



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 07 456 T2 2004.03.25**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 089 712 B1**

(51) Int Cl.⁷: **A61K 9/12**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 07 456.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US99/14074**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 930 552.7**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/066903**

(86) PCT-Anmeldetag: **22.06.1999**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **29.12.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **11.04.2001**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **02.05.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **25.03.2004**

(30) Unionspriorität:

90454 P 24.06.1998 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(73) Patentinhaber:

**Advanced Inhalation Research, Inc., Cambridge,
Mass., US**

(72) Erfinder:

**EDWARDS, A., David, Boston, US; BATYCKY, P.,
Richard, Newton, US; CAPONETTI, Giovanni,
Cambridge, US**

(74) Vertreter:

**Luderschmidt, Schüler & Partner, 65189
Wiesbaden**

(54) Bezeichnung: **GROSSE PORÖSE PARTIKEL AUSGESTOSSEN VON EINEM INHALATOR**

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**HINTERGRUND DER ERFINDUNG**

[0001] Vorliegende Patentanmeldung betrifft allgemein Teilchen zur Verwendung bei der Arzneimittelzuführung zum Lungensystem.

[0002] Aerosole für die Zuführung therapeutischer Mittel zum Atmungstrakt wurden z. B. in Adjei, A. und Garren, J. Pharm. Res., 7: 565–569 (1990); und Zanen, P. und Lamm, J.-W. Int. J. Pharm., 114: 111–115 (1995) beschrieben. Der Atmungstrakt umfasst die oberen Atemwege, einschließlich des Oropharynx und des Larynx, gefolgt von den unteren Atemwegen, welche die Trachea, gefolgt von Gabelungen in die Bronchien und Bronchiolen, umfassen. Der obere und der untere Atemweg werden die leitenden Atemwege genannt. Die Endbronchiolen teilen sich sodann in Atmungsbronchiolen, welche sodann zur letzten Atmungszone führen, den Alveolen, oder der „tiefen Lunge“, vgl. Gonda, I. „Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract,“ (Aerosole zur Zuführung von therapeutischen und diagnostischen Mitteln zum Atmungstrakt) in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6: 273–313 (1990). Die tiefe Lunge oder die Alveolen, sind das primäre Ziel inhalierter therapeutischer Aerosole für eine systemische Arzneimittelzuführung.

[0003] Inhalierte Aerosole wurden zur Behandlung lokaler Lungenerkrankungen einschließlich Asthma und zystischer Fibrose verwendet (Anderson, Am. Rev. Respir. Dis., 140: 1317–1324 (1989)) und haben ein Potenzial für die systemische Zuführung von Peptiden und Proteinen (Patton und Platz, Advanced Drug Delivery Reviews, 8: 179–196 (1992)). Jedoch stellen Strategien einer pulmonären Arzneimittelzuführung viele Schwierigkeiten für die Zuführung von Makromolekülen dar; diese umfassen eine Denaturierung des Proteins während der Aerosolbildung, einen übermäßigen Verlust inhalierten Arzneimittels in der oropharyngealen Höhlung (der oftmals 80% überschreitet), eine schlechte Steuerung über die Stelle der Ablagerung, ein Fehlen von Reproduzierbarkeit therapeutischer Ergebnisse infolge der Schwankungen der Atmungsmuster, die häufige zu schnelle Arzneimittelabsorption, die möglicherweise zu lokalen toxischen Wirkungen führt, und die Phagozytose durch Lungenmakrophagen.

[0004] Eine beträchtliche Aufmerksamkeit wurde der Bauart therapeutischer Aerosolinhalatoren gewidmet, um die Wirksamkeit von Inhalationstherapien zu verbessern. Timsina u. a., Int. J. Pharm., 101: 1–13 (1995); und Tansey, I. P., Spray Technol. Market, 4: 26–29 (1994). Aufmerksamkeit wurde auch der Gestaltung der Oberflächentextur von trockenem Pulveraerosol gewidmet, im Hinblick auf die besondere Notwendigkeit, eine Teilchenaggregation zu vermeiden, ein Phänomen, welches die Wirksamkeit von Inhalationstherapien beträchtlich vermindert (French, D. L., Edwards, D. A. und Niven, R. W., J. Aerosol Sci., 27: 769–783 (1996). Trockene Pulverformulierungen („DPFs“) mit großen Teilchengrößen weisen ein verbessertes Fließvermögen auf, wie eine geringere Aggregation (Viser, J., Powder Technology 58: 1–10 (1989)), eine leichtere Aerosolbildung und möglicherweise eine geringere Phagozytose (Rudt, S. und R. H., Muller, J. Controlled Release, 22: 263–272 (1992); Tabata, Y und Y. Ikada, J. Biomed. Mater. Res., 22: 837–858 (1988). Trockene Pulveraerosole zur Inhalationstherapie werden in der Regel mit mittleren geometrischen Durchmessern in erster Linie im Bereich von weniger als 5 µm hergestellt (vgl. Ganderton, D., J. Biopharmaceutical Sciences, 3: 101–105 (1992); und Gonda, I. „Physico-Chemical Principles in Aerosol Delivery „in Topics in Pharmaceutical Sciences“ 1991, Crommelin, D. J. und K. K. Midha, Herausgeber, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, S. 95–115, 1992. Große „Träger“-Teilchen (die kein Arzneimittel enthalten) wurden zusammen mit therapeutischen Aerosolen zugeführt, um das Erreichen einer wirksamen Aerosolbildung unter anderen möglichen Vorteilen zu erreichen [vgl. French, D. L., Edwards, D. A. und Niven, R. W., J. Aerosol Sci., 27: 769–783 (1996).

[0005] Die menschlichen Lungen können hydrolytisch spaltbare abgelagerte Aerosole innerhalb von Zeiträumen im Bereich von Minuten bis Stunden entfernen oder schnell abbauen. In den oberen Atemwegen tragen Flimmerepithel zum „mukoziliaren Eskalator“ bei, durch den Teilchen aus den Atemwegen in Mundrichtung mitgerissen werden [vgl. Pavia, D. „Lung Mucociliary Clearance,“ in Aerosols and the Lung: Clinical and Experimental Aspects, Clarke, S. W. und Pavia, Herausgeber, Butterworths, London, 1984. Anderson, Am Rev. Respir. Dis., 140: 1317–1324 (1989). In den tiefen Lungen sind alveolare Makrophagen in der Lage, Teilchen bald nach ihrer Ablagerung zu phagozytosieren [vgl. Warheit, M. B. und Hartsky, M. A., Microscopy Res. Tech., 26: 412–422 (1993); Brain, J. D., „Physiology and Pathophysiology of Pulmonary Macrophages,“ in the Reticuloendothelial System, S. M. Reichard und J. Filkins, Herausgeber, Plenum, New York, S. 315–327, 1985; Dorries A. M. und Valberg, P. A., Am. Rev. Resp. Disease 146: S. 831–837 (1991), und Gehr, P., Microscopy Res. And Tech., 26: 423–436 (1993). Da der Teilchendurchmesser 3 µm überschreitet, gibt es eine zunehmend geringere Phagozytose durch Makrophagen (vgl. Kawaguchi, H., Biomaterials 7: 61–66 (1986); Krenis, L. J. und Straus, B., Proc. Soc. Exp. Med., 107: 748–750 (1961); sowie Rudt, S. und Muller, R. H., J. Contr. Rel, 22: 263–272 (1992). Jedoch wurde auch gefunden, dass die Zunahme der Teilchengröße die Wahrscheinlichkeit minimiert, dass Teilchen (welche eine Standard-Massendichte besitzen) in die Atemwege und die Acini infolge einer übermäßigen Ablagerung in die oropharyngealen oder nasalen Bereiche eintreten [vgl. Heyder, J., J. Aerosol Sci.,

17: 811–825 (1986)].

[0006] Lokale und systemische Inhalationstherapien können oft von einer verhältnismäßig langsam gesteuerten Freisetzung des therapeutischen Mittels profitieren (vgl. Gonda, I., „Physico-chemical principles in aerosol delivery,” in: *Topics in Pharmaceutical Sciences* 1991, D. J. A. Crommelin und K. K. Midha, Herausgeber, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, S. 95–117 (1992)). Eine langsame Freisetzung aus einem therapeutischen Aerosol kann das Verweilen eines verabreichten Arzneimittels in den Atemwegen oder Acini verlängern und die Rate des Auftretens des Arzneimittels im Blutstrom vermindern. Auch wird die Befolgung durch den Patienten erhöht, indem die Häufigkeit der Dosierung verringert ist [vgl. Langer, R., *Science*, 249: 1527–1533 (1990), und Gonda, I., („Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract” „Aerosole für die Zuführung therapeutischer und diagnostischer Mittel zum Atmungstrakt) in *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 6: 273–313 (1990).

[0007] Eine gesteuerte Freisetzung des der Lunge zugeführten Arzneimittels kann den Weg vereinfachen, auf dem viele Arzneimittel aufgenommen werden [vgl. Gonda, I., *Adv. Drug Del. Rev.*, 5: 1–9 (1990); und Zeng, X., u. a. *Int. J. Pharm.*, 124: 149–164 (1995). Die pulmonäre Arzneimittelzuführung ist eine attraktive Alternative zur oralen, transdermalen und parenteralen Verabreichung, weil eine Selbstverabreichung einfach ist, die Lungen eine große Schleimhautoberfläche für die Arzneimittelabsorption zur Verfügung stellen, es keine Erstdurchgangs-Leberwirkung der absorbierten Arzneimittel gibt, und es im Vergleich zum oralen Verabreichungsweg eine verminderte enzymatische Wirksamkeit und einen verringerten, durch den pH-Wert vermittelten Arzneimittelabbau gibt. Über die Inhalation kann eine verhältnismäßig hohe Biozugänglichkeit vieler Moleküle einschließlich Makromoleküle, erreicht werden [vgl. Wall, D. A., *Drug Delivery*, 2: 1–20 (1995); Patton, J. und Platz, R., *Adv. Drug Del. Rev.*, 8: 179–196 (1992); sowie Byron, P., *Adv. Drug Del., Rev.*, 5: 107–132 (1990). Als Ergebnis sind mehrere Aerosolformulierungen therapeutischer Arzneimittel im Gebrauch oder werden getestet, zur Zufuhr zur Lunge [vgl. Patton, J. S. u. a. *J. Controlled Release*, 28: 79–85 (1994); Damms, B. and Bains, W., *Nature Biotechnology* (1996); Niven, R. W. u. a., *Pharm. Res.*, 12 (9): 1343–1349 (1995); sowie Kobayashi, S. u. a., *Pharm. Res.*, 13 (1): 80–83 (1996).

[0008] Zur Zeit kommen durch Inhalation verabreichte Arzneimittel in erster Linie als flüssige Aerosolformulierungen auf den Markt. Jedoch sind viele Arzneimittel und Exzipienzien, insbesondere Proteine, Peptide (Liu, R. u. a. *Biotechnol. Bioeng.*, 37: 177–184 (1991) und bioabbaubare Träger wie Poly(lactid-co-glycolid)e (PLGA) in wässrigen Umgebungen für ausgedehnte Zeiträume instabil. Dies kann die.

[0009] Lagerung einer flüssigen Formulierung problematisch machen. Ferner kann während der Aerosolbildung mit flüssigen Formulierungen eine Proteindenaturierung auftreten [vgl. Mumenthaler, M., u. a., *Pharm. Res.*, 11: 12–20 (1994). In Anbetracht dieser und anderer Begrenzungen gewannen trockene Pulverformulierungen (DPF's) wachsendes Interesse als Aerosolformulierungen zur pulmonären Zuführung (vgl. Damms, B. und W. Bains, *Nature Biotechnology* (1996); Kobayashi, S. u. a. *Pharm. Res.*, 13(1): 80–83 (1996); sowie Tim-sina, M., u. a., *Int. J. Pharm.*, 101: 1–13 (1994). Jedoch besteht unter den Nachteilen von DPF's derjenige, dass Pulver aus. ultrafeinen Teilchen üblicherweise ein schlechtes Fließvermögen und schlechte Aerosolbildungseigenschaften besitzen, was zu verhältnismäßig gering einatembaren Fraktionen des Aerosols führt, die die Fraktionen des inhalierten Aerosols , sind, welche einer Ablagerung im Mund und Hals entgehen [vgl. Gonda, I., in *Topics in Pharmaceutical Sciences* 1991, D. Crommelin und K. Midha, Herausgeber, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 95–117 (1992)]. Eine primäre Angelegenheit ist bei vielen Aerosolen die Teilcheraggregation, welche durch Wechselwirkungen zwischen Teilchen und Teilchen verursacht wird, wie z. B. hydrophobe, elektrostatische und kapillare Wechselwirkungen. Eine wirksame Inhalationstherapie mit trockenem Pulver sowohl für eine kurzzeitige als auch langzeitige Freisetzung von Therapeutika, entweder zur lokalen oder systemischen Zuführung erfordert ein Pulver, das eine minimale Zusammenballung zeigt sowie ein Mittel, das den natürlichen Clearance-Mechanismus der Lungen vermeidet oder aussetzt, bis die Arzneimittel wirksam zugeführt sind.

[0010] Es besteht ein Bedürfnis für verbesserte inhalierte Aerosole zur pulmonären Zuführung therapeutischer Mittel. Es besteht ein Bedürfnis für die Entwicklung von Arzneimittelträgern, welche in der Lage sind, die Arzneimittel in einer wirksamen Menge in die Atemwege oder alveolare Zone der Lunge zu führen. Ferner besteht eine Notwendigkeit für die Entwicklung von Arzneimittelträgern zur Verwendung als inhalierte Aerosole, welche bioabbaubar und einer gesteuerten Freisetzung des Arzneimittels innerhalb der Atemwege oder in der alveolaren Zone der Lunge fähig sind. Auch besteht ein Bedürfnis für Teilchen zur pulmonären Arzneimittelzufuhr mit verbesserten Aerosolbildungseigenschaften.

[0011] Infolgedessen ist es ein Ziel vorliegender Erfindung, verbesserte Träger zur pulmonären Zufuhr therapeutischer Mittel bereitzustellen. Ein weiteres Ziel vorliegender Erfindung ist die Bereitstellung inhalierten Aerosole, welche wirksame Träger zur Zufuhr von therapeutischen Mitteln zur tiefen Lunge sind. Ein anderes Ziel vorliegender Erfindung ist die Bereitstellung von Trägern zur pulmonären Zuführung, welche in der tiefen Lunge eine Phagozytose vermeiden. Ein weiteres Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung von Trägern zur pulmonären Arzneimittelzufuhr, welche eines Bioabbaus und einer Arzneimittelfreisetzung bei einer gesteuerten Rate fähig sind. Noch ein weiteres Ziel vorliegender Erfindung ist die Bereitstellung von Teilchen zur pulmonä-

ren Arzneimittelzuführung mit verbesserten Aerosolbildungseigenschaften und optimierten Wechselwirkungen zwischen Teilchen und Teilchen.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0012] Merkmale der Erfindung sind wie in den Patentansprüchen dargelegt.

[0013] Somit betrifft vorliegende Erfindung Teilchen, in die ein oberflächenaktives Mittel und/oder ein hydrophiler oder hydrophober Komplex eines positiv oder negativ geladenen therapeutischen Mittels und eines geladenen Moleküls entgegengesetzter Ladung zur Zuführung von therapeutischen oder diagnostischen Mitteln zum Pulmonarsystem eingearbeitet sind, sowie Verfahren zu ihrer Herstellung und Verabreichung. Beispielhafte oberflächenaktive Mittel umfassen natürlich auftretende Phosphatidylcholine, wie z. B. Dipalmitoylphosphatidylcholin ("DPPC"). Beispielhafte hydrophile oder hydrophobe Komplexe umfassen Insulin (negativ geladen) und Protamin (positiv geladen). Bei einer bevorzugten Ausführungsform sind die Teilchen aerodynamisch leichte Teilchen, welche aus einem bioabbaubaren Material hergestellt sind, und sie besitzen eine Klopfdichte (tap density) von weniger als etwa $0,4 \text{ g/cm}^3$. Die „aerodynamisch leichten“ Teilchen haben in der Regel einen mittleren Durchmesser zwischen etwa $5 \mu\text{m}$ und $30 \mu\text{m}$ und einen aerodynamischen Durchmesser, der zur Zuführung zum Lungensystem, einschließlich der tiefen Lunge, der zentralen Atemwege und der oberen Atemwege führt. Die Klopfdichte von weniger als etwa $0,4 \text{ g/cm}^3$, und der mittlere Durchmesser zwischen etwa $5 \mu\text{m}$ und $30 \mu\text{m}$ sind dazu bestimmt, Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 1 und $5 \mu\text{m}$ (Mikrons) oder, in manchen Fällen, gegebenenfalls mehr zu liefern. Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform haben die Teilchen eine Massendichte von weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$ und einen mittleren Durchmesser zwischen $5 \mu\text{m}$ und $30 \mu\text{m}$. Die Massendichte, beispielsweise in der Regel weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$, und der mittlere Teilchendurchmesser zwischen $5 \mu\text{m}$ und $30 \mu\text{m}$ sind dazu bestimmt, Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 1 und $5 \mu\text{m}$ (Mikron) oder mehr, vorzugsweise zwischen 1 und $3 \mu\text{m}$ (Mikron) zu liefern. Die Teilchen können aus bioabbaubaren Materialien wie bioabbaubaren Polymeren, Proteinen, oberflächenaktiven Mitteln oder anderen wasserlöslichen oder wasserunlöslichen Materialien gebildet werden. Teilchen können auch aus wasserlöslichen Exzipienzien, wie z. B. Trehalose oder Lactose, oder Proteinen, wie z. B. Gen zuzuführenden Proteinen, gebildet sein. Bei einer Ausführungsform umfassen die Teilchen lediglich ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel, das einem Patienten in einem Komplex mit einem anderen geladenen Molekül zuzuführen ist. Bei einer zweiten Ausführungsform umfassen die Teilchen lediglich das Mittel und ein oberflächenaktives Mittel. Bei einer dritten Ausführungsform umfassen die Teilchen ein oberflächenaktives Mittel und geladene Moleküle, die einen Komplex bilden, der eine anhaltende Freisetzung bereitstellen kann.

[0014] Die Teilchen können für eine erhöhte Zuführung eines therapeutischen Mittels zu den Atemwegen oder zum alveolaren Bereich der Lunge verwendet werden. Die Teilchen können zur Verabreichung an den Atmungstrakt wirksam in Aerosole übergeführt werden, um eine systemische oder lokale Zuführung der verschiedensten therapeutischen Mittel zu gestatten. Sie können gegebenenfalls auch zusammen mit größeren Trägerteilchen zugeführt werden, welche kein therapeutisches Mittel tragen und die z. B. einen mittleren Durchmesser im Bereich zwischen etwa $50 \mu\text{m}$ und $100 \mu\text{m}$ besitzen. Die Teilchen können zur Bildung einer Zusammensetzung benutzt werden, welche die Teilchen und einen pharmazeutisch brauchbaren Träger zur Verabreichung an einen Patienten umfassen, vorzugsweise zur Verabreichung auf dem Weg der Inhalation.

[0015] Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung können aerodynamisch leichte Teilchen selbst als Träger für die Zuführung eines therapeutischen, prophylaktischen oder diagnostischen Mittels zum Lungensystem verwendet werden. Derartige aerodynamisch leichte Träger können ein oder mehrere oberflächenaktive Mittel, bioverträgliche Polymere und/oder Exzipienzien, beispielsweise die weiter unten beschriebenen, umfassen. Gemäß dieser Ausführungsform der Erfindung kann ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel auf den aerodynamisch leichten Träger zur Zuführung zum Lungensystem gegeben werden. Therapeutische, prophylaktische oder diagnostische Mittel geringer Größe, wie z. B. Mittel mit einer Teilchengröße im Nanometerbereich, können von den aerodynamisch leichten Trägern getragen werden und dem Lungensystem zugeführt werden.

[0016] Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Arzneimittelzuführung zum Lungensystem unter Verwendung der im vorliegenden beschriebenen Teilchen. Das Verfahren umfasst die Verabreichung an den Atmungstrakt eines Patienten, der eine derartige Behandlung benötigt, die Prophylaxe oder Diagnose einer wirksamen Menge von Teilchen, umfassend ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel und ein aus der Gruppe ausgewähltes Material, die besteht aus einem oberflächenaktiven Mittel und einem Molekül mit einer Ladung, die der Ladung des therapeutischen Mittels entgegengesetzt ist, und das ein Komplex damit bildet. Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung haben die Teilchen eine Klopfdichte von weniger als etwa $0,4 \text{ g/cm}^3$ und einen mittleren Durchmesser zwischen etwa $5 \mu\text{m}$ und $30 \mu\text{m}$. Gemäß einer anderen Ausführungsform der Erfindung haben die Teilchen eine Massendichte von weniger als etwa $0,4 \text{ g/cm}^3$ und einen mittleren Durchmesser zwischen etwa $5 \mu\text{m}$ und $30 \mu\text{m}$.

[0017] Bei einer Ausführungsform betrifft das Verfahren der Erfindung die Verabreichung an den Atmungsstrakt eines Patienten von Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 1 und 5 Mikron. Bei einer bevorzugten Ausführungsform betrifft das Verfahren der Erfindung die Verabreichung an den Atmungsstrakt eines Patienten von Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 1 und 3 Mikron. Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform betrifft das Verfahren gemäß der Erfindung die Verabreichung an den Atmungsstrakt eines Patienten von Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 3 und 5 Mikron.

[0018] Bei einer Ausführungsform umfasst das Verfahren zur Arzneimittelzuführung zum Atmungssystem die Verabreichung an den Atmungsstrakt eines Patienten, der der Behandlung bedarf, die Prophylaxe oder Diagnose einer wirksamen Menge von Teilchen, die ein therapeutisches, diagnostisches oder prophylaktisches Mittel und, ein aus der Gruppe ausgewähltes Molekül umfassen, welche aus einem oberflächenaktiven Mittel und einem Molekül mit einer Ladung besteht, die der Ladung des therapeutischen Mittels entgegengesetzt ist, und damit einen Komplex bildet, wobei die Teilchen eine Klopfdichte von weniger als etwa 0,4 g/cm³ und einen mittleren Durchmesser zwischen etwa 5 µm und 30 µm besitzen und wirksam sind, um einen aerodynamischen Durchmesser der Teilchen zwischen etwa 1 und 3 Mikron zu liefern, und wobei vor oder während der Verabreichung an den Atmungsstrakt die Teilchen unter Bildung zusammengeballter Teilchen aggregiert sind. Die aggregierten Teilchen haben einen aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 3 und 5 Mikron. Der im Vorliegenden benutzte Begriff „zusammengeballt“, „Aggregat“ oder „Aggregation“ bzw. „Zusammenballung“ ist gegenseitig in seiner Bedeutung mit dem Begriff „agglomeriert“, „Agglomerat“ oder „Agglomeration“ austauschbar.

[0019] Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung sind die Teilchen nicht-polymer, wie unten weiter definiert.

[0020] Die Erfindung hat zahlreiche Vorteile, beispielsweise stellt die Erfindung ein Verfahren zur Verfügung, durch das der aerodynamische Durchmesser eines gegebenen Lots von Teilchen mit einem definierten mittleren Durchmesser und einer definierten Klopfdichte angepasst werden können, um die Erfordernisse spezieller Bereiche des Lungensystems zu erfüllen.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0021] **Fig. 1** ist ein Schaubild, das die Massenfraktion der Anfangsdosis, die aus einer Inhalationsvorrichtung für ein trockenes Pulver freigegeben wird, nach der Aerosolbildung von Poly(D,L-milch-co-glycolsäure)-("PLGA")-Mikrokugeln in vitro, zeigt, hergestellt durch ein doppeltes Emulsionsverfahren mit und ohne Einarbeitung von L-α-Phosphatidylcholidipalmitoyl ("DPPC") miteinander vergleicht.

[0022] **Fig. 2** ist ein Schaubild, das die Massenfraktion der in Aerosolform vernebelten Dosis, die in verschiedenen Stufen einer Kaskaden-Hammermühle nach der Aerosolbildung in vitro von PLGA-Mikrokugeln abgelagert wird, hergestellt durch ein doppeltes Emulsionsverfahren mit und ohne Einarbeitung von DPPC.

[0023] **Fig. 3** ist ein Schaubild, das das Aerosolbildungsverhalten von PLGA-Mikrokugeln, hergestellt durch Sprühtrocknen mit und ohne Einarbeitung von DPPC, und die Massenfraktion der Anfangsdosis zeigt, die aus der Inhalationsvorrichtung für das trockene Pulver nach der Aerosolbildung in vitro freigegeben wird.

[0024] **Fig. 4** ist ein Schaubild, das das Aerosolbildungsverhalten in vitro von PLA- und PLGA-Mikrokugeln, hergestellt durch Sprühtrocknen mit und ohne Einarbeitung von DPPC vergleicht und die Massenfraktion der in Aerosolform vernebelten Dosis zeigt, welche in den Stufen einer Kaskaden-Hammermühle abgelagert wird, entsprechend der „atembaren Fraktion“.

[0025] **Fig. 5** ist ein Schaubild, das die Plasmakonzentration von Insulin (ng/ml) pro Zeiteinheit (Stunden) vergleicht.

[0026] **Fig. 6** ist ein Schaubild, das die Freisetzung von Albuterol (%) über die Zeit hinweg (Stunden) vergleicht.

[0027] **Fig. 7** ist ein Schaubild, welches die Freigabe von Albuterol in vitro (%) über die Zeit hinweg (Stunden) für Zusammensetzungen mit verschiedenen Verhältnissen von DPPC, Albumin, Lactose und Albuterol vergleicht.

[0028] **Fig. 8** ist ein Schaubild, das die Veränderung des Atemwegwiderstands (cm H₂O/ml/Sek.) pro Zeiteinheit (Stunden) vergleicht.

[0029] **Fig. 9** ist eine graphische Darstellung, welche den aerodynamischen Durchmesser von völlig dispergierten Teilchen mit dem aerodynamischen Durchmesser aggregierter Teilchen vergleicht.

[0030] **Fig. 10** ist eine graphische Darstellung, die den mittleren aerodynamischen Durchmesser von Teilchen, gemessen durch eine Flugzeit-Vorrichtung (API Aerosizer[®] und Aerodisperser[®]) als Funktion der Scher-rate zeigt.

[0031] **Fig. 11** ist eine graphische Darstellung, welche die aerodynamische Größenverteilung nach dem Austritt aus einer Inhalationsvorrichtung für trockenes Pulver zeigt.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0032] Die Merkmale und andere Einzelheiten der Erfindung, entweder als Stufen der Erfindung oder als Kombination von Teilen der Erfindung, werden nun anhand der Zeichnungen in größeren Einzelheiten beschrieben und in den Patentansprüchen herausgestellt. Die gleichen Bezugszahlen stellen in den verschiedenen Figuren die gleichen Gegenstände dar.

[0033] Vorliegende Erfindung betrifft Teilchen, in die ein oberflächenaktives Mittel und/oder ein hydrophiler oder hydrophober Komplex eines positiv oder negativ geladenen therapeutischen, prophylaktischen oder diagnostischen Mittels und eines geladenen Moleküls entgegengesetzter Ladung für die Zuführung zum Lungensystem eingearbeitet sind, und es werden Verfahren zu ihrer Herstellung und . Verabreichung bereitgestellt. Die Teilchen können, brauchen jedoch nicht, ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel umfassen. Bei einer Ausführungsform umfassen die Teilchen entweder nur ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel zur Zuführung an einem Patienten. Bei einer zweiten Ausführungsform umfassen die Teilchen ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel und ein oberflächenaktives Mittel.

[0034] Die Teilchen haben eine Klopfdichte von weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$ und einen mittleren Durchmesser zwischen $5 \text{ }\mu\text{m}$ und $30 \text{ }\mu\text{m}$, der in Kombination einen aerodynamischen Durchmesser von 1–5 Mikron, vorzugsweise zwischen 1 und 3 Mikron, liefert. Der aerodynamische Durchmesser wird berechnet, um eine maximale Ablagerung innerhalb der Lungen bereitzustellen, was bisher durch die Verwendung von sehr kleinen Teilchen von weniger als 5 Mikron Durchmesser, vorzugsweise zwischen 1 und 3 Mikron, erreicht wurde, welche dann der Phagozytose ausgesetzt sind. Der Auswahl von Teilchen, welche einen größeren Durchmesser besitzen, die jedoch ausreichend leicht (deshalb die Charakterisierung aerodynamisch leicht") sind, führt zu einer gleichwertigen Zufuhr zu den Lungen, jedoch unterliegen die Teilchen mit einer größeren Größe nicht der Phagozytose. Eine verbesserte Zuführung kann unter Verwendung von Teilchen mit einer groben oder ungleichmäßigen Oberfläche bezüglich denjenigen mit einer glatten Oberfläche erhalten werden. In der Regel minimiert die Anwesenheit eines oberflächenaktiven Mittels eine unerwünschte Aggregation der Teilchen. Jedoch betrifft, wie in größeren Einzelheiten weiter unten diskutiert wird, die Erfindung ein Verfahren zur Zuführung zum Lungensystem, bei dem eine gewisse Teilchenaggregation genutzt wird, um Teilchen zu erhalten, die einen größeren aerodynamischen Durchmesser als derjenige der völlig dispergierten Teilchen besitzen. Die Anwesenheit eines Komplexes des therapeutischen Mittels mit einem Molekül entgegengesetzter Ladung führt zu einer anhaltenden Freisetzung des Mittels.

[0035] Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung haben die Teilchen eine Massedichte von weniger als etwa $0,4 \text{ g/cm}^3$ und einen mittleren Durchmesser von $5 \text{ }\mu\text{m}$ bis $30 \text{ }\mu\text{m}$. Die Massendichte und das Verhältnis zwischen Massendichte, mittlerem Durchmesser und aerodynamischem Durchmesser werden in der U. S.-Anmeldung Serial No. 09/194.068, eingereicht am 23.05.1997, jetzt in der Schwebe, diskutiert, welche eine Fortsetzungsanmeldung 087655.570, eingereicht am 24.05.1996, jetzt aufgegeben, ist. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist der aerodynamische Durchmesser von Teilchen mit einer Massendichte von weniger als etwa $0,4 \text{ g/cm}^3$ und einem mittleren Durchmesser von etwa $5 \text{ }\mu\text{m}$ bis $30 \text{ }\mu\text{m}$ zwischen 1 und 5 Mikron.

[0036] Die Teilchen können für eine gesteuerte systemische oder lokale Zuführung therapeutischer oder diagnostischer Mittel zum Atmungstrakt über eine Aerosolbildung benutzt werden. Die Verabreichung der Teilchen an die Lunge durch Aerosolbildung erlaubt die Zufuhr von therapeutischen Aerosolen mit verhältnismäßig großem Durchmesser, z. B. von mehr als $5 \text{ }\mu\text{m}$ mittleren Durchmessers, zur tiefen Lunge. Die Teilchen können mit einer groben Oberflächentextur zur Verringerung der Teilchenagglomeration hergestellt werden und verbessern die Fließfähigkeit des Pulvers. Die Teilchen haben verbesserte Aerosolbildungseigenschaften. Die Teilchen können mit Merkmalen hergestellt werden, welche die Aerosolbildung über Inhalationsvorrichtungen für trockenes Pulver erhöhen und führen zu einer geringeren Ablagerung im Mund, Rachen und der Inhalationsvorrichtung.

[0037] Die Teilchen können zur Bildung einer Zusammensetzung verwendet werden, welche die Teilchen und einen pharmazeutisch brauchbaren Träger zur Verabreichung an einen Patienten umfasst, vorzugsweise zur Verabreichung über eine Inhalation. Geeignete Träger umfassen diejenigen, welche typischerweise für die Inhalationstherapie verwendet werden. Der Fachmann kann leicht einen geeigneten pharmazeutisch brauchbaren Träger zur Verwendung bei der Verabreichung der Teilchen über eine Inhalation bestimmen.

Teilchenmaterialien

[0038] Die Teilchen können ganz aus einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel oder aus einer Kombination des Mittels mit einem oberflächenaktiven Mittel hergestellt sein. Die Teilchen sind vorzugsweise bioabbaubar und bioverträglich und sind gegebenenfalls eines Bioabbaus bei gesteuerter Rate für die Zuführung eines therapeutischen oder diagnostischen Mittels fähig. Die Teilchen können aus den verschiedensten Materialien hergestellt werden. Sowohl anorganische als auch organische Materialien können benutzt werden. Bei-

spielsweise können keramische Materialien verwendet werden. Polymere und nicht-polymere Materialien wie Fettsäuren können zur Bildung von aerodynamisch leichten Teilchen benutzt werden. Andere geeignete Materialien umfassen, sind jedoch nicht hierauf begrenzt, Gelatine, Polyethylenglycol, Trehalose und Dextran. Teilchen mit Abbau- und Freisetzezeiten im Bereich von Sekunden bis Monaten können entworfen und hergestellt werden, unter Zugrundelegung von Faktoren wie dem Teilchenmaterial. Unterschiedliche Eigenschaften der Teilchen, die zur aerodynamischen Leichtigkeit beitragen können, umfassen das die Zusammensetzung bildende Teilchen und die Anwesenheit unregelmäßiger Oberflächenstruktur oder Poren oder aber Hohlräume innerhalb des Teilchens.

Polymerteilchen

[0039] Polymerteilchen können aus einem beliebigen bioverträglichen und vorzugsweise bioabbaubaren Polymeren, Copolymeren oder Blend gebildet werden. Bevorzugte Polymere sind diejenigen, welche der Bildung aerodynamisch leichter Teilchen mit einer Klopfdichte von weniger als etwa $0,4 \text{ g/cm}^3$, einem mittleren Durchmesser zwischen $5 \mu\text{m}$ und $30 \mu\text{m}$ und einem aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 1 und 5 Mikron, vorzugsweise zwischen 1 und 3 Mikron, fähig sind. Die Polymeren können maßgeschneidert werden, um die verschiedenen Eigenschaften des Teilchens zu optimieren, die umfassen: i) Wechselwirkungen zwischen dem zuzuführenden Mittel und dem Polymeren zur Bereitstellung einer Stabilisierung des Mittels und Beibehaltung der Wirksamkeit bei der Zuführung; ii) die Rate des Polymerabbaus und damit die Rate der Arzneimittelfreisetzungsprofile; iii) die Oberflächeneigenschaften und Zielfähigkeiten über eine chemische Modifikation; sowie iv) die Teilchenporosität.

[0040] Oberflächenerodierende Polymere, wie z. B. Polyanhydride, können zur Bildung der Teilchen verwendet werden. Beispielsweise können Polyanhydride wie Poly[(p-carboxyphenoxy)hexananhydrid] (PCPH) verwendet werden. Bioabbaubare Polyanhydride sind im U.S.-Patent 4.857.311 beschrieben.

[0041] Bei einer anderen Ausführungsform können Masse-erodierende Polymere verwendet werden, wie z. B. diejenigen auf Grundlage von Polyestern einschließlich Poly(hydroxysäuren). Beispielsweise können zur Bildung der Teilchen Polyglycolsäure (PGA), Polymilchsäure (PLA) oder deren Copolymere verwendet werden. Der Polyester kann auch eine geladene oder funktionalisierbare Gruppe aufweisen, wie z. B. eine Aminosäure. Bei einer bevorzugten Ausführungsform können Teilchen mit gesteuerten Freisetzeigenschaften aus Poly(D,L-milchsäure) und/oder Poly(D,L-milch-co-glycolsäure) („PLGA“), in das ein oberflächenaktives Mittel wie DPPC eingearbeitet ist.

[0042] Andere Polymere umfassen Polyamide, Polycarbonate, Polyalkylene, wie z. B. Polyethylen, Polypropylen, Poly(ethylenglycol), Poly(ethylenoxid), Poly(ethylen-terephthalat), Polyvinylverbindungen wie Polyvinylalkohole, Polyvinylether und Polyvinylester, Polymere von Acryl- und Methacrylsäuren, Cellulosen und andere Polysaccharide sowie Peptide oder Proteine, oder aber Copolymere oder Blends derselben. Polymere können mit [sic!] oder modifiziert ausgewählt werden, um die für die gesteuerte Arzneimittelfreisetzung geeignete Stabilität und Abbauraten in vivo aufzuweisen.

[0043] Bei einer Ausführungsform werden aerodynamisch leichte Teilchen aus funktionalisierten Polyester-Pfropfcopolymeren gebildet, wie beschrieben in Hrkach u. a., *Macromolecules*, 28: 4736–4739 (1995); und Hrkach u. a., Poly(L-Lactic acid-co-amino acid) Graft Copolymers: A Class of Functional Biodegradable Biomaterials in *Hydrogels and Biodegradable Polymers for Bioapplications*, ACS Symposium Series No. 627, Raphael M. Ottenbrite u. a., Herausgeber, American Chemical Society, Kapitel 8, S. 93–101, 1996.

[0044] Andere als bioabbaubare Polymermaterialien können zur Bildung der Teilchen verwendet werden. Geeignete Materialien umfassen verschiedene nichtbioabbaubare Polymere und verschiedene Exzipienzien.

[0045] Die Teilchen können auch aus einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel und einem oberflächenaktiven Mittel allein gebildet werden. Bei einer Ausführungsform können die Teilchen aus dem oberflächenaktiven Mittel gebildet werden und ein therapeutisches oder diagnostisches Mittel umfassen, um die Wirksamkeit der Aerosolbildung infolge verringerter Teilchenoberflächen-Wechselwirkungen zu verbessern und möglicherweise den Verlust des Mittels infolge Phagozytose durch alveolare Makrophagen zu vermindern.

Nicht-polymern Teilchen

[0046] Der im Vorliegenden benutzte Begriff "nicht-polymere Teilchen" bezieht sich auf Teilchen, welche keine Polymeren, wie z. B. die in obigem Abschnitt beschriebenen Polymeren, umfassen. Um ein spezielles Beispiel zu liefern: nichtpolymere Teilchen umfassen kein PLA, PGA oder PLGA.

[0047] Bei einer Ausführungsform umfassen nicht-polymere Teilchen ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel und ein oberflächenaktives Mittel. Bei einer anderen Ausführungsform umfassen nichtpolymere Teilchen ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel und ein Molekül mit einer Ladung, die der Ladung des Mittels, entgegengesetzt ist, und damit ein Komplex bildet. Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung besitzen nicht-polymere Teilchen eine Klopfdichte von weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$.

und einen mittleren Durchmesser zwischen 5 µm und 30 µm. Gemäß einer anderen Ausführungsform der Erfindung haben nicht-polymere Teilchen eine Massendichte von weniger als 0,4 g/cm³ und einen mittleren Durchmesser zwischen 5 µm und 30 µm. Nicht-polymere Teilchen können ferner Exzipienzien, wie sie nachfolgend beschrieben werden, umfassen.

Exzipienzien

[0048] Zusätzlich zu einem therapeutischen oder diagnostischen Mittel (oder möglicherweise zu anderen für die Zuführung gewünschten Molekülen) können die Teilchen, und vorzugsweise tun sie dies, ein oder mehrere folgender Exzipienzien umfassen: einen Zucker wie Lactose, ein Protein wie Albumin und/oder ein oberflächenaktives Mittel.

Komplexbildende Materialien

[0049] Wenn das zuzuführende Mittel negativ geladen ist (wie z. B. Insulin), können Protamin oder andere positiv geladene Moleküle zugegeben werden, um einen lipophilen Komplex bereitzustellen, der zu der anhaltenden Freisetzung des negativ geladenen Mittels führt. Negativ geladene Moleküle können verwendet werden, um positiv geladene Mittel unlöslich zu machen.

Oberflächenaktive Mittel

[0050] Oberflächenaktive Mittel, welche in Teilchen zur Verbesserung ihrer Aerosolbildungseigenschaften eingearbeitet werden können, umfassen Phosphoglyceride. Beispielhafte Phosphoglyceride umfassen Phosphatidylcholine, wie z. B. das natürlich vorkommende oberflächenaktive Mittel L-α-Phosphatidylcholidipalmitoyl („DPPC“). Die oberflächenaktiven Mittel verbessern vorteilhafterweise die Oberflächeneigenschaften, z. B. durch Verringerung der Wechselwirkung zwischen Teilchen und Teilchen und können die Oberfläche der Teilchen weniger haftend machen. Die Verwendung von oberflächenaktiven Mitteln, die für die Lunge endogen sind, können die Notwendigkeit für die Verwendung von nicht-physiologischen oberflächenaktiven Mitteln vermeiden.

[0051] Der im Vorliegenden verwendete Begriff "oberflächenaktives Mittel" bezieht sich auf ein beliebiges Mittel, welches vorzugsweise an einer Grenzfläche zwischen zwei miteinander nicht-mischbaren Phasen absorbiert ist, beispielsweise der Grenzfläche zwischen Wasser und einer organischen Polymerlösung, einer Wasser-/Luftgrenzfläche oder der Grenzfläche eines organischen Lösungsmittels und Luft. Oberflächenaktive Mittel besitzen in der Regel einen hydrophilen Rest und einen lipophilen Rest, so dass sie beim Absorbieren an Mikroteilchen dazu neigen, gegenüber der Außenumgebung Reste zu zeigen, die ähnlich überzogene Teilchen nicht anziehen, womit die Teilchenagglomeration verringert wird. Oberflächenaktive Mittel können auch die Absorption eines therapeutisch oder diagnostischen Mittels fördern und die Biozugänglichkeit des Mittels erhöhen.

[0052] Der im vorliegenden verwendete Begriff "ein Teilchen, in das ein oberflächenaktives Mittel eingearbeitet ist" bezieht sich auf ein Teilchen mit einem oberflächenaktiven Mittel mindestens auf der Oberfläche des Teilchens. Das oberflächenaktive Mittel kann in das ganze Teilchen hindurch eingearbeitet und während der Teilchenbildung an der Oberfläche sein, oder das Teilchen kann nach der Teilchenbildung mit dem oberflächenaktiven Mittel überzogen sein. Die Teilchenoberfläche kann durch Absorption, ionische oder kovalente Bindung mit dem oberflächenaktiven Mittel überzogen sein, oder das oberflächenaktive Mittel kann durch die umgebende Matrix physikalisch "eingefangen" sein. Das oberflächenaktive Mittel kann z. B. in die Teilchen mit gesteuerter Freisetzung, wie z. B. polymere Mikrokugeln, eingearbeitet sein.

[0053] Die Bereitstellung eines oberflächenaktiven Mittels an den Teilchenoberflächen kann die Tendenz der Teilchen infolge der Wechselwirkungen wie elektrostatische Wechselwirkungen, Van der Waals-Kräfte und der Kapillarwirkung zu agglomerieren, verringern. Die Anwesenheit des oberflächenaktiven Mittels auf der Teilchenoberfläche kann zu einer erhöhten Oberflächenrauheit führen, wodurch die Aerosolbildung durch Verringerung der für eine innige Teilchen-Teilchen-Wechselwirkung zugänglichen Oberfläche verbessert wird. Die Verwendung eines oberflächenaktiven Mittels, welches ein natürliches Material der Lunge ist, kann möglicherweise die Opsonisierung verringern (und hierdurch die Phagozytose durch alveolare Makrophagen verringern), womit ein länger lebiges Teilchen mit gesteuerter Freisetzung in der Lunge bereitgestellt wird.

[0054] Es können bekannte oberflächenaktive Mittel verwendet werden, einschließlich natürlich vorkommender oberflächenaktiver Mittel. Andere beispielhafte oberflächenaktive Mittel umfassen Diphosphatidylglycerin (DPPG); Hexadecanol; Fettalkohole wie Polyethylenglycol (PEG); Polyoxyethylen-9-laurylether; eine oberflächenaktive Fettsäure, wie z. B. Palmitinsäure oder Ölsäure; Sorbitantriöleat (Span 85); Glycochol; Surfactin, ein Poloxomer; ein Sorbitanfettsäureester wie Sorbitantriöleat; Tyloxapol und ein Phospholipid.

Die anhaltende Freisetzung erhöhende Materialien

[0055] Wenn die Moleküle hydrophil sind und dazu neigen, in einer wässrigen Umgebung leicht zu solubilisieren, ist ein anderes Verfahren, eine anhaltende Freisetzung zu erreichen, die Verwendung von Cholesterin oder einer sehr hohen Konzentration an oberflächenaktivem Mittel. Diese Komplexbildungsmethode trifft auch für Teilchen zu, die nicht aerodynamisch leicht sind.

Bildung der Teilchen

Bildung von Polymerteilchen

[0056] Polymerteilchen können unter Verwendung einer einzigen und doppelten Verdampfung des Emulsionslösungsmittels, Sprühtrocknen, Lösungsmittelextraktion, Lösungsmittelverdampfung, Phasentrennung, eine einfache und komplizierte Koazervation, Grenzflächenpolymerisation, superkritisches (?) ["supercritical"] Kohlendioxid (CO_2) und andere, dem Fachmann gut bekannte Verfahren hergestellt werden. Teilchen können unter Verwendung von Verfahren zur Herstellung von Mikrokugeln oder Mikrokapseln, die bekannt sind, hergestellt werden, vorausgesetzt, dass die Bedingungen für die Teilchenbildung mit dem gewünschten aerodynamischen Durchmesser optimiert werden, oder zusätzliche Stufen zur Auswahl von Teilchen mit der Dichte und dem Durchmesser, welche zur Bereitstellung der Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser zwischen 1 und 5 Mikron, vorzugsweise zwischen 1 und 3 Mikron, ausreichend sind, bereitzustellen.

[0057] Zur Herstellung von Mikrokugeln zur Zuführung eingekapselter Medikamente, die entwickelt wurden, sind in der Literatur beschrieben, beispielsweise in Doubrow, M., Herausgeber „Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy“, CRC Press, Boca Raton, 1992. Verfahren sind auch in Mathiowitz und Langer, J. Controlled Release 5: 13–22 (1987), Mathiowitz u. a., Reactive Polymer 6: 275–283 (1987); und Mathiowitz u. a., J. Appl. Polymer Sci. 35: 755–774 (1988). Die Auswahl des Verfahrens hängt von der Polymerauswahl, der Größe, äußeren Morphologie und Kristallinität, die erwünscht sind, ab, wie z. B. von Mathiowitz, u. a., Scanning Microscopy 4: 329–340 (1990); Mathiowitz u. a., Appl. J. Polymer Sci. 45: 125–134 (1992), sowie Benita, u. a., J. Pharm. Sci., 73: 1721–1724 (1984) beschrieben.

[0058] Bei der Lösungsmittelverdampfung, die z. B. in Mathiowitz, u. a. (1990), Benita; und U.S.-Patent-Nr. 4.272.398 von Jaffe beschrieben ist, wird das Polymer in einem flüchtigen organischen Lösungsmittel gelöst, wie z. B. Methylenchlorid. Mehrere verschiedene Polymerkonzentrationen können angewandt werden, beispielsweise zwischen 0,05 und 1,0 g/ml. Das therapeutische oder diagnostische Mittel wird entweder in löslicher Form oder dispergiert als feine Teilchen zur Polymerlösung zugegeben, und das Gemisch wird in einer wässrigen Phase, die ein oberflächenaktives Mittel wie Poly(vinylalkohol) enthält, suspendiert. Die wässrige Phase kann z. B. eine Konzentration von 1% Poly(vinylalkohol), Gewicht/volumen, in destilliertem Wasser sein. Die erhaltene Emulsion wird gerührt, bis das meiste organische Lösungsmittel verdampft, wobei feste Mikrokugeln verbleiben, welche mit Wasser gewaschen und über Nacht in einem Gefriertrockner getrocknet werden können. Mikrokugeln mit verschiedenen Größen (zwischen 1 und 1.000 Mikron) und Morphologien können nach diesem Verfahren erhalten werden.

[0059] Eine Lösungsmittelentfernung war in erster Linie zur Anwendung mit weniger stabilen Polymeren bestimmt, wie z. B. den Polyanhydriden. Bei diesem Verfahren wird das Mittel in einer Lösung eines ausgewählten Polymeren in einem flüchtigen organischen Lösungsmittel wie Methylenchlorid dispergiert oder gelöst. Das Gemisch wird sodann unter Rühren in einem Öl, wie z. B. Silikonöl, unter Bildung einer Emulsion suspendiert. Innerhalb von 24 Stunden diffundiert das Lösungsmittel in die Ölphase, und die Emulsionströpfchen härten in feste Polymermikrokugeln aus.

[0060] Im Gegensatz zum in Mathiowitz, u. a. Reactive Polymers, 6: 275 (1987) beschriebenen Heißschmelz-Mikroverkapselungs-Verfahren kann dieses Verfahren zur Herstellung von Mikrokugeln aus Polymeren mit hohen Schmelzpunkten und einem breiten Bereich der Molekulargewichte angewandt werden. Mikrokugeln mit einem Durchmesser von z. B. zwischen 1 und 300 μm (Mikron) können mit diesem Verfahren erhalten werden.

[0061] Mit manchen Polymersystemen schwanken unter Anwendung eines Ein- oder Doppelemulsionsverfahrens hergestellte Polymerteilchen in der Größe, je nach der Tröpfchengröße. Wenn Tröpfchen in Wasser-in-Öl-Emulsionen nicht von geeignet kleiner Größe sind, um Teilchen mit dem gewünschten Größenbereich zu bilden, können kleinere Tröpfchen, z. B. durch Beschallung oder Homogenisieren der Emulsion hergestellt werden, oder durch Zugabe von oberflächenaktiven Mitteln. Wenn die nach einem der zuvor genannten Verfahren hergestellten Teilchen einen Größenbereich außerhalb des gewünschten Bereichs aufweisen, können Teilchen z. B. unter Verwendung eines Siebs gesiebt und weiter gemäß der Dichte unter Anwendung dem Fachmann bekannter Verfahren getrennt werden. Teilchen, welche größer als der Größenbereich sind, können vermahlen oder zerkleinert werden, während diejenigen, die kleiner als der Größenbereich sind, nur emittiert zu werden brauchen.

[0062] Die Polymerteilchen werden vorzugsweise durch Sprühtrocknen hergestellt. Sprühtrocknungsverfahren gemäß dem Stand der Technik; wie die in PCT WO 96/09814 von Sutton und Johnson, offenbaren, offenbaren die Herstellung von glatten, kugelförmigen Mikroteilchen aus einem wasserlöslichen Material, wobei mindestens 90% der Teilchen eine mittlere Größe zwischen 1 und 10 μm besitzen. Das im Vorliegenden offenbarte Verfahren stellt raue (nicht-glatte), nichtkugelförmige Mikroteilchen zur Verfügung, welche ein mit einem wasserlöslichen Material kombiniertes wasserunlösliches Material umfassen. Mindestens 90% der Teilchen besitzen eine mittlere Größe zwischen 5 und 30 μm und eine niedrige Massen- oder Klopfdichte (von weniger als 0,4 g/cm^3).

[0063] In die Teilchen können verschiedene Komplexe von zuzuführenden therapeutischen oder diagnostischen Mitteln mit Molekülen einer entgegengesetzten Ladung eingearbeitet werden, oder sie können Substanzen wie Lipide umfassen, welche die anhaltende Freisetzung kleiner und großer Moleküle ermöglichen. Die Zugabe dieser Komplexe oder Substanzen ist auf Teilchen jeglicher Größe und Form anwendbar; speziell ist sie zur Veränderung der Freisetzungsrates der therapeutischen Mittel aus inhalierten Teilchen brauchbar.

Aerodynamisch leichte Teilchen

[0064] Aerodynamisch leichte Teilchen der Erfindung können unter Anwendung der im Vorliegenden offenbarten Verfahren hergestellt werden.

Größe der aerodynamisch leichten Teilchen

[0065] Der mittlere Massendurchmesser der Teilchen kann unter Verwendung eines elektrischen Zonenabtastringinstruments, wie z. B. Coulter Multisizer IIe (Coulter Electronics, Luton, Beds, England) oder eines Laserdiffraktionsinstruments (z. B. der Fa. Helos, Sympatec, New Jersey) gemessen werden. In einer bevorzugten Ausführungsform haben die aerodynamisch leichten Teilchen einen Durchmesser von mindestens etwa 5 Mikron. Der Teilchendurchmesser in einer Probe liegt in einem Bereich, der von solchen Faktoren wie der Teilchenzusammensetzung und ihren Herstellungsverfahren abhängt. Die Größenverteilung von Teilchen in einer Probe kann ausgewählt werden, um eine optimale Ablagerung innerhalb von Zielstellen im Atemtrakt zu ermöglichen.

[0066] Die aerodynamisch leichten Teilchen können hergestellt oder z. B. durch Filtration oder Zentrifugieren abgetrennt werden, um eine Teilchenprobe mit einer zuvor ausgewählten Größenverteilung bereitzustellen. Z. B. können mehr als 30%, 50%, 70% oder 80% der Teilchen in einer Probe einen Durchmesser innerhalb eines ausgewählten Bereichs von mindestens 5 μm aufweisen. Der ausgewählte Bereich, innerhalb dessen ein bestimmter Prozentsatz der Teilchen fallen muss, kann z. B. zwischen etwa 5 und 30 μm , gegebenenfalls zwischen 5 und 15 μm , liegen. Bei einer bevorzugten Ausführungsform haben mindestens ein Teil der Teilchen einen Durchmesser zwischen etwa 9 und 11 μm . Gegebenenfalls kann die Teilchenprobe auch hergestellt werden, wobei mindestens 90%, oder gegebenenfalls 95% oder 99%, einen Durchmesser innerhalb des ausgewählten Bereichs besitzen. Die Anwesenheit des höheren Anteils der aerodynamisch leichten Teilchen mit einem größeren Durchmesser (von mindestens etwa 5 μm) in der Teilchenprobe erhöht die Zuführung der hierin eingearbeiteten therapeutischen oder diagnostischen Mittel zur tiefen Lunge.

[0067] Bei einer Ausführungsform kann der Interquartilbereich 2 μm sein, mit einem mittleren Durchmesser von z. B. zwischen etwa 7,5 und 13,5 μm . Dann können z. B. zwischen mindestens 30% und 40% der Teilchen Durchmesser innerhalb des ausgewählten Bereichs besitzen. Vorzugsweise besitzen die genannten Prozentsätze von Teilchen Durchmesser innerhalb eines 1 μm -Bereichs, beispielsweise zwischen 6,0 und 7,0 μm , 10,0 und 11,0 μm oder 13,0 und 14,0 μm .

[0068] Die aerodynamisch leichten Teilchen, in die gegebenenfalls ein therapeutisches oder diagnostisches Mittel eingearbeitet ist, mit einer Klopfdichte von weniger als etwa 0,4 g/cm^3 , mittleren Durchmessern von mindestens etwa 5 μm und einem aerodynamischen Durchmesser zwischen 1 und 5 μm (Mikron), vorzugsweise zwischen 1 und 3 μm (Mikron) sind fähiger, einer Ablagerung durch Trägheit und Gravitation in dem oropharyngealen Bereich zu entgehen, und die Atemwege oder die tiefe Lunge anzuvisieren. Die Verwendung von größeren Teilchen (Durchmesser von mindestens etwa 5 μm) ist vorteilhaft, da sie in der Lage sind, wirksamer ein Aerosol zu bilden als kleinere dichtere Aerosolteilchen wie diejenigen, welche derzeit für Inhalationstherapien verwendet werden.

[0069] Im Vergleich zu kleineren, verhältnismäßig dichteren Teilchen können die größeren (mindestens etwa 5 μm) aerodynamisch leichten Teilchen möglicherweise auch erfolgreicher das phagozytische Verschlingen durch alveolare Makrophagen und die Clearance aus den Lungen infolge Größenausschlusses der Teilchen aus dem Zytoplasma der Phagozyten vermeiden. Die Phagozytose von Teilchen durch alveolare Makrophagen vermindert sich jäh, wenn der Teilchendurchmesser über 3 μm ansteigt [vgl. Kawaguchi, H., u. a. Biomaterials 7: 61–66 (1986); Krenis, L. J. und Strauss, B., Proc. Soc. Exp. Med., 107: 748–750 (1961); sowie Rudt, S. und Muller, R. H., J. Contr. Rel., 22: 263–272 (1992)]. Für Teilchen einer statistisch isotropen Gestalt, wie z.

B. Kugeln mit rauen Oberflächen ist das Teilchenumhüllungsvolumen annähernd dem Volumen des Zytosolraums äquivalent, der innerhalb eines Makrophagen für eine vollständige Teilchenphagozytose erforderlich ist. [0070] Aerodynamisch leichte Teilchen sind somit einer Langzeit-Freisetzung von einem verkapselten Mittel in den Lungen fähig. Nach der Inhalation können sich aerodynamisch leichte, bioabbaubare Teilchen in den Lungen (infolge ihrer verhältnismäßig niederen Klopfdichte) ablagern, wonach sie einen langsamen Abbau und eine langsame Arzneimittelfreisetzung eingehen, ohne dass die Mehrzahl der Teilchen durch alveolare Makrophagen phagozytisiert werden. Das Arzneimittel kann verhältnismäßig langsam in das alveolare Fluid und mit einer gesteuerten Rate in den Blutstrom abgegeben werden, was mögliche toxische Reaktionen der einer übermäßig hohen Konzentration an Arzneimittel ausgesetzten Zellen minimiert. Die aerodynamisch leichten Teilchen sind somit für Inhalationstherapien, insbesondere bei Anwendungen einer gesteuerten Freisetzung, in hohem Maße geeignet.

[0071] Der bevorzugte mittlere Durchmesser für aerodynamisch leichte Teilchen zur Inhalationstherapie ist mindestens etwa 5 µm, beispielsweise liegt er zwischen etwa 5 und 30 µm. Die Teilchen können mit dem geeigneten Material, Durchmesser, der geeigneten Oberflächenrauheit und Klopfdichte für eine lokalisierte Zuführung zu ausgewählten Bereichen des Atmungstrakts, wie z. B. der tiefen Lunge oder den oberen Luftwegen, hergestellt werden. Beispielsweise können größere Teilchen oder solche höherer Dichte für die Zuführung zum oberen Atemweg verwendet werden, oder es kann ein Gemisch aus Teilchen verschiedener Größe in einer Probe, die mit dem gleichen oder einem verschiedenen therapeutischen Mittel versehen ist, zum Anvisieren verschiedener Bereiche der Lunge in einer einzigen Verabreichung verabreicht werden.

DICHTE UND ABLAGERUNG VON AERODYNAMISCH LEICHTEN TEILCHEN

[0072] Im Vorliegenden bezieht sich der Begriff "aerodynamisch leichte Teilchen" auf Teilchen mit einer Klopfdichte von weniger als etwa 0,4 g/cm³. Die Klopfdichte von Teilchen eines trockenen Pulvers kann unter Verwendung eines GeoPyc[®] Instruments (Micrometrics Instrument Corp., Norcross, GA 30093) erhalten werden. Es kann aber auch ein Messgerät "Dual Platform Microprocessor Controlled Tap Density Tester" (Vankel, NC) benutzt werden. Die Klopfdichte ist ein Standardmaß der Umhüllungsmassendichte. Die Umhüllungsmassendichte eines isotropen Teilchens ist als die Masse des Teilchens, dividiert durch das minimale Kugelumhüllungsvolumen definiert, innerhalb dessen es eingeschlossen werden kann. Merkmale, die zu einer niederen Klopfdichte beitragen, umfassen eine unregelmäßige Oberflächentextur und eine poröse Struktur. Eine Einkeilung durch Trägheit und eine Absetzung von Aerosolen durch Erdanziehung sind vorherrschende Ablagerungsmechanismen in den Atemwegen und Acini der Lungen während normaler Atmungsbedingungen (vgl. Edwards, D. A., J. Aerosol Sci., 26 293–317 (1995)). Die Bedeutung beider Ablagerungsmechanismen steigt proportional zur Masse von Aerosolen, und nicht zum Teilchenvolumen (oder Umhüllungsvolumen) an. Da die Stelle der Aerosolablagerung in den Lungen durch die Masse des Aerosols (zumindest für Teilchen mittleren aerodynamischen Durchmessers von mehr als etwa 1 µm) bestimmt ist, erlaubt eine Verringerung der Klopfdichte durch Erhöhung von Unregelmäßigkeiten an der Teilchenoberfläche und der Teilchenporosität die Zuführung größerer Teilchenumhüllungsvolumina in die Lungen, wobei alle anderen physikalischen Parameter gleich sind.

[0073] Die Teilchen niederer Klopfdichte haben einen kleinen aerodynamischen Durchmesser im Vergleich zum tatsächlichen Umhüllungskugeldurchmesser. Der aerodynamische Durchmesser d_{aer} steht in Beziehung mit dem Umhüllungskugeldurchmesser d (vgl. Gonda, I., „Physico-chemical principles in aerosol delivery“, in Topics in Pharmaceutical Sciences 1991 (Herausg. D. J. A. Crommelin und K. K. Midha), S. 95–117, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1992)) mit der Formel:

$$d_{aer} = d/\sqrt{p}$$

worin die Umhüllungsmasse p in Einheiten g/cm³ angegeben ist. Die maximale Ablagerung von monodispersen Aerosolteilchen in dem Alveolbereich der menschlichen Lunge (~60%) tritt für einen aerodynamischen Durchmesser von etwa $d_{aer} = 3\mu\text{m}$ auf (vgl. Heyder, J. u. a., J. Aerosol Sci, 17: 811–825 (1986)). Infolge ihrer geringen Umhüllungsmassendichte, wobei der tatsächliche Durchmesser d der aerodynamisch leichten Teilchen ein monodisperses inhaliertes Pulver umfasst, das eine maximale Ablagerung in der tiefen Lunge zeigt, ist,

$$d = 3/\sqrt{p} \mu\text{m} \text{ (wobei } p < 1 \text{ g/cm}^3 \text{ ist)}$$

; worin d immer größer als 3 µm ist. Beispielsweise zeigen aerodynamisch leichte Teilchen, welche eine Umhüllungsmassendichte $p = 0,1 \text{ g/cm}^3$ aufweisen, eine maximale Ablagerung für Teilchen mit Umhüllungsdurchmessern von 9,5 µm. Die erhöhte Teilchengröße verringert die Adhäsionskräfte zwischen den Teilchen (vgl. Visser, J., Powder Technology, 58: 1–10. Somit erhöht eine große Teilchengröße die Wirksamkeit der Aerosol-

bildung für die tiefe Lunge für Teilchen einer niederen Umhüllungsmassendichte, zusätzlich zum Beitrag zu den geringeren phagozytischen Verlusten.

Das Anvisieren von Teilchen

[0074] Anvisierende Moleküle können mit den Teilchen über reaktionsfähige funktionelle Gruppen auf den Teilchen gebunden werden. Beispielsweise können anvisierende Moleküle mit den Aminosäuregruppen funktionalisierter Polyester-Pfropfcopolymer-Teilchen verbunden werden, wie z. B. mit Poly(milchsäure-co-lysin)-Teilchen (PLAL-Lys)-Teilchen. Anvisierende Moleküle erlauben eine Bindungswechselwirkung des Teilchens mit speziellen Rezeptorstellen, wie z. B. denjenigen innerhalb der Lungen. Die Teilchen können durch Bindung von Liganden anvisiert werden, welche sich spezifisch oder nicht-spezifisch an besondere Ziele binden. Beispielhafte anvisierende Moleküle umfassen Antikörper und deren Fragmente, einschließlich der variablen Bereiche, Lektine und Hormone oder andere organische Moleküle, die einer speziellen Bindung z. B. an Rezeptoren an den Oberflächen der Zielzellen fähig sind.

Therapeutische oder prophylaktische Mittel

[0075] Die verschiedensten therapeutischen oder prophylaktischen Mittel können in die Teilchen eingearbeitet werden, oder zur Herstellung von Teilchen, die allein aus dem Mittel und dem oberflächenaktiven Mittel bestehen, verwendet werden. Die Teilchen können verwendet werden, um die verschiedensten eingearbeiteten Mittel einem Lebewesen lokal oder systemisch zuzuführen. Beispiele umfassen synthetische anorganische und organische Verbindungen, Proteine und Peptide, Polysaccharide und andere Zucker, Lipide sowie DNA und RNA-Nukleinsäuresequenzen mit therapeutischen, prophylaktischen oder diagnostischen Wirksamkeiten. Nukleinsäuresequenzen umfassen Gene, antisense-Moleküle, welche sich an komplementäre DNA zur Hemmung der Transkription binden, und Ribozyme. Die einzuarbeitenden Mittel können die verschiedensten biologischen Wirksamkeiten besitzen, wie z. B. vasoaktive Mittel, neuroaktive Mittel, Hormone, Antikoagulanzen, Immunomodulationsmittel, zytotoxische Mittel, prophylaktische Mittel, Antibiotika, Antiviralmittel, antisense-Moleküle, Antigene und Antikörper. In manchen Fällen können die Proteine Antikörper oder Antigene sein, welche sonst durch Injektion zu verabreichen wären, um eine geeignete Reaktion hervorzurufen. Verbindungen mit einem breiten Bereich des Molekulargewichts können eingekapselt werden, beispielsweise zwischen 100 und 500.000 g oder mehr pro Mol.

[0076] Proteine werden definiert als aus 100 Aminosäureresten oder mehr bestehend; Peptide sind weniger als 100 Aminosäurereste. Wenn nicht anders angegeben, bezieht sich der Begriff Protein sowohl auf Proteine als auch auf Peptide. Beispiele umfassen Insulin und andere Hormone. Polysaccharide, wie z. B. Heparin können auch verabreicht werden.

[0077] Die polymeren Aerosole sind als Träger für die verschiedensten Inhalationstherapien brauchbar. Sie können auch zum Einkapseln kleiner und großer Arzneimittel, zur Freisetzung verkapselter Arzneimittel über Zeiträume hinweg, die im Bereich von Stunden bis zu Monaten liegen, verwendet werden und widerstehen extremen Bedingungen während der Aerosolbildung oder nach Ablagerung in den Lungen, die sonst die eingekapselten Therapeutika beschädigen könnten.

[0078] Die Teilchen können ein therapeutisches Mittel für die lokale Zuführung innerhalb der Lunge umfassen, wie z. B. Mittel für die Behandlung von Asthma, eines Emphysems oder einer zystischen Fibrose oder aber für eine systemische Behandlung. Beispielsweise können Gene für die Behandlung von Erkrankungen wie einer zystischen Fibrose verabreicht werden, oder β -Agonisten für Asthma. Andere spezielle therapeutische Mittel umfassen, sind jedoch nicht hierauf beschränkt, menschliches Wachstumshormon, Insulin, Calcitonin, Leuprolid (oder Gonadotropin freisetzendes Hormon („LHRH“)), den Granulozyten-Colonie stimulierenden Faktor („G-CSF“), Parathyroidhormon-verwandtes Peptid, Somatostatin, Testosteron, Progesteron, Estradiol, Nikotin, Fentanyl, Norethisteron, Clonidin, Scopolamin, Salicylat, Cromolynnatrium, Salmeterol, Formeterol, Albuterol und Valium.

[0079] Diejenigen therapeutischen Mittel, welche geladen sind, wie die meisten Proteine, umfassend Insulin, können als ein Komplex zwischen dem geladenen therapeutischen Mittel und einem Molekül entgegengesetzter Ladung verabreicht werden. Vorzugsweise ist das Molekül der entgegengesetzten Ladung ein Lipid oder ein entgegengesetzt geladenes Protein.

Diagnostische Mittel

[0080] Es können die verschiedensten diagnostischen Mittel in die Teilchen eingearbeitet werden, die lokal oder systemisch die eingearbeiteten Mittel nach der Verabreichung an einem Patienten zuzuführen. Ein beliebiges, bioverträgliches oder pharmakologisch brauchbares Gas kann in das Teilchen eingearbeitet oder in den Poren der Teilchen unter Anwendung dem Fachmann bekannter Verfahren eingeschlossen werden. Der Be-

griff Gas bezieht sich auf eine Verbindung, welche ein Gas ist oder der Bildung eines Gases bei der Temperatur, bei welcher die Abbildung ausgeführt wird, fähig ist. Bei einer Ausführungsform wird die Zurückhaltung vom Gas in den Teilchen durch Bilden einer gasundurchlässigen Schranke um die Teilchen verbessert. Derartige Schranken sind dem Fachmann gut bekannt.

[0081] Andere bildgebende Mittel, welche benutzt werden können, umfassen im Handel erhältliche Mittel, die bei der Positronen-Emissionstomographie (PET), computerunterstützten Tomographie (CAT), der computerisierten Einfach-Photonenemissions-Tomographie, Röntgenstrahlen, der Fluoroskopie und Magnetresonanztomographie (MRI) benutzt werden.

[0082] Beispiele für geeignete Materialien zur Verwendung als Kontrastmittel in der MRI umfassen die Gadoliniumchelate, die derzeit erhältlich sind, wie z. B. Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) und Gadopentatridimeglumin sowie Eisen, Magnesium, Mangan, Kupfer und Chrom.

[0083] Beispiele für Materialien, die bei der CAT und bei Röntgenstrahlen brauchbar sind, umfassen Materialien auf Iodbasis zur intravenösen Verabreichung, wie z. B. ionische Monomere vom Typ Diatrizoat und Iothalamat, nicht-ionische Monomere wie Iopamidol, Isohexol und Ioversol, und nicht-ionische Diniere wie Iotrol und Iodixanol sowie ionische Diniere wie z. B. Ioxagalat.

[0084] Poröse Teilchen können hergestellt werden, welche über eine pulmonäre Zuführung zugeführt werden und z. B. für eine lokale oder systemische Zuführung einverleibter Mittel und/oder für Abbildungszwecke verwendet werden können. Teilchen, in die diagnostische Mittel eingearbeitet sind, können unter Anwendung von Standardverfahren, die zur Verfügung stehen, und eines im Handel erhältlichen Geräts; nachgewiesen werden.

Verabreichung

[0085] Die Teilchen können allein oder in einem geeigneten pharmazeutisch brauchbaren Träger, wie z. B. einer Flüssigkeit wie Kochsalzlösung oder einem Pulver zur Verabreichung an das Atmungssystem verabreicht werden. Sie können zusammen mit größeren Trägerteilchen, die kein therapeutisches Mittel umfassen, zugeführt werden, wobei diese mittlere Massendurchmesser von z. B. im Bereich zwischen 50 µm und 100 µm besitzen.

[0086] Die Dosierung, Formulierungen und Zuführungssysteme des Aerosols können ausgewählt werden, wie z. B. in Gonda, I. „Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract“, (Aerosole zur Zuführung therapeutischer und diagnostischer Mittel zum Atmungstrakt) in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6: 273–313, 1990; und in Moren, „Aerosol dosage forms and formulations“, (Aerosoldosierungsformen und Formulierungen) in Aerosols in Medicine. Principles, Diagnosis and Therapy, Moren, u. a. Herausgeber, Elsevier, Amsterdam, 1985, beschrieben.

[0087] Die größere Wirksamkeit der Aerosolbildung durch die im Vorliegenden offenbarten Teilchen bezüglich der Teilchen, welche kein oberflächenaktives Mittel oder einen geladenen Komplex eines therapeutischen Mittels umfassen, gestattet eine größere Zuführung eines therapeutischen Mittels. Die Verwendung von bioabbaubaren Polymeren ermöglicht eine gesteuerte Freisetzung in den Lungen und eine lokale Langzeitwirkung oder systemische Biozugänglichkeit. Die Denaturierung makromolekularer Arzneimittel kann während der Aerosolbildung minimiert werden, da Makromoleküle innerhalb eines polymeren Mantels enthalten und geschützt sein können. Die Einkapselung von Peptiden zusammen mit Peptidaseinhibitoren kann den enzymatischen Peptidabbau minimieren. Die pulmonäre Zuführung kann vorteilhafterweise die Notwendigkeit für eine Injektion ausschalten. Beispielsweise kann das Erfordernis für tägliche Insulininjektionen vermieden werden.

[0088] Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Arzneimittelzuführung zum pulmonären System. Das Verfahren umfasst die Verabreichung an den Atmungstrakt eines Patienten, der der Behandlung bedarf, die Prophylaxe oder Diagnose einer wirksamen Menge von Teilchen, umfassend ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel und ein aus der Gruppe ausgewähltes Molekül, die aus einem oberflächenaktiven Mittel und einem Molekül mit einer Ladung, die der Ladung des therapeutischen Mittels entgegengesetzt ist und damit einen Komplex bildet. Gemäß einer Ausführungsform der Erfindung besitzen die Teilchen eine Klopfdichte von weniger als etwa 0,4 g/cm³ und einen mittleren Durchmesser zwischen 5 µm und 30 µm. Gemäß einer anderen Ausführungsform der Erfindung besitzen die nicht-polymeren Teilchen eine Massendichte von weniger als etwa 0,4 g/cm³ und einen mittleren Durchmesser zwischen 5 µm und 30 µm. Bei einer Ausführungsform der Erfindung besitzen die Teilchen einen aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 1 und 5 µm (Mikron). Bei einer anderen Ausführungsform der Erfindung besitzen die Teilchen einen aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 1 und 3 Mikron. Bei noch einer anderen Ausführungsform der Erfindung weisen die Teilchen einen aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 3 und 5 µm (Mikron) auf. Bei wieder einer anderen Ausführungsform der Erfindung können die Teilchen nicht-polymere Teilchen sein.

[0089] Für die therapeutische diagnostische oder prophylaktische Verwendung können die Teilchen aus einer Inhalationsvorrichtung, wie z. B. einem Inhalator mit abgemessener Dosis (MDI), einem in Trockenpulver-Inhalator (DPI) oder einem Vernebler zugeführt werden. Derartige Vorrichtungen sind bekannt. Beispielsweise

ist ein DPI im U.S.-Patent Nr. 4.069.819, erteilt an Valentini, u. a. am 5. August 1976; beschrieben.

[0090] Es wurde gezeigt, dass poröse oder aerodynamisch leichte Teilchen mit einer geometrischen Größe (oder einem mittleren Durchmesser) im Bereich von 5–30 Mikrometer und einer Klopfdichte von weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$, wie z. B. diejenigen, welche einen aerodynamischen Durchmesser von 1 bis 3 Mikrometer, ideale Eigenschaften für die Zuführung zur tiefen Lunge aufweisen.

[0091] Es werden jedoch größere aerodynamische Durchmesser für die Zuführung zu den zentralen und oberen Atemwegen bevorzugt.

[0092] Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser, die zur Ablagerung in den zentralen und oberen Atemwegen geeignet sind, können wie folgt zugeführt werden: Vor oder während der Verabreichung an den Atmungstrakt werden Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser von etwa 1–3 Mikron unter Bildung aggregierter Teilchen zusammengeballt, welche einen größeren aerodynamischen Durchmesser besitzen. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform haben die aggregierten Teilchen einen aerodynamischen Durchmesser zwischen etwa 3 und 5 Mikron, die für die Ablagerung im zentralen Atemweg ideal sind.

[0093] Infolge der Aggregation können der aerodynamische Größenbereich des aus dem Inhalator austretenden Aerosols und somit der aerodynamische Größenbereich der Teilchen, die dem Lungensystem verabreicht wurden, so hergestellt werden, dass sie sich vom aerodynamischen Größenbereich der schwebenden Teilchen unterscheiden. Demgemäß können aggregierte Teilchen dem Lungensystem eines Patienten durch einen Inhalator zugeführt werden, um aerodynamische Durchmesser im Bereich von 3–5 Mikrometer zu erreichen. Dieses Verfahren kann angewandt werden, um Arzneimittel, deren Wirkungszielstelle in dem zentralen oder oberen Atemweg ist, zuzuführen.

[0094] Diese zuvor diskutierte Aggregation wird durch die Chemie der Pulverformulierung und die Bedingungen gefördert, bei denen Teilchen den Inhalator verlassen. Nicht-polymere Teilchen, die ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel, ein oberflächenaktives Mittel und mindestens ein Exzipiens umfassen, werden bevorzugt. Gemäß einer Ausführungsform ist das Oberflächenaktive Mittel DPPC. Gemäß einer anderen Ausführungsform umfassen bevorzugte Exzipien Albumin und Laktose.

[0095] Ferner hängt die Aggregation von der Fließgeschwindigkeit ab, bei der die Teilchen den Inhalator verlassen. Während bei hohen Strömungsraten die Teilchen dazu neigen, voll dispergiert zu werden, fördert eine Verringerung der Strömungsrate die Aggregation.

BEISPIELE

[0096] Vorliegende Erfindung wird anhand der folgenden nicht-begrenzenden Beispiele weiter verständlich.

BEISPIEL 1:

Synthese von aerodynamisch leichten [(p-Carboxyphenoxy)hexananhydrid]-Teilchen („PCPH“-Teilchen)

[0097] Aerodynamisch leichtes Poly[(p-carboxyphenoxy)hexananhydrid]-Teilchen („PCPH“-Teilchen) wurden wie folgt hergestellt: 100 mg PCPH (MW: ~25.000) wurden in 3,0 ml Methylenchlorid gelöst. Diese klare Lösung wurde mit 5,0 ml 1%iger (Gewicht/volumen) wässriger Polyvinylalkohollösung (PVA, MW ~ 25.000, 88 Mol.% hydrolysiert), gesättigt mit Methylenchlorid, versetzt, und das Gemisch wurde 1 Minute bei Maximalgeschwindigkeit im "Vortex Genie 2", Fischer Scientific) behandelt. Die erhaltene milchig-weiße Emulsion wurde in einen Becher mit einem Gehalt an 95 ml 1% PVA gegossen und bei 6.000 UpM 1 Minute unter Verwendung eines spitzen Endstücks von 1,905 cm (0,75 inch) homogenisiert (Silverson Homogenizers). Nach der Homogenisierung wurde das Gemisch mit einem magnetischen Rührstab gerührt, und das Methylenchlorid wurde schnell aus den Polymerteilchen durch Zugabe von 2 ml Isopropylalkohol extrahiert. Das Gemisch wurde weitere 35 Minuten gerührt, um eine vollständige Aushärtung der Mikroteilchen zu ermöglichen. Die ausgehärteten Teilchen wurden abzentrifugiert und mehrmals mit doppelt destilliertem Wasser gewaschen. Die Teilchen wurde gefriergetrocknet, wobei ein frei fließendes, Klumpen freies Pulver anfiel; Ausbeute: 85–90%.

[0098] Der mittlere Durchmesser eines typischen nach dieser Vorschrift hergestellten Ansatzes ist $6,0 \mu\text{m}$, jedoch können mit lediglich geringen Modifikationen Teilchen mit mittlerem Durchmesser im Bereich von wenigen 100 Nanometern bis mehreren Millimetern hergestellt werden. Abtastelektronenmikroskop-Photos eines typischen Ansatzes von PCPH-Teilchen zeigten, dass die Teilchen hoch porös mit unregelmäßiger Oberflächenform waren. Die Teilchen besitzen eine Klopfdichte von weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$.

[0099] Ein oberflächenaktives Mittel wie DPPC kann in die Polymerlösung vor der Teilchenbildung eingearbeitet werden, oder die Teilchen können gegebenenfalls ionisch oder kovalent durch das oberflächenaktive Mittel auf der Teilchenoberfläche nach der Teilchenbildung beschichtet werden, oder das oberflächenaktive Mittel kann auf der Teilchenoberfläche absorbiert werden.

BEISPIEL 2:

Herstellung von sprühgetrockneten Teilchen

[0100] Aerodynamisch leichte Teilchen mit einem Gehalt an Polymerem, und in üblichem Lösungsmittel lösliches Arzneimittel.

[0101] Aerodynamisch leichte 50 : 50 PLGA-Teilchen wurden durch Sprühtrocknen mit Testosteron, eingekapselt in den Teilchen, gemäß folgendem Verfahren hergestellt. 2,0 g Poly(D,L-milch-co-glycolsäure) mit einem Molverhältnis von 50 : 50 (PLGA 50 : 50, Resomer RG503, B. I. Chemicals, Montvale, NJ) und 0,50 g Testosteron (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) werden vollständig in 100 ml Dichlormethan bei Raumtemperatur gelöst. Das Gemisch wird sodann durch eine 0,5 mm Düse bei einer Strömungsrate von 5 ml/Min. unter Verwendung eines Buchi-Laborsprühtrockners (Modell 190, Buchi, Deutschland) sprühgetrocknet. Die Strömungsrate der Druckluft ist 700 nl. Die Einlasstemperatur ist auf 30°C, und die Auslasstemperatur auf 25°C eingestellt. Die Saugvorrichtung ist so eingestellt, dass ein Vakuum von -20 bis -25 bar erreicht wird. Die Ausbeute beträgt 51%, und die mittlere Teilchengröße ist etwa 5 µm. Eine größere Teilchengröße kann erreicht werden, indem man die Druckluftströmungsrate am Einlass herabsetzt, ebenso wie durch Veränderung anderer Variablen. Die Teilchen sind aerodynamisch leicht, wie durch eine Klopfdichte von weniger als oder gleich 0,4 g/cm³ und einen aerodynamischen Durchmesser zwischen 1 und 5 µm (Mikron) bestimmt. Die Porosität und die Oberflächenrauheit können durch Veränderung der Einlass- und Auslasstemperatur, unter anderen Faktoren, erhöht werden.

Aerodynamisch leichte Teilchen mit einem Gehalt an Polymerem und Arzneimittel in den verschiedenen Lösungsmitteln

[0102] Aerodynamisch leichte PLA-Teilchen mit einem hydrophilen Modellarzneimittel (Dextran) wurden durch Sprühtrocknen unter Anwendung des folgenden Verfahrens hergestellt. 2,0 ml einer wässrigen 10%igen (Gewicht/volumen) FITC-Dextranlösung (MW: 70.000, Sigma Chemical Co.) wurden in 100 ml einer 2%igen (Gewicht/volumen) Lösung von Poly(D,L-milchsäure) (PLA, Resomer R206, B. I. Chemicals) in Dichlormethan durch Sondenbeschallung (Sonics & Materials, Model VC-250 sonicator, Danbury, CT, USA) emulgiert. Die Emulsion wird sodann bei einer Strömungsrate von 5 ml/Min. mit einer Luftströmungsrate von 700 nl/Std. sprühgetrocknet (Einlasstemperatur: 30°C, Auslasstemperatur: 21°C, Vakuum von ~20 mbar). Die Ausbeute beträgt 56%.

Aerodynamisch leichte Proteinteilchen

[0103] Aerodynamisch leichte Lysozym-Teilchen wurden durch Sprühtrocknen unter Anwendung des folgenden Verfahrens hergestellt. 4,75 g Lysozym (Sigma) wurden in 95 ml doppelt destilliertem Wasser (5%ige Gewicht/volumen Lösung) gelöst und unter Verwendung einer 0,5 mm Düse und eines Buchi-Laborsprühtrockners sprühgetrocknet. Die Strömungsrate der Druckluft war 725 nl/Std. Die Strömungsrate der Lysozymlösung wurde so eingestellt, dass bei einer eingestellten Einlasstemperatur zwischen 97 und 100°C die Auslasstemperatur zwischen 55 und 57°C liegt. Die Saugvorrichtung wurde eingestellt, um ein Vakuum von ~30 mbar zu erreichen. Es wurde gefunden, dass die enzymatische Wirksamkeit von Lysozym durch dieses Verfahren unbeeinflusst war, und die Ausbeute an aerodynamisch leichten Teilchen betrug 66%.

Aerodynamisch leichte wasserlösliche Teilchen hohen Molekulargewichts

[0104] Unter Anwendung des folgenden Verfahrens wurden durch Sprühtrocknung aerodynamisch leichte Dextranteilchen hergestellt. 6,04 g DEAE-Dextran (Sigma) wurden in 242 ml doppelt destilliertem Wasser aufgelöst (2,5%ige Gewicht/volumen-Lösung) und unter Verwendung einer 0,5 mm Düse und eines Buchi-Laborsprühtrockners sprühgetrocknet. Die Strömungsrate der Druckluft war 750 nl/Std.. Die Strömungsrate der DEAE-Dextranlösung wurde so eingestellt, dass bei einer eingestellten Einlasstemperatur von 155°C die Auslasstemperatur 80°C betrug.

[0105] Die Saugvorrichtung wurde eingestellt, um ein Vakuum von ~20 mbar zu erreichen. Die Ausbeute an den aerodynamisch leichten Teilchen war 66%.

Aerodynamisch leichte, wasserlösliche Teilchen niederen Molekulargewichts

[0106] Aerodynamisch leichte trehalose Teilchen wurden durch Sprühtrocknen unter Anwendung folgenden Verfahrens erhalten. 4,9 g Trehalose (Sigma) wurden in 192 ml doppelt destillierten Wassers gelöst (2,5%ige Gewicht/volumen-Lösung) und unter Verwendung einer 0,5 mm Düse und eines Buchi-Laborsprühtrockners

sprühgetrocknet. Die Strömungsrate der Druckluft war 650 nl/Std. Die Strömungsrate der Trehaloselösung wurde derart eingestellt, dass bei einer eingestellten Einlasstemperatur von 100°C die Auslasstemperatur 60°C war. Die Saugvorrichtung wurde eingestellt, um ein Vakuum von ~30 mbar zu erhalten. Die Ausbeute der aerodynamisch leichten Teilchen war 36%.

Aerodynamisch leichte wasserlösliche Teilchen niederen Molekulargewichts

[0107] Polyethylenglycol (PEG) ist ein wasserlösliches Makromolekül, jedoch kann es nicht aus einer wässrigen Lösung sprühgetrocknet werden, da es bei Raumtemperaturen unterhalb der zur Wasserverdampfung benötigten Temperaturen schmilzt. Als Ergebnis wurde PEG bei niederen Temperaturen aus einer Lösung in Dichlormethan, einem niedrig siedenden organischen Lösungsmittel, sprühgetrocknet. Aerodynamisch leichte PEG-Teilchen wurden durch Sprühtrocknen unter Anwendung folgenden Verfahrens hergestellt. 5,0 g PEG (MW zwischen 15.000 und 20.000, Sigma) wurden in 100 ml doppelt destilliertem Wasser (5%ige Gewicht/Volumen-Lösung) gelöst und unter Verwendung einer 0,5 mm Düse und eines Büchi-Laborsprühtrockners sprühgetrocknet. Die Strömungsrate der Druckluft war 750 nl/Std.. Die Strömungsrate der PEG-Lösung wurde so eingestellt, dass bei einer eingestellten Einlasstemperatur von 45°C die Auslasstemperatur zwischen 34° und 35°C lag. Die Saugvorrichtung wurde eingestellt, um ein Vakuum von ~22 mbar zu erhalten. Die Ausbeute an den aerodynamisch leichten Teilchen (Klopffestigkeit weniger als 0,4 g/cm³) betrug 67%.

[0108] In die Polymerlösung kann vor der Teilchenbildung ein oberflächenaktives Mittel wie DPPC eingearbeitet werden, oder die Teilchen können gegebenenfalls ionisch oder kovalent mit einem oberflächenaktiven Mittel auf der Teilchenoberfläche nach der Teilchenbildung beschichtet werden, oder das oberflächenaktive Mittel kann an der Teilchenoberfläche absorbiert sein.

Materialien und Verfahren

[0109] Folgende Materialien und Verfahren wurden in den Beispielen 3 und 4 benutzt:

Materialien

[0110] Die Polymeren Poly(D,L-milch-co-glycolsäure) (PLGA) mit einem Molverhältnis von 50 : 50 und angegebenen Molekulargewichten von 100.000 Daltons (PLGA RG 506) und 34.000 Daltons (PLGA RG503) sowie Poly(D,L-milchsäure) mit einem angegebenen Molekulargewicht von 100.000 Daltons (PLA R206) wurden von Boehringer Ingelheim erhalten (ausgeliefert von B. I. Chemicals, Montvale, NJ, USA). Fluoreszierend markiertes FITC-Dextran mit einem mittleren Molekulargewicht von 19.000, sowie L, α -Phosphatidylcholidipalmitoyl (DPPC) wurden von Sigma Chemicals Company, St. Louis, MO, USA geliefert.

Mikrokugelherstellung: Zweifache Emulsion

[0111] Ein Verfahren mit zweifacher Emulsion und Lösungsmittelverdampfung (vgl. Cohen, S. u. a. Pharm. Res., 8 (6): 713–720 (1991); und Tabata, Y., u. a., Pharm. Res., 10 (4): 487–496 (1993) wurde modifiziert, um Mikrokugeln für die Aerosolbildung herzustellen. Kurz gesagt, wurden 300 μ l einer wässrigen FITC-Dextranlösung (50 mg/ml) auf Eis in einer 4,0 ml Polymerlösung in Methylenchlorid (200 mg Polymer) durch Beschallung mit einer Abgabe 3 (Modell VC-250, Sonics & Materials Inc., Danbury, CT, USA) unter Verwendung einer Mikrospritze für 5–10 s (Sek.) emulgiert, um die Innenemulsion zu bilden. Die erste Emulsion wurde in 100 ml 1%ige wässrige PVA-Lösung gegossen und in einer Homogenisiervorrichtung (Modell LD4 Homogenizer, Silverson Machines Ltd. England) bei 6.000 UpM unter Verwendung einer 5/8 inch Spitze für 1 Minute zur Bildung der zweifachen Emulsion homogenisiert. Die Mikrokugeln wurden kontinuierlich 3 Stunden gerührt, um ein Aushärten zu ermöglichen, abzentrifugiert, mehrere Male mit doppelt destilliertem Wasser gewaschen und in ein frei fließendes Pulver gefriergetrocknet. Mikrokugeln mit einem Gehalt an DPPC wurden durch Auflösen von DPPC in der Polymerlösung bei einer Konzentration von 3 mg/ml vor der anfänglichen Emulgierung hergestellt.

Mikrokugelherstellung: Sprühtrocknen

[0112] Das hydrophile Modellarzneimittel, mit Fluoresceinisothiocyanat markiertes Dextran (FITC-Dextran) wurde in PLA oder PLGA durch ein neues Emulsions/Sprühverfahren eingekapselt. Beispielsweise wurden 2,0 ml einer wässrigen 10%igen (Gewicht/Volumen) FITC-Dextranlösung (MW des Dextrans: 70.000, Sigma Chemical Co.) wurden in 100 ml einer 2 gew.-%igen (Gewicht/Volumen) Lösung von PLA in Dichlormethan durch Sondenbeschallung emulgiert. Die Emulsion wurde sodann unter Verwendung eines Büchi-Minispray-trockners Modell 190 (Büchi Instrumente, Deutschland) bei einer Strömungsrate von 5 ml/Min. mit einer Luft-

strömungsrate am Einlass von 700 nl/Std, einer Einlasstemperatur von 30°C, einer Auslasstemperatur von 21°C und einem Vakuum von ~20 mbar sprühgetrocknet. Wenn DPPC eingearbeitet war, war es in der Polymerlösung bei einer Konzentration von 2 mg/ml vor dem Emulgieren und Sprühtrocknen gelöst.

Analyse der Mikrokugel-Größenverteilung

[0113] Die Größenverteilungen der Mikrokugeln wurden unter Verwendung eines Zählers Coulter Multisizer II (Coulter Electronics Limited, Luton, Beds, England) bestimmt. Etwa 10 Tropfen des nicht-ionischen Dispersionsmittels Coulter Typ Ia wurden zugegeben, danach 2 ml der Lösung Isoton II (Coulter), auf 5–10 mg Mikrokugeln, und die Kugeln wurden durch ein kurzes Vortex-Vermischen dispergiert. Diese Suspension wurde zu 50 ml der Lösung Isoton II zugegeben, bis die Übereinstimmung von Teilchen zwischen 5 und 8% war. Mehr als 500.000 Teilchen wurden für jeden Ansatz von Kugeln ausgezählt.

Arzneimittelverteilung durch konfokale Mikroskopie

[0114] Für die konfokale Mikroskopie wurden wenige Milligramm Mikrokugeln mit einem Gehalt an FITC-Dextran als Arzneimittel durch kurzes Sondenbeschallen (Vibra-cell Model VC-250 Sonicator, 1/8" Mikrospitzen-sonde, Sonics & Materials Inc., Danbury, CT, USA) bei der Abgabe 4 (50 W) suspendiert. Ein Tropfen der Suspension wurde auf einen Objektträger aus Glas gebracht und ein Glasdeckblättchen wurde aufgebracht und mit Fingernagellack an Ort und Stelle gehalten. Man ließ sich die Suspension 1 Stunde vor Betrachtung mit dem konfokalen Mikroskop (Bio-Rad MRC-600 Confocal, Axioplan microscope) absetzen.

Mikrokugelmorphologie gemäß der Elektronenrastermikroskopie (SEM)

[0115] Die Morphologie der Mikrokugeln wurde mit einem Elektronenrastermikroskop (SEM) unter Verwendung eines Mikroskops Steroscan 250 MK3 von Cambridge Instruments (Cambridge, MA, USA) bei 15 kV beobachtet. Die Mikrokugeln wurden gefriergetrocknet, auf Stützen (stubs) aus Metall mit doppelseitigem Band, und vor der Beobachtung mit Gold überzogen.

Analyse der Mikrokugeldichte

[0116] Die Schüttdichte der Mikrokugeln wurde durch Klopfdichtemessungen, z. B. erhalten unter Verwendung einer Mikroprozessor-gesteuerten Banddichte-Testvorrichtung mit dualer Plattform (der Testvorrichtung "Dual Platform Microprocessor Controlled Tap Density Tester" der Fa. Vankel, NC, USA) geschätzt und durch Quecksilberintrusionsanalyse bei der Fa. Porous Materials, Inc. (Ithaca, NY, USA) bestätigt.

Bestimmung der eingekapselten Menge an FITC-Dextran und DPPC

[0117] Die Menge des Modellarzneimittels, FITC-Dextran, eingekapselt in Mikrokugeln wurde durch Auflösen von 10,0 mg Mikrokugeln in 3,0 ml 0,8 N NaOH über Nacht bei 37°C, Filtrieren mit einem 0,45 µm Filter (Millipore) und Messen der Fluoreszenz bezüglich einer Standardkurve (494 nm Erregung, und 525 nm Emission) unter Verwendung eines Fluorimeters bestimmt. Die Arzneimittelbeladung wurde bestimmt, indem man die Menge des eingekapselten FITC-Dextrans durch die theoretische Menge dividierte, wenn sie völlig eingekapselt war. Die in die Mikrokugeln eingekapselte Menge des oberflächenaktiven Mittels, DPPC, wurde durch Auflösen von 10,0 mg Mikrokugeln in Chloroform und Anwendung des Stewart Assay bestimmt (New, R. R. C., „Characterization of Liposomes“, in Liposomes: A Practical Approach, R. New, Herausgeber, IRL Press, New York, 105–161 (1990)).

Aerosolbildung in vitro und Trägheitsablagerungsverhalten

[0118] Die aerodynamischen Eigenschaften der Mikroteilchen in vitro wurden unter Verwendung einer Prallmühle "Mark I Cascade Impactor" (Andersen Samplers, Atlanta, GA, USA) bei einer Luftströmungsrate von 28,3 l/Min. untersucht. Die Metallprallplatten waren mit einem dünnen Film aus Tween 80 zur Minimierung der senkrechten Lageschwankung der Teilchen beschichtet (Turner, J. und S. Hering, J. Aerosol Sci., 18: 215–224 (1987) beschichtet. Gelatinekapseln (Eli Lilly) wurden mit 20 mg Mikroteilchen gefüllt und in eine Inhalationsvorrichtung (Spinhaler® Fisons, Bedford, MA, USA) eingebracht. Die Aerosolbildungsversuche wurden dreifach vorgenommen. Bei jedem Versuch wurden 10 Inhalatoren für 30 Sekunden in die Prallmühle entleert. Zwischen jeweils zwei aufeinander folgenden Aerosolbildungen wurde ein Abstand von 60 Sekunden eingehalten. Fraktionen von Mikrokugeln, die auf jeder von 9 Stufen abgelagert waren, entsprechend den Stufen 0 bis 7, und der Filter (F) der Prallmühle wurden durch sorgfältiges Abwaschen der Platten mit Natronlauge, (0,8 N) in

Messkolben gesammelt, um einen Abbau des Polymeren und eine vollständige Auflösung des fluoreszierenden Materials zu erreichen. Nach 12 Stunden der Inkubation bei 37°C wurden die Lösungen mit einem 0,45 µm Filter filtriert, und die Menge an fluoreszierendem Material in jeder Stufe bei 494 nm (Erregung) und 525 nm (Emission) unter Verwendung eines Fluorimeters gemessen. Die atembare Fraktion der zugeführten Dosis wurde gemäß den Fluoreszenzmessungen als Prozentsätze der Gesamtfluoreszenz (d. h., der in den Stufen 0 bis zum Filter gesammelte Menge) berechnet und mit den in den Stufen 2 bis zum Filter der Prallmühle gesammelten verglichen.

Teilchenverteilung in vivo nach Aerosolbildung in Ratten

[0119] Männliche Sprague-Dawley-Ratten (mit einem Gewicht zwischen 150 und 200 g) wurden unter Verwendung eines Gemischs von Ketamin (90 mg/kg) und Xylazin (10 mg/kg) anästhesiert. Die anästhetisierten Ratten wurden jeweils bauchseitig auf einen chirurgischen Tisch gelegt, der mit einem temperaturgesteuerten Polster zur Aufrechterhaltung der physiologischen Temperatur versehen war. Das Tier wurde oberhalb der Carina mit einem endotrachealen Schlauch, der an einen Harvard-Ventilator (Rodeo Ventilator Modell 683, South Natick, MA) verbunden war. Das Tier wurde 20 Minuten bei 300 ml/Min. zwangsbelüftet. 50 mg mit oder ohne DPPC hergestellte Mikrokugeln wurden in den endotrachealen Schlauch eingeführt. Nach dem Zeitraum der erzwungenen Belüftung wurde das Tier getötet, und die Lungen sowie die Trachea wurden getrennt unter Anwendung eines bronchoalveolaren Waschens wie folgt gewaschen: Es wurde eine tracheale Kanüle eingeführt, befestigt, und die Atemwege wurden mit 10 ml gleichen Anteilen und mit Phenolrotfreier ins Gleichgewicht gebrachter Hanks-Salzlösung (phenol red-free Hanks balanced salt solution der Firma Gibco, Grand Island, NY, USA) ohne Ca^{2+} und Mg^{2+} (HBSS) gewaschen. Das Waschverfahren wurde wiederholt, bis ein Gesamtvolumen von 30 ml gesammelt war. Die Waschflüssigkeit wurde zentrifugiert (400 g), und die Pellets wurden gesammelt und abermals in 2 ml HBSS suspendiert. 100 µl wurden zur Partikelanzählung unter Verwendung eines Hämazytometers entnommen. Die restliche Lösung wurde mit 10 ml 0,4 N NaOH vermischt. Nach Inkubation bei 37°C während 12 Stunden wurde die Fluoreszenz jeder Lösung gemessen (Wellenlänge von 494 nm der Erregung, und 525 nm der Emission), wobei ein Fluorimeter verwendet wurde.

BEISPIEL 3:

Herstellung von PLGA-Mikrokugeln durch ein zweifaches Emulsionsverfahren, in denen ein Modellarzneimittel, FITC-Dextran hohen Molekulargewichts, eingekapselt ist.

[0120] Es wurden Rasterelektronen-Mikroskopie-Fotographien („SEM“-Fotographien), welche die Oberflächenmorphologie von Mikrokugeln (MS) zeigen, hergestellt nach dem zweifachen Emulsionsverfahren mit dem oberflächenaktiven Mittel und ohne dieses für die Lunge, EPC, aufgenommen. Durch SEM wurde ermittelt, dass die Mikrokugeln, hergestellt mit dem und ohne das DPPC durch das zweifache Emulsionsverfahren, sehr ähnliche Oberflächeneigenschaften und eine sehr ähnliche Größenverteilung aufwiesen, wie durch Größenverteilungsmessungen bestätigt wurde, wie in der folgenden Tabelle 1 gezeigt wird. Der wirksame Einschluss von DPPC in den Mikrokugeln (83% der theoretischen $\pm 11\%$ Standardabweichung, $n = 6$) wurde durch Auflösen eines gleichen Teils von MS in Chloroform und Nachweis der DPPC-Konzentration in der Lösung durch den Stewart Assay bestätigt, wie in Tabelle 1 gezeigt. Durch zweifache Emulsion mit DPPC hergestellte Teilchen werden leicht in einer wässrigen Lösung nach Gefriertrocknung wieder suspendiert und sind klumpenfrei, wenn sie trocken sind, wie durch Lichtmikroskopie bestimmt wurde. Nach dem zweifachen Emulsionsverfahren hergestellte Teilchen ohne DPPC suspendieren wieder leicht, jedoch scheinen sie etwas agglomeriert zu sein, wenn sie trocken sind, was sich bei Lichtmikroskopie zeigt.

Tabelle 1

Eigenschaften von Mikroteilchen, die zur Aerosolbildung^a *in vitro* und *in vivo* benutzt werden

Probe	Mittl. (echter) Massendurchmesser (μm)	DPPC- Beladung ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Kugeln)	DPPC-Bela- dungswirk- samkeit, (%)	FITC-Dextran- (Modellarzneimit- tel)- Beladungswirksamkeit, (%)
MS ohne DPPC	$8,5 \pm 0,76$	0	N/A	95,8
MPS mit DPPC	$8,5 \pm 0,18$	45 ± 6	83 ± 11	82,4

^a Die Werte sind \pm Standardabweichung angegeben.

[0121] Zur Bewertung der Verteilung des Modellarzneimittels, FITC-Dextran (M_w 19.000), durch die Mikrokugeln hindurch, hergestellt ohne DPPC und mit DPPC, wurde die konfokale Mikroskopie angewandt. In jedem Fall ist das Arzneimittel gleichmäßig durch die Polymermatrix hindurch verteilt, was zu einer verlängerten Zuführung von Makromolekülen nach Einbringen in eine wässrige Umgebung führen kann.

[0122] Die Dichte der Mikrokugeln wird durch Quecksilberintrusionsanalyse ermittelt und ist in Tabelle 2 gezeigt (und durch Klopfdichtemessungen bestätigt).

Tabelle 2

Vergleich poröser Mikroteilchen mit massigem Polymeren (PLGA 50 : 50)

Probe	Dichte, p_{MS} (g/cc)	Atembarer Größenbereich, $d_{resp.}$ (μm)
Sperriges (bulk) LGA	1,35	0,69 – 4,05
MS ohne DPPC	$0,37 \pm 0,03$	1,3 – 7,7
MS mit DPPC	$0,30 \pm 0,06$	1,46 – 8,58

[0123] Unter Anwendung des Konzepts des aerodynamischen Durchmessers (Gonda, 1., in Topics in Pharmaceutical Sciences 1991, D. Crommelin und K. Midha, Herausgeber, Stuttgart, Medpharm Scientific Publishers, S. 95–117 (1992) ist es möglich, den Größenbereich der Mikrokugeln, die theoretisch atembar sind, zu bestimmen, wenn ihre Massendichte, p_{MS} , gegeben ist. Im Speziellen kann in folgender Gleichung 2 gezeigt werden, dass:

$$\frac{0,8}{\sqrt{p_{MS}}} \leq d_{resp.} \leq \frac{4,7}{\sqrt{p_{MS}}} \quad (2)$$

worin $d_{resp.}$ dem Teilchendurchmesser (in μm) entspricht, welche theoretisch in der Lage sind, in die Luftwege ohne Ablagerung durch Trägheit oder Erdanziehung einzutreten und dort zu verbleiben (Teilchen, die kleiner als dieser Bereich sind, werden ausgeatmet), und worin p_{MS} in den Einheiten g/cm^3 angegeben ist. Der theoretisch atembare Größenbereich der Mikrokugeln ist ebenfalls in Tabelle 2 angegeben. Der optimale Größenbereich (d. h., $d_{resp.}$) für eine nicht-poröse PLGA 50 : 50 -Mikrokugel ist 0,69–4,05 μm (Tabelle 2). Der optimale atembare Größenbereich für Mikrokugeln ohne DPPC ist 1,3–7,7 μm und für Mikrokugeln mit DPPC, 1,46–8,58 μm (Tabelle 2). Die Obergrenze der Größe atembarer Teilchen wird von 4,05 auf mehr als 8,5 μm erhöht, wenn DPPC bei der Herstellung der PLGA-Mikrokugel verwendet wird. Deshalb ermöglicht die Verwendung von

DPPC-Mikrokugeln niedriger Dichte die Verwendung von größeren Teilchen für die Aerosolbildung, welche für die Arzneimittelzuführung Vorteile besitzen kann, wie z. B. eine geringere Wechselwirkung zwischen Teilchen und Teilchen infolge des verringerten Verhältnisses von Oberfläche zu Volumen, und eine geringere Empfindlichkeit gegenüber der Phagozytose durch alveolare Makrophagen. Zusätzlich ist eine primäre Wirkung von DPPC, die Teilchen weniger haftend zu machen und deshalb eine verbesserte Aerosolbildung zu ermöglichen, wie weiter unten belegt wird.

[0124] Die **Fig. 1** und **2** zeigen die Ergebnisse einer Aerosolbildung in vitro der nach dem zweifachen Emulsionsverfahren mit und ohne DPPC hergestellten PLGA-Mikrokugeln. Die Mikrokugeln wurden als ein trockenes Pulver, freigegeben aus einem Spinaler®-Inhalator für trockenes Pulver (DPI) aerosolisiert. **Fig. 1** veranschaulicht die Massenfraktion der Anfangsdosis, welche aus der Inhalationsvorrichtung für das Trockenpulver freigesetzt wird (DPI-Wirkung) unter Verwendung einer Prallmühle „Andersen Mark I Cascade Impactor“, die DPI-Wirksamkeiten, welche 80% erreichten, wurden mit Mikrokugeln erhalten, welche mit und ohne DPPC hergestellt wurden. Obgleich die DPI-Wirksamkeiten für zwei Ansätze nahezu die gleichen waren, kann ein großer Unterschied zwischen mit und ohne DPPC hergestellten Mikrokugeln festgestellt werden, wenn ihre Ablagerung in der Kaskadenprallmühle beobachtet wird (**Fig. 2**).

[0125] **Fig. 2** zeigt die Massenfraktion von aerosolisierten Teilchen, die in den Stufen 2 bis zum Filter (2 - Filter) der Andersen-Kaskaden-Prallmühle abgelagert sind, welche als die Stufen angesehen werden, welche der atembaren Fraktion der Mikroteilchen entsprechen. Die Stufen 0 und 1 entsprechen annähernd dem Mund und Rachen bzw. den oberen Atemwegen der Lunge. Die Stufen 2 - F entsprechen den zunehmend tieferen Fraktionen der Lunge. Es ist ersichtlich, dass ein viel größerer Prozentsatz von Mikrokugeln zu den letzten Stufen der Prallmühle gelangt, (welche als die tieferen Teile der Lunge erachtet werden), wenn DPPC bei ihrer Herstellung verwendet wird. Insgesamt werden mehr als 35% ($37,0 \pm 2,1$) der aerosolisierten Teilchen, die mit DPPC hergestellt sind, als atembar erachtet, im Vergleich zu $13,2 \pm 2,9\%$ ohne DPPC, wie aus Tabelle 3 zu ersehen ist. Der große Unterschied der atembaren Fraktion zwischen den Teilchen mit DPPC und ohne DPPC ist mindestens teilweise einer verringerten Wechselwirkung zwischen Teilchen und Teilchen infolge der Verwendung von DPPC zuzuschreiben.

[0126] Um die theoretische atembare Fraktion (RF) der Mikrokugeln zu schätzen, und sie mit in vitro und in vivo gemäß experimentell gemessenen RF'-Werten zu vergleichen, wurden die Größenverteilungsmessungen analysiert, um den Prozentsatz von Teilchen (bezogen auf die Masse) eines jeden Typs (mit DPPC und ohne DPPC) zu ermitteln, welche innerhalb des theoretischen atembaren Größenbereichs (d. h., $d_{resp.}$, Tabelle 2) liegen. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, ist zu erwarten, dass ein höherer Prozentsatz von mit DPPC hergestellten Teilchen atembar ist, im Vergleich zu Teilchen ohne DPPC (63% gegenüber 51%). Diese theoretische atembare Fraktion gründet sich auf die Massenfraktion von Mikroteilchen mit Durchmessern im atembaren Bereich, $d_{resp.}$, wie durch Gleichung (2) definiert, und zieht deshalb die verschiedenen Größen und Dichten der beiden Ansätze der Mikrokugeln in Betracht.

Tabelle 3
Vergleich der Eigenschaften von Mikroteilchen bei der Aerosolbildung in vitro

Probe	Theoretisch atembare Fraktion (d.h. %uale Masse d. Mikrokugeln im atemb. Größenbereich) ^a	Gemessene atemb. Fraktion (%), <i>in vitro</i> ^b
Mikrokugeln ohne DPPC	51 ± 6	$13,2 \pm 2,9$
Mikrokugeln mit DPPC	63 ± 2	$37,0 \pm 2,1$

^a bezogen auf den theoretischen atembaren Größenbereich ($d_{resp.}$, Tabelle 2) und die Größenverteilungsanalysen

^b gemessen unter Verwendung der Prallmühle Andersen Mark I Cascade Impactor

[0127] Um zu ermitteln, ob die Agglomerationskräfte während der Aerosolbildung der Teilchen aus der Spinaler-Vorrichtung auch nach Eintreten der Teilchen in das Prallmühlensystem (d. h. in erster Linie Teilchen ohne DPPC bleiben in dem eingeatmeten Strom agglomeriert, was zur Ablagerung in den ersten beiden Stufen

der Prallmühle führt, nämlich den Stufen 0 und 1) eventuell eine Rolle spielen, wurden Aerosolbildungs-Versuche in vivo durchgeführt, bei denen Teilchen durch Gravität in den Einatmungsstrom eines Harvard-Ventilatorsystems fallengelassen wurden, das mit der Trachea einer anästhesierten Ratte verbunden war. In diesem Modell lagerten sich etwa 63% der inhalierten DPPC-PLGA-Teilchen in den Atemwegen und den distalen Lungenbereichen ab, während 57% der Teilchen ohne DPPC in der Lage waren, über die Trachea hinaus in die Lungen einzudringen. Diese atembaren Fraktionen sind den vorhergesagten atembaren Fraktionen unter Zugrundelegung des Teilchendurchmessers und der Massendichte viel näher (vgl. Tabelle 3).

[0128] Die Teilchenaggregation ist infolgedessen bei DPPC enthaltenden PLGA-Teilchen viel geringer als bei solchen ohne DPPC, obgleich die Teilchen ähnlicher Größe und ähnlicher Merkmale der Oberflächenmorphologie sind. Die Verwendung von DPPC scheint somit die Anziehungen zwischen den Teilchen zu verringern, wie z. B. die van der Waals- und elektrostatischen Anziehungen. Es ist auch möglich, dass die Anwesenheit von DPPC die Feuchtigkeitsabsorption verringert, welche eine Wechselwirkung zwischen Teilchen und Teilchen durch Kapillarkräfte bewirken kann.

[0129] Zusätzlich zu den Merkmalen der Bioverträglichkeit von DPPC und zur Verbesserung der Oberflächeneigenschaften von Mikrokugeln für die Aerosolbildung ist es möglich, dass die Freisetzung von DPPC aus den langsam erodierenden PLGA-Mikrokugeln im alveolaren Bereich der Lungen wirksamer die Aufrechterhaltung einer normalen Tensidfluid-Zusammensetzung gewährleisten kann, wodurch die Möglichkeit von lokalen toxischen Nebenwirkungen minimiert wird. Die alveolare Tensid-Fluidschicht ist durchschnittlich 10 nm dick (vgl. Weibel, E. R., Morphometry of the Human Lung, New York: Academic Press (1963)).

BEISPIEL 4:

Herstellung von PLGA-Mikrokugeln durch Sprühtrocknen, welche ein Modellarzneimittel hohen Molekulargewichts, nämlich FITC-Dextran einkapseln.

[0130] Durch Sprühtrocknen unter Verwendung der verschiedensten polymeren Träger mit und ohne Einarbeitung von DPPC wurden Mikrokugeln hergestellt. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4
Charakterisierung sprühgetrockneter Mikroteilchen

Probe	Mittl. (echter)Massen- durchmesser (μm)	DPPC- Beladung ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Kugeln) u. Wirksamkeit (%)	FITC-Dextran- Beladungs- wirksamkeit (%)	(%) d. mit DPPC durch ESCA beschichteten Oberfläche
R206+DPPC	5,4	a	54,9	a
R206-DPPC	4,4	-	64,8	-
RG503+DPPC	2,0	62,8	65,2	46,5%
RG503-DPPC	3,0	-	78,2	-
RG506+DPPC	4,3	89,1	62,7	42-62%
RG506-DPPC	b	-	100	-

^anicht bestimmt

^bkeine verlässliche Bestimmung, weil das Pulver in hohem Masse aggregiert war.

[0131] Die Aerosolbildungseigenschaften der Mikrokugeln wurden auch untersucht, wie in Tabelle 5 gezeigt. Mikrokugeln, hergestellt durch Sprühtrocknen mit und ohne DPPC haben ähnliche Größenverteilungen (Tabelle 5) und Massendichten ($0,49 \pm 0,04 \text{ g}/\text{cm}^3$). Jedoch ist die Leistung der Aerosolbildung sprühgetrockneter Aerosole, hergestellt mit und ohne DPPC, beträchtlich unterschiedlich. Fig. 3 zeigt, dass die Fraktion der PLGA RG 503-Mikroteilchen niederen Molekulargewichts, welche aus dem Trockenpulver-Inhalator aerosolisiert wurden, (d. h., der Prozentsatz von Teilchen, welche eine Inhalation simulierten, definiert als die DPI-Wirksamkeit) 70,4% beträgt, wenn das Teilchen mit DPPC hergestellt war, im Vergleich zu lediglich 46,8% für Teilchen, hergestellt ohne DPPC. Ferner wird bei Verwendung von Teilchen, die mit DPPC überzogen sind, (vgl.

Tabelle 5) die Ablagerung aller Polymerteilchen nach der Aerosolbildung in eine Andersen-Pallmühle stark verbessert. Ohne die Verwendung von DPPC, erreichen $\leq 2\%$ der aerosolisierten Teilchen die letzten Stufen der Prallmühle (diejenigen, welche der atembaren Fraktion entsprechen, nämlich den Stufen 2 bis zum Filter). Andererseits erreichen ein Maximum von 25,6% der mit DPPC beschichteten Mikrokugeln die Stufen 2 bis zum Filter, wie in **Fig. 4** gezeigt. Höhere atembare Fraktionen können mit Teilchen erhalten werden, welche Arzneimittel niederen Molekulargewichts enthalten, die in Methylenchlorid löslich sind und deshalb nicht die Anwendung von Wasser während ihrer Herstellung erfordern.

Tabelle 5

Zusammenfassung der Aerosolbildungsdaten von Mikrokugeln hergestellt durch Sprühtrocknen mit oder ohne DPPC

Probe	%aerosolisierte Teilchen, welche die Stufen 1 –Filter erreichen	% aerosolisierte Teilchen, welche die Stufen 2 –Filter erreichen	% aerosolisierte Teilchen, welche die Stufen 3-Filter erreichen	DPI-Wirksamkeit
R206+DPPC	40,4 \pm 8,4	25,6 \pm 2,3	18,0 \pm 2,7	38,6 \pm 3,7
R206-DPPC	7,4 \pm 2,1	1,8 \pm 0,5	1,1 \pm 0,3	41,0 \pm 4,8
RG503+DPPC	36,0 \pm 9,2	14,7 \pm 1,53	10,4 \pm 0,46	70,4 \pm 2,4
RG503-DPPC	3,3 \pm 0,6	2,1 \pm 0,3	2,0 \pm 0,3	46,8 \pm 8,0
RG506+DPPC	13,7 \pm 9,1	7,1 \pm 4,1	4,1 \pm 2,5	76,6 \pm 8,4
RG506-DPPC	1,8 \pm 0,6	1,6 \pm 0,6	1,4 \pm 0,7	74,0 \pm 7,2

R206 = PLA, Molekulargewicht etwa 100.000

RG503 = PLGA 50:50, Molekulargewicht etwa 34.000

RG506 = PLGA 50:50, Molekulargewicht etwa 100.000

BEISPIEL 5:

Herstellung von Estradiol enthaltender Lactose:DPPC-Teilchen

Materialien und Verfahren:

[0132] Ein tragbarer Zerstäubungs-Sprühtrockner (NIRO Modell # 68) wurde für sämtliche folgende Beispiele benutzt. Druckluft mit verschiedenem Druck betrieb ein Drehzerstäuber, der oberhalb des Trockners lag. Flüssige Beschickung wurde mit verschiedener Rate kontinuierlich durch eine elektronische Dosierpumpe (LMI, Modell A151-192s') zum Zerstäuber gepumpt. Die Einlass- und Auslasstemperaturen können gemessen und manuell gesteuert werden. Ein Behälter wurde dicht am Zyklon befestigt, um das sprühgetrocknete Pulverprodukt aufzufangen.

[0133] Estradiol enthaltende Teilchen wurden hergestellt, um die Herstellung von großen porösen Teilchen zu veranschaulichen, welche eine verhältnismäßig große Arzneimittelfraktion, bezogen auf das Gewicht, enthalten. Estradiolteilchen mit einer Standardmassendichte (von mehr als 0,4 g/cm³) können auf verschiedenen Wegen hergestellt werden. In diesem Beispiel waren in die Teilchen 30 Gew.-% β -Estradiol, 62 Gew.-% Lactose und 8 Gew.-% DPPC eingearbeitet. Die Lactose wurde in entionisiertem Wasser gelöst, und das Estradiol und DPPC wurden in 95%igem (Volumen/Volumen) Ethanol gelöst. Die beiden Lösungen wurden unter Bildung einer 85%igen Volumen/Volumen EthanolLösung vereint. Die Gesamtkonzentration an pulverisierten Ausgangsmaterialien in der Lösung war 3,25% Gewicht/Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 160°C, die Auslasstemperatur war 95°C; der Zerstäubungsdruck betrug 2 kp/cm² (28,45 psi;) und die Beschickungsrate war 34 ml/Min.. Das erhaltene sprühgetrocknete Pulver hatte eine Klopff-(massen)-Dichte von 0,46 g/ml. Der auf dem Volumen basierende mittlere Durchmesser, gemessen unter Verwendung einer Teilchengrößenmessvorrichtung „Mikrotrac“ war 3,5 μ m, was einen aerody-

namischen Durchmesser von 2,4 µm ergibt.

[0134] In einem anderen Beispiel wurden Estradiolteilchen einer Standardmassendichte (etwa 1 g/cm³) durch Sprühtrocknen einer Lösung mit einem Gehalt an 70% Estradiol und 30% DPPC mit einer Pulvergesamtkonzentration von 1,9% Gewicht/Volumen in 85% Gewicht/Volumen Ethanol hergestellt. Der Sprühtrockner wurde unter folgenden Bedingungen betrieben: Die Einlasstemperatur war 150°C, die Auslasstemperatur betrug 85°C, der Zerstäubungsdruck war 1 kp/cm² (14,22 psi), und die Beschickungsrate betrug 30 ml/Min. Die hergestellten Teilchen hatten eine Klopfdichte von 0,62 g/ml und einen mittleren Durchmesser von 6 µm, was einen annähernden aerodynamischen Durchmesser von 4,7 µm ergibt.

[0135] Zur Herstellung leichter, poröser Teilchen wurden viele Kombinationen der Betriebsbedingungen und Pulverzusammensetzungen getestet. Ein anderes Beispiel für die Herstellung von Teilchen geringer Dichte war folgende: Eine Lösung von 90 Gew.-% β-Estradiol und 10 Gew.-% DPPC in 95%igem Ethanol wurde hergestellt. Die Lösung wurde sodann mit entionisiertem Wasser vereint, um eine Lösung von 85% Ethanol zu bilden. Die Pulvergesamtkonzentration war 1,1% Gewicht/Volumen. Die Betriebsbedingungen waren wie folgt: Die Einlasstemperatur betrug 110°C, die Auslasstemperatur war 85°C, der Zerstäubungsdruck war 1 kp/cm² (14,22 psi), und die Beschickungsrate war 30 ml/Min. Die Ausbeute betrug 53,0%. Das erhaltene Pulver war sehr fließfähig und setzte sich aus Teilchen mit unregelmäßiger Gestalt und rauen Oberflächen zusammen, wie SEM (Rasterelektronenmikroskop) zu sehen war. Der mittlere Durchmesser, ermittelt durch das Microtrac, bezogen auf das Volumen war 6 µm. Die Klopfdichte betrug 0,28, was somit einen annähernden aerodynamischen Durchmesser von 2,6 Mikron ergab, welcher innerhalb des gewünschten Bereichs zwischen 1 und 5 Mikron fällt.

BEISPIEL 6:

Herstellung von Lactose:DPPC-Trägerteilchen

[0136] "Träger"-Teilchen können gebildet werden, um Arzneimittel tragende Teilchen mit ähnlichen Konzentrationen des Exzipiens nachzuahmen. Fallstudien von vier Trägerteilchen werden nachfolgend diskutiert, gefolgt von zwei Beispielen für die Zugabe geringer Konzentrationen von Arzneimittel zum Trägerteilchen. In diesem Beispiel wird ein geringer Gewichtsprozentsatz Arzneimittel in den Teilchen so angesehen, dass er weniger als 20% des Pulvergesamtgewichts beträgt.

[0137] Trägerteilchen mit Standardmassendichte können nach mehreren Verfahren hergestellt werden. Ein Beispiel ist folgende Formulierung. Eine Lösung von Lactose in entionisiertem Wasser und von DPPC in Ethanol wurden vereint, um eine Lösung mit einem Gehalt relativer Verhältnisse von 67 Gew.-% Lactose und 33 Gew.-% DPPC in 85%igem Ethanol bereitzustellen, mit der Pulvergesamtkonzentration in der Lösung von etwa 0,1% Gewicht/Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 200°C; die Auslasstemperatur war 119°C; der Zerstäubungsdruck war 3 kp/cm³ (42,72 psi); und die Beschickungsrate war 40 ml/Min. Die Ausbeute dieses Versuchs war 29,3%. Das erhaltene sprühgetrocknete Pulver hatte eine Klopff-(Massen-)Dichte von 0,41 g/ml und einen mittleren Durchmesser, bezogen auf das Volumenmittel, geschätzt aus einer SEM, von 2,5 µm, was einen angenäherten aerodynamischen Durchmesser von 1,6 Mikron ergibt, der innerhalb des erwünschten Bereichs zwischen 1 und 5 Mikron liegt.

[0138] Die Pulverzusammensetzung, Pulverkonzentration, Lösungsmittelzusammensetzung und Arbeitsbedingungen des Sprühtrockners sind einige der Faktoren, welche verändert werden können, um leichte, poröse Trägerteilchen herzustellen. Große, poröse Teilchen können hergestellt werden, welche eine Ringröhren-artige (donut-like) Morphologie besitzen. Derartige Teilchen können z. B. durch Herstellung einer Lösung, welche 33 Gew.-% menschliches Albumin, 33 Gew.-% Lactose und 33 Gew.-% DPPC enthält, hergestellt werden. Das menschliche Albumin und die Lactose wurden in entionisiertem Wasser gelöst, und das DPPC wurde in 95%igem Ethanol gelöst. Die beiden Lösungen wurden vereint, um eine 85%ige Ethanollösung zu liefern. Die Pulvergesamtkonzentration war etwa 0,1 Gew.-%Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 110°C; die Auslasstemperatur betrug 60°C; der Zerstäubungsdruck war 3 kp/cm² (42,72 psi); und die Beschickungsrate war 40 ml/Min. Die Ausbeute aus diesem Ansatz betrug 38,5%. Die Klopff-(Massen-)Dichte der erhaltenen Teilchen war 0,16 g/ml, und die Größe dieses Teilchens auf dem Coulter-Zähler ist 7,6 µm, was einen annähernden aerodynamischen Durchmesser von 3,0 µm ergibt (Anmerkung: Die mittlere Volumengrößen, genähert aus dem SEM und diejenigen, bestimmt durch den Coulter-Zähler, können als äquivalent angesehen werden).

BEISPIEL 7:

Herstellung von Albumin:Lactose:CPPC-Teilchen

[0139] Eine andere Art großer, poröser Teilchen ähnelt einer getrockneten Weinbeere. Teilchen dieser Art

Morphologie können z. B. durch Sprühtrocknen einer Lösung hergestellt werden, die 20 Gew.-% menschliches Albumin, 20 Gew.-% Lactose und 60 Gew.-% DPPC enthält. Das menschliche Albumin und die Lactose wurden in entionisiertem Wasser gelöst, und das DPPC wurde in 95%igem Ethanol gelöst. Die beiden Lösungen wurden unter Bildung einer 85%igen Ethanollösung vereint. Die Pulvergesamtkonzentration war etwa 0,1% Gewicht/Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 110°C; die Auslasstemperatur betrug 60°C; der Zerstäubungsdruck war 3 kp/cm² (42,72 psi); und die Beschickungsrate war 40 ml/Min. Die Ausbeute betrug 45,0%. Die Klopff-(Massen-)dichte dieses Teilchens ist 0,05 g/ml, die annähernde mittlere Volumengröße dieses Partikels aus der SEM war 7 µm, was einen annähernden aerodynamischen Durchmesser von 0,6 µm ergibt. Aerosolbildungsversuche dieses Teilchens führten zu folgenden Ergebnissen: Die aerosolisierte Fraktion war 58,5%; die atembare Fraktion betrug 26,6%, und die atembare Fraktion des inhalierten Aerosols war 43,8%.

BEISPIEL 8:

Herstellung von Albumin:Lactose:DPPC-Teilchen

[0140] Zur Erhöhung der Teilchengröße können verschiedene Verfahren angewandt werden. Die in diesem Beispiel hergestellten Teilchen hatten nahezu die gleiche Morphologie wie diejenigen im Beispiel 7, hatten jedoch eine größere Teilchengröße. Die Teilchen wurden wie folgt hergestellt: Eine Lösung von 20 Gew.-% menschlichem Albumin, 20 Gew.-% Lactose und 60 Gew.-% DPPC wurde sprühgetrocknet. Das menschliche Albumin und die Lactose waren in entionisiertem Wasser gelöst, und das DPPC war in 95%igem Ethanol gelöst. Die beiden Lösungen wurden unter Bildung einer 85%igen Ethanollösung vereint. Die Pulvergesamtkonzentration war etwa 0,2% Gewicht/Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 110°C; die Auslasstemperatur war 51°C; der Zerstäubungsdruck betrug 2 kp/cm² (28,48 psi;) und die Beschickungsrate war 66 ml/Min. Die Ausbeute aus diesem Ansatz betrug 48,6%. Die Klopff-(Massen-)dichte der erhaltenen Teilchen war 0,04 g/ml, und die annähernde mittlere Volumen-Teilchengröße aus der SEM war 10 µm, was einen annähernden aerodynamischen Durchmesser von 2,0 Mikron ergibt.

BEISPIEL 9:

Sprühtrocknen von Insulin:Albumin-Lactose:DPPC-Teilchen

[0141] Dieses Beispiel belegt, dass die Zugabe von weniger als 20 Gew.-% eine geringe Veränderung auf die Teilchenmorphologie, Größe, Klopfdichte und Aerosolbildungseigenschaften ausübt. Beispielsweise wurde menschliches Insulin in einer Konzentration von etwa 2 Gew.-% der Teilchen im Beispiel 7 zugegeben. Die Teilchen wurden durch Sprühtrocknen einer Lösung von 2 Gew.-% menschlichem Insulin, 19 Gew.-% menschlichem Albumin, 19 Gew.-% Lactose und 60 Gew.-% DPPC hergestellt. Das menschliche Insulin, menschliche Albumin und die Lactose wurden in entionisiertem Wasser gelöst, während das DPPC in 95%igem Ethanol gelöst wurde. Die Löslichkeit des menschlichen Insulins im entionisierten Wasser wurde durch Zugabe weniger Tropfen Natronlauge (5 g NaOH/100 ml entionisiertes Wasser) erhöht, bis das Insulin in Lösung ging. Die beiden Lösungen wurden unter Bildung einer 85%igen Ethanollösung vereint. Die Pulvergesamtkonzentration betrug etwa 0,1% Gewicht/Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 110°C; die Auslasstemperatur betrug 61 °C; der Zerstäubungsdruck betrug 3 kp/cm² (42,72 psi); und die Beschickungsrate war 40 ml/Min. Die Ausbeute aus diesem Ansatz betrug 51,1%. Die Klopff-(Massen-)dichte der erhaltenen Teilchen war 0,05 g/ml, und aufgrund der SEM war die annähernde mittlere Volumengröße dieses Teilchens 6,5 µm, was einen annähernden aerodynamischen Durchmesser von 1,5 µm ergibt. Die Morphologie der Teilchen war derjenigen der Teilchen in Beispiel 7 sehr ähnlich. Aerosolbildungsversuche dieser Teilchen führten zu folgenden Ergebnissen: Die aerosolierte Fraktion war 45,0%; die atembare Fraktion war 15,0%; die atembare Fraktion des inhalierten Aerosols betrug 58,3%.

BEISPIEL 10:

Herstellung von Albuterol-Teilchen

[0142] Albuterol-Teilchen mit einer verhältnismäßig geringen Menge an Arzneimittel, bezogen auf das Gewicht, wurden auch hergestellt. In diesem Beispiel wurden Teilchen gemäß dem Verfahren des Beispiels 6, jedoch mit der Ausnahme hergestellt, dass 4% Albuterol, bezogen auf das Gewicht des Teilchens, zugegeben wurden. Die Teilchen wurden durch Sprühtrocknen einer Lösung mit einem Gehalt an 4 Gew.-% Albuterol, 33 Gew.-% menschlichem Albumin, 33 Gew.-% Lactose und 33 Gew.-% DPPC gebildet. Das Albuterol, mensch-

liche Albumin und die Lactose wurden in entionisiertem Wasser gelöst, während das DPPC in 95%igem Ethanol gelöst wurde. Die Lösungen wurden unter Bildung einer 85%igen Ethanollösung vereint. Die Pulvergesamtkonzentration war etwa 0,1 Gewicht/Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 110°C; die Auslasstemperatur betrug 60°C, der Zerstäubungsdruck war 3 kp/cm² (42,72 psi); und die Beschickungsrate betrug 40 ml/Min. Die Ausbeute aus diesem Ansatz war 46,8%. Die Klopff-(Massen-)Dichte der erhaltenen Teilchen war 0,15 g/ml und die Teilchengröße, gemessen mit einem Coulter-Zähler war 7,2 µm, was einen annähernden aerodynamischen Durchmesser von 2,08 µm ergibt.

BEISPIEL 11:

Herstellung von Teilchen mit einer anhaltenden Insulinfreisetzung

[0143] Eine anhaltende Insulinfreisetzung aus den Teilchen wurde erreicht, indem man das Insulin unlöslich machte. Insulin wurde in ultrareinem Wasser (0,02% Gewicht/Volumen) gelöst. Sodann wurde Protamin zugesetzt (im Verhältnis Insulin/Protamin 5/1 Gewicht/Gewicht) unter Bildung eines Insulin/Protamin-Komplexes. Die Bildung des Insulin/Protamin-Komplexes bewirkt die Ausfällung des Insulins. Der Komplex wurde durch Erhöhung des pH-Werts auf etwa 5 HCl gelöst, so dass die Lösung sprühgetrocknet werden konnte. Sodann wurde Lactose zur Lösung gegeben. Die wässrige Lösung wurde sodann mit 95%iger Volumen/Volumen-Ethanollösung mit einem Gehalt an DPPC vermischt. Die Endkonzentration eines jeden Exzipienten in der 85%igen Volumen/Volumen-Lösung war Insulin/Protamin/Lactose/DPPC = 2/0,4/3,6/60% Gewicht/Volumen. Die Lösung wurde unter folgenden Bedingungen sprühgetrocknet: Die Einlasstemperatur war 110°C; die Auslasstemperatur betrug 60°C; der Zerstäubungsdruck war 3 kp/cm² (42,72 psi); und die Beschickungsrate war 40 ml/Min. die Fähigkeit der Teilchen, eine anhaltende Freigabe in vitro bereitzustellen, wurde bewertet. In der Phosphatpuffer-Kochsalzlösung bei einem pH-Wert von 7,4 suspendierte Teilchen setzten weniger als 10% des eingearbeiteten Insulins nach 5 Stunden frei.

BEISPIEL 12:

Herstellung von Insulin:Protamin:Zink-Komplexen

[0144] Es wurden Teilchen mit einem Gehalt an einem Komplex von Insulin/Protamin/Zink gemäß dem Verfahren des Beispiels 11 hergestellt. Die Konzentration eines jeden Exzipienten in der Ethanol/Wasser-Lösung (85 : 15% Volumen/Volumen) war Insulin/Protamin/Zinkchlorid/Lactose/DPPC = 2 : 0,6 : 0,25 : 32,4 : 60-(% Gewicht/Volumen). Die Lösung wurde unter den gleichen Bedingungen wie unter Beispiel 11 sprühgetrocknet. Es wurde auch nachgewiesen, dass die Formulierung eine anhaltende Freisetzung von Insulin in vitro liefert.

[0145] Die Teilchen (8 mg) wurden in die Lungen von Ratten unter Anwendung der in Edwards, u. a. (Science 276, (1997)) beschriebenen Verfahren inhaliert. Zu Vergleichszwecken wurden die Teilchen auch subkutan injiziert, und Teilchen mit einer nicht-anhaltenden Insulinwirkung mit identischem Insulingehalt (ohne Protamin oder Zink) wurden subkutan injiziert und inhaliert. **Fig. 5** zeigt die Plasmakonzentration pro Zeiteinheit für über die verschiedenen Verabreichungsarten verabreichtes Insulin. Die inhalierten Protamin/Zink-Teilchen führten zu einer anhaltenden hohen Insulinserumkonzentration für mindestens 24 Stunden, im Gegensatz zu Teilchen ohne Protamin oder Zink, welche Insulin in weniger als etwa 5 Stunden freisetzen.

[0146] Andere Therapeutika als Insulin können auf die gleiche Weise in einen Komplex übergeführt und in die Teilchen eingearbeitet werden. Proteine mit einem isoelektrischen Punkt (pI), der niedriger als der physiologische pH-Wert von 7,4 als Insulin (pI = 5,3) ist, können auf die gleiche Weise unter Verwendung von Protamin ausgefällt werden (beispielsweise Wachstumshormon, pI = 4,9). Proteine mit einem pI-Wert von mehr als dem pH-Wert von 7,4 (wie z. B. LHRH, Calcitonin) können unter Verwendung einer negativ geladenen Verbindung (wie z. B. Dextransulfat) oder durch Zugabe eines geeigneten Salzes ausgefällt werden. Dieser Weg kann auf Arzneimittel (wie z. B. Heparin) ausgedehnt werden, die sich von therapeutischen Proteinen unterscheiden.

BEISPIEL 13:

Herstellung von Teilchen mit anhaltender Albuterol-Freisetzung

[0147] Zur Bewertung der anhaltenden Freisetzung eines hydrophilen Moleküls aus Teilchen wurden Albuterolteilchen hergestellt. Die Albuterol enthaltenden Teilchen wurden wie im Beispiel beschrieben, hergestellt, wobei der Prozentsatz an Lacton und Albumin (unter Aufrechterhaltung des gleichen Verhältnisses) verringert, und Cholesterin (in verschiedenen Prozentsätzen: 6, 8, 10, 25%) und Albuterol (4%) zugegeben wurde. Die Zugabe von Cholesterin führt zu einer zunehmend langsameren Freisetzung von Albuterol, wie in **Fig. 6** gezeigt. Die Albuterolkonzentration wurde unter Verwendung eines UV-Spektrophotometers gemessen. Die in

Fig. 6 gezeigten Daten belegen, dass Cholesterin in die Teilchen eingearbeitet werden können, um eine anhaltende Albuterolfreisetzung bereitzustellen. Ähnliche Ergebnisse können durch Erhöhung der DPPC-Konzentration über 60% hinaus erreicht werden.

BEISPIEL 14:

Freisetzungseigenschaften von Albumin:DPPC:Lactose:Albuterol-Teilchen

[0148] Wie im Beispiel 7 beschrieben wurden, (Teilchen mittlerer Durchmesser 10 μm , Klopfdichte: 0,06 g/cm^3) mit 60% DPPC, 18% Albumin, 18% Lactose und 4% Albuterol hergestellt, um zu belegen, dass eine anhaltende Freisetzung eines hydrophilen Moleküls wie Albuterol auch ohne Cholesterin erreicht werden kann. Die Freisetzung von Albuterol in vitro ist in **Fig. 7** sowohl für diese Formulierung als auch für eine Formulierung mit keiner anhaltenden Freisetzung gezeigt, die lediglich Lactose (96%) und Albuterol (4%) umfasste. Auch ohne Cholesterin hielt die Freisetzung des Albuterols nahezu 24 Stunden an.

[0149] Teilchen (5 mg, d. h., eine Albuteroldosis von 200 μg) wurden unter Verwendung der im Beispiel 12 beschriebenen Verfahren an Meerschweinchen verabreicht, um zu belegen, dass Teilchen mit einer anhaltenden Freisetzung von Albuterol zu einer anhaltenden Bronchodilatation tendieren, wurde vor dem Messen des Luftwegwiderstands Karbachol verabreicht. Der Luftwegwiderstand wurde unter Verwendung eines Buxco-Systems überwacht. Der Luftwegwiderstand fiel nach Inhalation der großen porösen Teilchen scharf ab (**Fig. 7** und 8) und blieb für etwa einen Tag bei einem statistisch niederen Niveau ($n = y$).

[0150] „Placebo“-Teilchen (60% DPPC, 20% Albumin, 20% Lactose), hergestellt wie im Beispiel 11 beschrieben, wurden auch verabreicht. Der Luftwegwiderstand wurde nach Herausforderung durch Karbachol 8 Stunden nach Inhalation und 15 Stunden nach Inhalation gemessen. Der Luftwegwiderstand war $1,0 \pm 0,3$ und $1,0 \pm 0,2$ $\text{cm H}_2\text{O/ml/Sek.}$, was beweist, dass die in **Fig. 8** beobachtete Bronchodilatation infolge langsamer Albuterol-Freisetzung eintrat.

[0151] Eine langsame Freisetzung von Albuterol wurde auch in vitro unter Verwendung von Teilchen erreicht, welche nach den Verfahren des Beispiels 7 mit 10% DPPC, 86% Albumin und 4% Albuterol hergestellt waren. Jedoch zeigen mit 10% DPPC, 43% Albumin, 43% Lactose und 4% Albuterol hergestellte Teilchen keine signifikant langsamere Albuterol-Freisetzung in vitro, was zeigt, dass für einen verhältnismäßig niederen DPPC-Gehalt für eine anhaltende Albuterol-Freisetzung ein hoher Albumingehalt günstig ist.

[0152] Diese Versuche belegen, dass durch Auswahl der Zusammensetzung des sprühgetrockneten Materials und durch Veränderung der Parameter beim Sprühtrocknen die aerodynamischen Eigenschaften der inhalierten Teilchen wirksam gesteuert werden können. Insbesondere beeinflusst die Zusammensetzung des sprühgetrockneten Materials speziell die Dichte und Form der Teilchen, während die Parameter des Sprühtrocknens eine stärkere Beeinflussung auf ihre Größe haben. Beispielsweise macht eine Erhöhung des Anteils an Lactose in den Teilchen diese schwerer, während eine Erhöhung des Gehalts an Albumin oder Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) diese leichter macht. Eine Erhöhung des DPPC-Gehalts erhöht auch die Teilchengröße. Dessen ungeachtet bleiben die Eigenschaften der Teilchen verhältnismäßig unbeeinflusst, wenn ein verhältnismäßig geringer Arzneimittelanteil in die Teilchen eingearbeitet wird. Eine Senkung der Einlasstemperatur erhöht stark die Teilchengröße, ohne ihre Klopfdichte stark zu beeinflussen. Eine Erhöhung der Beschickungsrate und Senkung des Drucks der Druckluft neigen dazu, die Teilchengröße zu erhöhen, ohne ihre Dichte zu beeinflussen. Jedoch sind diese Wirkungen geringer als diejenigen der Temperatur.

BEISPIEL 15:

Aggregierte Teilchen, umfassend Albuterol

[0153] Große poröse oder aerodynamisch leichte Albuterolteilchen wurden durch Sprühtrocknen eines Colösumsmittel-Gemischs von Ethanol und Wasser mit einem Gehalt einer Konzentration von 0,1% eines gelösten Stoffes. Die trockenen Teilchen oder Pulver wurden unter Verwendung eines tragbaren Niro-Sprühtrockners (NIRO, Columbia, ND, USA) und enthielten 4 Gew.-% Albuterolsulfat, 18 Gew.-% menschliches Serumalbumin, 18 Gew.-% Lactose und 60 Gew.-% Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC). Die Klopfdichte wurde unter Verwendung einer Mikroprozessor gesteuerten Schmelzvorrichtung für die Klopfdichte „Dual Platform Microprocessor Controlled Tap Density Tester (Vankel, NC“, was ein USP-Verfahren zur Messung der Klopfdichte ist. Die Klopfdichte des Pulvers war 0,5 g/cm^3 . Die geometrische Größenverteilung wurde unter Verwendung von einem Coulter Multisizer IIe gemessen. Der mittlere geometrische Durchmesser war 10 Mikrometer. Der theoretische mittlere aerodynamische Durchmesser entsprach der gemessenen Klopfdichte, und die gemessene geometrische Größe war 2,2 Mikrometer, was weniger als oder gleich 3 Mikrometer und ideal für Inhalation zu den peripheren Luftwegen oder Alveolen war. Der mittlere aerodynamische Durchmesser des Trockenpulvers wurde experimentell mit den Vorrichtungen Aerosizer und Aerodispenser (API, Amherst) zur Bestim-

mung der Flugzeit als eine Funktion der Erhöhung der Scherrate gemessen, um den minimalen mittleren aerodynamischen Durchmesser des Pulvers (in seinem voll deaggregierten Zustand) zu identifizieren: Der mittlere aerodynamische Durchmesser veränderte sich im Bereich von 1–5 psi nicht, was zeigt, dass das Pulver in seinem voll deaggregierten Zustand vorlag. Wie in **Fig. 9** veranschaulicht, wurde gefunden, dass der aerodynamische Durchmesser 2,9 Mikrometer war. Parameter, die sich auf die in **Fig. 9** gezeigten Daten beziehen, sind in den Tabellen 6 und 7 zusammengefasst.

Tabelle 6

PARAMETER	STEUERUNG DER DISPERGIERVORRICHTUNG	% UNTER	GR.*	% UNTER	GR*
Material: aerodynamisch	Typ d. Dispergiervorrichtung: Aerodisperser	5%	1,350	55%	3,005
Dichte: 1,00	Scherkraft: 1,0 0,1 psi	10%	1,662	60%	3,129
Lauflänge (Sek.): 57,0	Beschickungsrate: 5000, 1000	15%	1,884	65%	3,253
PMT-Spannung 1100,0		20%	2,070	70%	3,388
Laserstrom (mA): 39,2	Deagglomeration: normal				
Grundfrequenz (MHz): 40,0	Stiftvibration: ein	25%	2,232	75%	3,527
Summe d. Kanäle: 187670		30%	2,377	80%	3,686
Untergrenze der Größe: 0,50		35%	2,511	85%	3,894
Obergrenze der Größe: 998,00		40%	2,637	90%	4,154
Düsentyp: 700 Mikron		45%	2,763	95%	4,493
Grundlinien-Offset: 0,10		50%	2,888		
Geräuschfilter: 6,00	Abtastungen 25 und 26 kombiniert Zwischen 2,6 und 2,6 Mikron				
Mittlere Größe: 2,718	D (4,3) : 2,895	Modus (lineare Skala: 3,00			
Standardabweichung: 1,457	D(3,2): 2,507	Spez. Oberfläche. 2,39 m ² /g			

Anmerk: GR*. Größe

Tabelle 7

Obere Größe unter	%in	Untere Größe	%unter	Obere Größe	% in	Untere Größe	%unter	Obere Größe	% in	Untere Größe	%
				501	0,0000	431	100,00	50,1	0,0000	43,1	92,551
				431	0,0000	371	100,00	43,1	0,0000	37,1	80,604
				371	0,0000	316	100,00	37,1	0,0000	31,6	61,132
				316	0,0000	271	100,00	31,6	0,0000	27,1	42,831
				271	0,0000	231	100,00	27,1	0,0000	23,1	27,478
				231	0,0000	200	100,00	23,1	0,0000	20,0	18,157
				200	0,0000	70	100,00	20,0	0,0000	17,0	10,838
				170	0,0000	145	100,00	17,0	0,0000	14,5	6,3776
				145	0,0000	125	100,00	14,5	0,0000	12,5	3,9441
				125	0,0000	110	100,00	12,5	0,0000	11,0	2,6716
				110	0,0000	90,2	100,00	11,0	0,0000	9,02	1,4768
				90,2	0,0000	80,2	100,00	9,02	0,0000	8,02	0,9945
				80,2	0,0000	70,2	100,00	8,02	0,0000	7,02	0,5781
702	0,0000	601	100,00	70,2	0,0000	60,1	100,00	7,02	0,0000	6,01	0,2332
601	0,0000	501	100,00	60,1	0,0000	50,1	100,00	6,01	0,0000	5,01	0,0000

[0154] Das Pulver wurde sodann in eine Harzchelatine kapsel # 2 gefüllt und in einen Inhalator für trockenes Pulver (DPI) eingebracht, wie im U.S.-Patent 4.069.819, erteilt am 5. August 1978 an Valentini u. a., beschrieben. Das Pulver wurde in den Aerosizer bei einer Strömungsrate von 30 Liter/Minuten, welche für eine normale

Atmung charakteristisch ist, eingeatmet. In **Fig. 9** ist auch die aerodynamische Größenverteilung nach dem Austritt des Pulvers aus dem DPI gezeigt. Der mittlere aerodynamische Durchmesser des Pulvers, das den Inhalator verließ, war 3,8 Mikrometer, was größer als 2,7 Mikrometer infolge der Pulveraggregation im Inhalator ist. Der größere mittlere aerodynamische Durchmesser nach der Zuführung aus dem DPI kann benutzt werden, und kann für Arzneimittel mit Vorteil genutzt werden, deren Zielstelle der Wirkung in den zentralen oder oberen Atemwegen ist. Albuterol ist ein derartiges Arzneimittel. Durch Einstellung der Teilchenchemie und der Parameter des Inhalators können Werte des mittleren aerodynamischen Durchmessers im Bereich von 3–5 Mikrometer oder 3–10 Mikrometern erhalten werden, auch wenn der mittlere aerodynamische Durchmesser des ursprünglichen Pulvers weniger als 3 Mikrometer betrug.

BEISPIEL 16:

Aggregierte Teilchen mit einem Gehalt an Estradiol

[0155] Es wurden große poröse oder aerodynamisch leichte Estradiolteilchen durch Sprühtrocknen eines Colösungsmittelgemischs von Ethanol und Wasser mit einem Gehalt an einer Konzentration von 0,3% des aufgelösten Stoffes durch Sprühtrocknen hergestellt. Die Teilchen oder Pulver wurden unter Verwendung eines tragbaren NIRO-Sprühtrockners (NIRO; Columbia, MD, USA) sprühgetrocknet und enthielten 90 Gew.-% Estradiol und 10 Gew.-% DPPC. Die Klopfdichte wurde unter Verwendung einer Mikroprozessor gesteuerten Klopfdichte-Testvorrichtung „Dual Platform Microprocessor Controlled Tap Density Tester“ (Vankel, NC, USA) gemessen, welche ein USP-Verfahren für die Klopfdichte ist. Die Klopfdichte des Pulvers war 0,08 g/cm³. Die geometrische Größenverteilung wurde unter Verwendung eines Coulter Multisizer gemessen. Der mittlere geometrische Durchmesser war 10 Mikrometer. Der theoretische mittlere aerodynamische Durchmesser, der den Werten für die Klopfdichte und der geometrischen Größe entsprach, war 2,8 Mikrometer, was weniger als oder gleich 3 Mikrometer und ideal für die Inhalierung zu den peripheren Atemwegen oder Alveolen war. Der mittlere aerodynamische Durchmesser des trockenen Pulvers wurde durch den im Beispiel 15 verwendeten Aerosizer als Funktion der Erhöhung der Scherrate gemessen, um den minimalen mittleren aerodynamischen Durchmesser des Pulvers (d. h. in seinem voll deaggregierten Zustand) zu identifizieren. Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in **Fig. 10** zusammengefasst. Parameter, die sich auf die in **Fig. 10** gezeigten Daten beziehen, sind in den Tabellen 8 und 9 angeführt. Bei allen Scherraten war der mittlere aerodynamische Durchmesser nahezu 3 Mikrometer. Das Pulver wurde sodann in eine Hartgelatine kapsel #2 gefüllt und in den DPI, wie im Beispiel 15 beschrieben, eingebracht. Das Pulver wurde in den Aerosizer bei Strömungsraten von 10, 15 und 30 Liter/Min. eingesogen, die für ein langsames bis normales Atmen charakteristisch sind. **Fig. 11** fasst die aerodynamische Größenverteilung nach dem Austritt des Pulvers aus dem DPI zusammen. Die sich auf die in **Fig. 11** gezeigten Daten beziehenden Parameter sind in Tabellen 10 und 11 angegeben. Der mittlere aerodynamische Durchmesser lag in Nähe von 5 Mikrometern bei der langsamsten Strömungsrate und in Nähe zum deaggregierten Pulver mit einem mittleren aerodynamischen Durchmesser von 3 Mikrometer bei oder oberhalb einer Strömungsrate von 15 Liter/Minute. Dies belegte, dass die Ablagerung in der tiefen Lunge mit den großen porösen Estradiolteilchen erreicht werden kann, wenn sie in die Lungen aus dem Inhalator bei einer Strömungsrate von 30 Liter/Minute oder mehr eingeatmet werden; wenn eine zentralere Ablagerung gewünscht wird, kann die Inhalation der Teilchen aus dem Inhalator alternativ bei einer Strömungsrate von etwa 10 Liter/Minute erfolgen, was zu einer Aggregation führt, die zum Erreichen dieses Ablagerungsmusters ausreicht.

[0156] Große poröse Pulver mit einem mittleren aerodynamischen Durchmesser im Bereich von 1 bis 3 Mikrometer können deshalb in die Lungen entweder mit einem mittleren aerodynamischen Durchmesser in diesem Bereich oder mit einem mittleren aerodynamischen Durchmesser, der größer als dieser Bereich ist, je nach den Bedürfnissen der Therapie auf dem Weg der Verwendung der Pulver in einer Inhalationsvorrichtung und der zweckmäßigen Ausgestaltung der Pulver und Bauart der Vorrichtung inhaliert werden.

Tabelle 8

PARAMETER	STEUERUNG DER DISPERGIERSVORRICHTUNG	% UNTER	GR*	% UNTER	GR*
Material: aerodynamisch	Typ d. Dispergiervorrichtung: Aerodisperser	5%	1,468	55%	3,524
Dichte: 1,00	Scherkraft: 1,0 0,1 psi	10%	1,849	60%	3,725
Lauflänge (Sek.): 111,5	Beschickungsrate: 5.000, 1.000	15%	2,088	65%	3,925
PMT-Spannung (Volt): 1.100,0		20%	2,284	70%	4,133
Laserstrom (mA): 39,7	Deagglomeration: normal	25%	2,461	75%	4,361
Grundfrequenz (MHz): 40,0	Stiftvibrierung: ein	30%	2,634	80%	4,616
Summe d. Kanäle: 525388		35%	2,806	85%	4,943
Untere Größengrenze: 0,50		40%	2,978	90%	5,415
Obere Größengrenze: 998,00		45%	3,153	95%	6,108
Düsentyp: 700 Mikron		50%	3,336		
Grundlinien-Offset: 0,10					
Geräuschfilter: 6,00	Abtastungen 293 und 294 kombiniert zwischen 2,5 und 2,5 Mikron				
Mittlere Größe: 3,204	D(4,3): 3,494	Modus (lineare Skala): 2,91			
Standardabweichung: 1,544	D(3,2): 2,890	Spezif. Oberfläche: 2,08 m²/g			

Anmerk.: GR* = Größe

Tabelle 9

Obere Größe unter	%in	Untere Größe	%unter	Obere Größe	% in	Untere Größe	% unter	Obere Größe	% in	Untere Größe	%unter	Obere Größe	% in	Untere Größe	%
				501	0,0000	431	100,00	50,1	0,0000	43,1	100,00	5,01	11,914	4,31	73,943
				431	0,0000	371	100,00	43,1	0,0000	37,1	100,00	4,31	14,342	3,71	59,601
				371	0,0000	316	100,00	37,1	0,0000	31,6	100,00	3,71	14,464	3,16	45,137
				316	0,0000	271	100,00	31,6	0,0000	27,1	100,00	3,16	13,031	2,71	32,106
				271	0,0000	231	100,00	27,1	0,0000	23,1	100,00	2,71	11,514	2,31	20,592
				231	0,0000	200	100,00	23,1	0,0000	20,0	100,00	2,31	7,4742	2,00	13,118
				200	0,0000	170	100,00	20,0	0,0000	17,0	100,00	2,00	5,4116	1,70	7,7061
				170	0,0000	145	100,00	17,0	0,0000	14,5	100,00	1,70	2,8440	1,45	4,8621
				145	0,0000	125	100,00	14,5	0,0000	12,5	100,00	1,45	1,6988	1,25	3,1633
				125	0,0000	110	100,00	12,5	0,0000	11,0	100,00	1,25	1,0633	1,10	2,1000
				110	0,0000	90,2	100,00	11,0	0,0000	9,02	100,00	1,10	1,1471	0,90	0,9528
				90,2	0,0000	80,2	100,00	9,02	0,1435	8,02	99,857	0,90	0,4143	0,80	0,5385
				80,2	0,0000	70,2	100,00	8,02	1,0966	7,02	98,760	0,80	0,2865	0,70	0,2520
702	0,0000	601	100,00	70,2	0,0000	60,1	100,00	7,02	4,2793	6,01	94,481	0,70	0,1715	0,60	0,0805
601	0,0000	501	100,00	60,1	0,0000	50,1	100,00	6,01	8,6233	5,01	85,857	0,60	0,0850	0,50	0,0000

Tabelle 10

PARAMETER GRÖSSE	STEUERUNG DER DISPERGIERVORRICHTUNG	% UNTER	GR*	% UNTER	GR*
Material: aerodynamisch	Typ d. Dispergiervorrichtung: AeroBreather	5%	2,393	55%	5,965
Dichte: 1,00	Atmung (Liter/Min.): 10,0	10%	2,868	60%	6,329
Lauflänge (Sek.): 64,9	Atmungsvolumen (Liter): 1,0	15%	3,277	65%	6,714
PMT-Spannung (Volt): 1.1000,0	Beschleunigung: 1,0	20%	3,636	70%	7,138
Laserstrom (mA): 39,2		25%	3,960	75%	7,638
Grundfrequenz (MHz): 40,0		30%	4,274	80%	8,214
Summe d. Kanäle: 921984		35%	4,586	85%	8,838
Untere Größengrenze: 0,50		40%	4,914	90%	9,610
Obere Größengrenze: 998,00		45%	5,255	95%	10,36
Düsentyp: 700 Mikron		50%	5,609		
Grundlinien-Offset: 0,10					
Geräuschfilter: 6,00	Abtastungen 301 und 302 kombiniert zwischen 11,1 und 11,3 Mikron				
Mittlere Größe: 5,374	D(4,3): 5,901	Modus (lineare Skala): 4,47			
Standardabweichung: 1,567	D(3,2): 4,829	Spezif. Oberfläche: 1,24 m ² /g			

Obere Größe unter	%in	Untere Größe	%unter	Obere Größe	% in	Untere Größe	%unter	Obere Größe	% in	Untere Größe	%
				501	0,0000	431	100,00	50,1	0,0000	43,1	30,592
				431	0,0000	371	100,00	43,1	0,0000	37,1	21,093
				371	0,0000	316	100,00	37,1	0,0000	31,6	13,454
				316	0,0000	271	100,00	31,6	0,0000	27,1	8,2122
				271	0,0000	231	100,00	27,1	0,0000	23,1	4,1888
				231	0,0000	200	100,00	23,1	0,0000	20,0	1,8807
				200	0,0000	170	100,00	20,0	0,0000	17,0	0,6713
				170	0,0000	145	100,00	17,0	0,0000	14,5	0,2888
				145	0,0000	125	100,00	14,5	0,0000	12,5	0,1372
				125	0,0000	110	100,00	12,5	1,2321	11,0	0,0699
				110	0,0000	90,2	100,00	11,0	12,590	9,02	0,0213
				90,2	0,0000	80,2	100,00	9,02	7,7222	8,02	0,0099
				80,2	0,0000	70,2	100,00	8,02	9,8438	7,02	0,0038
702	0,0000	601	100,00	70,2	0,0000	60,1	100,00	7,02	12,923	6,01	0,0011
601	0,0000	501	100,00	60,1	0,0000	50,1	100,00	6,01	14,242	5,01	0,0000

Patentansprüche

1. Verwendung von Partikeln zur Herstellung eines Medikaments zur Wirkstofffreisetzung in das Lungen-

system umfassend:

Partikel, die in einer wirksamen Menge in die Atemwege eines eine Behandlung, Prophylaxe oder Diagnose benötigenden Patienten verabreicht werden, worin die Partikel ein therapeutisches, prophylaktisches oder diagnostisches Mittel und einen Stoff umfassen, der ausgewählt ist aus einem oberflächenaktiven Stoff und einem Molekül, das eine Ladung entgegengesetzt zu der Ladung des Mittels besitzt und einen Komplex damit bildet, wobei die genannten Partikel eine Klopfdichte von weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$, einen mittleren Durchmesser zwischen $5 \text{ }\mu\text{m}$ und $30 \text{ }\mu\text{m}$ und einen aerodynamischen Durchmesser zwischen ein und drei μm (Mikron) besitzen,

worin vor oder während der Verabreichung in die Atemwege die Partikel aggregiert sind und aggregierte Partikel bilden und die genannten aggregierten Partikel einen aerodynamischen Durchmesser zwischen 3 und 5 μm (Mikron) haben.

2. Verwendung nach Anspruch 1, worin das Mittel Albuterol und/oder Estradiol beinhaltet.

3. Verwendung nach Anspruch 1, worin der oberflächenaktive Stoff (a) ein Phosphoglycerid beinhaltet, (b) Dipalmitoyl-L-alpha-phosphatidylcholin beinhaltet, und/oder (c) zur Lunge endogen ist.

4. Verwendung nach Anspruch 1, worin das komplexierte Mittel einen Insulin: Protamin: Zink-Komplex beinhaltet.

5. Aggregierte Partikel zur Wirkstofffreisetzung in das Atemsystem, welche einen aerodynamischen Durchmesser zwischen drei und fünf μm (Mikron) besitzen und Partikel beinhalten, die ein therapeutisches, diagnostisches oder prophylaktisches Mittel und entweder (a) einen oberflächenaktiven Stoff oder (b) ein Molekül umfassen, worin das Mittel eine Ladung besitzt und das Molekül eine Ladung entgegengesetzt zu der Ladung des Mittels besitzt und einen Komplex damit bildet, und worin die Partikel eine Klopfdichte von weniger als $0,4 \text{ g/cm}^3$, einen mittleren Durchmesser zwischen $5 \text{ }\mu\text{m}$ und $30 \text{ }\mu\text{m}$ und einen aerodynamischen Durchmesser zwischen ein und drei μm (Mikron) besitzen.

6. Partikel nach Anspruch 5, worin (a) das komplexierte Mittel Insulin : Protamin : Zink beinhaltet, (b) das Mittel Albuterol beinhaltet oder (c) das Mittel Estradiol beinhaltet.

7. Partikel nach Anspruch 5, worin der oberflächenaktive Stoff (a) ein Phosphoglycerid beinhaltet, (b) Dipalmitoyl-L-alpha-phosphatidylcholin beinhaltet, oder (c) einen oberflächenaktiven Stoff beinhaltet, der zur Lunge endogen ist.

8. Partikel nach Anspruch 5, welche den oberflächenaktiven Stoff und das Molekül besitzen.

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

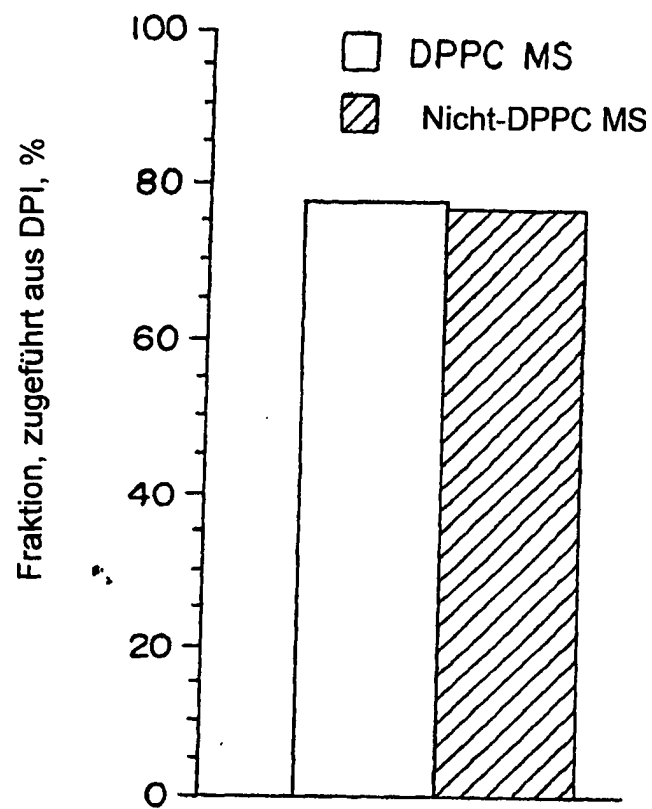
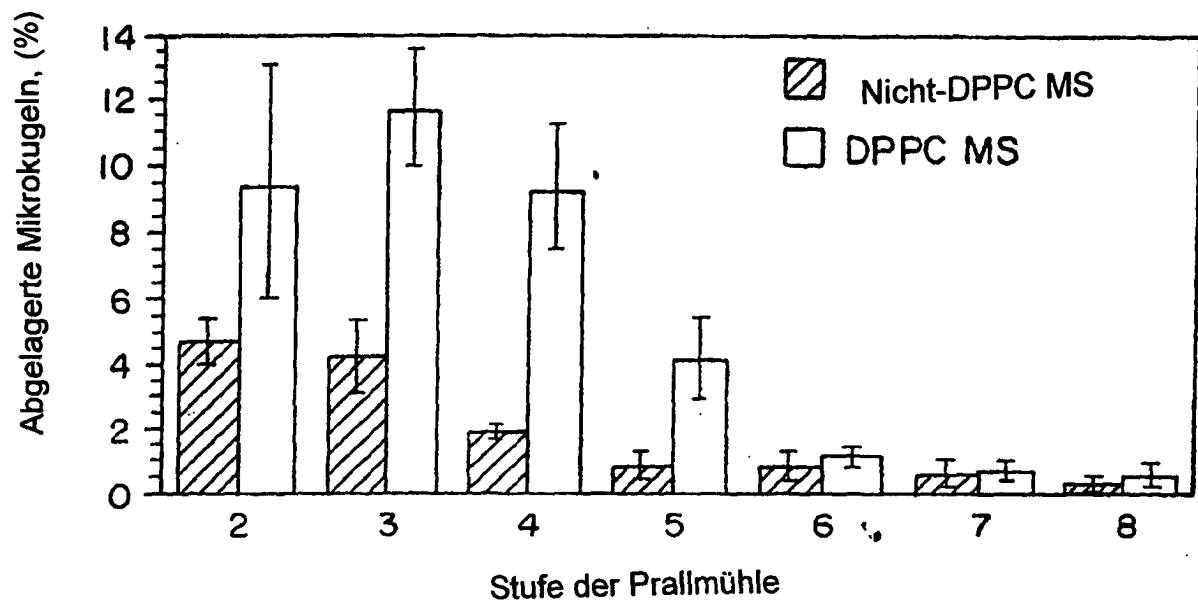


FIG. I

**FIG. 2**

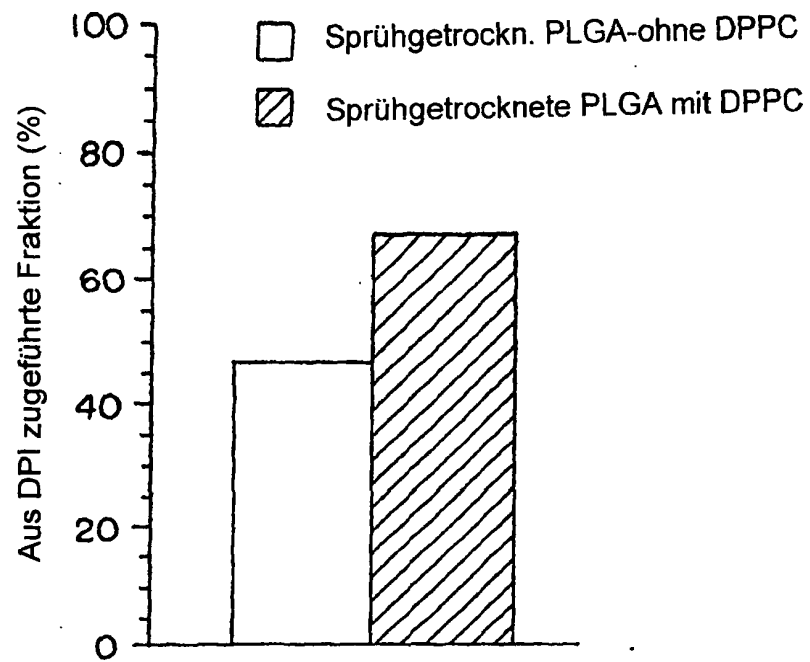


FIG. 3

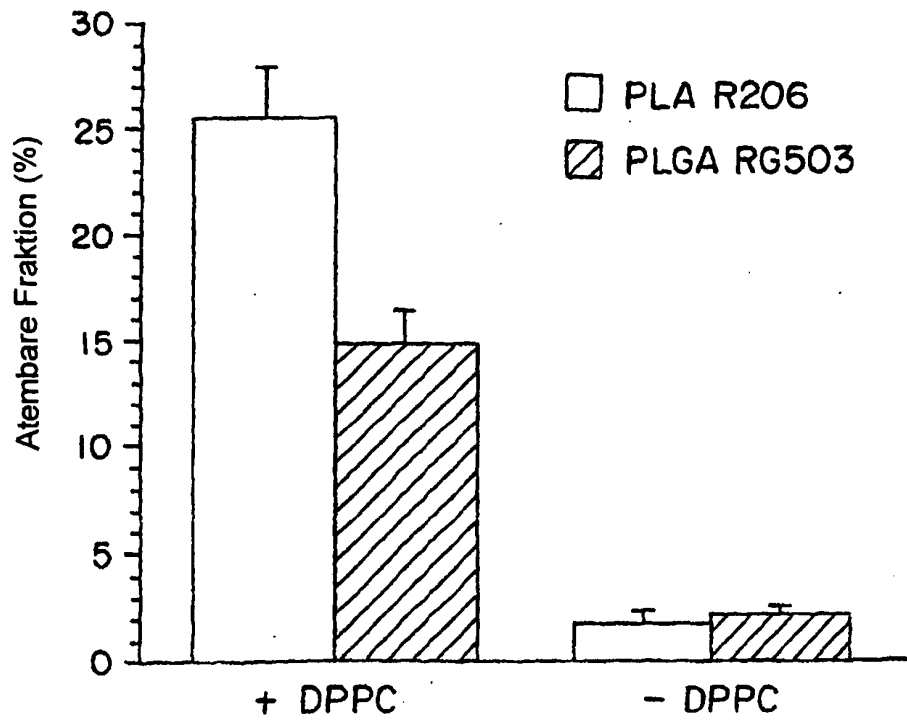


FIG. 4

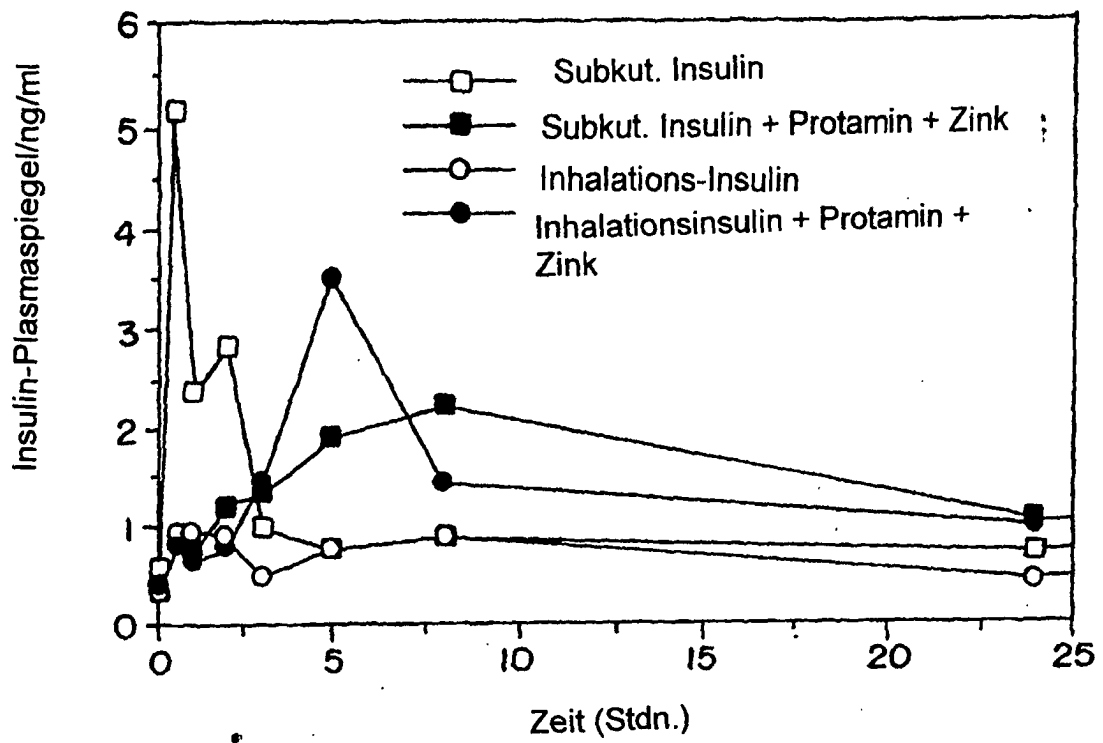


FIG. 5

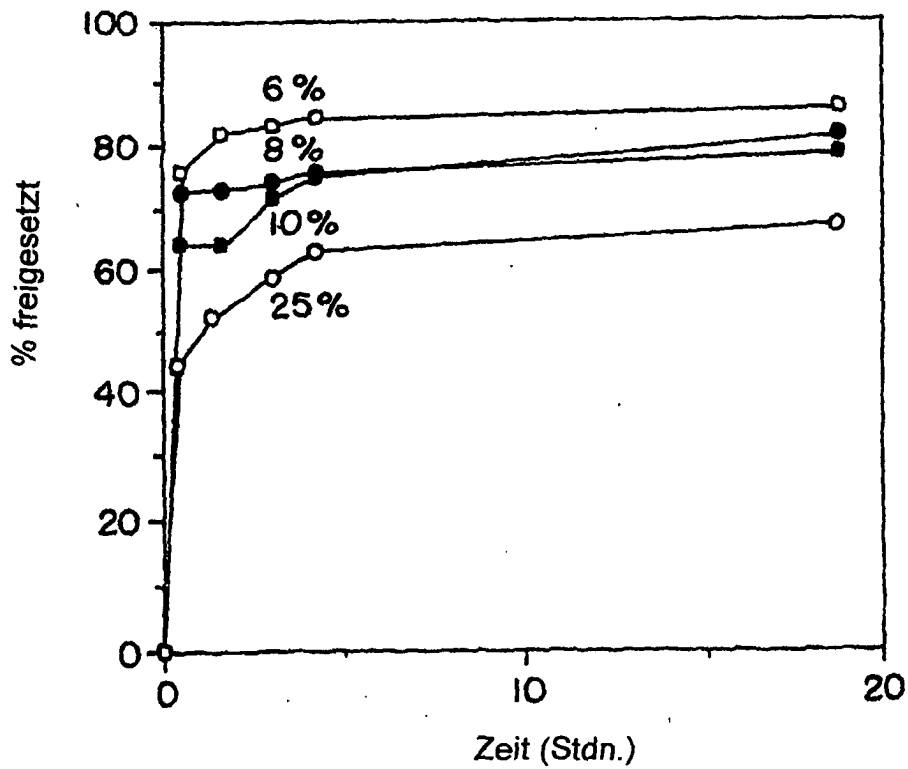


FIG. 6

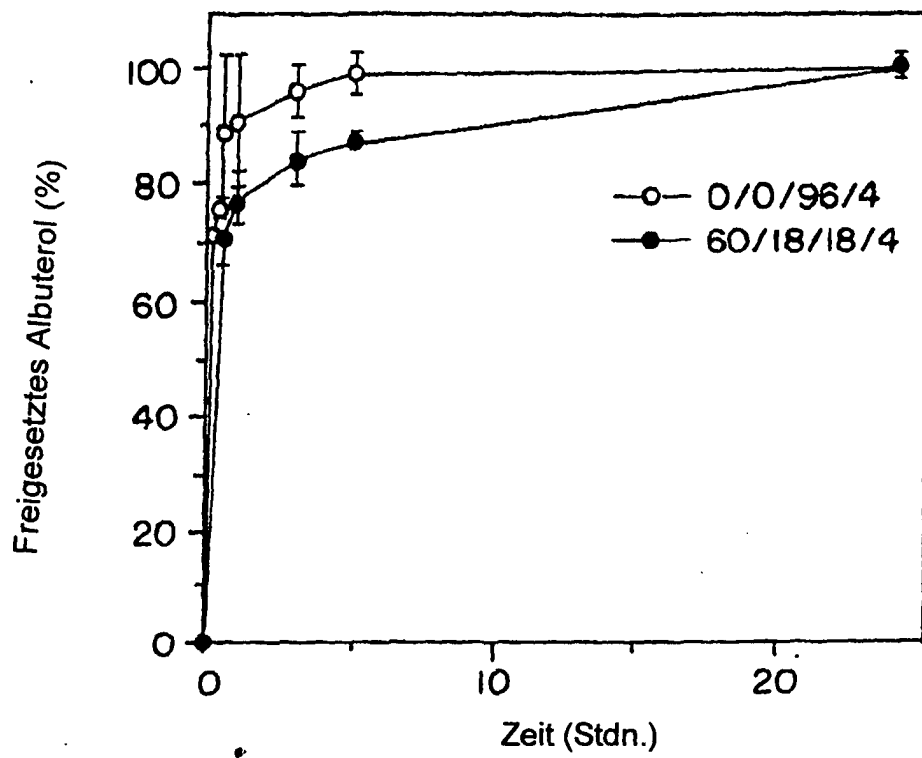


FIG. 7

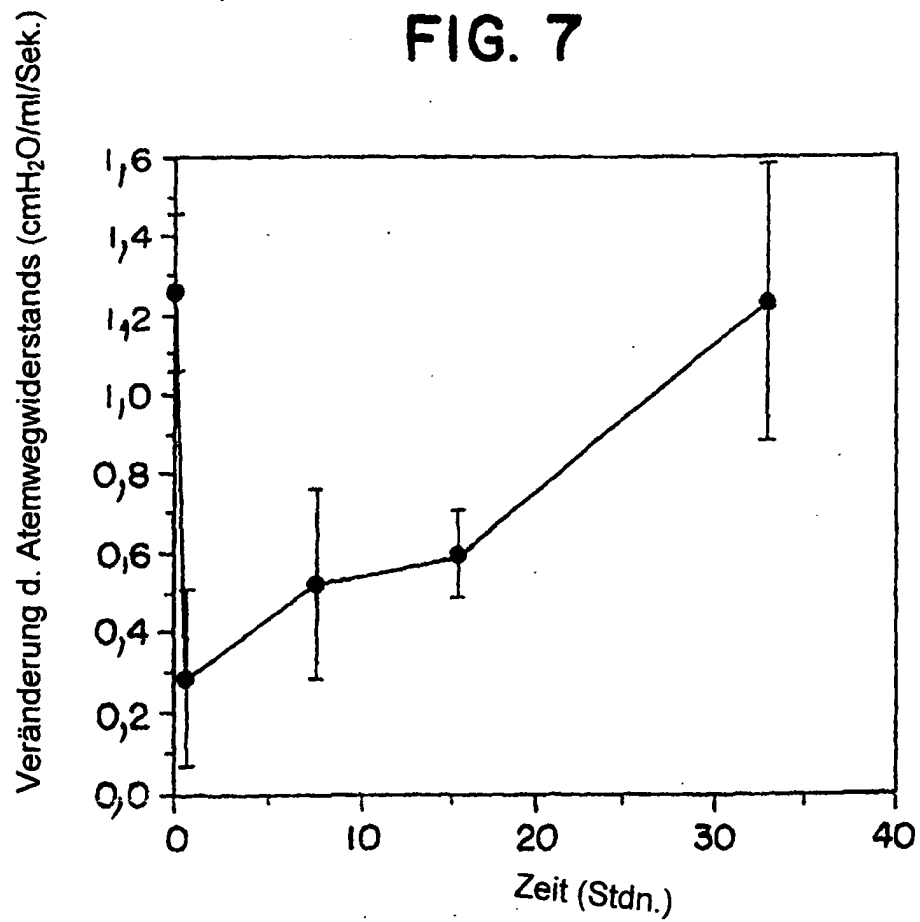


FIG. 8

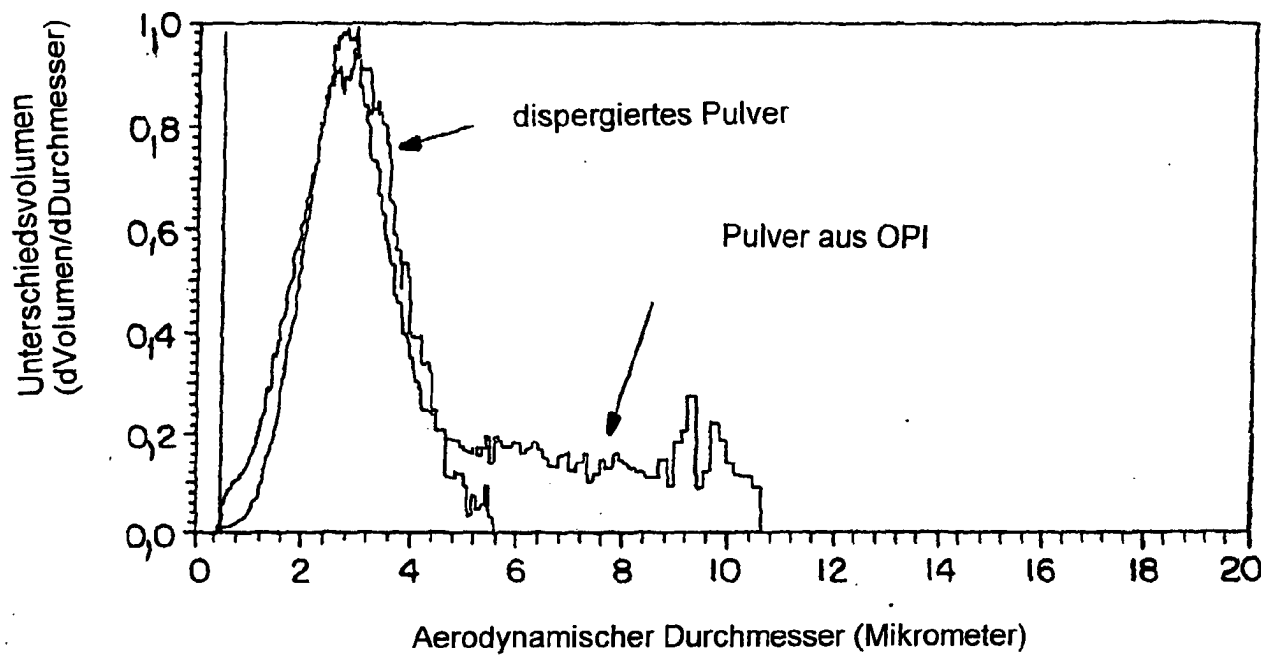


FIG. 9

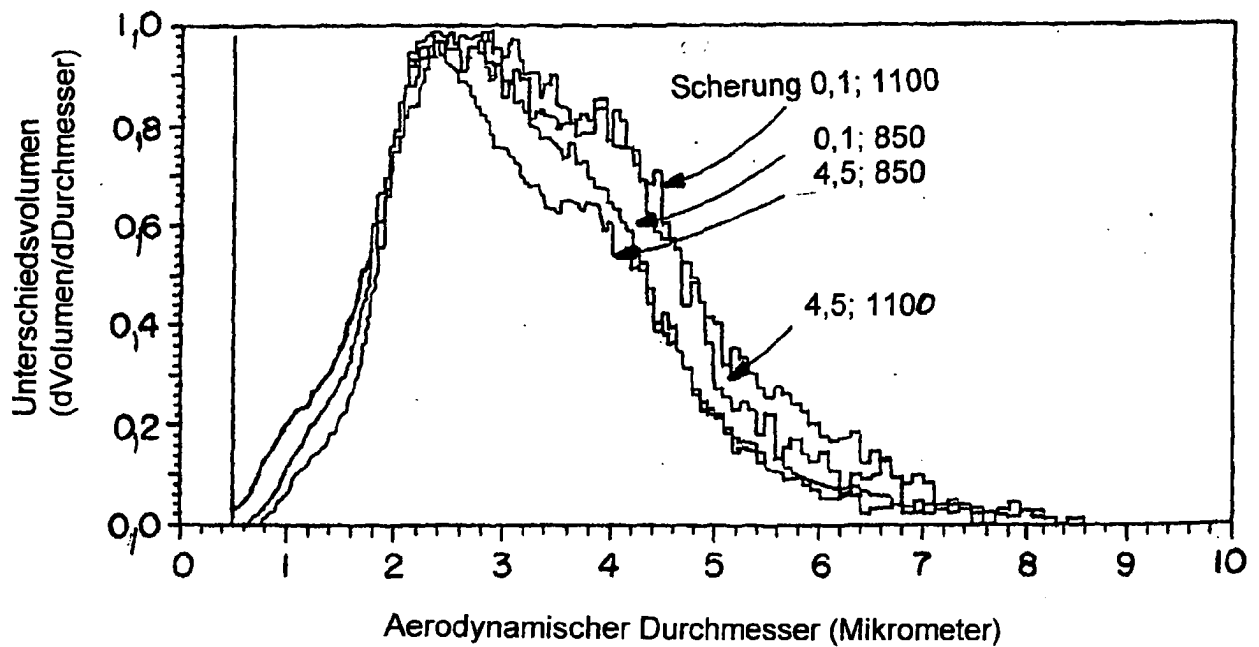


FIG. 10

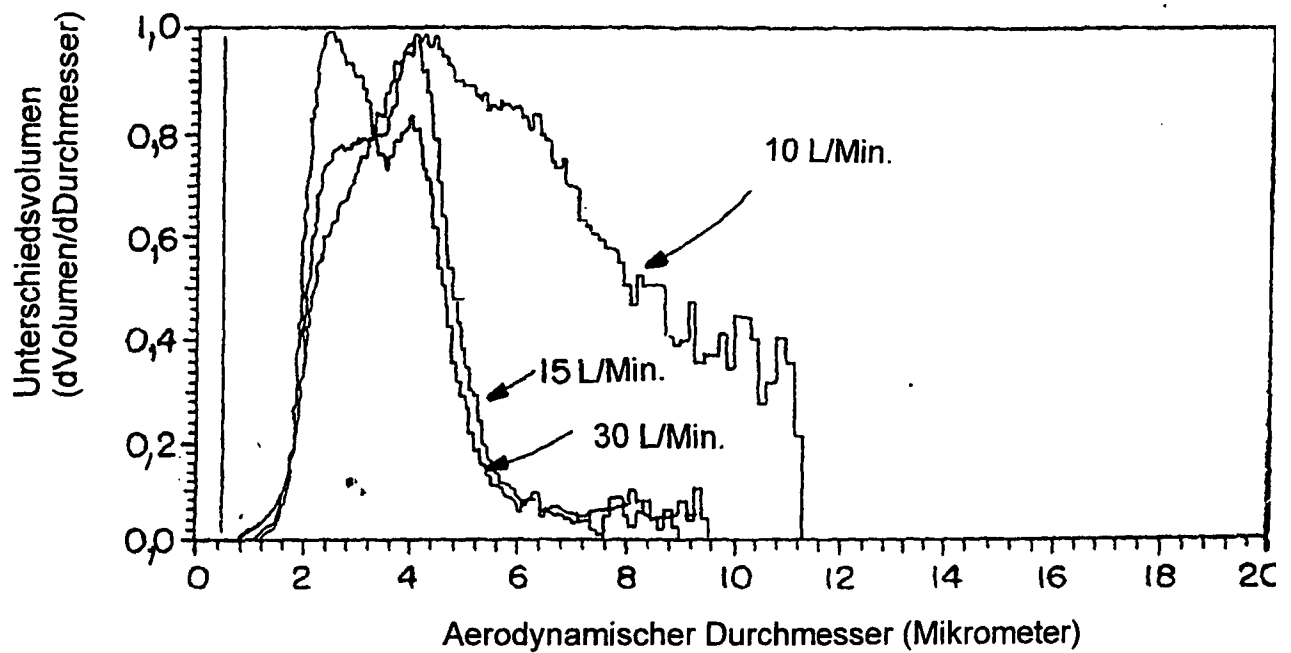


FIG. II