

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6530480号  
(P6530480)

(45) 発行日 令和1年6月12日(2019.6.12)

(24) 登録日 令和1年5月24日(2019.5.24)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 38/28 (2006.01)	A 6 1 K 38/28
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 K 9/14 (2006.01)	A 6 1 K 9/14

請求項の数 11 (全 22 頁)

(21) 出願番号	特願2017-500986 (P2017-500986)	(73) 特許権者	509174129
(86) (22) 出願日	平成27年7月8日(2015.7.8)		アムファスター ファーマシューティカルズ、インコーポレイティド
(65) 公表番号	特表2017-520593 (P2017-520593A)		アメリカ合衆国、カリフォルニア 91730-6025, ランチョ クカモンガ, シックス ストリート 11570
(43) 公表日	平成29年7月27日(2017.7.27)	(74) 代理人	100099759
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/039625		弁理士 青木 篤
(87) 国際公開番号	W02016/007682	(74) 代理人	100077517
(87) 国際公開日	平成28年1月14日(2016.1.14)		弁理士 石田 敬
審査請求日	平成29年2月27日(2017.2.27)	(74) 代理人	100087871
(31) 優先権主張番号	62/022,026		弁理士 福本 積
(32) 優先日	平成26年7月8日(2014.7.8)	(74) 代理人	100087413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微小インスリン、微小インスリン類似体及びそれらの製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

肺送達に適した吸入可能インスリンを製造する方法であって、以下の工程：  
 インスリン材料を酸性溶液に溶解してインスリン溶存溶液を形成する工程；  
 当該インスリン溶存溶液を緩衝溶液を用いて滴定して微小インスリン粒子を含有する懸濁物を形成する工程；及び  
 前記滴定工程の後、実質的に球形で、微小インスリン粒子の全体積に対して最大で99V o 1%が粒径5µm未満となるように、当該微小インスリン粒子を安定化する工程；  
 を含み、前記微小インスリン粒子の安定化が、前記懸濁物に安定化剤を添加することを含み、当該安定化剤が、アルコール、ケトン及びそれらの混合物からなる群から選択される、方法。

【請求項 2】

前記酸性溶液が、水、有機溶媒、及びそれらの混合物からなる群から選択されるものを含有し、当該有機溶媒が、メタノール、エタノール及びそれらの混合物からなる群から選択されるアルコールを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記酸性溶液が、酸性溶液の全体積に対して50～90V o 1%の量の有機溶媒を含有する、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

前記緩衝溶液のpHが3～10である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記安定化剤が水に混和するものである、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記微小インスリン粒子が、pH 3 ~ 9 で微小化されたものである、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記酸性溶液の pH が 1 . 0 ~ 3 . 0 である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記酸性溶液の pH が約 2 で、当該酸性溶液の全体積に対して 10 Vol % ~ 90 Vol % のメタノール、エタノール及びそれらの混合物からなる群から選択される有機溶媒、及び水を含有する、請求項 1 に記載の方法。

10

## 【請求項 9】

前記微小インスリン粒子が、ヒトインスリン、動物インスリン、インスリン類似体、及びそれらの混合物からなる群から選択されるインスリンを含有し、当該インスリン類似体が、インスリンアスパルト (insulin aspart)、インスリングルルギン (insulin glargine) 及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記溶解工程、滴定工程、安定化工程、及びそれらの組み合わせから選択されるものが、室温で実施される、請求項 1 に記載の方法。

20

## 【請求項 11】

前記インスリン材料が、結晶ヒトインスリン、結晶動物インスリン、結晶インスリン類似体、及びそれらの混合物からなる群から選択される結晶インスリンを含有し、当該インスリン類似体が、結晶インスリンアスパルト、結晶インスリングルルギン及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2014年7月8日に米国特許商標庁に出願された米国仮出願 No. 62 / 022, 026 に基づく優先権享受を主張し、その出願の全ての内容は、本願において参照により援用される。

30

## 【0002】

本発明の態様は一般にヒトインスリン及び/又はヒトインスリン類似体の肺送達、及び肺送達のためのヒトインスリン及び/又はヒトインスリン類似体の微小化のためのプロセスに関する。本開示の態様の幾つかの側面は、粒子特性の改善した微小ヒトインスリン及び/又は微小ヒトインスリン類似体を含有する組成物にも関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

肺は、吸収可能な表面積が大きい(最大100m<sup>2</sup>)ため、また非常に又は極度に薄く(例えば約0.1µm~0.2µm)血液供給が良好な、吸収性粘膜を有するため、治療剤(主にペプチドやタンパク質)の非侵襲的投与及び全身送達における肺吸収経路の可能性に、注目が集まっている。肺の表面には、非常に薄い肺胞毛細血管及び気管支毛細血管障壁が有るため、ヒトインスリン粒子が対象の血流中に急速に取り込まれる。その速度は、急速に作用するヒトインスリン類似体で達成される速度に類似している。ヒトインスリン類似体は、天然に存在するヒトインスリンと異なるが、ヒトインスリンと同様に人体内で機能しつつ、血糖コントロールに関してより良好な性能を有する、ヒトインスリンの変形である。

40

## 【0004】

インスリン製剤は、静脈内注射又は皮下注射によって投与され得る。吸入インスリンは

50

、注射された短期作用インスリンと同様に有効なようである。肺送達技術は、吸入インスリンがそれらが吸収される肺毛細血管に効果的に到達するように開発された。

【 0 0 0 5 】

ヒトの肺気道は気管支管を含み、これは肺胞と同様、インスリン透過性である。吸入インスリンは肺胞から吸収され、循環系に入る。吸入喘息医薬は、肺胞に達する前に堆積する。デバイスは、ゆっくりと又は呼吸を介してヒトインスリン粒子を肺胞に送達し、ヒトインスリンは循環系内に放出され得る。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 6 】

吸入ヒトインスリンは、I型及び/又はII型糖尿病の患者における食前インスリン送達に使用され得る。その使用は、炎症、痣 (bruising)、不安感等の反応によりインスリン注射を忌避する人々に対するインスリン療法の容易な導入を促進する。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 7 】

本発明の一つの態様において、肺送達に適した吸入可能インスリンを製造する方法は、以下の工程：インスリン材料を酸性溶液に溶解してインスリン溶存溶液を形成する工程；当該インスリン溶存溶液を緩衝溶液を用いて滴定して微小インスリン粒子を含有する懸濁物を形成する工程；及び当該微小インスリン粒子を安定化する工程；を含む。

【 0 0 0 8 】

前記酸性溶液は、水、有機溶媒、又はそれらの混合物を含有し得る。

【 0 0 0 9 】

前記酸性溶液は、酸性溶液の全体積に対して10～90Vol%の量の有機溶媒を含有し得る。

【 0 0 1 0 】

酸性溶液は、酸性溶液の全体積に対して0～90Vol%の量の有機溶媒を含有し得る。

【 0 0 1 1 】

前記有機溶媒はアルコールを含有し得る。

【 0 0 1 2 】

前記アルコールは、メタノール、エタノール又はそれらの混合物を含有し得る。

【 0 0 1 3 】

前記緩衝溶液のpHが3～10であり得る。

【 0 0 1 4 】

前記微小インスリン粒子の安定化は、前記懸濁物に安定化剤を添加することを含み得る。

【 0 0 1 5 】

前記安定化剤のpHが中性で水に混和するものであり得る。

【 0 0 1 6 】

前記安定化剤は、アルコール、ケトン又はそれらの混合物を含有し得る。

【 0 0 1 7 】

前記安定化が、微小インスリン粒子の収量を増大させるものであり得る。

【 0 0 1 8 】

前記微小インスリン粒子は、pH3～9で調製され得る。

【 0 0 1 9 】

前記微小インスリン粒子は、pH4.5～7.5で調製され得る。

【 0 0 2 0 】

前記微小インスリン粒子は、体積平均径が約1.2～2µmの実質的に球形の粒子を含有し得る。

【 0 0 2 1 】

10

20

30

40

50

前記微小インスリン粒子は、当該微小インスリン粒子の全体積に対して最大で99Vol%の、粒径5 $\mu$ m未満の粒子を含有し得る。

【0022】

前記酸性溶液のpHが1.0~3.0であり得る。例えば、前記酸性溶液のpHが1.8~2.2であり得る。

【0023】

前記酸性溶液のpHが約2で、水及び当該酸性溶液の全体積に対して10Vol%~90Vol%のメタノール、エタノール又はそれらの混合物を含有し得る。

【0024】

前記微小インスリン粒子が実質的に球形で、粒径が5 $\mu$ m未満であり得る。

10

【0025】

前記微小インスリン粒子が、ヒトインスリン、動物インスリン、インスリン類似体、又はそれらの混合物を含有し得る。

【0026】

前記インスリン類似体は、インスリンアスパルト(*insulin aspart*)、インスリングルルギン(*insulin glargine*)及びそれらの混合物からなる群から選択され得る。

【0027】

前記溶解工程、滴定工程、及び/又は安定化工程は、室温で実施され得る。

【0028】

20

前記インスリン材料は、結晶ヒトインスリン、結晶動物インスリン、結晶インスリン類似体、又はそれらの混合物を含有し得る。

【0029】

前記結晶インスリン類似体は、結晶インスリンアスパルト、結晶インスリングルルギン又はそれらの混合物を含有し得る。

【0030】

本発明の一つの態様において、微小インスリン粒子は、ヒトインスリン、動物インスリン、インスリン類似体、及びそれらの混合物からなる群から選択されるインスリンを含有する実質的に球形の粒子を含有する。

【0031】

30

前記実質的に球形の粒子の体積平均径は、約1.2~2 $\mu$ mであり得る。

【0032】

前記微小インスリン粒子の全体積に対して最大で99Vol%の前記実質的に球形の粒子の粒径が5 $\mu$ m未満であり得る。

【0033】

前記インスリン類似体は、インスリンアスパルト、インスリングルルギン又はそれらの混合物を含み得る。

【0034】

本発明の以上の記載は網羅的な要約であることを意味せず、本開示の追加の適切な側面は、以下の詳細な説明を独立して参照することにより、又はそれと本発明の1つ以上の態様が記載され示されている添付の図面及び表と組み合わせて、当業者にとって自明であり得る。

40

【0035】

添付する図面は、明細書と共に、本発明の態様を例示し、それらの説明と共に、本発明の原理を説明するのに役立つ。

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図1】図1は、インスリン及び/又はインスリン類似体を微小化するプロセスの一態様を例示するフローチャートである。

【0037】

50

【図2】図2は、本発明の態様に従い調製された微小ヒトインスリン粒子の走査型電子顕微鏡（SEM）画像である。

【0038】

【図3】図3は、図2の態様に従い調製された微小ヒトインスリン粒子の粒径分布を図示するグラフである。

【0039】

【図4】図4は、本発明の一態様に従い微小化する前及び後のヒトインスリンの純度プロフィールを示すチャートである。

【0040】

【図5】図5は、本発明の一態様に従い調製した溶解した微小インスリン粒子の高効率液体クロマトグラフィー（HPLC）クロマトグラフである。

10

【0041】

【図6】図6は、本開示の一態様に従い調製した充填容器から送達されたヒトインスリン粒子のAndersen Cascade Impactor試験のデータを示すチャートである。

【0042】

【図7】図7は、本開示の一態様に従い調製した充填容器から送達されたヒトインスリン粒子のAndersen Cascade Impactor試験のデータを示すチャートである。

【0043】

20

【図8】図8は、本発明の一態様に従い調製された微小インスリングルルギン粒子の走査型電子顕微鏡（SEM）画像である。

【0044】

【図9】図9は、図8の態様に従い調製された溶解した微小インスリングルルギン粒子のHPLCクロマトグラフである。

【0045】

【図10】図10は、本開示の一態様に従い調製した充填容器から送達されたインスリングルルギン粒子のAndersen Cascade Impactor試験のデータを示すチャートである。

【0046】

30

【図11】図11は、本開示の一態様に従い調製した充填容器から送達されたインスリングルルギン粒子のAndersen Cascade Impactor試験のデータを示すチャートである。

【0047】

【図12】図12は、本発明の一態様に従い調製された微小インスリンアスパルト粒子の走査型電子顕微鏡（SEM）画像である。

【0048】

【図13】図13は、図12の態様に従い調製された溶解した微小インスリンアスパルト粒子のHPLCクロマトグラフである。

【0049】

40

【図14】図14は、本開示の一態様に従い調製した充填容器から送達されたインスリングルルギン粒子のAndersen Cascade Impactor試験のデータを示すチャートである。

【0050】

【図15】図15は、本開示の一態様に従い調製した充填容器から送達されたインスリングルルギン粒子のAndersen Cascade Impactor試験のデータを示すチャートである。

【0051】

【図16】図16は、ジェットミリング法により調製したヒトインスリン粒子の原子間力顕微鏡（AFM）画像である。

50

## 【0052】

【図17】図17は、実施例2に記載のように調製した微小インスリン粒子の原子間力顕微鏡(AFM)画像である。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0053】

下記詳細な説明は、本発明の幾つかの特定の態様の例示のみを目的として提供され、本発明の範囲を限定することを意図しない。当業者にとって他の態様は自明であり得、それらは本発明の範囲内に含まれることを意図する。また、本発明の文脈で、「インスリン」は、広い意味で使用され、ヒト又は動物の治療に使用できる任意の型のインスリン又はインスリン類似体を包含する。例えば、本明細書中、「インスリン」は、天然又は合成ヒトインスリン、天然又は合成動物インスリン、及びインスリン類似体(例えばインスリンアスパルト、インスリングルルギン等)を包含する。

10

## 【0054】

肺送達のための吸入可能インスリン粒子を製造する方法の一つの態様は、インスリン材料(例えば結晶インスリン及び/又は結晶インスリン類似体)を酸性環境中に溶解して(例えば酸性溶液中に溶解してインスリン材料の溶解を促進する)、溶解インスリン溶液を形成する工程;当該溶解インスリン溶液を緩衝溶液で滴定して微小インスリン粒子を含有する懸濁物を形成する工程;及び安定化剤(例えば有機溶媒及び/又は共溶媒)を添加して当該微小インスリン粒子を安定化する工程(例えば精製及び乾燥前の微小インスリン粒子の収量を増大させるように);を含む。当該プロセスの態様は室温で実施され、凍結乾燥、マイクロスフィア、及びジェットミリングプロセス等により導入される熱及び/又は機械力の導入を回避又は減少する。当該プロセスの幾つかの態様は、溶解インスリン溶液及び/又は懸濁物を含む酸性環境にポリマー(例えば助剤ポリマー)を添加せずに実施される。

20

## 【0055】

本発明の態様は、肺送達に適した吸引可能なインスリンの生産のためのプロセスを提供する。当該プロセスの態様は、ミリメートル範囲の粒径であり得る結晶インスリン材料を用いて、特性の改善した、例えばより真球度の高い、又は平滑度が改善した、肺送達用の活性医薬成分(API)として、マイクロメートル範囲の粒径の、吸引可能なインスリン粒子を提供する。本願において、粒径又は粒子の直径(例えば体積平均径)は、他に特定の無い限り、レーザー回折法によって測定され得る。

30

## 【0056】

薬物粒子の肺送達は、粒径、粒子の形状、表面の粗さ、溶解度、流動性等の、薬物粒子の特性に影響を受ける。吸引可能なインスリン及び/又はインスリン類似体は活性薬物成分で単なる受動的な担体ではないので、本願の開示は、インスリン及びインスリン類似体を微小化しつつ、生物活性を維持し、又は実質的に維持する。

## 【0057】

粒径(又は空気力学的直径)が5 $\mu$ m未満の粒子は、肺によって吸収される吸引薬物として用いられる。適切な空気力学的直径又は粒径を有する粒子は良好な流動特性を有し、血流内への吸収が改善される、又は肺の肺胞-毛細管表面を介して最適化される、気道下部(気管支及び肺胞領域)内により容易に分散される。一方、大き過ぎる薬物粒子(例えば空気力学的直径又は粒径が5 $\mu$ mを上回る粒子)は、慣性衝突によって喉や気管等の気道上部で殆ど捕捉されてしまう。斯かる大き過ぎる粒子は、肺胞のような薄い透過可能な毛細管を有しない気道上部に蓄積して、実質的に吸収されない。蓄積した薬物粒子は、マクロファージの増大を刺激する肺の防御システムを起動する可能性がある。マクロファージの刺激又は過剰な刺激は、他の炎症性細胞の集合を引き起こし、やがて二次的な組織損傷、再生及び線維化を生じ得る。

40

## 【0058】

薬物粒子のサイズは、肺送達において決定的な役割を有し得る。粒径5 $\mu$ m未満の粒子を製造するために、噴霧乾燥や機械的製粉技術等の多くの単一工程の微小化方法が使用さ

50

れ得て、そのようなプロセスの後、一般にミリメートル範囲の直径を有するインスリン粉末粒子出発材料の直径は、肺送達のためのマイクロメートル範囲の直径になる。

【 0 0 5 9 】

しかしながら、インスリン粒子を微小化するプロセスは、インスリン微小化プロセスの過程での熱及び又は助剤ポリマーの導入を含み、それらはインスリンの凝集及び活性喪失を引き起こし薬物製造を阻害し得る。加えて、助剤ポリマーはプロセシングの過程で製剤の安定化や溶解度の増大を助けるが、助剤ポリマーは除去が困難な不純物を導入し得る。

【 0 0 6 0 】

凍結乾燥プロセスは、ミリメートルサイズ範囲（例えばインスリン材料）からマイクロメートルサイズ範囲に、インスリン粒子を変形するのに使用され得る。凍結乾燥を使用する理由の一つは、1 ~ 5  $\mu\text{m}$  範囲の粒子の製造がこの方法のサイズ減少能力の限界であるからである。安定性や溶解性を改善するために製剤中の不活性物質又は助剤としてポリマーが導入され得る。

【 0 0 6 1 】

しかしながら、凍結乾燥微小化プロセスは、インスリン等の巨大分子に対して潜在的に有害であり得る。例えば、凍結乾燥プロセスの過程で水を昇華させるために分子に熱が加えられるが、これはインスリンの立体構造の変化をもたらす、あるいはインスリンを変性させてしまい得る。熱や振動がインスリンの繊維形成を促進することが示されている。

【 0 0 6 2 】

更に、凍結乾燥プロセス（ポリサーマルプロセス）の冷却の速度は、微小粒子のサイズや形状を調整するが、凍結乾燥は、インスリン及びポリマーにより形成されたインスリンの微小粒子の過剰な乾燥を引き起こし、それは物理的又は化学的安定性を低下させ得る。また、インスリンは、乾燥粉末形態で凝集し易い。

【 0 0 6 3 】

インスリン微小粒子を形成するプロセスにおいてポリマーが使用される場合、インスリンの微小粒子が、インスリンの等電点付近の pH で結晶インスリンを溶解することにより形成されることも見出されている。ポリエチレングリコール（PEG）、ポリビニルピロリドン（PVP）、乳酸グリコール酸コポリマー（PLGA）、あるいは生体接着性メカニズム等の、様々な適切な種類のポリマーが、このプロセスで使用され得る。ポリマーが緩衝溶液中に添加されるとき、それは、結晶インスリンの溶解度を更に増大するのを助ける。しかしながら、添加したポリマーは、このプロセスの後効率的に及び完全に除去され得ない。除去されない残留ポリマーは、薬物の有効性を低下させ、毒性を増大させ、不純度のレベルを増大させる。

【 0 0 6 4 】

インスリンを含有するマイクロスフィアの生産に関連する他のプロセスは、インスリンを酸性環境中に溶解するのを助けるために、PVP 又は PEG 等の助剤ポリマーを導入する。そのようなプロセスによって生産されたマイクロスフィアは、インスリンに有害又はダメージを与え得る、比較的高温にさらされる。そのようなプロセスの最後に、ポリマーを洗い流すための有機溶媒（インスリンの溶解度が低いもの）は、小さなインスリン粒子の凝集化を引き起こし得る。また、上記有機溶媒は、マイクロスフィア中に含有されるインスリン分子を変性させ、ヒトや動物に投与されたときに毒性を有し得る。

【 0 0 6 5 】

本願の態様以外のインスリン微小粒子の製造プロセスは、有機溶媒を利用し、厳しい滅菌条件を要する。有機溶媒（本願のもの以外）は、薬物の純度に影響し、マイクロスフィア中に残留有機溶媒が残っていると、インビボで有害であり得る。加えて、有機溶媒によって引き起こされる多孔質構造は、一貫しない放出用量をもたらす。熱、化学、又は放射プロセスによる滅菌は、マイクロスフィア中にトラップされた薬物又はポリマーの分解を引き起こし得る。溶液の滅菌は、不純物の存在する量を増大させ得る。

【 0 0 6 6 】

インスリンの調整放出調製品は、生分解性ポリマー材料を用いてインスリンの均一な微

10

20

30

40

50

結晶をマイクロカプセル化（例えば界面活性剤により）することによって得られるマイクロスフィアを含有し得る。そのような組成物は、しかしながら、インスリン含量が低く、例えば平均インスリン粒子含量は、インスリン粒子の全重量の10% w/w未満であり得る。

【0067】

本願の態様の側面は、上記困難を克服することに関する。インスリン又はインスリン類似体を製造する方法の態様は、以下の3つの動作を含む。

【0068】

1つ目の動作は、酸性環境中にインスリン材料（例えば結晶インスリン又はインスリン類似体）を溶解することで、インスリン材料の溶解を促進して、溶解インスリン溶液を形成する。酸性環境は、酸性溶液を含み得る。例えば、酸性環境は、水、有機溶媒（例えばメタノール等のアルコール）、又はそれらの混合物を含む酸性溶液を含み得る。

10

【0069】

酸性環境中でのインスリンの挙動は、インスリンを溶解するのに利用され得る。幾つかの態様において、良好な溶解条件を提供するために、酸性環境のpHは、約1.0~3.0、例えば1.8~2.2とされる。

【0070】

2つ目の動作は、懸濁物の状態に達するまで（例えば懸濁物が取得されるまで）、溶解インスリン溶液を緩衝溶液で滴定することである。溶解インスリン溶液の滴定は、溶解したインスリンの溶解性を変化させ、溶解したインスリンと微小インスリン粒子として沈殿させて、懸濁物を形成させるのに利用され得る。例えば、溶液のpH値は、インスリンの溶解性に影響するように変化し得る。インスリンは、酸性及び塩基性官能基を両方有している。インスリンを構成するアミノ酸（例えばアミノ基及びカルボニル基）は、正電荷、負電荷を有し、又は中性であり、一緒になってインスリンにその全体の電荷を提供する。その等電点（IEP）を下回るpHにおいて、インスリンは正味の正電荷を担持し、IEP上回るpHにおいて、インスリンは正味の負電荷を担持する。従って、溶解インスリン溶液は、インスリンの溶解性を低下させ、マイクロメートル範囲の粒径を有する小さい又は微小の粒子として溶解インスリン溶液からインスリンを固体化及び沈殿させるために、インスリンのIEPの値にpHを近付けるように滴定され得る。インスリンが沈殿すると、溶解インスリン溶液は、透明又は実質的に透明な溶液が白色に乳濁した懸濁物に変化する（例えばこの懸濁物は微小インスリン粒子を含有する）。

20

30

【0071】

3つ目の動作は、安定化剤（例えば有機溶媒、任意で共溶媒）を加えることにより微小インスリン粒子を安定化し、精製及び乾燥の前の微小インスリン粒子の収量を増大させることである。

【0072】

安定化剤（例えば有機溶媒及び/又は共溶媒）は、微小インスリン粒子の収量を増大させるために添加され得る。使用される安定化剤（例えば有機溶媒、任意で共溶媒）は、インスリンの種類によって異なり、下記で更に記載される。

【0073】

本願の態様の側面は、凍結乾燥ポリマーやマイクロスフィア法と比較してより単純かつ安全な製造及び/又は最終製品を提供する；助剤ポリマー（追加の不純物を導入し得る）を要しない；微小化プロセスが室温で実施され得る；及び追加の加熱を要しないためインスリンの凝集及び/又は分解が少ない；という特徴を有する。

40

【0074】

インスリン及びインスリン類似体を室温で微小化する新規プロセスの態様は、下記の3つの主要な動作を含む。第1に、ミリメートル範囲の粒径のインスリン材料の溶解；第2に、微小化（例えばインスリン粒子を含有する溶液が微小インスリン粒子を含有する懸濁物になるようにインスリン粒子を調製すること）；第3に、微小インスリン粒子の安定化；及び第4に、液体溶液からのインスリン粒子の分離である。液体溶液からのインスリン

50

粒子の分離の後、洗浄、乾燥及び精製が行われ、吸引可能なインスリン又はインスリン類似体 A P I の製造プロセスが完了する。

【 0 0 7 5 】

第 1 の動作において、インスリン材料は、水と極性で低分子量で水混和性の有機溶媒を含有する酸性環境（例えば酸性溶液）中に溶解され得る。メタノール及び／又はエタノールは、インスリンの当初の溶解度を調整するために、溶液の全体積に対して最大 9 0 V o l % ( v o l % ) の量で、溶液中に含まれ得る。例えば、メタノール及び／又はエタノールは、好ましくはおよそ 9 0 v o l % ( 酸性溶液の全体積に対して ) の量で酸性溶液中に含まれ得るが、0 % 超で最大 9 0 v o l % の任意の量が想定され、使用され得る。

【 0 0 7 6 】

酸性溶液は、攪拌プレートの頂部に置かれ得る。溶液が完全に又はほぼ完全におよそ 4 0 ~ 2 0 0 回転 / 分 ( r p m ) の定常、連続、又は実質的に連続の攪拌が全体で利用される。余りに高い振盪の速度及び／又は攪拌スピードを利用することは、乱流や不均一な混合を引き起こす恐れが有り、一方、余りに低い振盪の速度及び／又は攪拌スピードを利用することは、望ましくない粒径（例えば 5 μ m 以上の粒径）を有するインスリン粒子をもたらす得る。インスリンが固相から液相に解離したとき（例えばインスリンが溶解して溶解インスリン溶液を形成したとき）、溶液は透明又は実質的に透明になる。

【 0 0 7 7 】

第 2 の動作において、攪拌速度は、3 0 ~ 1 0 0 r p m、例えば 5 0 ~ 7 5 r p m、又は 5 0 ~ 6 0 r p m に下げられ得る。溶解インスリン溶液は、緩衝溶液で滴定され、又はゆっくり滴定されて、溶解インスリン溶液が透明又は実質的に透明な溶液から微小インスリン粒子を含有する乳白色の懸濁物に変化することにより、次第にインスリンの沈殿が見えてくる。

【 0 0 7 8 】

インスリン及び／又はインスリン類似体は、p H 3 ~ 9、例えば p H 4 . 5 ~ 7 . 5 で微小化され得る。緩衝溶液は、p H 3 ~ 1 0 となるように調製され得る。その結果、溶解インスリン溶液の滴定によって形成される懸濁物の p H は、3 ~ 9 となり得る。

【 0 0 7 9 】

第 3 の動作において、中性の p H を有し水混和性の安定化剤が利用される。安定化剤の例として、アルコール及び／又はケトンが有る。例えば、アルコールは、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール又はそれらの混合物を含み得るが、アルコールはそれらに限定されない。安定化剤は、微小インスリン粒子を安定化させる。

【 0 0 8 0 】

微小インスリン粒子の分離後、精製及び／又は乾燥プロセスが実施され得る。本分野で利用できる任意の適切な精製及び／又は乾燥プロセスが利用され得、それらは当業者に自明であり得る。

【 0 0 8 1 】

図 1 は、インスリン及び／又はインスリン類似体を室温で微小化する方法の一態様を例示するプロセスフローチャートである。図 1 において、インスリンを微小化する方法 1 0 0 の態様は、インスリン材料の溶解 1 0 2、インスリンの沈殿及び懸濁物の安定化 1 0 4、及びインスリンの分離 1 0 6 を含む。

【 0 0 8 2 】

本開示の態様は、例示を目的とする実施例を参照して記載される。しかしながら、本願は、ここに記載される実施例によって限定されない。

【 実施例 】

【 0 0 8 3 】

実施例 1 9 0 V o l % メタノール溶液中の吸引可能なインスリン粒子の調製

7 0 m g の生合成ヒトインスリン ( S i g m a - A l d r i c h 製組換えインスリン ) 材料の粉末を、4 0 m l バイアル中で、p H 1 . 9 で酸性溶液の全体積に対して 9 0 V o l % ( 残りの 1 0 % は水及び H C l ) のメタノールを含有する酸性溶液 7 . 7 m l 中に溶

10

20

30

40

50

解した。このバイアルを攪拌プレートの頂部に置き、得られた溶液を、溶液が完全に又は実質的に透明になって溶解インスリン溶液を形成するまで定常的に攪拌した。そして、そして攪拌をより低速にし（例えば回転速度約75rpm）、pH5.64の1.75mlの0.1M酢酸ナトリウム（NaAc）緩衝溶液を滴下して、溶解インスリン溶液をゆっくり滴定した。透明な溶解インスリン溶液は、微小インスリン粒子を含有する乳濁した黄色の懸濁物に変化した。滴定が終了又は実質的に終了した後、約10mlのエタノールが懸濁物に添加された。更に30分間攪拌を継続した。微小インスリン粒子を、固体として懸濁物の上澄から分離し、この固体をエタノールで2回洗浄して、メタノールと塩を除去した。この固体を室温で真空乾燥した。

#### 【0084】

図2は、実施例1に記載の方法で製造した吸引可能なヒトインスリンAPIを示す走査型電子顕微鏡（SEM）画像である。本願において、全てのSEM画像は、JEOL Carry Scope JCM-5700 SEM装置を用いて取得された。図3は、実施例1に記載のようにして調製された吸引可能なインスリンAPI（微小インスリン）の粒径分布を図示するグラフである。図2及び3から、実施例1に記載のようにして調製された吸引可能なインスリンAPI（微小インスリン）の粒径は、肺送達に適しており、例えば粒径5µm未満であると結論付けられた。例えば、図3に見られるように、実施例1の微小インスリンの平均粒径D50は2µm未満であった。D50は、試料の全体積に対して、試料の50vol%がそれより小さい粒径を有し、試料の50vol%がそれより大きい粒径を有する、最大の粒径である。

#### 【0085】

実施例2 90vol%メタノール溶液中での吸引可能なインスリン粒子の調製

1gの生合成ヒトインスリンAPI粉末（即ちSigma-Aldrich製組換えインスリン）を、遠心スターラーとスターラーバーを有する400ml容器中で、pH約1.9で酸性溶液の全体積に対して90vol%（残りの10%は水及びHCl）のメタノールを含有する酸性溶液110ml中に溶解した。得られた溶液を、溶液が完全に又は実質的に透明になって溶解インスリン溶液を形成するまで攪拌した。そして、そして攪拌をより低速にし（例えば回転速度約50rpm）、pH5.64の25mlの0.1MNaAc緩衝溶液を滴下して、溶解インスリン溶液を滴定した。透明な溶解インスリン溶液は、微小インスリン粒子を含有する乳濁した黄色の懸濁物に変化した。滴定が終了又は実質的に終了した後、約135mlのエタノールが懸濁物に添加され、更に30分間攪拌を継続した。

#### 【0086】

微小インスリン粒子を、固体として懸濁物の上澄から分離し、この固体をエタノールで2回洗浄して、メタノールと塩を除去した。この固体を室温で真空乾燥した。産物の重量を用いて回収率を計算した。粒径は、レーザー回折粒径分析器（即ちJEOL Carry Scope JCM-5700 SEM装置）を用いて解析した。

#### 【0087】

上記手順は、微小インスリンのバッチごとに4回反復した。

#### 【0088】

表1は、実施例2に記載の4つのバッチ産物における回収率の再現性を示す。表2に見られるように、実施例2の回収率は86%を超える。

【表1】

表1

バッチID	回収率%
1	86.4
2	86.1
3	86.8
4	86.2
平均	86.4
標準偏差	0.3
相対標準偏差, %	0.4

10

## 【0089】

表2は、実施例2のバッチにおいて生産された微小ヒトインスリン粒子の粒径分布の再現性を示す。表2から、実施例2に関して記載されるように調製された微小インスリンの粒径は、例えば5 $\mu$ m未満で肺送達に適していると結論された。例えば、表2に見られるように、実施例2の微小インスリンにおいて、平均粒径D50は1.54 $\mu$ mで、平均粒径D10は0.75 $\mu$ mで、平均粒径D90は3.04 $\mu$ mで、これは、肺送達に適している。D50は、試料の全体積に対して、試料の50vol%がそれより小さい粒径を有し、試料の50vol%がそれより大きい粒径を有する、最大の粒径である。D10は、試料の全体積に対して、試料の10vol%がそれより小さい粒径を有する、最大の粒径である。D90は、試料の全体積に対して、試料の90vol%がそれより小さい粒径を有する、最大の粒径である。

20

## 【表2】

表2

バッチID	粒径分布( $\mu$ m)			
	D10	D50	D90	体積平均径
1	0.72	1.46	2.9	1.68
2	0.77	1.58	3.0	1.77
3	0.75	1.52	2.95	1.74
4	0.76	1.59	3.31	1.96
平均	0.75	1.54	3.04	1.79
標準偏差	0.02	0.06	0.18	0.12
相対標準偏差	2.9%	3.9%	6.1%	6.8%

30

## 【0090】

加工前後のインスリンの化学的安定性を、United States Pharmacopeia (USP)のChapter <621>に記載の高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)及びヒトインスリンモノグラフのための不純物試験に使用されるUSP法によって試験した。図4は、実施例2に記載の微小化プロセス前後のインスリンの不純物プロフィールを示す。図4に示すように、インスリンダイマー、高分子量タンパク質、A-21デサミドインスリン又は微小化プロセスの過程でのインスリン中の関連する化合物等の、不純物の量に、顕著な変化は無かった。

40

## 【0091】

図5は、実施例2に記載のように調製された溶解インスリン粒子の高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)クロマトグラフを示す。図5のHPLCクロマトグラフは、微小インスリンの保持時間が元のインスリン材料のものと比べて統計的に有意な変化を示さな

50

いことを示す。この微小インスリン粒子の解析からの証拠は、インスリンの化学的完全性が、微小化プロセスの過程で維持され、又は実質的に維持されることを示唆する。

【0092】

微小インスリン粒子の粒径分布は、Symptec GmbH製レーザー回折CUVETTE CUV-50ML/USを使用して評価された。微小インスリン粒子は、エタノール媒体（エタノール溶液）中で試験された。取得されたデータは、粒子の全体積に対して99vol%超の粒子の粒径が5µm未満で、表2に示すように、4つの全てのバッチの体積平均径の平均が1.79µmであることを示す。従って、微小インスリン粒子は、微小インスリン粒子の全体積に対して99vol%超（例えば99~100vol%）の5µmの粒径を有する粒子を含有し得る。幾つかの態様において、微小インスリン粒子は、微小インスリン粒子の全体積に対して最大で99vol%の5µmの粒径を有する粒子を含有し得る。

10

【0093】

図6は、それぞれ1,1,1,2-テトラフルオロエタン(HFA 134A)、1,1,1,2,3,3,3-ヘプタフルオロプロパン(HFA 227)、又はHFA 134A及びHFA 227の混合物を含有する推進剤を利用した3つの定量吸入器によって供給されたヒトインスリン（実施例2に記載のようにして生産されたAPI）のAndersen Cascade Impactor試験を示すチャートである。定量吸入器は、実施例11に記載のようにして調製された。図6に示すデータから、3つの異なる推進剤（HFA 134A、HFA 227、並びにHFA 134A及びHFA 227の混合物）が、実施例2に記載のようにして生産された微小ヒトインスリンに利用されたとき、同等の結果を提供したと結論付けられた。

20

【0094】

図7は、3つの異なる推進剤（それぞれHFA 134a、HFA 227、並びにHFA 134A及びHFA 227の混合物）を利用したによって供給されたヒトインスリン（実施例2に記載のようにして生産されたAPI）の3つの異なるステージ分類でのAndersen Cascade Impactor解析結果を示すチャートである。定量吸入器は、実施例11に記載のようにして調製された。図7に示すデータから、3つの異なる推進剤が、実施例2に記載のようにして生産された微小ヒトインスリンに利用されたとき、同等の結果を提供したと結論付けられた。

30

【0095】

実施例3 100vol%水溶液中の吸引可能なインスリン粒子の調製方法

吸引可能なヒトインスリン粒子は、pH2.0の約100vol%精製水溶液（精製水とpHが2になるのに十分な量の酸を含有する溶液）を90vol%メタノール含有酸性溶液に代えて使用した以外、実施例1に記載のものと同様に調製された。得られたヒトインスリン粒子の粒径分布は、実施例2に記載のようにして解析された。粒径分布解析の結果は、吸引可能なヒトインスリン粒子の粒径が平均2.01µmであることを示した。上記のように、実施例1に記載のようにして調製された吸引可能なヒトインスリン粒子の粒径D50は2µm未満で、実施例2に記載のようにして調製された4バッチの吸引可能なヒトインスリン粒子（これらも90vol%メタノールを含有する酸性溶液を使用して調製された）の体積平均径の平均は1.79µmであった。従って、溶媒の組成（例えばメタノール対水）は、生産される微小ヒトインスリンのサイズを変化させ得ることが示される。

40

【0096】

実施例4 低メタノール濃度溶液中での吸引可能なヒトインスリン粒子の調製方法

吸引可能なヒトインスリン粒子は、pH約2.0の50vol%メタノール（他の50vol%として水とHClを含有する）、又は10vol%メタノール（他の90vol%として水とHClを含有する）を、ヒトインスリン材料を溶解するのに使用される90vol%メタノール含有酸性溶液に代えて使用した以外、実施例1に記載のものと同様に調製された。

【0097】

50

表4は、実施例1、3及び4に記載のように微小化されたヒトインスリン粒子の粒径分布データを示す。

【表3】

表4

ID#	溶媒	粒径分布(μm)			
		D10	D50	D90	体積平均径
実施例3	100 vol% 水	0.65	1.63	3.92	2.01
実施例4	10 vol% MeOH	0.65	1.66	3.77	2
実施例4	50 vol% MeOH	0.33	0.74	1.52	0.87
実施例1	90 vol% MeOH	0.72	1.51	2.94	1.71

10

【0098】

従って、ヒトインスリン(生材料)を溶解するのに用いられる出発溶媒(例えばメタノール溶液対水)や溶媒濃度(例えば酸性溶液の全体積に対するメタノール濃度10vol%、50vol%又は90vol%)が微小ヒトインスリン粒子の粒径に影響し得ることが結論付けられた。

20

【0099】

実施例5 10vol%エタノール溶液中の吸引可能なヒトインスリン粒子の調製方法

吸引可能なヒトインスリン粒子は、10vol%エタノール(他の90vol%として水とHClを含有する)を、インスリンを溶解するために使用される90vol%メタノール含有酸性溶液に代えて使用した以外、実施例1に記載のものと同様に調製された。得られた吸引可能なヒトインスリン粒子の粒径分布は、実施例2に記載のようにして解析された。粒径分布解析の結果は、吸引可能なヒトインスリン粒子の体積平均径が1.36μmであることを示した。

30

【0100】

実施例6 pHの異なる90vol%メタノール溶液を利用したヒトインスリンを吸引可能な粒子に微小化する方法

吸引可能なヒトインスリン粒子は、pH5.64の緩衝溶液に代えてpH3~9のNaOHを含有する一揃いの緩衝溶液を使用した以外、実施例1に記載のものと同様に調製された。得られた吸引可能なヒトインスリン粒子の粒径分布は、実施例2に記載のようにして解析された。NaOHは、溶液のpHを調製するのにも使用された。粒径分布解析の結果及び滴定後の対応する緩衝溶液のpHを表5に示す。表5に示すデータから、pH3~9の緩衝溶液の利用は、微小化プロセスの態様に適していると結論付けられた。

【表4】

表5

#	pH	粒径分布 ( $\mu\text{m}$ )			
		D10	D50	D90	体積平均径
1	3.1	0.5	1.16	2.32	1.31
2	3.7	0.58	1.35	2.91	1.59
3	4.9	0.66	1.43	2.9	1.65
4	5.3	0.63	1.29	2.4	1.42
5	6.0	0.7	1.44	2.27	1.63
6	6.2	0.72	1.51	2.94	1.71
7	7.0	0.6	1.22	2.21	1.33
8	7.9	0.56	1.17	2.12	1.28
9	8.8	0.57	1.18	2.13	1.29

10

## 【0101】

実施例7 イソプロピルアルコール共溶媒を利用した吸引可能なヒトインスリン粒子の調製方法

吸引可能なヒトインスリン粒子は、滴定が完了又は実質的に完了した後に懸濁物に添加されるエタノールに代えてイソプロピルアルコールを使用した以外、実施例1に記載のものと同様に調製された。得られた吸引可能なヒトインスリン粒子の粒径分布は、実施例2に記載のようにして解析された。粒径分布解析の結果は、吸引可能なヒトインスリン粒子の体積平均径が1.27  $\mu\text{m}$ であったことを示した。

20

## 【0102】

実施例8 アセトン共溶媒を利用した吸引可能なヒトインスリン粒子の調製方法

吸引可能なヒトインスリン粒子は、滴定が完了又は実質的に完了した後に懸濁物に添加されるエタノールに代えてアセトンを使用した以外、実施例1に記載のものと同様に調製された。得られた吸引可能なヒトインスリン粒子の粒径分布は、実施例2に記載のようにして解析された。粒径分布解析の結果は、吸引可能なヒトインスリン粒子の体積平均径が1.32  $\mu\text{m}$ であったことを示した。

30

## 【0103】

実施例9 インスリングラルギン類似体を吸引可能な粒子に微小化する方法

インスリングラルギンは、長期作用性のヒトインスリン類似体である。ここで用いられるインスリングラルギンは、市販のインスリングラルギン(LANTUS(登録商標))を限外濾過して取得された。このインスリングラルギンは、洗浄及び凍結乾燥してから使用された。70mgの洗浄及び凍結乾燥したインスリングラルギンを、pH約2.2で酸性溶液の全体積に対して90vol%のメタノール(他の10vol%として水及びHClを含有する)を含有する酸性溶液7.7ml中に溶解した。インスリングラルギンが完全に又は実質的に完全に溶解した後、pH6.9のリン酸緩衝溶液1.75mlを滴下して溶解インスリングラルギン溶液を滴定した。この溶液に10mlのエタノールが添加された。以上の溶解、滴定及びエタノール添加は、定常(実質的に連続)攪拌下で実施された。透明な溶解インスリングラルギン溶液は、微小インスリングラルギン粒子を含有する乳濁物となる。この微小インスリングラルギン粒子は、分離、洗浄及び乾燥された。この微小インスリングラルギン粒子の粒径分布は、実施例2に記載のレーザー回折試験を使用して解析された。粒子分布解析は、微小インスリングラルギン粒子の体積平均径が2.27  $\mu\text{m}$ であることを示した。図8は、微小インスリングラルギン粒子の走査型電子顕微鏡(SEM)画像である。図9は、溶解した微小インスリングラルギン粒子のHPLCクロマトグラフである。図9に示すHPLCの結果の保持時間は、微小化プロセスの過程でインスリングラルギンの化学的特性が変化しなかった(又は実質的に変化しなかった)こと

40

50

を示す。図10及び11は、推進剤としてHFA 134Aを使用する定量吸入器から送達されたインスリンラゲリン粒子のAndersen Cascade Impactor試験の結果を示すチャートである。定量吸入器は、実施例11に記載のようにして調製された。図10及び11に示す試験結果は、一定又は実質的に一定のパターンを示した。

#### 【0104】

実施例10 インスリンアスパルト類似体を吸引可能な粒子に微小化する方法

インスリンアスパルトは、即効性のインスリン類似体である。ここで用いられるインスリンアスパルトは、NovoLog（登録商標）（Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark）を限外濾過して取得された。限外濾過されたインスリンアスパルトは、洗浄及び凍結乾燥してから使用された。70mgの洗浄及び凍結乾燥したインスリンアスパルトを、pH約2.2の酸性水溶液7.7ml中に溶解して、インスリンアスパルトを含有する溶解インスリン溶液を形成した。インスリンアスパルトが完全に又は実質的に完全に溶解した後、pH5.64の酢酸緩衝溶液4.2mlを滴下して溶解インスリンアスパルト溶液を滴定した。この溶液に78mlのエタノールを添加して、懸濁液を取得した。以上の溶解、滴定及びエタノール添加は、定常（実質的に連続）撹拌下で実施された。透明な溶解インスリンアスパルト溶液は、微小インスリンアスパルト粒子を含有する乳濁物となった。この微小インスリンアスパルト粒子は、分離、洗浄及び乾燥された。この微小インスリンアスパルト粒子の粒径分布は、実施例2に記載のレーザー回折試験を使用して解析された。粒子分布解析は、微小インスリンアスパルト粒子の体積平均径が2.72µmであることを示した。図12は、微小インスリンアスパルト粒子の走査型電子顕微鏡（SEM）画像である。図13は、溶解した微小インスリンアスパルト粒子のHPLCクロマトグラフである。図13に示すHPLCの結果の保持時間は、微小化プロセスの過程でインスリンアスパルトの化学的特性が変化しなかった（又は実質的に変化しなかった）ことを示す。

#### 【0105】

図14及び15は、推進剤としてHFA 134Aを使用する定量吸入器から送達されたインスリンアスパルト粒子のAndersen Cascade Impactor試験の結果を示すチャートである。定量吸入器は、実施例11に記載のようにして調製された。図14及び15に示す試験結果は、一定又は実質的に一定のパターンを示した。

#### 【0106】

実施例11 インビトロAndersen Cascade Impactor試験のための定量吸入器の調製

定量吸入器（MDI）は、以下のプロセスに従い調製された。適当な量の微小ヒトインスリンAPI（例えば微小ヒトインスリン粒子又は微小ヒトインスリン類似体粒子）及びエタノールを吸入器キャニスター内に充填した。キャニスターの内容物を、を用いて超音波エネルギーを適用することによって5分間混合して、均一又は実質的に均一な懸濁物とした。HFA 134A、HFA 227又はそれらの混合物等の異なる推進剤を添加して、キャニスターを、適切なバルブを締めることにより密封した。

#### 【0107】

微小ヒトインスリン（例えば微小ヒトインスリン粒子又は微小ヒトインスリン類似体粒子）は、有効成分として定量吸入器（MDI）に充填された。吸入器内のヒトインスリン又はインスリン類似体の濃度は、3mg/gであった。図7、図11及び図15に示すAndersen Cascade Impactorデータは、レーザー回折粒径分析器を用いて観察された粒径分布結果と良く対応している。ここで示すAndersen Cascade Impactorデータにおいて、放出された用量は、Andersen Cascade Impactor上に堆積したヒトインスリン又はインスリン類似体のパーセンテージを示す。

#### 【0108】

本願プロセスの態様によって微小化されたヒトインスリン粒子の形状及び表面の粗さ（

10

20

30

40

50

又は滑らかさ)は、かなり適切又は好ましいものである(例えば肺送達において適切又は好ましい)。ジェットミリングによる微小化は、粒子をミリメートルサイズ範囲からより小さいマイクロメートルサイズ範囲に挽き潰す通常の方法である。ジェットミリングプロセスは、高速ガス流による粒子同士の頻繁な衝突とミリングチャンバーの壁との衝突を含む。ジェットミリングにより生産される微小粒子は、ガス流の循環動作及び遠心力によってチャンバーから抽出される。これらの機械力は、比較実施例1に記載するように、肺送達にとって好ましくない又は不適切であり得る、微小化粒子の表面及び形状へのダメージを生じ得る。

【0109】

比較実施例1 ジェットミリングによるヒトインスリン粒子の調製

10

ヒトインスリン粒子は、N<sub>2</sub>圧力75PSI及び供給速度約1g/分のグラインドを用いるジェットミリングによって調製された。図16は、ジェットミリング法によって微小化されたヒトインスリン粒子の原子間力顕微鏡(AFM)画像である。図16の画像に見られるように、ジェットミリングによって調製されるヒトインスリン粒子は、粗く不規則(又は不均一)な外観を有している。

【0110】

図17は、実施例2に記載のようにして微小化された吸引可能なヒトインスリン粒子のAFM画像である。ここで開示するプロセスの態様は、室温で実施され、機械力及び/又は熱を含まない(又は実質的に機械力及び/又は熱を含まない)ため、微小ヒトインスリン粒子は、ヒト肺送達により適した又はより好ましい形状及び表面を有する。

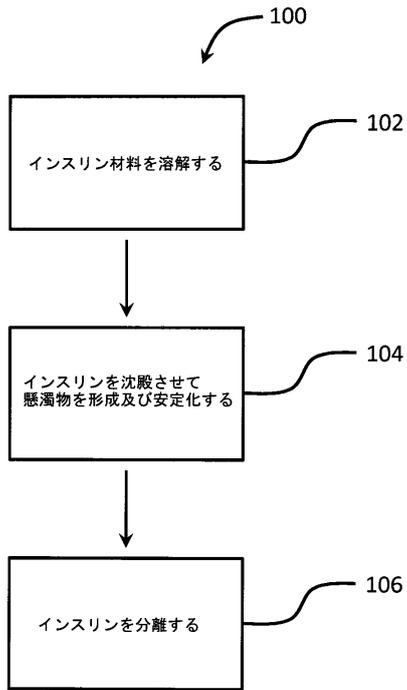
20

【0111】

本発明は幾つかの態様に関連して記載されているが、本発明は、開示されている態様に限定されず、一方、請求項に記載の発明及びその均等物の精神及び範囲内に含まれる、様々な改変及び均等な変更を包含することを意図すると理解されたい。本文及び請求項全体において、「約」及び「実質的に」という用語は、程度の用語ではなく近似の用語として使用され、当業者が理解するように、測定値、有効数字及び相互置換性に関連する内在的な変化を反映する。また、本明細書及び請求項全体において、「約」が付されていない数値も、他の言及の無い限り、その用語によって修飾されているものと理解されたい。

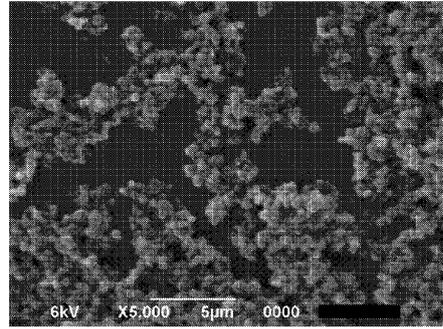
【 図 1 】

FIG. 1



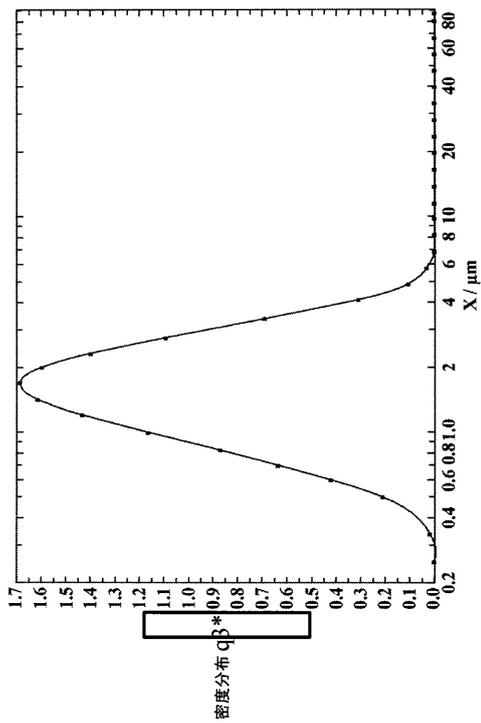
【 図 2 】

FIG. 2



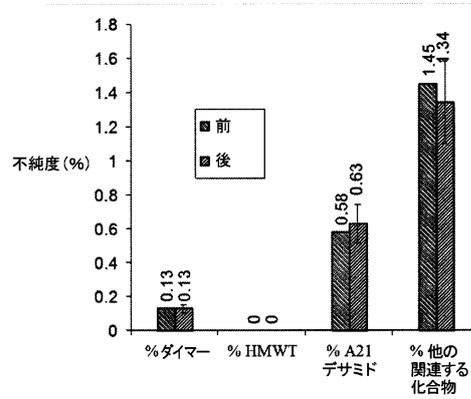
【 図 3 】

FIG. 3



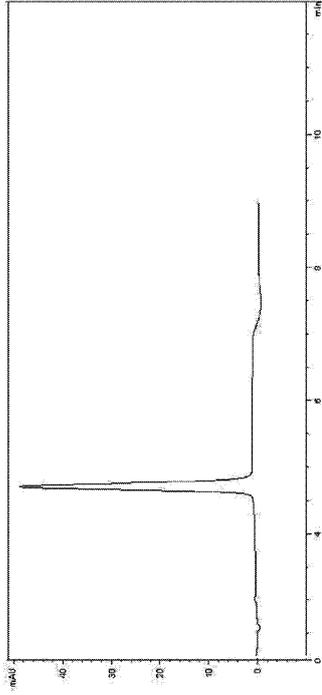
【 図 4 】

FIG. 4



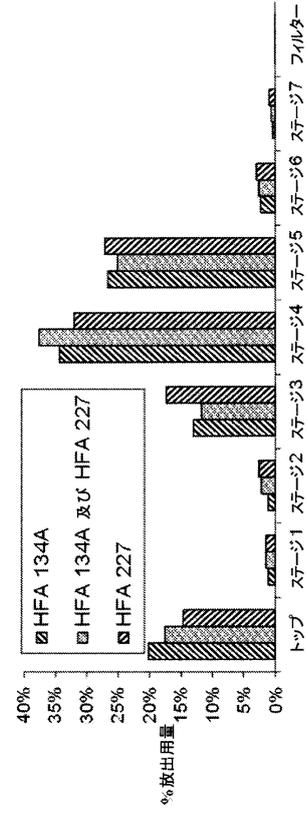
【 図 5 】

FIG. 5



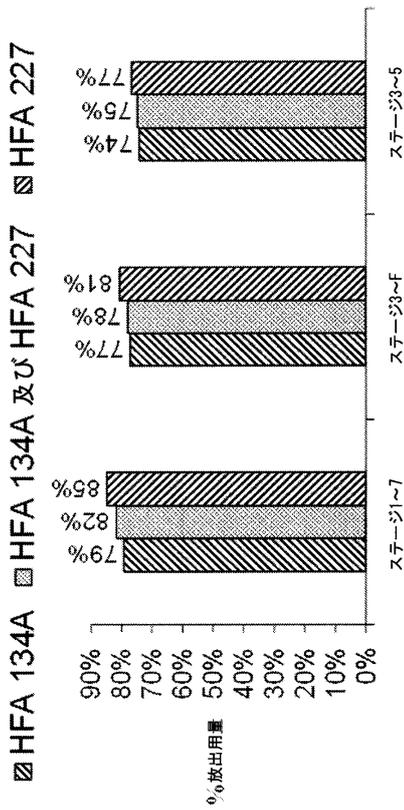
【 図 6 】

FIG. 6



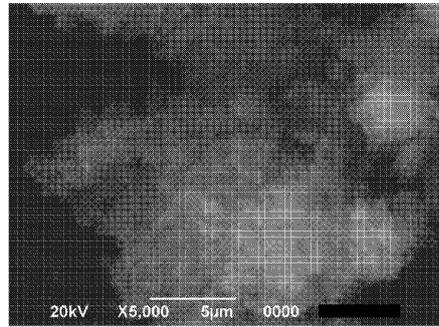
【 図 7 】

FIG. 7



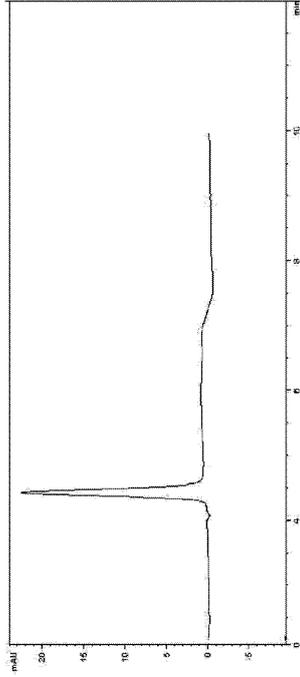
【 図 8 】

FIG. 8



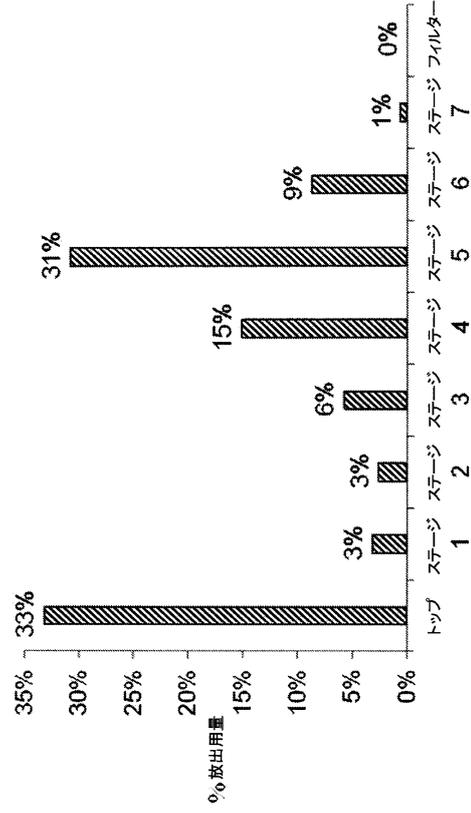
【 図 9 】

FIG. 9



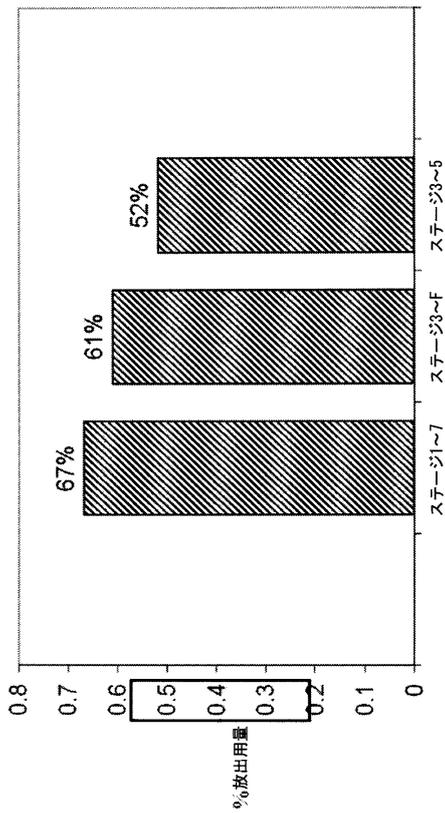
【 図 10 】

FIG. 10



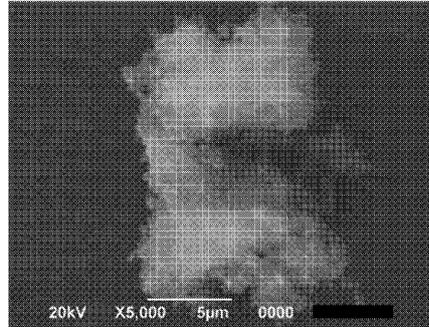
【 図 11 】

FIG. 11



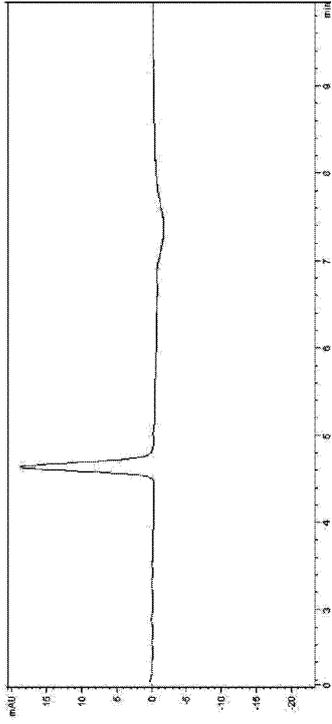
【 図 12 】

FIG. 12



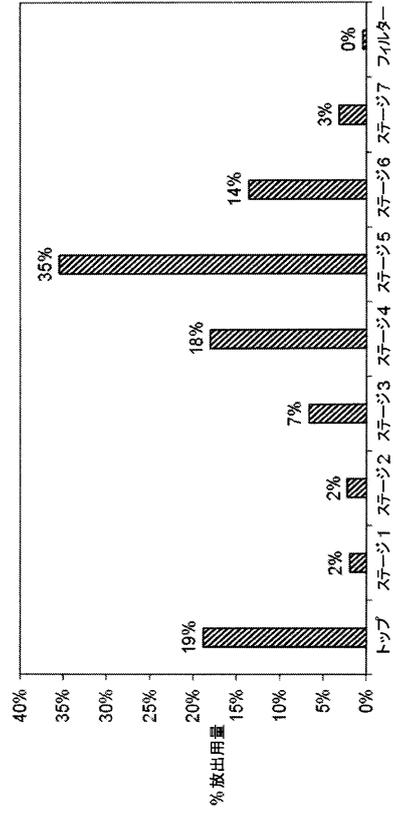
【 図 1 3 】

FIG. 13



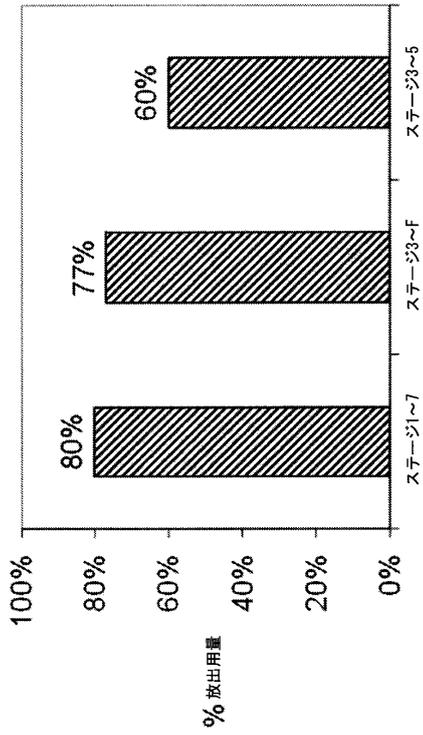
【 図 1 4 】

FIG. 14



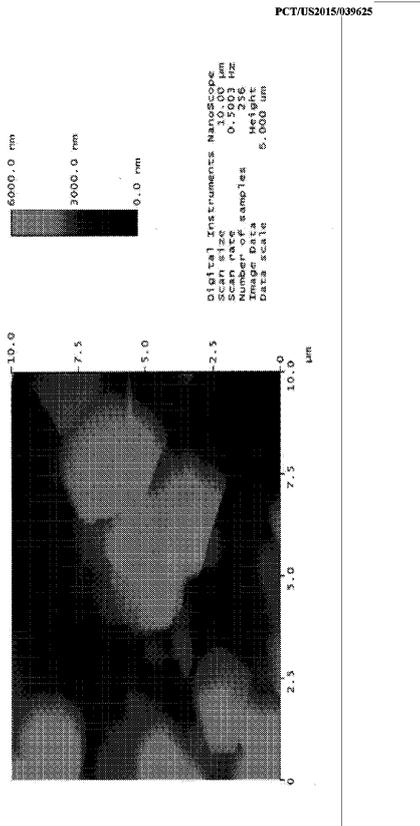
【 図 1 5 】

FIG. 15



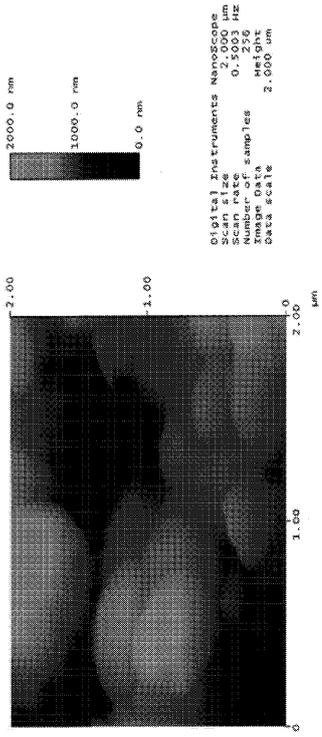
【 図 1 6 】

FIG. 16



【 17 】

FIG. 17



## フロントページの続き

- (74)代理人 100117019  
弁理士 渡辺 陽一
- (74)代理人 100150810  
弁理士 武居 良太郎
- (74)代理人 100182730  
弁理士 大島 浩明
- (72)発明者 ジェフリー ディング  
アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 1 7 3 0 , ランチョ クカモンガ, シックス ストリート  
1 1 5 7 0
- (72)発明者 アイリ ボー  
アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 1 7 3 0 , ランチョ クカモンガ, シックス ストリート  
1 1 5 7 0
- (72)発明者 マリー ジッピング ルオ  
アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 1 7 3 0 , ランチョ クカモンガ, シックス ストリート  
1 1 5 7 0
- (72)発明者 ジャック ヨーンフオン ジャーン  
アメリカ合衆国, カリフォルニア 9 1 7 3 0 , ランチョ クカモンガ, シックス ストリート  
1 1 5 7 0

審査官 渡邊 潤也

- (56)参考文献 特表2007-531701(JP, A)  
Bailey, M.M. et al., Pure insulin nanoparticle agglomerates for pulmonary delivery., *Langmuir*, 2008年12月2日, Vol.24, No.23, p.13614-20  
分析化学, 1966年, 15(8), p.811-816

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
A61K 38/00  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)  
CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)