



(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A61K 9/00 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2007년03월20일 10-0697479 2007년03월13일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2002-7016748	(65) 공개번호	10-2003-0063117
(22) 출원일자	2002년12월09일	(43) 공개일자	2003년07월28일
심사청구일자	2003년08월29일		
번역문 제출일자	2002년12월09일		
(86) 국제출원번호	PCT/US2001/018491	(87) 국제공개번호	WO 2001/95874
국제출원일자	2001년06월08일	국제공개일자	2001년12월20일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 안티구와바부다, 코스타리카, 도미니카, 알제리, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 벨리제, 모잠비크, 에쿠아도르, 콜롬비아, 그라나다, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 모잠비크, 탄자니아,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스, 터키,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장                    09/591,307                    2000년06월09일                    미국(US)

(73) 특허권자                    어드밴스드 인헬레이션 리서치, 인크.  
미국 매사추세츠 캠브리지 시드니 스트리트 88 (우:02139)

(72) 발명자                    에드워드, 데이비드, 에이.  
미국02116매사추세츠보스턴유니트3커먼웰스애브뉴171

   배티키, 리차드, 피.  
미국02466매사추세츠어번 테일워싱턴스트리트1932

   존스턴, 로이드

미국02478매사추세츠벨몬트그로브스트리트77

(74) 대리인

남상선

심사관 : 신영신

전체 청구항 수 : 총 37 항

**(54) 많은 치료학적 양의 에어로졸을 효과적으로 전달하는 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 다량의 입자를 보유하고 있는 리셉터클로부터 탭 밀도가  $0.4\text{g/cm}^3$  미만인 입자를 피검자의 기도로 투여하는 것을 포함하여, 단일의 호흡-활성화된 단계 또는 단일 호흡으로 약제를 폐계로 전달하는 방법으로서, 입자량의 약 50% 이상이 전달되는 방법에 관한 것이다. 입자는 약제를 운반할 수 있다. 약제는 1) 분무-건조 사전 혼합물의 일부로서, 입자에 혼합되거나; 2) 개별적으로 제조된 입자에 첨가되어 약제가 입자와 화학 결합을 하거나; 3) 배합되어 입자와 혼합되고, 입자와 공동 전달된다. 탭 밀도가  $0.4\text{g/cm}^3$  미만인 담체 입자를 포함하는 호흡성 조성물 및 약제를 포함하는 조성물 또한 기재되어 있다. 이러한 호흡성 조성물을 전달하는 방법 또한 포함되어 있다.

**대표도**

도 19

**특허청구의 범위**

**청구항 1.**

단일의 호흡-활성화된 단계 (a single, breath-activated step)로 약제(agent)를 폐계(pulmonary system)로 전달하기 위한, 약제 포함 입자를 포함하는, 리셉터클 포함 건조 분말 흡입기로서,

리셉터클중에 저장된 입자중 50% 이상 및 5-50mg의 양(mass)이 폐계로 전달되며, 입자의 탭밀도는  $0.4\text{g/cm}^3$  미만이고, 입자의 질량정중공기역학적 직경(mass median aerodynamic diameter: MMAD)이  $1-5\mu\text{m}$ 인 흡입기.

**청구항 2.**

제 1 항에 있어서, 약제(agent)가 치료제, 예방제, 진단제 및 예후제로 구성된 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 3.**

제 1 항에 있어서, 입자의 탭 밀도가  $0.1\text{g/cm}^3$  미만임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 4.**

제 1 항에 있어서, 입자의 질량정중기하학적 직경(mass median geometric diameter: MMGD)이  $5\mu\text{m}$  내지  $30\mu\text{m}$ 임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 5.**

제 1 항에 있어서, 리셉터클의 용적이  $0.37\text{cm}^3$ 임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 6.**

제 1 항에 있어서, 리셉터클의 용적이  $0.48\text{cm}^3$ 임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 7.**

제 1 항에 있어서, 리셉터클의 용적이  $0.67\text{cm}^3$ 임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 8.**

제 1 항에 있어서, 리셉터클의 용적이  $0.95\text{cm}^3$ 임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 9.**

제 1 항에 있어서, 입자가 주로 폐의 심부(deep lung)로 전달됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 10.**

제 1 항에 있어서, 입자가 주로 중심 기도로 전달됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 11.**

제 1 항에 있어서, 약제가 생체활성제임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 12.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 알부테롤 술페이트임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 13.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 인슐린임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 14.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 성장 호르몬임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 15.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 이프라트로피움 브로마이드(ipratropium bromide)임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 16.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 플루티카손(fluticasone)임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 17.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 살메테롤임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 18.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 L-Dopa임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 19.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 소수성 약물임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 20.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 친수성 약물임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 21.**

제 11 항에 있어서, 생체활성제가 모노클로날 항체임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 22.**

제 1 항에 있어서, 입자가 분무 건조된 입자임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 23.**

제 1 항에 있어서, 입자가 건조 분말 형태임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 24.**

제 1 항에 있어서, 입자가 비중합체성임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 25.**

제 1 항에 있어서, 입자의 역학적 벌크 밀도가  $0.1\text{g}/\text{cm}^3$ 임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 26.**

제 1 항에 있어서, 약제가 비결정질임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 27.**

제 2 항에 있어서, 약제가 진단제 또는 예후제임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 28.**

제 27 항에 있어서, 진단제 또는 예후제가 표지(label)를 포함함을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 29.**

제 28 항에 있어서, 표지가 방사성 동위 원소, 에피토프 표지, 친화도 표지, 효소 표지, 형광 그룹 및 화학발광 그룹으로 구성된 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 30.**

제 29 항에 있어서, 표지가 방사성 동위 원소임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 31.**

제 30 항에 있어서, 방사성 동위 원소가  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 임을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 32.**

제 1 항에 있어서, 약제가 입자에 혼입됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 33.**

제 32 항에 있어서, 약제가 분무 건조 방식에 의해 입자에 혼입됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 34.**

제 1 항에 있어서, 약제가 입자의 표면에 부착됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 35.**

제 1 항에 있어서, 약제가 입자의 표면에 흡착됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 36.**

제 1 항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 약제가 입자와 함께 전달됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 37.**

제 36 항에 있어서, 하나 이상의 추가적인 약제가 입자에 혼입되거나, 입자의 표면에 부착되거나 입자의 표면에 흡착됨을 특징으로 하는 흡입기.

**청구항 38.**

삭제

**청구항 39.**

삭제

**청구항 40.**

삭제

**청구항 41.**

삭제

**청구항 42.**

삭제

**청구항 43.**

삭제

**청구항 44.**

삭제

**청구항 45.**

삭제

**청구항 46.**

삭제

**청구항 47.**

삭제

**청구항 48.**

삭제

**청구항 49.**

삭제

청구항 50.  
삭제

청구항 51.  
삭제

청구항 52.  
삭제

청구항 53.  
삭제

청구항 54.  
삭제

청구항 55.  
삭제

청구항 56.  
삭제

청구항 57.  
삭제

청구항 58.  
삭제

청구항 59.  
삭제

청구항 60.  
삭제

청구항 61.  
삭제

청구항 62.  
삭제

청구항 63.  
삭제

청구항 64.  
삭제

청구항 65.  
삭제

청구항 66.  
삭제

청구항 67.  
삭제

청구항 68.  
삭제

청구항 69.  
삭제

청구항 70.  
삭제

청구항 71.  
삭제

청구항 72.  
삭제

청구항 73.  
삭제

청구항 74.  
삭제

청구항 75.  
삭제

청구항 76.  
삭제

청구항 77.  
삭제

청구항 78.  
삭제

청구항 79.  
삭제

청구항 80.  
삭제

청구항 81.  
삭제

청구항 82.  
삭제

청구항 83.  
삭제

청구항 84.  
삭제

청구항 85.  
삭제

청구항 86.  
삭제

청구항 87.  
삭제

청구항 88.  
삭제

청구항 89.  
삭제

청구항 90.  
삭제

청구항 91.  
삭제

청구항 92.  
삭제

청구항 93.  
삭제

청구항 94.  
삭제

청구항 95.  
삭제

청구항 96.  
삭제

청구항 97.  
삭제

청구항 98.  
삭제

청구항 99.  
삭제

청구항 100.  
삭제

청구항 101.  
삭제

청구항 102.  
삭제

청구항 103.  
삭제

청구항 104.  
삭제

청구항 105.  
삭제

청구항 106.  
삭제

청구항 107.  
삭제

청구항 108.  
삭제

청구항 109.  
삭제

청구항 110.  
삭제

청구항 111.  
삭제

청구항 112.  
삭제

청구항 113.  
삭제

청구항 114.  
삭제

청구항 115.  
삭제

청구항 116.  
삭제

청구항 117.  
삭제

청구항 118.  
삭제

청구항 119.  
삭제

청구항 120.  
삭제

청구항 121.  
삭제

청구항 122.  
삭제

청구항 123.  
삭제

청구항 124.  
삭제

청구항 125.  
삭제

청구항 126.  
삭제

청구항 127.  
삭제

청구항 128.  
삭제

청구항 129.  
삭제

청구항 130.  
삭제

청구항 131.  
삭제

청구항 132.  
삭제

청구항 133.  
삭제

청구항 134.  
삭제

청구항 135.  
삭제

청구항 136.  
삭제

청구항 137.  
삭제

청구항 138.  
삭제

청구항 139.  
삭제

청구항 140.  
삭제

청구항 141.  
삭제

청구항 142.  
삭제

청구항 143.  
삭제

청구항 144.  
삭제

청구항 145.  
삭제

청구항 146.  
삭제

청구항 147.  
삭제

청구항 148.  
삭제

청구항 149.  
삭제

청구항 150.  
삭제

청구항 151.  
삭제

## 명세서

### 기술분야

치료제를 기도로 전달하기 위한 에어로졸은 예를 들어, 문헌[Adjei, A. and Garren, J.Pharm.Res., 7:565-569(1990); and Zanen,P. and Lamm,J.-W.J.,Int.J.Pharm., 114:111-115(1995)]에 설명되어 있다. 기도는 구강인두 및 후두를 포함하는 상기도와 이 뒤를 이어서 후기도를 포함하며, 후기도는 기관과 이 뒤를 이어서 기관지와 세기관지로의 분기점을 포함한다. 상기도 및 후기도는 공기전달 통로로서 칭해진다. 종말세기관지는 호흡세기관지로 갈라지며, 호흡세기관지는 최종 호흡지역인 폐포 또는 폐의 심부(deep lung)로 유도된다. [참고 문헌: Gonda, I., "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agent to the respiratory tract," in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6:273-313(1990)]. 폐의 심부 또는 폐포는 전신 약물 전달을 위해 흡입된 치료학적 에어로졸의 일차 표적이다.

흡입된 에어로졸은 천식 및 낭포성 섬유증(Anderson, Am.Rev.Respir.Dis., 140:1317-1324(1989))을 포함한 국부적 폐 질환의 치료에 사용되어 왔으며, 또한 펩티드 및 단백질의 전신 전달 가능성을 갖는다(Patton and Platz, Advanced Drug Delivery Reviews, 8:179-196(1992)).

고분자를 포함한 많은 분자의 비교적 높은 생체이용율은 흡입에 의해 달성될 수 있다. [참고 문헌: Wall,D.A., Drug Delivery, 2:1-20(1995); Patton,J. and Platz,R., Adv.Drug Del.Rev., 8:179-196(1992); and Byron,P., Adv.Drug.Del.Rev., 5:107-132(1990)]. 그 결과, 치료학적 약물의 여러 에어로졸 제형이 폐로 전달하는데 이용되거나 시험중에 있다. [참고 문헌: Patton,J.S., et al., J.Controlled Release, 28:79-85(1994); Damms,B. and Bains,W., Nature Biotechnology (1996); Niven,R.W. et al., Pharm.Res., 12(9):1343-1349(1995); and Kobayashi,S. et al., Pharm.Res., 13(1):80-83(1996)].

그러나, 폐 약물 전달법은 많은 어려움, 특히 고분자 전달에 있어서의 어려움을 나타내며; 이러한 어려움으로는 에어로졸화 동안의 단백질 변성, 구인두강에서의 흡입 약물의 과도한 손실(종종 80%를 초과), 침착 부위에 대한 빈약한 조정, 호흡 패턴의 다양성으로 인한 치료학적 결과의 재현 결여, 국부적 독성효과를 잠재적으로 초래하는 약물의 빈번하고 너무 빠른 흡수, 및 폐 대식세포에 의한 식균작용이 있다.

또한, 흡입 요법에 일반적으로 사용가능한 많은 기기들은 약물 손실과 관련이 있다. 흡입 요법의 효율 증대를 위해 치료학적 에어로졸 흡입기를 고안하는데 상당한 노력이 기울어져 왔다. [참고 문헌: Timsina et al., Int.J.Pharm., 101:1-13(1995) and Tansey,I.P., Spray Technol. Market, 4:26-29(1994).] 특히 흡입 요법의 효과를 상당히 저하시키는 현상으로서 미립자 응집을 피하기 위한 건식 분말 에어로졸 표면질감을 고안하도록 주의를 기울였다. [참고 문헌: French,D.L., Edwards,D.A. and Niven,R.W., J.Aerosol Sci., 27:769-783(1996)].

건식 분말 제형(DPF)은 폐 전달을 위한 에어로졸 제형으로서 증가된 이점을 획득하였다. [참고 문헌: Damms,B. and W.Bains, Nature Biotechnology(1996); Kobayashi,S., et al., Pharm.Res., 13(1):80-83(1996); and Timsina,M. et al., Int.J.Pharm., 101:1-13(1994)]. 일반적으로, 흡입 요법용 건식 분말 에어로졸은 주로 평균 5 $\mu$ m 미만의 기하학적 직경을 갖도록 생성되었다. [참고 문헌: Ganderton,D., J.Biopharmaceutical Sciences, 3:101-105(1992) and Gonda,I., "Physico-Chemical Principles in Aerosol Delivery," Topics in Pharmaceutical Sciences(1991), Crommelin, D.J. and K.K.Midha, Eds., Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, pp. 95-115, 1992.] 큰 "담체" 입자(약물 비함유)는 다른 가능한 이점중에서 효과적인 에어로졸화의 달성을 돕기 위해 치료학적 에어로졸과 함께 전달된다. [참고 문헌: French, D.L., Edwards, D.A. and Niven, R.W., J.Aerosol Sci., 27:769-783(1996)]

DPF의 단점으로는 미세 입자 분말의 일반적으로 빈약한 유동성 및 에어로졸화 특성으로 인해 에어로졸의 비교적 적은 호흡성 분획물을 유도한다는 점이 있으며, 상기 분획물은 입 및 인후로부터 벗어나서 폐에 침착되는 흡입된 에어로졸의 분획물이다. [참고 문헌: Gonda, I., in Topics in Pharmaceutical Sciences, (1991), D. Crommelin and K.Midha, Editors, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, pp. 95-117(1992)] 빈약한 유동성 및 에어로졸화 특성은 보통 입자-입자 상호작용 예컨대, 소수성, 정전기성 및 모세관 상호작용으로 인한 미립자 응집에 의해 초래된다. DPF에 대한 일부 개선이 달성되었다. 예를 들어, 더 낮은 응집율(Edwards, et al., Science 276:1868-1871(1997)), 더욱 용이한 에어로졸화, 및 잠재적으로 더 낮은 식균 작용과 같은 증가된 유동성 특징을 갖는 입자 크기가 큰 건식 분말 제형("DPF")이 밝혀졌다. [참고 문헌: Rudt,S. and R.H.Muller,J. Controlled Release, 22:263-272(1992); Tabata,Y. and Y.Ikada,

J.Biomed.mater.Res., 22:837-858(1988)] 국부 또는 전신 전달용의 단기간 또는 장기간 치료제 방출을 위한 효과적인 건식-분말 흡입 요법은, 과도한 에너지를 필요치 않으면서 치료학적 수준으로 DPF를 폐에 효과적으로 전달하는 방법이 필요하다.

또한, 본원에 참고 문헌으로 인용된 키폴라(Cipolla) 등의 문헌[Cipolla et al. Respiratory Drug Delivery VII, Biological, Pharmaceutical, Clinical and regulatory Issues Relating to Optimized Drug Delivery by Aerosol, Conference held May 14-18, 2000, Palm springs, FL]에 기재된 바와 같은 흡입 치료기(Nebulizer)가 폐 전달에 사용된다.

건식 분말 제형을 폐로 전달하는데 사용될 수 있는 흡입기는 비-호흡-활성화된 기기 또는 "다단계" 기기를 포함한다. 이러한 기기는 본원에 참고 문헌으로 인용된, 1999년 12월 7일에 공개된 패튼(Patton) 등의 미국 특허 제 5,997,848호에 기재되어 있다. 이러한 기기에 있어서, 약물 제형은 우선 환자의 호흡에 독립적인 에너지에 의해 우선 분산되고, 그 후 흡입된다.

"단일의 호흡-활성화된 단계(single, breath-activated-step)"를 사용하는 흡입기는, 분말을 분산시키고, 즉시 피검자에 의해 분말이 흡입되도록 즉, 단일 단계로 흡입되도록 예를 들어, 단순한 건식 분말 흡입기로 고안되었다(예를 들어, 미국 특허 4,995,385 및 4,069,819 참조).

흡입기의 기타 예로는 스피날러(Spinaler<sup>®</sup>)(Fisons, Loughborough, U.K.) 및 로타할러(Rotahaler<sup>®</sup>)(Glaxo-Wellcome, Research Triangle Park, N.C.)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

"단일 단계" 흡입기와의 비교에 있어서, 현존하는 "다단계 흡입기"는 조작하기에 더욱 복잡하며, 약물을 폐로 전달하는데 여분의 에너지가 필요하기 때문에 더 많은 비용이 드는 경향이 있다. 요구되는 에너지의 양은 약물 양이 증가함에 따라 증가한다. 즉, 약물 리셉터클(receptacle)에 초기에 함유된 약물 양의 약 50%(즉 "공칭 용량")를 의미하는 기도로의 약물 전달의 "고효율성"은 단지 호흡-활성화된 다단계 흡입기 시스템으로 일반적으로 달성된다. 따라서, 환자들은 지금까지는 약물 전달의 효율성과 비용/복잡성 간의 선택을 취해야만 했다. 이러한 균형을 취하는 이유는, 현존하는 흡입 방법론 및 기기가 고유의 제형 비효율성 및/또는 고유의 기기 설계 제한과 관련이 있다. 이러한 비효율성은 원하지 않는 약물 손실 및 증가된 전반적인 치료 비용을 초래한다. 또한, 그 결과, 현존하는 흡입기 및 방법론은 충분한(예를 들어, 치료학적인) 양의 약물을 단일 호흡으로 폐로 전달하는데 종종 실패하였다. 일반적으로, 액체 또는 건식 분말 흡입기를 통해 단일 호흡으로 폐로 전달될 수 있는 약물의 양은 일반적으로 5mg을 초과하지 않았다(Cipolla, et al., Resp.Drug Delivery, VII 2000:231-239(2000)).

따라서, 약 50% 이상의 공칭 용량의 약제(agent)가 단일-단계 흡입 시스템을 통해 폐계(pulmonary system)로 전달되는, 약제의 폐계로의 전달이 요구된다. 또한, 비교적 대량의 약제 예를 들어, 치료용, 예방용, 진단용 또는 예후제의 전달이 요구된다. 또한, 비교적 대량의 생체활성제, 특히 대량의 흡입된 건식 분말의 전달이 요구된다. 추가로, 단순한 호흡-활성화된 기기로부터 단일 단계로 단일의 고용량의 약제 예컨대, 생체활성제를 폐계로 전달하는 방법이 요구된다.

## 발명의 상세한 설명

### 발명의 요약

본 발명은 약제(예를 들어, 치료제, 예방제, 진단제, 예후제)를 폐계로 전달하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 생체활성제를 폐계로 전달하는 방법에 관한 것이다.

한 구체예에서, 본 발명은 a) 약제를 포함하는 입자를 제공하고; b) 다량의 입자를 갖는 리셉터클로부터의 입자를 피검자의 기도로 투여하는 것을 포함하여, 단일의 호흡-활성화된 단계로 약제를 폐계로 전달하는 방법으로서, 입자가 입자 양의 약 50% 이상으로 전달되는 방법에 관한 것이다.

또 다른 구체예에서, 본 발명은 a) 약제를 포함하는 입자를 제공하고; b) 다량의 입자를 갖는 리셉터클로부터의 입자를 피검자의 기도로 투여하는 것을 포함하여, 단일 호흡으로 약제를 폐계로 전달하는 방법으로서, 입자가 약 5mg 이상의 약제를 전달하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 구체예에서, 입자는 약 7mg 이상의 약제, 약 10mg 이상의 약제, 약 15mg 이상의 약제, 약 20mg 이상의 약제 또는 약 25mg 이상의 약제를 전달한다. 또한, 더 많은 양의 약제가 전달될 수 있는데, 예를 들어, 입자는 약 35mg 이상, 약 40mg 이상 또는 약 50mg 이상의 약제를 전달할 수 있다.

또 다른 구체예에서, 본 발명은 a) 탭밀도가  $0.4\text{g/cm}^3$  미만인 담체 입자를 제공하고; b) 1종 이상의 약제를 포함하는 조성물을 제공하고; c) a)의 담체 입자와 b)의 조성물을 혼합하여 호흡성 조성물을 형성시키고; d) c)의 호흡성 조성물을 피검자의 기도로 투여하는 것을 포함하여, 약제를 폐계로 전달하는 방법에 관한 것이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "호흡성 조성물"은 피검자의 기도로 전달하기에 적합한 조성물을 의미한다.

본 발명은 또한, 폐계로 전달될 수 있는 호흡성 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 호흡성 조성물은 바람직하게는, 탭밀도가  $0.4\text{g/cm}^3$  미만인 담체 입자, 및 약제를 포함하는 조성물을 포함한다. 한 구체예에서, 호흡성 조성물에 포함된 담체 입자는 약제없이 따로 제조된 후, 약제를 함유하는 조성물과 혼합될 수 있다.

한 구체예에서, 본 발명의 입자는 다량을 입자를 가지거나, 유지하거나, 함유하거나 포획한 리셉터클로부터 투여된다. 용적이 약  $0.37\text{cm}^3$  이상인 리셉터클이 본 발명에 사용될 수 있다. 또한, 용적이 약  $0.48\text{cm}^3$ ,  $0.67\text{cm}^3$  또는  $0.95\text{cm}^3$  이상인 더 큰 리셉터클이 사용될 수 있다. 바람직하게는, 리셉터클은 건식 분말 흡입기에 사용하기에 적합하도록 설계되었다.

또 다른 구체예에서, 건식 분말 입자를 응집 상태로 유지시키는 에너지는, 흡입 유량의 적당한 생리학적 범위에 대한 환자의 호흡이 리셉터클에 함유된 분말을 호흡성 입자로 탈응집시키기에 충분할 정도이다. 탈응집된 입자는 환자의 호흡을 통해 침투되어 높은 효율로 기도 및/또는 폐의 심부에 침착될 수 있다.

본 발명의 바람직한 구체예에서, 입자는 약  $0.4\text{g/cm}^3$  미만, 바람직하게는 약  $0.1\text{g/cm}^3$  이하의 탭밀도를 갖는다. 또 다른 구체예에서, 입자의 질량중기하학적직경(MMGD)이  $5\mu\text{m}$  초과, 바람직하게는 약  $10\mu\text{m}$  이상이다. 또 다른 구체예에서, 입자의 질량중기하학적직경(MMAD)은 약  $1\mu\text{m}$  내지 약  $5\mu\text{m}$ 이다.

한 구체예에서, 담체 입자는 약 10미크론의 직경, 약  $0.001\text{g/cm}^3$ 의 밀도 및 약 0.3미크론, 바람직하게는 약 0.001 내지 약 0.3미크론(약 10 내지 300나노미터) 또는 약 0.001 내지 약 0.2미크론의 공기역학적직경을 갖는다. 담체 입자는 이 범위에서 호흡가능한 것으로 여겨지지 않는다. 서브미크론(submicron) 입자는 호흡불가능 담체 입자를 호흡가능한 범위로 유도하기에 충분한 밀도를 제공될 수 있다. 한 구체예에서, 서브미크론 입자의 밀도는 예를 들어, 약  $1\text{g/cm}^3$ 이다. 이러한 담체 입자는, 치료학적 양의 나노미터 크기의 약제가 표면에 부착되고, 표면에 흡착되거나 담체 입자와 화학적으로 결합하는 경우, 담체 입자의 공기역학적 성능에 악영향을 끼치지 않도록 설계된다. 예를 들어, 이를 고려하여, 담체 입자는 약  $10\mu\text{m}$  직경 및 매우 낮은 밀도(약  $0.001\text{g/cm}^3$ )를 갖도록 설계되었으며, 이러한 낮은 밀도 자체는  $1-5\mu\text{m}$ 의 호흡가능한 범위의 매우 더 작은 공기역학적 크기(예를 들어,  $0.3\mu\text{m}$ )를 갖는 입자를 유도할 것이다. 그러나, 더 큰 밀도(예를 들어, 약  $1\text{g/cm}^3$ )를 가지며, 약제를 포함하는 충분한 나노미터 크기의 서브미크론 입자(예를 들어, 약 10-200nm)를 충분히 포함하는 경우, 생성된 입자는 요구되는 크기 및 다공성 범위내에 해당하도록 처리될 것이다. 이러한 방식으로, 더 큰 로드(load)의 약제가 수용된다. 한 설명에만 속박되지 않으면서, 미크론 입자의 작은 입자 크기로 인해 제공된 용적내의 입자-입자 접촉 지점 수는 더 큰 입자로 제조된 분말에 비해 큰 것으로 여겨진다. 작은 입자 크기를 갖는 분말은 에어로졸 연무로 분산되기 위해 더 큰 에너지를 필요로 한다. 이러한 분말의 큰 에너지 요건으로 인해 큰 기기 및 적은 조제량이 필요하다.

본 발명은 많은 이점을 갖는다. 예를 들어, 큰 단일 투여량의 약제(예를 들어, 치료제, 예방제, 진단제, 예후제)가 높은 효율로 DPI를 통해 폐계로 투여될 수 있다. 본 발명은 폐 전달을 위한 단순하고 비용 효과적인 기기를 사용하는데, 이는 효과를 증대시키고 폐기되는 약물을 최소화시킨다. 투약 빈도가 본 발명의 전달 방법에 의해 감소될 수 있기 때문에, 치료 또는 예방 프로토콜에 대한 환자의 수궁이 증대될 것으로 예상된다. 유리하게는, 폐전달은 주사를 필요치 않게 할 수 있다. 예를 들어, 매일 인슐린을 주사할 필요가 없게 될 수 있다. 또한, 입자 자체의 특성 향상은, 치료학적, 예방학적, 진단학적 또는 예후적 효과를 달성하는데 필요한 약제의 양이 실질적으로 감소하는 용량 이점을 유도할 수 있다. 실시예 5 내지 9에는 L-Dopa로의 이러한 효과가 기재되어 있다. 이러한 용량 이점은 다른 투여 방식, 특히 경구투여 방식과 비교하여 생체이용율(예를 들어, 혈장 수준 생체이용율) 및 치료학 이점을 2배 이상 증가시킬 수 있다. 또한, 매우 효율적인 전달과 용량 이점의 조합은 약제의 약효를 현재 공지된 수준을 넘어서도록 증가시킨다. 또한, 입자가 다양한 약제에 대한 담체로서 사용될 수 있다는 점은 본 발명의 넓은 적용성을 강조하고 있다.

#### 도면의 간단한 설명

도 1은 미세화된 알부테롤 술페이트(다이아몬드형), 분무-건조된 알부테롤 술페이트(사각형) 및 분무-건조된 hGH(삼각형)의 압력에 대해 좌표 처리된 질량중기하학적직경(MMGD) 미크론을 나타낸 그래프이다.

도 2A는 IHA에 의해 측정된 것으로서, 30L/분에 흡입기로부터 방출된 입자(각 쌍의 오른쪽 막대)와 비교한, RODOS에 의해 측정된 초기 입자(각 쌍의 왼쪽 막대)으로서 미세화된 알부테롤 술페이트, 분무-건조된 알부테롤 술페이트 및 분무-건조된 hGH의 정중기하학적직경을 나타낸 막대 그래프이다.

도 2B는 에어로브레서(AeroBreather)에 의해 측정된 것으로서, 30L/분에 흡입기로부터 방출된 입자(오른쪽 막대)와 비교한, 에어로디스펜서(AeroDispenser)에 의해 측정된 초기 입자(왼쪽 막대)로서의, 미세화된 알부테롤 술페이트 및 분무-건조된 알부테롤 술페이트의 정중기하학적직경을 나타낸 막대 그래프이다.

도 3은 60L/분에서 DPT를 사용한 방출된 용량(the Emitted Dose Using DPI)의 4.0미크론을 초과하는 미세 입자 분율(the Fine Particle Fraction: FPF)을 나타낸 막대 그래프이다.

도 4는 방사선 처리된 입자의 용량(왼쪽 막대)과 감마 카운트(오른쪽 막대) 입자 크기 분포를 비교한 막대 그래프이다.

도 5는 공칭 용량(다이아몬드형)에 대한 폐에서 침착된 용량(다이아몬드형)을 나타낸 그래프이다. 10개의 평균 침착율은 59%(점선)이었다.

도 6은 6mg(왼쪽 막대) 대 50mg(오른쪽 막대)의 충전 중량에 대해 수득된 질량 분율의 비교를 나타낸 막대 그래프이다.

도 7은 건강한 지원자에서 흡기성 유량에 대한 본 발명(원형)의 입자의 상대적인 폐 침착을 나타낸 그래프이다. 이는 동일한 흡기성 유량의 범위에서 건식 분말 흡입기(DPI)(선)로부터의 허파 침착을 비교한 것이다. DPI의 비교에 있어서, 본 발명의 입자의 침착 효율은 1.0의 평균 값(점선)으로 표준화되었다. 본 발명의 입자에 있어서 공칭 용량으로 분할된 폐에 침착된 용량의 평균 효율은 도 5에 도시된 바와 같이 59%이다.

도 8에는 경구 또는 폐 투여(8mg 용량에 대해 표준화됨) 후 시간 대 L-Dopa의 혈장 농도를 나타낸 좌표이다.

도 9는 경구 및 폐 그룹에 대한 시간 대 케토프로펜의 혈장 농도를 나타낸 좌표이다.

도 10은 경구 그룹에 대한 시간 대 케토프로펜의 혈장 농도를 나타낸 좌표이다.

도 11은 폐 그룹에 대한 시간 대 케토프로펜의 혈장 농도이다.

도 12는 L-DOPA를 포함한 상이한 분말 제형에 대한 RODOS 곡선을 나타낸 좌표이다.

도 13A 및 13B는 블랭크 샘플(도 13B)과 비교한 분말(도 13A)로부터의 L-DOPA 회수를 나타낸 HPLC 크로마토그램이다.

도 14A는 폐 및 경구 경로 후의 L-DOPA 혈장 수준을 나타낸다.

도 14B는 폐, 경구 및 정맥내 투여 후 L-DOPA 혈장 수준을 나타낸다.

도 15A 및 도 15B는 파킨슨병을 앓고 있는 쥐 모델에서 기능성 "플레이싱 테스트(placing task)"에 따른 경구 및 폐 L-DOPA의 결과를 각각 나타내고 있다.

도 16A 및 도 16B는 파킨슨병을 앓고 있는 쥐 모델에서 기능성 "브레이싱 테스트(bracing task)"에 따른 경구 및 폐 L-DOPA의 결과를 각각 나타내고 있다.

도 17A 및 도 17B는 파킨슨병을 앓고 있는 쥐 모델에서 기능성 무운동 테스트에 따른 경구 및 폐 L-DOPA의 결과를 각각 나타내고 있다.

도 18은 파킨슨병을 앓고 있는 쥐 모델에서 기능성 회전에 따른 L-DOPA의 경구 및 폐 전달의 결과를 나타내고 있다.

도 19는 세리벤트(Serevent<sup>®</sup>) 제형[SX-1(0.5) "x" 및 SX-2(1.0) 개방된 원형]과 비교하여, 살메테롤 제형[F-1(0.5), 다이아몬드형; F-1(1.0), 사격형; F-1(2.0), 삼각형]의 처리 후 24시간에 걸친 기니아 피그 모델에서의 메타콜린에 따른 영향의 결과를 나타낸다.

도 20은 세리벤트 제형[SX-1(0.5) "x" 및 SX-2(1.0) 개방된 원형]과 비교하여, 살메테롤 제형[F-2(0.5), 다이아몬드형; F-2(1.0), 사격형; F-2(2.0), 삼각형]의 처리 후 24시간에 걸친 기니아 피그 모델에서의 메타콜린에 따른 영향의 결과를 나타낸다.

#### 발명의 상세한 설명

본 발명의 단계 또는 본 발명의 부분의 조합으로서의 본 발명의 특징 및 기타 상세한 사항은 첨부된 도면을 참조로 하여 더욱 상세하게 설명될 것이며, 청구범위에 교시될 것이다. 본 발명의 특정 구체에는 본 발명을 제한하고자 하는 것이 아니라 실례를 예시하는 것임이 이해될 것이다. 본 발명의 주요 특징은 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 구체예에 이용될 것이다. 본 출원은 2000년 9월 19일에 "중추신경계 질환 치료에 있어서의 폐 전달"이라는 제목으로 출원된 미국 특허 출원 제 09/665,252호(도켓 번호: 2685.1009-000) 및 본 출원과 동일한 날짜에 출원된 동일한 제목 및 발명자를 갖는 공동계류중인 출원과 관련이 있다. 상기 출원의 전체 내용은 본원에 참고 문헌으로서 인용되었다.

본 발명은 처리 입자의 폐계로의 전달 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 폐계로 전달될 수 있으며, 담체 입자를 포함하는 호흡성 조성물에 관한 것이다.

한 구체예에서, 본 발명의 입자는 약제를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "제"는 치료제, 예방제, 진단제 및 예후제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 발명은 또한, 본 방법에 의해 절단되는 입자를 포함하는 약제 자체에 관한 것이다. 의도된 용도에 따라, 약제는 건식 분말(예를 들어, 미립자 분말), 입자(예컨대, 미세화된 입자, 서브미크론 입자, 나노미터 크기 입자, 리포솜, 미소구체, 마이크로입자, 미셀 및 비드(이에 제한되지는 않음)), 결정체, 액체 용액, 현탁액 또는 에멀션의 형태(이에 제한되지는 않음)로 존재할 수 있다. 용어 "제"는 생체활성제를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "생체활성"은 살아있는 유기체 예를 들어, 포유동물 및 특히 사람 피검자에 대한 효과를 가짐을 뜻한다. 입자 또는 미립자 분말 형태의 약제는 분쇄하고, 여과하고, 증발하고, 추출하고 분무 건조시키므로써 제조될 수 있으며, 담체자에 공지된 기타 기법에 의해 제조될 수 있다. 한 구체예에서, 약제는 비결정형이며, 예를 들어, 약제는 결정체 구조를 갖지 않거나 결정체를 포함하지 않는다.

적합한 생체활성제의 일부 예는 약물(예를 들어, 소수성 약물, 친수성 약물), 약제학적 제형, 비타민, 약제학적 보조제, 단백질, 펩티드, 폴리펩티드, 호르몬, 아미노산, 핵산, 백신 제형, 불활성 바이러스, 인지질, 계면활성제 및 이들의 조합물을 포함한다. 약제의 기타 예로는 합성 화합물, 무기 화합물 및 유기 화합물을 포함한다.

본 발명은 또한, 분무 건조에 의한 독특한 입자의 제법에 관한 것이다. 우수한 호흡가능성, 유동성 및 분산성을 띠게 하는 입자의 독특한 특성은, 약제가 (1) 분무-건조 사전 혼합물의 일부로서 입자로 혼입되거나, (2) 따로 제조된 입자에 첨가하여 입자에 부착하거나 화학 결합하거나, (3) 입자와 배합되어 혼합되거나 공동-전달되는 것에 상관없이 유지된다. 화학 결합은 이온성 상호작용, 하전된 입자 및/또는 약제의 친화력, 이중극-이중극 상호작용, 반데르발스 힘, 공유적 상호작용, 흡착작용 및 수소 결합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

공지된 입자와는 달리, 본 발명의 건식 입자는 용도가 다양하다, 예를 들어, 본 발명의 입자는 약제와 혼합될 수 있고, 약제를 운반하거나, 약제 또는 약제 혼합물을 공동-전달할 수 있다. 한 구체예에서, 공동-전달된 입자는 폐에서 원하는 침착 위치로 1종 이상의 약제를 수반하는 에스코트(escort)로서 설명될 수 있다. 예를 들어, 락토스는 공인되고 시중에서 구입가능한 담체이다. 그러나, 락토스는 폐의 심부로 효과적으로 전달될 수 없다. 본 발명의 입자는 폐의 심부에 도달하며, 원하는 약제를 원하는 침착 부위로 에스코팅하고, 수반하고/거나 공동-전달할 수 있다. 수개의 예들이 본원에 제공된다. 이러한 면에 있어서, 담체로서 사용될 경우, 본 발명의 입자는 이점을 가지며, 락토스를 포함한 기타 담체가 제공하지 못하는 선택권을 제공한다.

본 발명의 입자는 놀랍도록 높은 로드의 약제를 운반할 수 있다. 또한, 본 발명의 입자는 고도로 분산가능하며, 호흡계에서 영역을 표적화시킬 수 있다. 또한, 놀랍도록 높은 로드의 약제를 운반하는 건식 분말을 포함하는 본 발명의 방법에 사용된 조성물은 호흡계 예를 들어, 상기도, 중심기도 및/또는 폐의 심부의 특정 영역을 표적화시킬 수 있다.

본 발명의 입자 및 약제의 개별적인 특성을 고려하여, 조성물은 성공적인 폐 투여를 위해 최적화될 수 있다. 고도로 분산가능한 입자를 포함하는 조성물은 선택적으로 추가적인 입자 및/또는 약제를 선택적으로 포함할 수 있다. 본 발명의 입자를 포함하는 조성물은 약제의 유무에 상관없이 입자를 포함하는 것으로 이해된다. 약제는 특히 (1) 입자로 혼입되고, (2) 입자에 흡착되고, 부착되거나 화학결합하고/거나 (3) 혼합될 입자와 배합되고 입자와 공동-전달될 수 있다.

본원에 설명된 바와 같이, 본 발명의 입자, 특히 본원에 정의된 바와 같은 고도로 분산가능한 입자를 포함하는 조성물은 추가로 약제를 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 본 발명의 입자를 포함하는 조성물은 1종 이상의 추가적 약제를 포함한다. 지적인 바와 같이, 본 발명의 입자를 포함하는 조성물은 입자중에 약제를 혼입시키고, 입자와 약제를 운반하고/거나 약제 또는 이의 혼합물을 공동-전달할 수 있다. 약제의 예로는 치료제, 예방제, 진단제 및 예후제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 적합한 약제는 또한, 생체활성제를 포함한다. 적합한 생체활성 약제의 일부 예로는 약물(예를 들어, 소수성 약물, 친수성 약물), 약제학적 제형, 비타민, 약제학적 보조제, 단백질, 펩티드, 폴리펩티드, 호르몬, 아미노산, 핵산, 백신 제형, 불활성화된 바이러스, 폐 계면활성제 및 이들의 혼합물을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 기타 예로는 치료학적, 예방학적, 진단학적 및/또는 예후적 활성을 갖는 합성 화합물, 무기 화합물 및 유기 화합물, 단백질 및 펩티드, 폴리사카라이드 및 기타 당, 지질, 및 DNA 및 RNA 핵산 서열을 포함한다. 핵산 서열은 유전자 즉, 전사를 방해하기 위해 상보적 DNA에 결합하는 안티센스 분자 및 리보자임을 포함한다. 약물을 소수성 및 친수성 약물을 포함한다.

본 발명의 입자에 혼입되고, 부착되고 화학 결합되고/거나 배합되어 공동-전달되는 약제를 포함하는 약제는 다양한 생물학적 활성을 가질 수 있다. 이러한 약제는 혈관작용 약제, 신경활성 약제, 호르몬, 항응고보존액, 면역조절제, 세포살상제, 예방제, 항체, 항바이러스 약제, 안티센스 약제, 항원, 및 항체 예컨대 모노클로날 항체 예를 들어, 팔리비주맵 (palivizumab)(Medimmune, Gaithersburg, MD)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 예에서, 단백질은 항체 또는 항원일 수 있으며, 이들은 적합한 반응을 유출하기 위해 주사에 의해 투여되어야 한다. 넓은 범위의 분자량 예를 들어, 100 내지 500,000 달톤의 화합물은 캡슐화될 수 있다. 단백질은 100 아미노산 잔기 이상으로 구성된 것으로서 정의 내릴 수 있으며; 펩티드는 100 아미노산 잔기 미만이다. 다르게 언급되어 있지 않는 한, 용어 단백질은 단백질 및 펩티드 둘 모두를 지칭한다. 예로는 인슐린 및 기타 호르몬을 포함한다. 폴리사카라이드 예컨대, 헤파린이 또한 투여될 수 있다.

입자 특히, 본원에 사용된 고도로 분산가능한 입자는 전신 치료에 적합한 생체활성제를 포함할 수 있다. 대안적으로, 입자는 폐내의 국부 전달을 위한 생체활성제 예컨대, 친식, 폐기종 또는 낭포성 섬유증의 치료를 위한 약제 또는 전신 치료를 위한 약제를 포함할 수 있다. 예를 들어, 낭포성 섬유증과 같은 질환을 치료하기 위한 유전자는, 친식을 위한 베타 아고니스트일 수 있으므로 투여될 수 있다. 기타 특이적 생체활성제는 성장 호르몬(예를 들어, 포유동물 성장 호르몬, 특히 사람 성장 호르몬), 인터루킨, 인슐린, 칼시토닌, 황체형성 호르몬 방출 호르몬("LHRH") 또는 고나도트로핀 방출 호르몬("LHRH") 및 이들의 유사체(예를 들어, 레오프롤라이드), 과립구 콜로니 자극 인자("G-CSF"), 파라티로이드 호르몬 관련 펩티드, 소마토스타틴, 테스토스테론, 프로게스테론, 에스트라디올, 니코틴, 펜타닐, 노르티스테론, 클로니딘, 스코폴라민, 살리실레이트, 크로몰린 나트륨, 살메테롤, 포르메테롤, 이프라트로피움 브로마이드, 알부테롤(알부테롤 술페이트 포함), 플루티카손, 발륨, 알프라졸람 및 레보도파(L-Dopa)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 기타 적합한 치료제 및/또는 예방제는 본원에 참고 문헌으로서 인용된 2000년 9월 19일 출원된 미국 출원 제 09/665,252호(도켓 번호: 2685.1009-000) 및 U.S. 특허 5,875,776호에 기재된 약제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 인슐린을 포함하는 대부분의 단백질과 같은 하전된 이러한 치료제는 하전된 약제 및 반대 전하의 분자와의 복합물로서 투여될 수 있다. 바람직하게는, 반대 전하의 분자는 하전된 지질 또는 반대로 하전된 단백질이다. 입자는 작은 및 큰 분자의 일관된 방출을 허용하는 지질과 같은 물질을 혼입시킬 수 있다. 이러한 복합물 또는 물질의 첨가는 입자의 크기 및 형태에 적용가능하고, 특히 흡입된 입자로부터의 치료제의 방출율을 조정하는데 유용하다.

다양한 진단학적 및/또는 예후제가 고도로 분산가능한 입자내로 혼입될 수 있으며, 이는 환자에 투여된 후 국부적으로 또는 전신적으로 혼입된 약제를 전달할 수 있다. 대안적으로, 진단제 및/또는 예후제는 본 발명의 고도로 분산가능한 입자와 운반되고, 입자에 부착되고, 화학 결합되고/거나 공동-전달될 수 있다. 진단제를 혼입시키는 입자는 당해분야에서 허용가능한 표준 기법 및 통상적으로 구입가능한 기구를 사용하여 검출될 수 있다.

한 구체예에서, 본 발명의 입자를 포함하는 조성물은 추가로 진단제 및/또는 예후제를 포함한다. 진단제 및/또는 예후제는 방사성 동위원소, 에피토프 표지, 친화도 표지, 스핀 표지, 효소 표지, 형광성 그룹 및 화학루미네스스 그룹을 포함하는 표지를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 한 구체예에서, 표지는 방사성 동위원소 예를 들어, <sup>99m</sup>Tc이다. 추가적인 표지는 당해분야에 널리 공지되어 있으며, 본 발명에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

입자의 생체적합성 또는 약물학적으로 허용가능한 기체가 예를 들어, 당업자에 공지된 기법을 이용하여 입자내로 혼입되거나 입자의 동공내에 포획될 수 있다. 용어 기체는 기체이거나 이미징(imaging)이 수행되고 있는 온도에서 기체를 형성할 수 있는 화합물을 의미한다. 한 구체예에서, 입자에서 기체 보유율은 입자 둘레로 기체-불침투성 배리어를 형성하므로써 증가된다. 이러한 배리어는 당업자에 널리 공지되어 있다.

사용될 수 있는 기타 이미징 약제는 양전자 방출 단층촬영(PET), 컴퓨터 단층촬영(CAT), 단 광자 방출 전산화 단층촬영, x-레이, 투시촬영 및 자기공명영상(MRI)에 사용된 통상적으로 구입가능한 약제를 포함한다.

MRI에서 조영제로서 사용하기에 적합한 물질의 예로는 가돌리늄 킬레이트 예컨대, 디에틸렌 트리아민 펜트아세트산 (DTPA) 및 가도펜토에이트 디메글루민, 및 철, 마그네슘, 망간, 구리 및 크롬을 포함한다.

CAT 및 x-레이에 유용한 물질의 예로는 정맥내 투여용 요오드 기재 물질 예컨대, 디아트리지오에이트 및 이오달라메이트에 의해 대표되는 이온성 단량체, 비이온성 단량체 예컨대, 이파미돌, 이소헥솔 및 이오베르솔, 비이온성 이량체 예컨대, 이오트롤 및 이오디사놀, 및 이온성 이량체 예를 들어, 이속사갈테를 포함한다.

또한, 약제는 입자상의 반응성 작용기를 통해 입자에 부착될 수 있는 표적화 분자를 포함한다. 표적화 분자는 입자와 예컨대, 폐내의 특이적 수용체 부위와의 결합적 상호작용을 허용한다. 입자는 특정 표적에 특이적으로 또는 비특이적으로 결합하는 리간드의 부착에 의해 표적화될 수 있다. 전형적인 표적화 분자는 항체 가변 영역을 포함하는 항체(예를 들어, 폴리클로날 혈청, 모노클로날, 키메라성, 사람화된, 사람) 및 이들의 단편(예를 들어, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv), 레시틴 및 호르몬, 또는 예를 들어, 표적 세포의 표면상의 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 기타 유기 분자를 포함한다.

또한, 약제 및 특히 생체활성제는 계면활성제 예컨대, 폐에 내생적인 계면활성제를 포함할 수 있다. 자연발생적이고 합성적인 폐 계면활성제는 본 발명의 범위내에 포함된다.

또한, 본 발명의 방법은 리셉터클에 저장될 수 있는 입자 및/또는 본 발명의 입자를 포함하는 조성물을 피검자의 기도로 투여하는 것에 관한 것이다. 본원에 설명된 바와 같이, 특정 구체예에서, 본 발명은 본 발명의 입자를 전달하는 방법에 관한 것이며, 또한 본 발명의 입자를 포함하는 호흡성 조성물을 전달하는 방법에 관한 것이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "리셉터클"은 예를 들어, 캡슐, 블리스터, 필름 피복된 콘테이너 웰, 챔버, 및 당업자에게 공지된 흡입기내에 입자, 분말 또는 호흡성 조성물을 저장하는데 적합한 기타 수단을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

바람직한 구체예에서, 리셉터클은 건식 분말 흡입기에 사용된다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 건식 분말 흡입기의 예로는 미국 특허 제 4,995,385호 및 제 4,069,819호에 기재된 흡입기, 스피날러(Fisons, Loughborough, U.K.), 로타할러(Glaxo-Wellcome, Research Triangle Technology Park, North Carolina), 플로우캡스(Hovione, Loures, Portugal), 인할레이터(Inhalator<sup>®</sup>)(Boehringer-Ingelheim, Germany) 및 에롤라이저(Aerolizer<sup>®</sup>)(Novartis, Switzerland), 디스크 할러(Diskhaler)(Glaxo-Wellcome, RTP, NC) 및 당업자에게 공지된 기타 흡입기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 한 구체예에서, 사용된 흡입기는 2001년 4월 16일에 출원된 데이비드 에이. 에드워드(David A. Edwards) 등에 의한 "흡입기 및 흡입 방법"이라는 제목의 미국 특허 출원(도CKET 번호: 00166.0109.US00)에 설명되어 있다. 이 출원은 본원에 참고 문헌으로 인용되었다.

한 구체예에서, 리셉터클의 용적은 약 0.37cm<sup>3</sup> 이상이다. 또 다른 구체예에서, 리셉터클의 용적은 약 0.48cm<sup>3</sup> 이상이다. 또 다른 구체예에서, 리셉터클의 용적은 약 0.67cm<sup>3</sup> 또는 0.95cm<sup>3</sup> 이상이다. 본 발명은 또한, 특정 캡슐 크기 예컨대, 2, 1, 0, 00 또는 000을 갖도록 설계된 캡슐인 리셉터클에 관한 것이다. 적합한 캡슐은 예를 들어, 예를 들어, 시오노기(Shionogi)(Rockville, MD)로부터 수득될 수 있다. 블리스터는 예를 들어, 휴크 호일스(Hueck Foils)(Wall, NJ)로부터 수득될 수 있다. 본 발명에 사용하기에 적합한 기타 리셉터클 및 이들의 용적은 당업자에게 공지되어 있다.

리셉터클은 입자 및/또는 입자를 포함하는 호흡성 조성물을 보유하거나 저장한다. 한 구체예에서, 입자 및/또는 입자를 포함하는 호흡성 조성물은 분말 형태로 존재한다. 리셉터클은 공지된 바와 같이 입자 및/또는 입자를 포함하는 조성물로 충전되어 있다. 예를 들어, 진공 충전 또는 텀핑 기법이 사용될 수 있다. 일반적으로, 리셉터클을 분말로 충전시키는 것은 당해분야에 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 리셉터클에 보유되거나 저장되는 입자, 분말 또는 호흡성 조성물은 약 5mg 이상의 질량을 갖는다. 바람직하게는, 리셉터클에 저장되거나 보유되는 입자 또는 호흡성 조성물의 질량은 약 10mg 이상이다.

본 발명의 한 구체예에서, 리셉터클은 다량의 입자, 특히 본원에 설명된 바와 같은 다량의 고도로 분산가능한 입자를 보유한다. 다량의 입자는 공칭 용량의 약제를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "공칭 용량"은 리셉터클내의 입자의 질량중에 존재하는 약제의 총 질량이며, 단일 호흡으로 투여가능한 약제의 총 양을 의미한다.

리셉터클에 저장되거나 보유되는 입자 및/또는 입자를 포함하는 호흡성 조성물은 리셉터클에 저장되거나 보유되며, 피검자의 기도로 투여된다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 입자 및/또는 호흡성 조성물의 "투여"는 입자를 피검자의 기도로 유입시키는 것을 의미한다.

본원에 설명된 바와 같이, 한 구체예에서, 본 발명은 담체 입자 및 약제를 포함하는 호흡성 조성물에 관한 것이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 담체 입자 및 약제를 포함하는 호흡성 조성물을 전달하는 방법에 관한 것이다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "담체 입자"는 약제를 포함할 수 있거나 없는 입자를 의미하며, 예를 들어, 약제의 안정성, 분산성, 에어로졸화, 일관성 및/또는 벌크화 특성을 증가시키므로써 약제의 호흡계로의 전달을 보조한다. 특정 구체예에서, 본 발명의 입자는 피검자의 기도로 전달될 수 있는 입자임이 분명하다.

한 구체예에서, 본 발명은 담체 입자(제 없이)를, 약제를 포함하는 조성물과 배합하거나 혼합하므로써 형성된 호흡성 조성물에 관한 것이다. 그 후, 이러한 호흡성 조성물은 피검자의 기도로 투여될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 호흡성 조성물은 예를 들어, 건식 분말 흡입기를 사용하여 피검자의 호흡계로 전달된다. 한 구체예에서, 호흡성 조성물은 미세화된 입자(예를 들어, 서브미크론 입자) 형태의 약제를 포함하는 조성물을 포함한다.

본 발명의 입자가 약제와 공동-투여되는 담체 입자인 구체예에서, 담체 입자는 바람직하게는 피검자의 호흡계(예를 들어, 상기도, 하기도, 폐의 심부)로의 약제의 전달을 향상시킨다. 한 구체예에서, 본 발명의 입자는 약제와 공동 투여되는 담체 입자이며, 피검자 호흡계(예를 들어, 상기도, 중심 기도, 또는 바람직하게는 폐의 심부)의 특정 영역으로의 약제의 일정한 전달을 향상시킨다. 또한, 본 발명의 담체 입자와 약제의 공동 투여는 대식세포(예를 들어, 폐포대식세포)에 의한 약제의 식균작용의 감소 및/또는 (예를 들어, 입자 집합 또는 응집을 감소시키므로써)제의 분산성 및 에어로졸화의 증가를 돕는다.

본원에 설명된 바와 같이, 본 발명의 입자를 포함하는 입자 및 호흡성 조성물은 선택적으로 계면활성제 예컨대, 폐에 내생적인 계면활성제를 선택적으로 포함할 수 있다. 또한, 입자 및 본 발명의 입자를 포함하는 호흡성 조성물은 바람직하게는 생분해성 및 생체적합성을 띠며, 생분해성 및/또는 공동투여 약제의 전달율에 선택적으로 영향을 끼칠 수 있다.

본원에 설명된 바와 같이, 본원에 설명된 호흡성 조성물에 함유된 담체 입자를 포함하는 입자는 바람직하게는 "공기역학적으로 가볍다". 하기 설명된 바와 같이, 본원에 사용된 "공기역학적으로 가볍다"는 말은 입자의 탭 밀도가  $0.4\text{g/cm}^3$  미만임을 뜻한다. 한 구체예에서, 담체 입자의 탭 밀도는 약  $0.1\text{g/cm}^3$ 에 근접하거나 미만이다. 탭 밀도에 대한 추가의 설명 및 탭 밀도를 측정하는 방법은 하기에 더욱 상세히 설명되어 있다.

한 구체예에서, 본원에 설명된 호흡성 조성물에 함유된 담체 입자를 포함하는 입자의 질량중기하학적직경(MMGD)은 바람직하게는, 약  $5\mu\text{m}$ 를 초과한다. 또 다른 구체예에서, 입자의 MMGD는 약  $5\mu\text{m}$  초과 내지 약  $30\mu\text{m}$ 이거나, 약  $10\mu\text{m}$  내지 약  $30\mu\text{m}$ 이다. MMGD의 추가 설명 및 입자의 MMGD를 산출하는 방법은 하기에 더욱 상세히 설명되어 있다.

또한, 피검자의 기도로 투여될 수 있는 본 발명의 입자를 포함하는 호흡성 조성물 및/또는 입자는 당해분야에 널리 공지된 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체를 선택적으로 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 본원에 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 현저한 독소 악영향을 끼치지 않으면서 환자의 호흡계로 투여될 수 있는 담체를 의미한다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체는 흡입 요법에 전형적으로 사용되는 담체(예를 들어, 락토스)를 포함하며, 액체(예를 들어, 염수) 또는 분말(예를 들어, 미립자 분말) 형태의 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 한 구체예에서, 약제학적으로 허용되는 담체는 평균 직경이 약  $50\mu\text{m}$  내지 약  $200\mu\text{m}$ 인 입자 및 특히 상기 범위내의 락토스 입자를 포함한다. 당업자는 본 발명의 입자를 투여하고, 수반하고/거나 공동투여하는데 사용되는 적합한 약제학적으로 허용되는 담체를 용이하게 결정할 수 있을 것으로 이해된다.

본 발명의 한 구체예에서, 입자를 포함하는 호흡성 조성물 및/또는 입자는 단일의 호흡-활성화된 단계로 투여된다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "호흡-활성화된" 및 "호흡-작용된"은 교환가능하게 사용된다. 본원에 사용된 바와 같은 "단일의 호흡-활성화된 단계"는 입자가 한 단계로 분산되고 흡입됨을 의미한다. 예를 들어, 호흡-활성화된 단일 흡입기에서, 피검자의 흡입 에너지는 입자를 분산시키기도 하고 이들을 경구 또는 비강인강으로 빨아당기기도 한다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 호흡-작용된 단일 흡입기인 적합한 흡입기로는 U.S. 특허 제 4,995,385호 및 제 4,069,819호에 설명된 건식 분말

단순 흡입기, 스핀할러(Fisons, Loughborough, U.K.), 로타할러(Glaxo-Wellcome, Research Triangel Technology Park, North Carolina), 플로우캡(Hovione, Loures, Portugal), 인할레이터(Boehringer-Ingelheim, Germany) 및 에콜라이저(Novartis, Switzerland), 더 디스크할러(Glaxo-Wellcome, RTP, NC) 및 당업자에게 공지된 기타 흡입기가 있으나 이에 제한되지는 않는다. 한 구체예에서, 사용된 흡입기는 2001년 4월 16일에 출원된 데이비드 에이. 에드워드 등에 의한 "흡입기 및 흡입 방법"이라는 제목의 미국 특허 출원(도CKET 번호: 00166.0109.US00)에 설명되어 있다. 이 출원은 본원에 참고 문헌으로 인용되었다.

"단일 호흡" 투여는 호흡-활성화된 단일 투여를 포함하며, 또한 입자, 호흡성 조성물 또는 분말이 우선 분산된 후, 분산된 입자, 호흡성 조성물 또는 분말의 흡입 또는 흡기 동안의 투여를 포함한다. 투여의 후자 방식에서, 피검자 흡입에 의해 제공된 에너지보다 추가의 에너지가 입자를 분산시킨다. 환자의 흡입에 의해 유도된 에너지 이외의 에너지를 사용하는 단일 호흡 흡입기의 예는 본원에 참고 문헌으로 인용된, 1999년 12월 7일에 공개된 패튼(Patton) 등의 미국 특허 제 5,997,848 호에 기재되어 있다.

바람직한 구체예에서, 입자, 입자를 포함하는 호흡성 조성물 또는 분말이 포함된 리셉터클은 단일의 호흡-활성화된 단계로 비워진다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 입자가 동봉된 리셉터클은 단일 흡입으로 비워진다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "비워짐"은 리셉터클내에 함유된 50% 이상의 입자량이 입자의 피검자의 호흡계로의 투여 동안 흡입기로부터 방출됨을 의미한다.

본 발명의 바람직한 구체예에서, 투여된 입자는 고도로 분산가능하다. 본원에 사용된 바와 같이, 문구 "고도로 분산가능한" 입자 또는 분말은, HELOS 또는 기타 레이저 회절 시스템에 의해 4 Bar에서 측정된 기하학적 입자 크기 보다 약 1.5배 미만의 기하학적 직경을 갖는 RODOS 오리피스로부터 건식 분말 입자가 약 1 Bar에서 방출되도록, RODOS 건식 분말 분산기(또는 대응하는 기법)에 의해 분산될 수 있는 입자 또는 분말을 의미한다. 고도로 분산가능한 분말은 함께 집합되거나, 응집되거나 덩어리를 이루는 경향이 낮으며/거나, 함께 집합되거나, 응집되거나 덩어리를 이루는 경우, 흡입기로부터 방출되고, 피검자에 의해 호흡될 때 용이하게 분산되거나 탈응집화된다. 전형적으로, 본 발명의 방법에 적합한 고도로 분산가능한 입자는 유사한 공기역학적 직경을 가지며, 폐계로의 전달에 적합한 표준 미세화된 분말과 비교하여 매우 낮은 응집을 나타낸다. 분산성을 증가시키는 특성은 예를 들어, 입자 하전, 표면 거칠기, 표면 화학 및 비교적 큰 기하학적 직경을 포함한다. 한 구체예에서, 분말 입자간의 친화력은 기하학적 직경의 제곱으로 역으로 변하고(일정한 분말 질량에 대해), 입자에 의해 관찰된 전단력은 기하학적 직경의 제곱으로 증가하기 때문에, 분말 분산의 용이성은 제 4의 힘에 대해 증가된 기하학적 직경의 순서와 역이 된다. 증가된 입자 크기는 입자간 접촉력을 감소시킨다(Visser, J., Powder Technology, 58:1-10 (1989)). 이와 같이, 큰 입자 크기, 상응한 모든 다른 요소는 낮은 외관 질량 밀도(envelope mass density)를 갖는 입자에 대한 폐로의 에어로졸화 효율을 증가시킨다. 증가된 표면 불규칙성 및 거칠기 또한 입자 분산성을 향상시킬 수 있다. 표면 거칠기는 예를 들어, 주름에 의해 나타낼 수 있다.

입자는 바람직하게는, 생분해성 및 생체적합성을 띠며, 선택적으로 치료제, 예방제, 진단제 또는 예후제의 전달을 위한 조정된 속도로 생분해될 수 있다. 약제 바람직하게는 생체활성제 이외에, 입자는 추가로 다양한 물질을 포함할 수 있다. 유기 및 무기 물질 모두가 사용될 수 있다. 예를 들어, 세라믹이 사용될 수 있다. 또한, 지방산이 사용되어 공기역학적으로 가변된 입자를 형성시킬 수 있다. 기타 적합한 물질로는 아미노산, 젤라틴, 폴리에틸렌 글리콜, 트레할로스, 락토스 및 텍스트란을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직한 입자 조성물은 추가로 하기에 설명되어 있다. 한 구체예에서, 본 발명의 입자는 비중합체성이다. 또 다른 구체예에서, 호흡성 조성물은 비중합체성인 담체 입자를 포함한다.

본 발명의 한 구체예에서, 약 0.4g/cm<sup>3</sup> 미만의 탭 밀도를 갖는 입자가 피검자의 기도로 투여된다. 약 0.4g/cm<sup>3</sup> 미만의 탭 밀도를 갖는 입자는 본원에서는 "공기역학적으로 가벼움"을 의미한다. 바람직한 구체예에서, 입자는 약 0.1g/cm<sup>3</sup>에 근접하거나 미만의 탭 밀도를 갖는다. 탭 밀도는 입자를 특성결정하는 외관 질량 밀도의 측정값이다. 통계적으로 등방성인 형태의 입자의 외관 질량 밀도는 입자가 보유될 수 있는 최소 구형 외관 용적(minimum sphere envelope volume)에 의해 분할된 입자의 질량으로서 정의 내려진다. 낮은 탭 밀도에 기여할 수 있는 특징은 불규칙한 표면 질감 및 공동 또는 다공성 구조를 포함한다.

탭 밀도는 듀알 플랫폼 마이크로프로세서 컨트롤드 탭 덴서티 테스터(Dual Platform Microprocessor Controlled Tap Density Tester)(Vankel, NC)와 같은 당업자에게 공지된 기구를 사용하여 측정될 수 있다. 탭 밀도는 외관 질량 밀도의 표준 측정치이다. 탭 밀도는 유에스피 벌크 덴서티 및 탭드 덴서티(USP Bulk Density and Tapped Density)(United States Pharmacopia convention, Rockville, MD, 10<sup>th</sup> Supplement, 4950-4951, 1999)의 방법을 사용하여 측정될 수

있다. 또 다른 구체예에서, 입자의 질량중기하학적 직경(MMGD)은 약 5 $\mu$ m를 초과하고, 바람직하게는, 약 10 $\mu$ m에 근접하거나 이를 초과한다. 한 구체예에서, 입자의 MMGD는 약 5 $\mu$ m 초과 내지 약 30 $\mu$ m이다. 또 다른 구체예에서, 입자의 MMGD는 약 10 $\mu$ m 내지 약 30 $\mu$ m이다.

한 구체예에서, 본 발명의 입자를 포함하는 조성물은 역학적 벌크 밀도가 0.1g/cm<sup>3</sup> 이상이고, 탭 밀도는 약 0.4g/cm<sup>3</sup> 미만이다. 바람직한 구체예에서, 입자는 역학적 벌크 밀도가 0.1g/cm<sup>3</sup>를 초과하고, 탭 밀도는 약 0.1g/cm<sup>3</sup>에 근접하거나 미만이다.

입자의 MMGD는 코틀러 멀티사이저 일레(Coulter Multisizer Ile)(Coulter Electronics, Luton, Beds, England) 또는 레이저 회절 장치(예를 들어, Helos, Sympatec, Inc., Princeton, New Jersey)와 같은 전기적 영역 감지 장치를 사용하여 측정될 수 있다. 샘플에서 입자의 직경은 입자 조성물 및 합성 방법과 같은 요인에 따라 변화한다. 샘플내의 입자 크기의 분포는 기도내의 표적 부위내로의 최적의 침착을 허용하도록 선택될 수 있다.

본 발명의 사용에 적합한 공기역학적으로 가벼운 입자는 제작되거나 예를 들어, 침전 또는 원심분리에 의해 분리되어 사전 선택된 크기 분포를 갖는 입자 샘플을 제공할 수 있다. 예를 들어, 샘플에서 30%, 50%, 70% 또는 80% 초과 입자는 5 $\mu$ m 이상의 선택된 범위내의 직경을 가질 수 있다. 입자의 특정 백분율이 포함되어야 하는 선택된 범위는 예를 들어, 약 5 내지 30 $\mu$ m, 또는 선택적으로 5 내지 15 $\mu$ m일 수 있다. 한 구체예에서, 입자의 적어도 일부는 약 9 내지 11 $\mu$ m의 직경을 갖는다. 또한 선택적으로, 90% 이상 또는 선택적으로, 95% 또는 99%의 입자가 선택된 범위내의 직경을 갖는 입자 샘플이 제조될 수 있다. 입자 샘플중의 공기역학적으로 가볍고 더 큰 직경을 갖는 입자(약 5 $\mu$ m 이상)의 더 높은 존재 비율은, 입자에 혼입되고, 입자와 운반되고, 입자 표면에 부착되고, 표면에 흡착되고/거나 입자와 공동-전달되는 치료제, 예방제, 진단제 또는 예후제의 폐의 심부로의 전달을 향상시킨다.

한 구체예에서, 입자 샘플중의 사분위 범위는 예를 들어, 약 7.5 내지 13.5 $\mu$ m의 평균 직경을 갖는 2 $\mu$ m일 수 있다. 이와 같이, 예를 들어, 약 30% 내지 40% 이상의 입자는 선택된 범위내의 직경을 가질 수 있다. 바람직하게는, 입자의 상기 백분율은 1 $\mu$ m 범위내, 예를 들어, 6.0 내지 7.0 $\mu$ m, 10.0 내지 11.0 $\mu$ m 또는 13.0 내지 14.0 $\mu$ m의 직경을 갖는다.

추가 구체예에서, 입자의 공기역학적 직경은 약 1 $\mu$ m 내지 약 5 $\mu$ m이다. 공기역학적 직경,  $d_{aer}$ 는 하기 식으로부터 산출될 수 있다:

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

상기 식에서,  $d_g$ 는 기하학적 직경 예를 들어, MMGD이고,  $\rho$ 는 동력 밀도이다. 실험적으로, 공기역학적 직경은, 전체 입자를 특정 간격으로 고정시키는 시간을 이용하여 입자의 공기역학적 직경을 직접적으로 추론하는 중력 고정법(gravitational settling method)을 이용하므로써 측정될 수 있다. 질량중기하학적 직경(MMAD)을 측정하는 간접적인 방법은 다단계 액체 임핀저(impinger)(MSLI)이다.

한 구체예에서, 본 발명의 입자는 0.1g/cm<sup>3</sup>를 초과하는 역학적 벌크 밀도를 갖는다.

본 발명의 한 구체예에서, 리셉터클내에 저장된 입자 질량의 50% 이상이 단일의 호흡-활성화된 단계로 피검자의 기도로 전달된다. 바람직하게는, 입자 질량의 약 55% 이상이 전달된다.

본 발명의 또 다른 구체예에서, 5mg 이상, 바람직하게는 7mg 이상 또는 10mg 이상의 약제, 바람직하게는 생체활성제는 투여에 의해 단일 호흡으로 리셉터클내에 보유된 입자를 피검자의 기도로 투여하므로써 전달된다. 15mg 이상 바람직하게는 20mg, 더욱 바람직하게는 25, 30, 35, 40 및 50mg 이상의 양이 전달될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 35mg 이상의 양이 전달된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 50mg 이상의 양이 전달된다.

피검자의 기도로 투여된 입자는 폐계로 전달된다. 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 입자는 상기도(구강인두 및 후두), 기관과 이 뒤를 이어서 기관지와 세기관지로의 분기점을 포함하는 후기도, 및 호흡세기관지로 갈라져서 최종 호흡 지역인 폐포 또는 폐포의 심부로 유도된 종말 세기관지를 통해 이송된다. 본 발명의 한 구체예에서, 대부분의 질량의 입자는 폐의 심부에 침착된다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 주로 중심 기도로 전달된다. 또 다른 구체예에서, 상기도로 전달된다.

본 발명의 사용에 적합한 입자는 폐의 심부, 중심 기도 또는 상기도와 같은 기도의 선택된 영역으로의 국부화된 전달에 적합한 물질, 표면 거칠기, 직경 및 탭 밀도로 제조될 수 있다. 예를 들어, 더 높은 밀도 또는 더 큰 입자가 상기도 전달에 사용될 수 있거나, 동일하거나 상이한 약제와 제공된 샘플중의 상이한 크기의 입자의 혼합물이 한번의 투여로 폐의 상이한 영역을 표적화시키기 위해 투여될 수 있다. 입자 물질과 같은 인자를 기초로 하여 분해성 및 초 내지 달의 방출 시간을 갖도록 입자가 설계되고, 제조될 수 있다.

단일의 호흡-활성화된 단계로 입자의 폐계로의 전달은 전형적으로 피검자의 흡입에 의해 제공된 에너지와 같은 비교적 낮은 에너지에서 분산되는 입자를 사용하므로써 향상된다. 이러한 에너지는 "낮은" 에너지로서 본원에 사용된다. 본원에 사용된 바와 같이, "낮은 에너지 투여"는, 입자를 분산시키고 흡입시키기 위해 가해진 에너지가 흡입 동안 피검자에 의해 전형적으로 제공되는 범위내에 있는 투여를 의미한다.

본 발명의 한 구체예에서, 피검자에 투여되는 고도로 분산가능한 입자는 생체활성제 및 생체적합성 그리고, 바람직하게는 생분해성 중합체, 공중합체 또는 배합물을 포함한다. 중합체는 i) 약제를 안정화시키고 전달시 활성을 보류시키기 위한 전달된 약제와 중합체간의 상호작용; ii) 중합체 분해 속도 및 약물방출 분포 속도; iii) 화학적 변형을 통한 표면 특징 및 표적화 능력; 및 iv) 입자 다공성을 포함하는 입자의 상이한 특징들이 최적화되도록 맞춰질 수 있다.

표면 부식 중합체 예컨대, 폴리엔하이드라이드가 입자를 형성하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리엔하이드라이드 예컨대, 폴리[(p-카르복시페녹시)-헥산 무수물](PCPH)이 사용될 수 있다. 생분해성 폴리엔하이드라이드는 미국 특허 제 4,857,311호에 설명되어 있다. 폴리(히드록시산)을 포함하는 폴리에스테르를 기재로 하는 중합체와 같은 벌크 부식 중합체가 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리글리콜릭산(PGA), 폴리락트산(PLA) 또는 이들의 공중합체가 입자를 형성하는데 사용될 수 있다. 또한, 폴리에스테르는 하전된 또는 작용기화된 기 예컨대 아미노산을 갖는다. 바람직한 구체예에서, 조정된 방출 특성을 갖는 입자는 폴리(D,L-락트산) 및/또는 폴리(D,L-락트-코-글리콜릭산)("PLGA")로 형성될 수 있으며, 이들은 계면활성제 예컨대, 디팔미토일 포스파티딜콜린(DPPC)를 혼입시킨다.

기타 중합체로는 폴리아미드, 폴리카르보네이트, 폴리알킬렌 예컨대, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리비닐 화합물 예컨대, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 에테르 및 폴리비닐 에스테르, 아크릴산과 메타크릴산의 중합체, 셀룰로오스 및 기타 폴리사카라이드, 및 펩티드 또는 단백질, 또는 공중합체 또는 이들의 배합물을 포함한다. 중합체는 상이하게 조정된 약물 전달에 있어서 생체내에서 적합한 안정성 및 분해속도를 갖도록 선택되거나 개질될 수 있다.

고도로 분산가능한 입자는 문헌[Hrkach et al., *Macromolecules*, 28:4736-4739(1995); and Hrkach et al., "Poly(L-Lactic acid-co-amino acid)Graft Copolymers: A Class of Functional Biodegradable Biomaterials, "Hydrogels and Biodegradable Polymers for Bioapplications, ACS Symposium Series No. 627, Raphael M. Ottenbrite et al., Eds., American Chemical Society, Chapter 8, pp.93-01, 1996]에 설명된 바와 같이 작용기화된 폴리에스테르 이동 공중합체로부터 형성될 수 있다.

본 발명의 바람직한 구체예에서, 생체활성제 및 인지질을 포함하는 고도로 분산가능한 입자가 투여된다. 적합한 인지질의 예들은 상기 설명된 2000년 9월 19일에 출원된 미국 특허 출원 제 09/665,252호에 기재되어 있다. 기타 적합한 인지질로는 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜글리세롤, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨 및 이들의 혼합물이 있다. 인지질의 특이적 예로는 포스파티딜콜린 디팔미토일 포스파티딜콜린(DPPC), 디팔미토일 포스파티딜에탄올아민(DPPE), 디스테아로일 포스파티딜콜린(DSPC), 디팔미토일 포스파티딜 글리세롤(DPPG) 또는 이들의 복합물이 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 기타 인지질은 당업자에게 공지되어 있다. 바람직한 구체예에서, 인지질은 폐에 내생적이다.

인지질은 약 0 내지 약 90중량%의 양으로 입자중에 존재할 수 있다. 더욱 일반적으로는, 약 10 내지 약 60 중량%의 양으로 입자중에 존재할 수 있다.

본 발명의 또 다른 구체예에서, 인지질 또는 이들의 혼합물은 고도로 분산가능한 입자에 조정된 방출 특성을 부여하도록 선택된다. 특이적 인지질의 상 전이 온도는 환자의 생리학적 온도 미만, 근처 또는 초과일 수 있다. 바람직한 상 전이 온도는 30°C 내지 50°C(예를 들어, 환자의 정상 체온의  $\pm 10^\circ\text{C}$ )이다. 이들의 상 전이 온도에 따라 인지질 또는 인지질의 혼합물을 선택하므로써, 입자는 조정된 방출 특성을 갖도록 맞춰질 수 있다. 예를 들어, 환자의 체온보다 높은 상 전이 온도를 갖는 인지질 또는 인지질의 혼합물을 포함하는 입자를 투여하므로써, 도파민 전구체, 아고니스트 또는 전구체 및/또는 아고니스트의 혼합물의 방출이 느려질 수 있다. 즉, 신속한 방출은 더 낮은 전이 온도를 갖는 인지질을 입자에 포함시키므로써

수득될 수 있다. 조정된 방출 특성 및 생물학적으로 활성적인 약제의 방출을 조절하는 방법은 본원에 참고문헌으로 인용된, 1999년 8월 25일에 "매트릭스 전이를 조정하므로써 건식 분말 제형으로부터의 방출을 조절하는 방법"의 제목으로 출원된 미국 출원 번호 제 60/150,742호에 설명되어 있다.

본 발명의 또 다른 구체예에서, 입자는 계면활성제를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "계면활성제"는 두개의 비혼화성 상간의 경계면 예컨대, 물과 유기 중합체 용액간의 경계면, 물/공기 경계면 또는 유기용매/공기 경계면으로 선택적으로 흡수되는 제제를 뜻한다. 계면활성제는 일반적으로, 친수성 부분 및 친지성 부분을 포함해서, 미세입자에 흡수되면, 이들은 유사하게 피복된 입자를 끌어당기지 않는 외부 환경에 일부를 노출시켜서 입자 응집을 감소시키는 경향을 갖는다.

상기 설명된 인지질과 같은 폐 계면활성제 이외에, 적합한 계면활성제로는 헥사데칸올; 지방 알코올 예컨대, 폴리에틸렌 글리콜(PEG); 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르; 표면활성 지방산 예컨대, 팔미트산 또는 올레산; 글리코콜레이트; 스펙틴; 폴록소머; 소르비탄 지방산 에스테르 예컨대, 소르비탄 트리올레이트(Span 85); 및 킬옥사폴을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

계면활성제는 약 0 내지 약 90 중량%의 양으로 입자중에 존재할 수 있다. 바람직하게는, 약 10 내지 약 60 중량%의 양으로 입자중에 존재할 수 있다.

공기역학적으로 가볍고, 계면활성제 특히 인지질을 포함하는 입자를 제조하고 투여하는 방법은 1999년 1월 5일 공개된 한스(Hanes) 등의 미국 특허 제 5,855,913호 및 1999년 11월 16일에 공개된 에드워드(Edwards) 등의 미국 특허 제 5,985,309호에 설명되어 있다. 이 둘 모두의 내용은 본원에 참고문헌으로 인용되었다. 격렬한 고통하에서 환자에게 입자를 투여하는 방법이 기재되어 있다. 다른 통상적인 약물 전달 방법이 실패하는 경우, 본 발명에서 투여되는 고도로 분산가능한 입자는 폐로 전달될 수 있으며, 폐계로 흡수될 수 있다.

또 다른 구체예에서, 단지 생체활성제 및 계면활성제를 포함하는 고도로 분산가능한 입자가 투여된다. 고도로 분산가능한 입자는 계면활성제의 형태이며, 치료제, 예방제 또는 진단제를 포함하여, 입자 표면 상호작용의 감소로 인해 에어로졸화 효율을 향상시키고, 폐포 대식세포에 의한 식균작용으로 인한 약제의 손실을 감소시킬 수 있다.

본 발명의 또 다른 구체예에서, 아미노산을 포함하는 고도로 분산가능한 입자가 투여된다. 소수성 아미노산이 바람직하다. 적합한 아미노산은 자연 발생적인 소수성 아미노산 및 비자연적 발생적인 소수성 아미노산을 포함한다. 비자연적 발생 아미노산을 포함하나 이에 제한되지 않는 일부 자연 발생적인 소수성 아미노산은 예를 들어, 베타-아미노산을 포함한다. 소수성 아미노산의 D, L 및 라세미체 형태의 소수성 아미노산이 사용될 수 있다. 또한, 적합한 소수성 아미노산은 아미노산 유사체를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 아미노산 유사체는 하기 화학식을 갖는 D 또는 L 형태의 아미노산을 포함한다:  $-NH-CHR-CO-$ , 여기서, R은 지방족기, 치환된 지방족기, 벤질기, 치환된 벤질기, 방향족기 또는 치환된 방향족기이며, R은 자연 발생적인 아미노산의 측쇄에 상응하지 않는다. 본원에 사용된 바와 같이, 지방족기는 완전하게 포화되는 직쇄, 측쇄 또는 사이클릭 C1-C8 탄화수소를 포함하며, 이는 1 또는 2개의 헤테로 원자 예컨대, 질소, 산소 또는 황을 함유하고/거나 하나 이상의 불포화 단위체를 함유한다. 방향족기는 카보시클릭 방향족기 예컨대, 페닐 및 나프틸, 및 헤테로시클릭 방향족기 예컨대, 이미다졸릴, 인돌릴, 티에닐, 푸라닐, 피리딜, 피라닐, 옥사졸릴, 벤조티에닐, 벤조푸라닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐 및 아크리딘틸을 포함한다.

지방족, 방향족 또는 벤질기상의 적합한 치환체는  $-OH$ , 할로젠( $-Br$ ,  $-Cl$ ,  $-I$  및  $-F$ ),  $-O$ (지방족, 치환된 지방족, 벤질, 치환된 벤질, 아릴 또는 치환된 아릴기),  $-CN$ ,  $-NO_2$ ,  $-COOH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH$ (지방족기, 치환된 지방족, 벤질, 치환된 벤질, 아릴 또는 치환된 아릴기),  $-N$ (지방족기, 치환된 지방족, 벤질, 치환된 벤질, 아릴 또는 치환된 아릴기)<sub>2</sub>,  $-COO$ (지방족기, 치환된 지방족, 벤질, 치환된 벤질, 아릴 또는 치환된 아릴기),  $-CONH_2$ ,  $-CONH$ (지방족, 치환된 지방족, 벤질, 치환된 벤질, 아릴 또는 치환된 아릴기),  $-SH$ ,  $-S$ (지방족, 치환된 지방족, 벤질, 치환된 벤질, 방향족 또는 치환된 방향족기), 및  $-NH-C(=NH)-NH_2$ 를 포함한다. 또한, 치환된 벤질기 또는 방향족기는 치환체로서 지방족 또는 치환된 지방족기를 가질 수 있다. 또한, 치환된 지방족기는 치환체로서 벤질, 치환된 벤질, 아릴 또는 치환된 아릴기를 가질 수 있다. 치환된 지방족, 치환된 방향족 또는 치환된 벤질기는 1종 이상의 치환기를 가질 수 있다. 아미노산 치환기를 변형시키므로써 예를 들어, 친수성인 천연 아미노산의 친지성 또는 소수성을 증가시킬 수 있다.

많은 적합한 아미노산, 아미노산 유사체 및 이들의 염은 통상적으로 수득될 수 있다. 기타 아미노산은 당해분야에 공지된 방법에 의해 합성될 수 있다. 합성법은 예를 들어, 문헌[Green and Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, Chapters 5 and 7, 1991]에 설명되어 있다.

일반적으로, 소수성은 비극성 용매와 물간의 아미노산의 분할에 대해서 규정된다. 소수성 아미노산은 비극성 용매에 대한 선택성을 나타내는 아미노산이다. 비교적 소수성을 띠는 아미노산은 글리신가가 0.5인 소수성 정도로 나타낼 수 있다. 이러한 정도에서, 물에 대한 선택성을 갖는 아미노산은 0.5 미만의 글리신가를 가지며, 비극성 용매에 대한 선택성을 갖는 아미노산은 0.5 초과인 글리신가를 갖는다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "소수성 아미노산"은 소수성 정도에서 0.5 이상의 글리신가를 갖는 즉, 글리신가와 적어도 동일한 비극성 산에서 분할되는 경향이 있는 아미노산을 의미한다.

사용될 수 있는 아미노산의 예로는 글리신, 프롤린, 알라닌, 시스테인, 메티오닌, 발린, 류신, 티로신, 이소류신, 페닐알라닌, 트립토판을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 바람직한 소수성 아미노산은 류신, 이소류신, 알라닌, 발린, 페닐알라닌 및 글리신을 포함한다. 또한, 소수성 아미노산의 혼합물이 사용될 수 있다. 게다가, 소수성 아미노산과 친수성(바람직하게는 물에서 분할되는) 아미노산의 혼합물로서, 소수성을 띠는 혼합물이 사용될 수 있다.

아미노산은 10 중량% 이상의 양으로 본 발명의 입자중에 존재할 수 있다. 바람직하게는, 아미노산은 약 20 내지 80 중량%의 양으로 입자중에 존재할 수 있다. 소수성 아미노산의 염은 10 중량% 이상의 양으로 본 발명의 입자중에 존재할 수 있다. 바람직하게는, 아미노산 염은 약 20 내지 약 80 중량%의 양으로 입자중에 존재할 수 있다. 바람직한 구체에에서, 입자의 탭 밀도는 약  $0.4\text{g}/\text{cm}^3$  미만이다.

아미노산을 포함하는 입자를 형성하고 전달하는 방법은 본원에 참고문헌으로 인용된, "분무건조 동안 다공성 입자를 형성시키기 위한 단순 아미노산의 용도"라는 제목으로 1999년 8월 25일 출원된 미국 특허 출원 제 09/382,959호에 설명되어 있다.

또한, 본 발명의 입자는 1종 이상의 하기와 같은 부형제를 포함할 수 있다: 당 예컨대, 락토스, 단백질 예컨대, 알부민, 콜레스테롤 및/또는 계면활성제.

전달되는 약제가 음전하(예컨대, 인슐린)를 띠는 경우, 프로타민 또는 기타 양전하 분자가 첨가되어 친지성 복합물을 제공하여, 음전하 약제의 지속된 방출을 유도한다. 음전하 분자는 불용해성 양전하 약제를 띠게하는데 이용될 수 있다.

본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 고도로 분산가능한 입자는 단일 및 이중 에멀션 용매 증발, 분무 건조, 용매 추출, 용매 증발, 상 분리, 단순 및 복합 코아세르베이션, 계면 중합, 초임계 이산화탄소( $\text{CO}_2$ ) 및 당업자에 널리 공지된 기타 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 원하는 공기역학적 특성(예를 들어, 공기역학적 직경)을 갖는 입자를 형성하기 위한 조건이 최적화되거나, 1 내지 5 마이크론, 바람직하게는 1 내지 3 마이크론의 공기역학적 직경을 갖는 입자를 제공하기에 충분한 밀도 및 직경을 갖는 입자를 선택하기 위한 추가적인 단계가 수행되면, 당해분야에 공지된 미소구체 또는 미소캡슐을 제조하기 위한 방법을 사용하여 입자가 제조될 수 있다.

일부 중합체 시스템에 있어서, 단일 또는 이중 에멀션 기법을 이용하여 제조된 중합체 입자는 소적의 크기에 따라 크기가 다양해진다. 수중유 에멀션중의 소적의 크기가 원하는 크기 범위의 입자를 형성하기에 충분히 작지 않다면, 더 작은 소적이 예를 들어, 에멀션을 초음파 처리하거나 균질화시키거나, 계면활성제를 첨가함으로써 제조될 수 있다.

상기 방법중 임의의 방법에 의해 제조된 입자가 원하는 범위를 벗어난 크기를 갖는 경우, 입자는 예를 들어, 체를 사용하여 분류되고, 추가로 당업자에게 공지된 기법을 사용하여 밀도에 따라 분리될 수 있다.

입자는 바람직하게는 분무 건조에 의해 제조된다.

하기 장치 및 시제는 본원에 언급되어 있으며, 편의를 위해 적절한 정보와 함께 기록될 것이다. 다른 언급이 없는 한, 모든 장치는 사용 설명서에 따라 사용되었다. 또한, 다르게 언급되어 있지 않는 한, 기타 유사한 장치가 당업자에 널리 공지된 바와 같이 사용될 수 있다.

다르게 언급되어 있지 않는 한, 모든 장치 및 시제는 사용자의 설명에 따라 사용되었다. 추가로, 다르게 언급되어 있지 않는 한, 상기 장치 및 시제에 대한 적합한 대체물이 이용가능하며, 당업자에게 널리 공지되어 있다.

(1) RODOS 건식 분말 분산기(Sympatec Inc., Princeton, N.J.)

(2) HELOS 레이저 회절계(Sympatec Inc., N.J.)

- (3) 단일 단계 안테르센 임팩터(Andersen Inst., Sunyrna, GA)
- (4) 공기분산기(AeroDisperser)(TSI, Inc., Amherst, MA)
- (5) 에어로사이저(Aerosizer)(TSI Inc., Amherst, MA)
- (6) 블리스터 팩 머신, 판타지 블리스터 머신(Fantasy Blister Machine)(Schaefer Tech, Inc., Indianapolis, IN)
- (7) 폐쇄된 안테르센 캐스케이드 임팩터(collapsed Andersen cascade impactor)(제조업자에 의해 규정된 바와 같이 스테이지 0으로 구성) 및 여과 스테이지(filter stage: Anderson Inst., Sunyra, GA)
- (8) 폐활량계(Spirometrics, USA, Auburn, ME)
- (9) 다단계 액체 임핀저(MSLI)(Erweka, USA, Milford, CT.)
- (10) 형광성 분광기(Hitachi Instruments, San Jose, CA)
- (11) 감마 카메라(일반명)

시제

알부테롤 숄페이트 입자(Profarmco Inc., Italy)

사람 성장 호르몬(Eli Lilly, Indianapolis, IN)

크기 #2 메틸 셀룰로오스 캡슐(Shionogi, Japan)

블리스터 팩(Heuck Foils, Well, N.J.)

DPPC(Avanti, Alabaster, Alabama)

하기 실시예에서 더욱 상세히 설명된 바와 같이, 본 발명의 방법은 단일 흡입기로부터 우수한 에어로졸화 특성을 나타내는 분말을 필요로 한다. 분말이 적합한 에어로졸화 특성을 갖는지의 여부를 측정하기 위해, 분말의 응집 및 방출 특성을 시험하였다. 당업자에게 이러한 특성을 측정하는 동등한 방법이 인지되어 있지만, 임팩터로의 분말 질량의 전달을 검증하는 시험관내 시험의 예를 수행하였다. 시험할 분말을 다양한 전단력에서 분말 분산 장치 예를 들어, RODOS 건식 분말 분산기로 유입시켰다. 이는 입자를 분쇄하는데 사용된 공기 스트림의 압력 조절기를 조작하므로써 달성된다. 기하학적 크기는 분말이 상기 조건하에 성공적으로 분쇄되는지의 여부를 측정하므로써 측정된다. 분해 특성 이외에, 호흡-활성화된 단순 흡입기로부터 분말을 방출시키는 능력을 평가하는 것이 가능하다. 본 발명의 입자에 적합한 흡입기의 예로는 스피날러(Fisons, Loughborough, U.K.), 로타할러(Glaxo-Wellcome, Research Triangle Technology Park(RTP), North Carolina), 플로우캡스(Hovione, Loures, Portugal), 인할레이터(Boehringer-Ingelheim, Germany) 및 에틀라이저(Novartis, Switzerland)가 있다. 기타 흡입기 예컨대, 더 디스크할러(Glaxo-Wellcome, RTP, N.C.) 또한 사용될 수 있음이 인지될 것이다. 특히 적합한 흡입기는 단순 건식 분말 흡입기이다(미국 특허 제 4,995,385호 및 제 4,069,819호). 세가지 상이한 분말의 탈응집 및 방출성을 측정하기 위한 실험을 기술하는 특정한 비한정적 실시예를 본원에서 추가로 기술한다. 간단히 언급하면, 상이한 탈응집성을 갖는 것으로 생각되는 세가지 상이한 건조 분말을 특성화하였다. 제 1 분말은 미세화된 알부테롤 숄페이트 입자였다. 제 2 및 제 3 분말은 부형제 및 생체활성제의 배합물을 에탄올/물 용매계에 용해시키고 분무건조시켜 건조 분말을 생성시킴으로써 제조하였다. 세가지 분말의 기하학적 직경, 탭 밀도 및 공기역학적 직경을 측정하였다.

출원인은 입자를 분쇄하는데 사용되는 공기 스트림의 압력 조절기를 조종함으로써 다양한 전단력에서 RODOS 건식 분말 분산기의 오리피스스를 통해 분말을 유입시키고 분산시켰다. 출원인은 분말이 유출될 때 HELOS 레이저 회절계로부터 기하학적 크기 분포를 구하고 평균값을 기록하였다. 데이터를 요약하여 압력에 대한 질량중증기하학적직경(MMGD)으로서 플랫폼하였다.

출원인은 고압에서는, 예를 들어 3 또는 4bar에서, 세가지 분말 모두 1차(탈응집) 입자로서 분산기로부터 유출된다는 것을 가정하고 이를 본원에 기재된 실험을 통해 밝혔다. 이는 비교적 높은 에너지가 세가지 분말 모두를 성공적으로 탈응집시킨다는 발견을 뒷받침한다. 그러나, 생리적인 호흡율에 보다 가까운 2bar 미만의 압력에서는, 미세화된 분말(표 1, 분말 1)이 응집된 상태로 오리피스로부터 유출되었고, 이는 분말의 1차 입자 크기 보다 큰 오리피스로부터 나오는 평균 입자 크기에 의해 입증되었다. 이는 대략 1차 입자 크기로 오리피스로부터 나오는 분무 건조 분말에 대해서는 적용되지 않는다(표 1, 분말 2 및 3). 이러한 분말은 고도로 분산가능한 분말이다.

단순한 호흡-활성화된 흡입기로부터 상기 세가지 분말의 유출능을 추가로 평가하기 위하여, 출원인은 크기 #2의 메틸 셀룰로오스 캡슐에 각 분말을 5mg 넣고, 캡슐을 호흡-활성화된 흡입기에 삽입하였다. 당업자는 분말을 넣은 레셉터클이 선택된 흡입기의 타입에 따라 달라질 것임을 이해할 것이다. 결과는 하기 실시예에 의해 논의된다. 일반적으로, 본 출원인은 분말을 분쇄하기 위하여 비교적 낮은 에너지가 흡입기에 의해 공급되면, RODOS에 의해 측정된 1차 입자 크기가 약 2미크론임에도 불구하고, 미세화된 알부테롤 술페이트 분말이 30미크론 보다 큰 기하학적 직경을 갖는 응집물로서 흡입기로부터 나온다는 것을 알게 되었다. 한편, 분무 건조된 알부테롤 술페이트 또는 hGH의 고도로 분산가능한 입자는 그들의 1차 입자 크기와 매우 유사한 입자 크기로 유출되었다. 공기역학적 직경의 측정으로부터 동일한 결과를 얻었고, 분무 건조 입자는 1차 입자와 비교하여 매우 유사한 공기역학적 직경으로 유출되었다. 본 발명의 방법을 사용하여, 당업자는 단순한 호흡-활성화된 장치에 고도로 분산가능한 분말을 로딩시켜 이로부터 매우 효율적인 전달을 달성할 수 있다.

본 발명의 추가의 특징은 단일 용량 호흡-활성화된 흡입기로부터 뿐만 아니라 호흡 작동 건조 분말 흡입기(DPI) 종류로부터 낮은 에너지로 높은 비율의 공칭 용량을 유출할 수 있다는 것이다.

고도로 분산가능한 분말이 효율적으로 유출되고 호흡-작동 DPI 종류로부터 폐에 침투할 수 있다는 것을 예증하기 위하여, 출원인은 시트르산 나트륨, DPPC, 염화 칼슘 완충액, 및 로다민 형광 표지로 이루어진 분무 건조 분말을 제조하였다. 이것은 실시예 2에 철저히 설명되어 있다. 상기 분말은 정중공기역학적 직경(에어로디스퍼서(AeroDisperser) 및 에어로사이저로 측정)이 2.1 $\mu$ m이고, 기하학적 직경(상기 설명한 RODOS/HELOS 조합으로 측정)이 11.0 $\mu$ m이었다. 출원인은 시험 분말이 우수한 탈응집성을 나타냈음을 발견하였다.

특히, 출원인은 하기 흡입기내에서 반자동 캡슐 충전 장치를 사용하여 캡슐에 시험 분말을 5mg 넣었다: 본 출원인이 개발 중인 호흡-활성화된 흡입기, 스피날러(Fisons, Loughborough, U.K.), 로타할러(Glaxo-Wellcome, RTP, NC), 플로우캡스(Hovione, Loures, Portugal), 인할레이터(Boehringer-Ingelheim, Germany) 및 에플라이저(Novartis, Switzerland). 본 출원인은 또한 분말 3mg을 블리스터 팩에 기계 충전시킨 디스크할러(Glaxo-Wellcome, RTP, NC)를 시험하였다. 출원인은 각 흡입기를 폐쇄된 안테르센 캐스케이드 임팩터(단계 0 및 필터 단계로 구성)에 연결시키고 장치를 작동시킨 후, 2초 동안 60L/분으로 공기를 추출하였다. 4.0 $\mu$ m 컷오프를 갖는 단계 0 미만의 미세 입자 분획을 형광 분광법을 사용하여 측정하였다.

출원인은 각 경우에, 유출된 용량의 약 50% 이상이 4 $\mu$ m 크기 미만의 평균 공기역학적 직경(Da)을 나타내었고, 이는 이들 호흡-활성화된 장치가 단순함에도 불구하고 분말이 생리학적 호흡 속도로 피검자의 폐에 유입된다는 것을 의미한다.

생체내에서 상기 고도로 분산가능한 분말을 시험하기 위하여, 본 출원인은 실시예 3에 기술된 바와 같이 사람 침착 연구를 수행하여 간단한 호흡-작동 흡입기로부터 유출되는 고도로 분산가능한 분말이 폐로 매우 효율적으로 전달될 수 있는지 여부를 측정하였다(공칭 용량의 50% 초과). 이것은 많은 장치들이 환자에 의한 흡입에 의존하여 건조 물질을 자유 유동성 분말로 분쇄시키는 분말을 제공하기 때문에 특히 중요하다. 이러한 장치는 강하게 흡입하는 능력이 없는 사람들, 예를 들어 소아 환자, 노인 환자, 허약 환자 또는 천식 또는 기타 호흡 곤란이 있는 환자에 대해서는 효과적이지 못한 것으로 입증된다. 본 발명의 방법의 장점은 유속과 무관하게 고도로 효율적인 전달이 달성될 수 있다는 것이다. 따라서, 본 발명의 방법을 사용하면, 심지어 약한 흡입으로도 목적하는 용량을 전달하기에 충분하다. 이것은 표준 DPI의 예측된 성능에 비추어 놀라운 것이다. 도 7에서 알 수 있는 바와 같이, 본원에서 설명된 방법을 사용하면, 표준 DPI와 비교하여 약 25L/분 내지 약 75L/분의 유속에서 우수한 전달이 달성될 수 있다. 본 발명의 방법은 적어도 약 20L/분 내지 약 90L/분의 유속에서 최적화될 수 있다.

하기 성질을 갖는 분말을 <sup>99m</sup>Tc 나노입자로 표지하였다: Dg=6.7 $\mu$ m; p=0.06g/cc; 및 Da=1.6 $\mu$ m. 질량 및 감마 조사 입자 크기 분포간의 등가성이 얻어졌고 하기 실시예 3에 상세히 논의된다. 약 5mg의 분말을 크기 2인 캡슐에 로딩하였다. 캡슐을 호흡-활성화된 흡입기에 넣고 작동시켰다. 10명의 건강한 피검자가 폐활량계에 의해 측정된 대략적인 호기 유속 60L/분으로 흡입기를 통해 흡입하였다. 침착 영상을 감마 카메라를 사용하여 얻었다. 10명의 건강한 피검자로부터 얻은 폐 침

착율(공칭 용량에 대한)을 도 5에 도시한다. 공칭 용량에 대한 평균 폐 침착은 59.0%였다. 당업자는 이러한 침착 수준이 고도로 분산가능한 약물 분말이 호흡-작동 단일 흡입기를 사용하여 고효율로 폐에 흡입될 수 있음을 입증하는 것임을 이해할 것이다.

추가로, 출원인은 단일 흡입기로부터 우수하게 에어로졸화된 고도로 분산가능한 분말의 동일한 제제가 단일 흡입에서 놀랍게 고용량을 전달하기 위해 사용될 수 있음을 발견하였다. 고도로 분산가능한 분말은 대량의 사전 정량 용량(50mg) 또는 보다 소량의 사전 정량 용량(6mg)으로 로딩될 수 있다 분말의 입자 특성은 하기와 같았다:  $D_g=10.6\mu\text{m}$ ;  $p=0.11\text{g/cc}$ ; 및  $D_a=3.5\mu\text{m}$ . 당업자는 본원에 앞서 설명한 바와 같이, 본 발명에서 사용하기에 적합한 입자의 특성의 가능한 범위를 이해할 것이다.

공기역학적 입자 크기 분포는 60L/분에서 작동되는 다단계 액체 임핀저(MSLI)를 사용하여 특성화하였다. 크기 2인 캡슐을 6mg 용량에 사용하였고, 크기 000인 캡슐을 50mg 용량에 사용하였다. 출원인은 6 및 50mg 용량에 대해 얻은 두개의 입자 크기 분포를 비교하였다. 6 및 50mg 용량에 대한  $6.8\mu\text{m}$  미만의 미세 입자 분획(전체 용량( $FPF_{TD} < 6.8\mu\text{m}$ ))은 각각 74.4% 및 75.0%였다. 따라서, 출원인은 고도로 분산가능한 분말의 성질을 조합함으로써, 대량의 약물이 소량의 약물과 마찬가지로 효율적으로 폐에 전달될 수 있음을 입증하였다.

## 실시예

### 실시예 및 표

예

달리 언급되지 않는 경우, 사용된 기구 및 시약은 본원에서 앞서 열거한 공급원으로부터 구입하였다.

#### 실시예 1

본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 분말은 단순한 흡입기로부터 우수한 에어로졸화를 나타내는 성질을 가질 것이 요구된다. 상기 성질을 측정하기 위하여, 본 출원인은 상이한 탈응집성을 갖는 것으로 여겨지는 세가지 상이한 건조 분말을 특성화하였다. 시험된 제 1 분말은 스펙트럼 랩스(Spectrum Labs, Laguna Hills, CA)로부터 구입한 서브미크론의 알부테롤 술페이트 입자였다. 제 2 및 제 3 분말은 부형제 및 생체활성제의 배합물을 에탄올/물 용매계에 용해시키고 혼합물을 분무건조시켜 제조하였다.

#### 미세입자의 제조:

플라세보 입자 조성은 70/20/10% DPPC/시트르산 나트륨/염화 칼슘이었다. 시트르산 나트륨 0.2g 및 염화 칼슘 0.1g을 물 0.11리터에 용해시켰다. 에탄올중의 DPPC 용액을 DPPC 0.7g(DL- $\alpha$ -포스파티딜콜린 디팔미토일, Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL)을 95% 에탄올 0.89리터에 용해시켜 제조하였다. 그 후 시트르산 나트륨/염화 칼슘 용액 및 DPPC/에탄올 용액을 함께 혼합하였다. 최종 전체 용질 농도는 1.0g/L이었고, 85%에탄올/15% 물중의 DPPC 0.70g/L, 시트르산 나트륨 0.2g/L, 및 염화 칼슘 0.1g/L으로 구성되었다.

hGH(사람 성장 호르몬) 입자 조성은 58/38.5/3.5 hGH/DPPC/인산 나트륨이었다. hGH 1.16g(Lilly, Indianapolis, IN)을 인산 나트륨 완충액(10mM, pH 7.4) 300mL에 용해시켰다. DPPC 0.77g을 에탄올 700mL에 용해시켰다. 그 후 두 용액을 합하고, 70%/30% 에탄올/물중의 최종 용질 농도 2g/L를 생성하였다.

알부테롤 술페이트 입자 조성은 76/20/4 DSPC/류신/알부테롤 술페이트였다. DSPC(디스테오로일 포스파티딜콜린, Avanti Polar Labs) 2.28g 및 류신(Spectrum Labs, Laguna Hills, CA) 0.6g을 에탄올 700mL에 용해시켰다. 알부테롤 술페이트(Profarmco, Italy) 0.12g을 물 300mL에 용해시킨 후, 두 용액을 합하여 70%/30% 에탄올/물중의 최종 용질 농도 3g/L를 얻었다.

#### 분무 건조:

건조 분말을 생산하기 위하여 니로 분무기 휴대용 스프레이 건조기(Niro Atomizer Portable Spray Dryer: Niro, Inc., Columbus, MD)를 사용하였다. 가변 압력(1 내지 5bar)의 압축 공기가 건조기 위에 위치한 회전 분무기(2,000 내지

30,000 rpm)를 가동시켰다. 가변 속도(20 내지 66 mL/min)의 액체 공급물을 전자 계량 펌프(LMI, model #151-192s, Acton, MA)에 의해 분무기로 연속적으로 펌핑하였다. 유입구 및 유출구 온도를 측정하였다. 유입구 온도는 수동으로 조정하고; 이것은 100°C 내지 400°C로 변할 수 있으며, 5°C의 조절 한계로 100, 110, 150, 175 또는 200°C로 설정하였다. 유출구 온도는 유입구 온도, 및 기체 및 액체 공급 속도와 같은 인자에 의해 결정된다: 이것은 50°C 내지 130°C로 변할 수 있다. 용기는 분말 생성물을 회수하도록 사이클론에 견고하게 부착된다.

**결과**

3개 분말의 기하학적 직경 및 탭 밀도를 표 1에 제시하였다.

표 1

분말	Dg(μm)	p(g/cc)
미세화된 Alb. 술페이트(1)	2.5	0.26
분무-건조된 Alb. 술페이트(2)	8.0	0.20
분무-건조된 hGH(3)	14.5	0.07

3개 분말의 탈응집성을 평가하기 위하여, 분말을 RODOS 건조 분말 분산기에 유입시키고, 공기 스트림의 압력 조절기 조작에 의해 입자를 분쇄하기 위하여 전단력을 변화시켰다. 후속하여, 사용 설명서에 따라, HELOS 레이저 회절계로부터 기하학적 크기 분포를 획득하고 중간 값을 기록하였다. 데이터를 요약하여, 압력에 대한 부피정중기하학적직경(MMGD)로서 플롯팅하였다.

도 1은 이 실험의 결과를 나타낸다. 약 2bar 초과, 특히 약 3 내지 4 bar의 고압에서, 모든 3개 분말이 주된(탈응집된) 입자로서 분산기로부터 방출된다. 이것은 비교적 고에너지에서 3개 분말이 탈응집된다는 점을 뒷받침한다. 그러나, 2bar 미만의 압력에서, 미세화된 분말(분말 1)은 응집된 상태로 오리피스로부터 방출된다. 이러한 증거는 분말의 주된 입경보다 큰 오리피스로부터 방출되는 평균 입자 크기에 의해 입증될 수 있다. 이는 분무-건조된 분말(분말 2 및 3)에 해당되는 것은 아니며, 이들은 그 주된 입자 크기 정도로 오리피스로부터 방출된다. 분말 2 및 3은 고도로 분산가능한 분말이다.

본 발명의 입자는 하기 기술에 의해 추가로 특징지을 수 있다. 주된 기하학적 직경은 HELOS 레이저 회절계(Sympatec)와 공동으로 RODOS 건조 분말 분산기(Sympatec, Princeton, NJ)를 사용하여 측정하였다. 분말을 RODOS 유입구에 도입시키고, 4 bar로 조절된 압축 공기 스트림에 의해 발생된 전단력에 의해 에어로졸화 하였다. 에어로졸 연무를 후속하여 HELOS의 측정 영역으로 유입시키고, 여기에서 레이저 빔의 빛을 산란시키고, 입경 분포를 유추하는 데 사용되는 프라운호퍼(Fraunhofer) 회절 패턴을 생성하였다.

호흡-활성화된 흡입기로부터 방출된 기하학적 직경을 HELOS 레이저 회절계와 함께 IHA 악세서리(Sympatec)을 사용하여 측정하였다. IHA 어댑터가 DPI를 측정 영역의 진단에 위치시키고, 분말을 에어로졸화시키는 DPI를 통해 공기가 유입되게 하였다. AIR 흡입기로부터 분말을 분산시키기 위하여 30 L/분으로 진공을 가하고, 기하학적 직경을 프라운호퍼 회절로 측정하였다.

주된 공기역학적 직경은 에어로디스퍼서/에어로사이저(TSI, Amherst, MA)를 사용하여 측정하였다. 표본 분말을 에어로디스퍼서내에서 1 psi의 유입 공기 스트림으로 에어로졸화시키고 나서, 에어로사이저내로 음속으로 가속시켰다. 에어로사이저는 2개의 고정된 레이저 빔 사이를 각 입자가 통과하는 데 소요된 시간을 측정하며, 이것은 입자의 관성에 의존한다. 후속하여 TOF(비상시간) 측정은 스톡스 법칙(stokes law)을 이용하여 공기역학적 직경으로 전환된다.

AIR 흡입기로부터 방출된 공기역학적 직경은 에어로사이저(TSI, Inc.)와 함께 에어로브레서(TSI Inc., Amherst, MA)를 사용하여 측정하였다. 분말은 흡입기로부터 30 L/분으로 에어로브레서 챔버내로 에어로졸화되어 에어로사이저내로 정착한다.

이들 기술을 이용하여, 4 bar의 건조 분말 분산기로부터의 주된 크기와 AIR 흡입기로부터 30 L/분으로 방출된 크기를 비교하였다(도 2A). 도시된 바와 같이, 분무-건조된 hGH-(분말 2) 및 분무-건조된 알부테롤 술페이트-(분말 3) 방출 입자 크기는 그들의 측정된 주된 입자 크기에 거의 동일하였고, 이것은 미세화된 알부테롤 술페이트(분말 1)에 대한 경우와 달랐다. 또한, 분무-건조된 알부테롤 술페이트에 대하여 주된 및 방출된 공기역학적 크기를 측정하여, 그것을 미세화된 알부테롤 술페이트와 비교하였다(도 2B). 또한, 분무-건조된 알부테롤 술페이트가 그 주된 입자의 공기역학적 직경과 거의 동

일한 공기역학적 직경으로 방출되는 반면, 미세화된 알부테롤 숄페이트는 그 주된 입자의 공기역학적 직경보다 훨씬 큰 공기역학적 직경으로 방출된다. 이것은, 본 발명의 분무-건조된 분말이 호흡성 입자로 분산되는 반면, 미세화된 약물은 그 주된 크기가 호흡가능하더라도 호흡불능인 상태로 잔류한다는 것을 추가로 입증한다.

이 실시예의 결과는, 본 발명의 방법을 이용하면, 고도로 분산가능한 분말로 로딩하여 단순한 호흡-활성화된 장치로부터 고효율 전달을 달성한다는 것을 입증한다.

### 실시예 2

고도로 분산가능한 분말이 효율적으로 방출될 수 있고, 호흡-활성화된 건식 분말 흡입기(DPI)로부터 폐로 효율적으로 침투될 수 있다는 것을 설명하기 위하여, 시트르산 나트륨, DPPC, 염화칼슘 완충액 및 미량의 로다민 형광표지로 구성된 분무-건조 분말을 준비하였다. 분말은 2.1  $\mu\text{m}$ 의 정중공기역학적직경(에어로디스퍼서 및 에어로사이저로 측정됨) 및 11.0 $\mu\text{m}$ 의 기하학적 직경(본원에 설명된 바와 같이, RODOS 건조 분말 분산기 및 HELOS 레이저 회절계를 사용하여 측정됨)을 가졌고, 실시예 1의 분무-건조된 분말에 유사하게 우수한 탈응집성을 나타내었다.

하기 흡입기내에서 반자동 캡슐 충전 장치를 이용하여 캡슐내에 5mg의 분말을 충전하였다: 출원인이 개발한 호흡-활성화된 흡입기(AIR<sup>TM</sup> 흡입기), 스핀할러(Fisons, Loughborough, U.K.), 로타할러(Glaxo-Wellcome, RTP, NC), 플로우캡슐(Hovione, Loures, Portugal), 인할레이터(Boehringer-Ingelheim, Germany), 및 에플라이저(Novartis, Switzerland). 또한, 디스크할러(Glaxo-Wellcome, RTP, NC)를 시험하였고, 여기서 3mg의 분말을 블리스터 팩에 기계로 충전시켰다. 각 흡입기를 폐쇄된 안데르센 케스캐이드 임팩터(0 스테이지 및 필터 스테이지로 구성됨)에 연결하고, 장치를 작동시킨 후 2초 동안 60 L/분으로 공기를 추출하였다. 4.0  $\mu\text{m}$  컷-오프를 갖는 스테이지 0 미만의 미세한 입자 분획은 형광 분광계를 이용하여 측정하였다.

도 3은 연구 결과를 나타낸다. 각각의 경우에, 약 50% 이상의 방출된 용량이 4 $\mu\text{m}$  미만 크기의 평균 공기역학적 직경(Da)을 나타내고, 이것은 호흡-활성화된 장치의 단순함에도 불구하고, 분말이 생리학적 호흡 속도로 환자의 폐로 효율적으로 유입됨을 보여준다. 본 발명의 방법을 사용하면, 저에너지에서 큰 백분율의 공칭 용량이 단일 투여, 호흡-작동화된 흡입기로부터 뿐만 아니라 호흡-작동화된 건조 분말 흡입기(DPIs)로부터 방출된다.

### 실시예 3

단순한 호흡-작동화된 흡입기로부터 방출된 고도로 분산가능한 분말이 폐로의 매우 효율적인 전달(공칭 투여량의 >50%)을 유도하는지 측정하기 위하여 사람 침착 연구를 수행하였다. 하기 특성을 가진 분말을 사용하였다:  $D_g=6.7\mu\text{m}$ ;  $\rho=0.06\text{g/cc}$ ;  $D_a=1.6\mu\text{m}$ .

분말을 <sup>99m</sup>Tc(테크네튬) 나노입자로 표시시켰다.

### 사람 침착 연구

감마 신티그램법은 흡입된 입자의 침착 패턴을 검정하기 위해 확립된 방법론이다. 본 실시예에서, 시험물질을 InAMed 실험실(Gauting, Germany)에서 소량의 방사선 동위원소 <sup>99m</sup>Tc로 표시시켰다. 폐 경계의 결정은 <sup>81m</sup>Kr(크립톤) 환기 스캔을 수행하여 강화시켰다. 흡기 유속을 관측하여 침착 연구동안 깊고, 안정한 호흡이 수행되도록 하였다. 호흡-활성화된 흡입기를 통한 깊고 안정한 흡입에 대한 최고 호흡 유량(PIFR)의 범위를 연구 시작 전에 검정하였다. 특정 범위 외부에서 PIFR이 반복되었다.

10명의 정상 피검자로 연구를 수행하였다. 폐 경계를 규정하는데 도움이 되도록 기준 환기 스캔을 수행하였다. 각 흡입 시험 전/후에 폐 기능을 검정하였다. 흡입 후에 감마 신티그램법을 이용하여 침착을 측정하였다. 호흡-활성화된 흡입기를 통한 호흡 유량을 폐활량계를 이용하여 침착 동안 관찰하였다.

호흡-활성화된 흡입기를 통해 깊고 안정된 호흡을 하도록 피검자를 훈련시켰다. 깊고 안정한 흡입을 나타내는 특정 범위 내에서 호흡-활성화된 흡입기를 통한 최고 호흡 유량(PIFR)을 달성하기 위하여 피검자를 추가로 훈련시켰다. 호흡-활성화된 흡입기를 작동시키고, 폐활량계에 부착시켜서 침착 실험 동안의 호흡 유량을 모니터링하였다. 피검자는 소정의 불규칙 스케줄에 따라 적합한 박스로부터 캡슐을 꺼내었고, 이 캡슐을 사용 직전에 흡입기/폐활량계에 넣었다.

각각의 피검자는 정상적인 호기의 종료시에 흡입기 마우스피스를 입에 넣기 전에 편히 쉬었고 정상적으로 호흡하였다(5회 이상의 호흡). 피검자는 폐가 가득찰 때까지 입을 통해 깊고 편안하게 흡입하였다. 그 후, 피검자는 약 5초간 호흡을 멈추었다(다섯까지 천천히 세면서). 감마 카메라를 사용하여 호기 직후에 침착을 측정하였다. 그 후, 재거(Jaeger) 신체 체적 변동기(Jaeger, Wuerzburg, Germany)를 사용하여 또 다른 폐 기능 테스트를 수행하였다.

#### 재료 및 방법

70/20/10 중량%의 DPPC/시트르산 나트륨/엽화 칼슘으로 구성된 플라세보 분말을 사용하였고, 이는 하기 특성을 지녔다:  $D_g = 6.7 \mu\text{m}$ ;  $\rho = 0.06 \text{ g/cc}$ ;  $D_a = 1.6 \mu\text{m}$ . 주된 공기역학적 입자 크기 특성은 비상시간(time of flight) (에어로사이저/에어로디스퍼서)을 사용하여 획득되었고, 기하학적 입자 크기 특성은 1 및 2 bar에서 수행되는 레이저 회절(본원에 기술된 RODOS 건조 분말 분산기 및 HELOS 레이저 회절계를 사용하여 측정됨)을 이용하여 획득되었다. 방출된 공기역학적 입자 크기 특성은 2L의 전체 공기 부피에 대해 28.3 L/min에서 수행되는 안데르센 캐스케이드 임팩션(중량측정 분석)을 사용하여 획득되었다. 기하학적 입자 크기 특성은 60 L/분에서 수행되는 레이저 회절(IHA/HELOS, Sympatec, NJ)을 사용하여 획득되었다.

#### 분말 방사선표지화

플라세보 분말로 0.2  $\mu\text{m}$  필터에 의해 폐쇄된 저장기를 충전시켰다.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  용액(탈이온수 100ml에 첨가된 등장성 염수 중의  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  0.5ml)으로 건조 챔버에 넣어진 파리 제트 흡입치료기(Pari Jet nebulizer)를 충전시켰다. 파리 제트 흡입치료기를 3분간 활성화시켜서  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  용액 1.5ml를 분무시켰다.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  입자를 이 챔버에서 건조시키고, 분말을 함유하는 저장기를 통해 유도시켰다. 표지화 챔버내의 습도는 제어되었으며, 30% 상대 습도를 초과하지 않았다.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ 의 짧은 반감기로 인해, 표지화를 흡입시키기 2 내지 4 시간 전에 수행하였다. 흡입의 개시시에 입수할 수 있는 실제 활성을 측정하기 위해, 분말의 활성은 테크네튬의 물리적 붕괴에 대해 보정되었다.

표지화 후의 분말의 방출된 공기역학적 입자 크기 분포를 8-스테이지 안데르센 캐스케이드 임팩터(중량측정 분석)를 사용하여 획득함으로써 방사선표지화 처리가 입자 크기 분포에 영향을 미치지 않음을 입증하였다.

크기 2 캡슐을 방사선표지화된 분말  $5(\pm 1) \text{ mg}$ 으로 수작업으로 충전시켰다. 각각의 캡슐에 번호를 매기고, 이의 충전된 중량 및 방사능 수준을 기록하였다. 피검자는 캡슐을 집고, 사용 직전에 흡입기/폐활량계 장치에 넣었다.

#### 폐 영역에서 분말 측정을 위한 방법론

표지화된 다공성 입자의 흡입을 수행하는 동안 피검자는 등을 감마 카메라쪽으로 향하게 하여 앉고 있었다. 흡입 후, 감마 신티그램 영상을 찍는 동안 피검자는 카메라 전방에 등을 수직하게 하고 앉고 있었다. 흡입 시간 및 호흡 정지 기간을 기록하였다. 폐의 크기를  $^{81}\text{Kr}$  스캔에 의해 측정하였다. 이 방사능 가스는 실험 전 또는 실험 종료시에 피검자가 흡입한 것이다.

피검자의 크립톤 환기 스캔으로부터, 폐의 윤곽을 측정하였다. 피검자가 크립톤 스캔 및 분말 흡입 테스트 실험 도중에 동일한 자세로 앉아있었기 때문에, 4개의 관심 영역(ROI)이 규정되었다: 좌폐, 우폐, 위 및 구강인두(기관의 상부를 포함함).

이러한 4개의 ROI를 분말 흡입의 감마 카메라 영상으로 모사하였다. 피검자의 폐의 외부에 있는 영역에서, 백그라운드 활성이 규정되었고, 전체 영상으로부터 화소 단위로 감하여 졌다. 그 후, 카운트(count)의 수를 4개의 ROI 각각에 대해 측정하였다. 이러한 수를 단일 영역들에 대한 감쇠 인자에 의해 보정하였다. 이러한 보정 후, 흉곽내 입자 침착 및 흉곽외 입자 침착의 상대적인 양을 측정하였다.

질량 및 감마 방사선 입자 크기 분포 사이의 등가성이 도 4에 도시된 바와 같이 획득되었다. 약 5mg의 분말을 크기 2 캡슐 내로 로딩하였다. 캡슐을 본 출원인에 의해 개발된 호흡-활성화된 흡입기(AIR 흡입기)에 넣고 작동시켰다. 10명의 건강한 피검자는 약 60 L/분의 호흡 유량으로 흡입기를 통해 흡입하였다(실제 호흡 유량은 20 내지 90 L/분에 걸쳐 피검자마다 달라지며, 이는 인간에서의 호흡 유량의 정상 범위와 일치한다). 60 L/분은 양호한 평균 유량이며, 호흡 흐름을 모방하기

위해 실험적으로 사용된 값이다. 폐활량계에 의해 측정되는 바와 같이, 침착 영상은 감마 카메라를 사용하여 취득되었다. 10명의 피검자로부터 취득된 폐 침착의 퍼센트(공칭 용량을 기준으로 함)는 도 5에 도시되어 있다. 공칭 용량을 기준으로 한 평균 폐 침착률은 59.0% 이었다.

이러한 실험을 통해, 본 출원인들은 약물을 포함하는 고도로 분산가능한 분말이 단순한 호흡-작동화된 흡입기를 사용하여 고효율로 폐내로 흡입될 수 있다는 것을 확인하였다.

#### 실시에 4

단순한 흡입기로부터의 탁월한 에어로졸화 특성을 지닌 고도로 분산가능한 분말의 동일한 제법을 사용하여 단일 흡입으로 의외의 고용량을 전달할 수 있다는 것을 입증하기 위해, 본 출원인들은 고도로 분산가능한 분말을 제조하고 이를 로딩하여 커다란 사전계량된 용량(50 mg) 또는 작은 사전계량된 용량(6 mg)을 취득하였다. 분말의 입자 크기 특성은 다음과 같았다:  $D_g = 10.6\mu\text{m}$ ;  $\rho = 0.11\text{g/cc}$ ;  $D_a = 3.5\mu\text{m}$ .

공기역학적 입자 크기 분포는 60 L/분에서 작동하는 다단계 액체 임핀저(MSLI)를 사용하여 특성화되었다. 크기 2 캡슐을 6 mg 용량에 대해 사용하였고, 크기 000 캡슐을 50 mg 용량에 대해 사용하였다. 도 6에 6 및 50 mg 용량에 대해 취득된 2가지 입자 크기 분포의 비교 결과를 도시하였다. 6 및 50 mg 용량에 대한 전체 용량을 기준으로 한 미세 입자 분율  $<6.8\mu\text{m}$  ( $\text{FPF}_{\text{TD}} < 6.8\mu\text{m}$ )는 각각 74.4% 및 75.0% 였다.

본 실험은 의외의 많은 용량의 약물이 고도로 분산가능한 분말의 특성을 본 발명의 방법과 조합함으로써 작은 약물 용량과 동일한 효율로 폐에 전달될 수 있다는 것을 입증해 주었다.

#### 실시에 5

L-Dopa를 포함하며 흡입에 적합한 입자를 다음과 같이 제조하였다. 2.00123g DPPC (Avanti Polar Lipids, Lot # G160PC-25)를 에탄올 2.80 L에 첨가하고, 교반하여 용해시켰다. 0.0817g L-Dopa(Spectrum, Lot 0Q0128, Laguna Hills, CA), 0.9135 g 시트르산 나트륨(탈수물)(Spectrum Lot NX0195), 및 0.5283g 염화 칼슘(탈수물)(Spectrum Lot NT0183)을 물 1.2L에 첨가하고, 용해시켰다. 수용액을 에탄올 용액에 첨가함으로써 용액들을 합친 후, 용액이 맑아질 때까지 교반시켰다. 제형의 중량%는 대략 다음과 같았다: 20% L-Dopa, 50% DPPC, 20% 시트르산 나트륨, 10% 염화 칼슘.

그 후, 최종 용액을 제조업자의 지시에 따라 질소 건조 가스 및 회전 분무기를 사용하여 니로 건조기(Niro, Inc., Columbus, MD)에서 하기 분무 조건을 사용하여 분무 건조시켰다:  $T_{\text{유입}} = 120\text{ C}$ ,  $T_{\text{유출}} = 54\text{ C}$ , 공급율 = 65 ml/min, 가열 질소(Heat Nitrogen) = 38 mm H<sub>2</sub>O, 분무기 속도 = 20,000 rpm (V24 분무기가 사용됨).

생성된 입자 특성은 다음과 같았다: 질량 정중 공기역학적 직경 (MMAD) = 2.141 Mm 및 부피 정중 기하학적 직경 (VMGD) = 10.51 Mm.

케타민 마취하에서, 6마리의 래트에게 상기 기술된 제형(20/50/20/10 L-Dopa/DPPC/시트르산 나트륨/염화 칼슘)을 폐 투여하였다.

결과는 도 8에 도시되어 있다. 본 도면은 경구 위관을 통한 투여 후 또는 흡기법에 의한 폐내로의 직접 투여 후의 L-Dopa의 혈중 수준을 도시한다. L-Dopa 수준은 두 가지 HPLC 모듈을 사용하여 측정하였다. 동물에게 L-Dopa를 투여하기 1시간 전에 말초 데카르복실라아제 억제제인 카르비-도파(carbi-dopa)(200 mg/kg)를 복강내 주입시켰다. 케타민 마취하에서, 동물을 두 그룹으로 나누었다. 첫 번째 그룹의 경우, 동물들을 하룻밤 금식시키고, L-Dopa(8mg)를 염수 함유된 1% 메틸셀룰로오스에 현탁시키고, 경구 위관을 통해 공급하였다. 두 번째 그룹의 경우, 흡기법을 사용하여 L-Dopa 제형을 폐내로 직접 전달하였다. 혈액 샘플(200 MI)을 하기 시점에서 미리 배치시켜둔 대퇴 캐뉼러로부터 뽑아내었다: L-Dopa 투여한 지 0분(L-Dopa 투여 직후), 2분, 5분, 15분 및 30분째. 경구 투여 후 시간 경과에 따른 L-Dopa 혈중 수준의 증가는 적당하였다. 대조적으로, 폐내로 투여한 경우 L-Dopa 수준의 강력하고 신속한 상승이 일어났다. 이러한 그룹에서의 L-Dopa 수준은 약물 투여 후 30분째의 경구 전달과 비교하여 증가된 상태였다. 데이터를 8 mg/kg의 용량(전체 경구 위관 용량)에 대해 표준화시켰다. 데이터는 혈액 1 ml 당 평균  $\pm$ SEM ng 1-Dopa 수준으로서 제시된다.

#### 실시에 6

케토프로펜/DPPC/말토덱스트린 입자를 제조하여 생체내 투여하였다.

케토프로펜(99.5%)을 시그마(Sigma, St. Louis, MO)로부터 입수하였고, 디팔미토일 포스파티딜 콜린(DPPC)은 아반티 폴라 리피즈(Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL)로부터 입수하였고, 말토덱스트린, M100은 그레이인 프로세싱 코프. (Grain Processing Corp., Muscatine, IA)로부터 입수하였다.

케토프로펜/DPPC/말토덱스트린 용액을 제조하기 위해, 말토덱스트린(0.598g)을 0.60 L USP 물에 첨가하였다. DPPC (0.901g)을 1.40 L 에탄올에 첨가하고, 용해될 때까지 교반시켰다. 물과 에탄올 용액을 합쳐서, 뿌연 용액을 생성시켰다. 이러한 저장 용액 500ml를 개개의 작업에 사용하였다. 케토프로펜을 DPPC/말토덱스트린 저장 용액에 첨가하는 것은 표 2에 기재되어 있다.

니로 분무기 휴대용 스프레이 건조기(Niro, Inc., Columbus, MD)를 사용하여 건조 분말을 생성시켰다. 가변적 압력(1 내지 5 bar)으로 압축된 공기가 건조기의 위쪽에 위치한 회전 분무기(2,000 내지 30,000 rpm)를 작동시켰다. 케토프로펜/DPPC/말토덱스트린 용액의 액체 공급물을, 다양한 속도(20 내지 66 ml/min)로, 전자 계량 펌프(LMI, model #A151-192s)에 의해 분무기에 연속적으로 펌핑하였다. 유입 및 방출 온도 둘 모두를 측정하였다. 유입 온도는 수동으로 제어되었고; 이는 5°C의 제어 한계로 100°C 내지 400°C 사이일 수 있다. 방출 온도를 유입 온도 및 기체 및 액체 공급 속도와 같은 인자에 의해 결정하였고, 이는 50°C 내지 130°C 사이였다. 용기는 분말 생성물을 수집하기 위한 6" 시클론에 단단히 부착되었다. 각 용액에 대한 분무 조건은 표 3에 기술되어 있고, 이는 분무 조건이 연구에 걸쳐 거의 일정함을 보여준다. 각 용액에 대한 총 회수율 및 수율은 표 4에 도시된 바와 같다.

에어로사이저(TSI, Inc., Amherst, MA) 및 RODOS 건조 분말 디스펜서(Sympatec Inc., Princeton, NJ)를 제조자의 지시에 따라 사용하여 입자의 특성을 규명하였다. RODOS의 경우에, 기하학적 직경은 2bar에서 측정하였다. 또한, 중력측정 폐쇄된 안데르센 캐스케이드 임팩터(ACI, 2 스테이지, Anderson Inst., Sunyra, GA)를 사용하여 시행(run) #5의 물질의 특성을 규명하였다. 샘플을 주사 전자현미경(SEM)을 사용하여 검사하였다.

표 4는 케토프로펜의 중량%의 증가가 수율의 감소의 원인이 되었음을 의미한다. 저장 용액에 케토프로펜을 첨가시키는 것은 수율을 직선적으로 감소시켰다. 이는 케토프로펜과 혼합될 경우에 DPPC의 용융 온도를 감소시키기 때문이며, 이는 수율의 감소를 초래한다.

표 5는 입자의 직경이 8.8 내지 10.2mm(VMGD) 및 2.65 내지 3.11(MMAD)임을 보인다. 가장 낮은 MMAD 입자는 8.4% 로딩 물질(시행 #5)에 대한 것이었다.

표 6은 시행 #5의 물질, 8.4% 로딩 물질의 앤더슨 폐쇄된 임팩터 연구(ACI, 중량측정, n=2) 결과를 도시한 것이다. 5.6µm 미만 및 3.4µm 미만의 FPF는 적당한 흡입가능 호흡성 분말에 상응한다.

표 2.

샘플 ID	첨가된 케토프로펜 (mg)	총 고형물 (g/L)	%케토프로펜
시행 #1	0	1.000	0
시행 #2	8.0	1.016	1.6
시행 #3	15.1	1.030	3.0
시행 #4	30.1	1.060	5.7
시행 #5	46.0	1.092	8.4
시행 #6	63.0	1.126	11.2

표 3.

샘플 ID	온도(°C) 유입/방출	용액 공급 (ml/min)	기체 압력 (mmH <sub>2</sub> O)	로터 속도 (RPM)	유입 이슬점 (°C)
시행 #1	115/36	75	40	18,600	-27.0
시행 #2	113/38	85	40	18,400	-26.8

시행 #3	110/38	85	39	18,300	-26.4
시행 #4	110/39	85	38	18,400	-25.9
시행 #5	110/38	86	39	18,400	-25.4
시행 #6	110/38	85	38	18,400	-25.0

표 4.

샘플 ID	수집된 중량 (mg)	이론적 수율 (mg)	실제 수율 (% 이론)
시행 #1	186	500	37.2
시행 #2	195	508	38.4
시행 #3	147	515	28.5
시행 #4	127	530	24.0
시행 #5	89	546	16.3
시행 #6	67	563	11.9

표 5.

샘플 ID	MMAD (μm)	표준편차	VMGD (μm, 2bar)
시행 #1	3.11	1.48	9.0
시행 #2	3.01	1.37	9.3
시행 #3	2.83	1.40	10.3
시행 #4	2.84	1.41	10.4
시행 #5	2.65	1.39	9.8
시행 #6	2.83	1.38	8.8

표 6.

스테이지 0	1.33mg
스테이지 2	2.75mg
스테이지 F	3.17mg
캡슐 충전	12.37mg
중량<5.6μm	5.92mg
FPF <sub>5.6</sub>	0.479mg
중량<3.4μm	3.17mg
FPF <sub>3.4</sub>	0.256mg

60/40 DPPC/말토덱스트린 중의 350mg의 8% 케토프로펜을 상기에 기술된 바와 같이 생성시키고, 20 마리의 스프라그 다우리 래트(Sprague Dawley rats)에 투여하였다. 8 마리의 래트 각각에 흡입법을 통하여 7mg의 분말을 주입하고, 7마리의 래트의 각각에 50% 에탄올에 용해된 7mg의 분말을 경구로 주입하였다. 시점을 0, 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360 및 480분으로 맞추었다. t=0인 경우에, 4 마리를 투약없이 시험하였다. 그 후의 각 시점에 대해서 3 또는 4 마리의 래트로부터 샘플을 취하였다. 각각 3 또는 4 마리의 동물을 4그룹으로 나누어 각 래트를 4회의 시점에 사용하였다. 동물을 다음과 같이 분배하였다: 3 마리, 경구, 5, 30, 120, 360; 4 마리, 흡입, 15, 60, 240, 480. 케토프로펜 혈장 검정을 위하여 충분한 혈액을 각 시점에서 채취하였다. 혈액 샘플을 원심분리하여 혈장을 수집한 후에 -20°C에서 냉동시켜 분석을 위해 하청 실험실로 수송하였다. 본 연구에서 사용된 검정은 1.0mg/ml의 검출 하한을 가졌다. 폐 경로가 최대 혈장 농도에 도달하는데 필요한 시간을 변경하는지 여부를 측정하기 위하여 경구 또는 폐를 통한 투여를 통해 케토프로펜을 투약하였다. 상기 결과는 폐 전달 경로를 통하여 10분 이하에서 매우 신속한 흡수가 가능함을 보여준다. 케토프로펜이 경구투여된 래트는 상대적 생체이용률이 폐 경로를 통해 투약된 래트가 보이는 상대적 생체이용률의 약 절반을 보여, 다소 예외적인 약물동력학적 반응을 보였다. 상기 결과는 사람 모델에서 케토프로펜의 90%가 경구를 통해 생체이용될 수 있기 때문에 예기치 않은 것이다. 경구 투여된 래트에 대한 상기 예외는 폐 경로를 통하여 투약된 래트에 대해 초기에 관찰된 중요성을 무효로 하지 못한다.

그 결과를 표 7에 도시하였다. 평균을 표준 오차 및 P 값에 따라 계산하였다. 또한, 상기 결과를 도 9 내지 11에 도표로 도시하였고, 여기서 도 9는 데이터 세트 둘 모두를 보이고, 도 10은 경구 투약 결과를 제시하고 도 11은 흡입 결과를 도시한다. 도 9의 경우에,  $p < 0.05$ 를 가지는 시점을 "\*"로 표시하였고,  $p < 0.01$ 을 가지는 시점을 "\*\*\*"로 표시하였다. 도 10 및 11의 경우에, AUC(곡선 아래 부분)를 유연한 보간법으로 곡선의 수치적분을 통하여 수행하였다.

t=0인 때에, 모든 래트는 검정을 위한 검출 한계 미만의 케토프로펜 수준을 보였다. t=5분 내지 t=60분에서 흡입에 의한 래트는 보다 상당히 높은 케토프로펜 혈장 수준을 가졌다. t=120분 및 t=240분에서, 두 그룹의 케토프로펜의 혈장 수준은 통계적으로 동일하였다. t=360분 및 t=480에서, 두 그룹 모두에 대한 케토프로펜의 혈장 수준은 검정을 위한 검출 한계에 접근하였다.

흡입에 의한 래트 대 경구 투여된 래트에 대한 AUC의 비율은 약 2였다. 초기 시점에서 케토프로펜의 혈장 농도는 통계적으로도 중요하다.

흡입에 의한 래트에 대해서는 명백하게 15분 미만으로 나타났고 경구로 투약된 래트에 대해서는 15 내지 60분 사이에서 나타났다. 상기 그룹에 대한 큰 표준 오차 및 상대적으로 낮은 혈장 수준으로 인하여 필요한 시간을 정확하게 측정하는 것이 불가능하다.

폐를 통한 투여의 결과는 경구 투약(t=15 내지 60분)과 비교하여 매우 빠르게 나타났다(t<15분).

흡입에 의한 래트는 경구로 투약된 래트와 비교하여 보다 높은 생체이용률을 보였다. 상기는 종래 연구가 케토프로펜이 경구, 피하 또는 직장으로 투약된 경우에 사람에서 일관되게 높은(>90%) 생체이용률을 가지는 것을 제시하였기 때문에 예기치 못한 것이다. 경구로 전달된 케토프로펜의 약물동력학 반응이 널리 공지되어 있기 때문에, 경구로 투약된 그룹에 대해서 본원에서 보인 예외적인 결과는 흡입 그룹에 대해 보인 결과를 무효로 하지 못한다.

표 7.

시간(분)	경구 투약 평균량( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	그룹 표준 편차	폐의 평균량 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	투약 그룹 표준 편차	P값
0	1.0	N/A	1.0	N/A	
5	1.7	0.75	9.6	1.27	0.0003
15	2.1	0.76	7.6	0.28	0.0000
30	1.9	0.12	5.5	0.76	0.0012
60	2.0	0.13	4.5	0.60	0.0002
120	1.7	0.31	2.4	0.44	0.0929
240	1.4	0.05	1.8	0.63	0.2554
360	1.0	0.06	1.8	0.35	0.0224
480	1.0	0.00	1.3	0.47	0.2174

경구 및 폐를 통한 그룹의 케토프로펜의 평균 혈장 수준

#### 실시에 7

하기 실험 방법 및 기구는 L-DOPA를 포함하고 폐 전달에 적합한 입자의 물리적인 특성을 측정하기 위하여 이용하였다.

공기역학적 직경을 API 에어로디스퍼서 및 에어로사이저(TSI, Inc., St. Paul, MN)을 사용하여 표준 과정(Alkermes SOP#MS-034-005)을 따라 분석하였다. 샘플 분말을 에어로디스퍼서에 주입하고 분산시킨 다음에 에어로사이저의 노즐을 통하여 가속화하였다. 에어로사이저 내의 각 입자에 대한 직접 비상시간을 측정하였고, 이는 입자의 관성에 따라 달랐다. 다음에, 비상시간 분포를 스톡 법칙에 기초하여 하중 저울(force balance)을 사용하여 질량-기초한 공기역학적 입자 크기로 나타내었다.

기하학적 직경을 레이저 회절 기술(Alkermes SOP#MS-021-005)을 사용하여 측정하였다. 장비는 HELOS 회절계 및 RODOS 분산기(Sympatec, Inc., Princeton, NJ)로 구성된다. RODOS 분산기는 들어오는 압축된 공기의 압력 조절장치에

의해 제어되며 샘플 입자에 전단력을 가한다. 분산된 입자는 레이저 빔을 통과하며 그 결과 회절되어 생성된 광의 패턴이 일련의 검출기에 의해 수집된다. 그런 다음 전체 회절 패턴은 더 작은 입자가 더 큰 각으로 빛을 회절시킨다는 것을 기초로 하는 프라운호퍼 회절 모델을 사용하여 부피에 기초한 입자 크기 분포로 해석된다.

흡입기로부터 분산된 분말의 공기역학적 특성을 2-스테이지 MkII 안테르센 캐스캐이드 임팩터(Anderson Instruments, Inc., Smyrna, GA)로 평가하였다. 상기 기구는 공기역학적 직경에 기초하여 에어로졸 입자를 분리하는 두 스테이지로 구성된다. 각 스테이지에서, 에어로졸 스트림은 한 세트의 노즐을 통과하고 상응하는 임팩션 플레이트와 부딪힌다. 충분히 작은 관성을 가진 입자들은 에어로졸 스트림을 통과하여 다음 스테이지를 계속할 것이지만, 남아있는 입자들은 플레이트와 충돌할 것이다. 각각의 후속하는 스테이지에서, 에어로졸은 더욱 고속으로 노즐을 통과하고 공기역학적으로 더 작은 입자들이 플레이트상에 수집된다. 에어로졸이 마지막 스테이지를 통과한 후에, 필터에는 남아있는 가장 작은 입자들이 수집된다.

AIR 분말내에 로딩된 약물을 측정하기 전에, 약물은 우선 분말내에 부형제로부터 분리되어야 한다. 부형제 DPPC로부터 L-Dopa를 분리시키기 위한 추출 기술이 개발되었다. 입자를 먼저 50% 클로로포름/50% 메탄올중에 용해시켰다. 불용성 L-Dopa를 펠렛화시키고, 동일한 용매계로 세척한 다음 0.5 M 염산중에 용해시켰다. DPPC를 L-DOPA로 스파이킹시켜 회수율을 결정하였다. 분석을 위해 샘플을 역상 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)상에 주입하였다.

워터스 시메트리(Waters Symmetry) C18 5- $\mu\text{m}$  컬럼(150-mm x 4.6-mm ID)을 사용하여 분리를 달성하였다. 컬럼을 30°C로 유지시키고 샘플을 25°C로 유지시켰다. 주입 부피는 10 $\mu\text{l}$ 였다. 이동상을 2.5% 메탄올 및 97.5% 수용액(10.5 g/L 시트르산, 20 mg/L EDTA, 20 mg/L 1-옥탄술폰산 나트륨 염 모노하이드레이트)로부터 제조하였다. 이동상을 교반 플레이트상에서 계속 교반시키고, 워터스 인-라인 탈기 시스템(Waters in-line degassing system)에 의해 탈기시켰다. L-Dopa를 등용매 조건하에 용리시켰다. 검출을 자외선 검출기 세트를 사용하여 파장 254 nm에서 수행하였다.

L-Dopa의 평균 단일 경구 용량은 일반적으로 100-150 mg이기 때문에, 실험은 높게 로딩된 L-Dopa를 포함하는 흡입에 적합한 입자를 제조하도록 수행되었다. 20% 및 40% L-Dopa 로딩 제형을 연구하였다. 말초 탈카르복실화를 방지하기 위해 L-Dopa와 함께 주어진 데카르복실라아제 억제제인 카르비도파를 또한 일부 제형중에 4:1 중량/중량(w/w) 비로 포함시켰다. L-Dopa 및 L-Dopa와 카르비도파의 혼합물을 DPPC 제형으로 성공적으로 분무시켰다. 최적의 제형은 L-Dopa 및/또는 카르비도파, 20%(w/w) 시트르산 나트륨, 및 10%(w/w) 염화칼슘, 및 잔여 디팔미토일 포스파티딜 클로린(DPPC)로 구성된다.

제형의 상세사항 및 수득된 입자의 물리적 특성을 표 8에 요약하였다. 공기역학적 크기 또는 질량정중공기역학적직경(MMAD)를 에어로사이저로 측정하고, 기하학적 크기 또는 부피정중기하학적직경(VMG D)을 레이저 회절에 의해 측정하고 미세 입자 분획(FPF)을 2-스테이지 안테르센 캐스캐이드 임팩터를 사용하여 측정하였다. 도 12에 도시한 바와 같이, 표 8의 VMGD 비에 의해, 분말은 유량 독립적이다. 주사 전자 현미경법을 사용하여 입자를 관찰하였다.

표 8

로드 (%) ID	수율 (%)	2 bar에서의 VMGD ( $\mu\text{m}$ )	VMGD 비 0.5/4.0 bar	MMAD ( $\mu\text{m}$ )	FPF (%) 5.6/3.4
L-Dopa/카르비도파					
20/0	>40	9.9	NA	2.7	NA
40/0	>40	8.0	1.2	3.3	42/17
20/5	42	10	1.6	3.1	64/38
40/10	>20	7.4	1.6	3.8	40/14

L-Dopa에 의한 공정 일체성은 제형 및 분무 건조 공정 내내 보존되는 것으로 나타났다. L-Dopa를 L-Dopa 분말로부터 추출하고 역상 HPLC에 의해 분석하였다. L-Dopa 분말에서 어떠한 불순물도 검출되지 않았고(도 13a); 약 1 내지 2분에 용리된 초기 피크는 도 13b로부터 알 수 있는 바와 같이 블랭크 샘플이 L-Dopa를 함유하지 않은 용매에 기인한 것이었다. 입자로부터 회수된 L-Dopa의 순도는 20% 및 40% 로딩된 입자에 대해 각각 99.8% 및 99.9%였다.

분말내에 로딩된 L-Dopa를 측정하기 위해, L-Dopa를 우선 제형중의 부형제로부터 분리한 다음 역상 HPLC에 의해 분석하였다. 분말로부터의 L-Dopa 회수율 및 최종 로딩 계산치의 결과를 표 9에 기재하였다. 추출 회수율 및 로딩 측정 둘 모두는 만족스러웠다. 측정된 약물 로드는 공칭 로드의 약 87%였다. 본원에 사용한 바와 같이, 용어 "공칭 로드(nominal

load)"는 투여에 의해 표적화된 입자의 질량에서 예상되는 생체활성제의 전체 질량을 칭하며 투여가능한 생체활성제의 최대량을 나타낸다. 본원에 사용한 바와 같이, 용어 "공칭 용량"은 투여를 위해 표적화된 입자의 질량중에 존재하는 생체활성제의 전체량을 칭하며 투여가능한 생체활성제의 최대량을 나타낸다.

표 9

분말 제형	추출물 회수율(%)	실제 로드(%)
20/0	100±4.5	17.3±0.2
40/0	101±2.8	35.0±5.4

실시에 8

L-Dopa의 혈장 수준의 측정에 이어, IV 주입, 경구 위관, 또는 폐내로의 통기를 수행하였다. 일반적으로 카르비도파를 투여하여 말초 데카르복실라아제 활성이 완전히 차단됨을 확실히 하였다. 본 실시예에서, 동물에게 L-Dopa를 투여하기 1시간 전에 말초 데카르복실라아제 억제제인 카르비도파(200 mg/kg)를 복강내(IP) 주입하였다. 케타민 마취하에서, 동물을 3 그룹으로 나누었다. 동물의 첫번째 그룹에는, L-Dopa(2 mg)를 1% 메틸셀룰로오스 및 1% 아스코르브산을 함유하는 염수중에 현탁시키고 경구 위관을 통해 제공하였다. 두번째 그룹에는, 통기 기술을 이용하여 L-Dopa(20% 로딩 밀도)로 로딩된 AIR 입자를 폐 투여하였다. 후두경을 사용하여 래트의 후두개를 가시화시키고 블런트-팁 통기 장치(펜센츄리 통기 분말 전달 장치)(PennCentury Insufflation powder delivery device)를 기도내로 삽입하였다. 부착된 시린지로부터의 공기 덩어리(3cc)를 사용하여 사전-로딩된 분말을 장치의 챔버로부터 동물의 폐내로 전달하였다. 분말(2 mg L-Dopa) 10 mg 전체를 전달하였다. 세번째 그룹에는, 사전에 위치시킨 대퇴부 캐놀라를 사용하여 L-Dopa(2 mg) 덩어리(2 내지 3초)를 전달하였다. 혈액 샘플(200 µl)을 대퇴부 캐놀라를 사용하여 각 동물로부터 다음 시점에서 채혈하였다: 0(L-Dopa 투여 직전), L-Dopa 투여 후 2, 5, 15, 30, 60, 120 및 240분. 모든 샘플을 HPLC를 사용하여 L-Dopa 측정을 위해 처리하였다.

기술된 과정을 사용한 약리역학적 연구의 결과를 도 14a 및 도 14b에 도시하였다. 경구 투여에 의해 L-Dopa의 폐 전달의 비교 결과 도 14a에 도시하였다. 통기 이후, L-Dopa의 최고 혈장 수준은 측정된 가장 이른 시점(2분)에서 나타났고 120분 까지 경구 투여에 비해 여전히 상승된 채로 남아있으면서 투여 15분 이내에서 감소하기 시작하였다. 이와 대조적으로, L-Dopa의 경구 투여는 혈장 L-Dopa 수준에서 더욱 점차적인 증가를 초래하였고, 이는 투여 이후 15 내지 30분에 피크를 나타낸 다음 이후 1 내지 2 시간에 걸쳐 점차 감소하였다.

정맥내, 경구 및 폐 전달을 또한 비교하였다. 결과를 도 14b에 도시하였다. 이 패널은 도 14a에서 제공된 동일한 데이터와 함께 3가지 투여 경로(폐, 경구 및 IV) 모두로 획득된 혈장 L-Dopa 수준의 직접적인 비교를 가능하게 해주는 IV 투여 그룹을 나타낸다. 데이터는 평균 ±SEM µg L-Dopa 수준/mL 혈액으로서 나타내었다. L-Dopa의 혈장 수준은 정맥내(IV) 투여 이후 빠르게 증가하였다. L-Dopa의 가장 높은 수준은 2분에서 나타났고 그 이후 빠르게 감소하였다.

생체이용률은 곡선 아래 영역(AUC)을 계산하므로써 측정하였다. 전체 연구 시간(0 내지 240분)에 걸쳐, 폐 L-Dopa의 (IV와 비교한) 상대적인 생체이용률은 경구 L-Dopa에 대한 33%와 비교하여 약 75% 였다. 투여 후 15분 및 60분에서 폐 L-Dopa의 상대적인 생체이용률은 각각 38% 및 62%였지만, 경구 L-Dopa의 생체이용률은 각각 9% 및 24%였다.

실시에 9

L-Dopa가 투여된 래트의 약리역학적 평가를 또한 수행하였다. 래트에 중앙 전뇌 다발내로 신경독소 6-OHDA를 일방향으로 주입하였다. 그런 다음 래트를 표준 아포모르핀-유도된 전향 파라다임을 사용하여 성공적인 선조 도파민 고갈을 보증하기 위해 스크리닝하였다. 수술 2주후에 시작하여, 아포모르핀-유도된 회전 양상에 대해 3주 동안 매주 시험하였다. 본 시험을 위해, 동물에 아포모르핀(최초 시험을위해 0.25 mg/kg 및 이후 2회 시험을 위해 0.1 mg/kg)을 IP 주입시키고 원통형의 플렉시글래스 버킷에 위치시켰다. 각각의 360도 회전을 30분 동안 계수하고, 30분 동안 200 회전을 초과하는 동물만을(12/30 손상된 래트) 행동 시험에 사용하였다.

손상된 래트를 L-Dopa 투여후 수회의 운동으로 챌린지시켰다. 연구(플레이싱 테스트(placing task), 브레이싱 테스트(barcing task), 무운동증)로부터의 데이터는 경구 전달에 비해 폐 전달의 장점을 추가로 강조하였다.

한 시험에서, 아포모르핀 챌린지를 통과한 동물을 "플레이싱 테스트"를 시험하였다. 각 시험일 이전에, 동물에 상기 기술한 바와 같이 말초 데카르복실라아제 억제제인 카르비도파(200 mg/kg)를 IP 주입하였다. 그런 다음 동물에 경구적 L-Dopa (0, 20 또는 30 mg/kg) 또는 폐 L-Dopa(L-Dopa 0, 0.5, 1.0 또는 2.0 mg)를 주입시키고 15, 30, 60 및 120분 후에 시험하였다. L-Dopa의 경구 및 폐 전달의 시험 전반에 걸쳐, 각 동물에 매번 가능한 약물 혼합물을 무작위 유형으로 주입하였다.

약리학학 "플레이싱 테스트"는 동물이 감각상의 자극에 반응하여 지시된 앞다리 이동을 수행할 것을 요구한다. 래트의 다리가 지지되지 않고 매달리도록 래트를 잡았다. 이후, 이러한 래트를 테이블 가장 자리에 올려 놓아, 래트의 몸이 테이블 가장 자리에 평행을 이루게 하였다. 각각의 래트는 10회 연속하여 각각의 앞다리에 대해 시험되었고, 테이블 상층에 앞다리를 올려 놓은 총 횟수를 기록하였다.

"플레이싱 테스트" 시험으로부터 결과가 도 15a 및 15b에 도시되어 있다. 기준선(t=0; L-Dopa 투여 직전)에서, 상기 동물들은 이러한 테스트에 대해 영향받지 않은 다리에서는 거의 완벽하게 수행되어 9/10를 초과하는 올바른 반응을 하였다. 대조적으로, 손상된 다리로 동일 테스트를 수행하는 능력은 현저히 손상되어 10회 시도에 대해 대략적으로 1회의 올바른 반응을 나타냈다.

경구적 L-Dopa(도 15a)는 손상된 다리로의 수행능에 있어서 투여량 관련 개선을 도출하였다. 시험된 최고 투여량(30mg/kg)에서, 수행능은 염수 대조군과 비교하여 30분 이내에 개선되었고, 약물 투여 후 1-2 시간에 최대였다. 낮은 투여량(20mg/kg) 또한 60분째에 최대 효과를 가지면서 수행능을 약간 개선시켰으며, 이후 수행능이 안정되었다. 염수 대조군의 투여 후에는 어떠한 변화도 인지되지 않았다.

경구 투여와 대조적으로, "플레이싱 테스트"에 대한 수행능은 도 15b에 도시된 바와 같이 L-Dopa의 폐전달 이후에 빠르게 개선되었다. 시험된 최고 투여량에서, 10분 이내에 현저한 개선이 나타났으며, 이때 최대 효과는 15-30분 이내에 관찰되었다(경구 투여의 경우에 1-2시간 것과 대조됨). 이러한 효과는 투여량과 관련되며, 현저한 개선은 L-Dopa가 0.5mg 정도로 낮은 투여량으로 나타났다. 경구 전달의 경우에 보여진 회복 정도와 비교하여, 폐 경로를 사용한, 현저히 낮은 전체 투여량에서 행동 개선이 나타났다. 예를 들어, 경구적으로 투여된 30mg/kg의 L-Dopa로 회복된 정도는, 폐 경로에 의해 투여된 1mg의 L-Dopa의 경우에 보여진 회복 정도에 필적하였다(동물의 체중이 약 300g의 경우, 1mg의 폐경로 L-Dopa는 약 3mg/kg의 것과 동등하다). 따라서, L-Dopa 투여량이 체중에 의해 표준화되면, 이는 동등한 효능을 산출하는데 요구되는 약물에 있어서 거의 10배 차이를 나타낸다. 끝으로, 행위 개선의 지속성은 두가지 전달 경로를 사용하는 경우에 유사하였다.

플레이싱 테스트로부터의 결과는 16a 및 16b에 도시되어 있다. 이 시험은 상기 기술된 바와 같은 "플레이싱 테스트" 시험에서와 동일한 시간으로 동일한 동물을 사용하여 수행하였다. 래트를 매끄러운 스테인레스강 표면 위에 두고, 약 20cm/초의 속도로 측방향으로 90cm를 부드럽게 밀었다. 래트가 이동하는 측면 상의 앞다리에 의해 래트가 취한 스텝(step)의 수를 기록하였다. 각각의 시도에는 양 방향으로 2회 래트를 이동시키는 것을 포함하였다.

도 16a에 도시된 바와 같이 영향받지 않은 다리의 경우 대략 7회 반응인 것과 비교하여 대략 3회의 반응을 한 바, 상기 동물들은 손상된 다리로는 상기 시험을 수행하는 능력이 심각하게 손상되었음을 입증하였다. 또한, 경구 투여는 투여량 관련 방식에서의 본 테스트에 대한 수행능을 개선시켰다. 30mg/kg의 투여(약 10mg L-Dopa)는 30분 이내에 수행능을 개선시켰다. 최대 효과는 60분 이내에 관찰되었고, 이후 안정하게 유지되었다. L-Dopa의 낮은 경구적 투여량(20mg/kg 또는 약 7mg의 L-Dopa)은 수행능을 약간 개선시켰다. 또한, 염수 대조군의 투여는 수행능에 영향을 미치지 않았다.

경구적 투여와 대조적으로, 도 16b에 도시된 바와 같이, L-Dopa의 폐 투여 후, 본 시험에 대한 수행능은 신속하게 개선되었다. 상당한 개선이 10분 이내에 관찰되었고, 최고 효과는 15-30분(경구 투여의 경우에 30-60분인 것과 대조됨) 이내에 관찰되었다. 이러한 효과는 투여량과 대체적으로 관련되어 있으나, 통계적으로 상당한 개선은 0.5mg(약 1.5mg/kg에 상응하는) 정도로 낮은 투여량으로 관찰되었다. 다른 기능적 시험의 경우에 있어서, L-Dopa의 폐전달 후에 달성된 행동 개선은 경구적 전달 후에 유사한 정도의 효과를 달성하는데 요구되는 것보다 훨씬 적은 투여량에서 일어났다. 끝으로, 행위 개선의 지속성은 두가지 전달 경로를 사용한 경우 유사하였다.

또한, 기능적 무운동 약동학적 연구를 수행하였다. 결과가 도 17a 및 17b에 도시되어 있다. 이러한 시험은 상기 두개의 선행 시험과 동일 시간으로, 그리고 동일한 동물을 사용하여 수행하였다. 이 시험에서, 동물들은 앞다리 하나로서 있게 하고, 스스로 이동하도록 하였다. 래트가 서 있게 되는 상기 앞다리가 취한 스텝의 수를 각각의 앞다리에 대해 30초 시도하는 동안에 기록하였다.

플레이싱 테스트 및 브레이싱 테스트에서 보여진 바와 같은, 동물은 손상된 다리로 무운동 테스트를 수행하는 능력이 심각하게 손상되었음을 입증하였다. 동물들은 정상 다리로는 17개의 스텝을 수행하였지만, 손상된 다리로는 이러한 수의 절반에 못 미쳤다(범위 = 0-10 스텝). 경구적 투여(도 17a)는 투여량 관련 방식으로 본 테스트에 대한 수행능을 개선시켰다. 30mg/kg(약 10mg의 L-Dopa)의 투여는 30분 내에 수행능을 개선시켰고, 최대 효과는 60분내에 관찰되었다. L-Dopa의 낮은 경구적 투여량(20mg/kg 또는 약 6.8mg의 L-Dopa)은, 개선에 대한 절대등급이 L-Dopa의 보다 높은 투여량의 경우에 관찰된 것보다 약간 낮았지만, 동일한 회복 패턴을 산출하였다. 수행능은 두 투여량 투여 후 60 내지 120분 사이에 안정하게 유지되었다. 염수 대조군의 투여는 수행능에 어떠한 영향을 미치지 않았다.

경구 투여와 대조적으로, 본 테스트에 대한 수행능은 도 17b에 도시된 바와 같이, L-Dopa의 폐 투여 후에 신속하게 개선되었다. 현저한 개선이 10분 이내에 관찰되었고, 최고 효과는 15-30분 이내(경구 투여의 경우 60분과 대조됨)에 관찰되었다. 이러한 효과는 투여량과 관련이 있으나, 통계적으로 상당한 개선( $p < 0.05$ )은 1.0mg 정도의 낮은 투여량으로 관찰되었다. 다른 기능적 시험의 경우에서와 같이, 행동 개선은 경구 전달 후의 유사한 정도의 효과를 달성하는데 요구되는 것보다 훨씬 적은 투여량으로 L-Dopa의 폐투여 후에 달성되었다. 끝으로, 행동 개선의 지속성은 두가지 전달 경로를 사용한 경우에 유사하였다.

또한, 동물들을 뇌에서의 도파민 활성화에 대한 민감하고 신뢰성 있는 척도가 되는 공지된 표준 약동학적 회전 시험을 실시하였다. 이 시험을 위해, 동물들에게 경구적으로 L-Dopa(30mg/kg 또는 대략 총 10mg) 또는 폐경로로 L-Dopa(총 2mg)를 투여하였다. 이러한 투여량은, 선행의 기능적 시험에서 최대 효능을 산출하는 것으로 나타난 L-Dopa의 투여량을 나타내기 때문에 본 시험에 대해 채택되었다. 투여 후, 동물들을 원통형 플렉시글래스 버킷에 두었다. 각각 360도 회전을 계속하고, 120분 시험 기간에 대해 5개의 폭이 좁은 상자에 그룹을 나누었다. 또한, 동물들을 카르비도파로 전처리 한 경우와 하지 않은 경우의 회전 행동에 대해 시험하였다.

이러한 연구에서 이용된 모든 동물은, 뇌의 도파민 뉴우런에 대해 특이적인 신경독소인 6-OHDA가 편측 주입되었다. 도파민 고갈은 편측성이기 때문에, 주입되지 않은 측은 손상되지 않은 그대로 유지되어 여전히 도파민 활성화의 변화에 대해 반응할 수 있다. 이들 동물에게 도파민 아고니스트(즉, L-Dopa)가 주입되자, 뇌 도파민 활성화는 손상되지 않은 측에 대해 우선적으로 자극되었다. 이것은 선회 또는 회전 행동으로서 명백하게 되는 운동 활성화의 비대칭적 자극을 초래하였다. 회전의 개시 및 회전 수는 시간 추이 뿐만 아니라 증가된 도파민 활성화의 정도 둘 모두에 대한 척도를 제공한다.

상기 결과가 도 18에 기재되어 있다. L-Dopa의 경구투여는 L-Dopa 투여후 처음 10-15분 동안 온건한 시계방향 회전 행동이 뚜렷하였다(<5회 회전/동물). 다음 20분 동안에, 회전 수는 현저히 증가하였고, 최고 수준은 L-Dopa 투여후 대략 30분에 나타났으며, 이것은 뇌의 손상되지 않은 선조체에서의 도파민 활성화가 증가하였음을 시사한다. 다음 90분 동안에, 회전 수는 서서히 감소하였으나, 최고 수준에 대해 이러한 감소는 통계적으로 중요한 정도까지는 이르지 않았다( $p > 0.05$ ).

경구 투여와 대조적으로, L-Dopa의 폐전달은 회전 행동을 신속히 증가시켰으며, 이는 손상되지 않은 선조체내 도파민에 대한 L-Dopa의 훨씬 더 빠른 전환을 시사한다. 이러한 그룹에서의 회전은 처음 10-15분 이내의 경구 투여에 의한 회전의 3배를 초과하였다. 회전 수는 약간씩 증가하여 25-30분에 최고였으며, 이후 비교적 안정한 상태를 유지하였다. 경구 투여에 비해 증가되는 회전 경향이 투여 120분에도 나타났으며, 이는 통계적으로 중요한 정도까지는 이르지 않았다( $p > 0.05$ ). 회전 행동은 카르비도파로 전처리되지 않은 동물에게서는 사실상 없었다(데이터 미기재).

## 실시에 10

다음 실험의 목적은 적어도 담체 입자 및 임의로 약제를 포함하는 여러가지 조성물의 상대적인 생체이용율을 시험하기 위한 것이다. 다르게 명시하지 않는 한, 분무 건조된 입자가 사용되는 경우, 이들 입자는 상기 실시예에서의 단계에 따라 제조된 것이다. 제조된 입자의 특징은 앞서 기술된 범위내에 포함된다. 제형은 하기 표 10에 언급된다.

시험은 여러가지 살메테롤 제형을 사용하여 수행하였다. 다르게 명시하지 않는 한, 미세화된 살메테롤 지나포에이트를 입자의 제조에 사용하였다. 이러한 두 제형은 표 10에서 제형 1(F1) 및 제형 2(F2)이다. F1은 69% DPPC/20% 시트르산 나트륨/10% 염화칼슘/1% 살메테롤로 구성되었다. F2는 29.5% DPPC/29.5% DPPE/20% 락토오스/20% 시트르산 나트륨/1% 살메테롤로 구성되었다. 비교를 위해, 살메테롤 비합유 F1 및 F2 제형을 제조하였다. 살메테롤을 함유하는 두 대조군 SX1 및 SX2를, F1 및 F2를 시험하는 실험에 각각 사용하였다.

## 표 10

중량%	살메테롤	DPPC	DPPE	시트르산 나트륨	염화칼슘	락토오스
F-1	1	69	-	20	10	-
살메테롤 비함유 F-1	0	70	-	20	10	-
F-2	1	29.5	29.5	20	-	20
살메테롤 비함유 F-2	0	30	30	20	-	20

F1의 사전 분무 건조 용액을 제조하기 위해, 200mg의 시트르산 나트륨 및 100mg의 염화칼슘을 300ml의 물에 용해시켰다. 690mg의 DPPC 및 10mg의 살메테롤을 700ml의 EtOH에 용해시켰다. 두가지 용액을 합쳐, 70% EtOH/30% 물, 리터당 1g의 고형물인 용액 1리터를 형성하였다.

F2의 사전 분무 건조 용액을 제조하기 위해, 200mg의 시트르산 나트륨 및 200mg의 락토오스를 300ml의 물에 용해시켰다. 295mg의 DPPC, 295mg의 DPPE 및 10mg의 살메테롤을 700ml의 EtOH에 용해시켰다. 두가지 용액을 합쳐, 70% EtOH/30% 물, 리터당 1g의 고형물인 용액 1리터를 형성하였다.

상기 사전 분무 건조된 용액을 상기 기술된 바와 같이 분무 건조시켜 하기 실험에서 사용되는 건조 입자를 생성하였다.

실시에 11

상기 생성된 건조 입자 제형(AIR 입자)을 투여를 목적으로 제조하였다. 살메테롤 없이 분무 건조된 F1 및 F2의 경우에, AIR 입자를 캡슐에 넣어 칭량하였다. 그런 다음, 목적하는 활성 화합물(F1, F2)을 AIR 입자 상에 위치시키고, 중량을 기록하였다. 구체적으로, F-1 제형은 살메테롤 제형없이 F-1을 채워 넣은 것이고, F-2 제형은 살메테롤 제형없이 F-2를 채워 넣은 것이다. 캡슐 내용물의 최종 중량은 1.0mg이었다. 캡슐을 밀봉시키고, 캡슐을 반복적으로 뒤집어서 내용물을 혼합시켰다. 이 공정으로, 본 실험에서 투여된 캡슐 내 "배합물"이 형성되었다.

세러벤트 시험 제형에 있어서, 활성 화합물인 세러벤트<sup>®</sup>1 및 세러벤트<sup>®</sup>2를 제조하였다. 세러벤트<sup>®</sup>는 노쓰캐롤라이나 리서치 트라이앵글에 소재한 글락소 웰컴의 등록 상표명이다. 이 화합물은 살메테롤의 1-히드록시-2-나프토산염의 라세미 형태로서의 살메테롤 지나포에이트의 제형이다. 이 제형의 활성 성분은 살메테롤 염기, 즉 매우 선택적인 베타<sub>2</sub>-아드레날린 작용성 기관지 확장제이다. 살메테롤 지나포에이트의 화학명은 4-히드록시- $\alpha^1$ -[[[6-(4-페닐부톡시)헥실]아미노]메틸]-1,3-벤젠디메탄올, 1-히드록시-2-나프탈렌카르복실레이트이다.

상기 캡슐을 채우는 과정을 일반적으로 수행하였다. 그러나, 세러벤트<sup>®</sup>1 및 세러벤트<sup>®</sup>2를 사용하는 시험 제형에서는, AIR 입자가 사용되지 않았다. 대신에 미세화시킨 락토오스 분말을 먼저 캡슐 내에 넣고, 중량을 기록하였다. 그런 다음, 세러벤트<sup>®</sup>를 락토오스 분말 상에 위치시켰다. 상기한 바와 같이, 캡슐 내용물의 최종 중량은 1.0mg이었다. 이 캡슐을 밀봉시키고, 캡슐을 반복적으로 뒤집어서 내용물을 혼합시켰다. 이 공정으로 캡슐 내 "배합물"이 생성되었다. 종국적으로, 살메테롤을 함유하는 두 대조군, 즉 SX1 및 SX2를 실험에 사용하였는데, 이 실험에서 세러벤트<sup>®</sup>를 살메테롤(담체)없이 AIR 입자와 배합시켰다. 살메테롤 입자를 사용하지 않은 F-1의 경우에, AIR 입자를 먼저 캡슐 내에 위치시키고, 중량을 기록하였다. 그런 다음, 세러벤트<sup>®</sup>를 AIR 입자상에 위치시켰다. 상기한 바와 같이, 캡슐 내용물의 전체 중량은 1.0mg이었다. 이 캡슐을 밀봉시키고, 캡슐을 반복적으로 뒤집어서 내용물을 혼합시켰다. 이 공정으로 본 실험에서 투여된 캡슐 내 "배합물"이 생성되었다.

실시에 12

기니아 피그의 폐기능을 평가하기 위해 전신 혈량 측정법을 사용하였다. 마취시킨 동물에게 기관내 통기법(intratracheal insufflation)으로 시험 제형을 투여하였다. 이 시스템을 사용하여, 흡입치료기로 공급된 메타콜린을 사용하여 개별적인 기니아 피그에 대해서 수회 반복적으로 유발 시험을 수행할 수 있었다. 유동 파라미터, 즉 PenH(PenH: 포즈(pause)가 증가됨)에 기초한 기도 저항의 계산된 측정, 메타콜린으로부터 유래한 기관지 억제로부터의 보호에 대한 마야커로서 특이적으로 사용하였다.

구체적으로, 사용된 시스템은 BUXCO XA 폐 기능 소프트웨어(BUXCO Electronics, Inc., Sharon, CT)를 사용하는 BUXCO 전신 미긴장형(unrestrained) 혈량 측정 시스템이었다. 이 프로토콜은 실바우 앤드 마우더리(Silbaugh and

Mauderly)에 기술되어 있다[참조: "Noninvasive Detection of Airway Constriction in Awake Guinea Pigs", American Physiological Society, 84: 1666-1669 (1984) and Chong et al., "Measurements of Bronchoconstriction Using Whole-Body Plethysmograph: Comparison of Freely Moving Versus Restrained Guinea Pigs", Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 39(3): 163-168(1998)]. 기준선 폐기능 (기도 과다반응성)값을 임의의 실험적인 처리를 실시하기 전에 측정하였다. 그런 다음, 살메테롤 제형을 투여한 후에, 다양한 시점(2 내지 3시간, 16시간, 24시간 및 42시간)에서 염수 및 메타콜린을 투여한 경우에 발생하는 기도 과다반응성을 평가하였다. 염수 또는 메타콜린을 사용하여 유발시험을 실시한 후에 4 내지 9분 사이에 수집된 데이터로부터 평균 PenH를 계산하였다. 각 시점에서 기준선 PenH의 퍼센트를 각각의 실험 동물에 대하여 계산하였다. 후속적으로 동일한 제형을 투여한 동물로부터 취한 값을 평균화하여, 각 시점에서의 평균 그룹 반응(± 표준 오차)을 측정하였다.

수컷 하틀리(Hartley) 기니아 피그를 엘름 힐 브리딩 랩스(Elm Hill Breeding Labs: 매사추세츠 켈름스포드에 소재)로부터 획득하였다. 분말량(캡슐 중 1mg)을, 펜 셀츄리(펜실베니아 필라델피아에 소재)에서 배양된 기니아 피그에 대한 통기 기 샘플 챔버 통기 장치에 주입시켰다. 통기기의 전달관을 입을 통해 기관에 삽입시키고, 관의 팁이 기관분기부(carina)(제 1 분기부)로부터 약 1cm 정도가 될 때까지 밀어넣었다. 통기기 샘플 챔버로부터 분말을 전달시키는데 사용된 공기의 부피는 10ml 주사기로부터 전달된 3ml였다. 기니아 피그로의 분말 전달량을 최대화시키기 위해, 주사기를 재충전시키고, 분말 용량당 총 3회의 공기 방출에 대해 2회 이상 방출시켰다. 메타콜린 유발 시험을, 분말 투여후 2 내지 3시간, 16시간 및 24 시간의 시점에서 수행하였다.

하기 표 11에 표시된 제형 성분 및 양을 사용하여 시험을 반복하였다:

표 11

	살메테롤 (%)	AIR입자 중 분무건조된 살메테롤 중량	세러벤트 중의 살메테롤 중량(µg)	살메테롤을 함유하는 AIR 입자의 전체 중량	살메테롤을 함유하는 세러벤트 분말의 전체 중량(µg)	살메테롤 (당체)이 없는 AIR 입자 (µg)	미세화된 락토오스 살메테롤 분말 (µg)	총 중량
F-1 (0.5)	1	0.5		50		950		1mg
F-1 (1.0)	1	1		100		900		1mg
F-1 (2.0)	1	2		200		800		1mg
F-1 (살메테롤 비함유)	0	0		0		1000µg 또는 1mg		1mg
F-2 (0.5)	1	0.5		50		950		1mg
F-2 (1.0)	1	1		100		900		1mg
F-2 (2.0)	1	2		200		800		1mg
F-2 (살메테롤 비함유)	0	0		0		1000µg 또는 1mg		1mg
SX1(0.5)	0.4		0.5		125	875		1mg
SX2(1.0)	0.4		1		250	750		1mg
세러벤트®1	0.4		0.5		125		875	1mg
세러벤트®2	0.4		1		250		750	1mg

실시에 13

본 실험은 실시에 12에 기재된 과정에 따라 수행되었다. 표 11에 기재된 제형 F-1(0.5), F-1(1.0), F-1(2.0), SX-1(0.5) 및 SX-2(1.0)을 동물에게 투여하였다. F-1 시리즈의 제형은 살메테롤, DPPC, 시트르산 나트륨 및 염화칼슘을 함유하고

있다. 유동 파라미터를 사용하여, PenH(기도 저항 측정 또는 증가된 포즈)를 각 동물에 대해서 계산하고 기록하였다. 25시간 동안 이 동물을 관찰하고 시험하였다. 이것에 대한 결과는 도 19에 도시되어 있다. SX 제형은 살메테롤의 시판되는 형태인 세러벤트™를 함유하고 있다. 살메테롤이 함유되지 않은 AIR 입자(때때로 이것을 블랭크 또는 플라세보 입자라고 하기도 함)와 배합시키는 경우에, 살메테롤 함유 AIR 입자(표 10 및 표 11 중의 F-1 시리즈)를 표 11의 세러벤트 함유 제형(SX1 (0.5) 및 SX2(1.0))과 비교하였다. 상기 F-1 제형은 일반적으로 SX 제형보다 기도 저항을 덜 나타내었다. 추가로, 모든 F-1 제형은 일률적으로 SX-1(0.5)보다 기도 저항을 덜 나타내었다. 투여후 약 10시간에서부터, 모든 F-1 제형이 SX-1 또는 SX-2 중 어느 하나에 비해 현저하고 지속적인 낮은 기도 저항을 나타내기 시작하였다.

실시예 14

실시예 12에 기재된 과정에 따라 수행되는 또 다른 실험에서, 표 11 중에 기재되어 있는 제형 F-2(0.5), F-2(1.0), F-2(2.0), SX-1(0.5) 및 SX-2(1.0)을 동물에게 투여하였다. F-2 시리즈의 제형은 살메테롤, DPPC, DPPE, 시트르산 나트륨 및 락토오스를 함유하고 있다. 유동 파라미터를 사용하여, PenH(기도 저항 측정 또는 증가된 포즈)를 각 동물에 대해서 계산하고 기록하였다. 25시간 동안 이 동물을 관찰하고 시험하였다. 이것에 대한 결과는 도 20에 도시되어 있다. SX 제형은 살메테롤의 시판되는 형태인 세러벤트를 함유하고 있다. AIR 입자(때때로 이것을 블랭크 또는 플라세보 입자라고 하기도 함)와 배합시키는 경우에, 살메테롤 함유 AIR 입자(표 10 및 표 11 중의 F-2 시리즈)를 살메테롤이 함유되지 않은 세러벤트 함유 제형(표 11 중의 SX1 (0.5) 및 SX2(1.0))과 비교하였다. 상기 F-2 제형은 일반적으로 SX 제형보다 기도 저항을 덜 나타내었다. 또한, 모든 F-2 제형은 일률적으로 SX-1(0.5)보다 기도 저항을 덜 나타내었다.

실시예 15

또 다른 실험에서, 상기 과정에 따라 수행하였다. 표 11 중에 기재되어 있는 제형 F-1(0.5), F-1(1.0), F-1(2.0), 세러벤트 1(0.5) 및 세러벤트(1.0)를 동물에게 투여하였다. F-1 시리즈(도시되어 있지 않음)와 세러벤트 제형을 비교한 결과는 F-1 시리즈에 대해 SX 제형을 비교한 경우에 얻어진 결과와 일치되었다. 중요한 것은, 이 결과로부터 담체로 사용된 경우의 AIR 입자(블랭크 또는 플라세보)가 락토오스와 최소한 동등한 효과를 나타낸다는 사실을 알 수 있다. 락토오스는 FDA로부터 승인된 시판되는 담체이나, 폐의 심부까지 도달할 수 없다. 실시예 3에서 알 수 있는 바와 같이, AIR 입자는 폐의 심부까지 도달하며, 이것은 본 실험에서 살메테롤과 같은 목적하는 약제를 동반하거나, 약제의 부착 자리까지 에스코트할 수 있다.

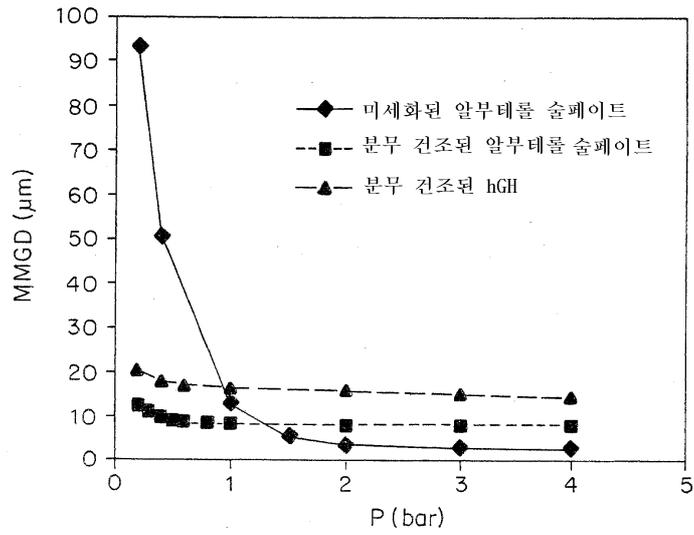
실시예 16

또 다른 실험에서, 상기 과정에 따라 수행하였다. 표 11 중에 기재되어 있는 제형 F-2(0.5), F-2(1.0), F-2(2.0), 세러벤트 1(0.5) 및 세러벤트(1.0)를 동물에게 투여하였다. 한번 더, F-2 시리즈에 대한 세러벤트 제형의 비교에서 확인된 결과(도시되어 있지 않음)는 F-2 시리즈에 대해 SX 제형을 비교한 경우에 얻어진 결과와 일치되었다. 이러한 결과로부터 상기 실시예 15에 기재된 결론이 지지된다.

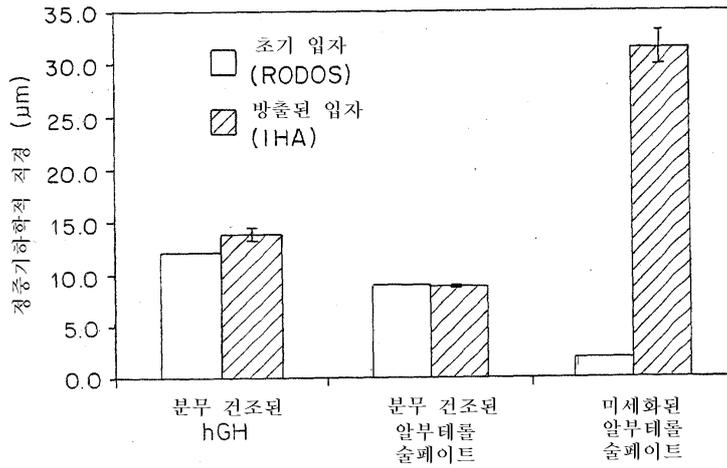
본 발명을, 이것의 바람직한 구체예를 참조로 구체적으로 도시하고 기술하였다 하더라도, 당업자는 첨부된 청구범위에 포함된 본 발명의 범주로부터 이탈되지 않고 여기에 다양한 형태의 변형이 이루어질 수 있다는 것을 이해할 것이다.

도면

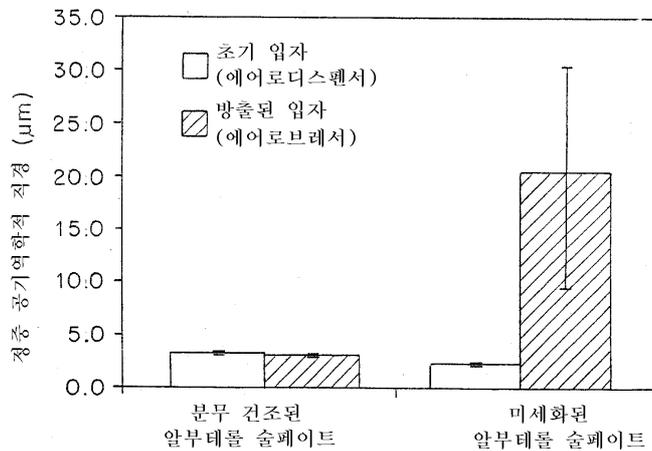
도면1



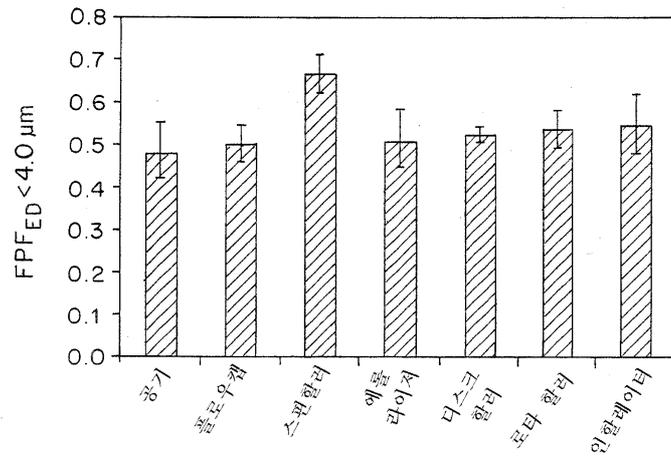
도면2A



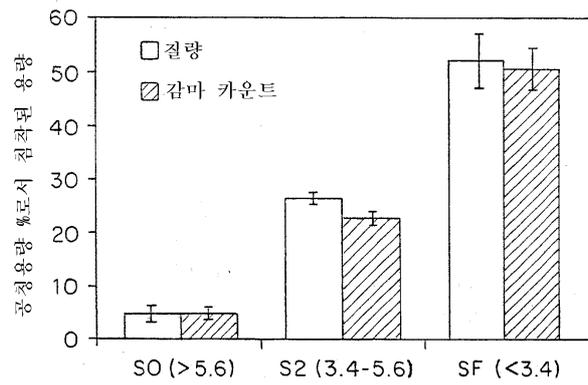
도면2B



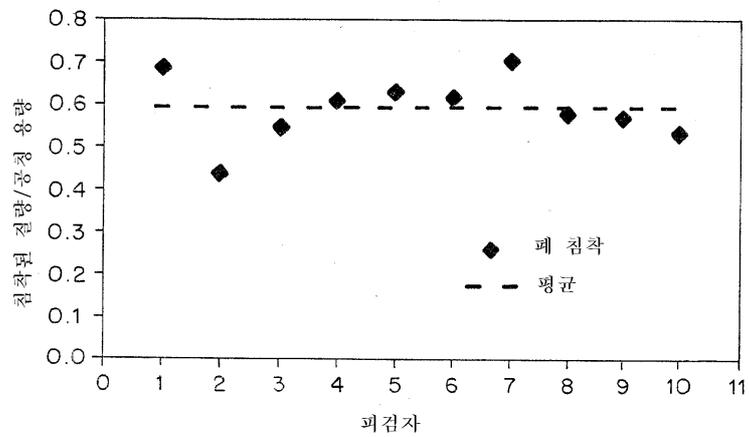
도면3



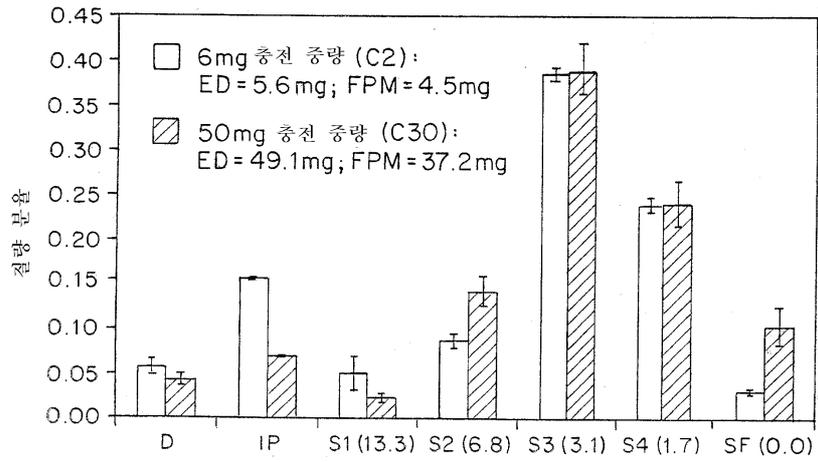
도면4



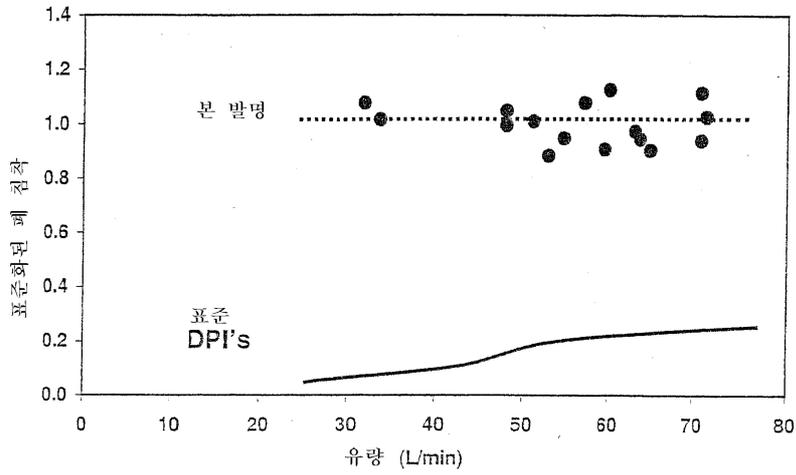
도면5



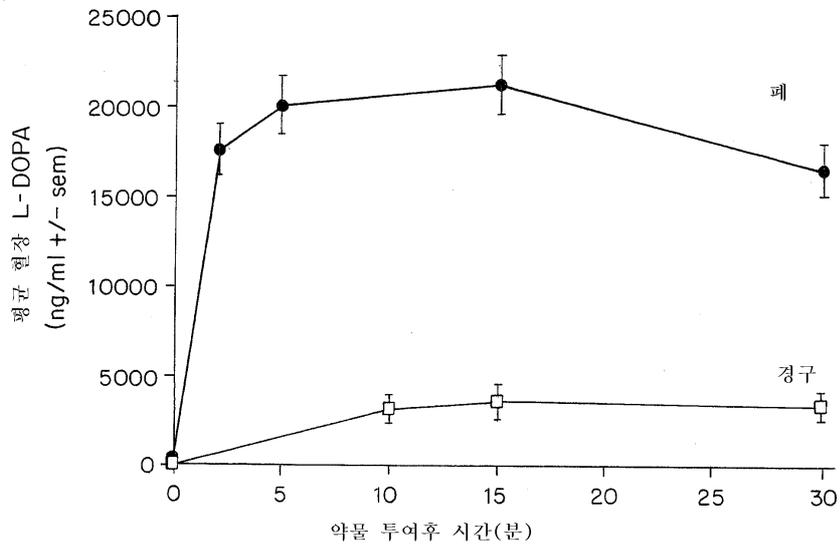
도면6



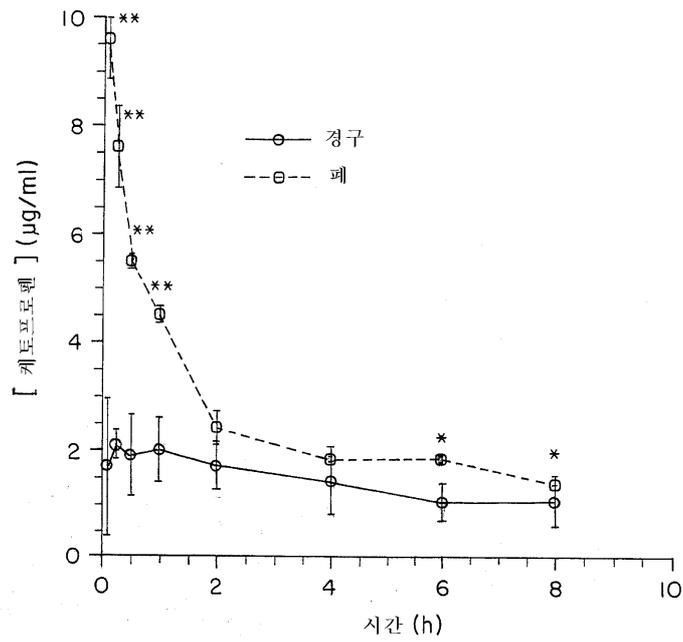
도면7



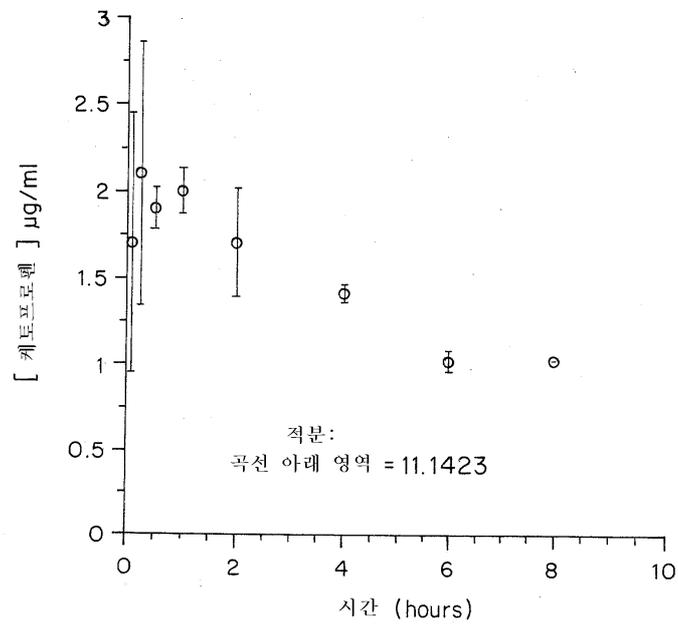
도면8



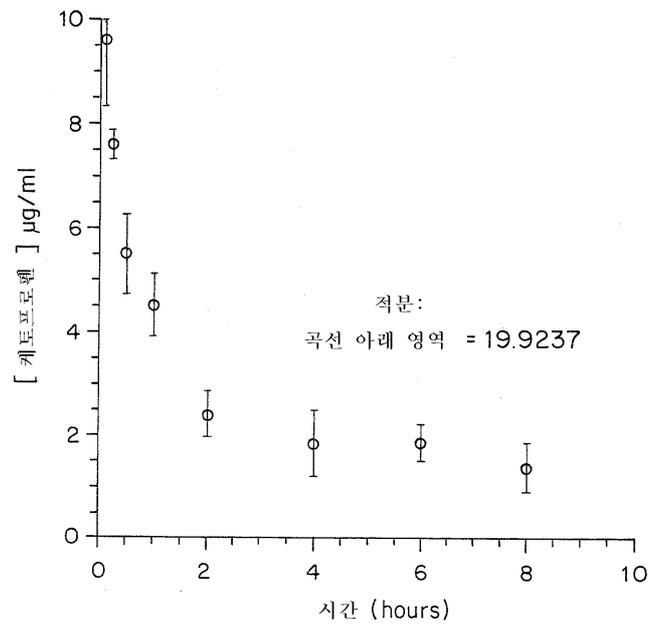
도면9



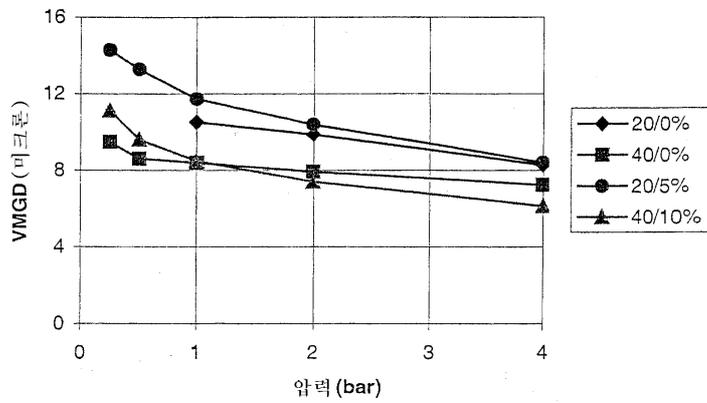
도면10



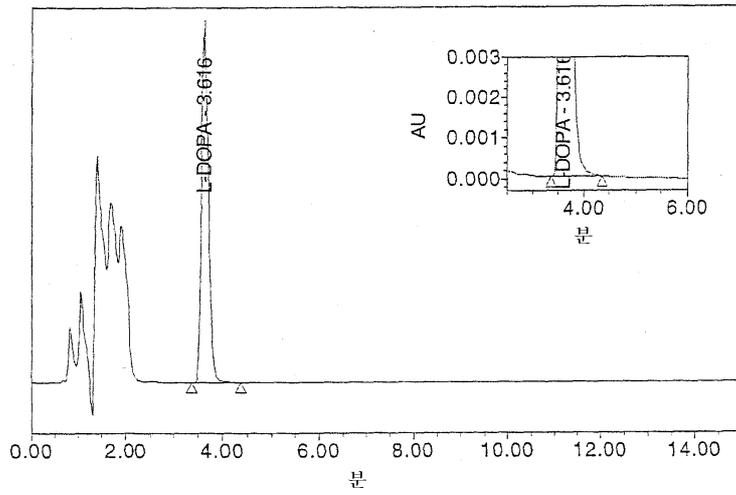
도면11



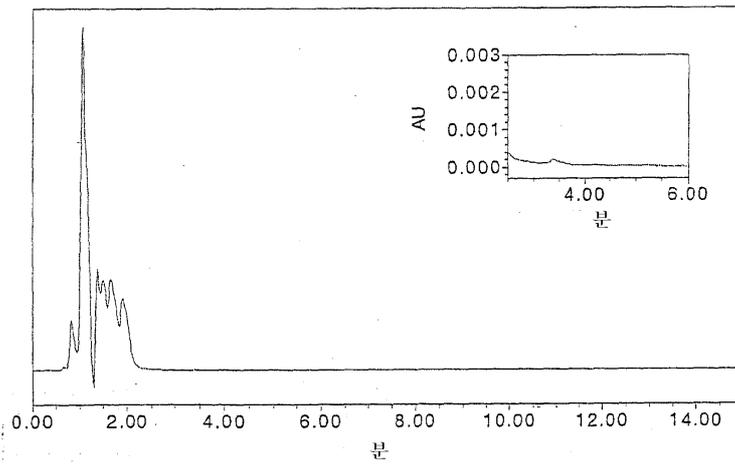
도면12



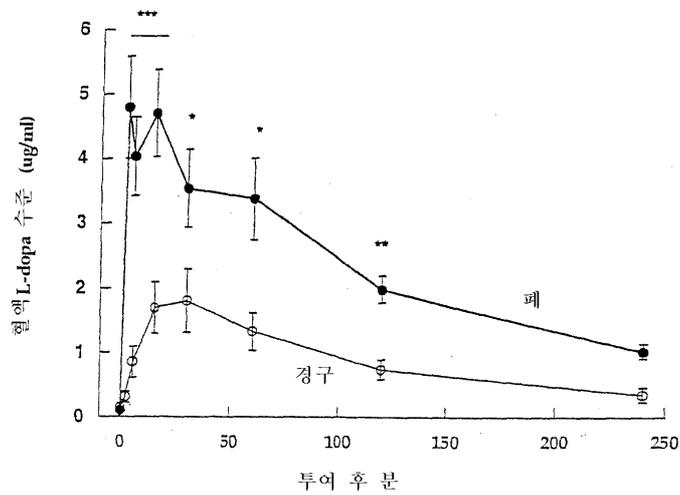
도면13A



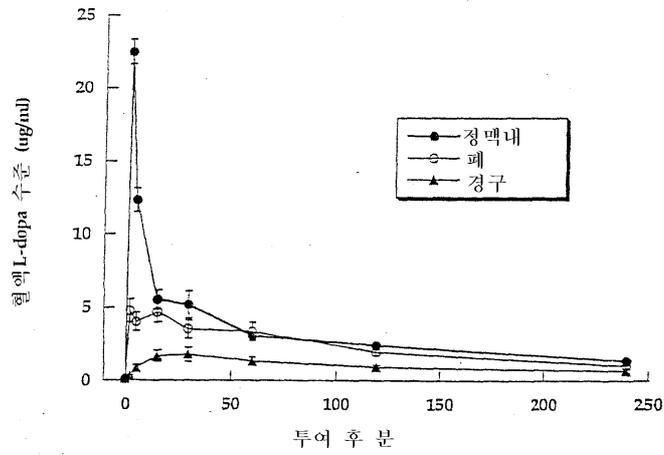
도면13B



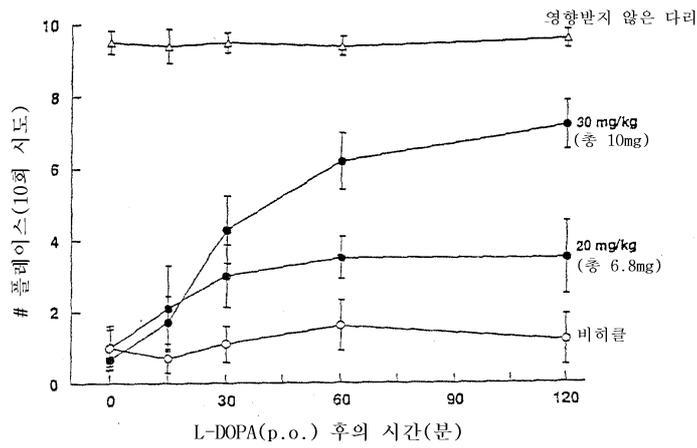
도면14A



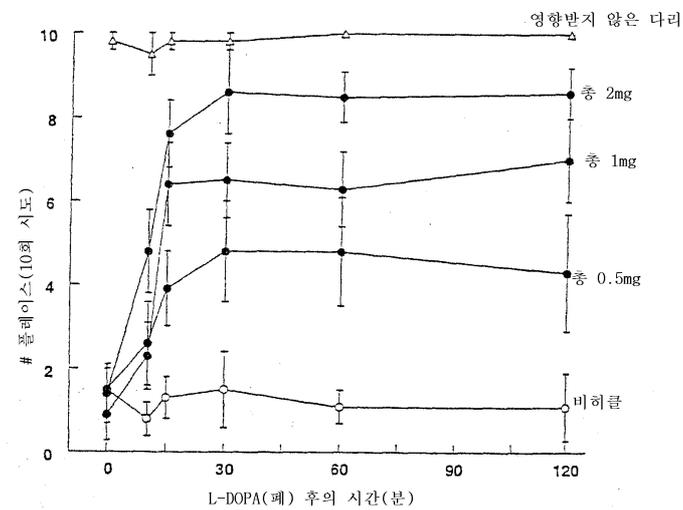
도면14B



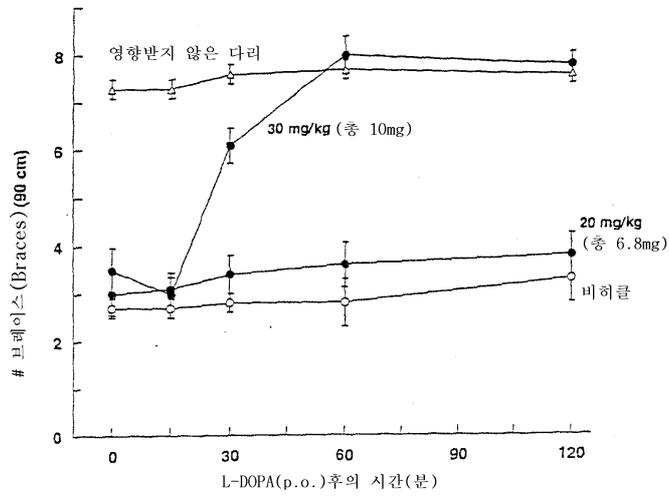
도면15A



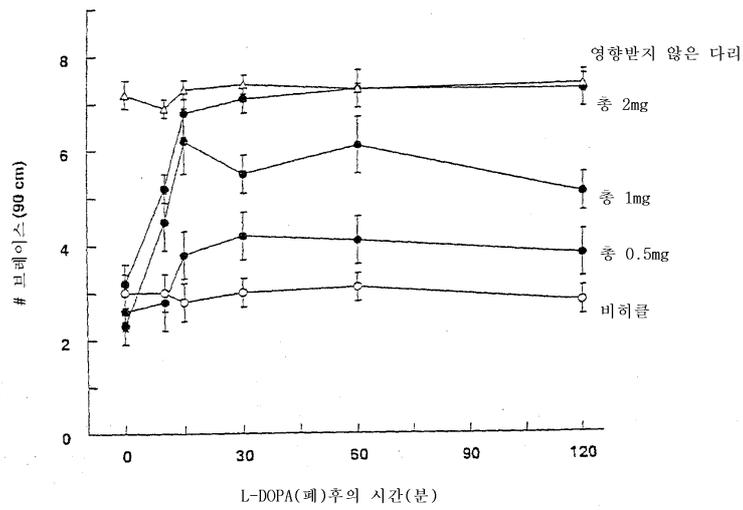
도면15B



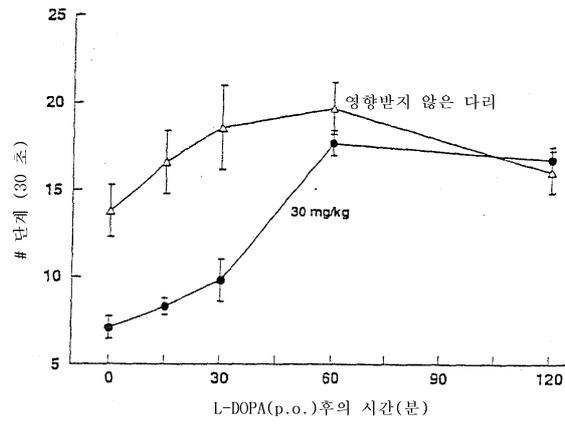
도면16A



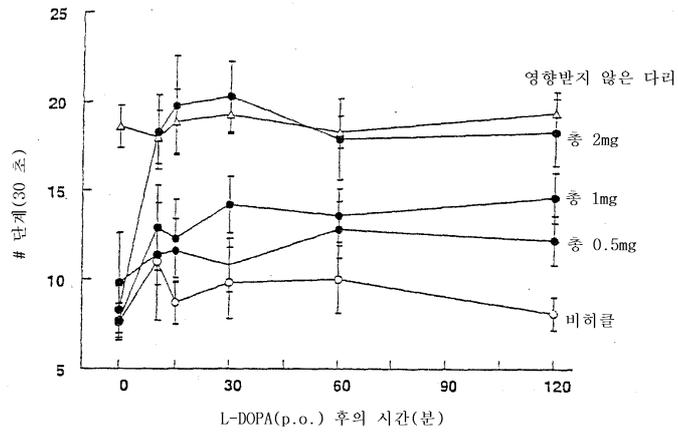
도면16B



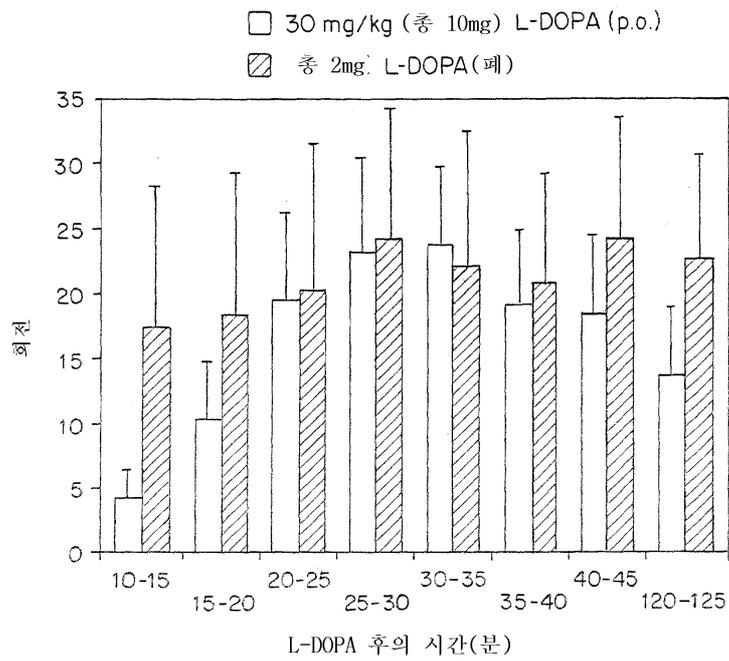
도면17A



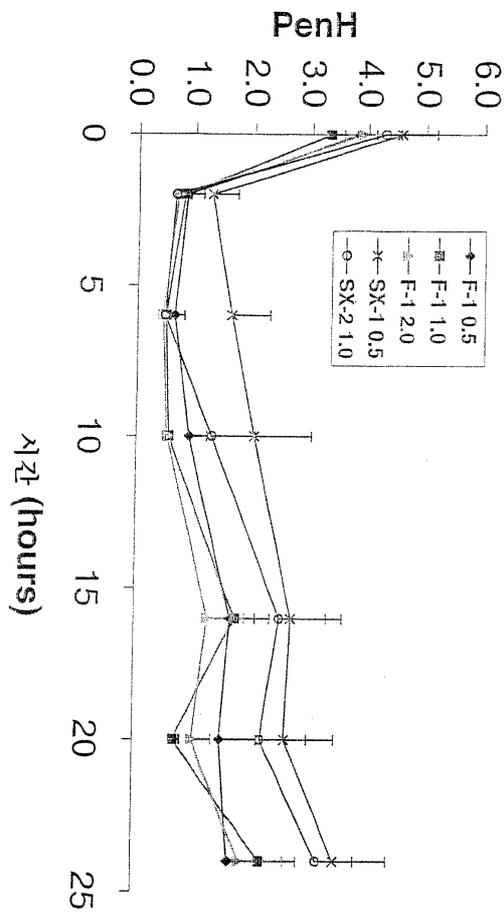
도면17B



도면18



도면19



도면20

