



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0003197
(43) 공개일자 2021년01월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 - A61K 9/127 (2006.01) A61K 31/404 (2006.01)
 - A61K 31/4412 (2006.01) A61K 31/4439 (2006.01)
 - A61K 31/47 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01)
 - A61K 31/506 (2006.01) A61K 31/517 (2006.01)
 - A61K 47/10 (2017.01) A61K 9/00 (2006.01)
 - A61P 11/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
 - A61K 9/1272 (2013.01)
 - A61K 31/404 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7033553
- (22) 출원일자(국제) 2019년04월23일
 - 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년11월20일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/028647
- (87) 국제공개번호 WO 2019/209787
 - 국제공개일자 2019년10월31일
- (30) 우선권주장
 - 62/661,217 2018년04월23일 미국(US)

- (71) 출원인
 - 티엘씨 바이오파머슈티컬즈 인코포레이티드
 - 미국 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 611 스위트 830 (우: 94080)
 - 타이완 리포숨 캄퍼니 리미티드
 - 대만 타이페이 난강 디스트릭트 유안쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1 (우: 11503)
- (72) 발명자
 - 홍, 키룡
 - 미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 노스 카날 스트리트 432 #20
 - 팡, 조나단
 - 미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 노스 카날 스트리트 432 #20
 - (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 - 특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 **폐 질환 치료에 사용하기 위한 흡입 가능한 리포숨 서방형 조성물**

(57) 요약

폐 질환 치료에 사용하기 위한 리포숨 서방형 조성물이 제공된다. 리포숨 서방형 조성물은 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-변형 지질을 포함하고 티로신 키나제 억제제를 캡슐화하는 리포숨을 포함한다. 티로신 키나제 억제제는 리포숨에 안정적으로 포획되고, 생성된 리포숨 약물 제형은 흡입을 통한 투여를 위해 에어로졸화되거나 분무될 수 있다. 이렇게 에어로졸화된 리포숨 약물 제형은 요망되는 효능과 안전성을 달성하면서 일관된 약동학적 및 약역학적 프로파일을 생성한다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/4412 (2013.01)
A61K 31/4439 (2013.01)
A61K 31/47 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
A61K 31/517 (2013.01)
A61K 47/10 (2013.01)
A61K 9/0078 (2013.01)
A61P 11/00 (2018.01)

(72) 발명자

첸, 유-첸

타이완 11503 타이베이 시티 난강 디스트릭트 유안
쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1

첸, 텡-유

타이완 11503 타이베이 시티 난강 디스트릭트 유안
쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1

유, 완-니

타이완 11503 타이베이 시티 난강 디스트릭트 유안
쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1

탕, 조-신

타이완 11503 타이베이 시티 난강 디스트릭트 유안
쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1

명세서

청구범위

청구항 1

포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜을 포함하는 폐 질환 치료에 사용하기 위한 리포솜 서방형 조성물로써, 각각의 리포솜이,

하나 이상의 인지질, 스테롤 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-변형 지질을 포함하는 지질 이중층; 및 지질 이중층에 의해 둘러싸이고 티로신 키나제 억제제를 포획하는 수성 내부를 포함하는, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 조성물이 약 100 g 약물/인지질 mol 내지 약 1,000 g 약물/인지질 mol, 약 200 g 약물/인지질 mol 내지 약 1000 g 약물/인지질 mol, 및 약 0.1 mol 약물/인지질 mol 내지 약 2.5 mol 약물/인지질 mol의 범위로부터 선택되는 약물-대-인지질 비율을 갖는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 조성물이 약 1 mM 내지 약 25 mM 범위의 지질 농도를 갖는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 티로신 키나제 억제제의 농도가 약 1 mg/mL 내지 약 15 mg/mL 범위인 리포솜 서방형 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, PEG-변형 지질이 총 인지질 및 스테롤을 기준으로 6 mol% 미만의 양으로 존재하는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 폐 질환이 폐 섬유증, 비소세포폐암 및 전신 경화증으로 구성된 군으로부터 선택되는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, PEG-변형 지질이 약 1,000 g/mol 내지 약 5,000 g/mol 범위의 평균 분자량을 갖는 PEG 모이어티를 갖는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, PEG-변형 지질이 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)](DSPE-PEG)인 리포솜 서방형 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 하나 이상의 인지질이 중성 인지질이고 리포솜의 DSPE-PEG가 총 인지질 및 스테롤을 기준으로 약 0.001 mol% 내지 약 5 mol% 범위의 양으로 존재하는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 인지질이 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC) 및 포스파티딜에탄올아민 지질, 및 이들의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 총 인지질 대 스테롤의 몰비가 약 1:1 내지 약 3:2 범위인 리포솜 서방형 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 조성물의 리포솜이 약 50 nm 내지 약 400 nm의 평균 입자 직경을 갖는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 티로신 키나제 억제제가 닌테다닙, 사라카티닙, 악시티닙, 카보잔티닙, 파조파닙, 반데타닙, 레고라페닙, 소라페닙 및 수니티닙으로 구성된 군으로부터 선택되는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 티로신 키나제 억제제가 치환된 인돌린 화합물인 리포솜 서방형 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 티로신 키나제 억제제가 포획제를 사용하는 막횡단 pH 구배-구동 원격 로딩 방법을 통해 리포솜의 수성 내부에 캡슐화되는 리포솜 서방형 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 포획제가 암모늄 설페이트인 리포솜 서방형 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 리포솜 서방형 조성물을 포함하는 폐 질환 치료에 사용하기 위한 에어로졸화된 입자 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 입자가 약 0.5 μm 내지 약 5 μm의 질량 중간 공기역학적 직경을 갖는 에어로졸화된 입자 조성물.

청구항 19

제17항에 있어서, 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜이 폐에서 시간 당 총 티로신 키나제 억제제의 약 0.5% 내지 약 25%의 방출 속도를 갖고, 포획된 티로신 키나제 억제제의 완전한 방출이 최소 약 12시간 또는 최소 약 24시간 후에 발생하는 에어로졸화된 입자 조성물.

청구항 20

제17항에 있어서, 0.001 mg/kg 내지 50 mg/kg의 양으로 투여되는 에어로졸화된 입자 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 2018년 4월 23일 출원된 미국 가출원 번호 62/661,217의 우선권의 이익을 주장하며, 그 전문은 본원에 참조로서 포함된다.

배경 기술

[0003] **배경**

[0004] **기술 분야**

[0005] 본 개시는 서방형 리포솜 조성물의 전달을 위한 흡입 가능한 약물 전달 시스템에 관한 것이다. 본 개시는 약물 전달 시스템을 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 개시는 또한 연장된 효능 지속기간을 갖는 폐 전달 시스템에 적합화된 서방형 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0006] 관련 분야의 설명

[0007] 바람직하지 않은 폐 질환은 다양한 외부 이펙터로부터 발생하며 고령화 사회에서 큰 문제가 되고 있다. 예시적인 폐 질환인 특발성 폐 섬유증(IPF)은 전 세계적으로 약 3백만 명이 앓고 있으며, 대부분의 환자는 50세 이상이다. 이 질환의 예후는 좋지 않으며 IPF 환자의 평균 생존 시간은 진단 후 2 내지 3년이다. IPF는 거의 희귀성 폐 질환이며, 치명적인 예후와 제한된 치료 옵션으로 쇠약해지는 증상을 보인다(판매가 승인된 2개의 약물).

[0008] IPF 치료용으로 승인된 하나의 티로신 키나제 억제제인 닌테다닙(nintedanib)은 하루에 300 mg의 고용량으로 투여되며, 150 mg의 권장 투여량을 갖는 캡슐로 하루에 2회 경구 복용된다. 임상 시험에서, 그러한 경구 티로신 키나제 억제제의 투여 요법은 플라시보와 비교했을 때 폐 기능 저하를 약 50%만큼 감소시켰다(강제 폐활량 증가).

[0009] 그러나, 티로신 키나제 억제제를 경구 투여하면 생체이용률이 매우 낮아지며, 예를 들어, 닌테다닙의 경우 인간에서 4.7%이다. 현재 치료량의 닌테다닙에 의한 경구 치료의 요망되지 않는 부작용은 설사(가장 빈번한 부작용), 메스꺼움, 위통, 간 문제, 구토, 식욕 감소, 두통, 체중 감소 및 고혈압을 포함한다.

[0010] 리포솜은 수성 내부를 갖는 인지질 이중층을 포함하는 자가 조립된 지방산 소포이다. 이러한 소포는 수십 년 동안 지속적인 약물 전달을 위한 약물 담체로 활용되어 왔다. 약물의 리포솜 캡슐화는 유리 약물의 약동학적 프로파일을 변경하고, 전신 또는 질병 부위에서 느린 약물 방출을 제공하며, 약물 투여가 덜 빈번한 고용량 투여를 허용하며, 아마도 부작용 및 독성을 감소시킨다. 리포솜 내부의 높은 약물 캡슐화는 원격 로딩 방법(활성 로딩이라고도 공지됨)을 통해 달성될 수 있으며, 이는 막횡단 pH 및 이온 구배에 의존하여 유리된 하전되지 않은 약물 분자가 리포솜으로 확산될 수 있도록 한다. 리포솜 내부에 있는 동안, 유리 약물 분자는 수성 내부의 포획제(반대이온)와 복합체를 형성하여 리포솜 내부에 머무르는 약물-반대이온 염으로 침전될 수 있다. 리포솜 약물 제형은 생체 내에서 느린 약물 방출을 달성하도록 조정될 수 있으며, 이는 약물의 치료 효과를 연장시킨다. 이는 리포솜 제형을 조정하고 사용된 인지질(다양한 사슬 길이, 상 전이 온도), 지질 대 콜레스테롤 비, 리포솜에 있는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)의 양(대식세포에 의한 제거를 피하기 위해), 약물 캡슐화에 사용되는 포획제, 및 아마도 리포솜의 적층성(lamellarity)과 같은 특정 리포솜 특성을 최적화함에 의해 완수될 수 있다.

[0011] 리포솜에 안정적으로 포획된 약물은 흡입 전달을 위해 에어로졸화되거나 분무될 수 있다. 그러나, 리포솜 기술을 이용하여 티로신 키나제 억제제를 제형화하는 것이 IPF 또는 다른 폐 질환을 치료하기 위한 치료 용량의 흡입용 제형을 생성할 수 있다는 것은 쉽게 명백하지 않다. 연구에 따르면 예측할 수 없는 방출 프로파일, 혈장 반감기 및 생체분포가 생체내 리포솜 약물 제형의 다양한 투여 경로에 의해 얻어진다. 이것은 폐 질환을 치료하는데 사용된 광범위한 활성 약제에서 관찰되었다. 따라서, 리포솜 약물 제형은 흡입을 통한 투여가 요망되는 효능 및 안전성을 달성하면서 일관된 약동학적 및 약역학적 프로파일을 생성하는 방식으로 조정되어야 한다.

[0012] 현재, 임상 시험에 도달한 2개의 흡입 가능한 리포솜 약물 제품이 개발 중에 있다: 리포솜 아미카신 및 리포솜 시프로플록사신. 흡입용 리포솜 항생제 둘 모두는 낭성 섬유증(CF), 비-CF 기관지확장증, 비결핵성 마이코박테리아 폐 질환 및 다른 병독성 감염과 같은 다발성 호흡기 질환을 치료하기 위해 조사되고 있다. 흡입 치료용 리포솜 약물 제형 둘 모두는 전기적으로 중성이 되게 지질 함량을 수정하거나(US 8,226,975) 대식세포의 인력을 약화시키기 위해 유리 시프로플록사신의 입자 크기와 양을 조정하여(US 8,071,127) 항생제가 미생물 또는 감염된 조직에 쉽게 접근할 수 있도록 설계되었다.

[0013] 불행히도, 기존의 흡입 가능한 리포솜 제형은 IPF와 같은 다른 폐 질환의 치료에 대한 충족되지 않은 요구를 만족시킬 수 없으며, 이는 심부 폐 침착, 향상된 점액 침투, 폐에서 연장된 약물 체류 및 리포솜 약물 안정성 증가를 비제한적으로 포함하는 상이한 표적 생성물 프로파일을 갖는 약물 제품을 필요로 할 수 있다. 현재까지, 어떤 관련 연구도 지질-기반 서방형 조성물 형태의 티로신 키나제 억제제 등에 의한 폐 질환 치료에 효과적인 흡입 가능한 약물을 보고하지 않았다. 따라서, IPF와 같은 폐 질환 치료에 적합한 제형에 대한 충족되지 않은 요구가 있다: 이것은 흡입 가능하고, 개선된 안정성 또는 국소 폐 계면활성제에 의한 파괴에 대한 내성을 갖고, 나아가 폐 환경에서 요망되는 효능에 도달할 가능성을 보장하는 용량 강도를 갖는다.

발명의 내용

[0014] 개요

[0015] 본 개시는 인지질(들), 스테롤, PEG-변형 인지질 및 리포솜의 수성 내부에 포획된 티로신 키나제 억제제를 포함하는 흡입 가능한 리포솜 약물 제형을 제공한다. 일부 구체예에서, 포획된 티로신 키나제 억제제는 치환된 인돌

린 화합물이다. 일부 구체예에서, 치환된 인돌린 화합물은 다테다닙이다.

- [0016] 폐 섬유증과 같은 폐 질환의 기존 치료 패러다임을 개선하고, 느리고 지속적인 약물 방출의 이점을 활용하기 위해, 본 발명자는 리포솜-캡슐화된 티로신 키나제 억제제 및 폐 질환의 치료를 강화하기 위해 에어로졸화되고 흡입될 수 있는 수성 현탁액 중 소정량의 유리 티로신 키나제 억제제를 포함하는 티로신 키나제 억제제의 리포솜 서방형 조성물을 개발하였다. 특히, IPF 치료를 위한 흡입 가능한 형태의 다테다닙이 필요하다.
- [0017] 본 개시는 1) 훨씬 낮은 약물 용량으로 치료 효과 달성, 2) 질병 부위에 약물의 직접 전달, 3) 더 빠른 작용 개시, 4) 약물 부작용 및 전신 효과 감소, 5) 경구 투여에서 관찰된 초회-통과 대사를 우회하여, 약물의 생체이용률 증가(및 아마도 간독성 감소), 6) 리포솜 약물 제형으로부터 지속 방출을 통해 폐에서 약물의 체류 시간 증가, 7) 약물 투여 빈도 감소, 8) 비침습적 흡입 전달, 및 9) 환자 결과 및 순응도 개선의 이점을 갖는 IPF의 치료에 사용하기 위한 티로신 키나제 억제제의 리포솜 서방형 조성물을 제공한다. 에어로졸화된 입자 형태의 IPF 치료용 티로신 키나제 억제제의 리포솜 서방형 조성물의 흡입되는 약물 용량은 여전히 유사한 치료 효능을 달성하면서 경구 용량보다 상당히 낮아질 수 있다.
- [0018] 본 개시에 따른 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜은 안전하고, 효과적이며, 1일 1회 또는 심지어 덜 빈번한 투여에 적합한 더 길고 지속적인 약물 방출을 달성하기 위해 상당한 양의 PEG 모이어티를 포함한다.
- [0019] 일부 구체예에서, 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜은 1:1 내지 3:2의 몰비로 포스포콜린(PC):콜레스테롤을 포함하며, 여기서 PC는 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC) 또는 이들의 혼합물, 예를 들어, 1:1 몰비의 DSPC 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DPPE)이다.
- [0020] 일부 구체예에서, PEG-변형 포스포에탄올아민(PE)은 DSPE-PEG2000일 수 있으며 리포솜의 총 지질 함량의 0.0001 mol% 내지 40 mol% 범위이다.
- [0021] 일부 구체예에서, 리포솜 서방형 조성물의 지질 농도는 10 mM 내지 25 mM 범위이고 약물-대-지질(D/L) 비율은 300 g/mol 내지 700 g/mol 범위이다.
- [0022] 일부 구체예에서, 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜의 평균 입자 직경은 100 nm 내지 300 nm 범위이다.
- [0023] 다양한 구체예에서, 본 개시는 특발성 폐 섬유증(IPF)의 치료에 사용하기 위한 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜을 포함하는 리포솜 조성물의 에어로졸화된 입자 조성물을 제공하며, 여기서 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜은 적어도 200 g/mol의 약물-대-지질 비율을 갖는다.
- [0024] 또 다른 양태에서, 본 개시는 특발성 폐 섬유증(IPF)의 치료에 사용하기 위한 리포솜 서방형 조성물의 에어로졸화된 입자 조성물을 제공하며, 여기서 조성물은 소정량, 예를 들어, 비제한적으로 총 인지질 및 스테롤을 기준으로 6 mol% 미만의 PEG-변형 지질을 갖는 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜을 포함한다.
- [0025] 또 다른 양태에서, 본 개시는 치료적 유효량의 리포솜 서방형 조성물의 에어로졸화된 입자 조성물의 티로신 키나제 억제제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 폐 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 티로신 키나제 억제제의 치료적 유효량은 대상체의 체중 당 0.001 mg/kg 내지 50 mg/kg 범위이다.
- [0026] 본 개시의 다른 목적, 이점 및 신규한 특징은 첨부 도면과 관련하여 고려될 때 다음의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0027] **도면의 간단한 설명**

- 도 1은 4°C에서 300 mM 암모늄 설페이트(A.S.) 리포솜 다테다닙의 저장 안정성을 보여주는 그래프이다;
- 도 2는 4°C에서 저장된 300 mM 암모늄 설페이트(A.S.) 리포솜 다테다닙의 입자 크기를 보여주는 그래프이다;
- 도 3은 모의 폐액(SLF)에서 리포솜 TKI 제형의 시험관내 방출 프로파일을 나타내는 그래프이다; AS = 암모늄 설페이트; 열린 원 = 300 mM AS, 3.74 mg/mL 다테다닙 및 0.45 mol% PEG-변형 지질을 포함하는 리포솜 TKI 제형; 닫힌 사각형 = 300 mM AS, 3.74 mg/mL 다테다닙 및 1.75 mol% PEG-변형 지질을 포함하는 리포솜 TKI 제형; 오차 막대는 표준 편차를 나타낸다;

도 4는 건강한 마우스의 폐 조직에서 닌테다닙(Nin)의 체류를 나타내는 그래프이다; AS = 암모늄 설페이트; 열린 원 = 3.74 mg/mL 유리 형태 닌테다닙(Nin); 열린 삼각형 = 300 mM AS, 3.74 mg/mL 닌테다닙 및 0.45 mol% PEG-변형 지질을 포함하는 리포솜 TKI 제형; 닫힌 삼각형 = 300 mM AS, 3.74 mg/mL 닌테다닙 및 1.75 mol% PEG-변형 지질을 포함하는 리포솜 TKI 제형; 오차 막대는 표준 편차를 나타낸다;

도 5는 IPF 동물 모델의 마우스 폐 조직에서 닌테다닙(Nin)의 체류를 나타내는 그래프이다; 이 도면은 300 mM AS, 3.74 mg/mL 닌테다닙 및 3 mol% PEG-변형 지질을 포함하는 리포솜 TKI 제형으로 기관내(IT) 투여된 닌테다닙의 체류(닫힌 원)를 경구 투여된 닌테다닙(유리 닌테다닙)의 체류(열린 삼각형)와 비교한다; AS = 암모늄 설페이트; 오차 막대는 표준 편차를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] **구체예의 상세한 설명**
- [0029] 상기 및 본 개시 전체에 이용되는 바와 같이, 다음의 용어는 달리 지시되지 않는 한 다음의 의미를 갖는 것으로 이해될 것이다.
- [0030] 본원에서 사용되는 단수 형태는 문맥에서 명백히 달리 지시하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다.
- [0031] 본원의 모든 숫자는 "약"에 의해 수식된 것으로 이해될 수 있는데, 이는 양, 시간 지속기간 등과 같은 측정 가능한 값을 언급할 때 명시된 값으로부터 ±10%, 바람직하게는 ±5%, 더욱 바람직하게는 ±1%, 및 심지어 더욱 바람직하게는 ±0.1%의 변동을 포함하는 것을 의미하고, 그러한 변동은 달리 명시되지 않는 한 요망되는 양의 리포솜 약물을 수득하기에 적합하기 때문이다.
- [0032] 본원에서 사용되는 용어 "치료하는", "치료된" 또는 "치료"는 예방적(예를 들어, 예방), 완화적 및 치유적 용도 또는 결과를 포함한다.
- [0033] 용어 "대상체"는 암 또는 폐 기능에 영향을 미치는 다른 질병(들)을 갖는 척추동물을 포함한다. 일부 구체예에서, 대상체는 인간을 포함하는 포유동물과 같은 온혈 동물이다.
- [0034] 본원에서 사용되는 용어 약물 대 지질 비율("D/L 비율")은 총 인지질 함량에 대한 티로신 키나제 억제제의 비율을 의미한다. 유리 및 리포솜 약물의 티로신 키나제 억제제 함량은 UV-Vis 흡광도 측정에 의해 결정되었다. 리포솜 및 리포솜 약물의 인지질 함량 또는 농도는 인 검정을 사용하여 리포솜 및 리포솜 약물 샘플의 인 함량을 검정함에 의해 결정되었다(G. Rouser et al., Lipids 1970, 5, 494-496로부터 적합화됨). D/L 비율은 g/mol 또는 mol/mol에 관해 표현될 수 있다. 예를 들어, g/mol 값을 539.62로 나누어 mol/mol 값을 산출함으로써 g/mol의 리포솜 닌테다닙을 mol/mol의 리포솜 닌테다닙으로 변환할 수 있다.
- [0035] 본원에서 사용되는 용어 mol%는 혼합물의 총 물에 대한 혼합물의 주어진 성분의 몰 백분율을 의미한다.
- [0036] **리포솜**
- [0037] 본원에서 사용되는 용어 "리포솜"은 소포를 형성하는 하나 이상의 이중층 막 중 하나의 막에 의해 외부 매질로부터 격리된 수성 내부 공간을 갖는 것을 특징으로 하는 입자를 지칭한다. 리포솜의 이중층 막은 전형적으로 지질, 즉, 공간적으로 분리된 소수성 및 친수성 도메인을 포함하는 합성 또는 천연 기원의 양친매성 분자에 의해 형성된다. 본 개시의 특정 구체예에서, 용어 "리포솜"은 하나의 지질 이중층이 막을 형성하는 작은 단층 소포(SUV) 리포솜을 지칭한다.
- [0038] 일반적으로, 리포솜은 전형적으로 이지방족(dialiphatic) 사슬 지질, 예를 들어, 인지질, 디글리세리드, 이지방족 당지질, 단일 지질, 예를 들어, 스펅고미엘린 및 글리코스펜고리피드, 스테로이드, 예를 들어, 콜레스테롤 및 이의 유도체, 및 이들의 조합으로 구성된 균으로부터 선택되는 하나 이상의 지질을 전형적으로 포함하는 지질 혼합물을 포함한다.
- [0039] 본 개시에 따른 인지질의 예는 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DLPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DMPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1-팔미토일-2-스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(PSPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포타디올콜린(POPC), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DOPC), 수소화된 대두 포스포타디올콜린(HSPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)(소듐 염)(DMPG), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)(소듐 염)(DPPG), 1-팔미토일-2-스테아로일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글

리세롤)(소듐 염)(PSPG), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)(소듐 염)(DSPG), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-rac-글리세롤)(DOPG), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포-L-세린(소듐 염)(DMPS), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-L-세린(소듐 염)(DPPS), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포-L-세린(소듐 염)(DSPS), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포-L-세린(DOPS), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스페이트(소듐 염)(DMPA), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스페이트(소듐 염)(DPPA), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스페이트(소듐 염)(DSPA), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스페이트(소듐 염)(DOPA), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DPPE), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(POPE), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DSPE), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-미오-이노시톨)(암모늄 염)(DPPI), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포이노시톨(암모늄 염)(DSPI), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포-(1'-미오-이노시톨)(암모늄 염)(DOPI), 카디오리핀, L- α -포스파티딜콜린(EPC), 및 L- α -포스파티딜에탄올아민(EPE)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0040] **폴리에틸렌 글리콜(PEG)-변형 지질**

[0041] 폴리에틸렌 글리콜-변형 지질은 지질에 컨쥬게이션된 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 일부 구체예에서, PEG 모이어티는 약 1,000 내지 약 20,000 달톤의 분자량을 갖는다. 일부 구체예에서, PEG-변형 지질은 인지질과 혼합되어 하나 이상의 이중층 막을 갖는 리포솜을 형성한다. 일부 구체예에서, PEG-변형 지질의 양은 총 인지질 및 스테롤을 기준으로 0.0001 mol% 내지 40 mol%, 선택적으로 0.001 mol% 내지 30 mol%, 및 선택적으로 0.01 mol% 내지 20 mol% 범위이다. 일부 구체예에서, PEG-변형 지질의 양은 총 인지질 및 스테롤을 기준으로 6 mol% 이하, 5 mol% 이하, 3 mol% 이하 또는 2 mol% 이하이다. 일부 구체예에서, PEG-변형 지질은 1,000 g/mol 내지 5,000 g/mol 범위의 평균 분자량을 갖는 PEG 모이어티를 갖는다. 일부 구체예에서, PEG-변형 지질은 폴리에틸렌 글리콜 기(PEG-PE)에 연결된 포스파티딜에탄올아민이다. 일부 구체예에서, PEG-변형 포스파티딜에탄올아민은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)](DSPE-PEG)이다.

[0042] **리포솜 서방형 조성물**

[0043] 용어 "리포솜 약물 제형" 및 "리포솜 서방형 조성물"은 본 개시에서 상호교환적으로 사용된다. 본 개시에 따른 리포솜 서방형 조성물은 막횡단 pH 구배-구동 원격 로딩 방법을 통해 리포솜의 수성 내부에 티로신 키나제 억제제를 포획함으로써 제조된 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구체예에서, 막횡단 pH 구배는 티로신 키나제 억제제를 리포솜으로 원격 로딩하기 위한 포획제를 사용하여 생성된다. 다양한 구체예에서, 포획제는 암모늄 설페이트, 암모늄 메실레이트, 암모늄 토실레이트, 트리에틸암모늄 수크로스 옥타설페이트 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0044] 특정 구체예에서, 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜은 (a) 하나 이상의 인지질, 스테롤, 및 PEG-변형 포스파티딜에탄올아민을 포함하지만 이에 제한되지 않는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-변형 지질을 포함하는 지질 이중층; 및 (b) 티로신 키나제 억제제를 포획하는 지질 이중층에 의해 둘러싸인 수성 내부를 포함한다.

[0045] 일부 구체예에서, 하나 이상의 인지질은 중성 인지질이다. 일부 구체예에서, PEG-변형 지질은 DSPE-PEG이고 리포솜 내의 DSPE-PEG의 양은 총 인지질 및 스테롤을 기준으로 0.001 mol% 내지 5 mol% 범위이다.

[0046] 일부 구체예에서, 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜은 50 nm 내지 400 nm의 평균 입자 직경을 갖는다.

[0047] 용어 "티로신 키나제 억제제"(TKI)는 단백질에 포스페이트 기를 첨가(인산화)함으로써 많은 단백질의 활성화를 담당하는 효소인 티로신 키나제를 억제하는 하나 이상의 물질 그룹을 지칭한다. 일부 구체예에서, 용어 TKI는 인돌린 화합물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구체예에서, TKI는 닌테다닙과 같은 치환된 인돌린 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이다.

[0048] 일부 구체예에서, 본 개시에 따른 티로신 키나제 억제제는 닌테다닙, 사라카티닙(saracatinib), 악시티닙(axitinib), 카보잔티닙(cabozantinib), 파조파닙(pazopanib), 반데타닙(vandetanib), 레고라페닙(regorafenib), 소라페닙(sorafenib), 수니티닙(sunitinib), 이마티닙(imatinib), 보스티닙(bosutinib), 다사티닙(dasatinib), 닐로티닙(nilotinib), 폰나티닙(ponatinib), 아파티닙(afatinib), 에를로티닙(erlotinib), 게피티닙(gefitinib), 라파티닙(lapatinib), 크리조티닙(crizotinib) 및 렉솔리티닙(ruxolitinib)으로 구성된 군으로부터 선택된다.

- [0049] 일부 구체예에서, 본 개시에 따른 티로신 키나제 억제제는 닌테다닙이고, 여기서 180.6 mg의 닌테다닙 에실레이트는 150 mg의 닌테다닙 염기와 동등하다.
- [0050] 일부 구체예에서, 본 개시에 따른 티로신 키나제 억제제는 혈관 내피 성장 인자 수용체(VEGFR), 섬유모세포 성장 인자 수용체(FGFR) 및 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGFR)를 표적으로 하는 하나 이상의 치환된 기를 갖는 인돌 화합물을 지칭하는 치환된 인돌린 화합물이다.
- [0051] 일부 구체예에서, 치환된 인돌린 화합물은 다음으로 구성된 군으로부터 선택된다:
- [0052] (a) 3-Z-[1-(4-(피페리딘-1-일-메틸)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-에톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0053] (b) 3-Z-[(1-(4-(피페리딘-1-일-메틸)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-카르바모일-2-인돌리논,
- [0054] (c) 3-Z-[1-(4-(피페리딘-1-일-메틸)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0055] (d) 3-Z-[1-(4-(디메틸아미노메틸)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-에톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0056] (e) 3-Z-[1-(4-((2,6-디메틸-피페리딘-1-일)-메틸)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-에톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0057] (f) 3-Z-[1-(4-(N-(2-디메틸아미노-에틸)-N-아세틸-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-에톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0058] (g) 3-Z-[1-(4-(N-(3-디메틸아미노-프로필)-N-아세틸-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-에톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0059] (h) 3-Z-[1-(4-(N-(2-디메틸아미노-에틸)-N-메틸설포닐-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-에톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0060] (i) 3-Z-[1-(4-(디메틸아미노메틸)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0061] (j) 3-Z-[1-(4-(N-아세틸-N-디메틸아미노카르보닐메틸-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0062] (k) 3-Z-[1-(4-에틸아미노메틸-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0063] (l) 3-Z-[1-(4-(1-메틸-이미다졸-2-일)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0064] (m) 3-Z-[1-(4-(N-디메틸아미노메틸카르보닐-N-메틸-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0065] (n) 3-Z-[1-(4-(N-(2-디메틸아미노-에틸)-N-메틸설포닐-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0066] (o) 3-Z-[1-(4-(N-(3-디메틸아미노-프로필)-N-메틸설포닐-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0067] (p) 3-Z-[1-(4-(N-디메틸아미노카르보닐메틸-N-메틸설포닐-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0068] (q) 3-Z-[1-(4-(N-((2-디메틸아미노-에틸)-카르보닐)-N-메틸-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0069] (r) 3-Z-[1-(4-(N-(2-디메틸아미노-에틸)-N-아세틸-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0070] (s) 3-Z-[1-(4-메틸아미노메틸-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논,
- [0071] (t) 3-Z-[1-(4-(N-((4-메틸-피페라진-1-일)-메틸카르보닐)-N-메틸-아미노)-아닐리노)-1-페닐-메틸렌]-6-메톡시카르보닐-2-인돌리논, 및
- [0072] (u) 메틸 (3Z)-3-[[4-[메틸-[2-(4-메틸피페라진-1-일)아세틸]아미노]아닐리노]-페닐메틸리덴]-2-옥소-1H-인돌-6-카르복실레이트.
- [0073] **리포솜 서방형 조성물의 에어로졸화된 입자**

- [0074] 본 개시에 따른 리포솜 서방형 조성물은 에어로졸화된 입자 조성물의 제조에 적합화될 수 있다. 일부 구체예에서, 포획된 티로신 키나제 억제제를 갖는 리포솜은 (a) 인지질, 스테롤 및 PEG-변형 포스파티딜에탄올아민을 포함하는 지질 이중층; 및 (b) 지질 이중층에 의해 둘러싸이고 티로신 키나제 억제제를 함유하는 수성 내부를 포함하고, 여기서 에어로졸화 후 리포솜으로부터 티로신 키나제 억제제의 약물 누출은 10% 미만이다.
- [0075] 일부 구체예에서, 본 개시에 따라 사용하기 위한 티로신 키나제 억제제의 리포솜 서방형 조성물은 1 mM 내지 25 mM 범위의 지질 농도를 갖는다. 특정 구체예에서, 본 개시에 따라 사용하기 위한 티로신 키나제 억제제의 리포솜 서방형 조성물은 1 mg/mL 내지 15 mg/mL 범위의 티로신 키나제 억제제의 농도를 갖는다. 다양한 구체예에서, 본 개시에 따라 사용하기 위한 티로신 키나제 억제제의 리포솜 서방형 조성물은 100 g 약물/인지질 mol 내지 1,000 g 약물/인지질 mol, 선택적으로 500 g 약물/인지질 mol 내지 1000 g 약물/인지질 mol, 및 선택적으로 0.01 mol 약물/인지질 mol 내지 2.5 mol 약물/인지질 mol, 0.05 mol 약물/인지질 mol 내지 2 mol 약물/인지질 mol, 0.1 mol 약물/인지질 mol 내지 1.5 mol 약물/인지질 mol 및 0.5 mol 약물/인지질 mol 내지 1.5 mol 약물/인지질 mol 범위의 약물-대-인지질 비율을 갖는다.
- [0076] 일부 구체예에서, 리포솜 서방형 조성물의 유리 티로신 키나제 억제제는 리포솜 서방형 조성물의 티로신 키나제 억제제의 총량(즉, 유리 + 리포솜-캡슐화됨)의 50% 미만, 선택적으로 0.5% 내지 40%, 1% 내지 30%, 2% 내지 20%, 또는 3% 내지 10% 범위의 양으로 존재한다.
- [0077] 일부 구체예에서, 분무기를 사용하여 리포솜 서방형 조성물로부터 에어로졸화된 입자 조성물이 생성된다. 특정 구체예에서, 분무기는 에어젯 분무기, 초음파 분무기 및 진동 메시 분무기로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0078] 일부 구체예에서, 에어로졸화된 입자 조성물은 0.5 μm 내지 5 μm 의 질량 중간 공기역학적 직경을 갖는다.
- [0079] 일부 구체예에서, 에어로졸화된 입자 조성물은 시간당 투여된 티로신 키나제 억제제 용량의 약 0.5% 내지 25%의 방출 속도를 달성하기 위해 대상체로의 폐 전달에 의해 대상체의 체중 당 0.001 mg/kg 내지 50 mg/kg, 0.005 mg/kg 내지 40 mg/kg, 0.01 mg/kg 내지 30 mg/kg, 0.05 mg/kg 내지 20 mg/kg, 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 또는 0.5 mg/kg 내지 5 mg/kg의 양으로 투여되며, 티로신 키나제 억제제의 완전한 방출은 최소 약 12시간 후에 발생한다.
- [0080] **폐 질환**
- [0081] 본 개시에 따른 폐 질환은 비감염성 폐 질환에 포함된다. 비감염성 폐 질환은 그램 음성 박테리아에 의한 폐 감염을 제외한 폐 관련 장애를 지칭한다. 일부 구체예에서, 폐 질환은 폐 섬유증(예를 들어, 특발성 폐 섬유증 또는 방사선 요법에 의해 유도된 섬유증), 폐암(예를 들어, 비소세포폐암) 또는 전신 경화증(공피증으로도 공지됨)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 용어 "특발성 폐 섬유증"(IPF)은 폐 기능의 점진적이고 비가역적인 저하를 특징으로 하는 만성 폐 질환의 유형을 지칭한다. IPF는 간질성 폐 질환(ILD) 또는 보다 정확하게는 미만성 실질 폐 질환으로 알려진 폐 질환 군에 속한다. 상기 미만성 폐 질환의 범주 내에서, IPF는 특발성 간질성 폐렴(IIP)으로 알려진 하위그룹에 속한다. 특정 임상적 특징과 병리학적 패턴으로 구별되는 7개의 별개의 IIP가 있다. IPF는 가장 일반적인 형태의 IIP이다. IPF의 증상은 전형적으로 숨가쁨 및 마른 기침의 점진적인 시작을 포함한다. IPF의 다른 증상은 피곤함과 손톱 곤봉지를 포함할 수 있다. 운동으로 인한 호흡곤란 및 만성 마른 기침도 IPF의 두드러진 증상일 수 있다. IPF의 합병증은 폐 고혈압, 심부전, 폐렴 및 폐 색전증을 포함한다.
- [0082] 본 발명은 하기 특정한 비제한적인 예를 참조하여 추가로 설명될 것이다.
- [0083] **실시예**
- [0084] 하기 실시예는 본 개시의 특정 구체예의 제조 및 특성을 예시한다.
- [0085] **실시예 1**
- [0086] **리포솜 티로신 키나제 억제제(TKI)의 제조**
- [0087] I. 빈 리포솜의 제조
- [0088] 리포솜은 박막 수화 방법 또는 용매 주입 방법을 통해 제조되었다. 박막 수화 방법으로 빈 리포솜을 제조하는 공정은 다음 단계를 포함한다:
- [0089] 1. DSPE-PEG2000의 존재 또는 부재하에 인지질 및 콜레스테롤의 지질 혼합물을 소정의 물비로 칭량하고 지질 혼

합물을 둥근 바닥 플라스크에서 10 mL의 클로로포름에 첨가하는 단계;

- [0090] 2. 플라스크를 60°C의 회전 증발기에 넣고 플라스크를 교반하여 지질 혼합물을 용해시킨 다음, 교반하면서 플라스크를 진공하에 두어 클로로포름을 증발시켜 건조된 지질 필름을 얻는 단계;
 - [0091] 3. 5 mL의 증류수에 포획제를 첨가하여 포획제 용액(예를 들어, 암모늄 설페이트(A.S.))을 제조하고 용액을 와류시켜 분말을 용해시키는 단계;
 - [0092] 4. 건조된 지질 필름에 포획제 용액을 첨가하고 60°C에서 30분 동안 교반하여 프로리포솜 용액을 형성하는 단계;
 - [0093] 5. 프로리포솜 용액을 액체 질소 및 60°C 수조를 사용하여 5회 동결-해동하여 리포솜 샘플을 얻는 단계;
 - [0094] 6. 리포솜 샘플을 60°C에서 0.2 μm 폴리카르보네이트 막을 통해 10회, 이어서 60°C에서 0.1 μm 폴리카르보네이트 막을 통해 막을 통해 10회 압출하는 단계;
 - [0095] 7. 압출된 리포솜 샘플을 투석하여 유리 포획제를 제거한 다음, 샘플을 투석 백(MWCO: 25 kDa)에 첨가하고, 백을 밀봉하고, 투석 백을 100배 부피의 9.4%(w/v) 수크로스 용액에서 교반하고; 수크로스 용액을 1시간 후 및 4시간 후에 추가로 교체하고, 투석 백을 밤새 교반하는 단계; 및
 - [0096] 8. 투석된 리포솜 샘플을 0.45 μm 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE) 막을 통해 여과함에 의해 멸균시켜 빈 리포솜을 얻는 단계.
- [0097] 티로신 키나제 억제제(예를 들어, 닌테다닙)를 로딩하기 위해 사용되는 빈 리포솜을 형성하기 위해 제조된 다양한 리포솜 제형은 아래 표 1에 나열되어 있다(모든 리포솜 제형은 9.4%(w/v) 수크로스 용액에서 제조됨). DSPC 및 DPPE 지질 둘 모두를 포함하는 리포솜 제형의 경우, 단계 #4-6은 63°C의 비교적 높은 T_m을 갖는 DPPE로 인해 60°C 대신 70°C에서 수행되었다. 이러한 리포솜의 평균 입자 직경은 약 120 nm였다.

[0098] 표 1 리포솜 제형

제형 번호	몰비					포획제
	인지질				콜레스테롤	
	HSPC	DSPC	DPPE	DSPE-PEG2000		
1	3	0	0	0	2	300 mM A.S.
2	3	0	0	0.045	2	
3	3	0	0	0.1	2	
4	3	0	0	0.15	2	
5	3	0	0	0.26	2	
6	0	3	0	0.045	2	
7	0	3	0	0.26	2	
8	0	3	3	0.09	4	
9	0	3	3	0.526	4	

[0099]

- [0100] II. 리포솜 TKI를 얻기 위해 리포솜에 TKI의 약물 로딩
- [0101] 다음 방법은 원격 로딩에 의해 리포솜에서 TKI(즉, 다테다닙)를 캡슐화하기 위한 예시적인 프로토콜이며, 다음 단계를 포함한다:
- [0102] 1. 9.4%(w/v) 수크로스 및 31 mg/mL L-히스티딘(L-His)을 함유하는 9.4%(w/v) 수크로스 완충제(pH 6.5)의 용액을 제조하는 단계;
- [0103] 2. 9.4%(w/v) 수크로스 중 15 mg/mL 다테다닙 에탄설포네이트의 용액을 제조하고 용액을 60°C에서 간단히 가열하여 다테다닙을 포함하는 스톱 용액(이하 Nin 스톱 용액으로 표시함)을 수득하는 단계;
- [0104] 3. 원뿔형 튜브에서 (a) 실시예 1의 파트 I에 따른 공정에 의해 제조된 빈 리포솜(일부 실시예에서, 3:2:0.045의 물비의 DSPC: 콜레스테롤: DSPE-PEG2000의 조건으로, 300 mM 암모늄 설페이트(A.S.), 및 58.27 mM 지질 농도), (b) 9.4%(w/v) 수크로스 용액, (c) 31 mg/mL L-His를 함유하는 9.4%(w/v) 수크로스 완충제(pH 6.5) 및 (d) Nin 스톱 용액을 함께 혼합하여 로딩 용액을 수득하는 단계. 일부 구체예에서, 로딩 용액은 500 g/mol의 D/L 비율을 갖는다. 한 구체예에서, 빈 리포솜, 수크로스 용액, 수크로스 완충제 및 Nin 스톱 용액을 하기 표 2에 제공된 바와 같이 함께 혼합한다;
- [0105] 4. 로딩 용액을 60°C 수조에서 강렬하게 진탕시키고 60°C에서 15분 동안 인큐베이션하여 리포솜 약물 샘플을 형성한 다음, 리포솜 약물 샘플을 얼음 위에 몇 분 동안 두는 단계;
- [0106] 5. 냉장된 리포솜 약물 샘플을 투석 백(MWCO: 25 kDa)에 첨가하고, 백을 밀봉하고, 투석 백을 100배 부피의 9.4%(w/v) 수크로스 용액에서 교반하고; 수크로스 용액을 1시간 후 및 4시간 후에 추가로 교체하고, 투석 백을 밤새 교반함에 의해 투석하는 단계; 및
- [0107] 6. 크기 배제 컬럼 크로마토그래피 및 HPLC 분석을 사용하여 최종 샘플의 약물 캡슐화(즉, 로딩 효율)를 결정하는 단계(모든 샘플, 리포솜 또는 전체 형태의 약물 농도는 388 nm에서 흡광도 측정에 의해 결정되었다).
- [0108] 표 2TKI를 리포솜에 원격 로딩하기 위한 예시적인 조건

최종 지질 (mM)	표적 농도	빈 리포솜 부피	9.4% (w/v) 수크로스	31 mg/mL L-His를 갖는 9.4%(w/v) 수크로스 완충제, pH 6.5	15 mg/mL Nin 스톱 용액	로딩 용액의 최종 pH
15		772.2 μ L	277.8 μ L	150 μ L	1,800 μ L	6.0 내지 6.5

- [0109]
- [0110] 실시예 2
- [0111] 리포솜에 TKI의 포획
- [0112] 구현된 TKI, 다테다닙은 약 120 nm의 평균 입자 직경을 갖고 다양한 인지질(예를 들어, HSPC, DSPC, DSPC/DPPE, 또는 이들의 조합)을 포함하는 빈 리포솜에 포획제로서 300 mM A.S. 및 지시된 함량의 PEG-변형 인지질(예를 들어, 0.9 mol% DSPE-PEG2000)과 함께 실시예 1, 섹션 II에 기재된 방법에 따라 로딩되었다.
- [0113] 표 3은 이러한 활성 로딩 실험에 대한 다테다닙 캡슐화 결과를 요약한다. 0.9 mol% PEG-변형 지질을 포함하는 300 mM A.S. 빈 리포솜은 빈 리포솜 제형에서 PC 지질 또는 PC/PE 지질의 조합에 관계없이, 적어도 0.9 mol/mol의 D/L 비율의 다테다닙을 캡슐화하였다. 따라서, 동일한 포획제(암모늄 설페이트) 및 PEG 함량을 포함하는 리포솜의 경우, 높은 약물 캡슐화, 요망되는 서방성 및 폐 환경에서 연장된 약물 체류를 달성할 수 있는 흡입 가능한 리포솜 다테다닙 제형을 위해 상이한 인지질을 선택할 수 있는 유연성이 있다.

[0114] 표 3 다양한 인지질 및 0.9 mol% PEG-변형 지질을 포함하는 약 120 nm 리포솜에 대한 다테다닙 캡슐화 결과

리포솜 조성(몰비)	총 약물 농도(mg/mL)	총 D/L 비율(mol/mol)	로딩 효율(%)	리포솜 D/L 비율(mol/mol)
HSPC:콜레스테롤:DSPE-PEG2000 3:2:0.045	9.22	1.47	66.0	0.97
	7.35	0.92	106	0.98
DSPC:콜레스테롤:DSPE-PEG2000 3:2:0.045	7.48	0.93	103	0.96
DSPC:DPPE:콜레스테롤:DSPE-PEG2000 3:3:4:0.09	7.80	1.02	98.0	1.00

[0115]

[0116] 실시예 3

[0117] 분무된 리포솜 TKI의 안정성에 대한 빈 리포솜 크기의 영향

[0118] 분무 후 리포솜 TKI의 안정성은 다테다닙의 높은 캡슐화를 갖는 낮은 PEG 함량의 제형에 대해 다양한 입자 크기의 리포솜 약물에 대해 조사되었다. 다테다닙을 상기 리포솜에 원격 로딩하기 전에 다양한 기공 크기(0.1 μm, 0.2 μm, 0.4 μm 및 1 μm)의 폴리카르보네이트 막을 통해 수화된 지질을 압출하여 다양한 크기의 리포솜을 제조하였다. 분무 안정성 시험에 사용된 리포솜 제형은 포획체로서 300 mM A.S.와 함께 3:2:0.045의 몰비로 HSPC:콜레스테롤:DSPE-PEG2000의 조성을 가졌다. 리포솜 TKI 샘플의 분무를 위한 프로토콜은 다음과 같았다:

- [0119] 1. 2 mL의 리포솜 약물을 Vib-Mesh Nebulizer HL100(Health and Life Corporation에서 시판)의 약물 챔버에 첨가한다;
- [0120] 2. 약물 챔버를 밀어 넣어 분무기의 나머지에 연결한다;
- [0121] 3. 분무기를 켜서 샘플의 에어로졸화를 시작하고 전체 2 mL 샘플을 분무한다(총 분무 시간은 약 6분이었다);
- [0122] 4. 분무기 배출구에 단단히 연결되고 파라필름으로 밀봉된 50 mL 원뿔형 튜브에 에어로졸 입자를 수집한다; 그리고
- [0123] 5. 크기 배제 컬럼 크로마토그래피 및 HPLC 분석을 사용하여 분무 전후에 리포솜 약물 샘플의 약물 로딩 효율을 결정한다.

[0124] 분무 안정성 시험의 결과는 하기 표 4에 제시된다. 평균 입자 직경이 300 nm 미만인 리포솜을 포함하는 리포솜 약물 제형은 거의 약물 누출 없이 매우 안정적이었다(≤ 1%). 평균 입자 직경이 300 nm보다 약간 큰 약물의 리포솜 제형은 소량의 약물 누출(약 5%)이 있었다. 전반적으로, 리포솜이 100 nm 내지 300 nm 범위의 평균 입자 직경을 갖는 리포솜 약물 제형의 에어로졸화된 입자는 약물 누출이 최소화되고 입자 크기가 분무 전후에 크게 변하지 않았기 때문에 안정적이었다.

[0125] 표 4 리포솜 다테다닙의 분무 안정성

빈 리포솜을 압출하는데 사용되는 막 기공 크기(μm)	리포솜 TKI 평균 입자 직경(nm)		분무된 리포솜 TKI 약물-대-지질(D/L) 비율(mol/mol)		TKI 누출(%)
	분무 전	분무 후	유리 + 리포솜	리포솜	
0.1	128	128	0.92	0.92	0
0.2	191	189	0.91	0.90	1.1
0.4	244	244	0.93	0.93	0
1	322	311	1.03	0.98	4.9

[0126]

[0127]

실시예 4

[0128]

리포솜 약물 제형의 저장 안정성

[0129]

4℃에서 저장된 리포솜 TKI의 안정성을 2년 동안 모니터링하였다. 다펀은 포획제로서 300 mM A.S.와 함께 3:2:0.045(0.9 mol% PEG-변형 지질)의 물비로 HSPC:콜레스테롤:DSPE-PEG2000을 포함하는 리포솜에 원격 로딩되었다. 약물을 리포솜에 로딩한 후, 리포솜 약물 샘플을 교반하고 100배 부피의 9.4%(w/v) 수크로스 용액에서 투석하였다. 1시간 후 및 4시간 후 수크로스 용액을 교체하고, 샘플을 용액에서 밤새 교반하였다. 리포솜에 대한 약물 캡슐화(D/L 비율)는 약 0.9 mol/mol이었다. 투석된 리포솜 약물 샘플을 4℃에서 2년 동안 저장한 후, 캡슐화된 약물은 리포솜 밖으로 거의 누출되지 않았다(≤ 3%)(도 1). 또한, 리포솜 TKI 현탁액의 입자 크기는 4℃에서 2년 저장 기간을 통틀어 동일하게 유지되었다(±1 nm 이내의 직경)(도 2).

[0130]

실시예 5

[0131]

모의 폐액에서 시험관내 약물 방출

[0132]

0.45 mol% PEG-변형 지질 또는 1.75 mol% PEG-변형 지질을 갖는 2개의 리포솜 TKI 제형의 약물 방출 프로파일을 모의 폐액(SLF)에서 평가하여 이들의 지속 방출 특성을 입증하였다. 2개의 리포솜 TKI 샘플은 거의 동일한 다펀 농도(3.85 내지 3.95 mg/mL 약물)로 제조되었으며, 어느 샘플에도 유리 약물은 거의 존재하지 않았다(표 5). 시험관내 방출(IVR) 실험을 위한 프로토콜은 다음과 같았다:

[0133]

1. 0.5 mL의 각 샘플을 4.5 mL의 SLF(37℃에서 미리 가온됨)와 혼합하고 희석된 샘플을 15 mL 원심분리 튜브에 넣음에 의해 각 리포솜 TKI 샘플을 10배 희석한다;

[0134]

2. 희석된 샘플을 가진 원심분리 튜브를 Intelli-mixer rotator의 샘플 웰에 넣고, 이것을 37℃에서 인큐베이션하고 20 rpm으로 회전시킨다;

[0135]

3. 1 mL의 희석된 리포솜 TKI 샘플을 소정의 시점(예를 들어, 0, 4 및 24시간)에 샘플링한다;

[0136]

4. 캡슐화 효율을 결정하는데, 여기서 각 1 mL 샘플의 캡슐화 효율을 결정하는 분석 방법은 다음과 같았다:

[0137]

a. 2 mL의 Sepharose® CL-4B 컬럼을 9.4% 수크로스 용액(5 mL 미만)으로 패키징하고 세척한다;

[0138]

b. 0.1 mL의 샘플을 컬럼에 첨가한 다음, 0.15 mL의 9.4% 수크로스 용액을 세 번에 걸쳐 첨가하고 컬럼에서 용액이 용리될 때까지 기다린다;

[0139]

c. 컬럼에 1 mL의 9.4% 수크로스 용액을 첨가하고 용리액(리포솜 약물 분획)을 10 mL 부피측정 플라스크에서 수

집한다; 부피측정 플라스크에 메탄올을 첨가하여 부피를 늘리고 잘 혼합한다(이것은 리포솜 약물 형태이다);

[0140] d. 별도의 10 mL 부피측정 플라스크에서, 0.1 mL의 정제되지 않은 샘플을 플라스크에 첨가하고 부피측정 플라스크에 메탄올을 첨가하여 부피를 늘린 다음 잘 혼합한다(이것은 전체 약물 형태이다);

[0141] e. UV-Vis 플레이트 판독기를 사용하여 380 nm에서 최종 희석된 샘플의 흡광도를 측정하여 각 샘플의 약물 농도를 결정한다.

[0142] 5. 캡슐화 효율(EE)은 약물의 리포솜 형태(LF)를 약물의 총 형태(TF)로 나눈 값으로 정의된다: $EE(\%) = LF/TF \times 100\%$.

[0143] 표 5IVR 샘플에 대한 캡슐화 결과

샘플명	약물 형태	약물 농도 (mg/mL)	EE (%)
AS300mM/Nin3.74mg/mL/PEG0.45mol%	LF	3.85	98.2
	TF	3.92	
AS300mM/Nin3.74mg/mL/PEG1.75mol%	LF	3.88	98.2
	TF	3.95	

[0144]

[0145] 두 리포솜 TKI 제형의 IVR 프로파일은 도 3에 도시되어 있다. 리포솜 제형은 총 약물 함량의 상당한 비율을 유지하였고 24시간의 기간 동안 느린 약물 방출을 나타내었다. PEG를 가진 리포솜의 경우 처음 4시간 동안 SLF로 닌테다닙이 거의 방출되지 않았고 24시간의 기간 동안 총 약물 함량의 최대 30%만이 SLF로 방출되었기 때문에 매우 안정적이었다. 이러한 IVR 결과는 본 발명자의 리포솜 약물 제형이 폐 환경에서 생체내 지속 방출을 달성할 수 있음을 나타낸다.

[0146] 실시예 6

[0147] 건강한 동물에서 리포솜 TKI의 폐 체류 연장 및 약물 독성 감소

[0148] 건강한 마우스에서 리포솜 TKI의 폐 체류 연구를 수행하여 마우스 폐에서 유리 형태 대 리포솜 TKI 제형의 체류 시간을 비교하였다. 연구에는 4개의 조성물이 사용되었다:

- [0149] 1) 블랭크(식염수);
 - [0150] 2) 유리 닌테다닙(9.4%(w/v) 수크로스 용액에 용해된 약물);
 - [0151] 3) 300 mM A.S. 리포솜 닌테다닙(0.45 mol% PEG); 및
 - [0152] 4) 300 mM A.S. 리포솜 닌테다닙(1.75 mol% PEG).
- [0153] 조성물 #2-4의 약물 농도는 동일하였다: 약 3.74 mg/mL 닌테다닙.

[0154] 체류 연구를 위한 프로토콜은 다음과 같았다:

- [0155] 1. 7주령의 C57BL/6 마우스를 이소플루란으로 마취한다;
- [0156] 2. 50 μ L의 조성물을 마취된 마우스에 마이크로-분무기(HRH-MAG4)를 사용하여 기관내(IT) 투여한다;
- [0157] 3. 소정의 시점(예를 들어, 2, 6 및 24시간)에 마우스를 마취하고 희생시킨다;
- [0158] 4. 동일한 소정의 시점(예를 들어, 2, 6 및 24시간)에, 약물 결정을 위해 폐 조직 샘플을 수집한다;
- [0159] 5. 다음에 의해 폐 조직에서 닌테다닙을 분석한다:
 - [0160] a) 각 폐 조직 샘플을 1 mL의 메탄올과 함께 6,000 rpm에서 2회(2회/사이클) 균질화한다;

- [0161] b) 각 샘플을 20,000 g에서 10분 동안 4°C에서 원심분리한다;
- [0162] c) 0.5 mL의 각 상청액을 5 mL 부피측정 플라스크로 옮기고 메탄올로 부피를 늘린다;
- [0163] d) UV-Vis 플레이트 판독기를 사용하여 380 nm에서 최종 희석된 샘플의 흡광도를 측정하여 샘플의 약물 농도를 결정한다.

[0164] 폐 체류 연구 결과는 도 4에 도시되어 있다. 기관내 투여된 유리 다테다닙(수용액에 용해된 유리 약물)의 경우, 2시간 직후에 약물이 폐에 거의 남아 있지 않았다. 따라서, 거의 모든 약물이 그 짧은 시간 내에 흡수되고 폐로부터 제거되었다. 대조적으로, 리포솜 다테다닙(0.45 mol% 또는 1.75 mol% PEG-변형 지질을 포함)이 투여된 동물은 IT 투여 6시간 후에 총 약물 용량의 약 절반이 폐에 남아 있었다. 또한, 총 용량의 16%에서 30% 이상이 24시간 후에도 여전히 폐에서 관찰되었다. 따라서, 리포솜 다테다닙의 체류 시간은 유리 약물보다 훨씬 길었다. 또한, 리포솜 약물 제형은 1일 1회 또는 심지어 덜 빈번한 투여에 적합한 것으로 보인다. 유리 약물과 비교하여, 리포솜 다테다닙은 24시간 동안 폐에서 최대 약 20배 더 많은 다테다닙을 유지하였다.

[0165] 폐 체류 연구 동안, 블랭크 용액 또는 리포솜 다테다닙을 투여한 마우스에서 사망은 관찰되지 않았다(표 6). 그러나, 리포솜 형태와 동일한 3.74 mg/mL 약물 농도로 유리 다테다닙(수용액으로서)을 투여한 마우스는 역시 좋지 않았다. 유리 다테다닙을 투여 한 9마리 중 2마리 마우스가 사망하였고, 생존한 7마리 마우스는 상당한 약해졌다(표 6). 이러한 결과는 리포솜 형태의 다테다닙이 유리 형태의 다테다닙보다 더 안전하고 독성이 적다는 것을 보여준다. 이러한 결과는 또한 안전성을 여전히 유지하면서 효능을 향상시키고 지속 방출을 연장하기 위해 리포솜 약물 형태의 다테다닙 용량을 3.74 mg/mL 이상으로 증가시키는 것이 가능하다는 것을 나타낸다.

[0166] 표 6 폐 체류 연구 동안 마우스 관찰

시험 물품	상이한 시점(시간)에 샘플링된 마우스의 수				사망률
	0	2	6	24	
블랭크	3	0	0	0	0/3
3.74 mg/mL Nin (유리 형태)	0	3	3	3	2/9 (7마리의 생존 마우스가 매우 약함)
300 mM A.S. - 3.74 mg/mL Nin PEG 0.45 mol% (리포솜 형태)	0	3	3	3	0/9
300 mM A.S. - 3.74 mg/mL Nin PEG 1.75 mol% (리포솜 형태)	0	3	3	3	0/9

- [0167]
- [0168] 실시예 7
- [0169] IPF 동물 모델에서 TKI의 폐 체류
- [0170] 실시예 6의 폐 체류 연구를 확장하기 위해, 마우스 폐 조직에서 다테다닙의 체류를 IPF 모델에서도 조사하였다. 연구 설계 세부사항은 표 7에 나와 있다. 간단히 말해서, 21마리의 마우스를 그룹 #1에 9마리 마우스와 그룹 #2에 12마리 마우스인 2개의 그룹(두 상이한 다테다닙 조성물)으로 나누었다.
- [0171] 각 다테다닙 조성물의 설명은 다음에 제공된다:

[0172] 그룹 #1: AS-Nin 3.74 mg/mL-PEG3%는 3 mol% PEG; 지질 농도 15 mM, 다테다닙 농도 3.74 mg/mL를 포함하는 300 mM A.S. 리포솜에 로딩된 다테다닙을 나타냄;

[0173] 그룹 #2: 유리 다테다닙은 150 mg의 다테다닙 연질 캡슐을 나타냄(유리 다테다닙 용액은 연질 캡슐 내용물을 참기름에 용해시켜 투여를 위한 7.6 mg/mL의 다테다닙 농도를 산출하도록 매일 제조되었다; 경구 투여용 부피는 200 µL/마우스였다).

[0174] 먼저, 2.5 mg/kg의 블레오마이신을 각 마우스에 IT 점적주입하여 폐 섬유증을 유도하였다. 7일 후, 25 µL의 리포솜 다테다닙(그룹 #1)을 기관내에 점적주입하거나 IPF 치료를 위한 두 FDA-승인 약물 중 하나인 경구 다테다닙(그룹 #2)을 섬유증 마우스에 경구 투여하였다. 투여 요법은 표 7에 제시되어 있다. Q2Dx2는 총 2회 투여를 위해 격일로 1회 투여하는 것을 의미한다. 혈액 및 폐 조직 샘플을 소정의 시점에 수집하였다(표 7).

[0175] 표 7 IPF 동물 모델에서 다테다닙의 폐 체류의 연구 설계

그룹 #	조성물	동물의 수	투여 빈도(횟수)	혈액/폐 조직 샘플링 시점(투여 후)*
1	AS-Nin 3.74 mg/mL-PEG3% (4.68 mg/kg, IT)	9	1회(N=6)	24 및 48 h
			Q2Dx2 (N=3)	48 h
2	유리 다테다닙(60 mg/kg, 경구)	12	1회(N=6)	1 및 5 h
			5일 동안 QD(N=6)	1 및 5 h

*모든 그룹에서 시점 당 3마리 마우스.

[0176]

[0177] IPF 동물 모델 연구의 폐 체류 결과는 도 5에 도시되어 있다. 마우스 폐 조직에서 다테다닙의 양을 측정하고 최대 5일 동안 모니터링하였다. 60 mg/kg의 다테다닙을 1일 1회 경구 투여했음에도, 단 몇 시간 후에 폐 조직에서 다테다닙이 검출되지 않았기 때문에 유리 다테다닙은 있다고 해도 극히 적은 마우스 폐에서의 약물 체류를 나타내었다. 대조적으로, 4.68 mg/kg 리포솜 다테다닙의 IT 용량을 격일로 투여하면 최대 48시간 동안 마우스 폐 조직에서 약물 방출이 지속되었다. 또한, 300 mM A.S. 리포솜 다테다닙 제형(약 0.06 약물 mg/폐 조직 g)의 점적주입 용량의 12% 초과가 48시간 후에도 폐 조직에서 여전히 관찰되었다. 이러한 결과는 본 발명자의 리포솜 약물 제형이 질병에 걸린 마우스의 폐에서 다테다닙의 체류를 연장함에 있어서 상당히 낮은 용량에서 경구 약물보다 훨씬 우수하였고 흡입되는 리포솜 다테다닙의 덜 빈번한 투여가 가능함을 보여준다.

[0178] 실시예 8

[0179] IPF 동물 모델에서 흡입된 리포솜 다테다닙의 효능

[0180] 마우스에서 블레오마이신으로 유도된 폐 섬유증을 치료함에 있어서 리포솜 및 경구 다테다닙의 효능을 조사하였다. 연구 설계 세부사항은 표 8에 제공된다. 간단히 말해서, 8마리의 마우스를 3개의 그룹으로 나누었다(두 상이한 다테다닙 조성물 및 투여 경로에 대해 각각 N=3, 치료되지 않은 대조군 N=2).

[0181] 각 다테다닙 조성물의 설명은 다음에 제공된다:

[0182] 그룹 #1: AS-Nin 3.74 mg/mL-PEG3%는 3 mol% PEG; 지질 농도 15 mM, 다테다닙 농도 3.74 mg/mL를 포함하는 300 mM A.S. 리포솜에 로딩된 다테다닙을 나타냄;

[0183] 그룹 #2: 유리 다테다닙은 150 mg의 다테다닙 연질 캡슐을 나타냄(유리 다테다닙 용액은 연질 캡슐 내용물을 참기름에 용해시켜 투여를 위한 7.6 mg/mL의 다테다닙 농도를 산출하도록 매일 제조되었다; 경구 투여용 부피는 200 µL/마우스였다).

[0184] 먼저, 0일에 블레오마이신을 2.5 mg/kg으로 IT 점적주입하여 폐 섬유증을 유도하였다. 7일 후, 25 µL의 리포솜

닌테다닙(그룹 #1, N=3)을 기관내에 점적주입하거나 유리 닌테다닙(그룹 #2, N=3)을 섬유증 마우스에게 경구 투여하여 치료되지 않은 대조군(그룹 #3, N=2)과 비교하여 치료 효과를 평가하였다. 닌테다닙 조성물의 투여 요법은 표 8에 제시되어 있다. Q2Dx4는 7, 9, 15 및 17일에 격일 투여되는 1회 용량을 의미한다. QDx10은 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17 및 18일에 마우스에 1일 1회 투여되는 것을 의미한다. 혈액 및 폐 조직 샘플을 21일에 수집하였다.

[0185] 표 8 IPF 동물 모델에서 닌테다닙 효능 연구의 연구 설계

그룹 #	조성물	동물 수	투여 빈도	혈액/폐 조직 샘플링 시점
1	AS-Nin 3.74 mg/mL-PEG3% (4.68 mg/kg, IT)	1 내지 3	Q2Dx4	21일
2	유리 닌테다닙 (60 mg/kg, 경구)	4 내지 6	QDx10	21일
3	치료되지 않은 대조군	7 내지 8	N/A	21일

[0186]

[0187]

효능은 마우스 폐 조직의 조직병리학적 평가에 의해 결정되었다. 표 9는 섬유증 마우스를 그룹 #1-3으로 치료한 후의 조직병리학적 결과를 보여준다. 폐 섬유증의 감소는 그룹 #3과 비교하여 그룹 #1 및 그룹 #2 둘 모두에서 관찰되었는데, 폐가 리포솜 또는 유리 닌테다닙으로 치료 후 약간의 만성 세기관지폐포 염증 및 약간의 간질 및 흉막하 섬유증을 나타내었기 때문이다(섬유증 점수 약 2). 실시예 7은 리포솜 닌테다닙의 IT 투여가 더 오랜 기간 동안 폐 조직에서 더 높은 약물 농도를 초래한다는 것을 입증하기 때문에, 본 발명자의 데이터는 IPF의 치료를 위해 리포솜 닌테다닙의 기관내 점적주입이 경구 투여되는 닌테다닙의 요구되는 용량 및 빈도를 크게 감소시킬 수 있음을 보여준다.

[0188] 표 9호능 연구에서 마우스 폐 조직의 조직병리학적 결과(메이슨 트릭롬 염색으로 채점)

조직병리학적 결과	그룹 #1: 리포솜 넌테다닙 (4.68 mg/kg, IT)			그룹 #2: 유리 넌테다닙 (60 mg/kg, 경구)			그룹 #3: 치료되지 않은 대조군	
	1	2	3	4	5	6	7	8
동물 수								
간질 및 흉막하, 다초점 섬유증 점수	2	3	2	2	2	2	5	4
	2	2	2	2	2	2	4	3
	2	2	2	2	1	2	4	3
	2	2	2	2	1	2	3	2
	2	2	1	2	1	2	3	2
평균 점수	2.0	2.2	1.8	2.0	1.4	2.0	3.8	2.8

[0189]

[0190] HE로 염색된 병변의 정도는 중증도에 대해 1에서 5까지 등급이 매겨졌다: 1 = 최소(< 1%); 2 = 약간(1-25%); 3 = 보통(26-50%); 4 = 보통/중증(51-75%); 5 = 중증/높음(76-100%).

[0191] 인용 참고문헌

[0192] 미국 특허 문서

[0193] 8,071,127 B2 12/2011 Cipolla et al.

[0194] 8,119,156 B2 2/2012 Cipolla et al.

[0195] 8,226,975 B2 7/2012 Weers

[0196] 8,652,512 B2 2/2014 Schmehl et al.

[0197] 8,802,137 B2 8/2014 Boni et al.

[0198] 9,078,897 B1 7/2015 Cipolla et al.

[0199] 9,333,214 B2 5/2016 Gupta et al.

[0200] 9,408,836 B2 8/2016 Armendariz Borunda et al.

[0201] 9,545,401 B2 1/2017 Cipolla et al.

[0202] 외국 특허 문서

[0203] EP 0223831 7/1992

[0204] EP 0267050 9/1994

[0205] EP 1438955 6/2006

[0206] EP 1530466 12/2014

- [0207] EP 1658851 5/2006
- [0208] EP 2079443 8/2014
- [0209] EP 2363114 5/2015
- [0210] EP 2384751 9/2015
- [0211] WO WO 2015/106150 11/2016
- [0212] WO WO 2016/178064 11/2016
- [0213] 다른 간행물

K.D. Kistler, L. Nalysnyk, P. Rotella, D. Esser. Lung transplantation in idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review of the literature. *BMC Pulmonary Medicine*. **14**: 139 (2014).

[0214]

L. Nalysnyk, J. Cid-Ruzafa, P. Rotella, D. Esser. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis: review of the literature. *Eur Respir Rev.* **21**(126): 355-361 (2012).

European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products, Ofev: EPAR – Public assessment report, EMA/76777/2015, Procedure No. EMEA/H/C/003821/0000, 20 November 2014.

L. Richeldi et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* **370**(22): 2071-2082 (2014).

T. Corte et al. Safety, tolerability and appropriate use of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiratory Research* **16**: 116 (2015).

Center for Drug Evaluation and Research, Clinical Pharmacology Review, NDA #205832, 505(b)(1) priority review.

<http://www.rxlist.com/ofev-side-effects-drug-center.htm>

<https://www.rxlist.com/esbriet-drug.htm>

https://www.healthandlife.com.tw/index.php?action=products_data&id=142&width=1280

L. Wollin, E. Wex, A. Pautsch, G. Schnapp, K.E. Hostettler, S. Stowasser, M. Kolb. Mode of action of nintedanib in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J.* 1-12 (2015).

J.S. Patton, P.R. Byron. Inhaling medicines: delivering drugs to the body through the lungs. *Nature Reviews Drug Discovery.* **6**: 67-74 (2007).

D. Zucker, D. Marcus, Y. Barenholz, A. Goldblum. Liposome drugs' loading efficiency: A working model based on loading conditions and drug's physicochemical properties. *Journal of Controlled Release.* **139**: 73-80 (2009).

O.O. Okusanya et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of liposomal amikacin for inhalation in cystic fibrosis patients with

chronic pseudomonal infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **53**(9): 3847-3854 (2009).

J.P. Clancy et al. Phase II studies of nebulised Arikace in CF patients with *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Thorax*. **68**: 818-825 (2013).

D. Cipolla, J. Blanchard, I. Gonda. Development of liposomal ciprofloxacin to treat lung infections. *Pharmaceutics*. **8**: 6 (2016).

C.S. Schneider et al. Nanoparticles that do not adhere to mucus provide uniform and long-lasting drug delivery to airways following inhalation. *Sci. Adv.* **3**, e1601556 (2017).

S. Anabousi et al. Effect of PEGylation on the stability of liposomes during nebulization and in lung surfactant. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. **6**: 3010-3016 (2006).

P. Muralidharan, E. Mallory, M. Malapit, D. Hayes Jr, H.M. Mansour. Inhalable PEGylated phospholipid nanocarriers and PEGylated therapeutics for respiratory delivery as aerosolized colloidal dispersions and dry powder inhalers. *Pharmaceutics*. **6**: 333-353 (2014).

F.J. Bayard, W. Thielemans, D.I. Pritchard, S.W. Paine, S.S. Young, P. Backman et al. Polyethylene glycol-drug ester conjugates for prolonged retention of small inhaled drugs in the lung. *J Control Release: Off J Control Release Soc.* **171**: 234-240 (2013).

T.W. Shen et al. Distribution and cellular uptake of PEGylated polymeric particles in the lung towards cell-specific targeted delivery. *Pharm Res.* **32**(10): 3248-3260 (2015).

Y.S. Youn, M.J. Kwon, D.H. Na, S.Y. Chae, S. Lee, K.C. Lee. Improved intrapulmonary delivery of site-specific PEGylated salmon calcitonin:

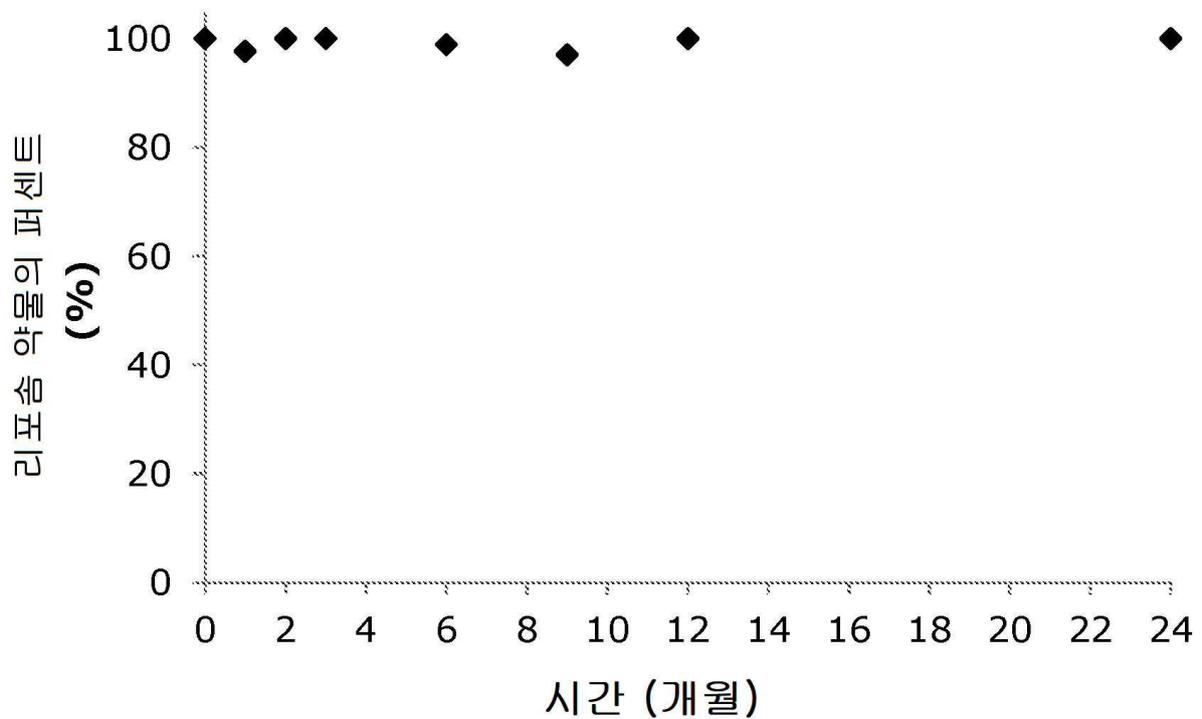
optimization by PEG size selection. *J Control Release: Off J Control Release Soc.* **125**: 68-75 (2008).

G. Rouser, S. Fkeischer, A. Yamamoto. Two dimensional thin layer chromatographic separation of polar lipids and determination of phospholipids by phosphorus analysis of spots. *Lipids* **5**: 494-496 (1970).

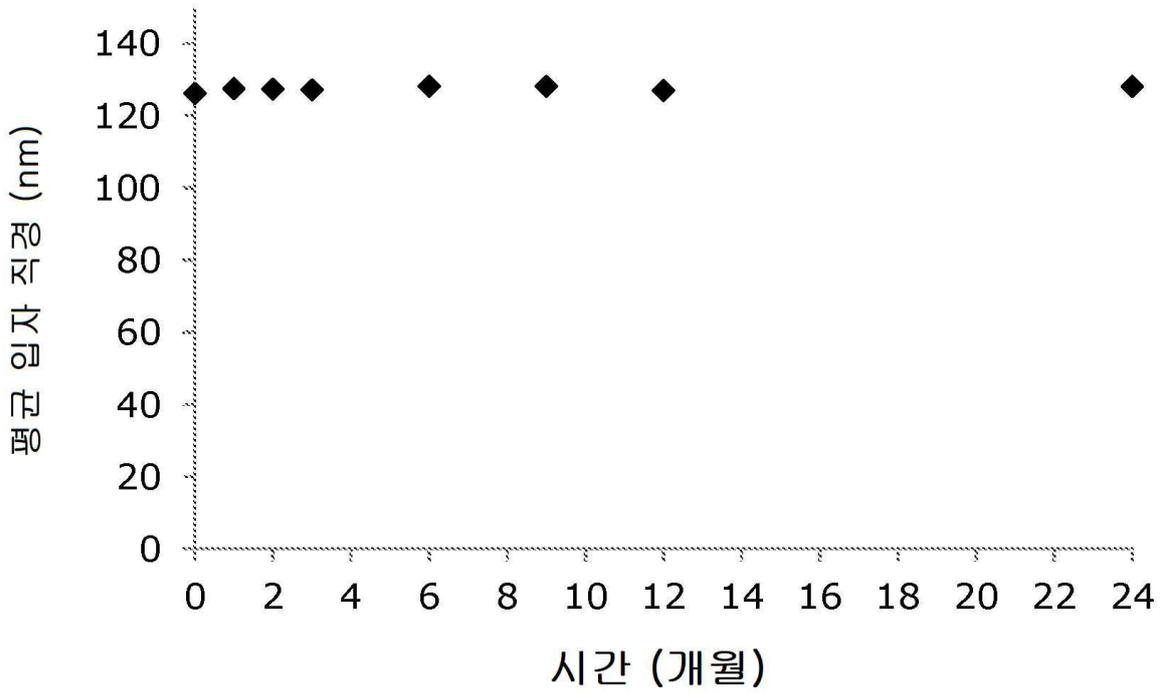
[0217]

도면

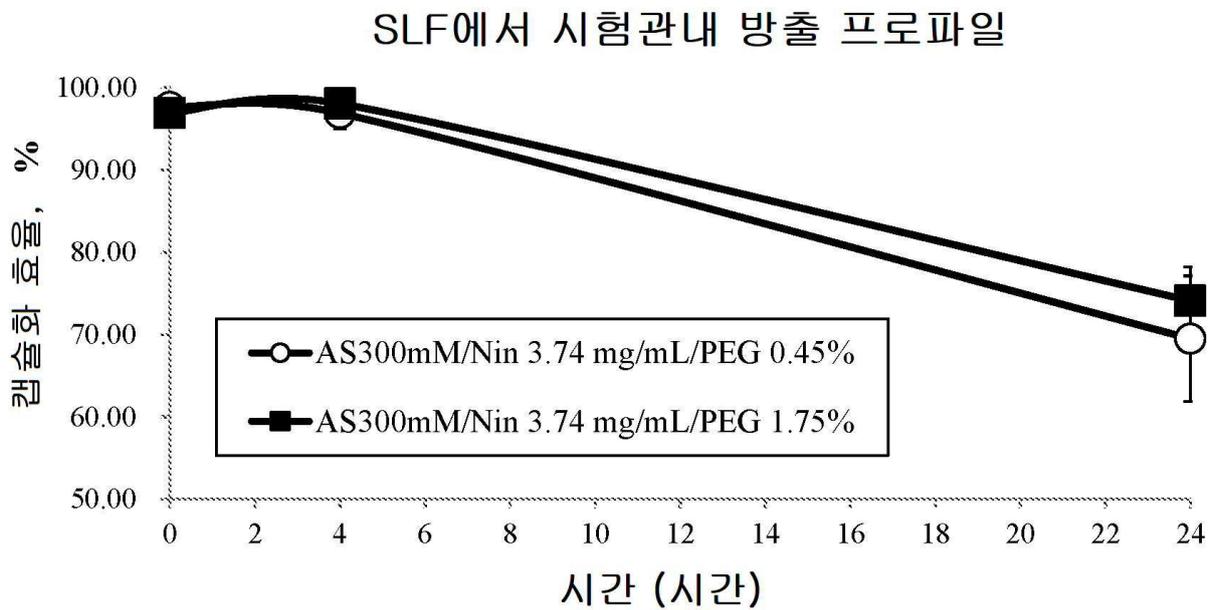
도면1



도면2

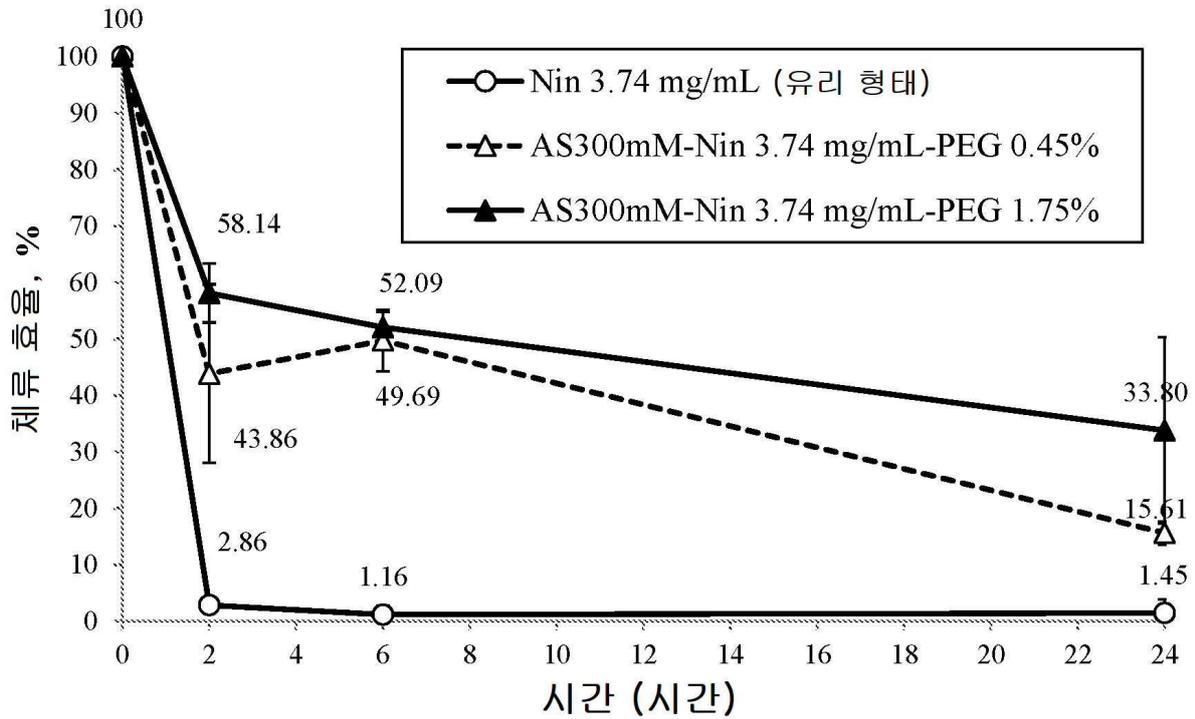


도면3



도면4

마우스 폐에서 닌테다닙 체류 효율



도면5

폐 조직/IPF 모델에서 닌테다닙의 체류

