



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년05월12일

(11) 등록번호 10-1735123

(24) 등록일자 2017년05월04일

- |  |   |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <i>A61K 9/127</i> (2006.01) <i>A61K 31/7036</i> (2006.01)<br/> <i>A61K 47/44</i> (2017.01) <i>A61P 11/00</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2011-7008430</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2009년10월13일<br/>         심사청구일자 2014년05월30일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2011년04월13일</p> <p>(65) 공개번호 10-2011-0074981</p> <p>(43) 공개일자 2011년07월05일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2009/060468</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2010/045209<br/>         국제공개일자 2010년04월22일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>         12/250,412 2008년10월13일 미국(US)</p> <p>(56) 선행기술조사문헌<br/>         KR1019960700691 A</p> | <p>(73) 특허권자<br/>         인스메드 인코포레이티드<br/>         미국 뉴저지주 (우편번호 08807-3365) 브릿지워터<br/>         핀더론 애비뉴 10 빌딩 10</p> <p>(72) 발명자<br/>         굽타 레누<br/>         미국 08057 뉴저지주 무어스타운 살렘 크로싱 로<br/>         드 412</p> <p>(74) 대리인<br/>         특허법인코리아나</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 38 항

심사관 : 윤동준

(54) 발명의 명칭 리포솜 아미카신 제형물로의 폐 장애 치료 방법

### (57) 요약

본원에서는, 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 제형물을 1 회 이상의 치료 사이클 동안 투여하는 것을 포함하는 폐 장애의 치료 방법을 개시하는데, 이때: 상기 치료 사이클은 15 내지 75 일의 투여 기간 후 15 내지 75 일의 투여휴지기를 포함하고; 및 상기 유효량은 투여 기간 동안 매일 100 내지 2500 mg 의 아미카신을 포함하는 것인 방법이다.

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

2 회 내지 6 회의 치료 사이클 동안 환자의 *P. 아에루기노사* 폐 감염 치료에 사용하기 위한 리포솜 아미카신 제형물로서,

상기 치료 사이클 각각이 15 내지 75 일의 투여 기간 후 15 내지 75 일의 투여휴지기를 포함하는 것을 특징으로 하며;

상기 리포솜 아미카신 제형물은 리포솜 내에 캡슐화된 아미카신을 포함하고, 리포솜의 지질 성분이 DPPC 및 콜레스테롤을 포함하며, 상기 제형물이 투여 기간 동안 하루에 1 회 250 내지 700 mg 의 아미카신의 유효량으로 분무되고 투여되는, 제형물.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서, 치료 사이클이 2 회인 제형물.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서, 투여 기간이 15 내지 35 일인 제형물.

#### 청구항 4

제 1 항에 있어서, 투여 기간이 20 내지 35 일인 제형물.

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서, 투여 기간이 28 일인 제형물.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서, 투여휴지기가 15 내지 35 일인 제형물.

#### 청구항 7

제 1 항에 있어서, 투여휴지기가 20 내지 35 일인 제형물.

#### 청구항 8

제 1 항에 있어서, 투여휴지기가 28 일인 제형물.

#### 청구항 9

제 1 항에 있어서, 투여휴지기가 25 내지 75 일인 제형물.

#### 청구항 10

제 1 항에 있어서, 투여휴지기가 35 내지 75 일인 제형물.

#### 청구항 11

제 1 항에 있어서, 투여휴지기가 45 내지 75 일인 제형물.

#### 청구항 12

제 1 항에 있어서, 투여휴지기가 56 일인 제형물.

#### 청구항 13

제 1 항에 있어서, 투여 기간이 28 일이고, 투여휴지기가 28 일인 제형물.

**청구항 14**

제 1 항에 있어서, 투여 기간이 28 일이고, 투여휴지기가 56 일인 제형물.

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

제 1 항에 있어서, 유효량이 280 내지 560 mg 의 아미카신인 제형물.

**청구항 18**

제 1 항에 있어서, 유효량이 230 내지 330 mg 인 제형물.

**청구항 19**

제 1 항에 있어서, 유효량이 510 내지 610 mg 인 제형물.

**청구항 20**

삭제

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

제 1 항에 있어서, 환자가 남성섬유증 환자인 제형물.

**청구항 24**

제 1 항에 있어서, 환자가 기관지확장증 환자인 제형물.

**청구항 25**

제 1 항에 있어서, *P. 아에루기노사* 폐 감염이 만성인 제형물.

**청구항 26**

제 25 항에 있어서, 환자가 남성섬유증 환자인 제형물.

**청구항 27**

제 1 항에 있어서, 환자가 투여 기간 동안 10 mcg/mL 미만의 아미카신의 혈청  $C_{max}$  를 갖는 제형물.

**청구항 28**

제 1 항에 있어서, 환자가 가래 1 g 당 1000 mcg 의 아미카신의 가래  $C_{max}$  를 갖는 제형물.

**청구항 29**

제 1 항에 있어서, 아미카신의 가래  $C_{max}$  는 투여 기간 동안 가래 1 g 당 1000 mcg 인 제형물.

**청구항 30**

제 1 항에 있어서, 아미카신의 가래  $C_{max}$  는 투여 후 15 일 동안 가래 1 g 당 1000 mcg 인 제형물.

**청구항 31**

제 1 항에 있어서, 환자가 0.5 의 *P. 아에루기노사* 폐 감염의  $\log_{10}$  CFU 감소를 갖는 제형물.

**청구항 32**

제 31 항에 있어서,  $\log_{10}$  CFU 감소가 1.0 인 제형물.

**청구항 33**

제 1 항에 있어서, 환자가 투여 기간 종결 후 15 일 동안 폐 기능에서 개선을 경험하는 제형물.

**청구항 34**

제 33 항에 있어서, 개선이 FEV<sub>1</sub> 증가, 혈중 산소 포화도 증가 또는 양자 모두를 포함하는 제형물.

**청구항 35**

제 25 항에 있어서, 환자가 기관지확장증 환자인 제형물.

**청구항 36**

제 25 항에 있어서, 치료 사이클이 2 회인 제형물.

**청구항 37**

삭제

**청구항 38**

삭제

**청구항 39**

삭제

**청구항 40**

삭제

**청구항 41**

제 1 항에 있어서, 아미카신에 대한 지질 중량 비율이 0.3 내지 1.0 인 제형물.

**청구항 42**

제 41 항에 있어서, 아미카신에 대한 지질 중량 비율이 0.5 내지 0.7 인 제형물.

**청구항 43**

제 41 항에 있어서, 아미카신에 대한 지질 중량 비율이 0.6 인 제형물.

**청구항 44**

삭제

**청구항 45**

삭제

#### 청구항 46

삭제

#### 청구항 47

제 1 항에 있어서, DPPC 및 콜레스테롤이 제형물 내에 2 내지 1 중량 비율로 존재하는 제형물.

#### 청구항 48

제 47 항에 있어서, 리포솜 아미카신 제형물이 0.3 내지 1.0 의 아미카신에 대한 지질 중량 비율을 갖는 제형물.

#### 청구항 49

제 48 항에 있어서, 아미카신에 대한 지질 중량 비율이 0.5 내지 0.7 인 제형물.

#### 청구항 50

제 48 항에 있어서, 아미카신에 대한 지질 중량 비율이 0.6 인 제형물.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001]

관련 출원

[0002]

본 출원은 2008 년 10 월 13 일에 제출된 미국 출원 제 12/250,412 호의 우선권을 주장하며, 이의 전문은 본원에서 참조로 인용된다.

#### 배경 기술

[0003]

점액점착증으로도 불리우는 낭성섬유증 (cystic fibrosis; CF) 은 외분비선의 보통염색체 열성 유전병이다. 이는 폐, 땀샘 및 소화계에 영향을 미쳐 만성 호흡 및 소화 문제를 일으킨다. 이는 낭성섬유증 막 전위 조절자 (cystic fibrosis transmembrane conductance; CFTR) 단백질 내 돌연변이에 의해 발생된다. 이는 코카시안들 사이에서 가장 흔한 치명적인 보통 염색체 열성 질환이다.

[0004]

CF 의 첫 징후는 때때로 태변성 장폐색증으로, CF 가 발생한 유아의 16% 에서 일어난다. CF 의 다른 증상이 초기 아동기 동안 나타난다. 폐와 췌장 모두가 비정상적으로 점성 점액을 생성한다. 이 점액은 점차 커져 췌장과 폐의 개구를 막기 시작한다. 폐 문제는 걸쭉하고 끈적끈적한 점액의 끊임없는 존재에서 출발하고, CF 의 가장 심각한 합병증 중 하나이다. 폐에서의 점액은 박테리아에게 성장 배지가 될 수 있으며, 만성 호흡 감염을 일으켜 결국 폐 조직의 영구적인 손상을 야기한다. CF 의 말기 단계 동안, 환자는 증가된 가슴 충혈, 활동 내구성, 증가된 수포음, 및 증가된 기침 (종종 폐 동맥의 세기관지 출혈에 기인하여 혈액과 섞인 가래가 함유됨 (객혈)) 을 겪는다. CF 가 있는 환자에게서는, 만성이며 느슨한 소리를 내는 기침이 통상적이다. 이들의 걸쭉한 분비물은 또한 췌장을 막아, 음식을 으깨고 흡수하는 것을 돕도록 소화 효소가 창자에 도착하는 것을 저지한다. 대변에서 눈에 보일 수 있는 지방 오일과 함께, 빈번하고 악취나는 대변은 종종 CF 의 초기 조짐이다. 이것은 소화를 돕는 적절한 치료를 삶 초기에 행해지지 않은 경우에는 성장 및 전반적인 영양을 위태롭게 할 수 있다. 폐 기능이 악화됨에 따라, CF 환자들은 폐동맥 고혈압, 만성 기관지염, 및 세기관지의 만성 확장 (기관지확장증) 이 발병할 수 있다. 폐농양이 매우 통상적이다. 보통, 심각한 감염, 폐렴 또는 심부전으로부터 사망이 발생한다.

[0005]

낭성섬유증은 아이가 질병을 얻도록 양 부모가 열성 유전자를 갖고 있어야 하기 때문에, 오로지 유전적이다. 유전적 수준에서, 낭성섬유증은 대개 DNA 의 세 염기쌍의 프레임 내 결실 결과이다. 낭성섬유증은, 낭성섬유증 막 전위 조절자 (CFTR) 로 불리우는 단백질의 비정상 형태의 생성으로부터 야기된다. CFTR 은 폐와 장관에서 발견되는 상피 세포를 통해 클로라이드 이온을 운송시키는 기능을 한다. CF 환자들은, CFTR 이 적절하게 기능하지 않아, 상피 세포 내부에 이온을 축적시킨다. 물이 삼투압에 의해 이온을 뒤따르기 때문에, 상기 결과 폐포 표면 상 점성 점액 및 수분 결핍이 야기된다. 가장 흔한 CFTR 단백질 비정상은  $\Delta F508$  로 지칭되는 돌연변이로, 이는 아미노산 페닐알라민을 코딩하는 염색체 위치 7q31.1-31.2 에서 DNA 염기쌍 서열의 3-

bp 결실을 특징으로 한다.

- [0006] 폐 감염에 덧붙여, CF 가 있는 대부분의 사람들은 또한 소화 문제점, 특히 지방 소화에서 문제점이 있다. 이는 흡수장애 및 체중 증가 및 유지의 곤란함을 야기하여, 차례로 건강 전반에 영향을 미친다. 이는 췌장에서 소화 효소의 방출을 막는 비정상적으로 끈적끈적한 점액에 기인한다. 췌장부전은 보충 효소로 치료된다. 통상, 감소된 지방 흡수는 수-혼화성 형태의 지용성 비타민인 A, D, E, 및 K 의 결핍을 야기할 수 있기 때문에 이들 비타민을 요구한다.
- [0007] CF 환자는 또한 췌장 막힘 때문에 당뇨병 발생률이 증가한다. 만성적 막힘은 시간이 흐름에 따라 랑게르한스 섬을 분해시켜 인슐린 생산이 저하하여 고혈당증을 야기한다. 또한, CF 가 있는 환자들은 생성된 인슐린에 더 저항적으로 된다는 증거가 존재하는데, 상기는 코르티코스테로이드로의 치료 또는 감염에 의해 유발될 수 있다. CF 환자에서 당뇨병은 통상 CFRD, 낭성섬유증 연관 당뇨병으로 지칭된다. 전형적인 당뇨병 음식 식단은 맞지 않으며, 따라서 이 대신에 인슐린 복용을 조절하여 전형적인 고칼로리/고지방 CF 음식 식단에 맞춘다.
- [0008] 다수의 CF 환자들은, 어느 정도, "곤봉증" 으로 공지되어 있는 손가락 끝의 확장 (widening) 을 겪는다. 상기 상태는 손가락 및 발가락에 영향을 미치며, 그 결과 손·발가락의 끝이 둥글고 확대된다. 이는 또한 COPD 또는 심각한 심장 질환을 앓는 환자에게서도 볼 수 있다. CF 가 있는 환자는 영양분 흡수가 열악한 경향이 있기 때문에, 초기 성인기에 골 저밀도로 인해 골다공증이 발생할 수 있다. CF 가 있는 사람들은 정기적인 이중 에너지 X-선 흡광 분석 (dual energy X-ray absorptiometry; DEXA) 스캔을 받아 골밀도를 측정하고 필요한 경우 치료를 시작해야 하는 것이 중요하다. 일찍 진단받으면, 치료는 훨씬 심각한 합병증을 막는데 도움을 줄 수 있다.
- [0009] 일부 CF 환자는 폐 감염을 퇴치하는데 사용되는 토브라마이신 (Tobramycin) 과 같은 약물의 -마이신/ -미신 (-micin) 그룹을 장기간 복용한 것에 대해서 부작용으로서 난청이 있다. 이 부작용은 익히 공지되어 있으며, 이해되지만, 이들 특정 항생제는 CF 환자 치료에서 매우 가치있고, 종종 난청은 삶과 건강을 지키기 위해 불가피한 반대급부로 여겨야만 한다. CF 는 주로 중앙 및 서 유럽 개체들에서 발생한다. 미국에서는, 사망시 연령 중앙값이 1969 년 8.4 세에서 1998 년 14.3 세로 증가했다. 사망의 평균 연령은 1969 년 14 세에서 2003 년 32.4 세 (낭성섬유증 재단) 로 증가했다. 기대 수명을 상당히 증가시킨 주된 기여자는 CF 대상체에서 만성 호흡 기관 감염의 개선된 항생제 치료 (Goss 및 Rosenfeld 2004) 와 개선된 영양 및 초기 진단이다.
- [0010] CF 대상체의 호흡 건강에 있어서 주요 인자는 만성 슈도모나스 아에루기노사 (*Pseudomonas aeruginosa*) 감염의 습득이다. *P. 아에루기노사*로의 감염률은 연령에 따라, 18 세까지 증가하고, 미국에서 CF 대상체의 80% 가 감염된다. 감염 치료의 곤란함은 점액, CF 가래에 의한 항생제의 불활성, 바이오필름 내 박테리아의 성장, *P. 아에루기노사*의 뮤코이드 (mucoid) 형태로의 변환을 포함한 표현형 변화 및 다중-약물 내성의 출현을 비롯하여, 다인성이다 (Chmielewski 및 Davis 2003; Gibson, Burns et al. 2003). *P. 아에루기노사*의 최적화 치료가 폐 요법의 초석인데, 그 이유는 이 병원체로의 감염이 열악한 임상 결과와 연관있기 때문이다 (Doring, Conway et al. 2000; Chmielewski 및 Davis 2003; Gibson, Burns et al. 2003; Gibson, Emerson et al. 2003).
- [0011] CF 가 있는 인간에게서 만성 *P. 아에루기노사* 감염을 관리하는 현재 접근법 중 하나는 흡입식 (inhaled) 토브라마이신 (TOBI®) 으로의 억제 치료를 이용하는 것이 포함된다. 흡입식 토브라마이신 300 mg 을 하루에 2 회 28 일 사이클 동안 투여한 후 28 일간 약물 투여 휴지하면 *P. 아에루기노사* 콜로니 카운트가 줄어들고, FEV<sub>1</sub> 예상% 가 증가하며, 입원이 감소하고 항생제 사용이 줄어든다는 것이 드러났다 (Ramsey, Pepe et al. 1999).
- [0012] 그럼에도 불구하고, 환자들은 1 일 2 회, 투여 당 약 15-20 분 흡입으로 투여되어야 한다.
- [0013] 일일 단위의 가슴 물리치료 및 에어로졸 호흡 치료가 CF 환자에게 매우 통상적으로 처방된다. 전형적인 물리요법에는 수동적 가슴 타진 (두드림; pounding), 양압 기법 및/장치 또는 가능하게는 동일한 효과: 결속한 점액의 이완을 수득하기 위한 ThAIRapy Vest 또는 Intrapulmonary Percussive Ventilator (IPV) 와 같은 장치를 이용하는 것이 포함된다. 통상 제공되는 에어로졸화 의약에는 분비를 느슨하게 하고 염증을 감소시키는 알부테롤, 이프라트로피움 브로마이드 및 풀모자임 (Pulmozyme) 이 포함된다. 서핑하는 CF 인 (CFer) 은 더 건강하다는 점이 발견되었고; 결과적으로, 일부 병원에서는 천식을 앓지 않는 상기 CF인에게 분무식 (nebulized) 6%-10% 식염수를 이용하여 분비를 완화시켰다. 흡입식 아미노글리코사이드 항생제가 때때로 감염을 이기기 위해 제공된다. 점막 청소 (clearance) 를 돕는 다수의 약리 제제가 사용되고 있다. 그러나, 점액 글리코단백질을 가용화하는 N-아세틸시스테인이 현저하게 유효하다는 점은 입증되어 있지 않다. 제조

합 인간 DNase 는, CF 환자의 가래에 농축된 양의 DNA 를 분해함으로써 가래의 점성도를 감소시킨다. DNase 치료는 단기간 사용 동안 기류를 증가시키는데 유익하며, 또한 폐 악화 에피소드들 간 간격을 연장시킨다.

[0014] 전형적으로, CF 환자는 다소 정기적으로, 종종 케이스의 중증도에 따라 6 개월 마다 입원한다. 환자들은 종종 PICC 계열, Central Line, 또는 Port-a-Caths 를 통해 정맥을 통한 항생제를 받는다.

[0015] 낭성섬유증은 또한 기관지확장증으로 이어질 수 있다. 기관지확장증은, 점액 막힘에 의해 야기된 호흡 통로의 비정상적인 뾰침 및 확대이다. 신체에서 점액을 제거할 수 없는 경우에는, 점액은 움직일 수 없게 되어 기도에 축적된다. 막힘 및 수반되는 감염은 염증을 야기하여, 통로를 약화시키고 넓힌다. 약해진 통로는 흉터가 생기고 변형될 수 있어, 점액과 박테리아가 더 축적되게 허용하여, 결국 감염 및 막힌 기도 사이클이 생긴다. 기관지확장증은 기관세지 일부의 국소화된 비가역적 확장을 야기하는 질병이다. 관련 기관지가 확장, 염증 및 용이하게 붕괴가능해져, 기류 장애 및 손상된 분비 청소를 야기한다. 기관지확장증은 광범위한 장애와 연관되나, 이것은 통상 괴사성 박테리아 감염, 예컨대 스태필로코커스 (Staphylococcus) 또는 클렙시엘라 (Klebsiella) 종 또는 보르다텔라 퍼투스시 (Bordatella pertussis) 에 의한 감염으로 인한 것이다.

[0016] 기관지확장증은 만성 폐쇄 폐병 (COPD) 중 하나이며, 이것은 폐기종 및 기관지염과 합병증을 야기할 수 있다. 상기 질병은 통상 천식 또는 폐렴으로 잘못진단된다. 기관지확장증은 어떠한 연령에서도 발생할 수 있고, 대개는 아동기때 시작되나, 증상은 훨씬 이후까지 나타나지 않을 수 있다. 기관지확장증은 원발성도 운동이상증 또는 낭성섬유증 등의 선천적 결손증의 일부로서 일어날 수 있다. 미국에서 약 50% 의 기관지확장증의 모든 경우는 낭성섬유증으로부터 야기된다. 이는 또한 손상 또는 기타 질병, 예컨대 결핵, 폐렴 및 인플루엔자의 결과로서 출생 이후 발달할 수 있다.

[0017] 기관지 벽의 확장은 기류 폐쇄 및 분비물의 청소 손상을 야기하는데, 그 이유는 확장 부위가 기관지의 통상의 기압을 방해하여 가래가 위로 밀려나가는 것 대신에 확장된 부위 내로 모이게 (pool) 되기 때문이다. 모여진 가래는 전염성 병원체의 성장을 유도하는 환경을 제공하고, 그리하여 폐의 이러한 부위는 감염에 매우 약해진다. 폐에 감염이 많이 될수록, 폐 조직 및 폐포는 더 손상되어진다. 상기가 발생하는 경우, 기관지는 더욱 탄력이 없어지고 확장되는데, 이는 상기 질병 내에서 빈번히 계속되는 파괴적인 사이클을 만든다.

[0018] 중증도 수준에 따라 기관지확장증은 3 가지 유형이 있다. 방추형 (실린더형) 기관지확장증 (가장 통상적인 유형) 은 말단이 점점 가늘어지지 못한 약간 염증이 있는 기관지를 일컫는다. 정맥류성 기관지확장증에서는, 확장 영역이 수축 영역과 혼합되어 있기 때문에 기관지 벽이 구슬로 장식된 것처럼 보인다. 주머니형 (낭성) 기관지확장증은 공기-액체 수준 존재 또는 부재하에서 말초에 기관지의 심각한 비가역적 부풀어짐 (ballooning) 을 특징으로 한다. 만성적 습성 기침은 두드러지고, 기관지확장증을 앓는 환자의 90% 까지 발생한다. 가래는 환자의 76% 에서 매일 나타난다.

[0019] CF 에 덧붙여, 기관지확장증의 기타 유전적 원인 또는 기여 인자에는 카르나게너 (Kartagener) 증후군, 영 (Young) 증후군, 알파 1 -항트립신 결핍, 및 원발성 면역결핍이 포함된다. 후천적 기관지확장증이 더 빈번하게 일어나며, 가장 큰 원인 중 하나는 결핵이다. 아동 질병의 특히 공통적인 원인은 후천적 면역결핍 증후군으로, 인간 면역결핍 바이러스에서 유래된다. 기관지확장증의 기타 원인은 호흡 감염, 폐쇄, 암모니아 및 기타 독성 기체의 흡입 및 흡인, 폐 흡인, 알코올중독, 헤로인 사용 및 알레르기가 포함된다. 담배 흡연도 또한 기관지확장증에 기여할 수 있다.

[0020] 기관지확장증 진단 기준은 임상 이력 및 고해상도 CT 스캔 결과물에서의 특징적인 패턴을 검토하여 이루어진다. 상기 패턴에는 "나뭇가지 새싹 (tree-in-bud)" 비정상 및 한정할 수 없는 경계를 갖는 낭포가 포함된다. 기관지확장증은 또한 임상 이력이 분명하게도 빈번한 호흡 감염을 나타낼 뿐 아니라 혈액 테스트 및 가래 배양물 샘플을 통한 기저 문제점을 확인한다면, CT 스캔 확인 없이 진단될 수 있다.

[0021] 증상에는, 기침하기 (누워있을 때 더 심해짐), 숨 가파름, 비정상적인 가슴 소리, 허약, 중량 감소 및 피로가 포함된다. 감염이 있으면, 점액은 변색될 수 있고, 고약한 냄새가 나고, 혈액을 함유할 수 있다. 증상 중증도는 환자 별로 다양하며, 환자가 증상이 없는 경우도 있다.

[0022] 기관지확장증의 치료는 감염 및 기관지 분비 제어, 기도 폐쇄 완화 및 합병증 방지를 겨냥한다. 이는 유해 감염을 막는 항생제의 연장된 사용뿐 아니라 체위 배출술 및 가슴 물리치료로 축적된 유액을 제거하는 것도 포함한다. 수술은 또한 국소화 기관지확장증을 치료하는데 사용될 수 있어, 질병 진행을 야기할 수 있는 폐쇄를 제거한다.

[0023] 일관되게 고수된 흡입식 스테로이드 치료는, 가래 생성을 감소시키고 어느 정도의 기간에 걸친 기도 수축을 저



하지킬 수 있어 기관지확장증의 진행을 막을 것이다. 통상 사용되는 한 치료는 천식 치료에도 사용된 베클로메타손 디프로피오네이트이다. 알부테롤 (살부타몰), 플루티마손 (플로벤트/플릭소타이드) 및 이프라트로프 (아트로벤트) 과 같은 흡입제의 사용은 기도를 청소하고 염증을 저하시킴으로써 감염 가능성을 감소시키는데 도움을 줄 수 있다.

[0024] Bronchitol 명칭 하 만니톨 건조 흡입 분말이, 기관지확장증이 있는 낭성섬유증 환자에게 사용되는 것을 FDA로부터 승인 받았다. 2005년 2월에 승인받은 독창적인 희귀약 지시는 기관지확장증 치료에 상기를 사용하는 것을 허용하였다. 원 승인은 상기 제품이 안전하고, 내약성이 좋고 (well-tolerated), 점액 수화/청소를 자극하는데 유효해, 기관지확장증과 같은 만성 폐쇄 폐병을 앓는 환자의 삶의 질을 개선시킨다는 것을 밝힌 단계 2 임상 연구 결과를 기초로 하였다. 장기간의 연구가 안전성 및 치료 유효성을 확보하기 위해 2007년부터 진행 중이다.

[0025] 기관지확장증 환자는 종종 감염에 대한 항생제 및 기관지확장제 의약을 제공받아 통로를 개방시킨다. 가끔은 재발성 감염을 막기 위해, 특히 낭성섬유증이 있는 사람들에게서 항생제가 장기간 동안 처방된다. 또한 점액을 없애는데 도움을 주는 물리적 치료 기술도 존재한다. 폐 이식도 또한 심각한 케이스를 위한 한 옵션이다. 사망자는 드물지만, 사망자는 대량출혈로 속출할 수 있다. 폐 감염이 즉각 치료된다면, 기관지확장증은 덜 발생할 것이다.

[0026] 폐렴은 폐포 (대기로부터 산소의 흡수를 담당하는 폐의 공간이 꼭 찬 미세 주머니)가 염증이 생기고 유동액으로 범람되어진 폐 및 호흡기의 질병이다. 폐렴은 박테리아, 바이러스, 진균 또는 기생충으로의 감염과 폐에서의 화학적 또는 물리적 손상을 포함하는 각종 원인으로부터 발생할 수 있다. 폐렴과 연관있는 전형적인 증상은 기침, 가슴 통증, 열 및 호흡 곤란이 포함된다. 진단 수단에는 X-선 및 가래 검사 등이 있다.

[0027] 따라서, CF, 폐 감염, COPD, 기관지확장증 등을 비롯한 폐 장애를 치료하기 위한 치료법에 대한 요구가 존재한다. 또한, 상기 장애가 있는 환자에서 폐 기능을 개선시키고자 하는 요구가 존재한다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0028] 본 발명의 개요

[0029] 본 발명은 환자에게 1 이상의 치료 사이클 동안 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 (liposomal amikacin) 제형물을 투여하는 것을 포함하는 환자의 폐 장애 치료 방법에 일부 관련있으며, 이때

[0030] 상기 치료 사이클은 15 내지 75 일의 투여 기간 후, 15 내지 75 일의 투여휴지기 (off period)를 포함하고;

[0031] 및 상기 유효량은 투여 기간 동안 매일 100 내지 2500 mg의 아미카신을 포함한다.

[0032] 일부 구현예에서, 치료 사이클은 2 회 이상 환자에게 수행된다. 일부 구현예에서, 투여 기간은 15 내지 35 일, 또는 20 내지 35 일이다. 기타 구현예에서, 투여 기간은 약 28 일이다. 일부 구현예에서, 투여휴지기는 15 내지 35 일, 또는 20 내지 35 일이다. 기타 구현예에서, 투여휴지기는 약 28 일이다. 또한 기타 구현예에서, 투여휴지기는 25 내지 75 일, 35 내지 75 일, 또는 45 내지 75 일이다. 기타 구현예에서, 투여휴지기는 약 56 일이다.

[0033] 일부 구현예에서, 투여기간은 약 28 일이고, 투여휴지기는 약 28 일인 한편, 기타 구현예에서, 투여 기간은 약 28 일이고, 투여휴지기는 약 56 일이다.

[0034] 일부 구현예에서, 유효량은 250 내지 1,500 mg의 아미카신, 250 내지 1000 mg의 아미카신, 또는 약 280 내지 약 560 mg의 아미카신을 포함한다. 기타 구현예에서, 유효량은 약 280 또는 약 560 mg의 아미카신이다.

[0035] 일부 구현예에서, 폐 장애는 만성 폐쇄 폐병, 기관지확장증, 폐 감염, 낭성섬유증, 알파-1-항트립신 효소 결핍 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 기타 구현예에서, 폐 병태는 박테리아성 폐 감염, 예컨대 P. 아에루기노사 감염이다. 일부 구현예에서, 폐 병태는 기관지확장증이다.

[0036] 일부 구현예에서, 환자는 아미카신의 혈청 C<sub>max</sub>가 투여 기간 동안 약 10 mcg/mL 미만이다. 기타 구현예에서, 환자는 아미카신의 가래 C<sub>max</sub>가, 투여 동안, 투여 이후 15 일 이상 동안 둘 중 하나에서 가래 1 g당 1000 mcg 이상이다.



- [0037] 일부 구현예에서, 환자는 폐의 박테리아성 감염의  $\log_{10}$  CFU 에서 투여 기간 종결 후 15 일 이상 동안 0.5 이상의 감소를 갖는다. 기타 구현예에서,  $\log_{10}$  CFU 의 감소는 1.0 이상이다.
- [0038] 일부 구현예에서, 환자는 투여 기간 종결 이후 15 일 이상 동안 폐 기능의 개선을 경험한다. 예를 들어, 환자는 FEV<sub>1</sub> 증가, 혈중 산소 포화도 증가, 또는 양자 모두를 겪을 수 있다. 일부 구현예에서, 환자는 치료 사이클 이전 FEV<sub>1</sub> 에 비해 5% 이상 증가된 FEV<sub>1</sub> 을 갖는다. 기타 구현예에서, FEV<sub>1</sub> 은 5 내지 50 % 증가한다. 기타 구현예에서, FEV<sub>1</sub> 은 치료 사이클 이전 FEV<sub>1</sub> 보다 25 내지 500 mL 증가한다. 일부 구현예에서, 혈중 산소 포화도는 치료 사이클 이전 산소 포화도보다 1% 이상 증가한다.
- [0039] 일부 구현예에서, 폐가 악화되기까지의 시간은 투여 마지막 일로부터 적어도 20 일이다. 기타 구현예에서, 구조 처치 (rescue treatment) 를 할 때까지의 시간은 투여 마지막 일로부터 적어도 25 일이다.
- [0040] 일부 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 달걀 (egg) 포스파티딜콜린 (EPC), 달걀 포스파티딜글리세롤 (EPG), 달걀 포스파티딜이노시톨 (EPI), 달걀 포스파티딜세린 (EPS), 포스파티딜에탄올아민 (EPE), 포스파티드산 (EPA), 대두 (soy) 포스파티딜콜린 (SPC), 대두 포스파티딜글리세롤 (SPG), 대두 포스파티딜세린 (SPS), 대두 포스파티딜이노시톨 (SPI), 대두 포스파티딜에탄올아민 (SPE), 대두 포스파티드산 (SPA), 수소화 달걀 포스파티딜콜린 (HEPC), 수소화 달걀 포스파티딜글리세롤 (HEPG), 수소화 달걀 포스파티딜이노시톨 (HEPI), 수소화 달걀 포스파티딜세린 (HEPS), 수소화 포스파티딜에탄올아민 (HEPE), 수소화 포스파티드산 (HEPA), 수소화 대두 포스파티딜콜린 (HSPC), 수소화 대두 포스파티딜글리세롤 (HSPG), 수소화 대두 포스파티딜세린 (HSPS), 수소화 대두 포스파티딜이노시톨 (HSPI), 수소화 대두 포스파티딜에탄올아민 (HSPE), 수소화 대두 포스파티드산 (HSPA), 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC), 디미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), 디미리스토일포스파티딜글리세롤 (DMPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤 (DPPG), 디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디올레일포스파티딜-에탄올아민 (DOPE), 팔미토일스테아로일포스파티딜-콜린 (PSPC), 팔미토일스테아로일포스파티딜글리세롤 (PSPG), 모노-올레오일-포스파티딜에탄올아민 (MOPE), 콜레스테롤, 에르고스테롤, 라노스테롤, 토코페롤, 지방산의 암모늄염, 인지질의 암모늄염, 글리세리드의 암모늄염, 미리스틸아민, 팔미틸아민, 라우릴아민, 스테아릴아민, 디라우로일 에틸포스포콜린 (DLEP), 디미리스토일 에틸포스포콜린 (DMEP), 디팔미토일 에틸포스포콜린 (DPEP) 및 디스테아로일 에틸포스포콜린 (DSEP), N-(2,3-디-(9-(Z)-옥타데세닐옥시)-프로프-1-일-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTMA), 1,2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니오)프로판 (DOTAP), 포스파티딜-글리세롤 (PG), 포스파티드산 (PA), 포스파티딜이노시톨 (PI), 포스파티딜 세린 (PS), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디미리스토일포스파티딜산 (DMPA), 디팔미토일포스파티딜산 (DPPA), 디스테아로일포스파티딜산 (DSPA), 디미리스토일포스파티딜이노시톨 (DMPI), 디팔미토일포스파티딜이노시톨 (DPPI), 디스테아로일포스파티딜이노시톨 (DSPI), 디미리스토일포스파티딜세린 (DMPS), 디팔미토일포스파티딜세린 (DPPS), 디스테아로일포스파티딜세린 (DSPS), 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 지질을 포함한다. 기타 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 인지질 및 스테롤, 예컨대 DPPC 및 콜레스테롤을 포함한다. 기타 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 DPPC 및 콜레스테롤을 중량비 약 2 대 1 로 포함한다. 일부 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 약물에 대한 지질 중량 비율이 약 0.5 내지 약 1.0, 약 0.5 내지 0.7, 또는 약 0.6 이다.

### 도면의 간단한 설명

- [0041] **도 1** 은 컷오프 (cutoff) 직경의 함수로서 임팩터 단계에서 수집된 리포솜 아미카신 분무물 (nebulizate) 의 질량 분포를 나타낸다. 표 15 의 3 가지 리포솜 아미카신 품목 범례 (1, 2, 및 3 으로 지칭) 는 eFlow 분무기 및 ACI 시스템 (속이 짝 찬 기호) 또는 LC Star 분무기 및 NGI 시스템 (속이 빈 기호) 로 사용했다.
- 도 2** 는 리포솜 아미카신 75 mg/mL 또는 토브라마이신의 흡입 이후  $\log_{10}$ CFU/래트의 폐에서의 감소를 나타낸다. 기호는 식염수 또는 상기 항생제들 중 하나의 마지막 흡입 세션 이후 3 일 및 아가 비즈 (agar beads) 에서 PA3064 의 점적주입 (instillation) 이후 18 일에,  $\log_{10}$ CFU/각 래트의 폐를 나타낸다. 2.0  $\log_{10}$  CFU 에서의 수치는 상기 방법에서 폐 내 박테리아의 검출의 하한을 나타낸다. 바 (bar) 는 각 그룹의 평균을 나타낸다. 평균 및 표준 편차 및 양측쌍체 t-검정 (two-tail t-test) 결과는 Microsoft 사의 Excel 소프트웨어를 이용하여 산출하였다.
- 도 3** 은 28 일 동안 리포솜 아미카신 및 토브라마이신의 흡입 이후  $\log_{10}$ CFU /래트의 폐에서의 감소를 나타낸다.

동일한 용량의 상기 항생제를 흡입 요법으로, 그러나 상이한 스케줄로 제공하였다. 토브라마이신은 28 일 동안 1 일 총 104 분 하루에 두 번 (BID) 매일 제공하였다. 식염수와 마찬가지로 리포솜 아미카신은 28 일 동안 80 분간 일일 1 회 제공하였다 (Q1Dx28). 리포솜 아미카신 을 28 일 동안 격일로 160 분 간 일일 1 회 (Q2Dx14) 또는 연속 14 일 동안 160 분간 일일 1 회 (Q1DX14) 제공한 다음 래트를 안락사시킬 때까지 바로 관찰했다. 기호는 아가 비즈에서 *P. 아에루기노사* 3064 의 점적주입 후 35 일째에 log<sub>10</sub>CFU/각 래트의 폐를 나타낸다. 평균 및 표준 편차 및 양측쌍체 t-검정은 Microsoft 사의 Excel 소프트웨어를 이용하여 산출하였다.

도 4 는 리포솜 아미카신을 매일 28 일 동안 환자들에게 수여한 후, 투여 마지막 날 이후 28 일 기간 동안 모니터링하는 연구 4 에 대한 연구 설계를 나타낸다.

도 5 는 플라세보 (속임약) 와 비교하여 280 mg 용량의 아미카신이 수여된 소아 환자에서 기준선보다 산소 포화도의 % 증가를 보이는 그래프를 나타낸다.

도 6 은 플라세보와 비교하여 560 mg 용량의 아미카신을 수여받은 소아 환자에서 산소 포화도를 나타내는 그래프를 나타낸다.

도 7a 는 플라세보 그룹에서 FEV1 에 의해 측정되는 연령별 폐 기능 변화 그래프를 나타낸다. 연구의 280 및 560 mg 아미카신 부분 양자 모두에 대한 플라세보 데이터를 수집하여 연령별로 나누었다. 또한, 280 및 560 mg 아미카신 부분에 대한 Arikace™ 데이터를 수집하여 연령별로 나누었다.

도 7b 는 흡입식 리포솜 아미카신이 수여된 환자에서 연령별 폐 기능 변화를 나타낸다.

도 8 은 560 mg 및 280 mg 아미카신 군 및 플라세보 군에서 FEV1 (mL 로 측정) 의 변화를 비교하는 그래프를 나타낸다.

도 9 는 560 mg 아미카신, 280 mg 아미카신, 및 플라세보 군에서 기준선에 비한 퍼센트로 FEV1 에서의 변화 그래프를 나타낸다.

도 10 은 모든 환자에서의 Log CFU 변화 그래프를 나타낸다.

도 11 은 뮤코이드 균주에 대한 Log CFU 변화 그래프를 나타낸다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

### I. 정의

본 발명을 더 설명하기 전에, 본 명세서, 실시예 및 첨부된 청구항에서 사용된 특정 용어들을 여기에 수집한다. 이들 정의는 개시물 상기자의 견지에서 읽어야 하며, 당업자에 의해서 처럼 이해되어야 한다.

달리 정의하지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 및 과학적 용어는 당업자가 통상 이해되는 바와 같은 의미와 동일한 의미를 지닌다.

용어 "폐 장애" 란, 대상체의 호흡관, 특히 대상체의 폐에 관련된 임의의 질병, 병 또는 기타 건강하지 못한 상태를 지칭한다. 일반적으로 폐 고통은 호흡 곤란을 야기한다.

용어 "치료" 란, 당업계에서 인지되어 있으며, 임의의 병태 또는 질병의 적어도 한 증상을 고치는 것 뿐 아니라 개선시키는 것을 의미한다.

용어 "예방적" 또는 "치료적" 처치란, 당업계에 인지되어 있으며, 대상체 구성 성분들 중 하나 이상의 숙주에 투여하는 것을 지칭한다. 원하지 않는 상태(예, 질병 또는 숙주 동물의 기타 원하지 않는 상태) 의 임상적 징후 이전에 처치가 수행되는 경우에는, 그때에는 처치는 예방적이고, 즉 이는 숙주가 원하지 않는 상태를 발달시키는 것을 막는 것이며, 한편, 원하지 않는 상태의 징후 이후 수행되는 경우에는, 처치는 치료적이다 (즉, 기존의 원하지 않는 상태 또는 이로부터 나온 부작용을 줄이거나, 개선 또는 유지하도록 의도된 것).

용어 "치료적 유효 투여량" 및 "치료적 유효량" 이란, 환자에게서 증상의 예방 또는 개선 결과를 초래하는 화합물의 양, 또는 원하는 생물학적 결과, 예를 들어 개선된 임상적 조짐, 질병의 지연된 개시, 감소된 수준의 박테리아 등을 초래하는 화합물의 양을 지칭한다.

용어 "FEV<sub>1</sub>" 은 폐 기능의 척도로서 당업계에 익히 공지되어 있으며, 1 초 당 강제호기폐활량을 지칭한다.

본원에서 사용된 FEV<sub>1</sub> 값은 mL 로 측정되고, 또한 기준선으로부터의 % 변화, 예를 들어 예비-치료치로부터의 변화로 환산된다.

[0049] 대상 방법에 의해 치료되는 "환자" "대상체" 또는 "숙주" 는 인간 또는 비(非)인간 동물을 의미할 수 있다.

[0050] 용어 "포유류" 는 당업계에 공지되어 있으며, 예의 포유류로는, 인간, 영장류, 소류, 돼지류, 개류, 고양이류 및 설치류 (예, 마우스 및 래트) 를 들 수 있다.

[0051] 용어 "생이용가능" 은 당업계에 인지되어 있으며, 상기 또는 투여될 양 일부를 허용하는, 상기가 투여될 대상체 또는 환자에 의해 흡수될, 혼입될 또는 달리 생리적으로 이용가능하게 되는 대상 발명의 형태를 지칭한다.

[0052] 용어 "약학적으로-허용가능한 염" 은 당업계에 인지되어 있고, 예를 들어 본 발명의 조성물에 함유된 것을 비롯한, 비교적 무독성의 화합물의 무기 및 유기산 부가염을 지칭한다.

[0053] 용어 "약학적으로 허용가능한 담체" 는 당업계에 인지되어 있고, 한 장기 또는 신체의 일부로부터 임의의 대상체 조성물 또는 이의 성분을 다른 장기 또는 신체의 일부로 운반 또는 운송하는 것에 관여하는, 약학적으로 허용가능한 재료, 조성물 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매 또는 캡슐화재를 지칭한다. 각 담체는 대상체 조성물 및 이의 성분과 혼화가능한 면에서 "허용가능" 해야 하며, 환자에게 해를 입히지 않아야 한다. 약학적으로 허용가능한 담체로서 역할할 수 있는 물질의 일부 예에는 하기가 포함된다: (1) 당, 예컨대 락토오스, 글루코오스 및 수크로오스; (2) 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; (3) 셀룰로오스 및 이의 유도체, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트; (4) 분말화 트래가칸트; (5) 말트; (6) 젤라틴; (7) 탈크; (8) 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌약 왁스; (9) 오일, 예컨대 피넛 오일, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수기름 및 대두유; (10) 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜; (11) 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; (12) 에스테르, 예컨대 에틸 올레레이트 및 에틸 라우레이트; (13) 당; (14) 완충제, 예컨대 마그네슘 히드록시드 및 알루미늄 히드록시드; (15) 알긴산; (16) 발열성물질 제거수; (17) 등장 식염수; (18) 링거액 (Ringer's solution); (19) 에틸 알코올; (20) 포스페이트 버퍼 용액; 및 (21) 약학적 제형물에서 사용되는 기타 무독성 혼화가능 물질.

## [0054] II. 리포솜 아미카신

[0055] 현재 개시된 방법에 유용한 리포솜 아미카신 제형물은 예를 들면 미국 공보 제 20060073198 호 또는 제 20080089927 호 (둘 모두 본원에서 참조 인용됨) 에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다. 일반적으로, 아미카신은 약학적으로 허용가능한 염, 예를 들어 아미카신의 술페이트 염의 형태로 사용된다.

[0056] 본 발명의 조성물에 사용된 지질은 인지질, 토크페롤, 스테로이드, 지방산, 글리코단백질, 예컨대 알부민, 음이온성 지질 및 양이온성 지질을 비롯하여 합성, 반-합성 또는 자연-발생 지질일 수 있다. 지질은 음이온성, 양이온성 또는 중성일 수 있다. 한 구현예에서, 지질 제형물은 음이온성 지질이 실질적으로 없거나, 양이온성 지질이 실질적으로 없거나 또는 양자 모두 없다. 한 구현예에서, 지질 제형물은 중성 지질만을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 지질 제형물은 음이온성 지질 또는 양이온성 지질 또는 둘 모두가 없다.

또 다른 구현예에서, 지질은 인지질이다. 인지질에는 달걀 포스파티딜 콜린 (EPC), 달걀 포스파티딜글리세롤 (EPG), 달걀 포스파티딜이노시톨 (EPI), 달걀 포스파티딜세린 (EPS), 포스파티딜에탄올아민 (EPE), 및 달걀 포스파티드산 (EPA); 상기의 대두 상대, 대두 포스파티딜 콜린 (SPC); SPG, SPS, SPI, SPE, 및 SPA; 수소화 달걀 및 대두 상대 (예, HEPC, HSPC), 콜린, 글리세롤, 이노시톨, 세린, 에탄올아민뿐 아니라 상응하는 포스파티드산을 포함하는 글리세롤의 1 위치에서 상이한 헤드 (head) 기 및 12 내지 26 개의 탄소 원자의 사슬을 포함하는 글리세롤 위치 중 2 및 3 에서 지방산의 에스테르 결합으로 이루어진 기타 인지질이 포함된다. 이들 지방산 상 사슬은 포화 또는 불포화일 수 있고, 인지질은 상이한 사슬 길이 및 상이한 불포화도의 지방산으로 이루어질 수 있다. 특히, 제형물의 조성물은 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC), 자연-발생 폐 계면활성제의 주요 구성성분, 및 디올레오일포스파티딜콜린 (DOPC) 을 포함할 수 있다. 기타 예로는 디미리스토일포스파티딜 콜린 (DMPC) 및 디미리스토일포스파티딜글리세롤 (DMPG) 디팔미토일포스파티드콜린 (DPPE) 및 디팔미토일포스파티딜글리세롤 (DPPG) 디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC) 및 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디올레오일포스파티딜에탄올아민 (DOPE) 및 혼합 인지질, 예컨대 팔미토일스테아로일포스파티딜콜린 (PSPC) 및 팔미토일스테아로일포스파티딜글리세롤 (PSPG), 트리아실글리세롤, 디아실글리세롤, 세라니드, 스핀고신, 스핀고마이엘린 및 단일 아실화 인지질, 예컨대 모노-올레오일-포스파티딜에탄올 아민 (MOPE) 을 들 수 있다.

[0057] 사용된 지질은 지방산의 암모늄염, 인지질 및 글리세리드, 포스파티딜글리세롤 (PG), 포스파티드산 (PA), 포스

포티딜콜린 (PC), 포스파티딜이노시톨 (PI) 및 포스파티딜세린 (PS) 을 포함할 수 있다. 지방산은 포화 또는 불포화인 12 내지 26 개의 탄소 원자의 탄소 사슬 길이의 지방산을 포함한다. 일부 구체적인 예에는 하기가 포함된다: 미리스틸아민, 팔미틸아민, 라우릴아민 및 스테아릴아민, 디라우로일 에틸포스포콜린 (DLEP), 디미리스토일 에틸포스포콜린 (DMEP), 디팔미토일 에틸포스포콜린 (DPEP) 및 디스테아로일 에틸포스포콜린 (DSEP), N-(2,3-디-(9(Z)-옥타데세닐옥시)-프로프-1-일-N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTMA) 및 1,2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니오)프로판 (DOTAP). PG, PA, PI, PC 및 PS 의 예에는 DMPG, DPPG, DSPG, DMPA, DPPA, DSPA, DMPI, DPPI, DSPI, DMPS, DPPS 및 DSPS, DSPC, DPPG, DMPC, DOPC, 달걀 PC 이 포함된다.

[0058] 또 다른 구현예에서, 리포솜은 포스파티딜 콜린 (PC), 포스파티딜-글리세롤 (PG), 포스파티드산 (PA), 포스파티딜이노시톨 (PI), 및 포스파티딜 세린 (PS) 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 지질을 포함한다.

[0059] 또 다른 구현예에서, 지질은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: 달걀 포스파티딜콜린 (EPC), 달걀 포스파티딜글리세롤 (EPG), 달걀 포스파티딜이노시톨 (EPI), 달걀 포스파티딜세린 (EPS), 포스파티딜에탄올아민 (EPE), 포스파티드산 (EPA), 대두 포스파티딜콜린 (SPC), 대두 포스파티딜글리세롤 (SPG), 대두 포스파티딜세린 (SPS), 대두 포스파티딜이노시톨 (SPI), 대두 포스파티딜에탄올아민 (SPE), 대두 포스파티드산 (SPA), 수소화 달걀 포스파티딜콜린 (HEPC), 수소화 달걀 포스파티딜글리세롤 (HEPG), 수소화 달걀 포스파티딜이노시톨 (HEPI), 수소화 달걀 포스파티딜세린 (HEPS), 수소화 포스파티딜에탄올아민 (HEPE), 수소화 포스파티드산 (HEPA), 수소화 대두 포스파티딜콜린 (HSPC), 수소화 대두 포스파티딜글리세롤 (HSPG), 수소화 대두 포스파티딜세린 (HSPS), 수소화 대두 포스파티딜이노시톨 (HSPI), 수소화 대두 포스파티딜에탄올아민 (HSPE), 수소화 대두 포스파티드산 (HSPA), 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC), 디미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), 디미리스토일포스파티딜글리세롤 (DMPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤 (DPPG), 디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디올레일포스파티딜-에탄올아민 (DOPE), 팔미토일스테아로일포스파티딜-콜린 (PSPC), 팔미토일스테아로일포스파티딜글리세롤 (PSPG), 모노-올레오일-포스파티딜에탄올아민 (MOPE), 토크페롤, 지방산의 암모늄염, 인지질의 암모늄염, 글리세리드의 암모늄염, 미리스틸아민, 팔미틸아민, 라우릴아민, 스테아릴아민, 디라우로일 에틸포스포콜린 (DLEP), 디미리스토일 에틸포스포콜린 (DMEP), 디팔미토일 에틸포스포콜린 (DPEP) 및 디스테아로일 에틸포스포콜린 (DSEP), N-(2,3-디-(9(Z)-옥타데세닐옥시)-프로프-1-일-N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTMA), 1, 2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니오)프로판 (DOTAP), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디미리스토일포스파티딜산 (DMPA), 디팔미토일포스파티딜산 (DPPA), 디스테아로일포스파티딜산 (DSPA), 디미리스토일포스파티딜이노시톨 (DMPI), 디팔미토일포스파티딜이노시톨 (DPPI), 디스테아로일포스파티딜이노시톨 (DSPI), 디미리스토일포스파티딜세린 (DMPS), 디팔미토일포스파티딜세린 (DPPS), 디스테아로일포스파티딜세린 (DSPS), 및 이들의 혼합물.

[0060] 또 다른 구현예에서, 리포솜은 포스파티딜 콜린을 포함한다. 포스파티딜 콜린은 DOPC 또는 POPC 와 같이 불포화될 수 있거나, 또는 DPPC 와 같이 포화될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 리포솜은 스테롤을 포함하지 않는다. 한 구현예에서, 리포솜은 필수적으로 포스파티딜 콜린 및 스테롤로 이루어진다. 또 다른 구현예에서, 리포솜은 필수적으로 DPPC 및 콜레스테롤로 이루어진다.

[0061] DPPC 와 같은 포스파티딜콜린으로 이루어진 리포솜 또는 지질 항감염 제형물은 폐포대식세포와 같은 폐 내 세포에 의해 흡수를 돕고, 폐 내 항감염제의 서방성을 돕는다 (Gonzales-Rothi et al. (1991)). 음전하 지질, 예컨대 PG, PA, PS 및 PI 는 입자 응집을 감소시키는 것에 덧붙여 흡입 제형물의 서방성 특징 및 전신 흡수를 위한 폐를 통한 제형물의 운반 (트랜스사이토시스; transcytosis) 역할을 할 수 있다.

[0062] 특정 이론에 구애받지 않고, 지질이 중성 지질을 포함하고, 음전하 또는 양전하 인지질을 포함하지 않는 경우에는, 리포솜 제형물은 폐에 의한 개선된 흡수를 갖는다고 여겨진다. 예를 들어, 리포솜은 지질이 중성 지질만을 포함하는 경우에는 바이오필름 또는 점액층으로의 침투가 개선될 수 있다. 중성 지질의 예에는 상술된 포스파티딜콜린, 예컨대 DPPC 및 스테롤, 예컨대 콜레스테롤이 있다.

#### [0063] IV. 치료 방법

[0064] 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체에서 폐 병태의 치료 방법에 관한 것으로, 이는 상기 대상체에 유효량의 상술된 리포솜 항생제 제형물 중 임의 하나를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 폐 병태는 박테리아성 감염이다. 일부 구현예에서, 방법은 상기를 필요로 하는 환자에게 유효량의 리포솜 아미카신 제형물 (또한 본원에서는 "리포솜 아미카신" 으로 지칭되기도 함) 을 매일 흡입으로써 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 흡입에 의한 투여는 리포솜 제형물을 분무시키는 것을 포함한다.



- [0065] 일부 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 일정 기간 동안 매일 투여한 다음, 어떠한 리포솜 제형물도 투여하지 않는 제 2 기간 (투여휴지기) 을 둔다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 폐 장애 치료 방법은 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신을 1 이상의 치료 사이클 동안 투여하는 것을 포함한다, 이때:
- [0066] 상기 치료 사이클은 15 내지 75 일의 투여 기간 후 15 내지 75 일의 투여 휴지기를 포함하고; 및
- [0067] 상기 유효량은 투여 기간 동안 매일 100 내지 2500 mg 의 아미카신을 포함한다.
- [0068] 일부 구현예에서, 상술된 치료 사이클은 환자에게 2 회 이상 수행된다. 기타 구현예에서, 치료 사이클은 3, 4, 5, 6, 또는 그 이상 회차로 수행될 수 있다.
- [0069] 투여 기간 동안, 리포솜 아미카신은 매일 투여된다. 일부 구현예에서, 리포솜 아미카신은 격일로 또는 3 일마다 투여 기간 동안 투여될 수 있다. 상기에서 설명된 바와 같이, 투여 기간은 15 내지 75 일일 수 있다. 일부 구현예에서, 투여 기간은 15 내지 35 일, 또는 20 내지 35 일이다. 기타 구현예에서, 투여 기간은 20 내지 30 일, 25 내지 35 일 또는 25 내지 30 일이다. 기타 구현예에서, 투여 기간은 약 25, 26, 27, 28, 29 또는 30 일이다. 또 다른 구현예에서, 투여 기간은 약 28 일이다.
- [0070] 투여휴지기 동안, 리포솜 아미카신 제형물은 환자에게 투여되지 않는다. 일부 구현예에서, 투여휴지기는 15 일 이상, 예를 들어, 15 내지 75 일, 15 내지 35 일, 또는 20 내지 35 일이다. 기타 구현예에서, 투여휴지기는 20 내지 30 일, 25 내지 35 일 또는 25 내지 30 일이다. 기타 구현예에서, 투여휴지기는 약 25, 26, 27, 28, 29 또는 30 일이다. 기타 구현예에서, 투여휴지기는 약 28 일인 반면에, 또 다른 구현예에서 투여휴지기는 29 일 이상이다.
- [0071] 일부 구현예에서, 투여휴지기는 25 내지 75 일, 35 내지 75 일, 또는 45 내지 75 일이다. 기타 구현예에서, 투여휴지기는 50 내지 75 일, 50 내지 70 일, 50 내지 65 일 또는 50 내지 60 일이다. 기타 구현예에서, 투여휴지기는 약 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 또는 60 일인 반면에, 기타 구현예에서, 투여휴지기는 약 56 일이다.
- [0072] 일부 구현예에서, 투여 기간은 약 28 일이고 투여휴지기는 약 28 일인 반면에, 기타 구현예에서 투여 기간은 약 28 일이고 투여휴지기는 약 56 일이다.
- [0073] 일부 구현예에서, 유효량은 투여 기간의 각 날에 250 내지 1,500 mg 의 아미카신, 250 내지 1000 mg 의 아미카신, 250 내지 750 mg 의 아미카신, 또는 250 내지 700 mg 아미카신을 포함한다. 기타 구현예에서, 유효량은 약 280 내지 약 560 mg 의 아미카신이다. 기타 구현예에서, 유효량은 약 230 mg 내지 약 330 mg, 또는 약 510 mg 내지 약 610 mg 이다. 기타 구현예에서, 유효량의 아미카신은 매일 약 100, 150, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700 또는 750 mg 의 아미카신이다. 기타 구현예에서, 유효량은 약 280 또는 약 560 mg 의 아미카신이다.
- [0074] 일부 구현예에서, 투여 기간은 약 28 일이고, 투여량은 약 280 내지 약 560 mg 의 아미카신이다. 기타 구현예에서, 투여 기간은 약 28 일이고, 투여휴지기는 약 28 일이며, 투여량은 약 280 내지 약 560 mg 이다. 기타 구현예에서, 투여 기간은 약 28 일이고, 투여휴지기는 약 56 일이고, 투여량은 약 280 내지 약 560 mg 이다.
- [0075] 일부 구현예에서, 폐 장애는 만성 폐쇄 폐병, 기관지확장증, 폐 감염, 낭성 섬유증, 알파-1-항트립신 효소 결핍 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 폐 병태는 낭성섬유증이다. 기타 구현예에서, 폐 병태는 박테리아성 폐 감염, 슈도모나스 (*Pseudomonas*) (예, *P. 아에루기노사*, *P. 파우시모빌리스* (*P. paucimobilis*), *P. 푸티다* (*P. putida*), *P. 플루오레센스* (*P. fluorescens*), 및 *P. 아시도보란스* (*P. acidovorans*)), 스태필로코칼 (*staphylococcal*), 메티실린-내성 스태필로코커스 아우레우스 (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*; *MRSA*), 스트레토코칼 (스트레토코커스 풀모니아 (*Streptococcus pneumoniae*에 의한 것 포함), 대장균 (*E.coli*), 클레브시엘라 (*Klebsiella*), 엔테로박터 (*Enterobacter*), 세라티아 (*Serratia*), 해모필루스 (*Haemophilus*), 예리시니아 페소스 (*Yersinia pesos*), 버크홀더리아 슈도말레이 (*Burkholderia pseudomallei*), *B. 세파시아* (*B. cepacia*), *B. 갈라디올리* (*B. gladioli*), *B. 멀티보란스* (*B. multivorans*), *B. 비에트나미엔시스* (*B. vietnamiensis*), 마이코박테리움 투버쿨로시스 (*Mycobacterium tuberculosis*), *M. 애비넘* 복합체 (*M.avium complex*; *MAC*) (*M. 애비넘* (*M. avium*) 및 *M. 인트라셀룰레어* (*M. intracellulare*)), *M. 칸사시* (*M. kansasii*), *M. 제노피* (*M. xenopi*), *M. 마리넘* (*M. marinum*), *M. 울세란스* (*M. ulcerans*), 또는 *M. 포르투이툼* 복합체 (*M. 포르투이툼* (*M. fortuitum*) 및 *M. 첼로네이* (*M. chelonae*)) 감염이다. 일부 구현예에서, 감염은 *P. 아에루기노사* 감염인 반면, 기타 구현예에서, 감염은 비(非)결핵성

마이코박테리아성 감염이다. 폐 감염은 낭성섬유증과 연관있을 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 폐 병태는 낭성섬유증과 *P. 아에루기노사* 등의 폐 감염 양자 모두이다. 기타 구현예에서, 폐 병태는 기관지확장증이다. 기관지확장증은 낭성섬유증과 연관있을 수 있거나, 그렇지 않을 수 있다.

[0076] 본 발명은 약물의 전신 노출을 제한하면서 폐 장애의 부위에서 유리한 수준의 아미카신을 제공하고, 또한 놀랍게도 연장된 기간 동안 대상체에 유지된 이점을 제공한다. 특정 이론에 얽매이지 않으면, 본원에서 기술된 방법에 따른 리포솜 아미카신의 투여는 대상체 폐에 "데포 (depot)" 효과를 제공한다고 여겨진다. 구체적으로, 리포솜 입자는 충분히 작고 CF 가래를 통해 박테리아 바이오필름으로 침투 및 분산되도록 적절한 지질 제형물을 포함한다고 여겨진다. 리포솜은 중성 리포솜 내에 불잡힌 양이온성 아미카신을, 생이용가능성을 감소시킬 수 있는 음전하 가래/바이오필름과의 정전기 상호작용을 최소화시키도록 보호한다. 게다가, 아미카신 리포솜을 방출하는 *P. 아에루기노사* 유래 독성 인자 (람노리피드) (Davey et al. 2003) 가 존재한다. 따라서, 비교적 고농도의 약물이 박테리아 마크로-콜로니 환경에 국소적으로 전달될 수 있음이 가설된다.

[0077] 추가적으로, 리포솜 아미카신의 흡입은 약물/지질 제형물의 흡입에 조정적 응답으로서 대식세포의 투여량-의존적 모집을 도모한다고 여겨진다. (리포솜 아미카신으로 치료된 래트에서 기능적으로 정상인 것으로 밝혀진) 폐포대식세포의 존재는 CF 환자에게 특히 이로울 수 있다. CF 환자는 이들의 폐에 대식세포의 개수가 감소되고, 그 기능이 열악할 수 있어, *P. 아에루기노사* 폐 감염의 만성과 이 개체군에서 비결핵성 마이코박테리아 감염의 커다란 유행에 기여할 수 있다는 점으로 공지되어 있다. 대식세포의 투여량 의존적 모집은 또한 본 발명의 방법을 이용하여 관찰된 지속 효과에도 기여할 수도 있다. 구체적으로, 폐 내 대식세포는 리포솜 아미카신을 취한 다음, 폐 내 일정 시간 동안 남겨둔 후 대식 세포에 의해 리포솜 아미카신을 방출한다. *P. 아에루기노사*에 만성적으로 감염된 CF 환자에서의 리포솜 아미카신의 임상 연구 (하기의 예시에 기술) 는 폐 기능 및 호흡 증상에 있어서 안전성, 인내성 및 투여량 의존 개선; 및 28 일 치료의 마지막 날에 가래 박테리아 밀도의 감소를 증명하였다. 상기 폐 기능에서의 개선은, 560 mg 투여량의 리포솜 아미카신으로 치료 완료 후 (제 56 일) 28 일 이상 동안 유지되었는데, 이는 지속된 치료 효과를 시사한다.

[0078] 따라서, 본 발명은 일부 구현예에서 혈액 내 및 가래 내 유리한 수준의 아미카신을 제공한다. 예를 들어, 본 방법은 폐 병태 부위에 높고 지속적인 수준의 아미카신을 제공하면서도, 비교적 낮게 전신에 아미카신을 노출시킨다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 환자는 투여 기간 동안 약 25 mcg/mL 미만의 아미카신의 혈청  $C_{max}$  를 갖는다. 기타 구현예에서, 혈청  $C_{max}$  는 투여 기간 동안 20, 15, 10, 5 또는 2 mcg/mL 미만이다.

[0079] 일부 구현예에서, 환자는 투여 동안 또는 투여 후 15 일 이상과 같은 투여의 지속 기간 동안 가래 1 그램 당 약 500 mcg 이상의 아미카신의 가래  $C_{max}$  를 갖는다. 기타 구현예에서, 아미카신의 가래  $C_{max}$  는 가래 1 g 당 적어도 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 또는 3500 mcg 이다.

[0080] 폐 장애가 폐 감염을 포함하는 경우, 본 발명은 또한 지속된 기간 동안 폐 내 박테리아의 콜로니 형성 단위를 감소시킨다. 예를 들어, CFU 는 기준선 값과 비교시 감소된다. 일부 구현예에서, 환자는 투여 기간 종결 이후 15 일 이상 동안 폐 내 박테리아 감염의  $\log_{10}$  CFU 가 약 0.5 이상 감소한다. 기타 구현예에서,  $\log_{10}$  CFU 의 감소는 적어도 1.0, 1.5, 2.0 또는 2.5 까지이다. 슈도모나스 감염물은 특히 "뮤코이드" 슈도모나스로서 공지된 거대한 콜로니를, 특히 낭성섬유증 환자에서 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, CFU 는 슈도모나스 감염의 뮤코이드 균주에서 상기에 기술된 바와 같이 감소된다.

[0081] 일부 구현예에서, 환자는 투여 기간 종결 후 15 일 이상 동안 폐 기능의 개선을 경험한다. 예를 들어, 환자는 1 초 내 강제호기폐활량 ( $FEV_1$ ) 의 증가, 혈중 산소 포화도의 증가 또는 양자 모두를 경험할 수 있다. 일부 구현예에서, 환자는 치료 사이클 이전에  $FEV_1$  보다 5 % 이상 또는 10% 이상 증가된  $FEV_1$  을 갖는다. 기타 구현예에서,  $FEV_1$  은 5 내지 50 %, 5 내지 25 %, 또는 5 내지 20 % 증가된다. 기타 구현예에서,  $FEV_1$  은 5 내지 15 % 또는 5 내지 10 % 증가된다. 기타 구현예에서,  $FEV_1$  는 10 내지 50 %, 10 내지 40 %, 10 내지 30 % 또는 10 내지 20 % 증가된다.  $FEV_1$  은 흔히 mL 로 측정된다. 따라서, 일부 구현예에서,  $FEV_1$  는 치료 이전  $FEV_1$  과 비교시 25 mL 이상 증가된다. 일부 구현예에서,  $FEV_1$  는 25 내지 500 mL, 25 내지 400, 25 내지 300 또는 25 내지 mL 증가된다. 기타 구현예에서,  $FEV_1$  은 50 내지 500 mL, 50 내지 400 mL, 50 내지 300 mL, 50 내지 200 mL 또는 50 내지 100 mL 증가된다.

- [0082] 일부 구현예에서, 혈중 산소 포화도는 투여 이전 혈중 산소 포화도 수준과 비교시 대상체에서 증가된다. 일부 구현예에서, 혈중 산소 포화도는 1% 이상 또는 2% 이상, 투여 기간 후 15 일 이상 동안 증가된다. 기타 구현예에서, 혈중 산소 포화도 수준은 약 1 내지 50 %, 1 내지 25 %, 1 내지 20 %, 1 내지 15 %, 1 내지 10 % 또는 1 내지 5% 증가된다. 기타 구현예에서, 혈중 산소 포화도 수준은 약 2 내지 10 % 또는 2 내지 5% 증가된다.
- [0083] 상술된 지속 기간은 투여 기간 이후 적어도 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 또는 75 일일 수 있다. 기타 구현예에서, 지속 기간은 투여 기간 이후 적어도 28, 35, 42, 48 또는 56 일이다. 기타 구현예에서, 지속 기간은 15 내지 75 일, 15 내지 35 일, 또는 20 내지 35 일이다. 기타 구현예에서, 지속 기간은 20 내지 30 일, 25 내지 35 일 또는 25 내지 30 일이다. 기타 구현예에서, 지속 기간은 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29 또는 약 30 일, 또는 약 28 일, 또는 적어도 29 일이다. 기타 구현예에서, 지속 기간은 25 내지 75 일, 35 내지 75 일, 또는 45 내지 75 일이다. 기타 구현예에서, 지속 기간은 50 내지 75 일, 50 내지 70 일, 50 내지 65 일 또는 50 내지 60 일이다. 기타 구현예에서, 지속 기간은 약 50, 약 51, 약 52, 약 53, 약 54, 약 55, 약 56, 약 57, 약 58, 약 59 또는 약 60 일이고, 기타 구현예에서 지속 기간은 약 56 일이다.
- [0084] 일부 구현예에서, 상술된 방법은 유리하게 환자에게서 폐 악화의 감소된 발생률을 제공한다. 방법은 또한 유리하게도 폐가 악화되기까지의 시간을 증가시킨다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 폐 악화까지의 시간은 적어도 약 20 일이다. 기타 구현예에서, 상기 시간은 20 내지 100 일이다. 기타 구현예에서, 상기 시간은 25 내지 100 일, 30 내지 100 일, 35 내지 100 일 또는 40 내지 100 일이다. 기타 구현예에서, 상기 시간은 25 내지 75 일, 30 내지 75 일, 35 내지 75 일 또는 40 내지 75 일이다. 기타 구현예에서, 상기 시간은 30 내지 60 일이다.
- [0085] 일부 구현예에서, 구조 처치의 발생률이 감소된다. 기타 구현예에서, 구조 처치를 할 때까지의 시간은 감소되고, 예를 들어 환자가 폐 감염된 경우 항-감염 구조 처치는 감소된다. 일부 구현예에서, 상기 시간은 20 내지 100 일이다. 기타 구현예에서, 상기 시간은 25 내지 100 일, 30 내지 100 일, 35 내지 100 일 또는 40 내지 100 일이다. 기타 구현예에서, 상기 시간은 25 내지 75 일, 30 내지 75 일, 35 내지 75 일 또는 40 내지 75 일이다. 기타 구현예에서, 상기 시간은 30 내지 60 일이다.
- [0086] 일부 구현예에서, 상술된 방법에서 사용된 리포솜 아미카신 제형물은 아미카신 및 상술된 임의의 지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 인지질 및 스테롤, 예컨대 DPPC 및 콜레스테롤을 포함한다. 기타 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 DPPC 및 콜레스테롤을 약 2 대 1 중량비로 포함한다. 일부 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 약물에 대한 지질 중량 비율이 약 0.5 내지 약 1.0, 약 0.5 내지 0.7, 또는 약 0.6 이다. 기타 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물은 약물에 대한 지질 중량비가 약 0.3 내지 약 1.0 이고, 기타 구현예에서, 약물에 대한 지질 중량 비율은 약 0.5 내지 0.7, 또는 약 0.65 이다. 제형물 내 리포솜은 보정 (amend) 직경이 100 내지 1000 nm, 100 내지 500 nm, 200 내지 500 nm, 또는 약 300 nm 일 수 있다. 일부 구현예에서, 리포솜 아미카신 제형물 내 아미카신의 총 농도는 약 20 내지 100 mg/mL, 20 내지 90 mg/mL, 30 내지 90 mg/mL, 30 내지 80 mg/mL, 또는 40 내지 80 mg/mL 이다. 기타 구현예에서, 농도는 약 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90 mg/mL 이다.
- [0087] 일부 구현예에서, 상술된 방법은 하기를 포함한다:
- [0088] 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 제형물을 1 회 이상의 치료 사이클 동안 투여하는 것, 이때:
- [0089] 상기 치료 사이클은 약 28 일의 투여 기간 후, 약 28 일의 투여휴지기를 포함하고;
- [0090] 상기 유효량은 투여 기간 동안 매일 약 280 내지 약 560 mg 의 아미카신을 포함하고; 및
- [0091] 상기 리포솜 아미카신 제형물은 약 2:1 비율의 DPPC 및 콜레스테롤을 포함하고, 아미카신에 대한 지질 비율은 약 0.5 내지 약 0.7 임.
- [0092] 기타 구현예에서, 상기 방법은 하기를 포함한다:
- [0093] 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 제형물을 1 회 이상의 치료 사이클 동안 투여하는 것, 이때:
- [0094] 상기 치료 사이클은 약 28 일의 투여 기간 후 약 56 일의 투여휴지기를 포함하고;
- [0095] 상기 유효량은 투여 기간 동안 매일 약 280 내지 약 560 mg 의 아미카신을 포함하고; 및



- [0096] 리포솜 아미카신 제형물은 약 2:1 비율의 DPPC 및 콜레스테롤을 포함하고, 아미카신에 대한 지질 비율은 약 0.5 내지 약 0.7 임.
- [0097] 기타 구현예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 대상체에서 지속된 치료 효과를 제공하는 방법에 관한 것이다: 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 제형물을 1 회 이상 치료 사이클 동안 투여하는 것, 이때: 상기 치료 사이클은 15 내지 75 일의 투여 기간 후 15 내지 75 일의 투여휴지기를 포함하고; 및 유효량은 투여 기간 동안 매일 100 내지 2500 mg 의 아미카신을 포함함.
- [0098] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 폐 병태가 있는 환자에서 산소 포화도 수준을 개선시키는 방법에 관한 것이다: 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 제형물을 1 회 이상의 치료 사이클 동안 투여하는 것, 이때: 상기 치료 사이클은 15 내지 75 일의 투여 기간 후 15 내지 75 일의 투여휴지기를 포함하고; 및 유효량은 투여 기간 동안 매일 100 내지 2500 mg 의 아미카신을 포함함.
- [0099] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 폐 병태가 있는 환자에게서 FEV<sub>1</sub> 을 개선시키는 방법에 관한 것이다: 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 제형물을 1 회 이상의 치료 사이클 동안 투여하는 것, 이때: 상기 치료 사이클은 15 내지 75 일의 투여 기간 후 15 내지 75 일의 투여휴지기를 포함하고; 및 상기 유효량은 투여 기간 동안 매일 100 내지 2500 mg 의 아미카신을 포함함.
- [0100] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 박테리아성 폐 감염 환자의 폐 또는 가래에서 박테리아 밀도를 감소시키는 방법에 관한 것이다: 환자에게 유효량의 분무식 리포솜 아미카신 제형물을 1 회 이상 치료 사이클 동안 투여하는 것, 이때: 상기 치료 사이클은 15 내지 75 일의 투여 기간 후 15 내지 75 일의 투여휴지기를 포함하고; 및 상기 유효량은 투여 기간 동안 매일 100 내지 2500 mg 의 아미카신을 포함하며, 이때 상기 박테리아 밀도는 투여 마지막 날 이후 15 일 이상 동안 감소된 채로 있다.

## [0101] 실시예

### [0102] 재료 및 방법에 대한 도입

[0103] 지질 기재 또는 리포솜 아미노글리코사이드, 예컨대 아미카신, 흡입용 제형물은 흡입을 통한 투여에 맞게 고안된 나노규모의 리포솜 담체 내에 캡슐화된 아미노글리코사이드의 서방성 제형물이다. 이들 제형물의 폐 및 바이오필름 침투 특성에서 고농도의 아미노카신의 서방성 타겟팅은, 흡입 토브라마이신과 같이, "유리 (free)" 항생제의 흡입에 비해 수 가지 이점이 있다. 아미카신은 타겟팅된 지질-대-약물 비율을 약 0.6 ~ 0.7:1 (w/w) 로 하여 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC) 및 콜레스테롤로 이루어진 리포솜 내 캡슐화될 수 있다. 상술된 방법에서 유용한 ~70 mg/mL 리포솜 아미카신 제형물의 예를 하기에 제시한다:

구성 성분	농도
아미카신 <sup>1</sup>	~70 mg/mL
디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC)	~30 mg/mL
콜레스테롤	~15 mg/mL
1.5% NaCl	충분량

[0104]

[0105] <sup>1</sup> 아미카신 술페이트로서 제형물에 첨가한다, USP

[0106] 이들 제형물은 U.S. 공보 제 20060073198 호 또는 제 20080089927 호 (양자 모두 본원에서 참조로 인용됨) 에 기술된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0107] 이들 제형물은 *P. 아에루기노사*에 의한 만성 감염이 있는 CF 환자와 같이 폐 병태 치료에서 하기를 포함한 몇 가지 이점이 있다:

[0108] 1. 서방성으로 인해 고 농도 및 연장된 반감기를 획득함으로써 폐 내 아미카신의 연장된 항생 효과를 달성하는 능력.

[0109] 2. 저 전신 수준의 아미노글리코사이드로 폐 내 아미카신의 유효 농도를 타겟팅 및 증가시키는 능력.

[0110] 3. 지질 기재 또는 리포솜 아미노글리코사이드의 독특한 특성 결과로서 바이오필름 내 자라는 박테리아를 더 잘

타겟팅할 가능성.

- [0111] 4. 활성화된 다형핵 백혈구로부터의 포스포리파아제 A2 또는 디펜신 및/또는 박테리아로부터의 분비된 포스포리파아제 C 및 람노리피드의 타겟팅된 작용에 의해, CF 환자의 폐 내 감염 부위에서 약물의 추가적인 방출.
- [0112] 5. 아미카신은 아미노글리코시드 불활성화 효소에 대해 독특한 내성을 가진 반합성 아미노글리코시드이다. 결과적으로, 토브라마이신에 대해 내성이 있는 일부 *P. 아에루기노사* 균주는 아미카신에 대해 취약성인 채로 있을 가능성이 있을 것이다.
- [0113] 6. 아미카신은 콩팥 피질 아미노글리코시드 축적을 담당하는 전달체인 메갈린 (megalin) 에 대해 기타 아미노글리코시드보다 결합 친화력이 덜하여 내재적으로 콩팥독성에 관해서 더 낮은 잠재력을 갖는다.
- [0114] 7. 바이오필름 침투와 함께, 지질 기재 또는 리포솜 아미카신의 반감기 및 농도 곡선 하 면적 (area under the concentration curve; AUC) 양자 모두에서의 증가는 덜 빈번한 투여, 강화된 박테리아 활성화 및 내성 유기체의 선별에 대한 감소된 잠재력을 허용한다.
- [0115] 전임상 약물동력은, 60 mg/kg 용량의 에어로졸의 리포솜 아미카신을 수여받은 래트의 폐 내 아미카신의 AUC (0-48 hr) 가 흡입에 의해 동일한 용량의 토브라마이신을 수여받은 래트의 폐 내 토브라마이신의 AUC 보다 5 배 더 높았다고 증명하였다. 일반적으로, 10% 의 투여된 항생제는 래트의 경우 폐 내 퇴적된다. 역으로, 동일 투여량의 토브라마이신을 수여받은 래트의 신장 내 약물의 AUC 는 에어로졸의 리포솜 아미카신을 수여받은 래트의 신장 AUC 보다 상당히 높았다. 추가적으로, 래트 및 개에서의 30-일 흡입 독성학 연구 데이터에서는, 흡입식 리포솜 아미카신과의 안전성 약물학 문제는 없을 것이라고 시사한다.
- [0116] 슈도모나스 감염의 14 일 래트 모델 연구에서, 다른 군들보다 아미노글리코시드 누적 투여량의 절반을 효과적으로 전달하는, 14 일 간격으로 투여된 (Q2DX7) 60 mg/kg 의 리포솜 아미카신 (75 mg/mL) 이 14 일 동안 매일 하루에 2 회 제공된 토브라마이신 및 하루에 1 회 제공된 60 mg/kg 의 리포솜 아미카신만큼 효과적이었음을 언급했다. 상기 모델에서 28 일 투여로는, 매일 ~60 mg/kg 투여 또는 격일로 ~120 mg/kg 투여된 리포솜 아미카신을 수여받은 동물에서 CFU 가 동일하게 감소되었다. 14 일 동안 하루에 1 회 120 mg/kg 로 투여되는 리포솜 아미카신은 28 일 동안 (하루에 2 회 투여되는) 토브라마이신 60 mg/kg/일만큼 유효하였는데, 이는 하루에 1 회 120 mg/kg 로 투여되는 리포솜 아미카신으로 할 경우 AUC 가 더 높고, 가능하게는 연장된 후-항생 효과를 나타냄을 시사한다 (실시예 3 참조).
- [0117] 동물 모델에서 흡입을 통한 리포솜 아미카신의 투여는 박테리아의 MIC 보다 증가된 폐 (AUC) 결과를 나타내었고, 토브라마이신과 비교시 감소된 빈도수 및 투여 기간과 함께, 유지된 치료 효과를 입증하였다. 중요한 것은, 리포솜 아미카신에 대한 전임상 데이터가 폐 조직의 신속한 청소물에 의해 잦은 투여를 필요로 하여 (Geller, Pitlick et al. 2002) 환자에게 부담을 주고 환자 순응도에 제한을 줄 수 있음으로써 걸림돌이 되는 다른 흡입 제품보다 상기 특이적 제형물이 유리할 수 있다는 가설을 지지하는 것처럼 보인다는 것이다.
- [0118] 추가적으로, 임상적 경험에 따르면, 14 일 동안 하루에 1 회 500 mg 로서 투여된 분무식 리포솜 아미카신 50 mg/mL 이 내약성이 좋고, CF 환자에게서 *P. 아에루기노사* 밀도 감소 및 폐 기능에 대해서 임상적으로 관련 있는 효과를 도모한다고 증명하였다. 또한, PK 데이터의 평가는 리포솜 아미카신에 대한 전신 노출이 심지어는 500 mg 투여량으로 할 때 매우 낮다고 나타났다. 소변에서 회수된 아미노글리코시드의  $C_{max}$  또는 AUG 또는 mg 에 의하면, 흡입에 의해 제공된 리포솜 아미카신과 연관된 아미노카신에 대한 관찰된 전신 노출은, 600 mg/d 의 TOBI 로 나타냈을 때의 약 1/5 내지 1/4 노출이고, 통상적인 비경구적 아미카신의 투여와 비교시 1/200 미만이다. 상기 데이터는 고수준의 아미카신이 가래에서 달성됨을 추가로 시사한다. 가래에 대한 중앙 AUC 값은 제 1 일 및 제 14 일 각각에서 혈청에 대한 중앙 AUC 값보다 290 및 980 배 더 컸다.
- [0119] 흡입식 리포솜 아미카신은 연장된 타겟팅된 폐 노출을 유지하고, 감염 부위에 대한 약물의 흡수를 강화시킨다. *P. 아에루기노사*에 만성적으로 감염된 CF 환자가 다중 용량의 리포솜 아미카신 50 mg/ml 을 수여받는 인간 임상 단계 1b/2a 연구의 데이터를 이용하는, 본원에서 기술된 분석 목표는 3요소였다: (1) 집단 약물동력 (population pharmacokinetic; PK) 모델링을 이용하여, 대략적인 전신 생이용가능성을 포함해 아미카신 전신 노출을 특성화함; (2) 가래 내 리포솜 아미카신의 경향을 특성화함; 및 (3) 제 7 일 및 제 14 일에서의 기준선과 비교된 *P. 아에루기노사* 콜로니 형성 단위 (CFU) 및 아미카신 노출에서, 1 초 내 강제호기폐활량 ( $FEV_1$ ) 의 변화, 1 초 내 예상% 강제호기폐활량 변화 ( $FEV_1$  예상%), 25-75% 의 강제폐활량 (forced vital capacity) ( $FEF_{25-75}$ )

75%) 과 강제폐활량 (FVC) 간 강제 호기량 (forced expired flow) 사이의 약물동력-약력학 (PK-PD) 관계를 특성화함.

[0120] 리포솜 아미카신으로 한 전임상 연구

[0121] 수 가지 전임상 연구를 20 및 50 mg/mL 제형물로 수행했다. 시험관 내 및 생체 내 모델에서 리포솜 아미카신의 항-슈도모나스 활성을 증명하였다. 추가적으로, 연구들은 슈도모나스에 의해 분비된 독성 인자가 리포솜으로부터 아미카신의 추가 방출을 촉진하는 것을 확인하였고, 래트 및 개의 폐에서 아미카신의 퇴적 및 지속된 방출을 특성화하였다. 두 종에서의 리포솜 아미카신의 30 일 투여의 안전성을 또한 성립하였다.

[0122] 비(非)임상 약물동력은, 분무를 통해 60 mg/kg 투여량의 리포솜 아미카신을 수여받은 래트의 폐 내 아미카신의 AUC (0-48 hr) 가 흡입을 통해 동일 투여량의 토브라마이신을 수여받은 래트의 폐 내 토브라마이신의 AUC 보다 5 배 더 높다는 것을 증명하였다. 고수준의 아미카신은 폐 내에서 유지되었는데 (150 시간 줄곧 >250  $\mu$ g/mL), 이는 데포 효과를 시사한다. 반대로, 토브라마이신의 폐 수준은 투여의 중단 6 시간 내에 검출불가능했다. 역으로, 동일 투여량의 토브라마이신을 수여받은 래트의 신장 내 약물의 AUC 는 리포솜 아미카신 에어로졸을 수여받은 래트의 AUC 보다 상당히 높았다. 동물의 혈청 및 소변에서 아미노글리코시드의 AUC 에 있어서는 유의한 차이는 없었다; 혈청 수준은 24 시간 이후에는 검출할 수 없었다. 상기 프로파일은 분무식 리포솜 아미카신의 투여 후에 폐 내 아미카신의 데포 효과 및 의도된 유지된 방출을 지지하는데, 이는 잠재적으로 강화된 효능 프로파일을 나타낸다. 리포솜 아미카신에 대한 상기 데이터는, 상기 특이적 제형물이, 폐 조직의 신속한 청소율에 의해 잦은 투여를 필요로 하며 (Geller, Pitlick et al. 2002) 환자에게 부담을 줌으로써 걸림돌이 되는 다른 흡입 제품들보다 유리할 수 있다는 가설을 지지하는 것으로 보인다. 추가적으로, 래트 및 개에서의 30-일 흡입 GLP 독성학 연구로부터의 독성동태학 데이터는, 필적할만한 혈장 및 소변 수준으로, 유리 아미카신 처리군과 비교했을 때 아미카신 개의 폐 퇴적이 15 배 증가한다고 나타냈는데, 이는 저 전신 노출과 함께 고 폐 농도를 나타낸다.

[0123] 리포솜 아미카신의 약력학 효과를 슈도모나스로의 만성 폐 감염된 래트 모델에서 생체 내 평가하였다 (Cash, Woods et al. 1979). 14 일 슈도모나스 감염 모델에서, 60 mg/kg 의 리포솜 아미카신 (75 mg/mL) 을 격일로 14 일 동안 투여하였다 (Q2D x 7). 이 요법은 60 mg/kg 의 리포솜 아미카신 (14 일 동안 1 일 1 회 제공), 및 토브라마이신 (14 일 동안 1 일 2 회 제공) 만큼 유효하였다. 투여를 28 일까지 연장하는 경우, ~60 mg/kg 로 매일 또는 ~120 mg/kg 로 격일로 투여된 리포솜 아미카신을 수여받은 동물에게서는 CFU 가 동일하게 감소되었다. 또한, 상기 실험에서, 14 일 동안 하루 1 회 120 mg/kg 로 투여된 리포솜 아미카신은 28 일 동안 (하루 2 회 투여된) 토브라마이신 60 mg/kg/일만큼 유효하였다. 이는 1 일 1 회 120 mg/kg 투여된 리포솜 아미카신으로 할 경우 높은 AUC 및 연장된 후-항생 효과를 지시하였다. 따라서, 전임상 약력학 데이터는 흡입을 통한 폐로의 약물의 부위-특이적 전달에 의해 강화된 지속적 항균 이익과 일치하였다.

[0124] 따라서, 흡입을 통한 리포솜 아미카신의 투여는, 감소된 빈도 및 투여 기간과 함께 지속된 치료 효과를, 특히 토브라마이신과 비교했을 경우에 제공하는 잠재성과 더불어 박테리아의 MIC 보다 수 배 증가된 폐 농도 (AUC) 를 도모하였다.

[0125] 실시예 1

[0126] 단계 1b/2a 연구

[0127] 상기 집단 PK 분석에 사용된 데이터를, *P. 아에루기노사*에 만성적으로 감염된 CF 환자에게 14 일 동안 매일 총 500 mg 의 리포솜 아미카신을 (세션 사이에 5 분의 휴식 기간을 둔 각 20 분의 두 세션으로) 투여한 두 인간 임상 단계 1b/2a 연구로부터 수집하였다.

[0128] 아미카신 혈청 샘플을, 예비-투여 (pre-dose), 및 제 1 일 및 제 14 일에 투여후 (post-dose) 1, 2, 4, 6, 8, 12 및 24 시간에 취득하였고, 소변 샘플을 24 시간 기간 동안 제 1 일 및 제 14 일에 6 시간 간격으로 수집하였다. 가래 샘플을 또한 투여 직 후 제 1 일 및 제 14 일에, 익일과 제 14 일, 제 21 일 및 제 28 일에 투여 실행 이전 및 투여 실행 이후 4 및 6 시간 사이에 수집하였다. 혈청, 가래 및 소변 샘플을 액체 크로마토그래피-질량 분광/질량 분광 (LC-MS/MS) 을 이용하여 아미카신에 대해 분석하였다.

[0129] 폐 기능 테스트 (PFT) 를, 제 -14 일 내지 제 0 일 스크리닝 동안 및 기준선 (즉, 제 1 일 투여 실행 이전) 및 제 1 일, 제 7 일, 제 14 일, 제 21 일, 제 28 일, 제 35 일 및 제 42 일에 실시했다. 추가적인 PFT 를 제

1 일 및 제 14 일에 투여후 1.5 시간 및 3 시간에 수행했다.

[0130] 약물동력 분석

[0131] 데이터를 S-ADAPT 1.53 로 실행한 대로 Monte Carlo Parametric Expectation Maximization (MC-PEM) 를 이용하여 후보 PK 모델에 의해 적합 (fit) 하였고, 처음에는 혈장 농도를 적합시킨 다음 혈청 및 소변 데이터를 공동-모델링 (co-modeling) 하였다. 모델 차이는 목적 함수 변화 및 데이터의 적합을 기준으로 하였다. 혈청 아미카신 값에 대해서 항정 상태의 24 시간 곡선하 면적 (AUC) 을 최종 집단 PK 모델로부터 사후 검정 (post-hoc) 매개변수 견적을 이용하여 산출하였다. 환자 인구통계와 개별 사후 검정 매개변수간 공변인 관계를 먼저 그래프로 평가한 다음 SYSTAT® 11 (SYSTAT Software, Inc., Richmond, CA) 을 이용하여 만든 통계 모델을 이용하였다. 제 1 일 및 제 14 일에 0 내지 24 시간의 가래 AUC 값을 선형 사다리꼴 법칙을 이용하여 수득하였다.

[0132] PK-PD 분석에 대한 의존 변수에는, 기준선 (제 1 일의 투여 시행 이전) 에 대한 제 7 일 및 제 14 일에 FEV<sub>1</sub>, % 예상 FEV<sub>1</sub>, FEF<sub>25-75%</sub> 및 FVC 에 대한 PFT 값 변화 및 기준선에 대한 상기 일들 각각에서의 log<sub>10</sub> CFU 의 변화가 포함된다. 평가된 독립 변수에는, 기준선 최소 억제 농도 (MIC) 에 대한 혈청 및 가래의 평균 24 시간 AUC 비, *P. 아에루기노사*에 대한 AUC:MIC 비가 포함된다. 평균 24 시간 혈청 및 가래 AUC 는 제 1 일 및 제 14 일 AUC 값들의 평균을 취해 컴퓨터 산출하였다.

[0133] 1-샘플 t-테스트를 이용하여, 상술된 의존 변수 각각에 대한 기준선으로부터의 평균 변화의 통계적 유의를 평가하였다. 스피어만의 랭크 상관관계 (Spearman's rank correlation; r<sub>s</sub>) 를 이용하여, 혈청 및 가래에 대한 AUC:MIC 비 및 각각의 의존 변수간 관계의 방향 및 강도를 평가하였다. 기준선으로부터의 log<sub>10</sub> CFU 변화 및 기준선으로부터의 PFT 값 각각의 변화 관계의 방향 및 강도도 또한 평가했다.

[0134] 결과

[0135] 두 연구를 총 24 명의 환자들 (연구 1 에서는 환자 13 명 및 연구 2 에서는 환자 11 명으로 함) 로 완료하였다. 모든 환자들의 중앙 (최소, 최대) 연령은 23.7 (14, 38) 세였고, 기준선에서 중앙 (범위) 크리아티닌 청소 (CrCL) 는 126 (76.8, 173) mL/min/1.73m<sup>2</sup> 였다.

[0136] 혈청 농도 데이터에 대한 가장 강건한 적합을, 폐로의 0차 약물 입력, 폐에서부터 중심 구획으로까지의 1차 프로세스 및 선형 제거로 하는 2-구획 모델 (하나의 흡수 부위, 폐 및 중심 구획) 을 이용하여 수득했다. 제 1 일 및 제 14 일 간 걸보기 전체 청소 (CLt/F) 및 걸보기 분포 중심 체적 (Vc/F) 에 대한 상호-일시 변동 (inter-occasional variation) 을 허용여, 목표 함수를 통계적으로 개선하였다. 소변 데이터를, 수집 간격에서 회수된 아미카신 양을 혈청 농도 및 신장 청소 (CLr) 의 함수로서 적합시켜 모델링하였다. 표 1 은 적합한 PK 매개변수 값의 요약이다.

[0137] 표 1. 상호-일시 변동성을 갖는 흡입용 리포솜 아미카신에 대한 구조적 집단 약물동력 모델 -매개변수 견적 및 표준 오차

매개변수	집단 평균		개체간 변동성 (%CV)	
	최종 견적	%SE	최종 견적	%SE
CLt/F 제 1 일 (L/hr)	68.4	10.3	48.7	29.9
Vc/F 제 1 일 (L)	286	12.3	59.0	29.7
ka (hr <sup>-1</sup> )	3.34	32.5	99.8	50.5
CLr (L/hr)	3.40	15.4	63.9	36.7
CLt/F 제 14 일 (L/hr)	45.2	8.01	37.1	30.7
Vc/F 제 14 일 (L)	250	8.51	27.0	30.8
SDint <sub>혈청</sub>	0.05	6.02		
SDslp <sub>소변</sub>	0.70	9.16		
SDint <sub>소변</sub>	0.03			
목적 함수의 최소값 = -258.6				

[0138]



[0139] 관찰 적합도 대 베이스 (Bayesian) 사후 검정 개별 적합된 혈청 농도 데이터는 우수하였고, 전체  $r^2$  는 0.98 이었다.

[0140] 혈청 및 가래 데이터에 대한 AUC 값을 표 2 및 3 에 각각 나타낸다. 가래에 대한 중앙 AUC 값은 제 1 일 및 제 14 일 각각 때에 혈청에 대한 중앙 AUC 값보다 286 및 978 배 컸다. CV% 값이 더 큰 것에서 입증되듯이, 혈청 AUC (제 1 일에는 51.9% 및 제 14 일에는 42.4%) 값과 비교할 때, 더 큰 변동성이 가래에서 뚜렷했다 (제 1 일에는 117% 및 제 14 일에는 91.2%).

[0141] 표 2. 혈청 AUC 값<sup>1</sup>의 개요 - 모든 환자

연구 일	N	평균	표준편차	최소	중앙	최대
제 1 일	24	8.27	4.29	3.67	6.88	20.1
제 14 일	24	12.0	5.08	5.65	10.8	30.1

[0142]

[0143] <sup>1</sup>AUC 값을 mcg/mL · hr 로 표기

[0144] 표 3. 가래 AUC 값<sup>1</sup>의 개요 - 모든 환자

연구 일	N	평균	표준편차	최소	중앙	최대
제 1 일	20	3830	4500	78.70	1970	17200
제 14 일	19	12500	11400	1740	10578	50000

[0145]

[0146] <sup>1</sup>AUC 값을 mcg/mL · hr 로 표기

[0147] 혈청 ( $r^2 = 0.98$ ) 및 소변 ( $r^2 = 0.38$ ) 농도는 각각 매우 그리고 적당히 모델에 의해 피팅 (fitting) 되었다. 제 7 일, 제 14 일 및 제 21 일에, FEF<sub>25-75%</sub> 에 대한 관찰된 변화는 각각 0.49 ( $p < 0.001$ ), 0.42 ( $p = 0.02$ ) 및 0.34 L/sec ( $p = 0.04$ ) 였다. 제 7 일 및 제 14 일에, FEV<sub>1</sub> 에 대한 관찰된 변화는 각각 0.24 ( $p = 0.002$ ) 및 0.13 L ( $p = 0.10$ ) 이었고, 예상 % FEV<sub>1</sub> 은 7.49 ( $p < 0.001$ ) 및 4.38 L/sec ( $p = 0.03$ ) 였다. log<sub>10</sub> CFU 와 혈청 AUC:MIC 비 사이, 및 log<sub>10</sub> CFU 와 FEV<sub>1</sub>, 예상 % FEV<sub>1</sub> 및 FVC 에서의 변화 사이의 유의한 관계 ( $p < 0.05$ ) 를 동정하였다.

[0148] 기준선 및 제 14 일 PFT 데이터는 모든 24 명의 환자들에 대해서 입수가가능하였고, 제 7 일 및 제 21 일에 수행된 PFT 에 대한 데이터는 23 명의 환자에 대해서 입수가가능하였다. 미생물학 데이터는 모든 24 명의 환자들에 대해서 입수가가능하였다. 연구 2 에 있어서, 제 1 일에 투여되기 전에 수집된 MIC 값은 기록하지 않았기 때문에, 스크리닝 MIC 값과 CFU 카운트를 기준선 값으로서 사용했다.

[0149] 1-샘플 t-테스트를 이용하여, 상술된 의존 변수 각각에 대한 기준선으로부터의 평균 변화의 통계적 유의를 평가하였다. 스피어만의 랭크 상관관계 ( $r_s$ ) 를 이용하여, 각각의 의존 변수와 혈청 및 가래에 대한 AUC:MIC 비 간 관계의 방향 및 강도를 평가하였다.

[0150] 기준선에 대한 제 7 일에서의 PFT 값의 평균 변화는 모든 PFT 단점들 (endpoint) 에 대해 통계학적으로 유의했다. 기준선에 대한 제 14 일에서의 FEV<sub>1</sub> 예상% 및 FEF<sub>25-75%</sub> 의 평균 변화도 또한 통계학적으로 유의했다 (각각,  $p = 0.029$  및  $p = 0.016$ ). 제 21 일까지, 기준선에 대한 FEF<sub>25-75%</sub> 의 평균 변화는 여전히 통계학적으로 유의한 ( $p = 0.036$ ) 단일 PFT 였다. 고려된 연구 날짜 (day) 와 관계없이, 기준선으로부터의 log<sub>10</sub> CFU 에서의 평균 변화는 통계학적으로 유의하지 않았다.

[0151] 표 4 에 나타낸 바와 같이, 기준선으로부터의 PFT 값에서의 변화와 가래 또는 혈청 AUC:MIC 비 변화의 상관관계

는, 제 7 일 또는 제 14 일에서 변화가 평가되었는지 여부와 관계없이 통계학적으로 유의하지 않았다. 표 5에 나타난 바와 같이, 기준선으로부터의  $\log_{10}$  CFU 에서의 변화와 혈청 AUC:MIC 비 변화의 상관관계는 제 7 일 또는 제 14 일 모두에서 통계학적으로 유의하였다. 혈청 AUC: MIC 비 증가는, 기준선에 대한 제 7 일에서 ( $r_s = -0.46$ ,  $p = 0.048$ ) 및 제 14 일에서 ( $r_s = -0.45$ ,  $p = 0.048$ ) 의  $\log_{10}$  CFU 의 큰 감소와 관련있다.

[0152]

기준선에 대한 제 7 일 및 제 14 일에 PFT 값과  $\log_{10}$  CFU 모두에서의 변화의 상관관계는  $FEV_1$ ,  $FEV_1$  예상 %, 및 FVC 에 대해서 통계학적으로 유의했다 ( $p < 0.05$ ).

[0153]

**표 4.** 기준선으로부터의 폐 기능 테스트의 변화와 혈청 및 가래 AUC:MIC 비변화의 관계 - 모든 환자

연구일 AUC:MIC	스피어만의 랭크 상관관계	기준선으로부터의 PFT 값의 변화			
		$FEV_1$	$FEV_1$ % 예상	$FEF_{25-75\%}$	FVC
제7일 혈청	$r_s^2$	0.072	0.0066	< 0.0001	0.021
	p 값	0.21	0.71	0.97	0.51
제14일 혈청	$r_s^2$	0.046	0.0073	0.00018	0.0012
	p 값	0.31	0.69	0.95	0.87
제7일 가래	$r_s^2$	0.033	0.040	0.0085	0.19
	p 값	0.46	0.41	0.71	0.06
제14일 가래	$r_s^2$	0.025	0.052	0.0053	0.06
	p 값	0.51	0.35	0.77	0.31

[0154]

[0155]

**표 5.**  $\log_{10}$  CFU 변화와 혈청 및 가래 AUC:MIC 비 변화의 관계 - 모든 환자

연구 일 AUC:MIC	스피어만의 랭크 상관관계	$\log_{10}$ CFU
제7일 혈청	$r_s^2$	0.21
	p 값	0.048
제14일 혈청	$r_s^2$	0.20
	p 값	0.048
제7일 가래	$r_s^2$	0.017
	p 값	0.64
제14일 가래	$r_s^2$	0.0031
	p 값	0.84

[0156]

[0157]

제 7 일 및 제 14 일 모두에서 기준선으로부터의 *P. 아에루기노사*의  $\log_{10}$  CFU 에서의 평균 변화가 통계학적으로 유의하지 않았지만, 상기 시점 모두에서 기준선으로부터의  $\log_{10}$  CFU 변화와 혈청 AUC:MIC 비 변화의 상관관계는 통계학적으로 유의하였다; 혈청 AUC:MIC 비의 증가는  $\log_{10}$  CFU 감소와 관련있다. 반대로, 상기 관계는 가래 AUC:MIC 에서는 유지되지 않았으며, 리포솜 아미카신의 가래 동역학에서는 큰 변동성이 확인되었으며, TOBI 로도 또한 그러했다 (Geller, Pitlick et al. 2002).

[0158]

$\log_{10}$  CFU 변화와 혈청 AUC:MIC 비 변화의 유의한 관계, 및 PFT 값과  $\log_{10}$  CFU 변화의 유의한 관계, 및 흡입용 리포솜 아미카신으로의 치료 2 주 동안 *P. 아에루기노사*의  $\log_{10}$  CFU 의 상당한 감소 부재는, 많은 환자 집단에

서 더욱 신뢰할정도로 유효하기 위해서, 더 많은 투여량이 요구될 수 있다는 것을 시사한다.

**단계 1a/2b 연구의 개요**

리포솜 아미카신 50 mg/mL 을 이용하는 두 가지의 단계 1b/2a 연구를 완료하였다. 두 연구들은 설계 면에서 유사하였다. 총 24 명의 CF 환자 (예상% FEV<sub>1</sub> ≥40) 는 14 일 동안 매일 500 mg 리포솜 아미카신을 수여받았다. 상기 약물은 PARI LC Star 분무기를 이용하여 세션 사이에 5 분의 휴식 기간을 둔 두 20 분-흡입 세션 기간에 걸쳐 투여하였다. 13 명의 환자가 연구 1 에, 11 명의 환자가 연구 2 에 등록하였다. 환자 인구통계는 기준선에서의 슈도모나스 MIC 를 제외하고는 유사하였다. 연구 1 에서, 평균 MIC (µg/mL) 은 8 (범위 1.5- 16) 이었고, 연구 2 에서, 평균 MIC 는 41 µg/mL (범위 8-192) 였다. 연구 2 에 등록된 환자는 흡입 항생제에 대한 사전 경험이 있었고, 프로토콜에 따라 연구의 제 28 일 후에 TOBI®/Colistin 으로 치료 재개하는 것이 허용되었다. 연구 1 의 환자는 흡입 항생제에 경험이 없으며, 후속 (follow-up) 기간 동안 추가의 흡입 항생제를 수여받지 않았다. 500 mg 투여량의 리포솜 아미카신 (50 mg/mL) 은 내약성이 좋고, 내부 선발 환자들은 폐 기능을 개선시키고 가래 내 *P. 아에루기노사*의 밀도를 감소시켰다. 연구 1 및 2 (조합) 에 대한 환자 인구통계의 상세사항을 표 6 에 나타낸다.

**표 6.** 연구 1 및 2 에서의 환자 인구통계

변수	평균	표준 편차	중앙	최소	최대
연령	23.7	6.96	22.5	14.0	38.0
체중 (kg)	59.1	13.0	58.6	43.4	99.6
키 (cm)	168	8.10	168	155	194
IBW (kg)	61.4	8.99	60.0	47.9	87.7
CrCL (mL/min)	125	20.9	126	76.8	173

이들 인간 임상 단계 1b/2a 연구에서의 모든 효능 분석은 사실상 탐구를 위한 것이었다. 효능 단점 (endpoint) 은 하기를 포함한다:

가래에서의 *P. 아에루기노사* 밀도에 대해서 기준선으로부터의 변화 (log<sub>10</sub> CFU/g);

폐 기능 테스트에서 기준선으로부터의 변화 (FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub> 예상%, FVC, 및 FEF<sub>(25-75%)</sub>).

제 14 일에서 *P. 아에루기노사* 가래 밀도, FEV<sub>1</sub>, 및 FEV<sub>1</sub> 예상% 의 변화를 주요 효능 단점 (endpoint)으로서 동정하였다.

가래 샘플의 정량 배양 및 후속되는 각 형태학적으로 별개인 *P. 아에루기노사*의 아미카신 취약성 시험을 수행했다. 스크리닝 및 제 14 일에 각 대상체로부터 배양된 가장 높은 MIC 를 갖는 단리체에 대한 아미카신의 MIC 를 기록하였다. 가래 내 *P. 아에루기노사*의 밀도 (가래 1 g 당 CFU) 를, 모든 형태형 전부의 log<sub>10</sub> 값으로서 산출하였다.

조합된 집단 (n=24) 에 대한 기준선 특징들의 개요를 표 7 에 나타낸다.



[0169] 표 7. 연구 1 및 2 에서 환자에 대한 기준선 측정

변수	평균	표준 편차	중앙	최소	최대
FEV1 (L)	2.38	1.07	2.18	1.15	6.10
예상 FEV1 % (L/sec)	65.5	18.9	62.5	40.0	119
FEF25-75 (L/sec)	1.71	1.26	1.49	0.55	5.50
FVC (L)	3.32	0.92	3.27	1.67	5.28
Log10 CFU 카운트	7.05	1.3	7.3	3.51	8.98
MIC (mcg/mL)	35	56	10	2	192

[0170]

[0171]

**연구 1:** 이 연구에서 아미카신 (아미카신 MIC <64 µg/mL) 에 민감한 *P. 아에루기노사* 단리체로 감염된 CF 환자, 및 흡입 항생제에 경험이 없는 상기 대상체를 등록하였다. 2 주 동안 1일 1 회 리포솜 아미카신 500 mg 의 투여하면, 기준선으로부터 제 14 일까지 *P. 아에루기노사*의 카운트의 log 합계 평균 변화가 1.09 임을 보였다 (n=13; 95% 신뢰 구간, 2.09 내지 0.09). 카운트의 감소가 13 명의 환자 중 9 명에게서 관찰되었다. 리포솜 아미카신으로의 치료는 *P. 아에루기노사*의 내성 균주의 선택을 일으키지 않았다. 평균 *P. 아에루기노사* 아미카신 MIC 는 제 0 일에는 8.04 µg/mL 이었고, 제 14 일에는 30.79 µg/mL 였다. 제 14 일에, 한 대상체에서의 단일 단리체는 비(非)민감성 MIC 를 가졌다 (>256 µg/mL); 다른 모든 제 14 일 단리체들은 아미카신에 민감성이 있었다. 어떠한 인간도 입원하지 않거나, 정맥 항-슈도모나스 항생제를 수여받지 않았다. 추가로, +260 mL 의 제 14 일까지 기준선으로부터의 FEV<sub>1</sub> 증가로써 측정된 바와 같이 폐 기능의 개선이 존재 하였다 (n=13; 95% 신뢰 구간, +30 mL 내지 +500 mL). 제 14 일까지 기준선으로부터의 FEV<sub>1</sub> 예상% 에서의 상응하는 변화는 +7.32% 였다. FEV<sub>1</sub> 의 증가는 13 명의 환자 중 9 명에서 관찰되었다. 또한 FEF<sub>(25-75%)</sub> (평균: 570 mL) 및 FVC (평균: 180 mL) 의 증가가 주목되었다.

[0172]

**연구 2:** *P. 아에루기노사*에 감염되고, 흡입 항생제 치료 경험이 있는 CF 환자 집단에서 연구 2 를 수행했다. 이들 환자에게는, 2 주간 매일 (q.d.) 리포솜 아미카신 500 mg 의 투여하면, 연구 동안 *P. 아에루기노사* 밀도에서 어떠한 상당 변화도 보이지 않았었다 (제 1 일부터의 변화에 대한 p-값 ≥ 0.297). 류코이드 *P. 아에루기노사*가 있는 환자 비율은 연구 내내 변함없었다. FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub> 예상%, FVC, 및 FEF (25-75%) 에서의 통계학적으로 유의한 변화는 리포솜 아미카신 500 mg 의 투여 이후에 관찰되지 않았다. 그럼에도 불구하고, FEV<sub>1</sub> 예상%, FVC, 및 FEF<sub>(25-75%)</sub> 의 개선을 시사하는 동향이 제 7 일, 제 14 일 (치료 마지막), 및 제 15 일에 관찰되었다.

[0173]

통합된 효능 개요: 연구 1 및 2

[0174]

연구 1 및 2 에서 24 명의 환자의 조합된 집단 데이터를 하기 표 8, 9, 10, 및 11 에 요약하였다. *P. 아에루기노사*의 log<sub>10</sub> CFU 변화의 미생물학적 단-점 (end-point) 은 조합된 집단 내 박테리아 밀도의 감소를 증명하였으나, 이는 통계적 유의성을 획득하지는 않았다. 그러나, 흡입 항생제 경험이 없는 환자로부터의 데이터를 분석한 경우에는 (연구 1), CFU 의 통계학적으로 유의한 감소가 치료 종료 때 관찰되었다. 상기 효과를 설명할 수 있는 인자들은, 가래 샘플에서의 내재적 변동성, 방법론에 있어서 상호-실험실 변동성 및 정량적 미생물학의 보고 및 연구 2 에서 고도의 MIC 를 갖는 환자 등록 (내성 단리체 포함) 이다. 상기의 것 모두는 각 연구의 소형 샘플 크기에 의해 추가로 복잡해지게 된다.

[0175]

폐 기능 테스트의 측정에 의한 임상적 혜택의 평가는, +240 mL 라는 기준선으로부터 제 7 일까지의 FEV<sub>1</sub> 증가에 의해 측정된 바와 같이 폐 기능에서 통계학적으로 유의한 개선을 나타내었다 (n=23; p-값 0.0024). 제 14

일에서의 효과는 FEV<sub>1</sub> 에 있어서 통계학적으로 유의하지 않은 기준선으로부터 126 mL 증가였다. 기준선으로부터 제 7 일까지 FEV<sub>1</sub> 예상% 의 상응하는 통계학적으로 유의한 증가는 +7.49% (n=24; p-값 0.0002) 이었고, 및 제 14 일에서는 +4.37% (n=24; p-값 0.0285) 이었다. 폐 기능의 개선은, 또한 제 7 일 때에 FEF<sub>(25-75%)</sub> 에 의해 측정된 소형 기도의 평가, 즉 +494 mL 증가 (n=23; p-값 0.001) 및 제 14 일때에는 +423 mL (n=24; p-값 0.0162) 로 나타난 것으로 주목되었다. 이들 데이터는 14 일 코스의 리포숨 아미카신 치료를 수여받은 만성 슈도모나스 감염의 CF 환자에게서 폐 기능이 임상적으로 의미있게 개선되었음을 지지한다.

표 8. 모든 환자에게서 각종 시간점에서 기준선으로부터의 FEV 변화

시간 점	N	평균	CV	p-값
제 7 일 (예비-투여)	23	0.24	1.4	0.0024
제 14 일 (예비-투여)	24	0.126	2.86	0.1006
제 21 일	23	0.073	4.91	0.3397

표 9. 모든 환자에게서 각종 시간점에서 기준선으로부터의 예상% FEV 의 변화.

시간 점	N	평균	CV	p-값
제 7 일 (예비-투여)	23	7.491	1.09	0.0002
제 14 일 (예비-투여)	24	4.379	2.10	0.0285
제 21 일	23	2.713	3.25	0.1544

표 10. 모든 환자에게서 각종 시간점에서 기준선으로부터의 FEF<sub>25-75</sub> 의 변화

시간 점	N	평균	CV	p-값
제 7 일 (예비-투여)	23	0.494	1.26	0.001
제 14 일 (예비-투여)	24	0.423	1.89	0.0162
제 21 일	23	0.338	2.15	0.0361

표 11. 모든 환자에게서 각종 시간점에서 기준선으로부터의 CFU 의 변화

시간 점	N	평균	CV	p-값
제 7 일	19	-0.154	-7.37	0.5616
제 14 일	20	-0.315	-4.42	0.3242
제 21 일	20	0.24	5.4	0.4182

## 실시예 2

### 단계 1 임상 연구

두 가지의, 단계 1 단일 투여 임상 연구들을 각각 건강한 자원자 및 CF 환자에게서 20 및 50 mg/mL 리포숨 아미카신 제형으로 완료하였다. 6 명의 건강한 자원자는 단일 투여로 120 mg 의 리포숨 아미카신을 수여 받았는데, 이를 잘 인내하였으며, 46 시간의 측정된 반감기로 폐 내 방사선표지된 리포숨의 연장된 체류를 보였다.

인간 임상 단계 I 연구 (연구 3) 에서는, 만성 *P. 아에루기노사* 감염이 있는 CF 대상체에 리포숨 아미카신을 투여하였다. 단일 투여량의 90 mg (n=6), 270 mg (n=6), 또는 500 mg (n=4) 를 CF 대상체에 투여하여 흡입용

리포솜 아미카신의 안정성, 내약성 (tolerability) 및 약물동력을 평가하였다. Pari LC Star 분무기를 통한 흡입에 의한, 단일 투여량 투여의 리포솜 아미카신 또는 플라세보로 하는 총 24 명 환자 투약 세션을 평가하였다. 두 가지 심각한 부작용이 보고되었다 (둘 모두 플라세보 군에서 발생함). 두 부작용은 휴유증 없이 회복되었다. 총 41 가지 부작용 (AE) 을 시도 도중 24-환자 세션 투약군 중 17 명이 (71%) 경험하였다. 보고된 AE 중에서, 부작용이 보고된 16 명의 환자들 중 10 명 (62.5%) 은 활성 군에 속했고, 8 명의 환자들 중 7 명 (87.5%) 은 플라세보 군에 속했다. 두통이 활성 군에서 보고된 가장 흔한 AE 였으며, AE 로 인해 어떠한 환자들도 연구에서 중단되지는 않았다. 리포솜 아미카신은 내약성이 좋았고, 흡입을 통한 단일 투여량의 500 mg 투여까지는 안전했다.

[0188] 추가적으로, PK 데이터는 최소 전신 약물 수준 및 약물의 고 가래 수준을 확인했고, 약력학 모델링은 짐작으로 리포솜의 서행 방출로 인해 장기간의 제거 반감기를 추정한다.

### [0189] 실시예 3

#### [0190] 단계 2 임상 연구

[0191] 연구 설계는 도 4 에 요약하였다. 이 연구에 포함된 환자는 만성 *P. 아에루기노사* 감염을 앓는 6 세 이상의 CF 환자들이었다. 환자에게 연구 시작 전 28 일 동안 흡입 항생제를 금지하였다. 환자를 기준선 FEV<sub>1</sub> (예상%) 로 계층화하고, Arikace™ 또는 플라세보 (1.5% NaCl) 에 대해서 2:1 무작위로 뽑았다. 집단 1 은 280 mg 을, 집단 2 는 560 mg 의 활성 약물 또는 플라세보를 28 일 동안 PARIEFlow® 분무기로 흡입에 의해 수여받은 후 28 일 동안 어떠한 흡입 항생제도 투여받지 않았다. 안전성, 약물동력, Pa 가래 밀도, 삶의 질 (CFQ-R) 및 악화율을 56 일의 연구 기간 동안 매주 평가하였다.

[0192] 요약하면, 28 일 동안 매일 280 mg 및 560 mg 리포솜 아미카신을 투여하는 것은 안전성 및 내약성이 좋은 것으로 보였다. 28 일 동안 280 mg 및 560 mg 리포솜 아미카신의 투여는 폐 기능에서 투여-의존 개선을 도모하였으며, 이는 투여 종료 후 적어도 28 일 동안 유지된다. 리포솜 아미카신을 수여받은 환자들은 플라세보를 수여받은 환자 (18.18 %) 와 비교시, 덜한 폐 악화 (7.14%) 를 경험하였다. 추가로, 악화까지의 시간은 플라세보 (19 일) 와 비교시 아미카신 군 (41 일) 에서 연장되었다. 아미카신을 수여받은 군은 28 일 치료 기간 동안 어떠한 폐 악화도 경험하지 않았다. 리포솜 아미카신을 수여받은 환자는 삶의 질 CFQR-호흡 스케일에서의 개선에 의해 측정된 바와 같이 플라세보 군과 비교시 임상적 혜택이 더 큼을 입증하였다.

[0193] 도 5 및 6 은, 소아 환자 (6 세 내지 12 세) 에게서 플라세보와 비교하여, 기준선으로부터의 산소 포화도 변화를 나타내는 그래프를 보인다. 그 결과는 28 일 치료 기간 동안 시작하여, 치료 기간 이후 계속하여, 산소 포화도가 개선됨을 보여준다. 산소 포화도의 유사한 개선이 12 세 초과 환자들에게서도 관찰되었다.

[0194] 도 7a 및 7b 는, 플라세보 군 및 아미카신 군 각각에서 연령 군별로 나누어서 강제호기폐활량 (FEV<sub>1</sub>) 으로 측정되는 폐 기능 변화를 나타낸다. 플라세보 군의 환자는 제 56 일까지 FEV<sub>1</sub> 이 전반적으로 감소하는 것을 보이는 반면, 리포솜 아미카신을 지속적으로 수여받은 환자는 치료 동안과 치료 후 28 일까지 모두에서 FEV<sub>1</sub> 증가를 보였다. 플라세보 군은 폐 기능 값에서 하기의 변화를 갖는다 (mL 로 측정):

[0195] 표 12: 플라세보 군에서의 FEV<sub>1</sub> 변화.

연령	제 7 일	제 14 일	제 21 일	제 28 일	제 35 일	제 56 일
6-12	-79	-88 (117)	26	0 (61)	-6	-4
13-18	87	2 (80)	25	26 (149)	25	-65
18+	102	-22 (150)	46	36 (135)	-24	-56

[0196] 아미카신 군은 폐 기능 값에서 하기 변화 (mL) 를 보였다:

[0197]

[0198] 표 13: 리포숨 아미카신 치료군에서 FEV<sub>1</sub> 변화

연령	제 7 일	제 14 일	제 21 일	제 28 일	제 35 일	제 56 일
6-12	173	232 (117)	138	154 (165)	110	178
13-18	136	133 (157)	143	158 (153)	79	44
18+	103	94 (107)	68	46 (95)	29	55

[0199]

[0200] 560 mg, 280 mg 및 플라세보 군 내 모든 환자에 대해서 기준선으로부터의 FEV<sub>1</sub> 변화 (mL 로 측정) 대조를 도 8에 나타낸다. 또한, 상기 데이터는 지속 효과가 리포숨 아미카신을 수여받은 환자에게서 제 56 일 만큼 오래 계속되고, 그 효과는 280 mg 군과 비교시 560 mg 군에서 훨씬 더 있다는 것을 보인다. 도 9는 백분율로서의 기준선으로부터의 변화를 나타낸다. FEV<sub>1</sub> 은, 제 56 일 때에 플라세보와 비교시 224 mL 의 지속 치료 효과 증가와 더불어 560 mg 군에서 상당히 증가하였다 (17.6%).

[0201] 연구 데이터는 또한, 플라세보와 비교시 리포숨 아미카신을 수여받은 환자의 CFU 에 있어서 상당한 감소를 나타내었는데, 이 감소는 적어도 제 35 일까지 지속되었다. CFU 의 감소는 도 10 에서 보이는 바와 같이, 280 mg 군과 비교해 볼 때 560 mg 의 아미카신을 수여받은 군에서 더욱 두드러졌다. 도 11 은 뮤코이드 균주에 대한 Log CFU 변화를 나타낸다. 이들 결과는 플라세보와 비교시 리포숨 아미카신을 수여받은 군에서 log CFU 를 측정한 바와 같이 *P. 아에루기노사* 밀도가 감소하고, 이 효과가 적어도 연구 제 35 일 때까지 지속되었음을 나타낸다. *P. 아에루기노사*의 뮤코이드 균주를 가진 환자는 또한 리포숨 아미카신 치료에 민감하였다.

1.2 log CFU 감소가 280 mg 군에서 나타났고, 2.0 log 감소가 560 mg 군에서 나타났다. 상기 감소는 1.8 log CFU 감소로 560 mg 군의 제 35 일에서 지속된 반면, 280 mg 군에서는 log 0.4 CFU 감소로 지속되었다.

[0202] 약물동력 데이터는 3496 (0.973) mcg/g 의 평균 C<sub>max</sub> (CV) 로 리포숨 아미카신을 수여받은 환자의 가래에서 고수준의 아미카신을 드러내 보였다. 평균 곡선하 면적 (AUC) 값은 280 mg 군에 대해서는 13,120 (1.63) mcg/g\*hr 이고, 평균 AUC 는 22,445 (0.831) mcg/g\*hr 였다. 다른 한편으로, 혈청 약물동력 데이터는 2.27 (1.58) mcg/mL 의 C<sub>max</sub> 평균 (SD) 로 아미카신에 대한 저 전신 노출을 보였다.

[0203] 리포숨 아미카신을 수여받은 환자는 또한 폐 악화까지의 감소된 빈도 및 시간을 지녔다. 표 14:

[0204] 표 14: 폐 악화

	<u>Arikace</u>	<u>플라세보</u>
환자	3/42 (7.1 %)	3/22 (13.6 %)
악화까지의 시간 (일)	40.6*	19.3

[0205]

[0206] \* 치료 기간 동안에는 악화 없음

[0207] 표 14 에서 보듯이, 리포숨 아미카신으로 치료된 환자 (280 mg 및 560 mg 군 모두 포함) 에게서 악화% 는 플라세보 군과 비교시 더 낮았다. 더욱이, 악화까지의 시간은 플라세보 군에서의 19.3 일과 비교했을 때, 리포숨 아미카신을 수여받은 환자에게서 훨씬 길었다 (40.6 일).

[0208] 항-슈도모나스 구조 처치는 또한 표 15 에서 보듯이 플라세보 군과 비교했을 때 흡입식 리포숨 아미카신을 수여받은 환자에게서 감소되었다.

[0209] 표 15: 항-슈도모나스 구조 처치.

	<u>Arikace</u>	<u>플라세보</u>
환자	4/42 (9.5 %)	3/22 (13.6 %)
악화까지의 시간 (일)	43.0*	21.3

[0210]

[0211] \* 치료 기간 동안에는 구조 없음

[0212] 표 15 에서 보듯이, 흡입식 리포솜 아미카신을 수여받은 환자는 플라세보 군과 비교했을 때 낮은 퍼센트로 항-슈도모나스 구조 처치를 요구하였다. 추가적으로, 구조 처치를 필요로 하기 전까지의 시간이 플라세보 군 (21.3 일) 과 비교했을 때 리포솜 아미카신 환자 (43.0 일) 에서 감소하였다.

[0213] 실시예 4

[0214] 리포솜 아미카신의 분무

[0215] eFlow 40L 로부터 제조된 리포솜 아미카신의 에어로졸 특성은 표 15 에 나타낸다. LC Star 로부터 생성된 분무물과 비교했을 때, eFlow 에 대한 질량 중앙 공기역학 직경 (mass median aerodynamic diameter; MMAD) 값은  $\sim 0.5 \mu\text{m}$  더 컸다. 분무식 리포솜 아미카신에 대한 ACI (eFlow 로) 및 NGI (LC Star 로) 캐스케이드 (cascade) 임팩터 둘 모두로부터의 실제 크기 의존 질량 분포는 도 1 에 나타낸다. eFlow/ ACI 측정으로부터의 에어로졸은 LC Star/NGI 로부터의 것보다 크기 분포가 약간 더 좁다. 이러한 차이는 MMAD 주위 분포의 너비 척도인 더 낮은 평균 기하 표준 편차 (GSD) 에서 반영되며 (1.66 대 1.99), 표 14 의 값을 참조한다. 상기 더 좁은 분포는 더 큰 MMAD 의 임의의 잠재적 효과를 상쇄하므로, 호흡가능 범위 내 ( $< 5 \mu\text{m}$  액적 (droplet) 크기) 분무식 약물의 양은 eFlow 과 LC Star 모두에 대해서 필적할만하다.

[0216] 표 14. eFlow 및 LC Star 분무기로 분무된 리포솜 아미카신의 특징

분무기	에어로졸 액적 특징				퍼센트 연관 아미카신	
	사용된 캐스케이드 임팩터	MMAD ( $\mu\text{m}$ )	GSD (unitless)	호흡가능 분획*	예비-분무	분무 후
eFlow	Andersen	$3.68 \pm 0.26$	$1.66 \pm 0.07$	$72.9 \pm 5.5$	$96.3 \pm 2.1 \%$	$66.3 \pm 5.8 \%$
LC Star	NGI	$3.18 \pm 0.18$	$1.99 \pm 0.05$	$74.5 \pm 2.6$	$96.3 \pm 2.1 \%$	$62.1 \pm 7.4 \%$

[0217]

[0218] 앤더슨 (Andersen) 캐스케이드 임팩터를, 28.3 L/분 의 유속, 18℃ 및 50% 습도에서 사용했다. NGI 임팩터는 15L/분의 유속 및 5℃ 에서 사용하여  $>60\%$  습도를 달성하였다. \* 직경  $5 \mu\text{m}$  미만인 명목상 약물 투여량의 퍼센트 질량

[0219] 실시예 3

[0220] 랫트에서 P. 아에루기노사 폐 감염에 대한 리포솜 아미카신의 효과

[0221] 흡입용 리포솜 아미카신, 리포솜 아미카신의 효능을, 아가로오스 비드 (bead) 기질에 내포되어 있는 P. 아에루기노사를 랫트의 기관에 점적주입시킨 만성 폐 감염 모델 (Cash, Woods et al. 1979) 을 이용하여 연구하였다. 상기 뮤코이드 슈도모나스 동물 모델을 CF 환자에게서 보여지는 만성 슈도모나스 감염과 닮도록 개발하였다 (Cantin 및 Woods 1999). 랫트 폐는, 본래 CF 환자에서부터 단리된 뮤코이드 P. 아에루기노사 균주 (뮤코이드 균주 3064) 의  $10^4$  CFU 로 접종하였다. 3 일 후, 60 mg/kg 리포솜 아미카신 (75 mg/mL) 을, 흡입에



의해, 1 일에 1 회, 14 투여로 (Q1D x 14) 또는 격일로 7 투여로 (Q2D x 7) (투여 당 6 mg/kg) 투여하였다. 비교를 위해, 토브라마이신을 흡입으로써 14 일 동안 하루에 두 번 (BID) 투여하였다 (매일 총 60 mg/kg 으로 1 투여 당 30 mg/kg 임). 식염수 대조군과 비교하였을 때 3 가지 모든 치료 군에서 박테리아 밀도가 상당히 감소되었다 (도 2 참조). 래트의 3 치료군 사이에서  $\log_{10}\text{CFU}$ /폐의 감소에서는 어떠한 상당한 차이도 없었다. 효과적으로 아미노글리코시드 누적 투여량의 절반을 전달하는, 14 일 동안 격일 투여되는 (Q2D x 7) 리포솜 아미카신 (75 mg/mL) 은, 상기 모델에서 매일 투여하는 요법만큼 유효하였다.

[0222] 도 3 에 나타낸 바와 같이, 28 일까지 상기 모델에서 투여를 연장하는 경우, 매일 ~ 60 mg/kg 또는 격일로 ~ 120 mg/kg 투여되는 리포솜 아미카신을 수여받은 동물에게서 CFU 의 감소가 동일하였다. 그럼에도 불구하고, 이는 동일한 스케줄 (각각  $p=0.24$  및  $0.03$ ) 로 1.5% 식염수를 수여받은 동물과 비교했을 때 후자 군에 대해서 통계학적으로 유의한 것처럼만 보였다. 두 경우, CFU 의 2 log 감소를 또한 보인 상당수의 동물이 식염수 대조군들에서도 존재하였다. 식염수 흡입 치료의 기간이 길수록 (14 일 후), 래트의 감염 폐 및 아마도 만성 감염 병태를 유지하는 아가 비즈를 청소하는 래트의 자발 능력이 강화되는 것처럼 보였다. 14 일 동안 리포솜 아미카신 ~120 mg/kg 을 매일 수여받은 래트를 또 다른 14 일 동안 관찰하였고, 이어서 제 35 일에 안락사시켰다. 이들 동물의 폐는, 28 일 동안 매일 토브라마이신 60 mg/kg (1 일에 2 회 제공) 을 수여받은 다음 안락사시킨 군의 경우에서와 같이 검출 한계 미만의 박테리아를 가졌다. 데이타는 상기 실험에서, 14 일 동안 1 일 1 회 120 mg/kg 투여된 리포솜 아미카신이 28 일 동안 토브라마이신 60 mg/kg/일 (1 일 2 회 투여됨) 만큼 유효하였음을 나타낸다. 이 결과는 리포솜 아미카신 120 mg/kg 으로 더 높은 AUC 및 가능하게는 연장된 후-항생 효과를 시사한다.

[0223] 참고 문헌

- [0224] 1. Cash, H. A., D. E. Woods, et al. (1979). "A rat model of chronic respiratory infection with *Pseudomonas aeruginosa*." *Am Rev Respir Dis* 119(3): 453-9.
- [0225] 2. Challoner, P. B., M. G. Flora, et al. (2001). Gamma Scintigraphy Lung Deposition Comparison of TOBI in the PARI LC PLUS Nebulizer and the Aerodose Inhaler. American Thoracic Society 97th International Conference, San Francisco, California, Aerogen, Inc.
- [0226] 3. Chmiel, J. F. and P. B. Davis (2003). "State of the art: why do the lungs of patients with cystic fibrosis become infected and why can't they clear the infection?" *Respir Res* 4: 8.
- [0227] 4. Cow, G. D. (2007a). Exploratory 28 Day Inhalation Toxicity Study of SLIT™ Amikacin in Rats, Charles River Laboratories: 259.
- [0228] 5. Cow, G. D. 및 A. Morgan (2007c). 30 Day Inhalation Toxicity Study of SLIT™ Amikacin in Rats with a 30 day Recovery Period, Charles River Laboratories: 870.
- [0229] 6. Cow, G. D. 및 A. Morgan (2007d). 30 Day Inhalation Toxicity Study of SLIT™ Amikacin in Dogs with a 30 Day Recovery Period, Charles River Laboratories: 777.
- [0230] 7. Doring, G., S. P. Conway, et al. (2000). "Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus." *Eur Respir J* 16(4): 749-67.
- [0231] 8. Geller, D. E., W. H. Pitlick, et al. (2002). "Pharmacokinetics and bioavailability of aerosolized tobramycin in cystic fibrosis." *Chest* 122(1): 219-26.
- [0232] 9. Gibson, R. L., J. L. Burns, et al. (2003). "Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis." *Am J Respir Crit Care Med* 168(8): 918-51.
- [0233] 10. Gibson, R. L., J. Emerson, et al. (2003). "Significant microbiological effect of inhaled tobramycin in young children with cystic fibrosis." *Am J Respir Crit Care Med* 167(6): 841-9.
- [0234] 11. Gilbert, B. E., C. Knight, et al. (1997). "Tolerance of volunteers to cyclosporine A-dilauroylphosphatidylcholine liposome aerosol." *Am J Respir Crit Care Med* 156(6): 1789-93.
- [0235] 12. Goss, C. H. 및 M. Rosenfeld (2004). "Update on cystic fibrosis epidemiology." *Curr Opin Pulm Med* 10(6): 510-4.

- [0236] 13. Gunther, A., C. Ruppert, et al. (2001). "Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome." *Respir Res* 2(6): 353-64.
- [0237] 14. Hug, M. (2007a). Characterization of the PARI eFlow® (40L to 50L) and Liposomal Amikacin™ (48 to 79 mg/ml<sup>(1)</sup>) PARI GmbH, Aerosol Research Institute: 10.
- [0238] 15. Hug, M. (2007b). Aerosol Characterization of the PARI eFlow® 40L an Transave Liposomal Amikacin™ for Inhalation (70 mg/ml<sup>(1)</sup>), PARI GmbH, Aerosol Research Institute: 12.
- [0239] 16. Hung, O. R., S. C. Whynot, et al. (1995). "Pharmacokinetics of inhaled liposome- encapsulated fentanyl." *Anesthesiology* 83(2): 277-84.
- [0240] 17. Landyshev Iu, S., A. A. Grigorenko, et al. (2002). "[Clinico-experimental aspects of liposomal therapy of bronchial asthma patients with hydrocortisone therapy]." *Ter Arkh* 74(8): 45-8.
- [0241] 18. Lass, J. S., A. Sant, et al. (2006). "New advances in aerosolised drug delivery: vibrating membrane nebuliser technology." *Expert Opin Drug Deliv* 3(5): 693-702.
- [0242] 19. Li, Z. (2007). Droplet Size of Liposomal Amikacin™: Comparison of Nebulizate for the eflow Electronic Nebulizer and the PARI LC STAR Jet Nebulizer. Monmouth Junction, Transave Inc.: 20.
- [0243] 20. Martini, W. Z., D. L. Chinkes, et al. (1999). "Lung surfactant kinetics in conscious pigs." *Am J Physiol* 277(1 Pt 1): E187-95.
- [0244] 21. Myers, M. A., D. A. Thomas, et al. (1993). "Pulmonary effects of chronic exposure to liposome aerosols in mice." *Exp Lung Res* 19(1): 1-19.
- [0245] 22. Niven, R. W., T. M. Carvajal, et al. (1992). "Nebulization of liposomes. III. The effects of operating conditions and local environment." *Pharm Res* 9(4): 515-20.
- [0246] 23. Niven, R. W. and H. Schreier (1990). "Nebulization of liposomes. I. Effects of lipid composition." *Pharm Res* 7(11): 1127-33.
- [0247] 24. Niven, R. W., M. Speer, et al. (1991). "Nebulization of liposomes. II. The effects of size and modeling of solute release profiles." *Pharm Res* 8(2): 217-21.
- [0248] 25. Ramsey, B. W., M. S. Pepe, et al. (1999). "Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group." *N Engl J Med* 340(1): 23-30.
- [0249] 26. Skubitz, K. M. and P. M. Anderson (2000). "Inhalational interleukin-2 liposomes for pulmonary metastases: a phase I clinical trial." *Anticancer Drugs* 11(7): 555-63.
- [0250] 27. Taylor, K. M., G. Taylor, et al. (1989). "The influence of liposomal encapsulation on sodium cromoglycate pharmacokinetics in man." *Pharm Res* 6(7): 633-6.
- [0251] 28. Ten, R. M., P. M. Anderson, et al. (2002). "Interleukin-2 liposomes for primary immune deficiency using the aerosol route." *Int Immunopharmacol* 2(2-3): 333-44.
- [0252] 29. Thomas, D. A., M. A. Myers, et al. (1991). "Acute effects of liposome aerosol inhalation on pulmonary function in healthy human volunteers." *Chest* 99(5): 1268-70.
- [0253] 30. Vecellio, L. (2006). "The Mesh Nebuliser: A Recent Technical Innovation for Aerosol Delivery." *Breath* 2(3): 253-260.
- [0254] 31. Vidgren, M. T., J. C. Waldrep, et al. (1994). "A study of <sup>99m</sup>technetium-labelled beclomethasone dipropionate dilauroylphosphatidylcholine liposome aerosol in normal volunteers." *Int J Pharm*: 8.
- [0255] 32. Wenker, A. (2006). In vitro characterization of nebulized Amikacin, Activaero GmbH: 28.
- [0256] 33. Wolff, R. K. 및 M. A. Dorato (1993). "Toxicologic testing of inhaled pharmaceutical aerosols."



Crit Rev Toxicol 23(4): 343-69.

[0257] 참고문헌 삽입

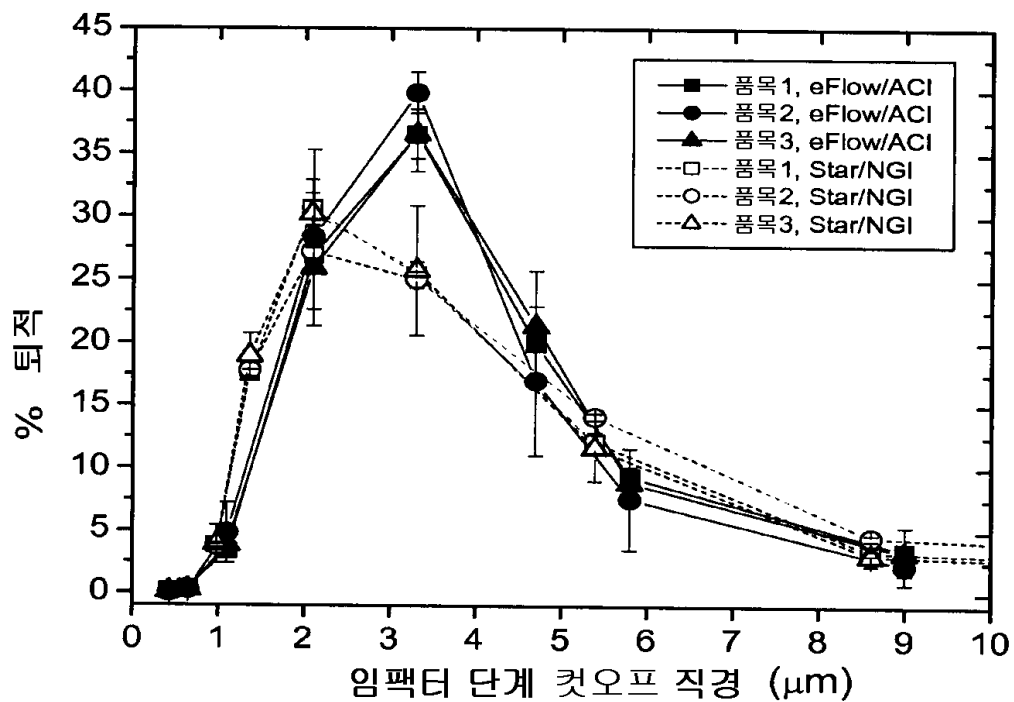
[0258] 본원에서 인용된 U.S. 특허 및 U.S. 공개 특허 출원 모두는 본원에서 참조문헌으로 삽입된다.

[0259] 동가물

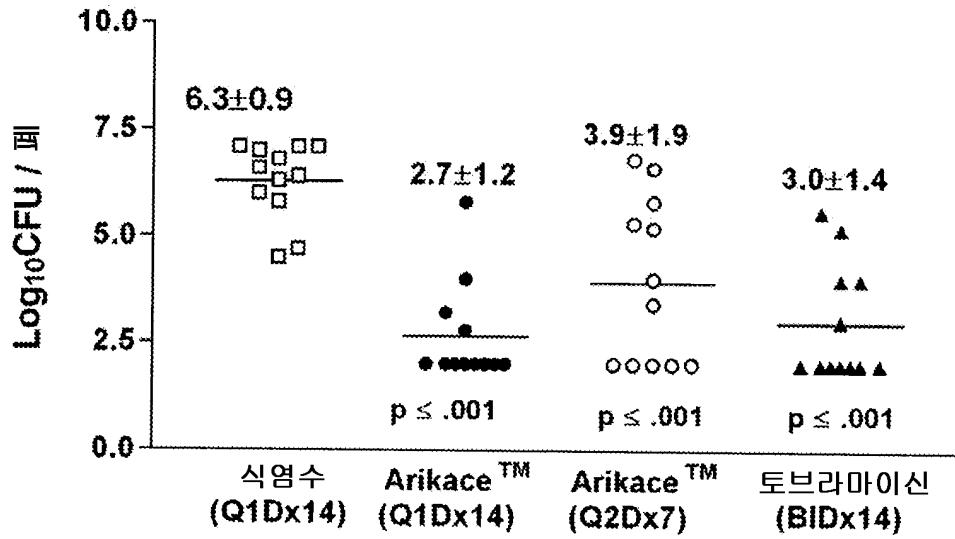
[0260] 당업자는 단지 통상의 실험에 지나지 않는 실험들을 이용하여 본원에서 기술된 본 발명의 특정 구현예들의 다수의 동가물을 인지하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 이러한 동가물은 하기 청구항에 포함되도록 의도된다.

## 도면

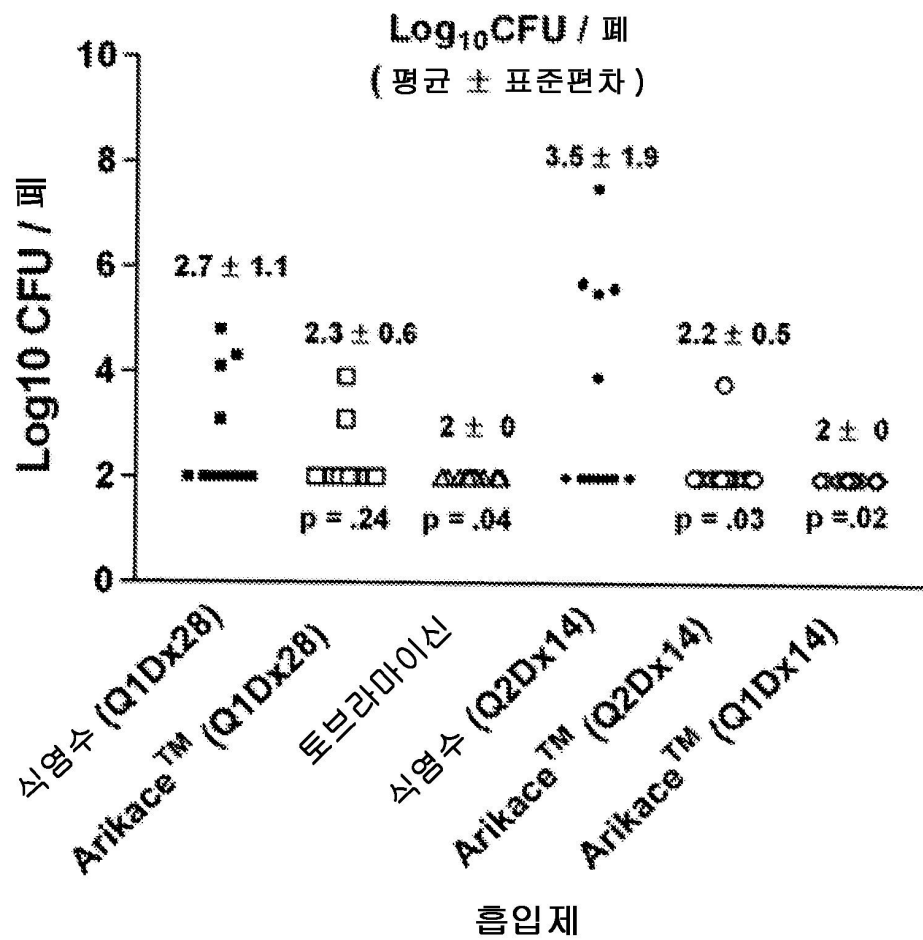
### 도면1



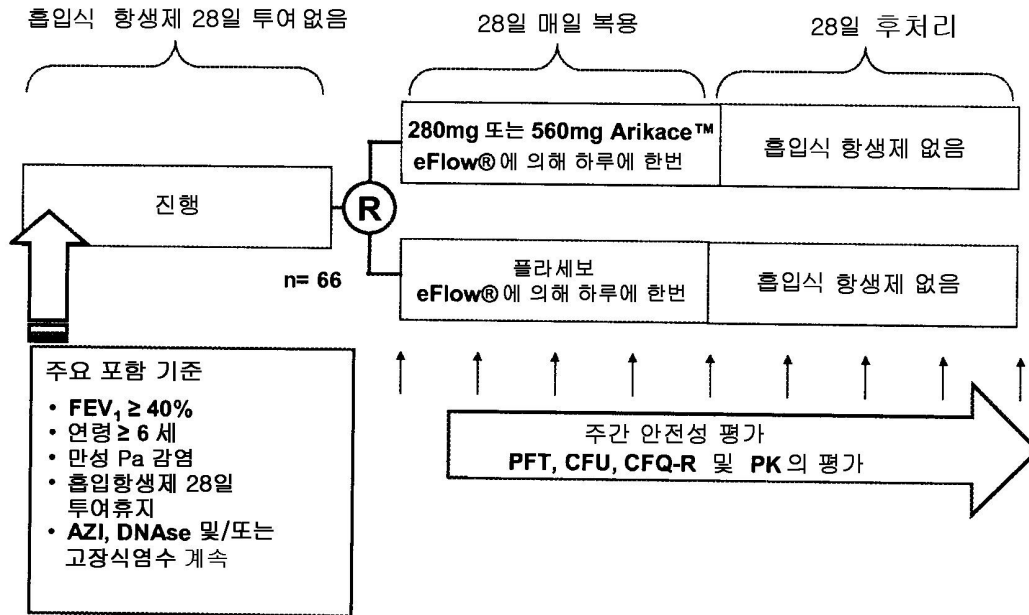
도면2



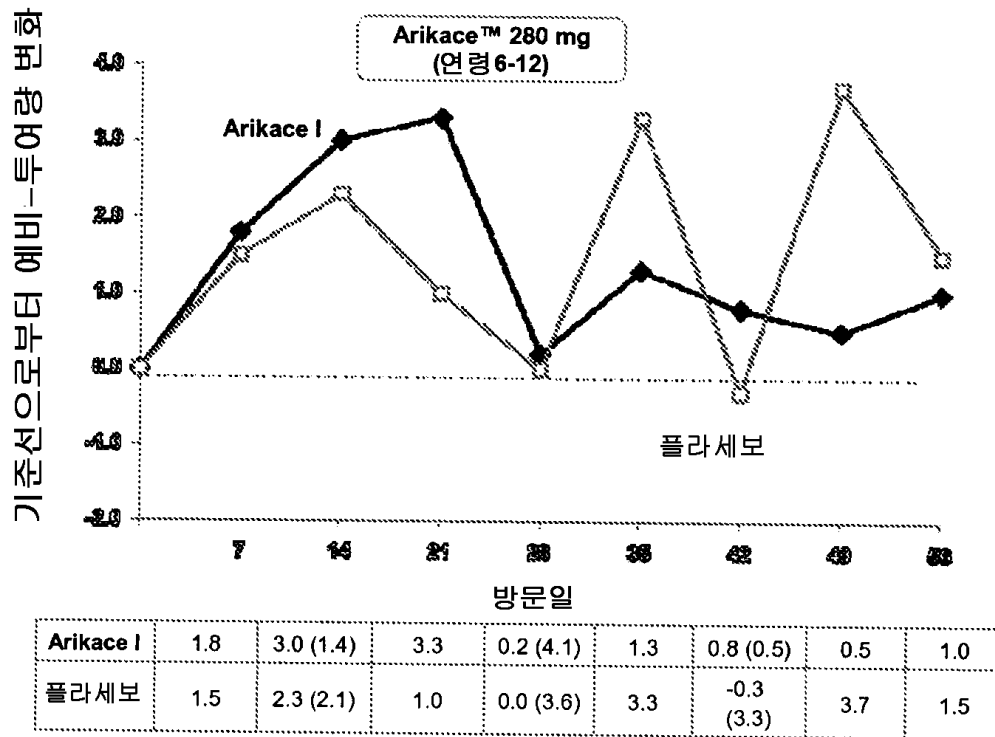
도면3



도면4

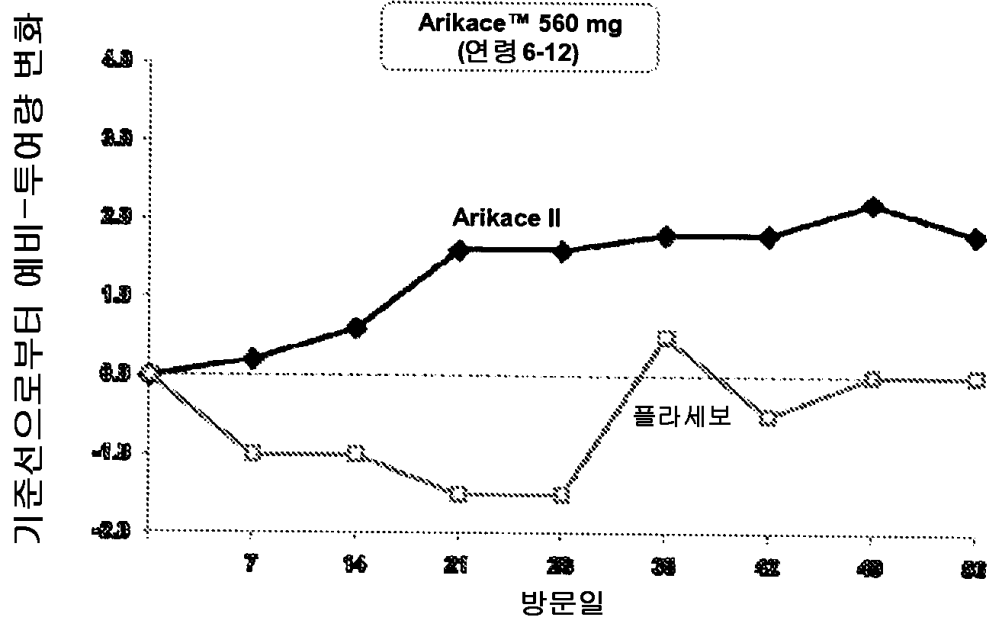


도면5



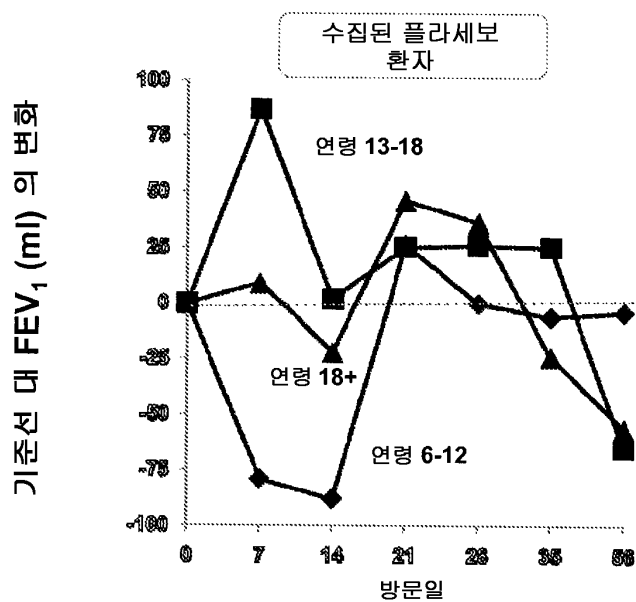
\* 평균 (표준편차)

도면6

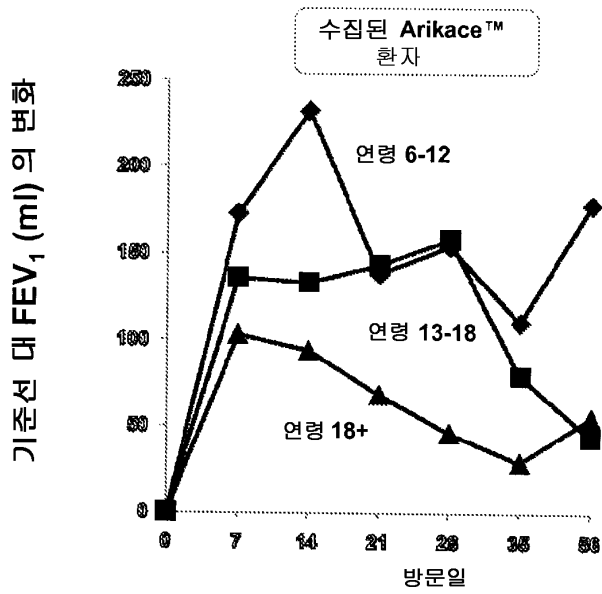


\* 평균 (표준편차)

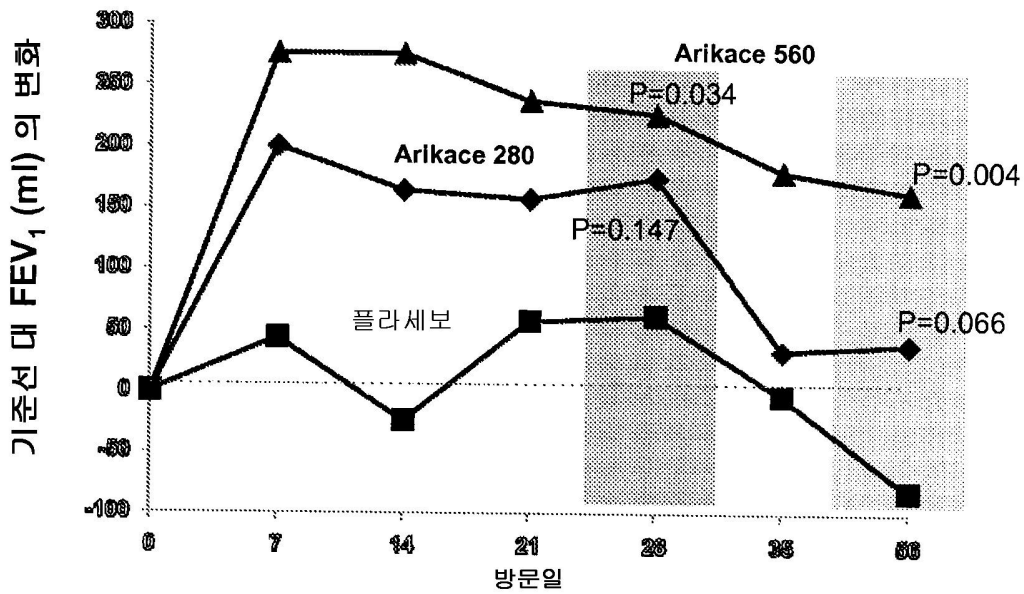
도면7a



도면7b



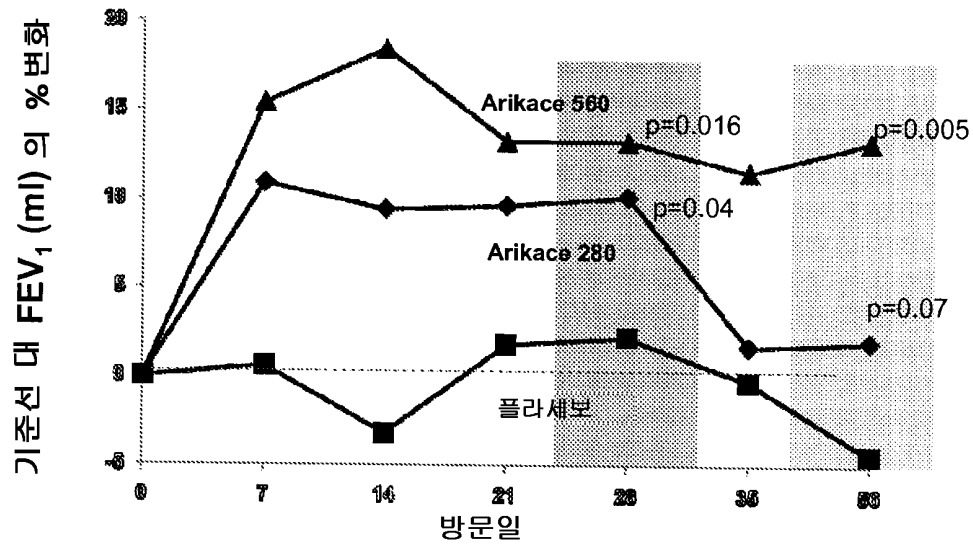
도면8



Arikace 560 *	276 (317)	275 (261)	237 (243)	226 (229)	179 (245)	162 (292)
Arikace 280 *	200 (220)	164 (240)	157 (222)	174 (235)	33 (176)	39 (176)
플라세보 *	44 (201)	-24 (218)	58 (224)	62 (253)	-3 (238)	-82 (229)

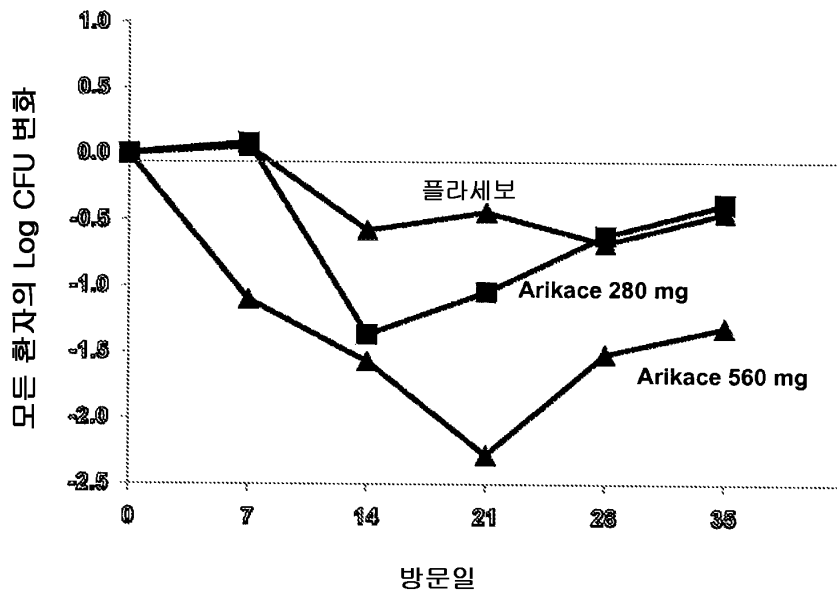
\* 평균 (표준편차)

도면9



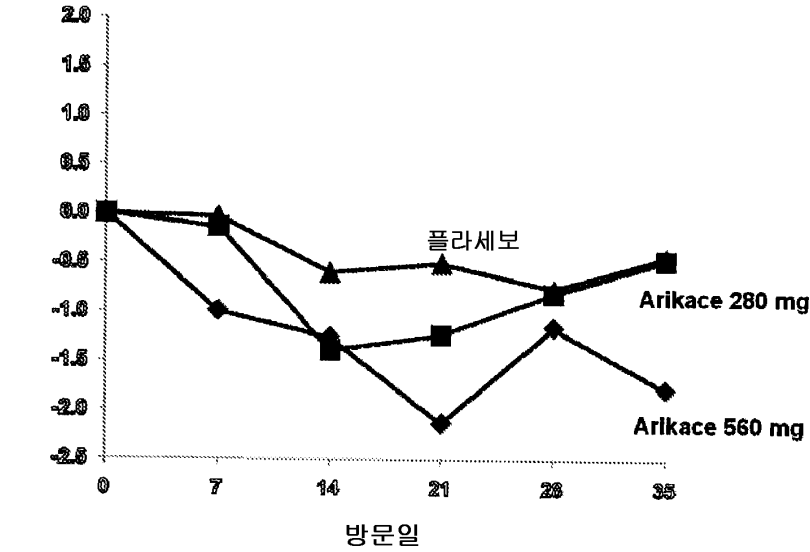
\* 평균 (표준편차)

도면10



도면11

뮤코이드 균주를 갖는 환자에게서의  
Log CFU 변화



280 mg Arikace	-0.141	-1.391	-1.236	-0.816	-0.480
560 mg Arikace	-0.993	-1.263	-2.138	-1.163	-1.788
플라세보	-0.033	-0.600	-0.510	-0.772	-0.449