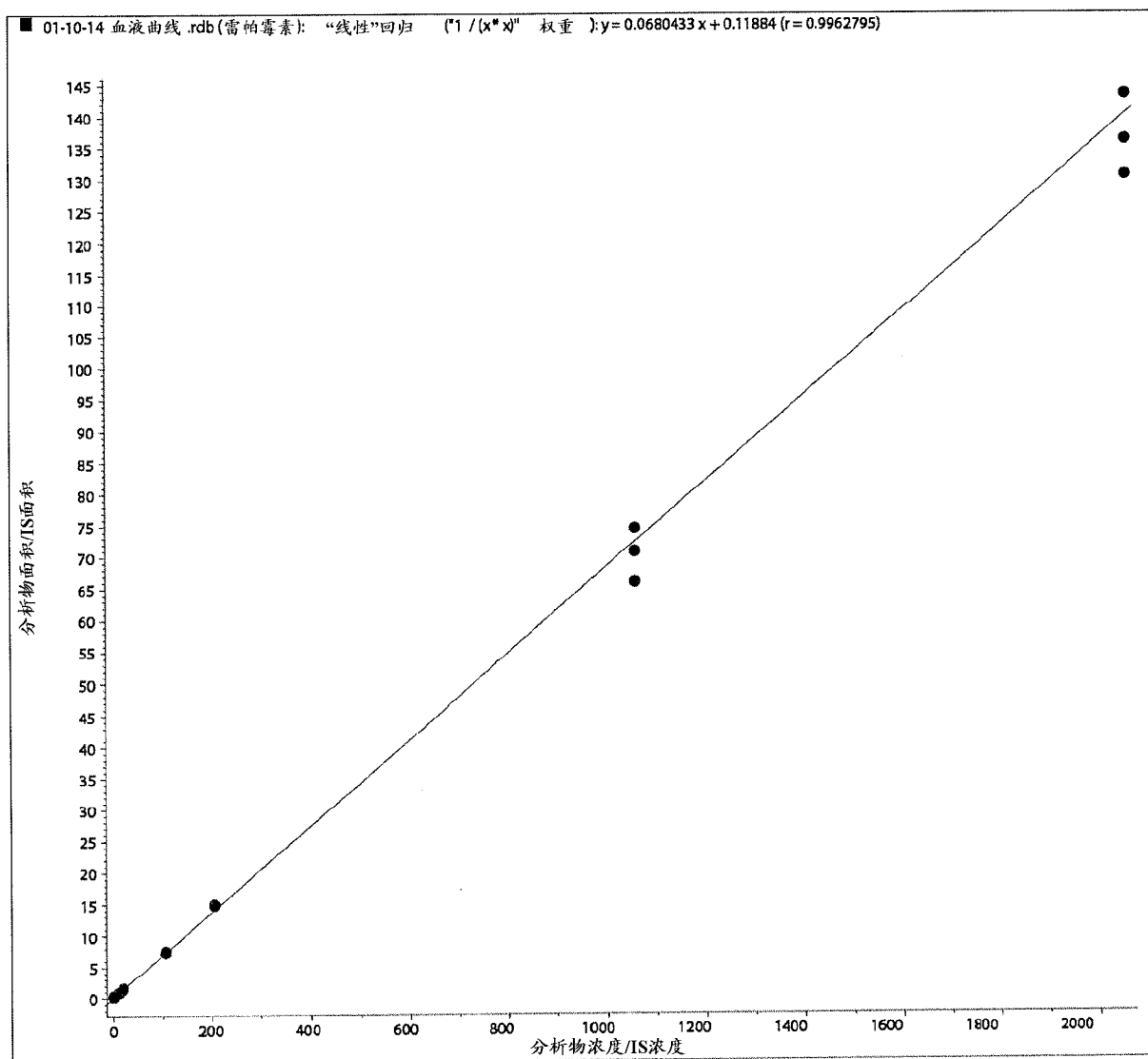


图 3

小鼠肺组织匀浆中雷帕霉素的校准曲线

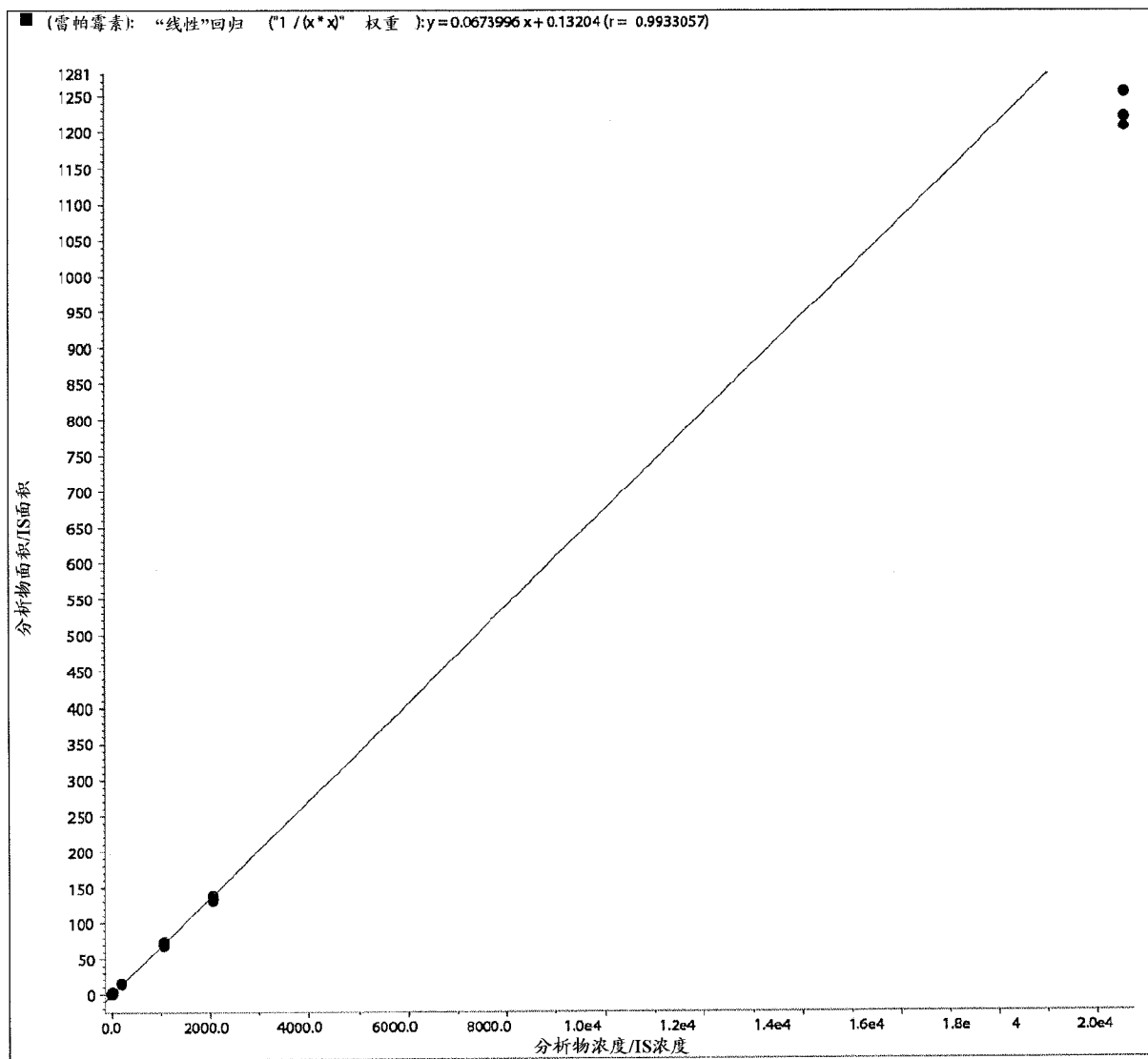


图 4

在采自通过OPA给药给予雷帕霉素的小鼠2-07的血中雷帕霉素(上部)
和内部标准(底部)的代表性色谱图

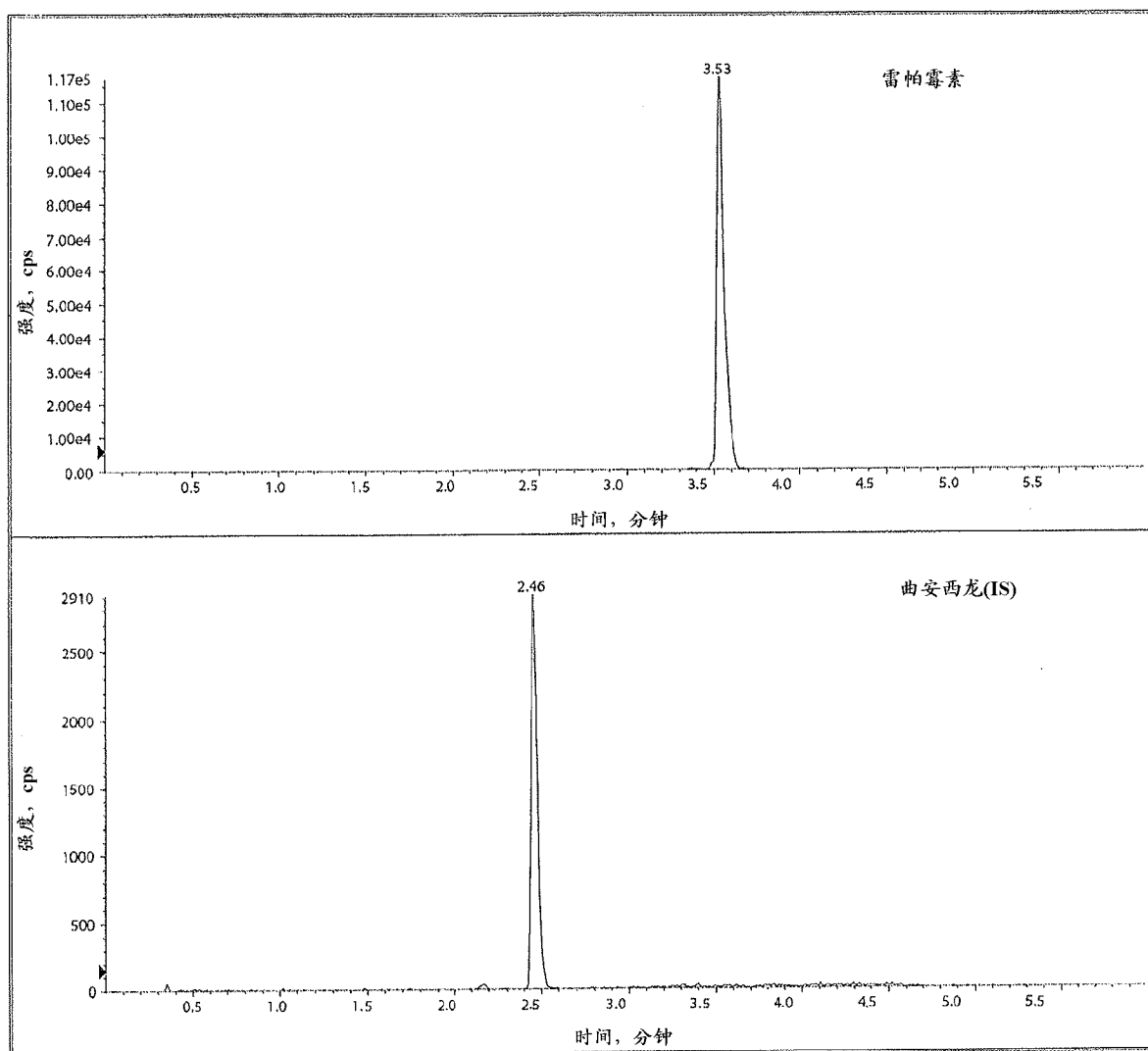


图 5

在采自通过OPA给药给予雷帕霉素的小鼠2-07的肺组织匀浆中雷帕霉素
(上部)和内部标准(底部)的代表性色谱图

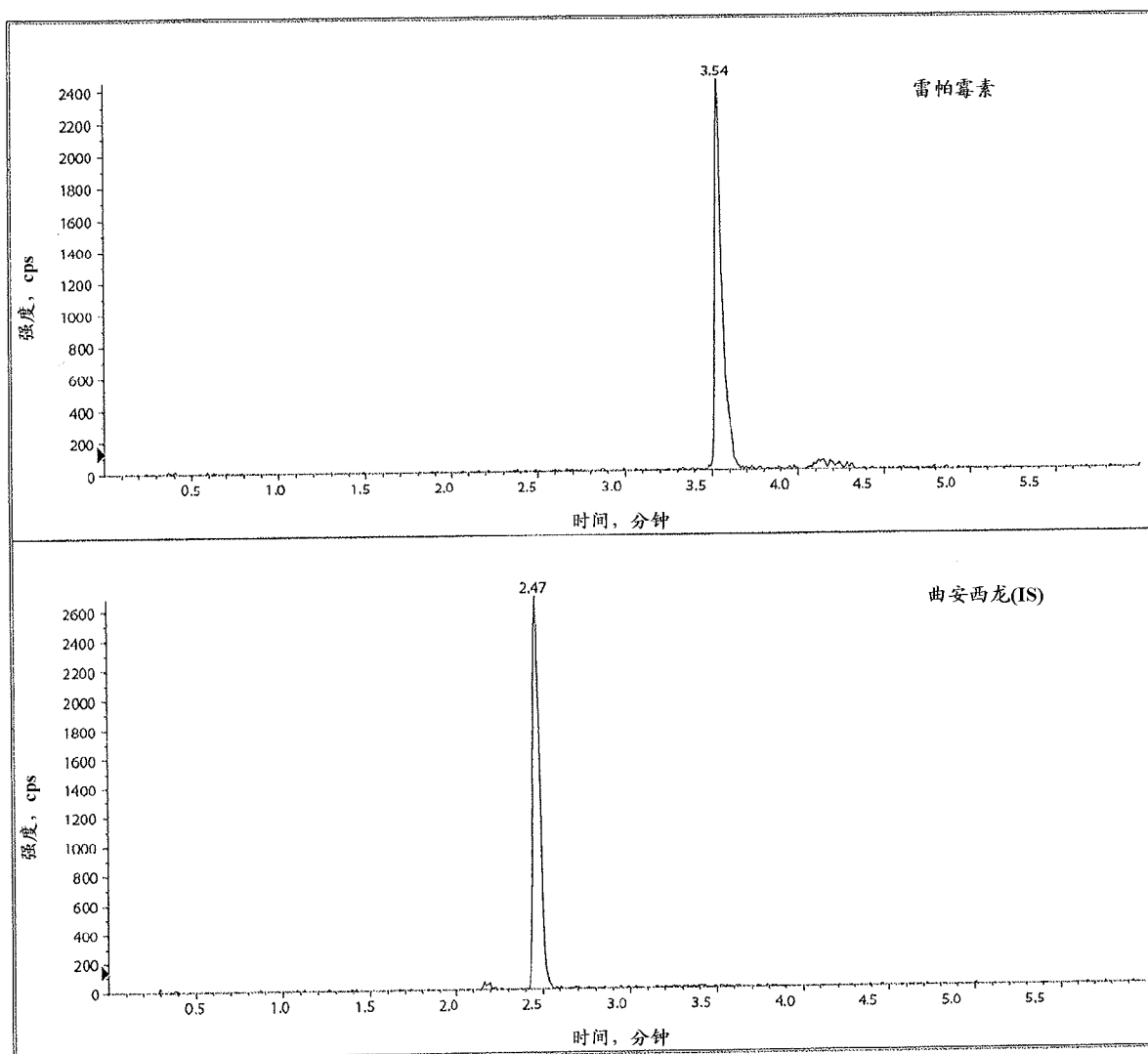


图 6

T-检验 P值	OPA-媒介 (72小时)	OPA-雷帕霉素 (1小时)	经口管饲-雷 帕霉素(1小时)	OPA-雷帕霉素 (72小时)
0.00788	x	x		
0.012025	x		x	
0.19463	x			x

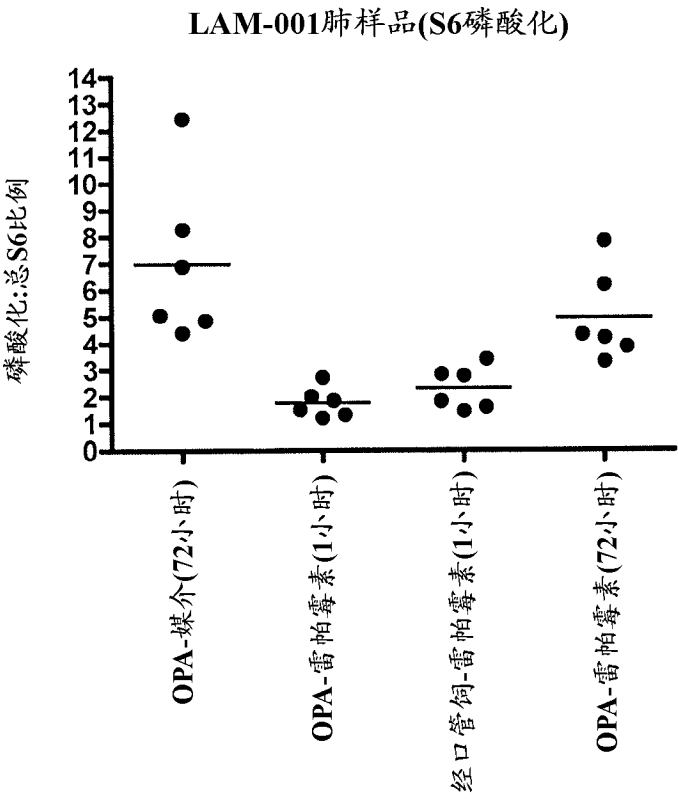


图 7

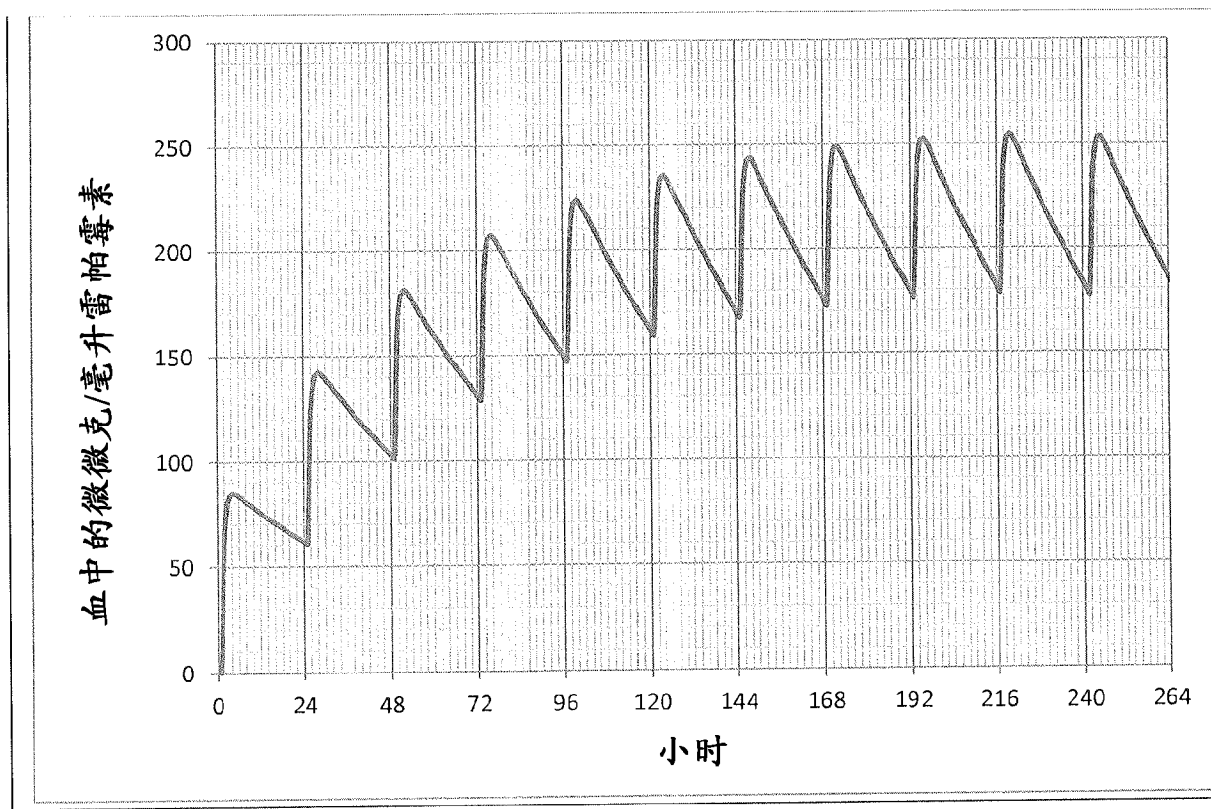


图 8