



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 27 175 T2 2007.11.08**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 351 704 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 27 175.0**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US01/50592**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 988 413.9**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/055101**
(86) PCT-Anmeldetag: **21.12.2001**
(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **18.07.2002**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **15.10.2003**
(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **07.03.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **08.11.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 38/17 (2006.01)**
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
256786 P 21.12.2000 US

(73) Patentinhaber:
Nektar Therapeutics, San Carlos, Calif., US

(74) Vertreter:
Vossius & Partner, 81675 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:
**HASTEDT, Jayne E., San Carlos, CA 94070, US;
CABOT, Kirsten M., San Francisco, CA 94121, US;
GONG, David, San Francisco, CA 94121, US;
HESTER, Dennis M., Richmond, CA 94804, US**

(54) Bezeichnung: **LAGERSTABILE PULVERZUSAMMENSETZUNGEN MIT INTERLEUKIN-4 REZEPTOR**

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

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

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft generell sprühgetrocknete, inhalierbare Pulverzusammensetzungen von Interleukin-4-Rezeptor (IL-4R) und Verfahren zur Herstellung und pulmonalen Verabreichung derartiger Zusammensetzungen. Die erfindungsgemäßen Pulver sind besonders stabil, was Monomergehalt und Aggregatanteil anbelangt, sowohl bei der Herstellung als auch bei der Lagerung, und besitzen zusätzlich hervorragende Aerosoleigenschaften, sogar in Abwesenheit von stabilisierenden Trägern oder Exzipienten. Die erfindungsgemäßen Pulver sind, bei Anwendung in den tiefen Lungenbereichen, verwendbar zur Behandlung von allergischen Erkrankungen, wie z.B. Asthma, Atopie und atopische Dermatitis.

[0002] Interleukin 4 (IL-4, auch bekannt als B-Zell-stimulierender Faktor oder BSF-1) ist ein Cytokin, das von T-Helferzellen, Mastzellen und Basophilen gebildet wird. Von IL-4 ist gezeigt worden, dass es ein breites Spektrum an biologischen Wirkungen besitzt, einschließlich der Co-Stimulierung des Wachstums von T-Zellen, Mastzellen, Granulozyten, Megakaryozyten und Erythrozyten. Außerdem stimuliert IL-4 die Proliferation von mehreren IL-2- und IL-3-abhängigen Zelllinien, löst die Expressierung von Klasse-II-Haupthistokompatibilitätskomplex-Molekülen in ruhenden B-Zellen aus, beeinflusst die Bildung von IgE und verstärkt die Absonderung von IgE und IgG₁-Isotypen durch Lipopolysaccharid-stimulierten B-Zellen. Von IL-4 ist nachgewiesen worden, dass es eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung von allergischen Erkrankungen spielt und sehr häufig mit Asthma und Allergien in Zusammenhang steht; oder mit Erkrankungen, die durch Atemnot gekennzeichnet sind.

[0003] IL-4 bindet an den IL-4-Rezeptor (IL-4R), ein endogenes membran-gebundenes Protein auf der Oberfläche bestimmter Zellen. Auf derartige Bindung hin transduziert IL-4R ein biologisches Signal an verschiedene Immun-Effektorzellen und triggert dadurch eine Kaskade von Ereignissen, die zu klinischen Symptomen führt (Renz, H. et al., 1991, J. Immunol., 146(9): 3049-55). Nukleotid- und Proteinsequenzbestimmung für IL-4R ist ausgeführt worden. Vollentwickelter, humaner IL-4R weist drei Domänenstrukturen auf: eine extrazelluläre Domäne (etwa 207 Aminosäuren), einen Membranpassagebereich (etwa 24 Aminosäuren) und eine intrazytoplasmatische Domäne (etwa 569 Aminosäuren) (Europäisches Patent Nr. EP 585-681 (1994)). Löslicher IL-4R (sIL-4R) ist auch isoliert, geklont und ausführlich erforscht worden (Europäisches Patent Nr. EP 367-566 (1997); Mosley et al., 1989, Cell, 59-335, 1989; U.S.-Patent Nr. 5,767,065 und Garrone, P. et al., 1991, Eur. J. Immunol., 21(6): 1365-9). IL-4 bindet bevorzugt eher an sIL-4R in Lösung als an den endogenen Zelloberflächen-IL-4R und verhindert dadurch die zelluläre Aktivierung und blockiert die biologische Antwort, z.B. die Kaskade von Wirkungen, die mit IL-4 und seiner Bindung an den endogenen Rezeptor verbunden ist (Renz, H. et al., 1991, vorstehend, und Renz, H., 1999, Inflamm. Res., 48(8): 425-31).

[0004] IL-4R ist als ein Immunsuppressivum und ein antiinflammatorischer Wirkstoff beschrieben worden, und die Verabreichung von IL-4R kann bei der Behandlung von Leiden, wie z.B. Allergie, Rhinitis, atopische Dermatitis, rheumatoide Arthritis, Transplantatabstoßung, chronische Transplantat-Wirt-Reaktion (GvH) und systemischer Lupus erythematosus (SLE), vorteilhaft sein (Siehe z.B. U.S.-Pat. Nr. 5,856,296; Renz, H. et al., 1992, J. Invest. Dermatol., 99(4): 403-8; Hackstein, H. et al., 1999, Tissue Antigens, 54(5): 47-17; Rivas, D. et al., 1995, J. Autoimmun., 8(4): 587-600 und Schorlemmer, H.U. et al., 1995, Inflamm. Res., 44, Erg. 2:S 194-6).

[0005] Wie viele Biopeptide neigt IL-4R zur Instabilität. Er neigt unter extremen Bedingungen (z.B. stark saurer oder basischer pH-Wert, hohe Temperaturen) zur Zersetzung und/oder Aggregation und ist anfällig für Oxidationsmittel und endogene Proteasen. Die innewohnende chemische und physikalische Instabilität von IL-4R macht die pharmazeutische Formulierung besonders problematisch. Um die Stabilität und Bioaktivität des Proteins aufrechtzuerhalten, sind gebräuchliche IL-4R-Formulierungen in erster Linie lösungsbasiert und werden vor Verabreichung als Lyophilisate gelagert (z.B. U.S.-Pat. Nrn. 5,856,296, 5,767,065 und 6,063,371). Eine lösliche, lösungsbasierte IL-4R-Peptidzusammensetzung zur Verabreichung durch Inhalation, Nuvance™, wird derzeit für die Behandlung von Asthma klinisch getestet (Borish, L.C. et al., 1999, Am. J. Resp. Crit. Care Med., 160(6): 1816-23).

[0006] Lösungsbasierte Formulierungen von IL-4R leiden an anderen Nachteilen, als diejenigen, die mit Lösungsphaseninstabilität verbunden sind, verschieden sind. Erstens nehmen lösungsbasierte Formulierungen mehr Platz in Anspruch und erfordern mehr Mühe als feste Formulierungen und sind somit teurer. Überdies müssen sie im Allgemeinen gekühlt werden (typischerweise in einer Umgebung von 2 bis 8°C aufbewahrt), was die Lagerungs- und Transportmöglichkeiten weiter einschränkt. Außerdem zeigen viele lösungsbasierte Formulierungen im Laufe der Zeit einen Proteinkonzentrationsverlust, der vermutlich auf die Bildung von Dimeren und anderen Proteinaggregaten in Lösung zurückzuführen ist. Derartige Formulierungen müssen häufig mit stabilisierenden Zusatzstoffen, wie z.B. Puffersubstanzen und/oder Antioxidantien, ergänzt werden, um die Lö-

sungsinstabilität zu minimieren. Folglich wäre es wünschenswert, eine feste oder pulverbasierte Zusammensetzung von IL-4R bereitzustellen, insbesondere eine, die nicht nur stabil hergestellt und gelagert, sondern zusätzlich in fester Form verabreicht werden könnte, wie z.B. ein inhalierbares Trockenpulver. Viele vorklinische und klinische Studien mit inhalierten Proteinen, Peptiden, DNA und kleinen Molekülen haben sowohl innerhalb der Lungen als auch systemisch Wirksamkeit gezeigt.

[0007] Pulverformulierungen stellen eine Alternative zu Lösungsformulierungen dar und Proteine werden, wenn sie in Pulverform gewünscht werden, am häufigsten als Lyophilisate hergestellt (z.B. U.S.-Patent Nr. 5,856,296). Leider werden gefriergetrocknete Pulver typischerweise als Pulverkuchen geformt, welche zusätzliche Abreib- und Mahl- und gegebenenfalls Sieb-Verarbeitungsschritte erfordern, um fließende Pulver bereitzustellen. In den vergangenen Jahren ist Sprühtrocknen eingesetzt worden als eine alternative Methode zur Herstellung einer Reihe von therapeutischen Pulvern auf Proteinbasis, insbesondere zur aerosolisierten Verabreichung (z.B. Internationale Patentveröffentlichungen Nrn. WO 96/32149; WO 95/31479; WO 97/41833, Inhale Therapeutic Systems, Inc. zugeteilt). Leider neigen bestimmte Proteine, und Cytokine im Besonderen, zu Zersetzung während des Sprühtrocknens und zum Verlust ihrer Sekundärstruktur (Maa, Y.F., et al., J. Pharm. Sciences, 87 (2), 152-159 (1998)). Für ein repräsentatives Cytokin, humanes Wachstumshormon, berichtete Mumenthaler, dass Sprühtrocknen bei 90°C zur Bildung von 4% unlöslichen Aggregaten und zur Bildung von 21% löslichen Aggregaten führte – ein Verlust von 25% intaktem Protein (Pharmaceutical Res., 11, 12-20 (1994)). Die Instabilität des veranschaulichenden Cytokins, hGH, wurde weiterhin von Maa, Y.F., et al., ibid, gezeigt, die 42%ige Aggregatbildung (löslich und unlöslich) bei Zerstäubung einer Lösung von hGH berichteten.

[0008] Zusätzlich besitzt sIL-4R eine Reihe von potenziellen Instabilitätsstellen, was sowohl zu lösungsbasierter Instabilität als auch zu Instabilität im festen Zustand führt. Speziell enthält sIL-4R 7 Cysteine (Cys11, 21, 31, 51, 61, 63 und 184), was mindestens ein freies Sulfhydryl garantiert, welches für intermolekulare Disulfidbindungen verfügbar sein kann. Derartige intermolekulare Disulfidbindungen führen zu der leichten Bildung von Dimeren, Trimeren und anderen Aggregaten mit sich selbst. Somit neigt dieses Molekül besonders zu Instabilität. Neben aggregationsanfälligen Stellen weist das IL-4R-Peptid auch zersetzungsanfällige Stellen auf. Beispielsweise schließen die Stellen, die wahrscheinlich oxidativ angreifbar sind, vier Methioninreste (Met3, 16, 25 und 67) ein. Zusätzlich wird bei den Aminosäureresten 145-146 eine säurelabile Asp-Pro-Bindung gefunden, die bei niedrigem pH-Wert spaltbar ist. Zwei wahrscheinliche Desamidierungsstellen schließen Asn-Gly (26-27) und Asn-Gly (56-57) ein, obwohl das Molekül zahlreiche andere potenzielle Desamidierungsreste (Asn und Gln) besitzt.

[0009] Somit sahen sich die Erfinder der schwierigen Aufgabe gegenüber, nicht nur eine verbesserte Trockenpulverformulierung mit IL-4R bereitzustellen, um einige der mit lösungsbasierten Formulierungen mit IL-4R verbundenen Nachteile, wie vorstehend beschrieben, zu überwinden, sondern auch die Faktoren, die die Instabilität und Aerosoleigenschaften von IL-4R beeinflussen, auszubalancieren, um zu einer stabilen Trockenpulverformulierung, die für pulmonale Verabreichung geeignet ist, zu gelangen. Das heißt, vor der vorliegenden Erfindung war die Entwicklung eines chemisch und physikalisch stabilen, bioaktiven Trockenpulvers mit IL-4R, das auch die für die Aerosolisierung notwendigen physikalischen Eigenschaften (z.B. hohe Dispergierbarkeiten, die im Laufe der Zeit stabil bleiben, geeignete aerodynamische Größe) besitzt, unbekannt.

[0010] Die vorliegende Erfindung basiert auf der unerwarteten Entdeckung von chemisch und physikalisch stabilen sprühtrockneten Pulverzusammensetzungen von IL-4R, obwohl von derartigen Molekülen (d.h. Cytokine) bekannt ist, dass sie besonders instabil sind, wenn sie der Scherbeanspruchung, den Flüssigkeit-Wand-Interaktionen, den hohen Temperaturbedingungen und dergleichen des Sprühtrocknens ausgesetzt werden. Überraschend zeigt das erfindungsgemäße, sprühtrocknete Pulver sowohl einen Monomergehalt als auch einen Aggregatanteil, die im Wesentlichen unverändert sind gegenüber denen der Lösung vor Sprühtrocknung. Überdies stellt die Erfindung IL-4R-Trockenpulverzusammensetzungen bereit, die lagerstabil sind, sowohl was Monomergehalt als auch Aggregatanteil anbelangt, sogar unter extremen Feuchtigkeitsbedingungen. Das heißt, die hier beschriebenen sprühtrockneten Pulver zeigen sowohl hervoreagende chemische als auch physikalische Stabilität, ebenso wie sie gute Dispergierbarkeiten (d.h. Aerosoleigenschaften) aufweisen, was sie für Anwendung an der Lunge geeignet macht.

[0011] In einer Ausführungsform stellt die Erfindung eine sprühtrocknete IL-4R-Pulverzusammensetzung bereit, die über ausgedehnte Zeiträume, 14 Tage oder mehr, unter extremen Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen gelagert werden kann, ohne wesentliche Änderungen der Aerosolleistung, der chemischen und/oder physikalischen Eigenschaft, der Bioaktivität und dergleichen zu erfahren. Genauer gesagt ist der IL-4R-Gehalt der erfindungsgemäßen Pulverzusammensetzungen im Wesentlichen unverändert gegenüber

den Suspensionen oder Lösungen vor der Sprühtrocknung, d.h. er erfährt im Laufe der Zeit minimale Aggregatbildung und/oder minimalen Proteinmonomerverlust.

[0012] Die IL-4R-Pulverzusammensetzung, die bei Herstellung und Lagerung unerhebliche Zersetzung zeigt, kann in Abwesenheit von stabilisierenden Zusatzstoffen oder Exzipienten hergestellt werden oder kann weiter einen pharmazeutisch verträglichen Exzipienten beinhalten. Bevorzugte Exzipienten schließen Zinksalze, Citrat, Leucin, und Kombinationen daraus ein.

[0013] Die IL-4R-Pulverzusammensetzung weist vorzugsweise einen Monomergehalt auf, der im Wesentlichen unverändert ist gegenüber dem der Lösung oder Suspension vor Trocknung. Die Veränderung des Monomergehalts wird hier als eine prozentuale Abnahme (gegenüber der Lösung oder Suspension vor Trocknung) dargestellt. Die Abnahme des Monomergehalts beträgt vorzugsweise weniger als etwa 10%, stärker bevorzugt weniger als 7%, am meisten bevorzugt weniger als 5%.

[0014] Die IL-4R-Pulverzusammensetzung zeigt vorzugsweise minimale Aggregatbildung gegenüber der der Lösung oder Suspension vor Trocknung. Der Anteil der Aggregatbildung wird hier als prozentuale Zunahme (gegenüber der Lösung oder Suspension vor Trocknung) dargestellt. Die Zunahme des Aggregatgehalts beträgt vorzugsweise weniger als 10%, stärker bevorzugt weniger als 7%, am meisten bevorzugt weniger als 5%.

[0015] Zusätzlich umfassen die erfindungsgemäßen IL-4R-Pulverzusammensetzungen Teilchen, die wirksam in die Lungenbläschen eindringen, das heißt, die in einer speziellen Ausführungsform einen massemedianen Durchmesser (MMD) von weniger als etwa 10 µm aufweisen, vorzugsweise weniger als etwa 7,5 µm und am meisten bevorzugt weniger als 5 µm im Durchmesser. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist das Pulver aus Teilchen mit einem MMD von etwa 1,0 bis 3,5 µm zusammengesetzt.

[0016] Weitere Ausführungsformen der erfindungsgemäßen IL-4R-Pulverzusammensetzungen beinhalten sprühtrocknete IL-4R-Teilchen, die einen massemedianen aerodynamischen Durchmesser (MMAD) von weniger als etwa 10 Mikrometer aufweisen, vorzugsweise weniger als etwa 5,0 Mikrometer und stärker bevorzugt weniger als etwa 3,5 Mikrometer. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform liegt der MMAD im Bereich von 1,5 bis 3,5 Mikrometer.

[0017] Auch von der Erfindung umfasst ist eine aerosolisierte IL-4R-Pulverformulierung und ein IL-4R-Pulver in einer Einheitsdosis-Arzneiform.

[0018] In einer anderen Ausführungsform ist die Erfindung auf ein Verfahren zur Verabreichung einer IL-4R-Pulverzusammensetzung, wie hier beschrieben, an die Lungen eines Patienten, der dessen bedarf, gerichtet. Bei dem Verfahren wird eine Zusammensetzung, wie vorstehend beschrieben, durch Inhalation in aerosolisierte Form verabreicht.

[0019] Die Erfindung umfasst auch, in noch einer anderen Ausführungsform, ein Verfahren zur Herstellung einer dispergierbaren, trockenen IL-4R-Pulverzusammensetzung, die die vorstehend beschriebenen Merkmale aufweist.

[0020] In einer Ausführungsform wird die einatembare IL-4R-Pulverzusammensetzung hergestellt durch Kombinieren des/der IL-4R-Wirkstoffs/Wirkstoffe in einem geeigneten Lösungsmittel, um ein Gemisch oder eine Lösung zu bilden, und Sprühtrocknen des Gemischs oder der Lösung, um einzelne, im Wesentlichen amorphe Teilchen zu erhalten, vorzugsweise in Form eines Trockenpulvers. Der IL-4R bleibt beim Sprühtrocknen im Wesentlichen intakt, was zu Pulverteilchen führt, bei denen das Ausmaß der Proteinzersetzung (wie durch Abnahme des Monomergehalts und Aggregatbildung gekennzeichnet) unerheblich ist.

[0021] Ein fakultativer pharmazeutischer Exzipient kann weiter zu dem Lösungsmittel zugegeben werden, um eine homogene Lösung oder ein heterogenes Gemisch zu bilden, so dass das Sprühtrocknen der Lösung oder des Gemischs Teilchen liefert, die, zusammen mit IL-4R, einen Exzipienten, einen Puffer und jegliche andere Bestandteile, die in der Lösung oder dem Gemisch vorhanden sind, umfassen. In einer anderen Ausführungsform kann der pharmazeutische Exzipient separat gelöst und sprühtrocknet werden, um separate, jedoch ergänzend verabreichbare Pulverteilchen zu ergeben.

[0022] Diese und andere Aufgaben und Merkmale der Erfindung werden besser ersichtlich werden, wenn die folgende detaillierte Beschreibung zusammen mit den beigefügten Abbildungen und Beispielen gelesen wird.

[0023] **Fig. 1:** Diese Figur stellt einen Graphen der Wirkung der Temperatur auf den Monomergehalt der sprühgetrockneten Pulver, Formulierungen 1(A)–1(D) aus Beispiel 1, dar (2-Wochen-Stabilitätsdaten).

[0024] **Fig. 2:** Diese Figur stellt einen Graphen der Wirkung der relativen Feuchtigkeit auf den Monomergehalt des sprühgetrockneten Pulvers, Formulierungen 1(A)–1(D) aus Beispiel 1, dar (2-Wochen-Temperaturstabilitätsdaten).

[0025] **Fig. 3:** Diese Figur stellt einen Graphen der Wirkung der Temperatur auf den Monomergehalt der sprühgetrockneten Pulver, Formulierungen 1(A)–1(D) aus Beispiel 1, dar (2-Wochen-Temperaturstabilitätsdaten).

A. Begriffsbestimmungen

[0026] Die folgenden Begriffe, wie hier verwendet, haben die angegebenen Bedeutungen.

[0027] Im Kontext der vorliegenden Erfindung bezeichnen „IL-4R“ und „sIL-4R“ die extrazelluläre Domäne des zellgebundenen Proteins, das als Rezeptor für das Cytokin, Interleukin-4, dient. Wie nachstehend diskutiert, ist IL-4R, wie hier verwendet, nicht auf eine einzige Peptidsequenz beschränkt, sondern soll jegliches bekannte Protein umschließen, das IL-4R-Aktivität aufweist, einschließlich aus natürlichen und synthetischen Quellen stammender IL-4R, sowie Agonisten und Analoga davon, soweit sie die mit dem nativen Peptid verbundene therapeutische Aktivität bewahren.

[0028] Wie hier verwendet, bezeichnet der Begriff „Agonist“ Verbindungen, die die Wirkung der nativen Verbindung nachahmen. Ein Agonist kann eine peptidische oder eine nicht-peptidische Verbindung sein.

[0029] Wie hier verwendet, bezeichnet der Begriff „Analogon“ diejenigen Verbindungen, bei denen eine oder mehrere Aminosäuren substituiert, entfernt (d.h. Bruchstücke), hinzugefügt oder anderweitig aus der nativen (Wildtyp), humanen Sequenz modifiziert worden sind und die mindestens etwa 10, 20, 30 oder 40% und vorzugsweise mindestens 50%, 60% oder 70% und am meisten bevorzugt mindestens 80%, 90%, 95%, 100% oder mehr als 100% Bioaktivität von der des nativen (nicht-synthetischen), endogenen Peptids zeigen. Die Rezeptorspezifität ist gegebenenfalls im Wesentlichen ähnlich wie beim nativen (Wildtyp), endogenen Peptid. Typischerweise wird die Rezeptoraffinität mindestens 30%, 40% oder 50% von der des nativen (Wildtyp), endogenen Peptids betragen; stärker bevorzugt mindestens 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% oder mehr als 100%.

[0030] Erfindungsgemäße Zusammensetzungen werden als „einatembar“ betrachtet, falls sie zur Inhalationstherapie (d.h. fähig, durch den Mund oder die Nase eingeatmet und in die Lungen gezogen zu werden) und/oder pulmonalen Abgabe (d.h. lokalen Abgabe an die Gewebe des tiefen Lungenbereichs und Resorption durch die Epithelzellen darin in den Blutkreislauf) geeignet sind. Erfindungsgemäße Zusammensetzungen sind vorzugsweise zur schnellen systemischen Resorption durch die Lungen, d.h. mit Höchstwerten im Blut in weniger als 60 Minuten, geeignet.

[0031] Wie hier verwendet, bezeichnet der „tiefe Lungenbereich“ die alveolären Bereiche der Lunge (im Gegensatz zu den Bronchialbereichen). Eine für die „Inhalationstherapie“ geeignete Zusammensetzung ist eine Zusammensetzung, die bei Aerosolisierung (i) leicht in einem oralen Inhalations- oder intranasalen Abgabegerät dispergiert und (ii) von einem Säuger-Individuum entweder durch den Mund oder die Nase eingeatmet werden kann, so dass mindestens ein Anteil der Teilchen durch die Schleimhäute der Nasenwege oder der Lunge resorbiert wird. Eine für die „pulmonale Verabreichung“ geeignete Zusammensetzung umfasst Teilchen, von denen mindestens ein Anteil, bei Abgabe über Inhalation in aerosolisierter Form, die Gewebe der Lunge erreichen, einschließlich des tiefen Lungenbereichs.

[0032] „Oral einatembare“ Zusammensetzungen sind diejenigen einatembaren Zusammensetzungen, die besonders an die orale Inhalation angepasst sind. Desgleichen sind „nasal einatembare“ Zusammensetzungen diejenigen einatembaren Zusammensetzungen, die besonders an die nasale Inhalation, d.h. intranasale Abgabe an die oberen Atemwege, angepasst sind.

[0033] „Trockenpulver“ bezeichnet eine einatembare Zusammensetzung, die fein dispergierte feste Teilchen enthält, die verhältnismäßig frei fließen und fähig sind (i) leicht in einem Inhalationsgerät dispergiert und (iii) von einem Individuum inhaliert zu werden, so dass ein Anteil der Teilchen die Lungen erreicht, um das Eindringen in die Alveolen zu gestatten. Das Trockenpulver kann kristallin sein, ein amorphes Glas oder ein Gemisch

aus beiden Formen. Ein Trockenpulver enthält typischerweise weniger als etwa 10% Feuchtigkeit, vorzugsweise weniger als etwa 3% Feuchtigkeit, und enthält stärker bevorzugt weniger als etwa 3% Feuchtigkeit.

[0034] „Abgegebene Dosis“ oder „ED“ (engl.: emitted dose) stellt einen Hinweis auf die Abgabe einer Arzneistoffformulierung aus einem geeigneten Inhaliergerät nach einem Abschuß- oder Dispersionsereignis bereit. Genauer ausgedrückt ist, für Trockenpulverformulierungen, die ED ein Maß des Prozentsatzes an Pulver, der aus einer Einheitsdosis-Packung herausgezogen wird und der das Mundstück eines Inhaliergeräts verläßt. Die ED wird definiert als das Verhältnis der von einem Inhaliergerät abgegebenen Dosis zu der Nominaldosis (d.h. die Masse des Pulvers pro Einheitsdosis, die vor dem Abschießen in ein geeignetes Inhaliergerät platziert wird). Die ED ist ein experimentell bestimmter Parameter und wird typischerweise mit einem In-vitro-Geräteaufbau, der die Abgabe einer Dosis an den Patienten nachahmt, bestimmt. Um einen ED-Wert zu bestimmen, wird eine Nominaldosis des Trockenpulvers, typischerweise in Einheitsdosisform, in einen geeigneten Trockenpulver-Inhalator (wie z.B. in dem U.S.-Patent Nr. 5,785,049, Inhale Therapeutic Systems zugeordnet, beschrieben) platziert, welcher dann betätigt wird, wodurch das Pulver dispergiert wird. Die so erhaltene Aerosolwolke wird dann mit Vakuum aus dem Gerät gezogen, wo es auf einem, an das Geräte-Mundstück angebrachten tarierten Filter aufgefangen wird. Die Menge an Pulver, die den Filter erreicht, bildet die abgegebene Dosis. Beispielsweise beträgt für eine 5 mg-, Trockenpulver-enthaltende Darreichungsform, die in ein Inhalationsgerät platziert wird, falls die Dispersion des Pulvers zur Wiedergewinnung von 4 mg Pulver auf einem tarierten Filter, wie vorstehend beschrieben, führt, die abgegebene Dosis für die Trockenpulverzusammensetzung: $4 \text{ mg (abgegebene Dosis)}/5 \text{ mg (Nominaldosis)} \times 100 = 80\%$. Für nicht-homogene Pulver stellen ED-Werte einen Hinweis auf Abgabe des Arzneistoffs aus einem Inhaliergerät nach dem Abschießen statt von dem Trockenpulver und sind auf die Menge an Arzneistoff bezogen statt das Gesamtpulvergewicht. Entsprechend korrespondiert für MDI- und Vernebler-Darreichungsformen die ED mit dem Prozentsatz des Arzneistoffs, der aus einer einzeldosierten Arzneiform gezogen wird und der das Mundstück eines Inhaliergeräts verläßt.

[0035] Ein „dispergierbares“ Pulver ist eines, das einen ED-Wert von mindestens etwa 30% aufweist, vorzugsweise mindestens etwa 40%, stärker bevorzugt mindestens etwa 50% und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 55%.

[0036] „Massemedianer Durchmesser“ oder „MMD“ ist ein Maß der mittleren Teilchengröße, da die erfindungsgemäßen Pulver generell polydispers sind (d.h. aus einer Bandbreite von Teilchengrößen bestehen). MMD-Werte, wie hier berichtet, werden mit einem Zentrifugenabsetzvorgang bestimmt, obwohl jegliche Anzahl an gewöhnlich eingesetzten Techniken zum Messen der mittleren Teilchengröße verwendet werden kann (z.B. Elektronenmikroskopie, Lichtstreuung, Laserdiffraktion).

[0037] „Massemedianer aerodynamischer Durchmesser“ oder „MMAD“ ist ein Maß der aerodynamischen Größe eines dispergierten Teilchens. Der aerodynamische Durchmesser wird verwendet, um ein aerosolisiertes Pulver in Bezug auf sein Absetzverhalten zu beschreiben, und ist der Durchmesser einer Kugel mit Einheitsdichte, die die gleiche Absetzgeschwindigkeit in Luft aufweist wie das Teilchen. Der aerodynamische Durchmesser umschließt Teilchenform, Dichte und physische Größe eines Teilchens. Wie hier verwendet, bezeichnet MMAD den Mittelwert oder Median der aerodynamischen Teilchengrößenverteilung eines aerosolisierten Pulvers, der mit Kaskaden-Impaktion bestimmt wurde, sofern nicht anders angegeben.

[0038] Die „Feinpartikel-Fraktion“ ($FPF_{<3,3\mu\text{m}}$) wird als die Dosis des Pulvers definiert, welche unter 3,3 Mikrometer liegt, wie mit Kaskaden-Impaktion bestimmt. Dieser Parameter korrespondiert mit der Gesamtmasse unter Stufe 3 eines Andersen-Impaktors, bei Betrieb mit einer Fließgeschwindigkeit von 1 cfm (28,3 L/min).

[0039] „Pharmazeutisch verträglicher Exzipient“ und „pharmazeutisch verträglicher Träger“ sind synonym und bezeichnen Exzipienten, die in den erfindungsgemäßen Formulierungen enthalten sein und zusammen mit den Teilchen in die Lungen aufgenommen werden können, ohne signifikante toxikologische Nebenwirkungen für das Individuum und insbesondere für die Lungen des Individuums.

[0040] „Pharmakologisch wirksame Menge“ oder „physiologisch wirksame Menge“ ist die Menge an IL-4R, die in einer Erfindungszusammensetzung, wie hier beschrieben, vorhanden ist, welche benötigt wird, um einen gewünschten Spiegel von IL-4R im Blutstrom des Gewebes eines zu behandelnden Individuums bereitzustellen und dadurch eine erwartete physiologische Antwort hervorzurufen, wenn eine derartige Zusammensetzung durch Inhalation zur Ablagerung in und Resorption aus der Lunge verabreicht wird. Die genaue Menge wird von zahlreichen Faktoren abhängen, z.B. dem verwendeten, speziellen IL-4R (z.B. natürlich oder synthetisch, in voller Größe oder ein Bruchstück oder Analogon), dem eingesetzten Abgabegerät, den physikalischen Ei-

genschaften des Pulvers, der geplanten Verwendung durch den Patienten (z.B. die Anzahl der pro Tag verabreichten Dosen) und Faktoren in Zusammenhang mit dem Patienten (z.B. Alter, Größe, Gewicht, Gesundheit, etc.), und kann von einem Fachmann, basierend auf der hier bereitgestellten Information, bestimmt werden.

[0041] Ein „oberflächenaktives Mittel“ ist ein Exzipient, der Oberflächenaktivität (z.B. mit Oberflächentensio-metrie gemessen) aufweist, wie durch seine Fähigkeit gekennzeichnet, die Oberflächenspannung der Flüssig-keit, in der er gelöst ist, zu verringern und die rasche Ausbreitung der mit ihm verbundenen Arzneistoffe über Schleimhautoberflächen zu bewirken. Oberflächenspannung, die mit der Grenzfläche zwischen einer Flüssig-keit und einer anderen Phase zusammenhängt, ist die Eigenschaft einer Flüssigkeit, aufgrund derer die Ober-flächenmoleküle eine nach innen gerichtete Anziehung zeigen. Der Begriff schließt auch Detergentien, Emul-gatoren, Penetrationsverbesserer und Netzmittel ein.

[0042] Mit „wasserlösliches Peptid“ ist ein Peptid gemeint, das eine Löslichkeit in Wasser von mindestens 0,5 mg/ml aufweist, und stärker bevorzugt von mindestens 1 mg/ml.

[0043] „Aminosäure“ bezeichnet jegliche Verbindung, die sowohl eine Aminogruppe als auch eine Carbon-säuregruppe enthält, und schließt pharmazeutisch verträgliche Salze davon ein. Obwohl die Aminogruppe am häufigsten an der an die Carboxyfunktion angrenzenden Position vorkommt, kann die Aminogruppe an jegli-cher Stelle innerhalb des Moleküls positioniert sein. Die Aminosäure kann auch zusätzliche funktionelle Grup-pen enthalten, wie z.B. Amino, Thio, Carboxyl, Carbamid, Imidazol etc. Die Aminosäuren können synthetisch oder natürlich vorkommen und können entweder in ihren racemischen oder optisch aktiven (D- oder L-)-For-men verwendet werden, beispielsweise als ein einzelnes optisch aktives Enantiomer oder als jegliche Kombi-nation oder jegliches Verhältnis von Enantiomeren.

[0044] Ein „Dispersionsmittel“ bezeichnet einen Bestandteil der hier beschriebenen einatembaren IL-4R-Pul-verzusammensetzungen, der, wenn er in 0,01 bis 99 Gewichtsprozent der Zusammensetzung vorliegt, vor-zugsweise von 0,01 bis 70 Gewichtsprozent, wirksam ist, die Dispergierbarkeit der einatembaren IL-4R-Pul-verzusammensetzungen (bestimmt durch Bestimmung der abgegebenen Dosis) um mindestens 10% zu stei-gern, bei Vergleich mit der Dispergierbarkeit der einatembaren IL-4R-Zusammensetzung ohne das Dispersi-onsmittel.

[0045] „Pulmonale Lungenbioverfügbarkeit“ oder „relative Bioverfügbarkeit“ ist der Prozentsatz der verab-reichten IL-4R-Dosis, der in den Lungen abgelagert worden ist und der resorbiert wird und im systemischen Kreislauf eines Säugers verfügbar wird, gegenüber dem Prozentsatz, die aus einer intramuskulären oder sub-kutanen Injektionsstelle in das Blut resorbiert werden. Repräsentative Modellsysteme zur Bestimmung der Lun-genbioverfügbarkeiten schließen Ratte, Kaninchen und Affe ein. Pulmonale Lungenbioverfügbarkeiten können auf direkter intratrachealer Verabreichung oder auf Verabreichung durch Inhalation einer einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzung, wie hier beschrieben, basieren.

[0046] „Schüttdichte“ bezeichnet die Dichte eines Pulvers vor Verdichtung (d.h. die Dichte eines unverpress-ten Pulvers) und wird typischerweise mit einem bekannten USP-Verfahren gemessen.

[0047] „Im Wesentlichen unverändert“, wie in Bezug auf Monomergehalt oder Aggregatanteil einer erfin-dungsgemäßen IL-4R-Pulverzusammensetzung verwendet, bezeichnet eine Zusammensetzung, die eine Ver-änderung von nicht mehr als etwa 2% in entweder dem Monomergehalt oder dem Aggregatanteil zeigt, bei Ver-gleich mit denen der korrespondierenden Lösung oder Suspension vor Sprühtrocknung.

[0048] Eine „minimale Zunahme“ bezeichnet bei Verwendung in Bezug auf den IL-4R-Aggregatanteil in einem sprühgetrockneten IL-4R-Pulver eine Zunahme des Anteils der Aggregate von nicht mehr als etwa 10% im Ver-gleich zu dem Anteil der Aggregate in der korrespondierenden Lösung oder Suspension vor Sprühtrocknung.

[0049] Eine „minimale Veränderung“ bezeichnet bei Verwendung in Bezug auf den IL-4R-Monomergehalt in einem sprühgetrockneten IL-4R-Pulver eine Veränderung (d.h. Abnahme) des Monomergehalts von nicht mehr als etwa 10% im Vergleich zu dem Anteil des IL-4R-Monomers in der korrespondierenden Lösung oder Sus-pension vor Sprühtrocknung.

[0050] „Feuchte Bedingung“ bezeichnet eine Umgebung mit einer relativen Feuchtigkeit größer als 30% rela-tive Feuchtigkeit (RF). Eine besonders feuchte Umgebung ist eine Umgebung, die eine relative Feuchtigkeit von größer als etwa 60% RF aufweist, mit hohen Feuchtigkeiten im Bereich von etwa 70% bis 75% RF oder größer.

B. Bestandteile der einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzung

[0051] Die vorliegende Erfindung stellt hoch dispergierbare, einatembare Pulverzusammensetzungen bereit, welche IL-4R zur pulmonalen Abgabe enthalten. Die hier beschriebenen Pulverzusammensetzungen überwinden viele der Probleme, denen man bisher beim Verabreichen peptidischer Wirkstoffe auf systemischen Wegen oft begegnete, insbesondere die mit lösungsbasierten Formulierungen mit IL-4R verbundenen Probleme. Beispiele für derartige Probleme schließen verlängerte Antwortzeit (z.B. die Zeit zwischen Verabreichung und Beginn der physiologischen Antwort), niedrige systemische Resorption und verhältnismäßig niedrige Konzentrationen in Geweben und Absonderungen, die Unfähigkeit, annehmbare Serumspiegel aufrechtzuerhalten, und die Instabilität der Peptide, und Cytokine im Besonderen, in Lösung ein.

[0052] Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen sind besonders wirksam zur Behandlung von allergischen Erkrankungen und Leiden, wie z.B. Asthma und atopische Dermatitis. Überdies sind die hier beschriebenen Zusammensetzungen, die sprühgetrocknetes IL-4R-Pulver enthalten, überraschend stabil (d.h., zeigen minimale chemische und physikalische Zersetzung bei Herstellung und Lagerung, sogar unter extremen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen). Das heißt, die hier bereitgestellten Pulver sind überraschend robust, sogar in Abwesenheit von stabilisierenden oder die Dispergierbarkeit erhöhenden Exzipienten. Die erfindungsgemäßen IL-4R-Pulver (i) werden mit Aerosol-Abgabegeräten leicht dispergiert (d.h., zeigen gute Aerosolleistung), (ii) zeigen überraschend gute physikalische und chemische Stabilität während der Pulverherstellung und -verarbeitung und bei Lagerung und (iii) werden reproduzierbar hergestellt (Beispiele 1–5).

[0053] Die erfindungsgemäßen, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen enthalten IL-4R und gegebenenfalls, aber nicht unbedingt, einen pharmazeutisch verträglichen Exzipienten. Die Bestandteile der erfindungsgemäßen, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen werden nun beschrieben.

[0054] IL-4R zur Verwendung in der Erfindung ist generell folgendermaßen gekennzeichnet. Endogener, vollentwickelter Interleukin-4-Rezeptor wird als ein 140 kDa-Membranglykoprotein, das IL-4 mit hoher Affinität bindet, exprimiert (Idzerda, R.L. et al., 1990, J. Exp. Med., 171 (3), 861-873; Jacobs, C.A. et al., 1991, Blood, 77(11): 2396-2403). Die extrazelluläre Domäne des humanen IL-4R, in CHO-Zellen in serumhaltigen Medien geklont und gebildet, ist ein stark glykosiliertes (N-gebunden) und sialyliertes Protein, das ein nicht-glykosiliertes Molekulargewicht von 23,9 kDa aufweist und 209 Aminosäurereste enthält. Die extrazelluläre Domäne IL-4R ist zwischen den Resten 24 und 234 des vollentwickelten Interleukin-4-Rezeptors lokalisiert. Massenspektrometrische Daten zeigen, dass das Molekulargewicht des Proteins etwa 37 kDa beträgt, was eine mindestens 35%ige Glykosylierung nahe legt. Bei SDS-PAGE-Analyse eluiert das Protein als eine 54 kDa-Bande. Der pI von IL-4R beträgt 3,36 bis 5,18, wie mit isoelektrischer Fokussierung bestimmt. Die Entfaltungs-Übergangstemperatur, wie mit DSC bestimmt, beträgt 57,8°C und der Entfaltungsprozess ist hochreversibel.

[0055] IL-4R zur Verwendung in den hier beschriebenen Zusammensetzungen kann aus einer kommerziellen Quelle erworben werden oder kann rekombinant hergestellt werden, beispielsweise mit einem Verfahren, das im U.S.-Pat. Nr. 5,767,065 und von Armitage et al. in Adv. Exp. Med. Biol. 1991; 292: 121-30, beschrieben wird. Der IL-4R kann neutral sein (d.h. ungeladen) oder in Form eines pharmazeutisch verträglichen Salzes vorliegen, beispielsweise ein Säureadditionssalz, wie z.B. ein Acetat, Maleat, Tartrat, Methansulfonat, Benzolsulfonat, Toluolsulfonat, etc., oder ein Salz mit einer anorganischen Säure, wie z.B. ein Hydrochlorid, Hydrobromid, Sulfat, Phosphat, etc. Kationensalze können auch eingesetzt werden, wie z.B. Salze mit Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, oder Ammoniumsalze.

[0056] Die Menge des innerhalb der einatembaren Pulverzusammensetzungen enthaltenen IL-4R wird die Menge sein, die notwendig ist, um eine therapeutisch wirksame Menge (d.h. Menge, die erforderlich ist, um die therapeutische Wirkung zu entfalten) von IL-4R pro Einheitsdosis im Verlauf eines täglichen Dosierschemas pulmonal abzugeben. In der Praxis wird dieses je nach dem speziellen IL-4R (z.B. natürlich vs. synthetisch, volle Größe vs. Bruchstück, und seiner korrespondierenden Bioaktivität), der Patientenpopulation und den Abgabeanforderungen variieren. Aufgrund der hochdispergierbaren Beschaffenheit der erfindungsgemäßen, einatembaren Pulver werden Verluste in dem Inhalationsgerät minimiert, was bedeutet, dass tatsächlich mehr von der Pulverdosis an den Patienten abgegeben wird. Das wiederum korreliert mit einer niedrigeren erforderlichen Dosierung, um das gewünschte therapeutische Ziel zu erreichen.

[0057] Im Allgemeinen wird die in den einatembaren Pulverzusammensetzungen enthaltene Gesamtmenge von IL-4R im Bereich von 1 bis 100% des Gesamtgewichts der einatembaren Pulverzusammensetzung liegen, vorzugsweise von 5 bis 98%, stärker bevorzugt von 10 bis 95%, noch stärker bevorzugt von etwa 45 bis 95 Gew.-% bis etwa 50% bis etwa 90%. Eine bevorzugte Trockenpulverzusammensetzung wird von etwa 40% bis

80% IL-4R enthalten (Gew.-% der Zusammensetzung) und wird noch stärker bevorzugt von etwa 0,2 bis 99 Gew.-% IL-4R enthalten.

[0058] Die erforderliche wirksame Menge von IL-4R wird von einem Patienten zum nächsten variieren und von einem Therapieschema zum nächsten. Die Menge und Häufigkeit der Verabreichung wird natürlich von derartigen Faktoren wie der Beschaffenheit und Schwere der behandelten Indikation, der gewünschten Antwort, der Patientenpopulation, dem Zustand des Patienten und so fort abhängen.

[0059] Die allgemein übliche Dosierung, die für parenteral verabreichtes sIL-4R zum Auslösen einer biologischen Wirkung geeignet ist, liegt im Bereich von etwa 1 ng/kg/Tag bis etwa 10 mg/kg/Tag, stärker bevorzugt von etwa 5 µg/kg/Tag bis etwa 2 mg/kg/Tag. Derartige parenterale Formulierungen mit IL-4R werden in den U.S.-Pat. Nrn. 5,856,296 und 6,063,371, vorstehend diskutiert, diskutiert. Da jedoch pulmonale Abgabe häufig effizienter ist als parenterale Abgabe, können die erforderlichen Dosierungen variieren, und können tatsächlich geringfügig geringer sein als jene in parenteralen Formulierungen genutzten. Die Gabe von IL-4R, insbesondere zur Behandlung von allergischen Erkrankungen, wie z.B. Asthma, erfolgt typischerweise wöchentlich. Die wöchentliche Dosierung eines IL-4R-Pulvers durch Inhalation kann im Bereich von etwa 0,1 bis 10 mg liegen, stärker bevorzugt zwischen 0,5–5 mg, noch stärker bevorzugt zwischen 1–2 mg. Genaue Dosierungen werden von verschiedenen Faktoren, wie z.B. der Konzentration von IL-4R in dem sprühgetrockneten Pulver, abhängen. Gewünschte Dosierungen werden typischerweise in 1 bis 10 Atemzügen oder 2 bis 6 Atemzügen erreicht, stärker bevorzugt in 1–4 Atemzügen, je nach der genauen eingesetzten Einheitsdosierungs-Arzneiform.

[0060] Die Effizienz der systemischen IL-4R-Abgabe über das hier beschriebene Verfahren, d.h. der Prozentsatz der verabreichten Dosis, der den Blutstrom erreicht (z.B. die pulmonale Lungen-Bioverfügbarkeit), aus einer festen Inhalations-Darreichungsform wird typischerweise mindestens etwa 1% betragen, stärker bevorzugt mindestens etwa 2%, typischerweise mindestens etwa 3–5%. In einer stärker bevorzugten Ausführungsform beträgt die Effizienz der systemischen Abgabe in den Blutstrom aus der Lunge mindestens etwa 15% bis 30%.

C. Exzipienten und Zusatzstoffe

[0061] Die erfindungsgemäßen, einatembaren Pulverzusammensetzungen können „unverdünnt“, d.h. ohne pharmazeutische Exzipienten oder Zusatzstoffe, formuliert werden. Diese Feststellung war besonders überraschend angesichts der Neigung der Cytokine, wie z.B. IL-4R, zu sowohl Zersetzung als auch Aggregation. In einer spezifischen Ausführungsform der Erfindung ist die einatembare Zusammensetzung eine „unverdünnte“ Trockenpulverformulierung. In einer anderen Ausführungsform liegt die Trockenpulverformulierung ohne spezielle Exzipienten und Zusatzstoffe, wie z.B. Penetrationsverstärker, vor.

[0062] In einer anderen Ausführungsform können die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen IL-4R zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch verträglichen Exzipienten oder Zusatzstoffen, die zur respiratorischen und pulmonalen Verabreichung geeignet sind, enthalten. Derartige Exzipienten, falls vorhanden, liegen generell in der Pulverzusammensetzung in Mengen im Bereich von etwa 0,01% bis etwa 99% Gewichtsprozent vor, vorzugsweise von etwa 0,1% bis etwa 95%, stärker bevorzugt von etwa 0,5% bis etwa 80%, noch stärker bevorzugt von etwa 1% bis etwa 50–60%. Beispiele für Exzipient-haltige einatembare IL-4R-Zusammensetzungen werden in Beispiel 1 beschrieben. Interessanterweise beeinflusste in den in den Beispielen beschriebenen beispielhaften Zusammensetzungen die Gegenwart oder Abwesenheit eines oder mehrerer Exzipienten die chemische oder physikalische Stabilität der erfindungsgemäßen, sprühgetrockneten Pulver nicht wesentlich, weder während der Herstellung noch der Lagerung.

[0063] Jedoch werden bevorzugte Exzipienten zum Teil dazu dienen, eines oder mehrere der Folgenden zu verbessern: die Aerosoleigenschaften der Zusammensetzung, ihre chemische Stabilität, ihre physikalische Stabilität und/oder Lagerungsstabilität. Bevorzugte Exzipienten können auch dazu dienen, effizientere und reproduzierbarere Abgabe des IL-4R durch einen Trockenpulver-Inhalator bereitzustellen und zusätzlich die Handhabungs-Eigenschaften der IL-4R-Pulverzusammensetzung (z.B. Fließfähigkeit und Konsistenz) zu verbessern, um die Herstellung und Pulverabfüllung zu erleichtern.

[0064] Im Besonderen können die Exzipientmaterialien oft dazu dienen, die physikalische und chemische Stabilität der einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzung oder der darin enthaltenen Wirkstoffe zu verbessern. Beispielsweise kann der Exzipient den Feuchtigkeits-Restgehalt minimieren und die Feuchtigkeitsaufnahme aufhalten und/oder die Teilchengröße, den Aggregationsgrad, die Oberflächeneigenschaften (d.h. Rugosität), die Leichtigkeit der Inhalation und das Zielen der resultierenden Teilchen auf die Lunge verbessern. Der/die Exzipient(en) können auch bloß als Füllstoffe zur Verringerung der Wirkstoffkonzentration in der Tro-

ckenpulverzusammensetzung dienen.

[0065] In der vorliegenden Zusammensetzung verwendbare pharmazeutische Exzipienten und Zusatzstoffe schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf Proteine (d.h. große Moleküle, zusammengesetzt aus einer oder mehreren Aminosäureketten in einer spezifischen Reihenfolge), Oligopeptide (d.h. kurze, über Peptidbindungen verbundene Aminosäureketten), Peptide (d.h. eine Klasse von Molekülen, die in Aminosäuren hydrolysierten), Aminosäuren, Lipide (d.h. fettartige, wachsartige oder ölige Verbindungen, typischerweise in Wasser unlöslich aber in organischen Lösungsmitteln löslich, die Kohlenstoff Wasserstoff und, in einem geringeren Ausmaß, Sauerstoff enthalten), Polymere (d.h. große Moleküle, gebildet durch die Kombination von vielen ähnlichen, kleineren Molekülen) und Kohlenhydrate (z.B. Zucker, einschließlich Monosaccharide, Di-, Tri-, Tetra- und Oligosaccharide; derivatisierte Zucker, wie z.B. Alditole, Aldonsäuren, veresterte Zucker und dergleichen; und Polysaccharide oder Zuckerpolymeren), die einzeln oder zusammen vorhanden sein können. Geeignete Exzipienten schließen diejenigen ein, die in der internationalen Veröffentlichung, Nr. WO 96/32096, Inhale Therapeutic Systems, Inc. zugeordnet, bereitgestellt werden.

[0066] Bevorzugte Exzipienten schließen Zuckeralkohole, Lipide, DPPC, DSPC, Calcium/Magnesium und hydrophobe Exzipienten, wie z.B. hydrophobe Aminosäuren und hydrophobe Zucker, ein. Besonders bevorzugte Exzipienten schließen Zinksalze, Leucin, Citrat und Zucker, wie z.B. Raffinose, ein.

[0067] Für partikuläre Formulierungen sind bevorzugte Exzipienten diejenigen, die Glasübergangstemperaturen (T_g) über etwa 35°C aufweisen, vorzugsweise über etwa 45°C, stärker bevorzugt über etwa 55°C.

[0068] Typische Polypeptid- und Protein-Exzipienten schließen Serumalbumin, wie z.B. Humanserumalbumin (HSA), rekombinantes Humanalbumin (rHA), Gelatine, Casein, Hämoglobin und dergleichen ein. Besonders bevorzugt sind die Dispergierbarkeit erhöhende Polypeptide, z.B. HSA, wie in der internationalen Veröffentlichung, Nr. WO 96/32096, Inhale Therapeutic Systems, Inc. zugeordnet, beschrieben.

[0069] Repräsentative Aminosäure/Polypeptid-Bestandteile, die auch in Bezug auf eine Pufferkapazität funktionieren können, schließen Alanin, Glycin, Arginin, Betain, Histidin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Cystein, Lysin, Leucin, Isoleucin, Valin, Methionin, Phenylalanin, Aspartam, Tyrosin, Tryptophan und dergleichen ein. Bevorzugt sind Aminosäuren und Peptide, die als Dispersionsmittel dienen. Aminosäuren, die in diese Kategorie fallen, schließen hydrophobe Aminosäuren, wie z.B. Leucin (leu), Valin (val), Isoleucin (isoleu), Tryptophan (try), Alanin (ala), Methionin (met), Phenylalanin (phe), Tyrosin (tyr), Histidin (his) und Prolin (pro) ein. Eine besonders bevorzugte Aminosäure ist die Aminosäure Leucin. Leucin schließt, bei Verwendung in den hier beschriebenen Formulierungen, D-Leucin, L-Leucin und racemisches Leucin ein. Dispergierbarkeit erhöhende Peptide zur Verwendung in der Erfindung schließen Dimere, Trimere, Tetramere und Pentamere ein, welche aus hydrophoben Aminosäurebestandteilen, wie z.B. jenen vorstehend beschriebenen, zusammengesetzt sind. Beispiele schließen ein Di-Leucin, Di-Valin, Di-Isoleucin, Di-Tryptophan, Di-Alanin und dergleichen, Tri-Leucin, Tri-Valin, Tri-Isoleucin, Tri-Tryptophan etc.; gemischte Di- und Tripeptide, wie z.B. leu-val, isoleu-leu, try-ala, leu-try, etc. und leu-val-leu, val-isoleu-try, ala-leu-val und dergleichen, und homo-Tetramere oder Pentamere, wie z.B. Tetra-Alanin und Penta-Alanin. Besonders bevorzugte oligopeptidische Exzipienten sind Dimere und Trimere, die aus zwei oder mehr Leucinresten zusammengesetzt sind, wie in der internationalen Patentanmeldung PCT/US00/09785 von Inhale Therapeutic Systems Inc. mit dem Titel „Dry Powder Compositions Having Improved Dispersibility“ beschrieben. Unter diesen sind Dileucin und Trileucin besonders bevorzugt.

[0070] Ein anderes bevorzugtes Merkmal eines Exzipienten zur Verwendung in der Erfindung ist die Oberflächenaktivität. Oberflächenaktive Exzipienten, die auch als Dispersionsmittel dienen können, wie z.B. hydrophobe Aminosäuren (z.B. leu, val, isoleu, phe, etc.), Di- und Tripeptide, Polyaminosäuren (z.B. Polyglutaminsäure) und Proteine (z.B. HSA, rHA, Hämoglobin, Gelatine) sind besonders bevorzugt, da aufgrund ihrer oberflächenaktiven Beschaffenheit diese Exzipienten dazu neigen, sich an der Oberfläche der Teilchen der einatembaren IL-4R-Zusammensetzung zu konzentrieren, was die resultierenden Teilchen in ihrer Beschaffenheit hochdispergierbar macht. Andere typische oberflächenaktive Mittel, die in den hier beschriebenen einatembaren IL-4R-Zusammensetzungen enthalten sein können, schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf Polysorbate, Lecithin, Ölsäure, Benzalkoniumchlorid und Sorbitanester.

[0071] Zur Verwendung in der Erfindung geeignete Kohlenhydrat-Exzipienten schließen beispielsweise Monosaccharide, wie z.B. Fruktose, Maltose, Galaktose, Glucose, d-Mannose, Sorbose und dergleichen; Disaccharide, wie z.B. Raffinose, Melicitose, Maltodextrine, Dextrane, Stärken und dergleichen; und Alditole, wie z.B. Mannit, Xylit, Maltit, Lactit, Xylit, Sorbit (Glucit), Myoinosit und dergleichen ein.

[0072] Die einatembaren IL-4R-Zusammensetzungen können auch einen Puffer oder ein Mittel zum Einstellen des pH-Wertes beinhalten; typischerweise ist der Puffer ein aus einer organischen Säure oder Base hergestelltes Salz. Repräsentative Puffer schließen Salze mit organischen Säuren, wie z.B. Salze der Citronensäure, Ascorbinsäure, Gluconsäure, Kohlensäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure oder Phthalsäure, Tris, Tromethaminhydrochlorid oder einen Phosphatpuffer ein.

[0073] Zusätzlich kann die erfindungsgemäße, einatembare IL-4R-Zusammensetzung polymere Exzipienten/Zusatzstoffe, wie z.B. Polyvinylpyrrolidone, derivatisierte Cellulosen, wie z.B. Hydroxypropylmethylcellulose, Ficcole (ein polymerer Zucker), Hydroxyethylstärke, Dextrate (z.B. Cyclodextrine, wie z.B. 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin und Sulfobutylether- β -cyclodextrin), Polyethylenglykole, Pektin, Geschmackstoffe, Salze (z.B. Natriumchlorid), antimikrobielle Wirkstoffe, Süßungsmittel, Antioxidantien, Antistatika, oberflächenaktive Mittel (z.B. Polysorbate, wie z.B. „TWEEN 20“ und „TWEEN 80“), Lecithin, Ölsäure, Benzalkoniumchlorid, Sorbitanester, Lipide (z.B. Phospholipide, Fettsäuren), Steroide (z.B. Cholesterol) und chelatisierende Mittel (z.B. EDTA) beinhalten. Für Zusammensetzungen, die einen polymeren Bestandteil enthalten, ist das Polymer typischerweise; bis zu einem begrenzten Ausmaß in der Zusammensetzung vorhanden, d.h. in Anteilen von weniger als etwa 10 Gew.-%. Bevorzugte erfindungsgemäße Zusammensetzungen sind diejenigen, in denen der IL-4R vorzugsweise nicht-liposomal oder polymer verkapselt ist, oder nicht-überzogen (d.h. ohne eine abgegrenzte Überzugsschicht). Bevorzugte IL-4R-Zusammensetzungen, wie z.B. jene hier beispielhaft dargestellten, sind schnellwirkende Formulierungen, d.h. eher für schnelle Anwendungen als für Anwendungen mit verlängerter Freisetzung gestaltet.

[0074] Andere zur Verwendung in den erfindungsgemäßen, einatembaren IL-4R-Zusammensetzungen geeignete pharmazeutische Exzipienten und/oder Zusatzstoffe sind in „Remington: the Science & Practice of Pharmacy“, 19. Aufl., Williams & Williams, (1995), in „Physician's Desk Reference“, 52. Aufl., Medical Economics, Montvale, NJ (1998) und in „The Handbook of Pharmaceutical Excipients“, 3. Auflage, A.H. Kibbe, Hrsg., American Pharmaceutical Association, Pharmaceutical Press, 2000, aufgeführt.

[0075] Gemäß der Erfindung kann die einatembare IL-4R-Pulverzusammensetzung ein Trockenpulver sein, wobei das Trockenpulver kristallin, ein amorphes Glas oder ein Gemisch aus beiden Formen ist. Für Formulierungen, die ein oberflächenaktives Mittel enthalten, wird das oberflächenaktive Material (entweder in kristalliner oder amorpher Form) typischerweise auf der Oberfläche der Teilchen in einer höheren Konzentration vorhanden sein als in dem Schüttpulver.

D. Herstellung der einatembaren IL-4R-Zusammensetzungen

[0076] Einatembare IL-4R-Pulverzusammensetzungen, wie z.B. Trockenpulverformulierungen werden vorzugsweise durch Sprühtrocknen hergestellt. Das Sprühtrocknen der Formulierungen wird beispielsweise ausgeführt, wie generell in dem „Spray-drying Handbook“, 5. Aufl., K. Masters, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1991), in Platz, R., et al., Internationale Patentveröffentlichungen, Nrn. WO 97/41833 (1997) und WO 96/32149 (1996), beschrieben.

[0077] Um eine IL-4R-Lösung zum Sprühtrocknen herzustellen, wird IL-4R (und jegliche anderen Exzipienten) generell in Wasser gelöst, welches gegebenenfalls einen physiologisch verträglichen Puffer enthält. Der pH-Wert-Bereich der Lösung liegt generell zwischen etwa 3 und 10, wobei nahe neutrale pH-Werte bevorzugt sind, da derartige pH-Werte das Beibehalten der physiologischen Kompatibilität des Pulvers nach Auflösung des Pulvers innerhalb der Lunge unterstützen können. Die wässrige Formulierung kann gegebenenfalls zusätzliche wassermischbare Lösungsmittel, wie z.B. Aceton, Alkohole und dergleichen, enthalten. Repräsentative Alkohole sind niedere Alkohole, wie z.B. Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol und dergleichen. Die Lösungen werden generell IL-4R, gelöst mit einer Konzentration von 0,01% (Gewicht/Volumen) bis etwa 20% (Gewicht/Volumen), vorzugsweise von 0,1% bis 10% (Gewicht/Volumen), stärker bevorzugt 1% bis 3% (Gewicht/Volumen), enthalten. In einer anderen Ausführungsform können die Bestandteile der IL-4R-Formulierung unter Verwendung eines organischen Lösungsmittels oder Co-Lösungsmittelsystems sprühgetrocknet werden, wobei ein oder mehrere Lösungsmittel, wie z.B. Aceton, Alkohole (z.B. Methanol und Ethanol), Ether, Aldehyde, Kohlenwasserstoffe, Ketone und polare aprotische Lösungsmittel, eingesetzt werden.

[0078] Die IL-4R-haltigen Lösungen werden dann in einem herkömmlichen Sprühtrockner, wie z.B. jenen von kommerziellen Lieferanten, wie z.B. Niro A/S (Dänemark), Büchi (Schweiz) und dergleichen, erhältlich, sprühgetrocknet, was zu einer dispergierbaren, einatembaren IL-4R-Zusammensetzung, vorzugsweise in Form eines einatembaren Trockenpulvers, führt. Die optimalen Bedingungen zum Sprühtrocknen der Wirkstofflösungen werden je nach den Formulierungsbestandteilen variieren und werden generell experimentell bestimmt.

Das zum Sprühtrocknen des Materials verwendete Gas ist typischerweise Luft, obwohl inerte Gase, wie z.B. Stickstoff oder Argon, auch geeignet sind. Überdies sind sowohl die Einlass- als auch die Auslasstemperatur des Gases, das verwendet wird, um das versprühte Material zu trocknen, derart, dass sie keine Zersetzung des IL-4R in dem versprühten Material bewirken. Derartige Temperaturen werden typischerweise experimentell bestimmt, obwohl generell die Einlasstemperatur im Bereich von etwa 50°C bis etwa 200°C liegen wird, während die Auslasstemperatur im Bereich von etwa 30°C bis etwa 150°C liegen wird.

[0079] Die Herstellung der einatembaren, trockenen IL-4R-Pulverzusammensetzungen unter einer Vielzahl verschiedener Verfahrensparametern der Sprühtrocknung wird in Beispielen 1 und 2 beschrieben. Überraschenderweise führen die Scherkräfte, die durch die Zerstäubung der Lösung während des Sprühtrocknens hervorgerufen werden, nicht zu Hydrolyse oder Aggregation des IL-4R. Wie hier beschrieben, können hochdispersierbare Trockenpulver, die gute physikalische und chemische Stabilität und gute aerodynamische Eigenschaften aufweisen, reproduzierbar und unter vielen verschiedenen Verfahrensbedingungen hergestellt werden.

[0080] In manchen Fällen kann es wünschenswert sein, die einatembare IL-4R-Trockenpulverformulierung in einer Form bereitzustellen, welche verbesserte Handhabungs/Verarbeitungs-Eigenschaften, z.B. verringerte Statik, bessere Fließfähigkeit, geringes Zusammenbacken und dergleichen, besitzt, indem Zusammensetzungen hergestellt werden, die aus Aggregaten aus feinen Teilchen, das heißt Aggregate oder Agglomerate des vorstehend beschriebenen einatembaren IL-4R, zusammengesetzt sind. Trockenpulverteilchen, wobei die Aggregate für die pulmonale Abgabe leicht wieder zu den feinen Pulverbestandteilen zerbrochen werden, wie z.B. in Johnson, K., et al. „U.S.-Patent Nr. 5,654,007, 1997, beschrieben. In einer anderen Ausführungsform können die einatembaren IL-4R-Pulver hergestellt werden durch Agglomeration der Pulverbestandteile, Sieben der Materialien, um die Agglomerate zu erhalten, Sphäronisieren, um ein kugelförmigeres Agglomerat bereitzustellen, und Klassieren, um ein Produkt mit einheitlicher Größe zu erhalten, wie z.B. in Ahlneck, C., et al., internationale PCT-Veröffentlichung Nr. WO 95/09616 (1995) beschrieben.

[0081] Die einatembaren IL-4R-Trockenpulver werden während der Herstellung, Verarbeitung und Lagerung vorzugsweise unter trockenen Bedingungen (d.h. verhältnismäßig niedrige Feuchtigkeit) aufbewahrt. Unabhängig von dem eingesetzten Trocknungsverfahren wird das Verfahren vorzugsweise zu einatembaren, hochdispersierbaren Zusammensetzungen führen, die im Wesentlichen aus amorphen IL-4R-Teilchen zusammengesetzt sind.

E. Eigenschaften der einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen

[0082] Bestimmte physikalische Eigenschaften der sprühgetrockneten IL-4R-Pulverzusammensetzungen werden bevorzugt, um die Effizienz der aerosolisierten Abgabe von derartigen Zusammensetzungen an die Lunge zu maximieren.

[0083] Die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen sind aus Teilchen zusammengesetzt, die wirksam sind, um in die Lungen einzudringen. Die Passage der Teilchen in die Lungenphysiologie ist ein wichtiger Gesichtspunkt der vorliegenden Erfindung. Zu diesem Zweck weisen die erfindungsgemäßen Teilchen einen massemedianen Durchmesser (MMD) von weniger als etwa 10 µm, vorzugsweise weniger als 7,5 µm und stärker bevorzugt weniger als 5 µm, auf und liegen üblicherweise im Bereich von 0,1 µm bis 5 µm im Durchmesser. Bevorzugte Zusammensetzungen sind aus Teilchen zusammengesetzt, die einen MMD von etwa 0,5 bis 3,5 µm aufweisen. Beispiele für einatembare IL-4R-Pulverzusammensetzungen mit variierenden Konzentrationen an Wirkstoff(en) und/oder Exzipient werden in Beispiel 1 beschrieben. Die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen können auch nicht-einatembare Trägerteilchen, wie z.B. Lactose, enthalten, wobei die nicht-einatembaren Teilchen typischerweise größer sind als etwa 40 Mikrometer. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Trockenpulver nicht-liposomal oder nicht-lipid-haltig.

[0084] Die erfindungsgemäßen, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen werden weiterhin durch eine Aerosolteilchengrößeverteilung von weniger als etwa 10 µm massemedianem aerodynamischen Durchmesser (MMAD), vorzugsweise weniger als 5,0 µm und stärker bevorzugt weniger als 3,5 µm, gekennzeichnet. Die massemedianen aerodynamischen Durchmesser der Pulver werden charakteristischerweise im Bereich von etwa 0,5–10 µm, vorzugsweise von etwa 0,5–5, µm MMAD, stärker bevorzugt von etwa 1,0–4,0 µm MMAD und noch stärker bevorzugt von etwa 1,5 bis 3,5 µm, liegen.

[0085] Die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen, insbesondere die einatembaren Trockenpulverzusammensetzungen, weisen generell einen Feuchtigkeitsgehalt unter etwa 10 Gew.-%, üblicherweise unter

etwa 5 Gew.-% und vorzugsweise unter etwa 3 Gew.-% auf. Derartige Feststoffe mit geringem Feuchtigkeitsgehalt neigen dazu, bei Verpackung und Lagerung eine größere Stabilität zu zeigen.

[0086] Die Trockenpulver weisen vorzugsweise eine Schüttdichte im Bereich von etwa 0,1–10 g/cm³, vorzugsweise von etwa 0,25–4 g/cm³, stärker bevorzugt von etwa 0,5–2 g/cc und am meisten bevorzugt von etwa 0,7–1,4 g/cm³, auf.

[0087] Die abgegebene Dosis (ED) von diesen Pulvern ist größer als 30% und üblicherweise größer als 40%. Stärker bevorzugt ist die ED der erfindungsgemäßen Pulver größer als 50% und ist oft größer als 55%.

[0088] Ein zusätzliches Maß zur Charakterisierung der gesamten Aerosolleistung eines Trockenpulvers ist die Feinteilchen-Dosis (FPD) oder Feinteilchen-Fraktion (FPF), die den Massenprozentsatz des Pulvers, der einen aerodynamischen Durchmesser von weniger als 3,3 Mikrometer aufweist, beschreibt. Trockenpulver mit einem FPF-Wert größer als 40%, stärker bevorzugt größer als 50%, noch stärker bevorzugt größer als 60%, sind besonders gut für die pulmonale Abgabe geeignet. Pulver, die mindestens fünfzig Prozent an Aerosolteilchen enthalten, die in der Größe zwischen 0,5 und 3,5 µm liegen, sind bei Abgabe in aerosolierter Form äußerst wirksam beim Erreichen der Lungenbereiche, einschließlich der Alveolen.

[0089] Die erfindungsgemäßen, sprühgetrockneten, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen sind weiterhin dadurch gekennzeichnet, dass sie einen im Wesentlichen unveränderten Monomergehalt aufweisen gegenüber dem ihrer Lösung oder Suspension vor Sprühtrocknung. Mit anderen Worten löst das Sprühtrocknungsverfahren keine Bildung von Dimeren oder anderen Aggregaten aus, wodurch der Monomerprozentsatz in der Zusammensetzung beeinflusst würde. Das heißt, die Veränderung im Monomergehalt zwischen sprühgetrocknetem Pulver und Lösung oder Suspension vor Sprühtrocknung ist „im Wesentlichen unverändert“, z.B. ist der Prozentsatz des Monomergehalts des sprühgetrockneten Pulvers gegenüber dem der Lösung oder Suspension vor Sprühtrocknung vorzugsweise nicht mehr als etwa 15%, stärker bevorzugt nicht mehr als etwa 10%, stärker bevorzugt nicht mehr als etwa 7%, noch stärker bevorzugt etwa 5% oder weniger, wie durch die repräsentativen, in den Beispielen beschriebenen, IL-4-Pulver beispielhaft dargestellt.

[0090] Die erfindungsgemäßen, sprühgetrockneten, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen sind „lagerstabil“, d.h. gekennzeichnet durch minimale Bildung von unlöslichen Aggregaten und/oder eine minimale Abnahme des Monomergehalts bei Lagerung über ausgedehnte Zeiträume bei extremen Temperaturen („temperaturstabil“) und Feuchtigkeiten („feuchtigkeitsstabil“). Beispielsweise erfahren die erfindungsgemäßen, sprühgetrockneten, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen minimale Aggregatbildung und minimale Abnahme des Monomergehalts nach Lagerung über einen Zeitraum (z.B. zwei Wochen oder mehr) bei einer Temperatur im Bereich von etwa 2°C bis etwa 50°C, vorzugsweise etwa 25°C, und/oder einer relativen Feuchtigkeit im Bereich von 0% bis etwa 75%, vorzugsweise etwa 33% RF. Speziell bilden die gelagerten erfindungsgemäßen, sprühgetrockneten, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen vorzugsweise weniger als etwa 15% unlösliche Aggregate (gegenüber den Lösungen oder Suspensionen vor Sprühtrocknung), stärker bevorzugt weniger als etwa 10% unlösliche Aggregate, stärker bevorzugt weniger als etwa 7% unlösliche Aggregate, noch stärker bevorzugt etwa 5% oder weniger unlösliche Aggregate. In einer anderen Ausführungsform erfahren die gelagerten erfindungsgemäßen, sprühgetrockneten, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen vorzugsweise eine Abnahme des Monomergehalts, die nicht größer ist als etwa 20%, vorzugsweise nicht größer als etwa 10%, stärker bevorzugt nicht größer als etwa 7%, noch stärker bevorzugt etwa 5% oder weniger.

[0091] Es ist wichtig, die Unterschiede zwischen einatembaren pulverbasierten Formulierungen und vernebelten Formulierungen zu beachten. Trotz der Tatsache, dass vernebelte Formulierungen von manchen insofern als „inhalierbar“ betrachtet werden, dass sie durch den Mund und in die Lungen eingeatmet werden, sind sie nicht „einatembare“, wie hier definiert. Beispielsweise können vernebelte Formulierungen typischerweise nicht die Gewebe des tiefen Lungenbereichs erreichen und durch die Epithelzellen darin in den Blutkreislauf resorbiert werden. Überdies sind vernebelte Formulierungen lösungsbasiert, d.h. werden in Lösung statt in fester Form verabreicht.

[0092] Repräsentative einatembare IL-4R-Pulverzusammensetzungen für die pulmonale Abgabe werden in Beispielen 1–5 bereitgestellt.

F. Pulmonale Verabreichung der einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen

[0093] Die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen, insbesondere die hier beschriebenen Trocken-

pulverzusammensetzungen, werden vorzugsweise unter Verwendung eines geeigneten Trockenpulver-Inhalators (DPI), d.h. eines Inhaliergeräts, das den inhalierten Atem des Patienten als ein Vehikel nutzt, um das zuvor dispergierte (durch passive oder aktive Mittel) Trockenpulver in die Lungen zu transportieren, abgegeben. Bevorzugt sind Trockenpulver-Inhalationsgeräte von Inhale Therapeutic Systems, wie in Patton, J.S., et al., U.S.-Patent Nr. 5,458,135 (1995); Smith, A., et al., U.S.-Patent Nr. 5,740,794, (1998); Smith, A., et al., U.S.-Patent Nr. 5,785,049 (1998) und in der internationalen Patentanmeldung PCT 00/18084 beschrieben.

[0094] Bei Verabreichung unter Verwendung eines Geräts diesen Typs ist die einatembare IL-4R-Pulverzusammensetzung in einem Aufnahmegefäß enthalten, welches einen durchstoßbaren Deckel oder eine andere Zugangsoberfläche aufweist, vorzugsweise eine Blisterpackung oder Kartusche, wobei das Aufnahmegefäß eine einzelne Dosierungseinheit oder mehrfache Dosierungseinheiten enthalten kann. Eine große Anzahl von Vertiefungen werden praktischerweise mit abgemessenen Dosen des Trockenpulvermedikaments gefüllt, wie in Parks, D.J. et al., internationale Patentveröffentlichung WO 97/41031 (1997) beschrieben.

[0095] Auch zur Abgabe der hier beschriebenen einatembaren IL-4R-Pulverformulierungen geeignet sind Trockenpulver-Inhalatoren des Typs der beispielsweise in Cocozza, S., U.S.-Patent Nr. 3,906,950 (1974) und Cocozza, S., U.S.-Patent Nr. 4,013,075, (1977) beschrieben wird, wobei eine vorher abgemessene Dosis des Trockenpulvers zur Abgabe an ein Individuum innerhalb einer Hartgelatine kapsel enthalten ist.

[0096] Andere Trockenpulver-Dispensionsgeräte für die pulmonale Verabreichung von Trockenpulvern schließen diejenigen ein, die beispielsweise in Newell, R.E. et al., europäisches Patent Nr. EP 129 985 (1988); in Hodson, P.D. et al., europäisches Patent Nr. EP 472 598 (1996); in Cocozza, S., et al., europäisches Patent Nr. EP 467172 (1994) und in Lloyd, L.J. et al., U.S.-Patent Nr. 5,522,385 (1996) beschrieben werden. Auch zur Abgabe der erfindungsgemäßen IL-4R-Pulverzusammensetzungen geeignet sind Inhalationsgeräte, wie z.B. der Astra-Draco „TURBUHALER“. Dieser Gerätetyp wird in Virtanen, R., U.S.-Patent Nr. 4,668,218; in Wetterlin, K. et al., U.S.-Patent Nr. 4,667,668 (1987); und in Wetterlin K., et al., U.S.-Patent Nr. 4,805,811 (1989) in Einzelheiten beschrieben. Auch geeignet sind Geräte, die die Verwendung eines Kolbens einsetzen, um Luft für entweder das Mitreißen des pulverisierten Medikaments, Abheben des Medikaments von einem Trägersieb durch Durchleiten von Luft durch das Sieb oder Mischen der Luft mit dem Pulvermedikament in einer Mischkammer bereitzustellen, mit nachfolgender Einführung des Pulvers in den Patienten durch das Mundstück des Geräts, wie z.B. in Mulhauser, P., et al., U.S.-Patent Nr. 5,388,572 (1997) beschrieben.

[0097] Die inhalierbaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen können auch unter Verwendung eines unter Druck stehenden Metered-Dose-Inhalers (MDI) abgegeben werden, der eine Lösung oder Suspension des Arzneistoffs in einem pharmazeutisch inerten flüssigen Treibgas, z.B. ein Chlorfluorkohlenwasserstoff oder ein fluorierter Kohlenwasserstoff, enthält, wie in Laube, et al., U.S.-Patent Nr. 5,320,094 (1994) und in Rubsamen, R.M. et al., U.S.-Patent Nr. 5,672,581 (1994) beschrieben. Vor Gebrauch werden die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen generell in einem Aufnahmegefäß unter Umgebungsbedingungen gelagert und werden vorzugsweise bei Temperaturen bei oder unter etwa 25°C und relativen Feuchtigkeiten (RF) im Bereich von etwa 30 bis 60% gelagert. Stärker bevorzugte relative Feuchtigkeitsbedingungen, z.B. weniger als etwa 30%, können durch das Einbringen eines Trockenmittels in die Sekundärverpackung der Darreichungsform erreicht werden. Die erfindungsgemäßen, einatembaren Trockenpulver sind nicht nur durch gute Aerosolleistung gekennzeichnet, sondern ebenso durch gute Stabilität.

[0098] Bei Aerosolisierung zur direkten Abgabe in der Lunge werden die hier beschriebenen IL-4R-Pulverzusammensetzungen gute Lungen-Bioverfügbarkeiten zeigen.

G. Nutzen

[0099] Die erfindungsgemäßen, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen sind bei pulmonaler Anwendung besonders wirksam bei der Behandlung von allergischen Erkrankungen und Störungen, wie z.B. Asthma, Atopie, atopische Dermatitis und andere mit hohen Serumspiegeln an IgE und IgG₁ verbundenen Leiden.

[0100] Die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen können auch zum Behandeln oder Verhindern von allergischen, viralen, parasitären und bakteriellen Erkrankungen und Schimmelpilzinfektionserkrankungen verwendet werden, insbesondere bei Verabreichung zusammen mit γ -Interferon. (Siehe europäisches Patent Nr. EP 585 681 (1994)).

[0101] Die Erfindungs-Pulverzusammensetzungen dringen bei Inhalation in die Atemwege der Lungen ein,

kommen in den Blutkreislauf und erreichen wirksame systemische Abgabe. Überdies sind die pulmonal verabreichten Dosen des IL-4R-Pulvers typischerweise viel geringer als jene oral verabreichten, aufgrund des mit der Verdauung und Zersetzung für orale Darreichungsformen verbundenen Verlusts.

[0102] Die erfindungsgemäßen, einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen finden Anwendung als Ersatz oder Zusätze für gebräuchliche Asthmatherapien.

[0103] Die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen finden speziell Anwendung bei der physiologischen Regulierung der Serumspiegel von IL-4 und damit im Zusammenhang stehenden Immunglobulinen (z.B. IgE und IgG₁).

[0104] Die einatembaren IL-4R-Pulverzusammensetzungen finden weiterhin Gebrauch als Verstärker der biologischen Aktivität des Cytokins IL-4 und lassen dadurch Raum für die Verringerung der erforderlichen Cytokin-Dosierung und die Minimierung der damit verbundenen negativen Nebenwirkungen (Siehe U.S.-Pat. Nr. 6,063,371).

[0105] Die folgenden Beispiele veranschaulichen den Umfang der vorliegenden Erfindung, sollen ihn aber auf keinen Fall einschränken.

BEISPIELE

Materialien und Methoden

[0106] Die folgenden Materialien wurden in den nachstehenden Beispielen verwendet:

Materialien

L-Leucin (Aldrich, St. Louis, MO)

Salzsäure (J.T. Baker, Phillipsburg, N.J.)

Natriumhydroxid 0,1N-Titrierlösung (J.T. Baker, Phillipsburg, N.J.)

Ethanol, 200 proof (USP/NF, Spectrum Chemical Mfg. Corp., New Brunswick, N.J.)

Methanol (HPLC-rein, EM Industries, Gibbstown, N.J.)

Rekombinanter humaner IL-4R (rhIL-4R) (Immunex Corporation, Seattle, WA)

Männliche Sprague-Dawley-Ratten (Simonsen laboratories, Gilroy, CA)

Pulver-Analyse

[0107] IL-4R-Lösungen: Die folgenden Lösungen mit IL-4R wurden hergestellt. Lösung A enthielt 22,6 mg/mL serumfreien IL-4R in 5 mM NaH₂PO₄, gepuffert auf einen pH-Wert von 7,0. Lösung B enthielt 6,1 mg/mL serumfreien IL-4R in destilliertem Wasser. Die Lösungskonzentrationen werden ausgedrückt als Masse des Peptids pro Volumeneinheit. Hier berichtete Werte stammen von Aminosäureanalysendaten; Werte aus der UV-Prüfung waren geringfügig höher (25,6 beziehungsweise 7,5 mg/mL).

[0108] Teilchengröße. Die Teilchengrößerverteilung der typischen IL-4R-Pulver wurde mit einem Flüssig-Zentrifugenabsetzvorgang in einem Horiba CAPA-700 Teilchengröße-Analysengerät im Anschluß an die Dispersion der Pulver in SediSpense A-11 (Micrometrics, Norcross, GA) gemessen.

[0109] Feuchtigkeitsgehalt. Der Feuchtigkeitsgehalt der Pulver wurde mit dem titrimetrischen Karl-Fischer-Verfahren unter Verwendung eines Mitsubishi CA-06 Feuchtigkeitsmessgeräts oder mit thermogravimetrischer Analyse gemessen.

[0110] MMADs. Die Aerosolteilchengrößerverteilung (MMAD) wurde unter Verwendung eines Kaskaden-Impaktors (Graseby Andersen, Smyrna, GA) bei einer Fließgeschwindigkeit von 28L/min bestimmt, wobei der Pulververlust am Eintrittsverteilerstück ignoriert wurde.

[0111] Abgegebene Dosis. Abgegebene Dosen wurden bestimmt, wie im Abschnitt „Begriffsbestimmungen“ beschrieben, unter Verwendung eines Inhale Trockenpulver-Inhalators, wie in U.S.-Patent Nr. 5,740,794 beschrieben, und einem Gelman Glasfilter, 47 mm Durchmesser.

[0112] Rasterelektronenmikroskopie (SEM). Die Teilchenmorphologie wurde bestimmt unter Verwendung ei-

nes XL 30 ESEM, hergestellt von Philips Electron Optics (Eindhoven, Niederlande).

[0113] Thermoanalysen. Thermoanalyseversuche wurden durchgeführt unter Verwendung eines modulierten Differentialscanningkalorimeters (mDSC – Modell 2920), eines dielektrischen Analysegeräts (DEA 2970) und eines Thermogravimetrie-Analysegeräts (TGA Modell 2950, hergestellt von TA Instruments (New Castle, DE)). Heitzisch-Mikroskopie wurde unter Verwendung einer Nikon Optiphot-2-pol optischen Mikroskops (Nikon Inc., Torrance, CA), einer Hamatsu Kamera und einem C2400 Controller (Hamatsu Photonics, Herrsching, Deutschland), einem Mettler-Toledo FP90 Zentralprozessor (Mettler-Toledo, Columbus, OH) und einem FP8902H Heitzischzusatzgerät (Mettler, Toledo, OH) durchgeführt.

[0114] Chemische Charakterisierung: SE-HPLC-Versuche wurden an einem Waters HPLC-System Alliance-Modell 2690 (Alliance HPLC Systems, Millford, MA) mit Millennium V-Software (Waters) durchgeführt. Chromatographiesäulen wurden von Phenomenex (Torrance, CA) erhalten. UV-Versuche wurden an einem Hitachi U-3000 Zweistrahl-Spektrophotometer (Hitachi Instruments Inc., San Jose, CA) ausgeführt. SDS-PAGE-Versuche wurden an einer Novex Xcell Elektrophorese-Einheit (Novex, San Diego, CA) ausgeführt.

Beispiel 1

Herstellung von IL-4R-Trockenpulvern

[0115] Lagerstabile sprühgetrocknete Pulver des Interleukinrezeptorproteins, IL-4R, die hervorragende Aero-soleigenschaften aufweisen und weiterhin durch hervorragende chemische und physikalische Stabilität gekennzeichnet sind, wurden hergestellt. Die Pulver wurden sowohl in Gegenwart als auch Abwesenheit von Exzipienten hergestellt; die eingesetzten Exzipienten stammten aus vielen verschiedenen repräsentativen chemischen Klassen (z.B. Salze mit organischen Säuren, Aminosäuren, Metallkationen). Die IL-4R-Pulver sind bei Langzeitlagerung stabil und sind widerstandsfähig gegenüber extremen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen.

[0116] Repräsentative IL-4R-Pulver wurden gemäß den folgenden Protokollen hergestellt.

Beispiel 1(A) – Unverdünnte Formulierung mit IL-4R

[0117] Trockenpulverzusammensetzungen mit IL-4R wurden in entionisiertem Wasser ohne zugesetzte Exzipienten für das Sprühtrocknen formuliert. 600–700 mg-Chargen der unverdünnten Formulierung mit IL-4R wurden durch Sprühtrocknen eines geeigneten Volumens von Lösung A hergestellt. Die Endkonzentration des Phosphatpuffers in der Lösung vor Sprühtrocknung betrug 1,9 mM.

Beispiel 1(B) – Zinkchlorid-haltige Formulierung mit IL-4R

[0118] Trockenpulverzusammensetzungen mit IL-4R wurden in entionisiertem Wasser mit Zinkchlorid für das Sprühtrocknen formuliert. 600–700 mg-Chargen der 5,4:1 ZnCl₂:IL-4R-Formulierungen wurden hergestellt durch Eingießen von 19,53 mL der IL-4R-Lösung A und 0,456 mL einer 19,37 mg/mL-Lösung mit ZnCl₂ in einen 50 mL-Messkolben und Einstellen des Endvolumens auf 50 mL durch Zugabe von entionisiertem Wasser. Die Endkonzentration des Phosphatpuffers betrug 1,9 mM.

Beispiel 1(C) – Citrat-haltige Formulierung mit IL-4R

[0119] Trockenpulverzusammensetzungen mit IL-4R wurden in entionisiertem Wasser, das ein Citratsalz enthielt, für das Sprühtrocknen formuliert. 600–700 mg-Chargen der Citrat:IL-4R-Formulierungen wurden hergestellt durch Kombinieren von annähernd 12 mL Lösung A und 200 mg Citrat in Lösung bei pH-Wert 7,5 und Einstellen auf ein Endvolumen von 50 mL durch Zugabe von entionisiertem Wasser. Die Endkonzentration des Phosphatpuffers betrug 1,2 mM.

Beispiel 1(D) – Leucin-haltige Formulierung mit IL-4R

[0120] Trockenpulverzusammensetzungen mit IL-4R wurden in entionisiertem Wasser, das Leucin enthielt, für das Sprühtrocknen formuliert. 600–700 mg-Chargen der Leucin:IL-4R-Formulierungen wurden hergestellt durch Kombinieren von annähernd 12 mL Lösung A und 200 mg Leucin und Einstellen auf ein Endvolumen von 50 mL durch Zugabe von entionisiertem Wasser. Die Endkonzentration des Phosphatpuffers betrug 1,2 mM und der pH-Wert betrug 7,5.

[0121] Die relativen Mengen der Bestandteile (Gew./Gew.) in den Formulierungen 1(A)–1(D) sind in nachstehender Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1

Formulierungen mit IL-4R

Formulierung	IL-4R %	Phosphat %	ZnCl ₂ %	Citrat %	Leucin %
IL-4R unverdünnt	98,0	2,0	0,0	0,0	0,0
5,4:1 Zn:IL4R	96,9	1,9	1,2	0,0	0,0
Citrat:IL-4R	66,3	1,3	0,0	32,4	0,0
Leucin:IL-4R	66,3	1,3	0,0	0,0	32,4

[0122] Zusätzliche betrachtete Pulverformulierungen schließen IL-4R-Formulierungen, sowohl unverdünnt als auch exzipientenhaltig, ein, die unter Verwendung einer citratgepufferten IL-4R-Lösung oder einer IL-4R-Lösung auf Wasserbasis (kein Puffer) hergestellt wurden. Bevorzugte erfindungsgemäße IL-4R-Pulver umfassen, neben IL-4R, einen oder mehrere der folgenden Exzipienten: Trileucin, Raffinose, Mannit, Saccharose, F-68, zweiwertige Metallkationen, wie z.B. Magnesium, Calcium und dergleichen, Glucophosphate, Zinksalze, Trehalose, Glycin und Histidin. Spezifische Formulierungen können von 10–40 Gew.-% Trileucin oder 1 Gew.-% F-68 oder 10 Gew.-% Citrat oder 3:1 bis 10:1 nach Gewicht kationisches zweiwertiges Metallkation:IL-4R oder 10–30 Gew.-% Saccharose oder 5–50 Gew.-% Trehalose oder jegliche Kombination der obigen umfassen. Zusätzliche veranschaulichende IL-4R-Formulierungen schließen diejenigen ein, die sowohl Citrat als auch Leucin (z.B. eine Formulierung mit einem Citrat:Leucin:IL-4R-Verhältnis von 15:15:70) oder Raffinose (z.B. Formulierungen, die 5%–50% Raffinose umfassen) enthalten.

[0123] Die vorstehenden IL-4R-Formulierungen wurden unter Verwendung eines Büchi Mini-Sprühtrockners im Labormassstab (Büchi Labortechnik, Ag., Meierseggstrasse, Schweiz), ausgestattet mit einem modifizierten Zyklon, einer Zerstäuberdüse und einem Pulverauffanggefäß, sprühgetrocknet. Der Zerstäuber des Büchi Sprühtrockners wurde mit reiner, trockener Luft betrieben. Die Fließgeschwindigkeit der Flüssigkeit in den Büchi betrug 5 mL/min. Die Einlasstemperatur wurde eingestellt, um die Ziel-Teilchengröße und -Morphologie zu erreichen (80°C bis 150°C). Die Auslasstemperatur lag im Bereich von etwa 30°C bis 100°C. Die Ausbeuten waren größer als 75% und lagen im Bereich von 78–91% für die IL-4R-Formulierungs-Chargen 1(A)–1(D). Die IL-4R-Pulver (3 ± 0,15 mg) wurden in eine Glove-Box mit einer relativen Feuchtigkeit von weniger als 5% überführt und in Einheitsdosen-Arzneiformen (Blisterpackungen, BPs) platziert, die zur Verwendung in einem Trockenpulver-Inhaliergerät, wie im U.S.-Patent Nr. 5,740,794 beschrieben, geeignet sind. Die Bewertung und Charakterisierung der so erhaltenen Feststoffe wird nachstehend beschrieben.

Beispiel 2

Stabilität der IL-4R-Pulverformulierungen

[0124] Der Zweck der Untersuchungen der Beispiele 2–5 war, die Aerosolleistung, physikalische und chemische Stabilität der in Beispiel 1 beschriebenen repräsentativen IL-4R-Trockenpulverformulierungen zu bewerten. Aerosol-, Thermo-, physikalische und chemische Tests wurden an den Pulvern, wie zu Anfang hergestellt, ausgeführt. Thermo- und physikalische und chemische Analysen wurden auch nach 2 Wochen Lagerung bei vier unterschiedlichen Temperaturen (2–8°C, 25°C, 40°C und 50°C) und 3 relativen Feuchtigkeiten bei 25°C (0,33 und 75%) ausgeführt. Das Stabilitätsprotokoll wird nachstehend dargelegt:

[0125] Die Pulver wurden in Folie/PVC-Blisterpackungen gefüllt und wurden nur initial auf die abgegebene Dosis, Teilchengrößerverteilungen und Thermoanalysen getestet. Die chemische Charakterisierung und SEM-Analysen wurden an Schüttaerosol-Arzneistoffpulvern (d.h. nicht in Blisterpackungen enthalten) initial und nach 2 Wochen ausgeführt. Alle Pulver wurden in Feuchtigkeits-kontrollierten Gloves-Boxes mit einer relativen Feuchtigkeit von weniger als 5% gehandhabt.

[0126] Das Schüttpulver wurde in einer Glove-Box in Borsilikatglas-Gläschen eingewogen. Für Stabilitätspro-

ben mit 0% relativer Feuchtigkeit (RF) wurden die Gläschen verschlossen, in einen Folien-Umverpackungsbeutel, der ein Trockenmittel enthielt, platziert und vor Lagerung in Temperaturkammern verschweißt. Für Feuchtigkeits-kontrollierte Stabilitätsproben wurden die Gläschen offen gelassen und in Exsikkatoren bei 25°C gelagert. Nach 2 Wochen wurden Proben gezogen und mit UV, SDS-PAGE, SE-HPLC und SEM analysiert.

Tabelle 2:

Zusammenfassung des Stabilitätsprotokolls für sprühgetrocknete IL-4R-Schüttpulver und IL-4R-Vorratslösungen

Test	Testbedingungen						
	Initial	2 Wochen ³					
		2-8°C/ 0%/RF	25°C/ 0%/RF	25°C/ 33%/RF	25°C/ 75%/RF	40°C/ 0%/RF	50°C/ 0%/RF
DDE ¹	X						
MMAD ¹	X						
DSC ¹	X						
TGA ¹	X						
UV ²	X	X	X	X	X	X	X
SE-HPLC ²	X	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE ²	X	X	X	X	X	X	X
SEM	X ¹	X ²	X ²	X ²	X ²	X ²	X ²

¹ Test ausgeführt unter Verwendung von Blisterpackungen

² Test ausgeführt unter Verwendung von Schüttpulver

³ Schüttaerosolpulver, gelagert in verschlossenen und mit Parafilm umwickelten Borsilikatglas-Gläschen in einer versiegelten Folienumverpackung

⁴ Schüttaerosolpulver, gelagert in Borsilikatglas-Gläschen mit offenem Deckel

Tabelle 3:

Wässrige Verdünnungen aus der Vorratslösung

Test	Testbedingungen		
	Initial ⁵	2 Wochen ⁶	
		25°C	50°C
UV	X	X	X
SE-HPLC	X	X	X
ASA-PFW	X	X	X

⁵ Lösung, verdünnt mit Wasser aus der IL-4R-Lösung A

⁶ 1 mL einer 1 mg/mL-IL-4R-Lösung, gelagert in verschlossenen und mit Parafilm umwickelten Borsilikatglas-Gläschen in einer versiegelten Folienumverpackung

Beispiel 3

Aerosolleistung der IL-4R-Pulverformulierungen

[0127] Aerosoltests wurden ausgeführt unter Verwendung eines Trockenpulver-Inhalators, wie im U.S.-Pat. Nr. 5,740,794, Inhale Therapeutic Systems Inc. zugeordnet, beschrieben. Alle gefüllten Blisterpackungen wurden vor Gebrauch für die Aerosoltests in einer Trockenkammer gelagert.

Beispiel 3(A): Abgegebene Dosis

[0128] Die abgegebene Dosis wurde gemessen, indem das Aerosol auf einem in einem Halter über dem Mundstück der Kammer des Geräts platzierten Glasfaserfilter aufgefangen wurde. Um die Prozent abgegebene Dosis (ED%) zu messen, wurde eine Blisterpackung unter Verwendung eines Trockenpulver-Inhalators, wie vorstehend beschrieben, als ein Aerosol dispergiert. Die Pulverprobe wurde auf einem vorher gewogenen Glasfaserfilter (Gelman, 47 mm Durchmesser) aufgefangen. Die Aerosolwolke wurde auf dem Filter von der Kammer aufgefangen, indem für 2,5–3,5 Sekunden mit einer Luftstromgeschwindigkeit von $30 \pm 0,5$ L/min gezogen wurde. Ein automatischer Zeitschalter steuerte die Dauer des Zugs. Das Probenahmemuster simuliert die langsame, tiefe Einatmung des Patienten.

[0129] Die ED% wurden berechnet, indem die Masse des auf dem Filter aufgefangenen Pulvers durch die Masse des Pulvers in der Blisterpackung (tatsächliche Masse) geteilt wurde. Die Ergebnisse werden in Tabelle 4 berichtet. Jedes berichtete Ergebnis war der Durchschnitt und die Standardabweichung von 10 Messungen.

Beispiel 3(B): Massemedianer aerodynamischer Durchmesser (MMAD) und geometrische Standardabweichung (GSD)

[0130] Der massemediane aerodynamische Durchmesser und die Teilchengrößerverteilung des Aerosols wurden unter Verwendung eines 8-stufigen (9,0, 5,8, 4,7, 3,3, 2,1, 1,1, 0,7 und 0,4 μm Trennkorngrößen) Andersen Kaskaden-Impaktors erhalten. Jede Andersen-Messung wurde erhalten, indem 10 Blisterpackungen mit 3 mg Füllgewicht in einem Trockenpulver-Inhalator dispergiert wurden, während für 2,5 Sekunden mit $28,3 \pm 0,5$ L/min ein Vakuum gezogen wurde. Ein automatischer Zeitschalter steuerte die Dauer des Zugs. Aus diesen Daten wurde ein massemedianer aerodynamischer Durchmesser berechnet. Die Ergebnisse werden in Tabelle 4 dargelegt.

[0131] Die geometrischen Standardabweichungen (GSDs) wurden graphisch aus den Andersen-MMAD-Daten berechnet. Der Durchmesser der Trennplatte wurde als eine Funktion der kumulativen Prozent Siebdurchfall auf einer Wahrscheinlichkeitsskala aufgetragen. Die GSD wurde als der Durchmesser bei 85% geteilt durch den Durchmesser bei 50% genommen. Die erhaltenen Werte werden in Tabelle 4 aufgeführt.

Beispiel 3(C): Feinteilchen-Fraktion (FPF)

[0132] Die $\text{FPF}_{\% < 3,3 \mu\text{m}}$ wurde erhalten, indem die Andersen Kaskaden-Impaktor-Stufen F und 3 in Kurz-Anordnung verwendet wurden. Jede FPF-Messung wurde erhalten, indem 2 Blisterpackungen mit 3 mg Füllgewicht in einem Trockenpulver-Inhalator dispergiert wurden, während für 2,5 Sekunden mit $28,3$ L/min ein Vakuum gezogen wurde. Die Ergebnisse werden in Tabelle 4 dargelegt.

Tabelle 4

Initiale Aerosoltestergebnisse für IL-4R-Formulierungen (3 mg Füllgewicht)

Formulierung	Charge #	Gew.-%	MMAD (μm)	Abgegebene	FPF (%<3,3 μm)	GSD (μm)
		IL-4R		Dosis (%)		
IL-4R unverdünnt	NM1392- 04	98,0	3,9	59,6 (0,12)**	0,43(21)*	1,6
7:1 Zn:IL-4R	NM1392- 05	96,9	4,0	68,6 (0,040)**	0,34(0)*	1,6
Citrat:IL-4R	NM1392- 06	66,3	3,7	63,4 (0,09)**	0,35(2)*	1,7
Leucin:IL-4R	NM1392- 07	66,3	2,9	75,9 (0,08)**	0,56(6)	2,1

* RSD für n = 3

** Die Werte sind der Mittelwert und RSD, in Klammern, von 10 Messungen.

[0133] Die Aerosolleistung der IL-4R-Pulverformulierungen war ziemlich gut, alle wiesen ED-Werte von im Wesentlichen 60% oder größer und MMAD-Werte von 4 μm oder weniger auf, wobei mindestens 34% der Teilchen MMADs von weniger als 3,3 μm aufwiesen.

[0134] Die GSD-Werte waren alle kleiner als 2 μm , außer bei der Leucin-Formulierung. Man glaubt, dass dies ein Artefakt aufgrund der beobachteten, von dem Andersen-KI generierten binodalen Teilchengröße-Verteilung war.

Beispiel 4

Charakterisierung der IL-4R-Pulverformulierungen in festem Zustand

Beispiel 4(A) – Rasterelektronenmikroskopie

[0135] Rasterelektronenmikroskopie wurde genutzt, um initiale morphologische Informationen über die sprühgetrockneten Pulver zu erhalten und um Veränderungen der Morphologie bei Lagerung unter variierenden Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen zu beurteilen.

[0136] Die Bilder wurden mit einem Philips XL30 ESEM aufgenommen, der im Hochvakuummodus betrieben wurde, unter Verwendung eines Everhart-Thornley Detektors, um Sekundärelektronen für die Bildzusammensetzung einzufangen. Die Beschleunigungsspannungen betragen 3 bis 10 kV, unter Verwendung einer LaB_6 -Quelle. Die Arbeitsabstände lagen im Bereich von 30 bis 10 μm .

[0137] Alle Pulver mit Ausnahme des Leucin:IL-4R-Pulvers, Formulierung 1(D), zeigten keine merkliche Veränderung der Morphologie nach 2 Wochen Lagerung bei der in dem Stabilitätsprotokoll von Beispiel 2 (Tabelle 2) beschriebenen Temperatur- und RF-Bedingung. Manche der Leucin:IL-4R-Pulver zeigten morphologische Veränderungen bei RF-Werten von 33 bis 75% RF, sowie bei Temperaturen von 40 bis 50°C, gekennzeichnet durch bandähnliches Wachstum, das auf Kristallisation des amorphen Leucins zurückzuführen sein kann.

[0138] Bei visueller Prüfung mit SEM können die Teilchen eine runzlige, Rosinen-ähnliche Morphologie zeigen. Rugose Teilchen (d.h. Teilchen mit tiefen Runzeln, die im Wesentlichen mehr rau als glatt sind) sind am meisten bevorzugt.

[0139] Die Wirkungen der Temperatur und relativen Feuchtigkeit wurden für repräsentative IL-4R-Formulie-

rungen bestimmt. Von den hergestellten veranschaulichenden IL-4R-Pulvern schien das sprühgetrocknete Leucin-Pulver das am wenigsten morphologisch stabile zu sein, basierend auf Temperatur- und RF-verursachten Veränderungen der Morphologie. Keine signifikanten Morphologie-Veränderungen wurden bei irgendeinem der anderen Pulver bemerkt, wenn sie identischen Lagerungsbedingungen ausgesetzt wurden.

Beispiel 4(B) – Thermoanalyse

[0140] Differentialscanningkalorimetrie (DSC): DSC-Profile wurden generiert, indem eine Probe in einer hermetisch versiegelten Schale in einem TA Instruments DSC erhitzt wurde. Die Probengewichte lagen in der Größenordnung von 3,5–4,5 mg. Die DSC-Aufheizgeschwindigkeit betrug 10°C/min mit Helium als dem Spülgas. Die Temperatur wurde initial auf 70°C erhöht, mit 10°C/min auf –30°C abgekühlt und mit 10°C/min wieder auf 220°C erhitzt, um die Wärme-Vorgeschichte zu entfernen, statt den Modulationsmodus zu verwenden. Alle Pulver zeigten ein großes endothermes Signal bei annähernd 198°C. Die Zink-haltige IL-4R-Formulierung, Formulierung 1(B), zeigte ein zusätzliches endothermes Signal bei etwa 180°C. Die Citrat-haltige IL-4R-Formulierung, Formulierung 1(C), zeigte ein zusätzliches endothermes Signal bei etwa 172°C. Die Leucin-haltige IL-4R-Formulierung, Formulierung 1(D), zeigte ein zusätzliches endothermes Signal bei etwa 186°C. Unter Verwendung dieses Verfahrens wurde für die Pulver kein Glasübergang (Tg) bemerkt.

[0141] Somit zeigen die erfindungsgemäßen, sprühgetrockneten Pulver Glasübergangstemperaturen, die viel höher sind als Raumtemperatur, eine bevorzugte Eigenschaft von Trockenpulverformulierungen, insbesondere für Langzeit-Lagerung. Somit sind, in einer anderen Ausführungsform, die repräsentativen erfindungsgemäßen IL-4R-Pulver durch Tgs gekennzeichnet, die höher sind als 100°C. Aufgrund der hohen Tgs der erfindungsgemäßen Pulver können diese IL-4R-Pulver bei Temperaturen über Umgebungstemperatur oder 25°C hinaus stabil gelagert werden und können bei 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C oder höher (bis etwa 100°C oder sogar höher) für ausgedehnte Zeiträume (z.B. eine Woche, zwei Wochen, ein Monat, zwei Monate, drei bis sechs Monate, neun Monate, bis zu einem Jahr oder länger) stabil gelagert werden, während sie ihre vorteilhaften Aerosol-Eigenschaften beibehalten (wobei sie bei Lagerung im Wesentlichen einen minimalen Abfall der abgegebenen Dosis von nicht mehr als etwa 15%, vorzugsweise nicht mehr als etwa 10% und noch stärker bevorzugt nicht mehr als etwa 5%, und im Wesentlichen keine Veränderung des MMAD zeigen, wie durch eine Zunahme des MMAD von nicht mehr als etwa 1 Mikrometer und vorzugsweise nicht mehr als etwa 0,75 Mikrometer und noch stärker bevorzugt nicht mehr als etwa 0,5 Mikrometer gekennzeichnet).

[0142] Dielektrische Relaxationsspektrometrie (DRS): Da die Glasübergangstemperatur (Tg) der sprühgetrockneten IL-4R-Formulierungen mit DSC nicht bestimmt werden konnte, wurde DRS ausgeführt. Zwei DRS-Versuche wurden an der Zink-haltigen IL-4R-Formulierung, Formulierung 1(B), durchgeführt, um die Glasübergangstemperatur einer repräsentativen Formulierung besser nachzuweisen. Der erste durchgeführte Versuch war eine Standard-DRS-Analyse (TA Instruments Dielektrisches Analysegerät (DEA 2970)), durchgeführt bei 2°C/min von 30°C bis 150°C und wieder auf 30°C abgekühlt, wobei durch Frequenzen von 1, 10, 100, 10³ und 10⁴ und 10⁵ Hz gescannt wurde. Der zweite durchgeführte Versuch war ein Erweichungsversuch, dem thermomechanischen Analysegerät (TMA) ziemlich ähnlich, durchgeführt bei 2°C/min von 30°C bis 250°C und wobei durch Frequenzen von 1, 10, 100, 10³ und 10⁴ und 10⁵ Hz gescannt wurde. Beide Versuche wurden an dem Zn:IL-4R-Pulver an sich (Formulierung 1(B)) durchgeführt und nach dem Trocknen über Nacht bei 100°C (Formulierung 1(B)–(D)).

[0143] Aus diesen Untersuchungen wurde geschlossen, dass es keinen Glasübergang unterhalb der Zersetzungstemperatur für die getrocknete Probe und keinen Glasübergang unterhalb von 150°C für die ungetrocknete Probe gibt. Dies deutet darauf hin, dass die mit DSC beobachteten Veränderungen in der Grundlinie unterhalb von 100°C nicht auf ein Glasübergangs-Ereignis zurückzuführen waren. Somit ist die Tg dieser Formulierung größer als die Zersetzungstemperatur des Proteins.

[0144] Thermomechanische Analyse TMA): Die TMA-Versuche wurden ausgeführt, indem die Probendicke während eines DRS-Versuchs überwacht wurde. Die gleiche Elektrodenkonfiguration wurde verwendet wie in dem ersten Versuch, ausser dass die Dichtung entfernt wurde. Der Kolbendruck wurde auf 20N eingestellt und die Dicke der Probe und die Temperatur wurden alle paar Minuten von 30°C bis 250°C manuell aufgezeichnet. Der Beginn der Erweichung ist bei 224°C für sowohl Formulierung 1(B) als auch Formulierungen 1(B)–(D). Die in den TMA-Versuchen gesehene Erweichung ist auf Zersetzung und eine Möglichkeit eines gleichzeitig stattfindenden Glasübergangs zurückzuführen. Da es keine andere Erweichung gibt, die bei niedrigeren Temperaturen stattfindet, sind die 1Hz-Peaks aus den Standard-DRS-Tests auf einen anderen Mechanismus zurückzuführen, wie z.B. den Beginn der Seitenkettenbewegungen oder der Ionenleitung und sind nicht auf einen Glasübergang zurückzuführen (Seyler, R.J., 1994, „Assignment of the Glass Transition“, ASTM, 108–113). Falls der

Glasübergang gleichzeitig mit der Zersetzung stattfindet, dann kann in der Probe mit dem Verlustfaktorpeak unter 1Hz der Glasübergang ebenso zu einer niedrigeren Temperatur verschoben sein. Da der Standard-DEA-Test nur bis 150°C durchgeführt wurde, ist es klar, dass es keinen Glasübergang unterhalb von 150°C gibt. Die Bewertung der Diagramme, in denen die Dielektrizitätskonstante gegen Temperatur aufgetragen sind, bestätigte die für diese Art der Analyse erwarteten s-geformten Standardprofile.

[0145] Thermogravimetrische Analyse (TGA): Der Rest-Lösungsmittelgehalt in dem Pulver nach Sprühtrocknen wurde mit TGA unter Verwendung eines TA Instruments TGA bestimmt. Annähernd 3 mg Pulver wurden in eine hermetisch versiegelte Aluminumschale in einer Glove-Box mit einer relativen Feuchtigkeit von weniger als 3% gepackt. Die TGA wurde ohne die Schale auf Null eingestellt und das Gewicht des Pulvers wurde in dem Kommentar-Abschnitt aufgezeichnet. Kurz vor der Analyse wurde die Schale mit einer Nadel durchstochen und in die Apparatur geladen. Die Abtastgeschwindigkeit betrug 10°C/min von 25–175°C. Die Ergebnisse werden in Tabelle 5 gezeigt.

Tabelle 5

Lösungsmittelgehalt der sprühgetrockneten IL-4R-Pulver laut TGA

Formulierung	Charge #	Gew.-% Lösungsmittel
unverdünntes IL-4R	NM1392-04	2,9
7:1 Zn:IL-4R	NM1392-05	3,2
Citrat:IL-4R	NM1392-06	3,9
Leucin:IL-4R	NM1392-07	2,4

[0146] Heitzisch-Mikroskopie (HSM): Heitzisch-Mikroskopie wurde von Raumtemperatur bis 220°C unter Verwendung eines Nikon Optiphot-2-pol optischen Mikroskops, einer Hamatsu Kamera und eines C2400 Controllers, eines Mettler Toledo FP90 Zentralprozessors und FP8902H Heitzischzusatzgeräts durchgeführt. Geringe bis keine Veränderung in der visuellen Erscheinung des Pulvers wurde bei den trockenen Zubereitungen beobachtet. Die unverdünnte (NM1392-04) und die Zink (NM1392-05)-Formulierungen zeigten manche Teilchen, die „aufplatzen“, oder das Springen der Teilchen bei annähernd 80°C. Bei allen in Hochtemperatur-Immersionöl bewerteten Formulierungen bildeten sich Kanäle bei annähernd 90°C und bei 110°C wurde Ausgasen beobachtet. Es wird angenommen, dass dieses Ausgasen auf Wasserverlust aus dem Pulver zurückzuführen ist. Die verlängerte Zeit für dieses Ausgasen steht im Einklang mit den mit DSC beobachteten nach unten abfallenden Profilen.

Beispiel 5

Chemische Charakterisierung der IL-4R-Pulverformulierungen

[0147] Mehrere Techniken können verwendet werden, um die Proben aus Beispiel 1 zu analysieren, um den Grad der Aggregation und Zersetzung zu bestimmen. Unlösliche Aggregate wurden mit Sicht-Detektion und UV-Spektrophotometrie bestimmt. Lösliche Aggregate wurden quantitativ mit Größenausschlußchromatographie und qualitativ mit SDS-PAGE analysiert.

Beispiel 5(A): Größenausschluß-Hochdruckflüssigchromatographie (SE-HPLC)

[0148] Lösliche Aggregate wurden quantitativ mit SE-HPLC gemessen. Die Proben wurden bis zur Injektion bei 5°C gelagert. Die Chromatogramme wurden extrahiert und bei 220 nm bearbeitet.

[0149] Der Prozentsatz Monomergehalt der formulierten Lösungen vor Sprühtrocknen wurde mit den korrespondierenden rekonstituierten Aerosol-Arzneistoffpulvern verglichen. Es gab keine signifikanten Veränderungen im Prozentsatz Monomergehalt zwischen den formulierten Lösungen und den rekonstituierten Aerosol-Arzneistoffpulvern. Die Ergebnisse werden in nachstehender Tabelle 6 dargelegt.

[0150] Basierend auf den aus den Pulverstabilitäts-Temperaturdaten bei zwei Wochen erhaltenen Ergebnissen, nahm mit Anstieg der Lagerungstemperatur die Menge des Monomergehalts im Vergleich zu den initialen

Daten ab. Die größte Veränderung im Prozentsatz des Monomers vom Anfangswert war bei 50°C mit einem Bereich von 2,1% in der unverdünnten Formulierung bis 1,9% in sowohl den Zink- als auch den Citratformulierungen. In der Pulverstabilität-Feuchtigkeitsuntersuchung nach 2 Wochen zeigten die Citratformulierungen den größten Abfall auf gerade noch 1,8% Monomer vom Anfangswert bei der extremen RF von 75%. Dies war wahrscheinlich auf Citratkristallisation zurückzuführen. Somit zeigen die erfindungsgemäßen IL-4R-Zusammensetzungen im Wesentlichen keine thermische Zersetzung bei Sprühtrocknen (wie durch den Monomergehalt der veranschaulichenden Zusammensetzungen bewiesen) und zeigen eine minimale Abnahme des Monomers bei Lagerung unter vielen verschiedenen veranschaulichenden Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen. Im Gegensatz zu anderen Proteinen, die bei Sprühtrocknen oft zu signifikanter Aggregation neigen (Maa, Y.F., et al., J. of Pharmaceutical Sciences, Bd. 87 (2), S. 152-159 (1997)), wurde vom IL-4R festgestellt, dass er überraschend widerstandsfähig gegenüber und unzugänglich für derartige Bedingungen ist und sprühgetrocknete Pulver bildet in denen das Protein unerhebliche Zersetzung zeigt, sogar in Abwesenheit von gewöhnlich eingesetzten stabilisierenden/schützenden Exzipienten.

[0151] Zwei flüssige 1 mg/mL-Proben, gelagert bei 25 und 50°C für 2 Wochen, wurden als Kontrollen bewertet. Die bei 25°C gelagerte flüssige Probe hatte einen 0,7%igen Dimergehalt, ausgedrückt als Prozentsatz des Monomers, wies aber über 17% Niedermolekulargewicht-Spezies auf. Bei 50°C hatte die Flüssigkeit 2,3% Dimergehalt, ausgedrückt als Prozentsatz des Monomers und 2,1% Niedermolekulargewicht-Spezies. Proben wurden hergestellt und erneut getestet und die ursprünglichen Ergebnisse wurden bestätigt. Der Abfall des Prozentsatzes Monomergehalt der flüssigen IL-4R-Formulierung bei 50°C für 2 Wochen beträgt annähernd 40% vom Anfangswert (Siehe Tabelle 6 und [Fig. 1](#), [Fig. 2](#) und [Fig. 3](#)), während die Pulverformulierungen im Wesentlichen unverändert blieben. Somit sind Lösungsformulierungen mit IL-4R signifikant instabiler (d.h. neigen zu Zersetzung) als die korrespondierenden Pulverformulierungen, die im Wesentlichen unter den gleichen Bedingungen für einen gegebenen Zeitraum gelagert wurden. Interessanterweise bewirkten die extremen Temperatur- und Scherbedingungen, die das IL-4R-Molekül in Lösung während des Sprühtrocknens erfuh, keinen signifikanten Abfall des Monomergehalts oder förderten keine umfassende chemische Zersetzung des Moleküls, wie z.B. die für die eingelagerten flüssigen Proben beobachteten. Die obigen Daten weisen auf den auffallenden Vorteil der Pulverformulierungen mit IL-4R bei Lagerung gegenüber den korrespondierenden flüssigen Formulierungen hin, basierend auf sowohl chemischen als auch physikalischen Stabilitätsdaten.

Beispiel 5(B): Ultraviolett-Spektroskopie (UV)

[0152] UV-spektrophotometrische Analysen wurden verwendet, um die Trübung (d.h. Aggregation/Ausfällung) in rekonstituierten Proben zu bewerten. Die Messungen wurden an einem Hitachi U-3000 Zweistrahl-Spektrophotometer ausgeführt. Die Geräteparameter wurden auf eine Abtastgeschwindigkeit von 300 nm/min eingestellt; 1,0 nm Spaltbreite; und eine Abtastung lag im Bereich von 450 nm bis 200 nm. Die Proben wurden visuell auf Schwebstoffteilchen geprüft. Unlösliche Aggregate wurden quantitativ bestimmt durch Messen der Trübung der Lösung mit UV. Lineare Regression wurde von den Extinktionswerten bei 350, 375 und 400 nm ausgeführt, um die Streuung zu korrigieren. Die um die Lichtstreuung korrigierte Extinktion bei λ_{\max} wurde aus der Gleichung für die Regressionslinie extrapoliert. Die Prozent unlösliches Aggregat ist der um die Lichtstreuung korrigierte Prozentsatz der Extinktion, geteilt durch die unkorrigierte Extinktion bei λ_{\max} , wie in nachstehender Gl. 1 gezeigt.

$$\% \text{ Prozent unlösliche Aggregate} = \frac{\text{Abs}_{\lambda_{\max}}(\text{Lichtstreuung korrigiert})}{\text{Abs}_{\lambda_{\max}}(\text{Lichtstreuung unkorrigiert})}$$

(Gl. 1)

[0153] Die Proben wurden vor der Analyse entweder rekonstituiert oder auf eine Konzentration von 0,1 mg IL-4R-Peptid/mL mit Wasser verdünnt.

[0154] Außer einer Probe wiesen alle Lösungsproben vor und nach dem Sprühtrocknen keine sichtbaren Anzeichen für Schwebstoffteilchen auf oder wiesen weniger als 5% berechnete unlösliche Aggregate auf. Die sprühgetrocknete unverdünnte Formulierung, Formulierung 1(A), war sichtbar klar unter Anfangsbedingungen, wies aber bei Berechnung nach Gl. 1 7% unlösliche Aggregate auf. Da am 2-Wochen-Stabilitätszeitpunkt diese Probe nur 3% unlösliche Aggregate enthielt, wurde geschlossen, dass der Anfangswert ein Irrtum war. Alle Proben zeigten nach Exposition für 2 Wochen gegenüber spezifizierten Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen keine sichtbaren Anzeichen von Schwebstoffen oder nachweisbaren unlöslichen Aggregaten. Weniger

als 3,5% unlösliche Aggregate wurden unter Verwendung von Gl. 1 für alle Chargen berechnet. Tabelle 6 beinhaltet nur Daten, die mit SE-HPLC gewonnen wurden, und enthält keine Information über unlösliche Aggregate.

Tabelle 6:

Zusammenfassung der Aggregation für IL-4R-Formulierungen (SE-HPLC)

Monomergehalt (%)	Unverdünnt		Zn:IL-4R		Citrat		Leucin	
	Initial	2 Wochen	Initial	2 Wochen	Initial	2 Wochen	Initial	2 Wochen
<u>Lösung vor ST</u>	96,4		96,0		95,0		96,1	
2-8°C	96,5	96,0	96,2	95,9	95,1	94,7	96,0	95,9
25°C	96,5	96,0	96,2	95,6	95,1	94,6	96,0	95,6
40°C	96,5	95,4	96,2	95,0	95,1	94,3	96,0	95,3
50°C	96,5	94,4	96,2	94,3	95,1	93,2	96,0	94,6
25°C/10% RF	96,5	96,0	96,2	95,6	95,1	94,6	96,0	95,6
25°C/33% RF	96,5	95,7	96,2	95,4	95,1	94,5	96,0	95,3
25°C/75% RF	96,5	95,4	96,2	95,3	95,1	93,5	96,0	94,9

Beispiel 5(C): Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese (SDS-PAGE)

[0155] Lösliche Aggregate und Zersetzung wurden qualitativ mit SDS-PAGE unter Verwendung eines Novex Silver Xpresss Färbungskits gemessen. Vorgefertigte Novex 4–20% Tris-Glycin-Gele wurden an einer Novex Xcell II Elektrophorese-Minizelle entwickelt. Die Proben wurden entweder rekonstituiert oder mit Wasser auf eine Konzentration von 0,1 mg IL-4R-Peptid/mL verdünnt. Die Lösungen wurden unter reduzierenden und nicht-reduzierenden Bedingungen hergestellt und mit einer Beladung von 1–5 µg Protein pro Bahn aufgetragen. Die 5 µg-Proteinbeladungen wurden entwickelt um zu versuchen die Detektion der in der 1 µg-Proteinbeladung nicht beobachtbaren Banden zu verstärken. Die reduzierten Proben wurden mit 2-Mercaptoethanol versetzt und bei 100°C für 3 Minuten erhitzt. Die Gele wurden mit 125 V, 25 mA/Gel entwickelt, bis die Gelfront den Boden erreichte (ann. 1,5 Std.). Neben der Lösung vor Sprühtrocknung, den Anfangspulvern und den Stabilitätsproben wurde eine Lösung mit 1 mg IL-4R-Peptid/mL als eine Kontrolle analysiert. Reduzierende und nicht-reduzierende Gele wurden für die flüssige Formulierung initial, nach 2 Wochen 25°C und nach 2 Wochen 40°C entwickelt.

[0156] Es gab keine Veränderungen in den Gelprofilen zwischen den formulierten Lösungen vor Sprühtrocknen und den rekonstituierten Aerosol-Arzneistoffpulvern. Die Monomerbanden von allen Proben und Kontrollen mit IL-4R liefen auf den Gelen zu höherem Molekulargewicht (ann. 50 kDa) als den berichteten Werten und erscheinen breit und diffus. Dies ist am wahrscheinlichsten der Glycosilierung des Proteins, was die Wanderung des IL-4R durch das Gel beeinflusst, zuzuschreiben. Es gab eine andere ausgeprägte Bande, die zu annähernd 97 kDa lief, diese wurde dem Dimer zugeschrieben, welches vermutlich die Dimerform des Proteins ist. Mehrere Niedermolekulargewichtsbanden waren in dem Gel mit 5 µg-Beladung sichtbar, die nicht identifiziert worden sind.

[0157] Wie bei den Anfangspulvern gab es bei beiden Temperaturen der Feuchtigkeitsuntersuchungen im Vergleich zur Kontrolllösung keine sichtbaren Veränderungen in den Stabilitätsgelprofilen der Schüttaerosolpulver nach 2 Wochen. Die bei 25°C, 75% RF für zwei 2 Wochen inkubierte unverdünnte IL-4R-Probe wurde in dem ursprünglichen Gel nicht nachgewiesen, wahrscheinlich aufgrund eines Verdünnungsfehlers. Bei wiederholter Analyse war die Probe äquivalent zu den anderen Stabilitätsproben. Die Gele der IL-4R-Lösungsproben zeigten einen großen Grad der Zersetzung und Aggregation im Vergleich zu den sprühtrockneten Pulvern.

[0158] Zusammenfassend, wurde IL-4R basierend auf den aus der Stabilitätsuntersuchung erhaltenen Ergebnissen in allen vier Chargen der Schütt-Pulverformulierungen (Formulierungen 1(A)–1(D)) für bis zu zwei Wochen bei 2–8°C, 25°C, 40°C und 50°C, neben 25°C bei 0%, 33% und 75% RF für unbedeckt gelagerte Pulver, als chemisch stabil beobachtet. Mit UV wurde für alle Chargen keine unlösliche Aggregation beobachtet. Der Monomergehalt fiel für alle Formulierungen bei diesen Bedingungen um weniger als 2% ab, wobei die Citratformulierung bei Lagerung die größte Verringerung im Monomergehalt zeigte.

Patentansprüche

1. Sprühgetrocknete Pulverzusammensetzung, umfassend IL-4R und einen pharmazeutisch verträglichen Exzipienten.
2. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1 in aerosolisierte Form.
3. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei der Exzipient ausgewählt ist aus Kohlenhydraten, Aminosäuren, Oligopeptiden, Peptiden und Proteinen.
4. Zusammensetzung gemäß Anspruch 3, wobei das Kohlenhydrat ein Zucker oder Zuckeralkohol ist.
5. Zusammensetzungen gemäß Anspruch 3, wobei die Aminosäure eine hydrophobe Aminosäure ist.
6. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei der Exzipient ausgewählt ist aus Citratsalzen, Leucin, Raffinose, Zinksalzen und Kombinationen davon.
7. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei der Exzipient ein Puffer ist.
8. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei der Exzipient ein zweiwertiges Metallkation ist.
9. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine abgegebene Dosis von mindestens 30%.
10. Zusammensetzung gemäß Anspruch 9, gekennzeichnet durch eine abgegebene Dosis von mindestens 45%.
11. Zusammensetzung gemäß Anspruch 10, gekennzeichnet durch eine abgegebene Dosis von mindestens 60%.
12. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einem massemedianen aerodynamischen Durchmesser (MMAD) von weniger als etwa 10 Mikrometer.
13. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einem massemedianen aerodynamischen Durchmesser (MMAD) von weniger als etwa 5 Mikrometer.
14. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einem massemedianen aerodynamischen Durchmesser (MMAD) von weniger als etwa 3,5 Mikrometer.
15. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, umfassend Teilchen mit einem massemedianen aerodynamischen Durchmesser (MMAD) von etwa 0,1 bis 3 Mikrometer.
16. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1 mit einem Feuchtigkeits-Restgehalt von weniger als etwa 10 Gew.-%.
17. Zusammensetzung gemäß Anspruch 16, wobei der Feuchtigkeits-Restgehalt weniger als etwa 5 Gew.-% beträgt.
18. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung eine Schüttdichte von etwa 0,1 bis 10 g/cc aufweist.
19. Zusammensetzung gemäß Anspruch 1 in einer Einheitsdosisform.

20. Verfahren zur Aerosolisierung einer IL-4R Trockenpulverzusammensetzung, wobei das Verfahren umfaßt:

- (a) Bereitstellen einer IL-4R-Zusammensetzung gemäß Anspruch 1 und
- (b) Dispergieren der Zusammensetzung in einen Gasstrom, um ein aerosolisiertes Trockenpulver zu bilden, welches zur Inhalation geeignet ist.

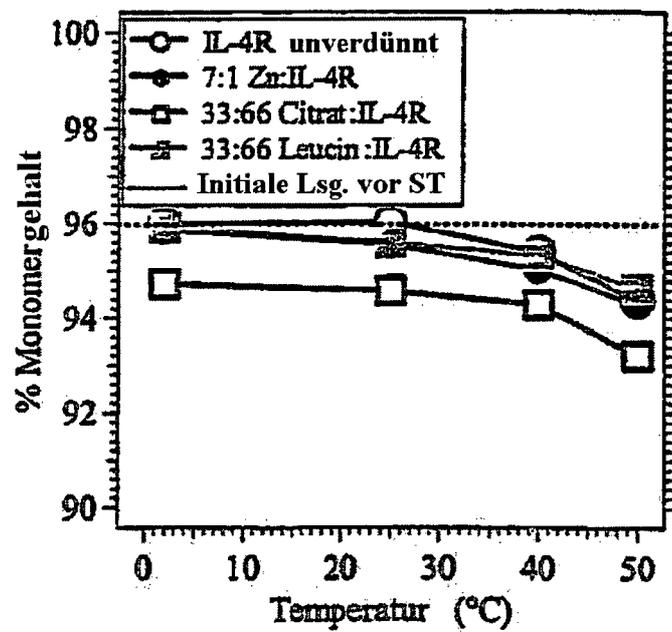
21. Verfahren gemäß Anspruch 20, wobei das Dispergieren mittels eines Trockenpulverinhalators erreicht wird.

22. Verfahren zur Herstellung einer trockenen IL-4R-Pulverzusammensetzung, wobei das Verfahren umfaßt:

- (a) Herstellen eines Gemischs oder einer Lösung von IL-4R in einem Lösungsmittel und
- (b) Sprühtrocknen des Gemischs oder der Lösung, um das IL-4R-Pulver gemäß Anspruch 1 zu erhalten.

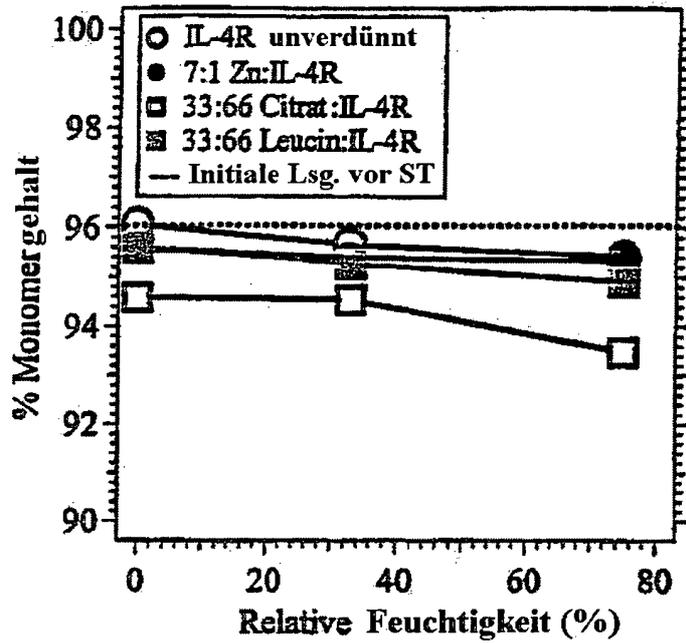
Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

FIGUR 1



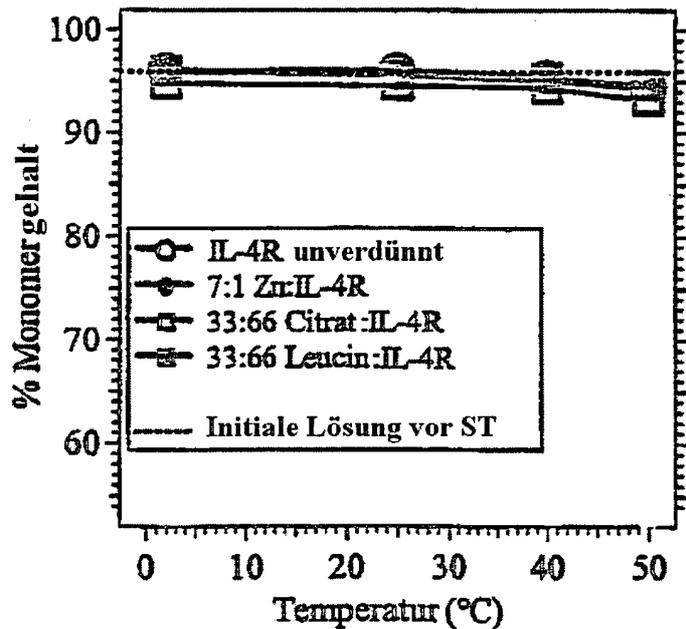
Sprühgetrocknete IL-4R-Pulver, Temperaturwirkung auf den Monomergehalt
(2-Wochen-Stabilitätsdaten)

FIGUR 2



Sprühgetrocknete IL-4R-Pulver, RF-Wirkung auf den Monomergesamt
(2-Wochen-Stabilitätsdaten)

FIGUR 3



Sprühgetrocknetes IL-4R-Pulver im Vergleich zur Lösung, Monomergesamt
(2-Wochen-Temperaturstabilitätsdaten)