

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190331** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.06.17

(22) Дата подачи заявки
2019.07.24

(51) Int. Cl. *G01N 33/543* (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)
A61K 47/69 (2017.01)
A61K 47/50 (2017.01)

**(54) КОМПОЗИЦИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЧАСТИЦ С
МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПУТЕМ
УЛЬТРАБЫСТРОЙ ЗАМОРОЗКИ**

(31) 62/702,674

(32) 2018.07.24

(33) US

(86) PCT/US2019/043202

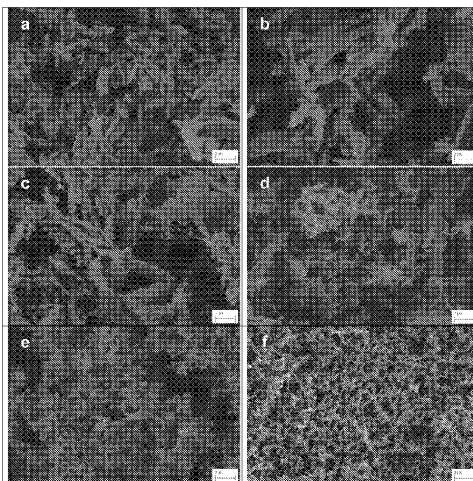
(87) WO 2020/023614 2020.01.30

(71) Заявитель:
**БОРД ОФ РИДЖЕНТС, ДЗЕ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ ТЕХАС
СИСТЕМ (US)**

(72) Изобретатель:
**Уилльямс III Роберт О., Мун Чэхю,
Уоттс Алан Б., Коулленг Джон Дж. (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении описаны фармацевтические композиции, которые содержат менее 10% вспомогательного вещества и представлены в виде наноагрегатов. Было показано, что эти фармацевтические композиции демонстрируют улучшенные свойства, такие как улучшенные аэрозольная и аэродинамические качества. Также в изобретении предложены способы получения описанных в данном документе фармацевтических композиций и их применения.



A1

202190331

202190331

A1

**КОМПОЗИЦИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЧАСТИЦ С
МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПУТЕМ
УЛЬТРА-БЫСТРОЙ ЗАМОРОЗКИ**

[001] Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/702674, поданной 24 июля 2018 г., полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

1. Область техники

[002] Данное изобретение в целом относится к области фармацевтических препаратов и фармацевтического производства. Конкретнее, оно относится к композициям и способам получения лекарственной композиции, содержащей низкие количества вспомогательных веществ и терапевтические агенты, составленные в виде наноагрегатов.

2. Описание предшествующего уровня техники

[003] До недавних пор доставка аэрозольных противогрибковых лекарственных препаратов в легкие была ограничена амфотерицином В (Le and Schiller, 2010; Borro et al. 2008). Однако в Hilberg et al. 2008 сообщается, что ингаляционный вориконазол является более эффективным для лечения инвазивного аспергиллеза легких (ИАЛ), чем ингаляционный амфотерицин В, подтверждая, что небулизированный состав вориконазола, изначально описанный Tolman et al. 2009a, успешно лечил пациентов с ИАЛ, предыдущее лечение которых пероральными или инъекционными дозированными формами вориконазола с ингаляционным амфотерицином В или без него было неэффективным.

[004] В Tolman et al. сообщается об ингаляционном вориконазоле, доставляемом в легкие путем распыления (Tolman et al. 2009a; Tolman et al. 2009b). Однако концентрация вориконазола в ткани легких через 6 часов снижается до уровней ниже минимального обнаруживаемого диапазона (Tolman et al. 2009a). Кроме того, активность небулизированного состава также является очень низкой, составляя всего 5,9% (масс./масс.) с натриевым сульфобутиловым эфиром β -циклодекстрина (SBECD) в качестве вспомогательного вещества. Безопасность доставляемого легочным путем SBECD еще не была подтверждена, и это высокое количество неактивного ингредиента может привести к серьезным побочным эффектам (Wong 1993). Составы вориконазола для ингаляции сухого порошка (ИСП) с использованием наночастиц на основе сополимера лактида и гликолида описаны в Sinha et al. (Sinha et al. 2013) и использованием микрочастиц на основе полимера лактида - в Arora et al. (Arora et al. 2015), но лекарственная нагрузка для этих частиц была низкой (31% и 20% масс./масс., соответственно). В Arora et al. сообщается о другом порошковом составе вориконазола для ИСП с

использованием лейцина в качестве вспомогательного вещества (Arora et al. 2016). Однако все эти порошковые составы для ИСП содержат не являющиеся GRAS (в целом признанными безопасными) вспомогательные вещества, которые не использовались для ингаляционных лекарственных препаратов, одобренных FDA. Weinbom et al. также разработали аморфные и кристаллические составы вориконазола, подходящие для ингаляции сухого порошка, используя технологию создания частиц, замораживание тонких пленок (ЗТП) (Weinbom et al. 2012a; Weinbom et al. 2012b). Однако аморфный состав содержал 75% (масс./масс.) вспомогательного вещества и, следовательно, имел низкую активность, и эффективность всасывания лекарственного препарата была низкой с быстрым выведением по данным *in vivo* фармакокинетики в мышинной модели. ППК_{0-24ч} кристаллического состава была существенно выше, чем для аморфного состава, как в легких (452,6 мкг/ч/г и 232,1 мкг/ч/г, соответственно), так и в плазме (38,4 мкг/ч/г и 18,6 мкг/ч/г, соответственно). Однако аэрозольные характеристики кристаллического состава были хуже (МДФ 37,8%).

[005] Недавно на основании моделирования было сделано предположение, что наноагрегаты, содержащие лекарственные наночастицы, распределяются более преимущественным образом с повышенным покрытием эпителия в легких по сравнению с дискретными частицами микронных размеров и наночастицами (Longest and Hindle 2017). Агрегат представляет собой твердое вещество в дисперсной форме, состоящее из совокупности частиц, удерживаемых вместе сильными внутри- или межмолекулярными силами (Chiou and Riegelman 1971). Когда в компьютерной модели тестировали три разные формы дисперсного лекарственного препарата, включая традиционные микрочастицы, наноагрегаты и истинный наноаэрозоль на основе будесонида и флутиказона пропионата, общая эффективность всасывания наноагрегатов на основе флутиказона пропионата оказалась в 57 раз выше, чем для традиционных микрочастиц. Хотя наноаэрозоль обеспечивал лучшую эффективность всасывания, доступные практически применяемые устройства для доставки истинных наноаэрозолей в малые дыхательные пути отсутствуют, следовательно, наноагрегаты являются наилучшим подходом для направления лекарственных препаратов в малые дыхательные пути. Медленно растворяющиеся наноагрегаты были описаны как характеризующиеся улучшенным поглощением и распределением лекарственного препарата по данным Longest et al. (Longest and Hindle 2017).

[006] ЗТП представляет собой технологию создания частиц, в которой применяется ультра-быстрая скорость замораживания, составляющая до 10000 К/с (Engstrom et al. 2008). Благодаря высокой степени суперохлаждения ЗТП успешно применяли для получения наноструктурированных агрегатов (Sinswat et al. 2008). Распылительная сушка является другой общепринятой методикой получения микро- или наноразмерных частиц для ИСП. Однако образование частиц во время

процесса сушки при распылительной сушке в целом занимает больше времени (Wisniewski 2015), чем процесс замораживания ЗТП, обеспечивая большее время для роста частиц с получением частиц большего размера. Соответственно, типичные способы распылительной сушки не будут обеспечивать преимущества повышенного поглощения и микродозиметрии, которые имеют наноагрегаты, описанные Longest and Hindle 2017. Следовательно, остается необходимость в разработке дополнительных фармацевтических композиций в виде наноагрегатов, которые демонстрируют улучшенные свойства, такие как повышенная аэрозолизация.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[007] В данном изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие терапевтические агенты и вспомогательные вещества, в виде наноагрегатов, способы их производства и способы их применения. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие:

терапевтический агент; и

вспомогательное вещество, причем вспомогательное вещество составляет менее чем около 10% по массе фармацевтической композиции;

причем фармацевтическая композиция составлена в виде наноагрегата, содержащего наночастицы терапевтического агента, а поверхность наночастиц терапевтического агента содержит дискретные домены вспомогательного вещества и при этом дискретные домены вспомогательного вещества уменьшают площадь контакта между наночастицами терапевтического агента.

[008] В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент находится в кристаллической форме. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент находится в аморфной форме. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество составляет от около 9% масс./масс. до около 1% масс./масс. фармацевтической композиции, например, от около 6% масс./масс. до около 2% масс./масс. фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество составляет около 3% масс./масс. фармацевтической композиции. В других вариантах осуществления вспомогательное вещество составляет около 5% масс./масс. фармацевтической композиции.

[009] В некоторых вариантах осуществления дискретные домены вспомогательного вещества содержат один или более не непрерывных доменов вспомогательного вещества на поверхности. В других вариантах осуществления дискретные домены вспомогательного вещества содержат непрерывный и непрерывный слой вспомогательного вещества. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество является водорастворимым. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество является твердым

при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество представляет собой сахарный спирт, такой как маннит. В некоторых вариантах осуществления вспомогательное вещество находится в виде нанодомена в фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления нанодомен вспомогательного вещества имеет размер от около 50 нм до около 500 нм, например, от около 100 нм до около 200 нм.

[0010] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция имеет масс-медианный аэродинамический диаметр от около 1,5 до около 7,5 мкм, например, от около 2,5 до около 6,5 мкм. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция не содержит восковое вспомогательное вещество. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция не содержит гидрофобное вспомогательное вещество. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент выбран из группы, включающей противораковые агенты, противогрибковые агенты, психиатрические агенты, такие как анальгетики, агенты, изменяющие уровень сознания, такие как анестетики или снотворные, нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты (NSAIDs), противогельминтные средства, бета-агонисты, агенты против акне, антиангинальные агенты, антиаритмические агенты, противоастматические агенты, антибактериальные агенты, агенты против доброкачественной гипертрофии предстательной железы, антикоагулянты, антидепрессанты, противодиабетические средства, противорвотные средства, противоэпилептические средства, агенты против подагры, антигипертензивные агенты, противовоспалительные агенты, противомаларийные средства, противомигренозные агенты, антиму斯卡риновые агенты, антинеопластические агенты, агенты против ожирения, агенты против остеопороза, антипаркинсонические агенты, антипролиферативные агенты, противопротозойные агенты, антигистаминные агенты, противокашлевые агенты, агенты против недержания мочи, противовирусные агенты, анксиолитические агенты, препараты для подавления аппетита, бета-блокаторы, сердечные инотропные агенты, химиотерапевтические препараты, корректоры нарушений когнитивных функций, контрацептивы, кортикостероиды, ингибиторы Cox-2, диуретики, агенты для коррекции эректильной дисфункции, отхаркивающие средства, желудочно-кишечные агенты, антагонисты гистаминовых рецепторов, иммуносупрессанты, кератолитики, агенты для регуляции уровня липидов, ингибиторы лейкотриенов, макролиды, мышечные релаксанты, нейролептики, питательные агенты, опиоидные анальгетики, ингибиторы протеаз и седативные средства. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой противогрибковый агент, такой как азольный противогрибковый агент. В некоторых вариантах осуществления азольный противогрибковый агент представляет собой вориконазол. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит одно или

более дополнительных вспомогательных веществ. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более дополнительных терапевтических агентов.

[0011] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для введения: перорально, интраадипозально, внутриаартериально, внутрисуставно, внутричерепно, внутрикожно, внутриочагово, внутримышечно, интраназально, внутриглазно, внутриперикардially, внутрибрюшинно, внутривентрально, внутривисцерально, интравентрально, интратрахеально, интратуморально, интратраншеально, интравагинально, интравенно, интравезикулярно, интравитреально, липосомально, локально, мукозально, парентерально, ректально, субконъюнктивально, подкожно, сублингвально, местно, трансдермально, вагинально, в кремах, в липидных композициях, посредством катетера, посредством лаважа, посредством непрерывной инфузии, посредством инфузии, посредством ингаляции, посредством инъекции, посредством местной доставки или посредством локализованной перфузии. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для введения посредством ингаляции.

[0012] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для применения с ингалятором, таким как ингалятор для комбинации с фиксированной дозой, сухопорошковый ододозовый ингалятор, сухопорошковый многодозовый ингалятор, сухопорошковый ингалятор на несколько единичных доз, дозированный ингалятор или дозированный ингалятор под давлением. В некоторых вариантах осуществления ингалятор представляет собой капсульный ингалятор. В некоторых вариантах осуществления ингалятор представляет собой ингалятор низкого сопротивления. В других вариантах осуществления ингалятор представляет собой ингалятор высокого сопротивления. В некоторых вариантах осуществления используют ингалятор со скоростью потока от около 10 л/мин до около 150 л/мин, например от около 20 л/мин до около 100 л/мин. В других вариантах осуществления ингалятор имеет разность давления от 0,5 кПа до около 5 кПа. В некоторых вариантах осуществления разность давления составляет 1 кПа, 2 кПа или 4 кПа. В некоторых вариантах осуществления загружаемая доза ингалятора составляет от около 0,1 мг до около 50 мг. В некоторых вариантах осуществления загружаемая доза ингалятора составляет от около 0,1 мг до около 10 мг. В других вариантах осуществления загружаемая доза ингалятора составляет от около 5 мг до около 50 мг, например от около 5 мг до около 25 мг. В некоторых вариантах осуществления ингалятор выполнен с возможностью доставки одной или нескольких доз из одной или более последовательно загруженных единичных доз. В некоторых вариантах осуществления ингалятор выполнен с возможностью доставки одной дозы из одной единичной дозы. В других вариантах осуществления ингалятор выполнен с возможностью доставки нескольких доз из одной единичной

дозы. В других вариантах осуществления ингалятор выполнен с возможностью доставки одной дозы, каждой из нескольких последовательно загруженных капсул. В других вариантах осуществления ингалятор выполнен с возможностью доставки нескольких доз из нескольких последовательно загруженных капсул.

[0013] В другом аспекте в данном изобретении предложены способы лечения или предотвращения заболевания или нарушения у нуждающегося в этом пациента, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества описанной в данном документе фармацевтической композиции, содержащей терапевтический агент, эффективный для лечения заболевания или нарушения. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение относится к легким. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой инфекцию, такую как грибковая инфекция. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой противогрибковый агент, такой как азольный противогрибковый агент. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой вориконазол.

[0014] В другом аспекте в данном изобретении предложены способы получения фармацевтической композиции, включающие:

- смешивание терапевтического агента и вспомогательного вещества, причем вспомогательное вещество находится в количестве менее 10% масс./масс., с растворителем с образованием первичного раствора;

- нанесение первичного раствора на поверхность при температуре, подходящей для замораживания растворителя; и

- удаление растворителя с получением фармацевтической композиции.

[0015] В некоторых вариантах осуществления растворитель представляет собой смесь двух или более растворителей. В некоторых вариантах осуществления смесь растворителей содержит воду. В некоторых вариантах осуществления растворитель представляет собой органический растворитель. В некоторых вариантах осуществления органический растворитель представляет собой ацетонитрил. В других вариантах осуществления органический растворитель представляет собой 1,4-диоксан. В некоторых вариантах осуществления растворитель представляет собой смесь воды и органического растворителя, такую как смесь воды и ацетонитрила. В некоторых вариантах осуществления смесь двух или более растворителей содержит от около 10% об./об. до около 90% об./об. органического растворителя. В некоторых вариантах осуществления смесь содержит от около 40% об./об. до около 60% об./об. органического растворителя, например, около 50% об./об. органического растворителя. В других вариантах осуществления смесь содержит от около 20% об./об. до около 40% об./об. органического растворителя, например, около 30% об./об. органического растворителя. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент и

вспомогательное вещество составляют менее 10% масс./об. первичного раствора, например, от около 0,5% до около 5% масс./об. первичного раствора. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент и вспомогательное вещество составляют около 1% масс./об. первичного раствора. В других вариантах осуществления терапевтический агент и вспомогательное вещество составляют около 3% масс./об. первичного раствора.

[0016] В некоторых вариантах осуществления поверхность вращается. В некоторых вариантах осуществления температура составляет от около 0°C до около -200 °C. В некоторых вариантах осуществления температура составляет от около 0°C до около -120 °C, например, от около -50°C до около -90 °C. В некоторых вариантах осуществления температура составляет около -60 °C. В других вариантах осуществления температура составляет от около -125°C до около -175 °C, например, около -150 °C. В некоторых вариантах осуществления растворитель удаляют при пониженном давлении. В некоторых вариантах осуществления растворитель удаляют посредством лиофилизации. В некоторых вариантах осуществления лиофилизацию проводят при температуре лиофилизации от около -20°C до около -100 °C, например, около -40 °C. В некоторых вариантах осуществления пониженное давление составляет менее 250 мТорр, например, около 100 мТорр.

[0017] В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают нагревание фармацевтической композиции при пониженном давлении. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию нагревают до температуры от около 0°C до около 30 °C, например, около комнатной температуры или около 25 °C. В некоторых вариантах осуществления пониженное давление составляет менее 250 мТорр, например, около 100 мТорр. В некоторых вариантах осуществления пониженное давление является таким же, как и пониженное давление во время лиофилизации.

[0018] В другом аспекте в данном изобретении предложены фармацевтические композиции, полученные в соответствии со способами, описанными в данном документе.

[0019] Другие цели, признаки и преимущества данного изобретения станут очевидны из нижеприведенного подробного описания. При этом следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры, хотя и указывают определенные варианты осуществления изобретения, приведены исключительно в качестве иллюстрации, поскольку из представленного подробного описания для специалистов в данной области техники станут очевидны различные изменения и модификации в пределах сущности и объема данного изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0020] Нижеприведенные графические материалы составляют часть представленного описания и включены, чтобы дополнительно продемонстрировать

определенные аспекты данного изобретения. Данное изобретение может быть более понятно со ссылкой на одно или более из этих графических изображений в комбинации с подробным описанием конкретных вариантов осуществления, представленных в данном документе.

[0021] **Фиг. 1** иллюстрирует ПРД (а) порошка вориконазола; (b) ЗТП-ВКЗ; (c) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5; (d) ЗТП-ВКЗ-МАН 70:30; (e) ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50; (f) ЗТП-МАН.

[0022] **Фиг. 2** иллюстрирует модулированную ДСК (а) ЗТП-МАН; (b) ЗТП-ВКЗ; (c) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5; (d) ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50.

[0023] **Фиг. 3А-3J** иллюстрируют СЭМ-изображения ЗТП-ВКЗ-МАН: (Фиг. 3А) ЗТП-ВКЗ; (Фиг. 3В) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5; (Фиг. 3С) ЗТП-ВКЗ-МАН 70:30; (Фиг. 3D) ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50; (Фиг. 3Е) ЗТП-ВКЗ-МАН 25:75; (Фиг. 3F) ЗТП-МАН; (Фиг. 3G) аэрозольный ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5; (Фиг. 3H) аэрозольный ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50; (Фиг. 3I) ЗТП-ВКЗ-МАН 25:75, через 5 мин в ячейках Франца; (Фиг. 3J) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5, через 5 мин в ячейках Франца.

[0024] **Фиг. 4А-4F** иллюстрируют СЭМ-изображения: (Фиг. 4А) ЗТП-ВКЗ; (Фиг. 4В) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5, изображение 3D-топографии; (Фиг. 4С) ЗТП-ВКЗ; (Фиг. 4D) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5, и иллюстрация площади контакта и расстояния между частицами; (Фиг. 4Е) ЗТП-ВКЗ; (Фиг. 4F) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5.

[0025] **Фиг. 5** иллюстрирует АСМ-изображение топографии аэрозольного ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 при применении инсуффлятора DP4.

[0026] **Фиг. 6** иллюстрирует УПП порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН ($n=3$; среднее $\pm$ СО).

[0027] **Фиг. 7А-7С** иллюстрируют данные СЭМ/ЭДР для ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50: (Фиг. 7А) СЭМ-изображение; (Фиг. 7В) элементный анализ пятна А; (Фиг. 7С) элементный анализ пятна В.

[0028] **Фиг. 8А и 8В** иллюстрируют ИК-ФС (Фиг. 8А, область от 3500 см^{-1} до 3100 см^{-1} ; Фиг. 8В, область от 1290 см^{-1} до 1230 см^{-1}) (а) порошка вориконазола; (b) ЗТП-ВКЗ; (c) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5; (d) ЗТП-ВКЗ-МАН 70:30; (e) ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50; (f) ЗТП-МАН.

[0029] **Фиг. 9А и 9В** иллюстрируют 1D CP-MAS-спектр (**Фиг. 9А**) ЗТП-ВКЗ; и (**Фиг. 9В**) ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10; спектр ^{13}C (левый спектр) и спектр ^{19}F (правый спектр).

[0030] **Фиг. 10А и 10В** иллюстрируют 2D ^1H - ^{13}C HETCOR-спектр (**Фиг. 10А**) ЗТП-ВКЗ; и (**Фиг. 10В**) ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10.

[0031] **Фиг. 11** иллюстрирует МДФ (% измеренного) сухих порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН ($n=3$; среднее $\pm$ СО).

[0032] **Фиг. 12** иллюстрирует аэродинамический профиль распределения частиц по размеру ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 по времени разделения: в 0 мин; в 15 мин; в 30 мин; в 60 мин слева направо ($n=3$; среднее $\pm$ СО).

[0033] **Фиг. 13А и 13В** иллюстрируют аэродинамические свойства ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 по времени разделения: (линия а) МДФ, % доставленного; (линия b) МДФ, % отмеренного; (линия c) ММАД; и (линия d) ГСО (n=3; среднее $\pm$ СО).

[0034] **Фиг. 14А и 14В** иллюстрируют аэродинамические свойства ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 по времени хранения 25 °С/ОВ 60%: (линия а) МДФ, % доставленной; (линия b) МДФ, % отмеренной; (линия c) ММАД; и (линия d) ГСО (n=3; среднее $\pm$ СО).

[0035] **Фиг. 15** иллюстрирует кумулятивное высвобождение вориконазола (%) для (линия а) ЗТП-ВКЗ-ПВПК25 25:75 (аморфный); (линия b) ЗТП-ВКЗ-МАН 25:75; (линия c) ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50; (линия d) ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 (n=3; среднее $\pm$ СО).

[0036] **Фиг. 16** иллюстрирует изображения процесса замораживания.

[0037] **Фиг. 17А-17D** иллюстрирует АСМ-изображение топографии: (а) состава № 2 (шкала 5 мкм x 5 мкм) и (b) состава № 4 (шкала 2 мкм x 2 мкм); и соответствующее 3D-изображение топографии: (c) состава № 2 и (d) состава № 4.

[0038] **Фиг. 18А-18F** иллюстрируют СЭМ-изображения наноагрегатов вориконазола: (а) состав № 1, (b) состав № 2, (c) состав № 3, (d) состав № 4, (e) состав № 5 и (f) состав № 6.

[0039] **Фиг. 19А-19F** иллюстрируют СЭМ-изображения аэрозольных наноагрегатов вориконазола: (а)-(b) состав № 7 и (c)-(f) состав № 6.

[0040] **Фиг. 20** иллюстрирует ПРД (а) порошка вориконазола, (b) ЗТП-вориконазола, (c) состава № 6 (малый масштаб), (d) состава № 6 (большой масштаб) и (e) ЗТП-маннита.

ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0041] В некоторых аспектах данного изобретения фармацевтические композиции содержат наноагрегаты. Эти композиции можно получать такими способами, как замораживание тонких пленок, и они содержат терапевтический агент и вспомогательное вещество. В некоторых вариантах осуществления эти композиции также демонстрируют улучшенную аэролизацию или другие фармацевтические свойства.

[0042] Также в данном документе предложены способы получения и применения этих композиций. Подробные характеристики этих композиций более подробно приведены ниже.

Фармацевтические композиции

[0043] В некоторых аспектах в данном изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие терапевтический агент и вспомогательное вещество, причем вспомогательное вещество составляет менее чем около 10% масс./масс. композиции. Эти фармацевтические композиции могут дополнительно содержать один или более дополнительных терапевтических агентов или одно или более дополнительных вспомогательных веществ. Такие

композиции можно получать, используя такие способы, как замораживание тонких пленок. Эти способы включают замораживание раствора терапевтического агента и вспомогательного вещества в растворителе и последующее удаление этого растворителя при пониженном давлении и/или пониженной температуре. Способы получения фармацевтических композиций с использованием замораживания тонких пленок описаны в заявке на патент США № 2010/0221343, Watts, et al., 2013, Engstrom et al. 2008, Wang et al. 2014, Thakkar et el. 2017, O'Donnell et al. 2013, Lang et al. 2014a, Lang et al. 2014b, Carvalho et al. 2014, Beinbom et al. 2012a, Beinborn et al. 2012b, Zhang et al. 2012, Overhoff et al. 2008, Overhoff et al. 2007a, Overhoff et al. 2007b, Watts et al. 2010, Yang et al. 2010, DiNunzio et al. 2008, Yang et al. 2008, Purvis et al. 2007, Liu et al. 2015, Sinswat et al. 2008 и патенте США № 8968786, которые все включены в данный документ посредством ссылки.

[0044] Такие фармацевтические композиции могут находиться в виде наноагрегата, который содержит совокупность наночастиц, которые притягиваются друг к другу или соединены вместе посредством меж- или внутримолекулярных когезионных сил. В описанных в данном документе фармацевтических композициях наноагрегаты могут содержать одну или более частиц лекарственного препарата, которые покрыты дискретными не непрерывными нанодоменами вспомогательного вещества. Не ограничиваясь какой-либо теорией считается, что нанодомены вспомогательного вещества могут иметь размер от около 25 нм, 50 нм, 75 нм, 100 нм, 125 нм, 150 нм, 175 нм, 200 нм, 225 нм, 250 нм, 275 нм, 300 нм, 325 нм, 350 нм, 375 нм, 400 нм, 425 нм, 450 нм, 475 нм, 500 нм, 525 нм, 550 нм, 575 нм, 600 нм, 625 нм или 650 нм, или в любом получаемом из приведенных значений диапазоне. Размер этих нанодоменов вспомогательного вещества имеет размер от около 25 нм до около 750 нм, от около 50 нм до около 500 нм или от около 100 нм до около 200 нм. Не ограничиваясь какой-либо теорией считается, что эти нанодомены могут находиться в виде дискретных композиций, точно нанесенных на поверхность наноагрегата, который состоит из терапевтического агента. Фармацевтические композиции могут дополнительно иметь масс-медианный аэродинамический диаметр от около 2,5 мкм до около 7,5 мкм, от около 3,0 мкм до около 6,0 мкм, от около 4,0 мкм до около 6,0 мкм или от около 2,5, 2,75, 3,0, 3,25, 3,5, 3,75, 4, 4,25, 4,5, 4,75, 5, 5,25, 5,5, 5,75, 6,0, 6,25, 6,5, 6,75, 7,0, 7,25, до около 7,5 мкм, или в любом получаемом из приведенных значений диапазоне.

Терапевтический агент

[0045] «Терапевтический агент», применяемый в представленных способах и композициях, относится к любому веществу, соединению, лекарственному препарату, медикаменту или другому основному активному ингредиенту, который обеспечивает терапевтический или фармакологический эффект при введении человеку или животному. Когда терапевтический агент находится в композиции, терапевтический агент находится в композиции на уровне от около 50% до около

99% масс./масс., от около 70% до около 99% масс./масс., от около 90% до около 97% масс./масс. или от около 95% до около 97% масс./масс. общей композиции. В некоторых вариантах осуществления количество терапевтического агента составляет от около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% до около 99% масс./масс. или любой получаемый из приведенных значений диапазон.

[0046] Подходящие липофильные терапевтические агенты могут представлять собой любые плохо растворимые в воде, биологически активные агенты или их соль, изомер, сложный эфир, эфир или другое производное, которые включают, но не ограничиваются этим, противораковые агенты, противогрибковые агенты, психиатрические агенты, такие как анальгетики, агенты, изменяющие уровень сознания, такие как анестетики или снотворные, нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты (NSAIDS), противогельминтные средства, агенты против акне, антиангинальные агенты, антиаритмические агенты, противоастматические агенты, антибактериальные агенты, агенты против доброкачественной гипертрофии предстательной железы, антикоагулянты, антидепрессанты, противодиабетические средства, противорвотные средства, противозипелитические средства, агенты против подагры, антигипертензивные агенты, противовоспалительные агенты, противомаларийные средства, противомигренозные агенты, антимускариновые агенты, антинеопластические агенты, агенты против ожирения, агенты против остеопороза, антипаркинсонические агенты, антипролиферативные агенты, противопротозойные агенты, антигистаминные агенты, противокашлевые агенты, агенты против недержания мочи, противовирусные агенты, анксиолитические агенты, препараты для подавления аппетита, бета-агонисты, бета-блокаторы, сердечные инотропные агенты, химиотерапевтические препараты, корректоры нарушений когнитивных функций, контрацептивы, кортикостероиды, ингибиторы Cox-2, диуретики, агенты для коррекции эректильной дисфункции, отхаркивающие средства, желудочно-кишечные агенты, антагонисты гистаминовых рецепторов, иммуносупрессанты, кератолитики, агенты для регуляции уровня липидов, ингибиторы лейкотриенов, макролиды, мышечные релаксанты, нейролептики, питательные агенты, опиоидные анальгетики, ингибиторы протеаз или седативные средства.

[0047] Неограничивающие примеры терапевтических агентов могут включать 7-метоксиптеридин, 7-метилптеридин, абакавир, абафунгин, абареликс, ацебутолол, аценафтен, ацетаминифен, ацетанилид, ацетазоламид, ацетогексамид, ацитретин, акривастин, аденин, аденозин, алатрофлоксацин, альбендазол, альбутерол, алклофенак, альдеслейкин, алемтузумаб, алфузозин, алитретиноин, аллобарбитал, аллопуринол, полностью транс-ретиноевая кислота (ПТРК), алоксиприн, алпразолам, алпренолол, алтретамин, амифостин, амилорид, аминоклутетимид, аминопирин, амиодарон HCl, амитриптилин, амлодипин,

амобарбитал, амодиахин, амоксапин, амфетамин, амфотерицин, амфотерицин В, ампициллин, ампренавир, амсакрин, амилнитрат, амилобарбитон, анастрозол, анринон, антрацен, антрациклины, апробарбитал, триоксид мышьяка, аспарагиназу, аспирин, астемизол, атенолол, аторвастатин, атоваквон, атразин, атропин, атропин азатиоприн, ауранофин, азацитидин, азапропазон, азатиоприн, азинтамид, азитромицин, азтреонам, баклофен, барбитон, живую БЦЖ, бекламид, беклометазон, бендрофлуметиазид, беназеприл, бенидипин, бенорилат, бенперидол, бентазепам, бензамид, бензантрацен, бензатин-пенициллин, бензогексол HCl, бензнидазол, бензодиазепины, бензойную кислоту, бефениума гидроксинафтоат, бетаметазон, бевацизумаб (авастин), бексаротен, безафибрат, бикалутамид, бифоназол, бипериден, бисакодил, бисантрен, блеомицин, блеомицин, бортезомиб, бринзоламид, бромазепам, бромокриптина мезилат, бромперидол, бротизолам, будесонид, буметанид, бупропион, бусульфамид, буталбитал, бутамбен, бутенафин HCl, бутобарбитон, бутобарбитон (бутетал), бутоконазол, бутоконазола нитрат, бутилпарабен, кофеин, кальцифедиол, кальципотриен, кальцитриол, калустерон, камбендазол, камфору, камптотецин, аналоги камптотецина, кандесартан, капецитабин, капсаицин, каптоприл, карбамазепин, карбимазол, карбофуран, карбоплатин, карбромал, каримазол, кармустин, цефамандол, цефазолин, цефиксим, цефтазидим, цефуроксим аксетил, целекоксиб, цефрадин, церивастатин, цетиризин, цетуксимаб, хлорамбуцил, хлорамфеникол, хлордiazепоксид, хлорметиазол, хлорохин, хлортиазид, хлорфенирамин, хлопрогуанил HCl, хлорпромазин, хлорпропамид, хлорпротиксен, хлорпирифос, хлортетрациклин, хлорталидон, хлорзоксазон, холекальциферол, хризен, цилостазол, циметидин, циннаризин, цинноксацин, ципрофибрат, ципрофлоксацин HCl, цизаприд, цисплатин, циталопрам, кладрибин, кларитромицин, клемастина фумарат, клиохинол, клобазам, клофарабин, клофазимин, клофибрат, кломифена цитрат, кломипрамин, клоназепам, клопидогрел, клотиазепам, клотримазол, клотримазол, клоксациллин, клозапин, кокаин, кодеин, колхицин, колистин, конъюгированные эстрогены, кортикостерон, кортизон, ацетат кортизона, циклизин, циклобарбитал, циклобензаприл, циклобутан-спиробарбитурат, циклоэтан-спиробарбитурат, циклогептан-спиробарбитурат, циклогексан-спиробарбитурат, циклопентан-спиробарбитурат, циклофосфамид, циклопропан-спиробарбитурат, циклосерин, циклоспорин, ципрогептадин, ципрогептадин HCl, цитарабин, цитозин, дакарбазин, дактиномицин, даназол, дантрон, дантролен натрия, дапсон, дарбэпоэтин альфа, дародипин, даунорубицин, декоквинат, дегидроэпиандростерон, делавирдин, демеклоциклин, денилейкин, дезоксикортикостерон, дезоксиметазон, дексаметазон, дексамфетамин, дексхлорфенирамин, дексфенфлурамин, дексразоксан, декстропропаксифен, диаморфин, диатризовую кислоту, диазепам, диазоксид, дихлорофен, дихлорпроп, диклофенак, дикумарол, диданозин, дифлунисал,

дигитоксин, дигоксин, дигидрокодеин, дигидроэквилин, дигидроэрготамина мезилат, дийодогидроксихинолин, дилтиазем HCl, дилоксанида фуруат, дименгидринат, диморфоламин, динитолмид, диосгенин, дифеноксилат HCl, дифенил, дипиридамо́л, диритромицин, дизопирамид, дисульфирам, диурон, доцетаксел, домперидон, донепезил, доксазозин, доксазозин HCl, доксорубицин (нейтральный), доксорубицин HCl, доксициклин, дромостанолонa пропионат, дропери́дол, дифиллин, эхинокандины, эконазол, нитрат эконазола, эфавиренц, эллиптицин, эналаприл, энлимомаб, эноксимон, эпинефрин, производные эпиподофиллотоксина, эпирубицин, эпозтин альфа, эпросартан, эквиленин, эквилин, эргокальциферол, эрготамин тартрат, эрлотиниб, эритромицин, эстрадиол, эстраму́стин, эстриол, эстрон, этакриновую кислоту, этамбутол, этинамат, этионамид, этопропазин HCl, этил-4-аминобензоат (бензокаин), этилпарабен, этинилэстрадиол, этодолак, этомидат, этопозид, этретинат, эксеме́стан, фелбамат, фелодипин, фенбендазол, фенбуконазол, фенбуфен, фенхлорфос, фенклофенак, фенфлурамин, фенофибрат, фенолдопам, фенпрофен кальция, феноксикарб, фенпиклонил, фентанил, фентиконазол, фексофенадин, филграстим, финастерид, флекамида ацетат, флоксуридин, флударабин, флуконазол, флуконазол, флуцитозин, флудиоксонил, флудрокортизон, флудрокортизона ацетат, флуфенамовую кислоту, флунанизон, флунаризин HCl, флунизолид, флунитразепам, флуокортолон, флуометурон, флуорен, фторурацил, флуоксетин HCl, флуоксиместерон, флупентиксола деканоат, флупентиксола деканоат, флуразепам, флурбипрофен, флутиказона пропионат, флува́статин, фолиевую кислоту, фозиноприл, фосфенитоин натрия, фроватриптан, фуросемид, фулвестрант, фуразолидон, габапентин, G-ВНС (линдан), гефитиниб, гемцитабин, гемфиброзил, гемтузумаб, глафенин, глибенкламид, гликлазид, глимепирид, глипизид, глютетимид, глибурид, глицерил тринитрат (нитроглицерин), гозерелина ацетат, грепафлоксацин, гризеофульвин, гвайфенезин, гуанабензацетат, гуанин, галофантрин HCl, галоперидол, гидрохлоротиазид, гептабарбитал, героин, гесперетин, гексахлорбензол, гексетал, гистрелина ацетат, гидрокортизон, гидрофлуметиазид, гидроксимочевина, гиосциамин, гипоксантин, ибритутумаб, ибупрофен, идарубицин, идобутал, ифосфамид, дигидроэквиленин, иматиниба мезилат, имипенем, индапамид, индинавир, индометацин, индопрофен, интерферон альфа-2а, интерферон альфа-2b, йодамид, иопаноевую кислоту, ипродион, ирбесартан, иринотекан, изавуконазол, изокарбоксазид, изоконазол, изогуанин, изониазид, изопропилбарбитурат, изопротурон, изосорбида динитрат, изосорбида мононитрат, исрадипин, итраконазол, итраконазол, итраконазол (Itra), ивермектин, кетоназол, кетопрофен, кеторолак, келлин, лабеталол, ламивудин, ламотриджин, ланатозид C, лансопразол, L-дофа, лефлуномид, леналидомид, летрозол, лейковорин, лейпролида ацетат, левамизол, левофлоксацин, лидокаин, линурон, лизиноприл, ломефлоксацин, ломустин, лоперамид, лоратадин, лоразепам,

лорефлорксацин, лорметазепам, лозартана мезилат, ловастатин, лизурид малеат, мапротилин HCl, мазиндол, мебендазол, меклизин HCl, меклофенамовую кислоту, медазепам, медигоксин, медроксипрогестерона ацетат, мефенамовую кислоту, мефлохин HCl, мегестрола ацетат, мелфалан, мепензолата бромид, мепробамат, мептазинол, меркаптопурин, месалазин, месну, мезоридазин, местранол, метадон, метаквалон, метокарбамол, метоин, метотрексат, метоксален, метсуксимид, метиклотиазид, метилфенидат, метилфенобарбитон, метил-п-гидроксибензоат, метилпреднизолон, метилтестостерон, метиприлон, метисергида малеат, метоклопрамид, метолазон, метопролол, метронидазол, миансерин HCl, миконазол, мидазолам, мифепристон, миглитол, миноциклин, миноксидил, митомицин C, митотан, митоксантрон, микофенолата мофетил, молиндон, монтелукаст, морфин, моксифлоксацин HCl, набуметон, надолол, налбуфин, налидиксовую кислоту, нандролон, нафтацен, нафтален, напроксен, наратриптан HCl, натамицин, неларабин, нелфинавир, невирапин, никардипин HCl, никотинамид, никотиновую кислоту, никумалон, нифедипин, нилутамид, нимодипин, ниморазол, нисолдипин, нитразепам, нитрофурантоин, нитрофуразон, низатидин, нофетумомаб, норэтистерон, норфлоксацин, норгестрел, нортриптилин HCl, нистатин, эстрадиол, офлоксацин, оланзапин, омепразол, омоконазол, ондансетрон HCl, опрелвекин, омидазол, оксалиплатин, оксамниквин, оксантел эмбонат, оксапрозин, оксатомид, оксазепам, окскарбазепин, оксфендазол, оксиконазол, окспренолол, оксифенбутазон, оксифенциклимин HCl, паклитаксел, палифермин, памидронат, п-аминосалициловую кислоту, пантопразол, параметандион, пароксетин HCl, пэгадемазу, пэгаспаргазу, пэгфилграстим, пеметрексед динатрия, пеницилламин, тетранитрат пентаэритрита, пентазоцин, пентазоцин, пентобарбитал, пентобарбитал, пентостатин, пентоксифиллин, перфеназин, перфеназина пимозид, перилен, фенацемид, фенацетин, фенантрен, фениндион, фенобарбитал, фенобарбитон, фенолфталеин, феноксибензамин, феноксибензамин HCl, феноксиметилпенициллин, фенсуксимид, фенилбутазон, фенитоин, пиндолол, пиоглитазон, пипоброман, пироксикам, пизотифена малеат, соединения платины, пликамицин, полиены, полимиксин В, порфимер натрия, посаконазол (Posa), прамипексол, прастерон, правастатин, празиквантел, празозин, празозин HCl, преднизолон, преднизон, примидон, пробарбитал, пробенецид, пробукол, прокарбазин, прохлорпемазин, прогестерон, прогуанил HCl, прометазин, пропофол, пропоксур, пропранолол, пропилпарабен, пропильтиоурацил, простагландин, псевдоэфедрин, птеридин-2-метилтиол, птеридин-2-тиол, птеридин-4-метилтиол, птеридин-4-тиол, птеридин-7-метил-1-тиол, птеридин-7-тиол, пирантел эмбонат, пиразинамид, пирен, пиридостигмин, приметамин, кветиапин, хинакрин, хинаприл, хинидин, хинидинсульфат, хинин, хининсульфат, рабепразол натрия, ранитидин HCl, расбуриказу, равуконазол, репаглинид, репозал, резерпин, ретиноиды, рифабутин, рифампицин, рифапентин, римексолол, рисперидон,

ритонавир, ритуксимаб, ризатриптана бензоат, рофекоксиб, ропинирол HCl, росиглитазон, сахарин, сальбутамол, садициламид, салициловую кислоту, саквинавир, сарграмостим, втор-бутабарбитал, секобарбитал, сертаконазол, сертиндол, сертралин HCl, симвастатин, сиrolimus, сорафениб, спарфлоксацин, спирамицин, спиронолактон, станолон, станозолол, ставудин, стилбестрол, стрептозотоцин, стрихнин, сулконазол, сулконазола нитрат, сульфацетамид, сульфадиазин, сульфамеразин, сульфаметазин, сульфаметоксазол, сульфаниламид, сульфатиазол, сулиндак, сульфабензамид, сульфацетамид, сульфадиазин, сульфадоксин, сульфафуразол, сульфамеразин, сульфаметоксазол, сульфапиридин, сульфасалазин, сульфинпиразон, сульпирид, сультиам, суматриптана сукцинат, сунитиниб малеат, такрин, такролимус, талбутал, тамоксифена цитрат, тамулозин, таргретин, таксаны, тазаротен, телмисартан, темазепам, темозоломид, тенипозид, теноксикам, теразозин, теразозин HCl, тербинафин HCl, тербуталина сульфат, терконазол, терфенадин, тестолактон, тестостерон, тетрациклин, тетрагидроканнабинол, тетроксоприм, талидомид, тебаин, теобромин, теofilлин, тиабендазол, тиамфеникол, тиогуанин, тиоридазин, тиотепу, этотоин, тимин, тиагабин HCl, тиболон, тиклопидин, тинидазол, тиоконазол, тирофибан, тизанидин HCl, толазамид, толбутамид, толкапон, топирамат, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трамадол, трастузумаб, тразодон HCl, третиноин, триамцинолон, триамтерен, триаолом, триаолоы, трифлупромазин, триметоприм, тримипрамина малеат, трифенилен, троглитазон, трометамин, тропикамид, тровафлоксацин, тибамат, убидекаренон (коэнзим Q10), ундеценовую кислоту, урацил, урациловый иприт, мочевую кислоту, вальпроевую кислоту, валрубицин, валсартан, ванкомицин, венлафаксин HCl, вигабатрин, винбарбитал, винбластин, винкристин, винорелбин, вориконазол, ксантин, зафирлукаст, зидовудин, зилеутон, золедронат, золедроновую кислоту, золмитриптан, золпидем и зопиклон.

[0048] В конкретных аспектах терапевтические агенты могут являться вориконазолом или другими представителями общего класса азольных соединений. Типовые противогрибковые азолы включают а) имидазолы, такие как миконазол, кетоконазол, клотримазол, эконазол, омокконазол, бифоназол, бутокконазол, фентиконазол, изоконазол, оксиконазол, сертаконазол, сулконазол и тиокконазол, б) триаолоы, такие как флуконазол, итраконазол, изавуконазол, равуконазол, посаконазол, вориконазол, терконазол, и с) тиаолоы, такие как абафунгин. Другие лекарственные препараты, которые можно применять в этом подходе, включают, но не ограничиваются этим, гипертиреоидные лекарственные препараты, такие как каримазол, противораковые агенты, например, цитотоксические агенты, такие как производные эпиподофиллотоксина, таксаны, блеомицин, антрациклины, а также агенты на основе платины и аналоги камптотецина. Следующие терапевтические агенты также могут включать другие противогрибковые антибиотики, такие как плохо растворимые в воде эхинокандины, полиены (например, амфотерицин В и

натамицин), а также антибактериальные агенты (например, полимиксин В и колистин) и противовирусные лекарственные препараты. Агенты также могут включать психиатрические агенты, такие как антипсихотические агенты, антидепрессанты или анальгетики и/или транквилизаторы, такие как бензодиазепины. Агенты также могут включать изменяющий уровень сознания агент или анестетический агент, такой как пропофол. Представленные композиции и способы их получения можно применять для изготовления фармацевтических композиций с соответствующими фармакокинетическими свойствами для применения в качестве терапевтических средств.

[0049] В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе композиции могут содержать длительно действующий агонист β (LABA). Некоторые неограничивающие примеры длительно действующего β -агониста включают формотерол, такой как формотерола фумарат, сальметерол, такой как сальметерола ксинафоат, бамбутерол, кленбутерол, индакатерол, олодатерол, протокилол, абедитерол, сальмефамол, вилантерол, арформотерол, кармотерол, PF-610355, GSK-159797, GSK-597901, GSK-159802, GSK-642444, GSK-678007, или другой длительно действующий β -агонист, известный в данной области техники.

[0050] В других вариантах осуществления описанная в данном документе композиция может содержать длительно действующий мускариновый антагонист (LAMA). Некоторые неограничивающие примеры длительно действующих мускариновых антагонистов включают соли тиотропия, аклидиния, декспиррония, ипратропия, окситропия, даротропия, гликопиррония или производные гликопирролата, или другие длительно действующие мускариновые антагонисты, известные в данной области техники, такие как описанные в заявке на патент США № 2009/0181935, заявке на патент согласно РСТ № WO 2010/007561 и заявке на патент согласно РСТ № WO 2008/035157, которые включены в данный документ посредством ссылки.

[0051] В других вариантах осуществления описанные в данном документе композиции могут содержать кортикостероид, в частности, кортикостероид, подходящий для ингаляции. Некоторые неограничивающие примеры кортикостероидов включают беклометазона дипропионат, будесонид, флунизолит, флутиказона пропионат, флутиказона фуруат, мометазона фуруат, циклесонид, рофлелонида пальмитат, триамцинолона ацетонид или другие кортикостероиды, известные в данной области техники.

[0052] В других вариантах осуществления описанная в данном документе композиция может содержать один или более антибиотиков. Некоторые классы антибиотиков включают пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, макролиды, аминогликозиды, хинолоны (включая фторхинолоны), сульфонамиды и тетрациклины. В некоторых вариантах осуществления композиции могут содержать узконаправленный антибиотик, который действует против конкретного

типа бактерий. В некоторых неограничивающих примерах бактерицидные антибиотики включают пенициллин, цефалоспорин, полимиксин, рифамицин, липиармицин, хинолоны и сульфонамиды. В некоторых неограничивающих примерах бактериостатические антибиотики включают макролиды, линкозамиды или тетрациклины. В некоторых вариантах осуществления антибиотик представляет собой аминогликозид, такой как канамицин и стрептомицин, ансамицин, такой как рифаксимин и гелданамицин, карбацефем, такой как лоракарбеф, карбапенем, такой как эртапенем, имипенем, цефалоспорин, такой как цефалексин, цефиксим, цефепим и цефтобипрол, гликопептид, такой как ванкомицин или тейкопланин, линкозамид, такой как линкомицин и клиндамицин, липопептид, такой как даптомицин, макролид, такой как кларитромицин, спирамицин, азитромицин и телитромицин, монобактам, такой как азтреонам, нитрофуран, такой как фуразолидон и нитрофурантоин, оксазолидиноны, такие как линезолид, пенициллин, такой как амоксициллин, азлоциллин, флуклоксациллин и пенициллин G, антибиотический полипептид, такой как бацитрацин, полимиксин В и колистин, хинолон, такой как ципрофлоксацин, левофлоксацин и гатифлоксацин, сульфонамид, такой как сульфадиазин серебра, мефенид, сульфадиметоксин или сульфасалазин, или тетрациклин, такой как демеклоциклин, доксициклин, миноциклин, окситетрациклин или тетрациклин. В некоторых вариантах осуществления композиции содержат лекарственный препарат, который действует против микобактерий, такой как циклосерин, капреомицин, этионамид, рифампицин, рифабутин, рифапентин и стрептомицин. Другие предусмотренные антибиотики могут включать арсфенамин, хлорамфеникол, фосфомицин, фусидовую кислоту, метронидазол, мупироцин, платенсимицин, квинупристин, дальфопристин, тиамфеникол, тигециклин, тинидазол или триметоприм.

[0053] В некоторых вариантах осуществления композиции могут дополнительно содержать один или более противогрибковых агентов, таких как описанные выше. Некоторые противогрибковые агенты включают, но не ограничиваются этим, амфотерицин В, азольное противогрибковое соединение, эхинокандины или флуцитозин. Некоторые неограничивающие примеры азольных противогрибковых соединений включают а) имидазолы, такие как миконазол, кетоконазол, клотримазол, эконазол, омоконазол, бифоназол, бутоконазол, фентиконазол, изоконазол, оксиконазол, сертаконазол, сулконазол и тиоконазол, b) триазолы, такие как флуконазол, итраконазол, изавуконазол, равуконазол, посаконазол, вориконазол, терконазол, и c) тиазолы, такие как абафунгин.

[0054] В некоторых вариантах осуществления композиция может дополнительно содержать один или более противовирусных агентов, таких как нуклеозидные аналоги, такие как ацикловир, фамцикловир, валацикловир, пенцикловир и ганцикловир, или другие противовирусные агенты, такие как пэгилированный интерферон, интерферон альфа-2b, ламивудин, адефовир,

телбивудин, энтеркавир или тенофовир.

Вспомогательные вещества

[0055] В некоторых аспектах данное изобретение включает применение одного или более вспомогательных веществ, введенных в фармацевтические композиции. В некоторых вариантах осуществления применяемые вспомогательные вещества по данному документу являются водорастворимыми вспомогательными веществами. Водорастворимые вспомогательные вещества включают сахараиды, такие как дисахаридаы, такие как сахароза, трегалоза или лактоза, трисахаридаы, такие как фруктоза, глюкоза, галактоза или раффиноза, полисахаридаы, такие как крахмалы или целлюлоза, или сахарные спирты, такие как ксилит, сорбит или маннит. В некоторых вариантах осуществления эти вспомогательные вещества являются твердыми при комнатной температуре. Некоторые неограничивающие примеры сахарных спиртов включают эритрит, треит, арабит, ксилит, рибит, маннит, сорбит, галактит, фуцит, идит, инозит, волемит, изомальт, мальтит, лактит, мальтотриит, мальтотетраит или полиглицит. В некоторых аспектах представленные фармацевтические композиции могут дополнительно не содержать гидрофобные или воскообразные вспомогательные вещества, такие как воски и масла. Некоторые неограничивающие примеры гидрофобных вспомогательных веществ включают гидрогенизированные масла и частично гидрогенизированные масла, пальмовое масло, соевое масло, касторовое масло, карнаубский воск, пчелиный воск, пальмовый воск, белый воск, касторовый воск или ланолин. Кроме того, данное изобретение может дополнительно включать применение одной или более аминокислот или их амидного или сложноэфирного производного. В некоторых вариантах осуществления применяемые аминокислоты могут представлять собой одну из 20 канонических аминокислот, такую как глицин, аланин, валин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, тирозин, триптофан, серин, треонин, аспарагин, глутамин, цистеин, селеноцистеин, пролин, аргинин, гистидин, лизин, аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота. Эти аминокислоты могут иметь D- или L-ориентацию или же аминокислоты могут являться α -, β -, γ - или δ -аминокислотами. В других вариантах осуществления можно использовать одну из обычных неканонических аминокислот, такую как карнитин, GABA, карбоксиглутаминовая кислота, левотироксин, гидроксипролин, селенометионин, бета-аланин, орнитин, цитруллин, дегидроаланин, δ -аминолевулиновая кислота или 2-аминоизомасляная кислота.

[0056] В некоторых аспектах количество вспомогательного вещества в фармацевтической композиции составляет от около 0,5% до около 10% масс./масс., от около 1% до около 10% масс./масс., от около 2% до около 8% масс./масс. или от около 2% до около 5% масс./масс. Количество вспомогательного вещества в фармацевтической композиции составляет от около 0,5%, 0,75%, 1%, 1,25%, 1,5%, 1,75%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% до около 10%

масс./масс. от общего количества фармацевтической композиции или любой диапазон, получаемый из этих значений. В одном варианте осуществления количество вспомогательного вещества в фармацевтической композиции составляет от 2% до 5% масс./масс. от общей массы фармацевтической композиции.

Способы производства

[0057] Таким образом, в одном аспекте в данном изобретении предложены фармацевтические композиции, которые можно получать, используя процесс замораживания тонких пленок. Такие способы описаны в заявке на патент № 2010/0221343 и Watts, et al., 2013, которые обе включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления эти способы включают растворение компонентов фармацевтической композиции в растворителе для образования первичного раствора. Растворитель может представлять собой воду или органический растворитель. Некоторые неограничивающие примеры органических растворителей, которые можно использовать, включают летучие органические растворители, такие как 1,4-диоксан, ацетонитрил, ацетон, метанол, этанол, изопропанол, дихлорметан, хлороформ, тетрагидрофуран, трет-бутиловый спирт, диметилсульфоксид, N, N-диметилформамид, диэтиловый эфир, этилацетат, изопропилацетат, бутилацетат, пропилацетат, толуол, гексаны, гептан, пентан или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления первичный раствор может содержать менее 10% масс./об. терапевтического агента и вспомогательного вещества. Первичный раствор может содержать менее 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% или 10% масс./об. или любой диапазон, получаемый из этих значений.

[0058] Этот первичный раствор можно наносить на поверхность, находящуюся при температуре, которая приводит к замерзанию первичного раствора. В некоторых вариантах осуществления эта температура может быть ниже точки замерзания раствора при атмосферном давлении. В других вариантах осуществления к поверхности можно применять пониженное давление, что приводит к замораживанию раствора при температуре ниже точки замерзания при атмосферном давлении. Поверхность также может вращаться или перемещаться в подвижной системе конвейерного типа, обеспечивая тем самым равномерное распределение первичного раствора на поверхности. В альтернативном варианте первичный раствор можно наносить на поверхность таким образом, чтобы создать ровную поверхность.

[0059] После нанесения первичного раствора на поверхность можно удалять растворитель для получения фармацевтической композиции. Можно применять любой подходящий способ удаления растворителя, включая выпаривание при пониженном давлении или повышенной температуре или лиофилизацию. В некоторых вариантах осуществления лиофилизация может включать применение

пониженного давления и/или пониженной температуры. Такая пониженная температура может составлять от 25°C до около -200 °C, от 20°C до около -175 °C, от около 20°C до около -150 °C, от 0°C до около -125 °C, от -20°C до около -100 °C, от -75°C до около -175°C или от -100°C до около -160 °C. Температура составляет от около -20 °C, -30 °C, -35 °C, -40 °C, -45 °C, -50 °C, -55 °C, -60 °C, -70 °C, -80 °C, -90 °C, -100 °C, -110 °C, -120 °C, -130 °C, -140 °C, -150 °C, -160 °C, -170 °C, -180 °C, -190 °C, до около -200°C или любой диапазон, получаемый из этих значений. Кроме того, растворитель можно удалять при пониженном давлении, составляющем менее 500 мТорр, 450 мТорр, 400 мТорр, 375 мТорр, 350 мТорр, 325 мТорр, 300 мТорр, 275 мТорр, 250 мТорр, 225 мТорр, 200 мТорр, 175 мТорр, 150 мТорр, 125 мТорр, 100 мТорр, 75 мТорр, 50 мТорр или 25 мТорр.

[0060] Так как композиция, полученная этими способами может демонстрировать ломкость, композицию легко раздробить на более мелкие частицы при обработке с помощью устройства. Эти композиции имеют большую площадь поверхности, а также демонстрируют улучшенную сыпучесть. Такую сыпучесть можно определить, например, по индексу Карра или с помощью других аналогичных измерений. В частности, индекс Карра можно определить путем сравнения насыпной плотности порошка с насыпной плотностью после уплотнения. Такие соединения могут демонстрировать подходящий индекс Карра и могут в результате давать частицы, раздробленные лучшим образом с образованием более мелких частиц, когда композицию обрабатывают с помощью вторичного устройства для получения лекарственного препарата.

Определения

[0061] Использование слова в единственном числе при применении в сочетании с термином «содержащий» в формуле изобретения и/или описании может означать «один», но также соответствует значению «один или более», «по меньшей мере один» и «один или более чем один». В контексте данного документа «другой» может означать по меньшей мере второй или более.

[0062] В контексте данного документа термины «лекарственный препарат», «фармацевтическое средство», «терапевтический агент» и «терапевтически активный агент» используются взаимозаменяемо для обозначения соединения, которое оказывает терапевтический или фармакологический эффект в организме человека или животного и используется для лечения заболевания, нарушения или другого патологического состояния. В некоторых вариантах осуществления эти соединения прошли и получили регуляторное одобрение для введения живым существам.

[0063] Использование термина «или» в формуле изобретения означает «и/или», если строго не указано, что он относится только к альтернативным вариантам или же альтернативные варианты являются взаимоисключающими. В контексте данного документа «другой» может означать по меньшей мере второй

или более.

[0064] В контексте данного описания и формулы изобретения слова «содержащий» (и любая форма слова содержащий, такая как «содержать» или «содержит»), «имеющий» (и любая форма слова имеющий, такая как «иметь» и «имеет»), «включающий» (и любая форма слова включающий, такая как «включает» и «включать») являются включительными и неисчерпывающими и не исключают дополнительные, неперечисленные элементы или этапы способов.

[0065] В контексте данного описания не подразумевается, что термин «существенный» (и любая форма слова существенный, такая как «существенно») не означает статистическую разницу между двумя значениями, но означает лишь важность или размер разницы параметра.

[0066] В тексте этой заявки термин «около» используется для указания того, что значение включает неустранимую вариацию погрешности для устройства, способа, применяемого для определения значения, или вариацию, которая существует среди субъектов исследования или экспериментальными исследованиями. Если не применимо другое определение, термин «около» относится к $\pm 10\%$ от указанного значения.

[0067] В контексте данного документа термин «практически не содержит» в отношении указанного компонента используется для обозначения того, что ни один из указанных компонентов не был преднамеренно внесен в композицию и/или он присутствует только как примесь или в следовых количествах. Общее количество всех примесей, побочных продуктов и других материалов в композиции составляет количество менее 2%. Термин «в большей степени практически не содержит» используется для обозначения, что композиция содержит менее 1% конкретного компонента. Термин «фактически не содержит» подразумевает содержание менее 0,5% конкретного компонента.

[0068] В контексте данного документа термин «домен» относится к конкретному участку композиции, содержащему практически один материал, отличающийся по характеристикам от других компонентов композиции. «Дискретный домен» относится к отдельному участку композиции, который отличается и отделен от любого другого участка композиции. Домен может состоять практически из одного элемента из композиции. Эти домены могут быть не непрерывными так, что дискретные домены представлены некоторым количеством доменов, которые не касаются друг друга.

[0069] В контексте данного документа термин «наночастица» имеет свое общепринятое и стандартное определение и относится к дискретным частицам, которые ведут себя как цельная единица, а не отдельные молекулы в пределах частицы. Наночастица может иметь размер от около 1 до около 10000 нм, при этом ультрамелкие наночастицы имеют размер от 1 нм до 100 нм, мелкие наночастицы имеют размер от 100 нм до 2500 нм, а крупные наночастицы имеют размер 2500 нм

до 10000 нм. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе наноагрегаты могут иметь композицию из некоторого количества наночастиц и иметь размер от около 10 нм до около 100 мкм.

[0070] Несмотря на то, что числовые диапазоны и параметры, составляющие широкий объем данного изобретения, являются приближениями, числовые значения, приведенные в конкретных примерах, представлены настолько точно, насколько возможно. При этом любое числовое значение неотъемлемо содержит некоторые погрешности, являющиеся обязательным результатом стандартного отклонения, присущего соответствующим опытным измерениям и параметрам.

[0071] Другие цели, признаки и преимущества данного изобретения станут очевидны из нижеприведенного подробного описания. При этом следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры, хотя и указывают предпочтительные варианты осуществления изобретения, приведены исключительно в качестве иллюстрации, поскольку из представленного подробного описания для специалистов в данной области техники станут очевидны различные изменения и модификации в пределах сущности и объема данного изобретения.

Примеры

[0072] Для обеспечения лучшего понимания данного изобретения представлены следующие примеры конкретного варианта осуществления. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что методики, описанные в нижеприведенных примерах, представляют методики, которые, как обнаружил автор изобретения, хорошо работают при практической реализации изобретения, и, таким образом, могут считаться представляющими предпочтительные способы для его практической реализации. При этом специалистам в данной области техники в свете представленного изобретения должно быть понятно, что в конкретных описанных вариантах осуществления можно сделать много изменений и при этом получить подобный или аналогичный результат, не отступая от сути и объема изобретения. Следующие примеры никоим образом не следует воспринимать как ограничивающие или определяющие полный объем данного изобретения.

Пример 1 - Обсуждение и результаты

Физико-химические свойства сухих порошковых составов вориконазола

[0073] Для получения порошковых составов кристаллического вориконазола, содержащих маннит (смотрите таблицу 1), применяли технологию ЗТП. ПРД и мДСК применяли главным образом для определения кристалличности составов. Порошковые составы ЗТП-ВКЗ, содержащие маннит, были определены как кристаллические, как проиллюстрировано на Фиг. 1 и 2. Порошковые составы ЗТП-ВКЗ-МАН демонстрировали характерные ПРД-пики вориконазола, соответствующие насыпному порошку вориконазола (например $12,4^{\circ}2\theta$ и $13,6^{\circ}2\theta$) и δ -маннита (например, $9,5^{\circ}2\theta$ и $20,2^{\circ}2\theta$), как проиллюстрировано на Фиг. 1. Они

указывают на то, что порошковые составы состоят из кристаллического вориконазола и δ -маннита. Интенсивность пиков δ -маннита снижалась при уменьшении количества маннита (% масс./масс.) в порошковых составах ЗТП-ВКЗ-МАН, при этом соответствующие δ -манниту пики не подлежали обнаружению, когда порошковые составы содержали 5% (масс./масс.) маннита. Сухой порошок ЗТП-МАН имел преимущественно δ -форму, при этом методом ПРД были обнаружены следовые количества α - и β -форм ($13,5^\circ 2\theta$ и $14,5^\circ 2\theta$, соответственно).

Таблица 1. Обобщенные данные по сухим порошковым составам вориконазола, исследованным с помощью технологии замораживания тонких пленок (ЗТП).

Образец	Отношение лекарственный препарат: вспомогательное вещество (масс./масс.)	Растворенные твердые вещества	Композиции растворителя
ЗТП-ВКЗ	Без вспомогательного вещества	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 99:1	99:1	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 98:2	98:2	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 97:3	97:3	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5	95:5	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 93:7	93:7	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10	90:10	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 85:15	85:15	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 80:20	80:20	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 70:30	70:30	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50	50:50	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-МАН 25:75	25:75	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-МАН	Без лекарственного препарата	1,0% (масс./об.)	Вода:ацетонитрил 50:50 (об./об.)
ЗТП-ВКЗ-ПВПК 25:75	25:75	1,0% (масс./об.)	1,4-диоксан

[0074] мДСК также подтвердила кристалличность порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН. На Фиг. 2 показано, что для ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 и ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50 не было обнаружено стеклования, но только эндотермические пики, соответствующие плавлению вориконазола и маннита. ЗТП-ВКЗ имеет эндотермический пик плавления на $130,86^\circ\text{C}$ с теплотой плавления $105,3 \text{ Дж/г}$.

Когда ожидаемую теплоту плавления для вориконазола в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН рассчитывали по % фракции (масс./масс.), теплота плавления для вориконазола в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 и ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50 составила 100,0 Дж/г и 52,6 Дж/г, соответственно. Измеренная теплота плавления для вориконазола составила 95,1 Дж/г для ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 и 33,7 Дж/г для ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50, и это составило 95,1% и 64,0% от ожидаемых значений. ЗТП-МАН имеет эндотермический пик плавления на 167,31°C с теплотой плавления 187,5 Дж/г. Ожидаемая теплота плавления для маннита в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 и ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50 составила 9,38 Дж/г и 93,8 Дж/г, соответственно. Измеренная теплота плавления для маннита составила 2,63 Дж/г и 63,2 Дж/г, соответственно, и это составило 28,0% и 67,4% от ожидаемых значений. В таблице 2 представлены композиционные отношения вориконазола к манниту (вориконазол:маннит масс./масс.) в двух составах, исследованных методом мДСК. Эти отношения рассчитывали путем интеграции протонных пиков, используя ^1H -ЯМР. Теоретическое отношение одного протона для ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 составляет 1:0,1009, а экспериментальное отношение рассчитывали как 1:0,0992, что показывает, что 98,3% ожидаемого количества маннита было обнаружено в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5. В случае ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50 100% ожидаемого количества маннита было обнаружено методом ^1H -ЯМР.

	Вориконазол			Маннит			Теоретическое	Экспериментальное
	Химический сдвиг (м. д.)	Номер протона	Интеграция	Химический сдвиг (м. д.)	Номер протона	Интеграция	интеграционное отношение ^1H (ВКЗ:МАН)	интеграционное отношение ^1H (ВКЗ:МАН)
ЗТП-ВКЗ-МАН (95:5)	3,91	1	10,13	4,10	2	2,01	1:0,1009	1:0,0992
ЗТП-ВКЗ-МАН (50:50)	3,91	1	1,02	4,10	2	3,91	1:1,917	1:1,917

Таблица 2. Количественное сравнение вориконазола и маннита в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 и ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50 методом ^1H -ЯМР.

[0075] Морфология частиц порошков ЗТП-ВКЗ-МАН представлена на Фиг. 3. В порошках ЗТП-ВКЗ наблюдали агломерацию частиц микронных размеров, и такие же частицы были обнаружены в других порошковых составах ЗТП-ВКЗ-МАН. Более пористую матрицу наблюдали для порошков ЗТП-ВКЗ-МАН, содержащих более высокое количество маннита. 3D-топография и иллюстрация порошков ЗТП-ВКЗ и ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5, проиллюстрированных на Фиг. 4, подтверждает, что поверхностная текстура порошков ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 является шероховатой, тогда как для порошков ЗТП-ВКЗ - гладкой. Топография высокого

разрешения порошков ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 на Фиг. 5 показывает, что порошки ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 представляют собой наноагрегаты, состоящие из наночастиц размером 150-500 нм. УПП этих порошков ЗТП-ВКЗ-МАН проиллюстрирована на Фиг. 6. Порошки ЗТП-ВКЗ продемонстрировали наименьшую УПП ($8,36 \text{ м}^2/\text{г}$), а пористая матрица сухого порошка ЗТП-МАН демонстрировала наибольшую УПП ($17,11 \text{ м}^2/\text{г}$). УПП возрастала при добавлении большего количества маннита в порошковые составы ЗТП-ВКЗ-МАН. Методом СЭМ/ЭДР, проиллюстрированным на Фиг. 7, было определено, что частицы микронных размеров состояли из наноагрегатов вориконазола с обнаружением азота, кислорода и фтора. Пористая матрица была определена как маннит по обнаружению кислорода без азота и фтора.

[0076] ИК-ФС-профиль порошка ЗТП-ВКЗ совпадал с насыпным порошком вориконазола, и такой же пиковый профиль был также зарегистрирован для порошков ЗТП-ВКЗ-МАН, содержащих разное количество маннита. Пиковый профиль ЗТП-МАН также был обнаружен в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН. Следовательно, в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН наблюдали только пики, соответствующие ЗТП-ВКЗ и ЗТП-МАН, а в ИК-ФС-спектре порошков ЗТП-ВКЗ-МАН не было обнаружено новых пиков, как проиллюстрировано на Фиг. 8. СР-МАС-спектры $1\text{D } ^{13}\text{C}$ и ^{19}F , полученные методом тТЯМР проиллюстрированы на Фиг. 9. Вориконазол не имеет спектрального перекрытия пиков ^{13}C с маннитом и имеет все резонансы в спектре ^{19}F . Он демонстрирует идентичные спектры в ЗТП-ВКЗ и ЗТП-ВКЗ-МАН. Кроме того, резкие пики ^{13}C и ^{19}F в спектрах ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10 подтверждают кристалличность как вориконазола, так и маннита. НЕТCOR-спектр $2\text{D } ^1\text{H}-^{13}\text{C}$ ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10 сравнивали со спектром ЗТП-ВКЗ на Фиг. 10. Межмолекулярные перекрестные пики между вориконазолом и маннитом из ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10 не наблюдали.

In vitro аэрозольная эффективность и стабильность

[0077] Аэродинамическое распределение частиц по размеру для порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН определяли с помощью NGI, а МДФ (% отмеренной) представлена на Фиг. 11. На основании данных МДФ (% отмеренной дозы) порошковые составы ЗТП-ВКЗ-МАН, состоящие из 90-97% (масс./масс.) вориконазола, демонстрировали наибольшую аэрозолизацию. МДФ (% отмеренной дозы) ЗТП-ВКЗ-МАН 97:3 была существенно большей ($p < 0,05$) чем для ЗТП-ВКЗ с 66% увеличением МДФ (% отмеренной дозы). Аэрозольная эффективность порошков ЗТП-ВКЗ-МАН, содержащих 90-97% (масс./масс.) вориконазола, существенно не отличалась ($p > 0,05$). Аэрозольная эффективность порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН снижалась при включении в композицию более 10% (масс./масс.) маннита.

[0078] Влияние физической силы на аэрозольную эффективность порошкового состава ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 также исследовали путем измерения

МДФ с помощью NGF. Как проиллюстрировано на Фиг. 12 и 13, отслеживали изменения распределения частиц по размерам и аэрозольной эффективности по разному времени сдвигового усилия. Через 15, 30 и 60 мин МДФ (% отмеренной) составляли 44,3, 47,5 и 42,4%, соответственно, а МДФ (% доставленной дозы) составляли 68,7, 73,6 и 69,5%, соответственно. Исходное значение до применения сдвигового усилия составляло 40,0% для МДФ (% отмеренной дозы) и 58,8% для МДФ (% доставленной дозы). Хотя также наблюдали изменение ММАД от 3,7 мкм в начальный момент времени до 3,2, 3,0 и 3,1 мкм через 15, 30 и 60 мин, соответственно, не было обнаружено существенного изменения для ГСО.

[0079] Исследование стабильности проводили при 25 °C/60% ОВ, а изменения чистоты и аэрозольной эффективности порошкового состава ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 отслеживали в течение 13 месяцев, как проиллюстрировано на Фиг. 14. Чистота вориконазола в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 сохранялась, и во время исследования не наблюдали продуктов распада. Для сравнения аэрозольной эффективности в течение исследования стабильности проводили сравнение МДФ (% отмеренной), МДФ (% доставленной), ММАД и ГСО в каждый момент времени. Статистически значимая разница в МДФ (% отмеренной) в течение 13 месяцев, а также МДФ (% доставленной) отсутствовала (в обоих случаях $p > 0,05$). Хотя ГСО через 1 месяц снижался относительно исходного значения ($p < 0,05$), ММАД не демонстрировал какой-либо разницы в течение 13 месяцев ($p > 0,05$).

Растворение сухих порошковых составов вориконазола

[0080] Для исследования растворения порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН в качестве рецепторной среды использовали ФСБ с pH 7,4, а донорную камеру для ячеек Франца покрывали сверху парафильмом, чтобы предотвратить потери растворяющей среды за счет испарения. Скорость растворения кристаллического ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 сравнивали с аморфным ЗТП-ВКЗ-ПВПК25 25:75, причем кристаллический сухой порошок демонстрировал существенно более медленное кумулятивное высвобождение лекарственного препарата на протяжении исследуемого периода времени ($p < 0,05$), как проиллюстрировано на Фиг. 15. Кумулятивное высвобождение вориконазола через 3 часа для аморфного ЗТП-ВКЗ-ПВПК25 составило 63,2%, тогда как для кристаллического ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 оно составило лишь 22,8%. Кумулятивное высвобождение вориконазола через 3 часа для ЗТП-ВКЗ-МАН 25:75 и ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50 составило 46,3 и 35,3%, соответственно.

Характеристики сухих порошковых составов вориконазола

[0081] Вориконазол (Beinborn et al. 2012b; Ramos and Diogo 2016) и маннит (Yu et al. 1998) демонстрируют сильную тенденцию к кристаллизации с температурой стеклования ниже комнатной температуры. Следовательно, было сделано предположение, что ЗТП-ВКЗ-МАН будет кристаллическим, если между вориконазолом и маннитом отсутствуют сильные межмолекулярные

взаимодействия, предотвращающие кристаллизацию. На основании данных ПРД и резкости 1D CP-MAS-спектров, указывающей на то, что между вориконазолом и маннитом отсутствуют достаточно сильные взаимодействия, порошковые составы ЗТП-ВКЗ-МАН были кристаллическими.

[0082] Хотя ПРД применима для получения характеристик кристалличности порошков, она может не быть способной обнаруживать низкую степень аморфности в составах. Следовательно, для порошков ЗТП-ВКЗ-МАН проводили мДСК и было показано, что сухие порошки ЗТП-ВКЗ-МАН были кристаллическими, поскольку были обнаружены только два эндотермических пика плавления вориконазола и маннита. Однако для маннита наблюдали снижение точки плавления, в особенности в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5. Низкая теплота плавления маннита в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 может быть связана с относительно низким количеством маннита, растворенным в расплавленном вориконазоле до того, как температура достигает точки плавления маннита. Также, частицы маннита в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5, как правило, имеют размер 100-200 нм, и эти наноразмерные частицы могут снижать теплоту плавления. Чтобы подтвердить активность маннита в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН, которые демонстрировали снижение точки плавления, определяли молекулярное отношение между вориконазолом и маннитом методом ^1H -ЯМР. Хотя ЯМР обычно применяют для качественного анализа, количественный ЯМР-анализ также применим (Espina et al. 2009; Pauli et al. 2012). Экспериментальные молекулярные отношения между вориконазолом и маннитом хорошо совпадали с теоретическими значениями как в ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5, так и в ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50. Кроме того, тТЯМР ^{13}C и ^{19}F часто применяют для подтверждения кристаллического полиморфизма и выявления низких уровней аморфного лекарственного вещества в твердых дозированных формах (Correa-Soto et al. 2017; Offerdahl et al. 2005). Идентичные положения пиков и ширины полос резонансов вориконазола в CP-MAS-спектрах ^{13}C и ^{19}F ЗТП-ВКЗ и ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10 подтверждают кристалличность и позволяют предположить отсутствие аморфного содержимого.

[0083] ИК-ФС применяли для изучения химических взаимодействий между вориконазолом и маннитом. Гидроксильная группа вориконазола связана с путем его распада (Shaikh and Patil 2012) и может являться наиболее активным участком при наличии каких-либо межмолекулярных взаимодействий. В таком случае это привело бы к сдвигу пиков ИК-ФС вориконазола в диапазоне между 3100 см^{-1} и 3500 см^{-1} (Silverstein et al. 2005). Существует два пика, соответствующих вориконазолу в этом диапазоне, которые находятся на $3118,9\text{ см}^{-1}$ и $3198,4\text{ см}^{-1}$. Эти два пика наблюдаются для всех порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН и ЗТП-ВКЗ, и сдвига этих обнаружено пиков не было. В случае маннита в этом диапазоне наблюдали пик на $3276,6\text{ см}^{-1}$ и отсутствие сдвига. В случае взаимодействия между маннитом и ароматическими вторичными аминами вориконазола можно увидеть

сдвиг пиков между 1230 см^{-1} и 1300 см^{-1} (Silverstein et al. 2005). В этом диапазоне были обнаружены четыре пика вориконазола на $1241,5\text{ см}^{-1}$, $1248,8\text{ см}^{-1}$, $1268,5\text{ см}^{-1}$ и $1277,6\text{ см}^{-1}$, но при включении маннита в порошковые составы вориконазола не было обнаружено существенного сдвига пиков. Следовательно, эти данные ИК-ФС подтверждают отсутствие или наличие очень слабых взаимодействий между вориконазолом и маннитом в порошковых составах ЗТП-ВКЗ-МАН.

[0084] Хотя для подтверждения конформации и межмолекулярных взаимодействий, как правило, применяют ИК-ФС, ттЯМР может обеспечить более глубокую информацию на атомарном уровне для структурных исследований (Tian et al. 2017). В этом исследовании применяли CP-MAS 1D ^{13}C и ^{19}F для изучения конформационных изменений. Все пики вориконазола демонстрировали отсутствие химических сдвигов между ЗТП-ВКЗ и ЗТП-ВКЗ-МАН 90:10. Кроме того, снимали HETCOR-спектры 2D ^{13}C - ^1H для изучения структурных нарушений в лучшем разрешении. Этот результат подтверждает отсутствие изменения химического сдвига ^{13}C в прямом направлении. При данном разрешении химические сдвиги всех алифатических и ароматических протонов в непрямом направлении также не демонстрировали наблюдаемых изменений. Помимо этого, HETCOR 2D ^{13}C - ^1H применяли для обнаружения взаимодействий между лекарственным веществом и вспомогательным веществом. При данной спектральной интенсивности не наблюдали межмолекулярных перекрестных пиков, т. е. взаимодействий, между вориконазолом и маннитом.

[0085] В порошковых составах ЗТП-ВКЗ-МАН наблюдали две разные формы частиц, и сначала посчитали, что частицы микронных размеров были вориконазолом, а пористые матрицы были маннитом, на основании наблюдаемой морфологии частиц ЗТП-ВКЗ и ЗТП-МАН. Для того, чтобы подтвердить это, проводили подтверждение химических композиций этих частиц методом СЭМ/ЭДР. Однако локации, в которых были обнаружены кислород, фтор и азот, перекрывались друг с другом во время первичного эксперимента СЭМ/ЭДР, представляя частицы, которые состояли как из вориконазола, так и из маннита. Причина была определена позже. Поскольку глубина измерений ЭДР соответствует микронному масштабу, детекторный пучок проходил через всю глубину частиц исследуемых порошков ЗТП-ВКЗ-МАН 50:50. Чтобы преодолеть эту проблему, порошок свободно распределяли по угольной ленте на держателе образцов и проводили точечный анализ для определения химических композиций двух разных морфологий частиц. Методом точечного анализа было определено, что частицы микронного размера являются наноагрегатами вориконазола на основании химических композиций из кислорода, азота и фтора, тогда как пористая матрица была определена как маннит, демонстрируя химическую композицию из кислорода без азота и фтора. Следовательно, было сделано заключение, что кристаллический маннит был фазово отделен от кристаллического вориконазола во время процесса

ЗТП.

[0086] Тогда как АСМ-изображение на Фиг. 5 иллюстрирует, что порошки ЗТП-ВКЗ-МАН являются наноагрегатами, данные БЭТ также подтверждают образование наноагрегатов вориконазола. Когда СЭМ-изображения показывают, что частицы ЗТП-ВКЗ являются намного большими, чем матрица ЗТП-МАН с высокой пористостью, удельная площадь поверхности ЗТП-МАН всего лишь в около двух раз больше, чем у ЗТП-ВКЗ. Это может быть связано с тем, что частицы вориконазола представляют собой наноагрегаты, имеющие большую удельную площадь поверхности, чем визуально видно на СЭМ-изображении.

Уровень маннита влияет на аэрозольную эффективность и скорость растворения

[0087] Количество маннита в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН влияет на их морфологию. При включении низкого количества маннита происходило образование субмикронных частиц маннита за счет предотвращения роста частиц в результате сильного суперохлаждения во время процесса ЗТП (Engstrom et al. 2008). Эти частицы существовали на поверхности наноагрегатов вориконазола и модифицировали текстуру их поверхности. Эти субмикронные частицы маннита не удалялись с поверхности наноагрегатов вориконазола во время аэролизации. Это могло быть связано с трудностью удаления наноразмерных частиц с поверхности. Хотя силы сцепления и адгезии пропорциональны диаметру частиц, силы, направленные на удаление, пропорциональны кубу диаметра для гравитационных, колебательных и центробежных сил (Hinds 1999). Следовательно, субмикронные частицы маннита было трудно отделить от наноагрегатов вориконазола, и шероховатая текстура поверхности наноагрегатов вориконазола сохранялась во время аэролизации, приводя к большей аэролизации. При увеличении количества маннита в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН происходило образование крупных пористых матриц маннита. Они существовали не только на поверхности частиц наноагрегатов вориконазола, но также окружали их. Многие наноагрегаты вориконазола были объединены, так как крупная пористая матрица маннита удерживала их вместе. Эти агрегатные структуры оставались во время аэролизации. В результате эти крупные агрегатные структуры снижали аэрозольную эффективность порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН, которые содержали более 10% (масс./масс.) маннита.

[0088] Аэрозольная эффективность составов для ИСП существенно зависит от сил сцепления и адгезии частиц. Эти силы включают ван-дер-ваальсовы силы, силы поверхностного натяжения адсорбируемых жидких пленок и электростатические силы (Hickey et al. 1994). На все из них влияют форма и размер частиц, шероховатость/текстура поверхности, относительная влажность, температура, длительность и скорость контакта частиц (Hinds 1999; Beach et al. 2002; Tan et al. 2016; Price et al. 2002). Среди этих сил наиболее важны силы Ван-

дер-Ваальса (Hinds 1999). Поскольку силы Ван-дер-Ваальса представляют собой индуцируемые диполями силы притяжения между молекулами, они сильно ослабевают, когда расстояние между поверхностями частиц достигает расстояния разделения (Hinds 1999). Следовательно, более шероховатые поверхности критически снижают силы Ван-дер-Ваальса за счет поддержания больших средних расстояний для частиц. Шероховатость поверхности влияет не только на силы Ван-дер-Ваальса, но также на поверхностное натяжения, индуцируемое поверхностной влагой. Гладкая поверхность частиц и большая относительная влажность приводят к большему поверхностному натяжению. При этом электростатическая сила обусловлена размером частиц. Частицы более 0,1 мкм могут создавать электростатическую силу (Hinds 1999). Эта электростатическая сила притяжения сильнее в случае более крупных частиц и также связана с относительной влажностью; при низкой влажности заряды на частицах удерживаются дольше. При этом электростатическая сила, как правило, считается меньшей, чем силы Ван-дер-Ваальса и поверхностного натяжения (Hinds 1999). Следовательно, шероховатость и текстура поверхности частиц играют существенную роль в аэрозольной эффективности составов для ИСП.

[0089] Морфологические изменения порошковых составов, обусловленные разными количествами маннита, заметно влияли на аэрозольную эффективность порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН. Аэрозольная эффективность менялась вследствие изменения сил сцепления и адгезии частиц, а уменьшение этих сил связано со снижением площади контакта между частицами (Beach et al. 2002) помимо дополнительного расстояния между частицами (Hinds 1999). За счет включения низких количеств субмикронных частиц маннита площадь контакта наноагрегатов ЗТП-ВКЗ-МАН существенно уменьшалась, а расстояние между частицами вориконазола дополнительно увеличивалось, как проиллюстрировано на Фиг. 4. По сравнению с порошком ЗТП-ВКЗ порошок ЗТП-ВКЗ-МАН 99:1 демонстрировал существенное увеличение в МДФ (% отмеренной дозы) ($p < 0,05$). Это увеличение за счет добавления маннита продолжалось вплоть до добавления в состав 3% (масс./масс.) маннита. Увеличение, в МДФ (% отмеренной дозы) на около 5% обеспечивало добавления 1% (масс./масс.) маннита в составы, содержащие от 97% до 100% (масс./масс.) вориконазола. Кроме того, порошки ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 демонстрировали на около 30% большую отгруженную дозу, чем порошки ЗТП-ВКЗ (68% и 36%, соответственно, данные не приведены). Эта повышенная отгруженная доза была получена в результате уменьшения сил адгезии частиц к устройству. Поскольку ЗТП позволяет получать порошки ЗТП-ВКЗ-МАН, которые содержат очень небольшое количество влаги (менее 0,1% масс./масс., данные не приведены), а вориконазол и манит не являются гигроскопичными, ожидается, что силы поверхностного натяжения для этих частиц должны быть относительно небольшими. Хранение порошков в условиях низкой

влажности может привести к появлению электростатических сил, но эти силы считаются намного меньшими, чем силы Ван-дер-Ваальса и поверхностного натяжения (Hinds 1999). Соответственно, уменьшение площади контакта частиц и увеличение расстояния между частицами путем модификации текстуры поверхности главным образом обуславливали снижение сил сцепления и адгезии порошковых составов ЗТП-ВКЗ-МАН, что приводило к улучшению аэрозольной эффективности. В Young et al. аналогично описана взаимосвязь между аэрозольной эффективностью и энергией разделения между частицами (Young et al. 2002), что хорошо соответствует нашим результатам.

[0090] Разное количество маннита в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН влияло не только на аэрозольную эффективность, но также на скорость растворения. Порошки ЗТП-ВКЗ-МАН, содержащие большее количество маннита, демонстрировали большие скорости растворения, что можно объяснить более быстрым смачиванием порошков маннитом. В случае порошков ЗТП-ВКЗ-МАН, содержащих высокое количество маннита, смачивание и растворение окружающих частиц маннита, которые заключали в себе вориконазол, происходило очень быстро. Следовательно, окружение наноагрегатов вориконазола растворяющей средой происходило в короткое время, и скорость растворения повышалась. СЭМ-изображение порошков ЗТП-ВКЗ-МАН 25:75 показывает, что большинство частиц маннита растворялись менее чем за 5 мин в ячейках Франца, тогда как субмикронные частицы маннита все еще наблюдались на поверхности наноагрегатов вориконазола из порошков ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5. Это показывает, что смачивание наноагрегатов вориконазола не происходит быстро при включении только небольшого количества маннита в порошковые составы.

Преимущества процесса ЗТП

[0091] Методом ЗТП получали порошковые составы высокоактивных наноагрегатов вориконазола. Хотя ранее сообщалось о ИСП-составах без носителей (Yazdi and Smyth 2016a; Yazdi and Smyth 2016b), обычно носители включены в ИСП-составы. Однако ИСП-составы на основе носителей в целом имеют низкую лекарственную активность. Также многие факторы, такие как размер частиц (Du et al. 2014), распределение частиц по размеру (Steckel and Muller 1997) и морфология поверхности (Du et al. 2014; Flament et al. 2004) частиц носителя влияют на аэрозольную эффективность порошков во время аэролизации, и такие факторы оказывают негативное влияние на равномерность вносимой дозы (Du et al. 2017). При применении ЗТП максимальную аэрозольную эффективность наноагрегатов ЗТП-ВКЗ-МАН получали всего лишь при 3% (масс./масс.) маннита; следовательно, активность оптимизированного порошкового состава ЗТП-ВКЗ-МАН может составлять до 97% (масс./масс.). Эта высокая лекарственная активность при очень низком уровне вспомогательного вещества требует доставки меньшего количества порошка, а проблемы, такие как низкая активность и

неравномерность вносимой дозы, в целом обусловленные носителями, могут быть устранены.

[0092] ИСП-составы с высокой активностью также можно получать другими способами, такими как, например, помол. Даже если размер частиц, получаемых при помоле и подходящих для доставки в легкие, составляет несколько микронов, такие частицы считаются отдельными дискретными частицами микронных размеров. В виде наноагрегатов ИСП-составы вориконазола, полученные методом ЗТП, могут иметь существенно более высокую общую эффективность всасывания в легких и равномерность распределения дозы по данным исследования (Longest and Hindle 2017). Ожидается, что эти наноагрегаты вориконазола обеспечат лучшее эпителиальное покрытие в местах присутствия грибковых колоний. ЗТП позволяло получать наноагрегаты, так как быстрое зародышеобразование со скоростью замораживания до 10000 К/с обеспечивало распределение частиц по размеру в более узком диапазоне и меньшее Оствальдовское созревание с получением большого числа зародышей и предотвращением роста частиц во время процесса замораживания (Engstrom et al. 2008; Overhoff et al. 2009). Малый размер незамороженных каналов и быстро возрастающая вязкость незамороженного раствора (Engstrom et al. 2008) давали аналогичный размер наноагрегатов вориконазола.

[0093] Методом ЗТП также можно осуществлять модификацию поверхности частиц. Ранее в Begat et al. была описана модификация поверхности частиц с использованием гидрофобных материалов, таких как лецитин, лейцин и стеарат магния. Хотя частицы, обработанные с помощью процессов сухого механического синтеза, такого как механосинтез, демонстрировали улучшенную аэрозольную эффективность с носителями или без них за счет снижения поверхностной свободной энергии (Begat et al. 2005; Begat et al. 2009), в основе этого процесса лежало смешивание лекарственных веществ с регулируемыми силы агентами, такими как лецитин, лейцин и стеарат магния. Процесс механосинтеза требует подачи механической энергии составу и может привести к химической нестабильности лекарственного препарата. Кроме того, модификацию поверхности путем смешивания можно применять только дискретным частицам микронных размеров, а не к наноагрегатам, вследствие возможной дезагрегации агрегатов при смешивании. В Kawashima et al. также сообщается о модификации поверхности частиц разными способами, такими как механическое сдвиговое смешивание, замораживание или сушка распылением (Kawashima et al. 1998). С помощью гидрофильной добавки, такой как слабая безводная кремниевая кислота (AEROSIL), поверхность гидрофобных частиц превращается в гидрофильную, а частицы с модифицированной поверхностью демонстрируют улучшенное поведение при ингаляции *in vitro*. Однако в этом способе используются дискретные лекарственные частицы микронных размеров, следовательно, его нельзя применять

для наноагрегатов. Следовательно, эти дискретные частицы микронных размеров не могут обеспечить повышенное поглощение и микродозиметрию наноагрегатов, описанных Longest and Hindle 2017. При этом при применении ЗТН для модификации поверхности частиц нет необходимости в подаче энергии. Модификацию поверхности наноагрегатов вориконазола фазово разделенными субмикронными частицами маннита, которые отдельно существовали на поверхности лекарственных наноагрегатов, проводили благодаря быстрой скорости замораживания, которая предотвращает рост частиц.

[0094] Высокая активность (до 97% масс./масс.) наноагрегатов порошковых составов кристаллического вориконазола, предназначенная для ингаляции сухого порошка, была успешно обеспечена при применении технологии ЗТП. Низкое количество маннита, используемого в качестве единственного вспомогательного вещества, положительно сказалось на аэрозольной эффективности наноагрегатов вориконазола с фазово разделенным субмикронным кристаллическим маннитом, действующим в качестве модифицирующего текстуру поверхности агента. Сухой порошок вориконазола для ингаляции, полученный методом ЗТП, является перспективным вариантом местного лечения инвазивного аспергиллеза легких с высокой эффективностью аэролизации и лекарственной нагрузкой, одновременно обеспечивающим потенциальную пользу, связанную с накоплением наноагрегатов в дыхательных путях.

Пример 2 - Материалы и общие методы

Материалы

[0095] Были приобретены следующие материалы: вориконазол (Carbosynth, San Diego, CA); коллидон[®] 25 (D-Basf, Ludwigshafen, Germany); ацетонитрил (степень очистки ВЭЖХ, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA); трифторуксусная кислота (ТФУ) (степень очистки ВЭЖХ, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA); мембранный фильтр Tuffryn (25 мм, 0,45 мкм, Pall Corporation, Port Washington, NY). Использовали отфильтрованную воду (Evoqua, Warrendale, PA) и апирогенный маннит, перлитол[®] ПФ, был великодушно предоставлен Roquette America Inc. (Geneva, IL).

Получение порошка для ингаляции сухого порошка с применением ЗТП

[0096] Порошки маннита и вориконазола (от 30 до 100% масс./масс.) растворяли в смеси ацетонитрила и воды (50:50 об./об.), а содержание твердого вещества в растворе поддерживали на уровне 1% масс./об. Приблизительно по 15 мкл каждого раствора с высоты 10 см каплями наносили на вращающийся криогенно охлажденный (-60 °C) барабан из нержавеющей стали. Замороженные образцы собирали в контейнер из нержавеющей стали, заполненный жидким азотом, и переносили в морозилку с температурой -80°C до переноса в лиофилизатор. Для удаления растворителя использовали лиофилизатор VirTis Advantage Lyophilizer (VirTis Company Inc., Gardiner, NY). Образцы держали при -

40°C в течение 21 часа, после чего температуру медленно повышали до 25°C в течение 21 часа, а затем держали при 25°C еще в течение 21 часа до высыхания. во время процесса сушки поддерживали давление 100 мТорр.

Порошковая рентгеновская дифракция (ПРД)

[0097] Кристалличность порошковых образцов определяли методом рентгеновской дифракции (MiniFlex 600, Rigaku Co., Tokyo, Japan) с измерением от 5 до 35 °2θ (шаг 0,02 °, 3 °/мин, 40 кВ, 15 мА).

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

[0098] СЭМ (Zeiss Supra 40V SEM, Carl Zeiss, Heidenheim an der Brenz, Germany) применяли для определения морфологии поверхности образцов. Аликвоту порошка помещали на угольную ленту и покрывали методом напыления 60/40 Pd/Au в течение 20 мин перед получением изображений.

Модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия (мДСК)

[0099] Термический анализ порошковых образцов проводили на инструменте для дифференциальной сканирующей калориметрии Q20 (TA Instruments, New Castle, DE), оснащенном рефрижераторной системой охлаждения (RCS40, TA Instruments, New Castle, DE). Модулированную ДСК проводили с периодом модуляции 50 с, модулированной амплитудой 1°C и средней скоростью нагревания 5 °C/мин. Емкость Tzero и герметичную крышку Tzero, произведенные TA Instruments, использовали для содержания образцов во время исследования, а в крышке было сделано отверстие шприцевой иглой калибра 20G перед помещением емкости в держатель для образцов.

Сканирующая электронная микроскопия - энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (СЭМ/ЭДР)

[00100] СЭМ/ЭДР (Hitachi S5500 SEM/STEM, Hitachi America, Tarrytown, NY) применяли для идентификации элементов порошков, полученных методом ЗТП.

Атомная силовая микроскопия (АСМ)

[00101] Во время этого исследования применяли два разных типа атомной силовой микроскопии. 3-мерные (3D) изображения топографии поверхности частиц, полученных методом ЗТП, получали с помощью микроскопа Asylum MFP-3D AFM (Oxford Instruments, Oxfordshire, United Kingdom), оснащенного покрытым алюминием кантилевером MikroMasch HQ:NSC15 (NanoWorld AG, Neuchâtel, Switzerland), который имел резонансную частоту 325 кГц, константу взаимодействия 40 Н/м и типичный радиус наконечника 8 нм. Порошки фиксировали на АСМ-диске с помощью угольной ленты и использовали сжатый газообразный азот, чтобы сдуть частицы, которые не прикрепились к угольной ленте. Исследование топографии проводили в полуконтактном режиме со скоростью сканирования 1,00 Гц, заданным значением 1,08 В и интегральным коэффициентом усиления 20,0. Фильтр обратной связи, задающую амплитуду и

задающую частоту оптимизировали для каждого образца, а все изображения получали в разрешении 512×512. Для создания 3D-изображений топографии использовали программное обеспечение Gwyddion (Necas and Klapetek 2012) (для 64-битной Windows, версия 2.50).

[00102] Для получения изображения наноагрегатов использовали микроском Park XE-100 AFM (Park systems, Suwon, Korea), оснащенный покрытым алюминием кантилевером Nanosensors PPP-NCHR (NanoWorld AG, Neuchâtel, Switzerland), который имел резонансную частоту 330 кГц, константу взаимодействия 42 Н/м и радиус наконечника менее 7 нм. 380 мкм одностороннюю отполированную кремниевую подложку Р-типа покрывали Твин® 20 (VWR, Radnor, PA) перед загрузкой порошковых образцов для АСМ. Твин® 20 (1,5% масс./об.) предварительно растворяли в метаноле степени очистки ВЭЖХ (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA). Раствор каплями наносили на кремниевую подложку, используя пипетку для переноса, и удаляли раствор сжатым газообразным азотом. Порошок помещали в инсуффлятор DP4 (Penn-Century Inc., Wyndmoor, PA) и распыляли на кремниевую подложку, используя 3 мл шприц. После загрузки распыленного порошка на кремниевую подложку использовали сжатый газообразный азот для удаления твердых частиц порошка, которые не были сильно прикреплены к кремниевой подложке. Для получения изображений в разрешении 512×512 использовали полуконтактный режим со скоростью сканирования 0,30 Гц. Другие значения для АСМ оптимизировали для каждого образца. Топографические изображения обрабатывали с помощью программного обеспечения Gwyddion (Necas and Klapetek 2012) (для 64-битной Windows, версия 2.50).

Анализ аэродинамического распределения частиц по размеру

[00103] Аэродинамическое распределение частиц по размеру определяли с помощью фармацевтического импактора нового поколения (NGI) (MSP Co. Shoreview, MN), подсоединенного к высокопроизводительному насосу (модель HCP5, Copley Scientific, Nottingham, UK) и контроллеру критического потока (модель TPK 2000, Copley Scientific, Nottingham, UK). Капсулу HPMC № 3 (VCaps plus, Capsugel, Morristown, NJ), содержащую ЗТП-порошок (приблизительно 5-10 мг), помещали в ингалятор сухого порошка RS01 с высоким сопротивлением (Plastiape, Osnago, Italy) и диспергировали в NGI через впускной канал USP со скоростью потока 60 л/мин в течение 4 с на каждое нажатие. во время всего исследования не использовали пресепаратор. Улавливающие пластины NGI покрывали 2% масс./об. полисорбата 20 в метаноле и оставляли для высыхания в течение 20 мин перед использованием. После аэролизации порошок экстрагировали смесью воды и ацетонитрила (50:50 об./об.) и анализировали содержание вориконазола методом ВЭЖХ. Масс-медианный аэродинамический диаметр (ММАД), геометрическое стандартное отклонение (ГСО) и мелкодисперсную фракцию (МДФ) рассчитывали на основании дозы, нанесенной на устройство,

впускного канала, стадий 1-7 и микродиафрагменного сборника (МДС), используя программное обеспечение Copley Inhaler Testing Data Analysis (CITAS) версии 3.10 (Copley Scientific, Nottingham, UK).

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

[00104] Для измерения количественного содержания вориконазола использовали ВЭЖХ-систему Dionex Ultimate 3000 (Sunnyvale, CA) и дегазатор Shimadzu DGU 14A (Shimadzu, Kyoto, Japan). Использовали колонку Waters Xbridge C18 (4,6×150 мм, 3,5 мкм) (Milford, MA). Подробная информация по методу: изократический метод для аэродинамических свойств с использованием подвижной фазы 40/60 (об./об.) вода/ацетонитрил, содержащей 0,1% (об./об.) ТФУ, и скорости потока 0,8 мл/мин в течение 4 мин; и градиентный метод для продуктов химического распада во время исследования стабильности. В случае градиентного метода ацетонитрил, содержащий 0,1% (об./об.) ТФУ, постепенно повышали от 25 до 95% (об./об.) в течение 14 мин, смешивали с водой, содержащей 0,1% (об./об.) ТФУ, а скорость потока составляла 0,8 мл/мин. В случае обоих методов образцы анализировали на длине волны обнаружения 254 нм при 25 °С. Линейность получали в диапазоне от 50 нг/мл до 100 мкг/мл, используя вводимый объем 15 мкл.

Ядерный магнитный резонанс раствора (ЯМР раствора)

[00105] ^1H ЯМР проводили, чтобы рассчитать массовое отношение между вориконазолом и маннитом в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН. Все ^1H ЯМР-спектры записывали в диметилсульфоксиде- d_6 (ДМСО- d_6) при 600 МГц на спектрометре VNMR 600 (Varian, Palo Alto, CA) при 25 °С. Химические сдвиги были записаны относительно 2,47 м. д. ДМСО- d_6 .

Ядерный магнитный резонанс твердого тела (тТЯМР)

[00106] Эксперименты по тТЯМР проводили на спектрометре Bruker Avance III HD с частотой 400 МГц (Bruker, Billerica, MA) при 25°C с частотой вращения под магическим углом (MAS) 12 кГц. 4 мм зонд тройного резонанса HFX от Bruker использовали в режиме двойного резонанса, настроенного на частоты $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ или $^1\text{H}/^{19}\text{F}$. Все образцы упаковывали в условиях окружающей среды в 4 мм ZrO_2 роторы (Wilmad-LabGlass, PA). Эксперимент по одномерной (1D) кросс-поляризации ^{13}C и ^{19}F (CP) MAS проводили с линейным уровнем напряженности 80-100 кГц во время 2 мс периода контакта на канале ^1H для повышения эффективности CP. Использовали высокоэнергетическое протонное расщепление SPINAL64 при напряженности поля 80 кГц. Те же параметры напряженности, время контакта, частоту MAS использовали для экспериментов по 2-мерной (2D) гетероядерной корреляции ^{13}C - ^1H CP (HETCOR). Адамантин использовали в качестве внешнего стандарта для калибровки химического сдвига ^{13}C с пиком ^{13}C этила, установленным на 38,48 м. д.

Инфракрасная Фурье-спектроскопия (ИК-ФС)

[00107] ИК-ФС Nicolet™ iS™ 50, оснащенный сэмплером Smart OMNI-Sampler™ (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), использовали для изучения межмолекулярной активности между вориконазолом и маннитом в порошках ЗТП-ВКЗ-МАН. Измерения проводили для образцов в виде сухого порошка, и записывали спектральный диапазон от 4000 до 700 см⁻¹ при апертуре 150, разрешении 4 и количестве сканирований 32.

Анализ удельной площади поверхности (УПП) по методу Брюнера - Эммета - Теллера (БЭТ)

[00108] Использовали быстрый анализатор площади поверхности Monosorb™ модели MS-21 (Quantachrome Instruments, Boynton Beach, FL) для измерения УПП порошков ЗТП-ВКЗ-МАН однотоочечным методом БЭТ. Образцы дегазировали газообразным азотом при 20 фунт/кв. дюйм при температуре окружающей среды в течение 24 ч, чтобы удалить поверхностные примеси. В качестве газа-адсорбата использовали азот/гелий (30:70 об./об.).

Тест на сопротивление сдвиговому усилию

[00109] Чтобы исследовать сопротивление сдвиговой силе порошков ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 порошки помещали в контейнер из нержавеющей стали (внутренний диаметр 27/8 дюйма, высота 4 ¼ дюйма) и реализовали предварительный сдвиг путем вращения контейнера при 85 об/мин. Образцы порошка брали через 15, 30 и 60 мин и сравнивали аэродинамические свойства с исходным состоянием.

Тест на растворение

[00110] Метод растворения in vitro использовали для количественной оценки растворения вориконазола из порошков, обработанных с помощью технологии ЗТП. Использовали аппарат с ячейками Франца для отделения высвобожденного вориконазола из порошков, полученных методом ЗТП. Фармацевтический импактор нового поколения (NGI) (MSP Co. Shoreview, MN), подсоединенный к высокопроизводительному насосу (модель HCP5, Copley Scientific, Nottingham, UK) и контроллеру критического потока (модель TPK 2000, Copley Scientific, Nottingham, UK), использовали для загрузки распыленных порошков на мембранный фильтр Tuffryn (25 мм, 0,45 мкм, Pall Corporation, Port Washington, NY). На стадии 2 пять отверстий на крышке NGI были закрыты лабораторной пленкой, и только 1 отверстие оставалось открытым. Мембранный фильтр Tuffryn помещали в улавливающую чашку и фиксировали лабораторной лентой под открытым отверстием на стадии 2. Капсулу HPMC № 3 (VCaps plus, Capsugel, Morristown, NJ), содержащую ЗТП-порошок (приблизительно 5-10 мг), помещали в ингалятор сухого порошка RS01 с высоким сопротивлением (Plastiape, Osnago, Italy) и диспергировали в NGI через впускной канал USP со скоростью потока 60 л/мин в течение 4 с на каждое нажатие. Пресепаратор не использовали. После аэролизации мембранный фильтр с загруженным порошком (приблизительно от 0,5

до 1 мг) аккуратно убирала из улавливающей чашки и помещала на верх рецепторной камеры ячейки Франца, которую предварительно наполняли дегазированным 10 мМ фосфатно-солевым буфером (ФСБ), pH 7,4 (5 мл). Донорную камеру помещали на мембранный фильтр и закрепляли мембранный фильтр между рецепторной и донорной камерами с помощью зажима. Использовали парафильм, чтобы закрыть донорную камеру сверху. Тест на растворение проводили в условиях достаточного растворения при 37°C с перемешиванием магнитными мешалками в рецепторных камерах. Растворяющую среду (150 мкл) отбирали с временными интервалами 0, 20, 40, 60, 120 и 180 мин для ВЭЖХ-анализа без разведения. После каждого отбора образцов растворяющую среду заменяли свежей.

Улавливание распыленных частиц и получение СЭМ-образцов во время растворения

[00111] Импактор для быстрого скрининга (FSI) (Copley Scientific, Nottingham, UK), подсоединенный к высокопроизводительному насосу (модель HCP5, Copley Scientific, Nottingham, UK) и контроллеру критического потока (модель TPK 2000, Copley Scientific, Nottingham, UK), использовали для получения СЭМ-изображений распыленных порошков ЗТП-ВКЗ-МАН до и после теста на растворение. Капсулу HPMC № 3 (VCaps plus, Capsugel, Morristown, NJ), содержащую ЗТП-порошок (приблизительно 5-10 мг), помещали в ингаляционное устройство для сухого порошка RS01 с высоким сопротивлением (Plastiape, Osnago, Italy), и диспергировали на стекловолоконный фильтр (MSP Co. Shoreview, MN), установленный в FSI, для улавливания частиц с аэродинамическим размером 5 мкм или менее. После улавливания частиц на фильтре их переносили на угольную ленту, ранее присоединенную к СЭМ-образцу, путем постукивания угольной ленты о фильтр, и записывали СЭМ-изображение.

[00112] Для записи СЭМ-изображений во время теста на растворение стекловолоконный фильтр с загруженными порошками из FSI обрезали по кругу (диаметр 25 мм). Затем стекловолоконный фильтр помещали между донорной камерой и рецепторной камерой ячейки Франца, предварительно наполненной ФСБ, pH 7,4, при 37 °C. Фильтр оставляли на ячейке Франца на 5 мин и помещали в морозильную камеру с температурой - 80°C на 1 час. Для удаления растворителя 25°C в течение 5 часов использовали лиофилизатор VirTis Advantage Lyophilizer (VirTis Company Inc., Gardiner, NY). Угольной лентой, ранее присоединенной к СЭМ-образцу, постукивали о стекловолоконный фильтр, чтобы перенести порошки ЗТП-ВКЗ-МАН, и записывали СЭМ-изображения, как описано ранее.

Исследование стабильности

[00113] Сухие порошки ЗТП-ВКЗ-МАН 95:5 подвергали предварительному сдвигу в стеклянной бутылке, как описано для теста на сопротивление сдвиговому усилию. Капсулу HPMC размера № 3 (Capsugel, Morristown, NJ) наполняли от 7,6

до 8,4 мг подвергнутого предварительному сдвигу порошка. 14 капсул, наполненных порошком, переносили в сцинтилляционный флакон и продували флакон газообразным азотом в течение 20 с перед закрытием крышкой. Флакон герметично закрывали алюминиевой фольгой (13×15 см), предварительно продутый изнутри газообразным азотом в течение 30 с, и поддерживали алюминиевую фольгу при 25 °С/60% ОВ. Чистоту и аэрозольную эффективность определяли в каждый момент времени через 1, 3, 6 и 13 месяцев.

Статистический анализ

[00114] Аэродинамические характеристики и кумулятивное высвобождение лекарственного препарата сравнивали для статистического анализа с помощью t-критерия Стьюдента. Р-значение < 0,05 считалось значимой разницей. JMP® 10.0.0 использовали для сравнения значимости данных.

Пример 3. Получение композиции вориконазола в расширенном масштабе и тестирование ингалятора

1. Результаты

Отслеживание процесса охлаждения при -60°C и -150 °C

[00115] В таблице 3 приведены разные составы и условия обработки. На Фиг. 16 приведены изображения процесса замораживания при двух разных температурах. Растворы, содержащие вориконазол и маннит (95:5 масс./масс.) в воде/АЦН (50:50 об./об.), использовали при нагрузке твердым веществом 1% и 3% (масс./об.) (составы № 2, 4, 6 и 7 в таблице 3). При -60°C оба раствора с разной нагрузкой твердым веществом демонстрировали, что процесс замораживания был завершен, а термическое равновесие было достигнуто за 200 мс или менее. Зародышеобразование наблюдали на краю диска с образцом приблизительно через 1/30 мс, но замораживание распространялось от центра диска к его краям при -60°C. В противоположность этому зародышеобразование начиналось через 1/60 мс или менее для растворов с 1% и 3% (масс./об.) нагрузкой твердым веществом при -150 °C, а охлаждение равномерно распространялось по диску с образцом. Однако термическое равновесие не было достигнуто к 200 мс.

Таблица 3: Перечень составов и параметры обработки

Номер состава	Отношение вориконазола к манниту (масс./масс.)	Нагрузка твердым веществом (% масс./об.)	Температура ЗТП-обработки (°C)	Отношение вода:ацетонитрил (об./об.)
1	95:5	1	-60	30:70
2	95:5	1	-60	50:50
3	95:5	1	-60	70:30
4	95:5	1	-150	50:50

5	95:5	2	-150	50:50
6	95:5	3	-150	50:50
7	95:5	3	-60	50:50

Физические свойства наноагрегатов вориконазола, полученных методом ЗТП

[00116] На Фиг. 17 представлена топография в высоком разрешении наноагрегатов вориконазола, обработанных при двух разных температурах. На ней показано, что наноагрегаты вориконазола, образованные при более низкой температуре (-150 °C) (состав № 4), состояли из меньших наночастиц. При обработке при -150°C наблюдали наночастицы размером всего лишь 200 нм, тогда как при -60°C были обнаружены наночастицы около 500 нм (состав № 2).

[00117] На Фиг. 18 приведено сравнение морфологии частиц наноагрегатов вориконазола, образованных при применении разных параметров обработки. Когда в качестве растворителя использовали систему вода/АЦН (30:70 об./об.) (состав № 1), наблюдали пористый структурированный маннит с размером частиц более 20 мкм. Наноагрегаты вориконазола, полученные с другими системами растворителей, демонстрировали модификацию поверхностной текстуры частиц вориконазола частицами маннита. Меньшая температура обработки приводила к получению более мелких частиц в рамках исследуемого диапазона нагрузки твердым веществом (1 ~ 3% масс./об.).

[00118] На Фиг. 19 приведены СЭМ-изображения аэрозольных наноагрегатов вориконазола, полученных при -60°C и -150 °C (составы № 7 и 6, соответственно). На ней показано, что наноагрегаты состоят из наночастиц размером всего лишь 200 нм. Хотя наноагрегаты вориконазола оставались преимущественно наноагрегатами микронных размеров, наблюдали наноагрегаты неправильной формы, которые не было полностью дезагрегированы после аэролизации. Поверхность этих наночастиц сохраняла текстуру, модифицированную после аэролизации инсuffлятором DP4.

Сравнение физических и аэродинамических свойств при расширении масштаба

[00119] В таблице 4 приведены аэродинамические свойства и содержание влаги наноагрегатов вориконазола, полученных в малом (200 мг) и большом (90 г) масштабах. Кроме того, на Фиг. 20 приведено сравнение кристалличности различных порошковых составов. При сравнении большого масштаба и малого масштаба МДФ (% отмеренной дозы, 35,6% и 37,0%), МДФ (% доставленной дозы, 49,5% и 48,5%) и ММАД (3,69 мкм и 3,52 мкм) не имели значимой разницы ($p > 0,05$) при исследовании с помощью устройства Plastiapе® с низким сопротивлением RS00 при скорости потока 60 л/мин. Также содержание влаги в

случае обеих партий составляло менее 0,1% (масс./масс.) по данным ТГА. ПРД-спектры наноагрегатов вориконазола не демонстрировали какой-либо разницы в профиле между малым и большим масштабом.

Таблица 4. Сравнение физико-химических и аэродинамических свойств при разном масштабе

Состав	Наноагрегаты вориконазола, состав № 6	
Тестируемый ИСП	Plastiapre RS-00 с низким сопротивлением	
Скорость потока (л/мин)	60	
Масштаб партии	90 г	200 мг
ММАД (мкм)	$3,69 \pm 0,16$	$3,52 \pm 0,06$
ГСО (мкм)	$1,82 \pm 0,03$	Н/Д
МДФ (% отмеренной дозы)	$35,6 \pm 1,9$	$37,0 \pm 1,0$
МДФ (% доставленной дозы)	$49,5 \pm 2,3$	$48,5 \pm 1,7$
УПП ($\text{м}^2/\text{г}$)	$10,77 \pm 0,62$	$8,65 \pm 0,21$
Содержание влаги (% масс./масс.)	$< 0,1$	$< 0,1$

In vitro аэрозольная эффективность

По соразстворителям, температуре обработки и нагрузке твердым веществом

[00120] NGI применяли для оценки действия соразстворителей, температуры обработки и нагрузки твердым веществом на аэрозольные свойства наноагрегатов вориконазола без кондиционирования. Результаты представлены в таблице 5. Разное отношение воды и ацетонитрила в соразстворителе изменяло аэрозольные свойства наноагрегатов вориконазола при фиксированных нагрузке твердым веществом (1%) и температурой обработки ($-60\text{ }^{\circ}\text{C}$) (составы № 1~3). При повышении отношения воды 30% (об./об.) до 50% (об./об.) и 70% (об./об.) МДФ (% отмеренной дозы) повышалась от 34,3% до 37,9% и 45,6%. Также МДФ (% доставленной дозы) повышалась (53,1%, 61,2% и 69,9%, соответственно) при снижении ММАД (3,41, 3,31 и 3,09 мкм, соответственно).

Таблица 5. Аэрозольные свойства по соразстворителям, температуре обработки и нагрузке твердым веществом

Состав	МДФ, отмеренная (%)	МДФ, доставленная (%)	ММАД (мкм)	ГСО (мкм)	ЭР (%)
1	$34,3 \pm 1,7$	$53,1 \pm 2,0$	$3,41 \pm 0,25$	$1,80 \pm 0,01$	$64,6 \pm 2,4$

2	$37,9 \pm 3,4$	$61,2 \pm 5,0$	$3,31 \pm 0,38$	$1,87 \pm 0,05$	$62,2 \pm 7,8$
3	$45,6 \pm 2,9$	$69,9 \pm 3,4$	$3,09 \pm 0,17$	$1,76 \pm 0,06$	$65,3 \pm 3,6$
4	$46,7 \pm 1,4$	$67,5 \pm 2,0$	$3,27 \pm 0,06$	Н/Д	$69,1 \pm 2,0$
5	$41,3 \pm 2,1$	$60,9 \pm 5,3$	$3,24 \pm 0,12$	Н/Д	$68,0 \pm 2,6$
6	$37,0 \pm 1,0$	$48,5 \pm 1,7$	$3,52 \pm 0,06$	Н/Д	$76,3 \pm 0,8$

Устройство Plastiare RS-00 с низким сопротивлением при 60 л/мин (n=3; среднее $\pm$ СО), некондиционированный порошок

[00121] Также подтверждали влияние температуры обработки. Когда температуру обработки снижали от -60°C до -150°C при фиксированных нагрузке твердым веществом (1%) и сорастворителях (вода/АЦН 50:50 об./об.) (составы № 2 и 4), МДФ (% отмеренной дозы) существенно повышалась от 37,9% до 46,7% ($p < 0,05$). При этом МДФ (% доставленной дозы) и ММАД существенно не менялись (61,2% и 67,5% и 3,31 и 3,27 мкм, соответственно) ($p > 0,05$).

[00122] Нагрузка твердым веществом также влияет на аэрозольные свойства. Как показано в таблице 5, более высокая нагрузка твердым веществом приводит к снижению аэрозольных свойств. При повышении нагрузки твердым веществом от 1% до 2% и 3% (составы № 4 ~ 6) МДФ (% отмеренной дозы) снижалась от 46,7% до 41,3% и 37,0%, когда порошок не был кондиционирован. МДФ (% доставленной дозы) также снижалась от 67,5% до 60,9% и 48,5%. Хотя ММАД для 1% и 2% (составы № 4 и 5) существенно не отличался (3,27 и 3,24 мкм, $p > 0,05$), 3% (состав № 6) приводили к существенно большему ММАД (3,52 мкм. $p < 0,05$).

По устройству

[00123] Аэрозольную эффективность наноагрегатов вориконазола (состав № 6) оценивали при применении четырех разных типов устройств Plastiare: RS00 с низким и высоким сопротивлением и RS01 с низким и высоким сопротивлением. В таблице 6 приведена оценка влияния разных скоростей потока на аэрозольную эффективность. При скорости потока 90, 60 и 30 л/мин устройство RS00 с низким сопротивлением демонстрировало МДФ (% отмеренной дозы) 48,6%, 45,8% и 27,0% и МДФ (% доставленной дозы) 63,7%, 63,9% и 48,9%, соответственно. ММАД повышался от 3,22 до 3,36 и 4,32 мкм при снижении скорости потока от 90 до 60 и 30 л/мин. Устройство RS00 с высоким сопротивлением демонстрировало МДФ (% отмеренной дозы) 34,7% при 60 л/мин и 30,7% при 30 л/мин. ММАД устройства RS00 с высоким сопротивлением составлял 3,76 мкм при 60 л/мин и 3,83 мкм при 30 л/мин. МДФ (% отмеренной дозы) устройства RS01 с низким сопротивлением при скорости потока 90, 60 и 30 л/мин составляла 40,1%, 35,8% и 27,0%, соответственно, а ММАД составлял 4,28, 4,37 и 5,34 мкм, соответственно. Устройство RS01 с высоким сопротивлением демонстрировало МДФ (%)

отмеренной дозы) 31,7% при 60 л/мин и 20,2% при 30 л/мин, тогда как ММАД составлял 4,48 и 5,06 мкм соответственно. В целом, устройство с низким сопротивлением демонстрировало более высокие аэродинамические характеристики при той же скорости потока, а устройство RS00 приводило к лучшей эффективности по сравнению с RS01 во время *in situ* тестирования аэрозольной эффективности.

Таблица 6. Аэрозольные свойства по устройству

Устройство	Сопротивление	Скорость потока (л/мин)	МДФ, отмеренная (%)	МДФ, доставленная (%)	ММАД (мкм)	ГСО (мкм)	ЭР (%)
RS00	Низкое	90	$48,6 \pm 2,2$	$63,7 \pm 2,0$	$3,22 \pm 0,12$	Н/Д	$76,3 \pm 2,0$
		60	$45,8 \pm 0,8$	$63,9 \pm 0,8$	$3,36 \pm 0,02$	Н/Д	$71,7 \pm 1,4$
		30	$27,0 \pm 2,8$	$48,9 \pm 1,0$	$4,32 \pm 0,05$	Н/Д	$55,2 \pm 5,8$
	Высокое	60	$34,7 \pm 2,3$	$55,0 \pm 5,7$	$3,76 \pm 0,20$	$1,69 \pm 0,06$	$63,3 \pm 3,8$
		30	$30,7 \pm 2,8$	$61,9 \pm 3,4$	$3,83 \pm 0,11$	$1,52 \pm 0,02$	$49,5 \pm 3,0$
RS01	Низкое	90	$40,1 \pm 2,0$	$49,0 \pm 1,6$	$4,28 \pm 0,12$	Н/Д	$81,7 \pm 1,6$
		60	$35,8 \pm 2,6$	$49,5 \pm 4,8$	$4,37 \pm 0,30$	Н/Д	$72,5 \pm 2,2$
		30	$27,0 \pm 3,6$	$35,3 \pm 4,1$	$5,34 \pm 0,28$	$1,87 \pm 0,07$	$76,4 \pm 2,2$
	Высокое	60	$31,7 \pm 0,7$	$48,5 \pm 1,5$	$4,48 \pm 0,10$	$1,65 \pm 0,02$	$65,5 \pm 0,9$
		30	$20,2 \pm 0,8$	$40,1 \pm 2,8$	$5,06 \pm 0,11$	$1,72 \pm 0,02$	$50,6 \pm 2,7$

По дозе

[00124] Исследовали действие нагрузки разными дозами на аэрозольную эффективность при применении устройств RS00 с высоким сопротивлением и RS01 с высоким сопротивлением. Результаты представлены в таблице 7. При повышении нагрузочной дозы от 10 мг до 15 мг и 20 мг аэрозольные свойства МДФ (% отмеренной дозы) (34,7%, 33,8% и 31,8%, соответственно), МДФ (% доставленной дозы) (55,0%, 55,5% и 51,5%, соответственно) и ММАД (3,76, 3,77 и 3,84 мкм, соответственно) существенно не менялись ($p > 0,05$) при применении устройства RS00 с высоким сопротивлением при 60 л/мин. При этом устройство RS01 с высоким сопротивлением при 60 л/мин демонстрировало существенную разницу ($p < 0,05$) между 10 мг и 20 мг нагрузочной дозы с МДФ (% отмеренной дозы) (31,7% и 25,3%), МДФ (% доставленной дозы) (48,5% и 37,4%) и ММАД (4,48 и 5,21 мкм).

Таблица 7. Аэрозольные свойства по дозе

Устройство	Скорость потока (л/мин)	Нагрузочная доза (мг)	МДФ, отмеренная (%)	МДФ, доставленная (%)	ММАД (мкм)	ГСО (мкм)	ЭР (%)
RS-00 с высоким сопротивлением	60	10	$34,7 \pm 2,3$	$55,0 \pm 5,7$	$3,76 \pm 0,20$	$1,69 \pm 0,06$	$63,3 \pm 3,8$
		15	$33,8 \pm 1,9$	$55,5 \pm 2,9$	$3,77 \pm 0,12$	$1,69 \pm 0,02$	$60,9 \pm 0,2$
		20	$31,8 \pm 5,6$	$51,5 \pm 9,6$	$3,84 \pm 0,37$	$1,81 \pm 0,15$	$61,6 \pm 0,6$
RS-01 с высоким сопротивлением	60	10	$31,7 \pm 0,7$	$48,5 \pm 1,5$	$4,48 \pm 0,10$	$1,65 \pm 0,02$	$65,5 \pm 0,9$
		15	$28,4 \pm 2,2$	$43,2 \pm 5,0$	$4,78 \pm 0,35$	$1,72 \pm 0,05$	$65,9 \pm 2,5$
		20	$25,3 \pm 2,5$	$37,4 \pm 4,3$	$5,21 \pm 0,31$	$1,76 \pm 0,05$	$67,6 \pm 2,3$

Таблица 8. Аэрозольные свойства на основании перепада давления

Устройство	Сопротивление	Перепад давления (кПа)	Скорость потока (л/мин)	МДФ, отмеренная (%)	МДФ, доставленная (%)	ММАД (мкм)	% в устройстве, отмеренный
RS00	Высокое	4	58	32,8 ± 1,7	49,1 ± 4,1	4,12 ± 0,22	33,1 ± 3,3
		2	39	31,2 ± 4,5	51,5 ± 5,8	4,31 ± 0,19	39,6 ± 2,0
		1	27	30,0 ± 2,2	55,0 ± 6,1	4,20 ± 0,31	45,3 ± 2,9
RS01	Высокое	4	68	29,8 ± 1,4	41,2 ± 3,2	4,86 ± 0,22	27,6 ± 2,6
		2	45	27,4 ± 5,4	45,7 ± 9,5	4,70 ± 0,46	39,9 ± 0,6
		1	32	24,7 ± 0,7	42,0 ± 0,1	4,97 ± 0,01	41,2 ± 1,6
	Среднее	4	87	32,6 ± 2,9	41,4 ± 4,2	4,81 ± 0,30	21,2 ± 1,4
		2	60	32,7 ± 2,1	44,2 ± 2,1	4,82 ± 0,13	25,9 ± 1,6
		1	40	31,7 ± 3,3	46,3 ± 4,8	4,73 ± 0,27	31,6 ± 2,3
	Высокое (сжатие RS00)	4	68	31,6 ± 3,3	48,9 ± 6,3	4,45 ± 0,31	35,1 ± 2,2

- n = 3
- Нагрузка: 15,0 мг/капсула (фиксированная)

2. Обсуждение

Проектное поле обработки наноагрегатов вориконазола, полученных методом ЗТП

[00125] Следует учитывать параметры обработки в рамках проектного поля процесса замораживания, применяемого в ЗТП, и понимать их влияние во время разработки и последующего расширения масштаба; эти параметры включают: систему растворителя, температуру обработки, нагрузку твердым веществом и размер партии. Устройство RS00 с низким сопротивлением при скорости потока 60 л/мин использовали для определения проектного поля обработки, поскольку аэролизация с помощью устройства RS00 с низким сопротивлением больше зависела от интенсивности вдыхания и характеристик состава. Эта зависимость позволяла различать аэролизацию из составов, полученных с разными проектными параметрами обработки.

Система растворителя

[00126] На физико-химические свойства аморфных твердых дисперсий даназола, полученных с помощью ЗТП, не влияли два разных используемых растворителя (*трет*-бутанол и ацетонитрил (Overhoff et al., 2007)); однако кристалличность, морфология и аэрозольная эффективность вориконазола с ПВП K12 или ПВП K30, полученного с помощью ЗТП, были разными в зависимости от композиции растворителей, которые включали воду и 1,4-диоксан (Beinborn et al., 2012). Система соразтворителей из воды и ацетонитрила, используемая во время этого исследования, была одобрена для разработки составов такролимуса и составов вориконазола, полученных с помощью ЗТП (Watts et al., 2013; Moon et al., 2019).

[00127] Хотя разницу в кристалличности не наблюдали, было обнаружено расхождение в морфологии в разных композициях растворителей. Кроме того, наблюдали существенную тенденцию в аэродинамических свойствах при изменении композиции растворителя. Без кондиционирования порошка композиция растворителя, содержащая большую часть воды, демонстрировала повышенную аэролизацию. Это результат может быть связан с двумя факторами: вязкостью и крио-фазовым разделением системы соразтворителя.

[00128] В системе соразтворителей из воды и ацетонитрила вязкость повышается при увеличении части воды (Thompson et al., 2006; Cunningham et al., 1967). Во время процесса замораживания высокая вязкость может сдерживать движение молекул. Следовательно, в замороженном состоянии молекулы распределены более равномерно, а концентрация растворенного вещества в незамороженных каналах может существенно не повышаться. Низкая вязкость растворителя позволяет молекулам больше двигаться во время процесса заморозки, и могут возникать молекулярные агломераты. В результате концентрация растворенного вещества в незамороженных каналах повышается. Поскольку

порошки вориконазола, полученные с помощью ЗТП, представляют собой кристаллические наноагрегаты, более высокая концентрация растворенного вещества может индуцировать образование более крупных наночастиц вследствие меньшего расстояния между молекулами.

[00129] Несмотря на то, что ЗТП подразумевает ультра-быстрое суперохлаждение, для процесса замораживания системы растворителей вода/ацетонитрил требуется до 200 мс при $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Таким образом, в течение этого времени замораживания в 200 мс существует шанс повышения степени молекулярной агломерации с растворителем с низкой вязкостью, что приводит к меньшей аэрозольной эффективности. Эту тенденцию также наблюдали в предыдущем исследовании Weinborn et al. по вориконазолу, полученному с помощью ЗТП (Weinborn et al., 2012). Когда порошки кристаллического вориконазола, содержащие ПВП К12 или ПВП К30, получали с бинарной системой растворителей из воды и 1,4-диоксана, большую аэролизацию получали с частицами, полученными с 1,4-диоксаном/водой (20:80 об./об.), по сравнению с частицами, полученными с 1,4-диоксаном/водой (50:50 об./об.). Хотя вязкость 1,4-диоксана выше, чем у воды, вязкость 1,4-диоксана/воды (20:80 об./об.) выше, чем у 1,4-диоксана/воды (50:50 об./об.) (Besbes et al., 2009). Следовательно, вязкость системы соразтворителей является одним из факторов, которые влияют на аэрозольную эффективность и лиофилизацию.

[00130] Предотвращение крио-фазового разделения является второй возможностью повысить аэрозольную эффективность посредством системы соразтворителей с высокой долей воды. Система соразтворителей состоит из воды и ацетонитрила и хорошо известна своим фазовым разделением во время процесса замораживания при включении 35-88% (об./об.) ацетонитрила (Gu et al., 1994; Zarzycki et al., 2006). После того, как происходит фазовое разделение ниже $-1,32\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Zarzycki et al., 2006), незамороженный растворитель разделяется на 88% (об./об.) ацетонитрильную фазу и 65% (об./об.) водную фазу, а растворенные вещества могут перемещаться в фазу, в которой растворенные вещества имеют большую растворимость (Gu et al., 1994).

[00131] Это крио-фазовое разделение происходило в составе № 1, который обрабатывали водой/АЦН (30:70 об./об.) при $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. 5% (масс./масс.) маннита в наноагрегатах вориконазола действует как модифицирующий текстуру поверхности агент (Moon et al., 2019). Следовательно, маннит наблюдается на поверхности кристаллических наноагрегатов вориконазола в виде наночастиц, как показано на СЭМ-изображения других составов на Фиг. 18. При этом наблюдали пористые частицы маннита около 20 мкм, которые имели такую же морфологию, что и ЗТП-маннит (Moon et al., 2019). При наличии частиц маннита такого размера, образуемых в составе № 1, эффект модификации текстуры поверхности маннитом снижается, поскольку меньшее количество маннита доступно для модификации

текстуры поверхности, что, тем самым, приводит к плохой аэролизации.

[00132] Несмотря на то, что суперохлаждение ЗТП может минимизировать фазовое разделение и создавать очень маленькие ледяные каналы (Moon et al., 2016) вследствие ультра-быстрого замораживания, температура обработки -60°C допускает фазовое разделение на низком уровне воды/АЦН (30:70 об./об.), что способствует агломерации и повышению концентрации маннита во время времени обработки замораживанием (до 200 мс). При этом воды/АЦН (70:30 об./об.) не подвергается фазовому разделению во время замораживания (Gu et al., 1994; Zarzycki et al., 2006). Следовательно, агломерация и повышение концентрации, индуцируемые крио-фазовым разделением, являются маловероятными.

Температура обработки

[00133] Помимо композиция растворителей на аэрозольную эффективность наноагрегатов кристаллического вориконазола, полученных с помощью ЗТП, также влияет температура обработки. Более низкая температура обработки приводит к большей степени суперохлаждения, создавая, таким образом, меньшие ледяные каналы и предотвращая рост частиц (Overhoff et al., 2009; Engstrom et al., 2008). В этом исследовании температура -150°C демонстрировала намного более быстрое зародышеобразование с ультра-быстрым суперохлаждением. Это суперохлаждение при -150°C приводило к образованию меньших наночастиц в наноагрегатах вориконазола, состоящих из наночастиц размером всего лишь 200 нм, наблюдаемых с помощью как АСМ, так и СЭМ, за счет предотвращения роста частиц. В противоположность этому, при обработке при -60°C с помощью АСМ наблюдали размер частиц около 500 нм. Когда наноагрегаты вориконазола состоят из меньших наночастиц, они с большей вероятностью будут дезагрегировать на меньше частицы во время ингаляции, приводя к повышению аэрозольной эффективности.

[00134] Что интересно, повышенный уровень аэрозольной эффективности, индуцированный высоким суперохлаждением при -150°C , эквивалентен повышенной эффективности, индуцированной системой соразтворителей вода/АЦН (70:30 об./об.) при более низком суперохлаждении при -60°C . МДФ (% отмеренной дозы) и ММАД существенно не отличаются ($p > 0,05$) в этих двух условиях обработки (составы № 3 и № 4).

Нагрузка твердым веществом

[00135] Повышение нагрузки твердым веществом является одним из путей уменьшения времени обработки при производстве порошковых составов с помощью ЗТП. Однако высокая нагрузка твердым веществом, как правило, отрицательно влияет на аэрозольную эффективность. Насыпная плотность наноагрегатов вориконазола, полученных с 1% (масс./об.) нагрузки твердым веществом, составляет около 30 мг/см^3 без кондиционирования или физического сдвига. Следовательно, в попытке ускорить производственный процесс нагрузку

твердым веществом повысили до 3% (масс./об.), что соответствует насыпной плотности 30 мг/см³. При повышении нагрузки твердым веществом до 3% (масс./об.) изначально применяли два оптимизированных параметра: систему растворителей вода/АЦН (70/30 об./об.) и температуру обработки -150 °С. Однако вследствие низкой растворимости вориконазола в воде/АЦН (70/30 об./об.) нагрузка твердым веществом 3% (масс./об.) была неприменима. Следовательно, выбрали воду/АЦН (50/50 об./об.).

[00136] Хотя насыпная плотность при нагрузке твердым веществом 3% (масс./об.) индуцировала аналогичную насыпную плотность с 1% (масс./об.) после лиофилизации, результатом стала более низкая аэрозольная эффективность до кондиционирования порошка. При этом эффективность повышалась при надлежащем кондиционировании сопоставимо с наноагрегатами вориконазола, полученными при нагрузке твердым веществом 1% (масс./об.) с оптимизированными параметрами обработки (состав № 4). Соответственно, исследования аэролизации проводили с составом № 6 с кондиционированием порошка.

Размер партии

[00137] До недавних пор процесс ЗТП применяли, используя шприц или разделительную воронку для капельной подачи растворов. Результатом являлось большее время, необходимое для замерзания растворов. Это было основным препятствием для расширения масштаба процесса ЗТП. Для ускорения процесса замораживания применяли 2-канальный перистальтический насос для получения аморфного мелоксикама с помощью процесса ЗТП (Jermain et al., 2019). При этом, во время этого исследования вориконазола число каналов увеличили до восьми, а скорость подачи растворов оптимизировали до 25 мл/мин. Одновременно скорость вращения криогенного барабана увеличили от 10 об/мин до 20 об/мин, чтобы избежать перекрытия между дисками с замороженными образцами при более высокой скорости подачи.

[00138] Повышение скорости вращения уменьшило время, в течение которого замороженные образцы оставались на криогенном барабане. Это время уменьшилось от 4 до 2 с перед тем, как их собирали в лоток, содержащий жидкий азот. При этом, благодаря ультра-быстрому замораживанию ЗТП для процесса замораживания требуется менее нескольких сотен миллисекунд (Overhoff et al., 2007), и мы не ожидали, что повышение скорости вращения криогенного барабана повлияет на процесс замораживания. Для состава № 6 в этом исследовании зародышеобразование происходило за менее чем 1/60 с (на Фиг. 18), а термическое равновесие замороженного образца наступало менее чем за 2 с до их сбора в лоток.

[00139] Ультра-быстрое суперохлаждение при -150°С повышает скорость зародышеобразования и увеличивает число образуемых ледяных кристаллов (Rambhatla et al., 2004; Overhoff et al., 2009). Таким образом, по всему

замороженному образцу наблюдали однородное зародышеобразование. Кроме того, поскольку размер капель является сходным, вне зависимости от масштаба, процесс замораживания не зависит от разных масштабов, а результаты замороженных образцов существенно не отличаются. При аналогичном в целом процессе замораживания физико-химические и аэродинамические свойства при малом масштабе были сравнимы с большими масштабами.

[00140] После решения применять перистальтический насос при расширении масштаба процесса ЗТП также тестировали возможности лиофилизатора. Данные в таблице 4 также подтверждают, что лиофилизация 90 г наноагрегатов вориконазола с помощью 3-полочного лиофилизатора AdVantage Pro не отличалась от 200 г наноагрегатов вориконазола, лиофилизированных с помощью 1-полочного лиофилизатора AdVantage 2.0. Следовательно, расширение масштаба процесса ЗТП с применением перистальтического насоса при скорости потока подаваемого раствора 25 мл/мин подходит при применении 3-полочного лиофилизатора AdVantage Pro.

Взаимодействие устройств с наноагрегатами вориконазола в случае разных устройств и скоростей потока

[00141] Во время разработки фармацевтических продуктов, доставляемых с помощью ИСП дизайн или выбор устройства также важны, как и разработка состава в контексте аэрозольной производительности. Аэролизация одного и того же порошкового состава может по-разному происходить с разными устройствами ИСП (Parumasivam et al., 2017). В этом исследовании тестировали коммерчески доступные устройства Plastiapre RS01 и RS00, которые применимы ко многим ИСП-продуктам, имеющимся в продаже или находящимся в разработке (Armer et al., 2016; Elkins et al., 2014; Roscigno et al., 2017). В устройствах RS01 и RS00 используется одинаковая технология доставки: Капсула поднимается из своей оболочки и вращается с высокой скоростью (Dry Powder Inhaler RS01: How to Use: Plastiapre; [Доступный на: plastiapre.com/en/content/1635/dry--powder-inhaler--rs01--how--use]). Однако устройство RS01 опустошает капсулу через два отверстия, тогда как устройство RS00 выпускает порошок через восемь небольших отверстий капсулы с большим мундштуком. В сравнении общие аэрозольные свойства наноагрегатов вориконазола при применении устройства RS00 являются превосходящими в сравнении с применением той же скорости потока с тем же типом сопротивления.

[00142] Эта более высокая эффективность, достигаемая при применении устройства RS00, может быть связана с меньшими отверстиями, создаваемыми прокалывающей системой устройства RS00. Когда наноагрегаты вориконазола покидают капсулу, меньшие отверстия могут способствовать дезагрегации крупных наноагрегатов вориконазола, а их меньший размер приводит к снижению ММАД и повышению МДФ. Это может быть уникальной характеристикой наноагрегатов

вориконазола для ИСП, поскольку они состоят из ломких наноагрегатов. Другие порошковые составы для ИСП, полученные с помощью распылительной сушки или помола, не могут считаться наноагрегатами. Следовательно, размер отверстий, когда порошки вылетают из капсулы, может существенно не влиять на общую эффективность.

[00143] Сравнение устройств RS01 и RS00 с низким и высоким сопротивлением показало, что оба устройства с низким сопротивлением в целом функционировали лучше, чем устройства с высоким сопротивлением, при скоростях потока 60 и 30 л/мин. Также устройства с низким сопротивлением демонстрировали большее ЭР по сравнению с устройствами с высоким сопротивлением. Однако порошковая дезагрегация и микродисперсия в случае устройств с низким сопротивлением зависит от интенсивности вдыхания пациентом (Dal Negro RW, 2015), что приводит к вариациям в аэролизации при разной интенсивности вдыхания. Это также наблюдали в случае обоих устройств с низким сопротивлением в этом исследовании. Хотя скорость потока 90 л/мин обеспечивает максимальную аэролизацию при применении устройства RS00 с низким сопротивлением, наблюдали существенное снижение (18,8%) МДФ (% отмеренной дозы) при 30 л/мин. Аналогичную тенденцию наблюдали при применении устройства RS01 с низким сопротивлением. Снижение в МДФ (% отмеренной дозы) при снижении скорости потока от 60 до 30 л/мин также было существенным (8,8%) при применении RS01 с низким сопротивлением. При этом МДФ (% отмеренной дозы) при применении устройства RS00 с высоким сопротивлением отличалось только на 4,0% для скоростей потока 60 и 30 л/мин, а ММАД не были значимыми ($p > 0,05$), хотя наблюдали заметную разницу в ЭР. Устройство RS00 с высоким сопротивлением демонстрировало независимость от интенсивности вдыхания для 60 и 30 л/мин, что обусловлено достаточным режимом турбулентности (Dal Negro RW, 2015). Следовательно, устройство RS00 с низким сопротивлением функционирует лучше с точки зрения аэрозольных свойств, но эти свойства могут существенно варьироваться для отдельных пациентов, приводя, таким образом, к вариациям эффективности. При этом в случае устройства RS01 с высоким сопротивлением независимость скорости потока для 60 и 30 л/мин не наблюдали, что подтверждает, что более мелкие отверстия в устройстве RS00 способствуют аэролизации наноагрегатов вориконазола.

По разной нагрузочной дозе

[00144] Насыпная плотность наноагрегатов вориконазола до кондиционирования, как правило, составляет около 30 мг/см^3 вне зависимости от нагрузки твердым веществом (1-3% масс./об.) растворов перед замораживанием с помощью ЗТП. При этом насыпная плотность постепенно возрастает до 100 мг/см^3 при кондиционировании или прикладываемом извне физическом сдвиговом напряжении. Наноагрегаты вориконазола кондиционировали так, чтобы они имели

насыпную плотность около 60 мг/см^3 , а влияние уровня наполнения порошком оценивали с помощью капсулы НРМС № 3. Поскольку рабочий объем капсулы № 3 составляет 0,3 мл, максимальное количество наноагрегатов вориконазола, которое можно поместить в капсулу, составляет приблизительно 20 мг после кондиционирования. Следовательно, аэрозольную эффективность наноагрегатов вориконазола оценивали в диапазоне доз 10-20 мг на капсулу. Устройства RS00 и RS01 с высоким сопротивлением использовали при скорости потока 60 л/мин, и применяли HSD-критерий Тьюки - Крамера для сравнения результатов между разными уровнями порошка.

[00145] Тогда как устройство RS00 с высоким сопротивлением не демонстрировало существенную разницу ($p > 0,05$) в МДФ (% отмеренной дозы), МДФ (% доставленной дозы) и ММАД, эффективность для 10 мг и 20 мг при применении устройства RS01 с высоким сопротивлением была разной ($p < 0,05$). Соответствие аэрозольной эффективности при применении устройства RS00 с высоким сопротивлением может быть результатом меньших отверстий, которые могут способствовать аэролизации частиц в узком распределении в случае наноагрегатов вориконазола.

3. Материалы и методы

Материалы

[00146] Вориконазол USP приобретали у Aurobindo Pharma Ltd. (Hyderabad, India). Ацетонитрил (АЦН), метанол и трифторуксусную кислоту (ТФУ) степени очистки ВЭЖХ приобретали у Fisher Scientific (Pittsburgh, PA). Использовали внутрилабораторную отфильтрованную воду (Evoqua, Warrendale, PA) и апирогенный маннит, перлитол® ПФ, был великодушно предоставлен Roquette America Inc. (Geneva, IL).

Получение порошковых составов

[00147] Вориконазол (95% масс./масс.) и маннит (5% масс./масс.) растворяли в смеси ацетонитрила и воды (30:70, 50:50 или 70:30 об./об.) с содержанием твердого вещества в растворе 1- 3% (масс./об.). Раствор обрабатывали ультразвуком до получения прозрачного раствора. Затем раствор каплями наносили с высоты приблизительно 10 см каплями на вращающийся криогенно охлажденный (-60°C или -150°C) барабан из нержавеющей стали. В случае малого масштаба для подачи раствора на барабан использовали 10 мл шприц с шприцевой иглой (18 калибр). В случае крупномасштабного процесса для доставки раствора на барабан при скорости потока 25 мл/мин использовали перистальтический насос Masterflex® L/S® (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL), оснащенный высокопроизводительными точными обработанными платиной силиконовыми насосными трубками Masterflex® L/S® (размер 16, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL). Во время процесса замораживания замороженные образцы собирали в лоток лиофилизатора из нержавеющей стали, заполненный жидким азотом, и переносили

в морозилку с температурой -80°C для удаления избытка жидкого азота до переноса образца в лиофилизатор. Для сублимации растворителей и сушки образцов использовали полочный лиофилизатор VirTis Advantage 2.0 или VirTis Advantage Pro (VirTis Company Inc., Gardiner, NY). Во время процесса первичной сушки полки держали при -40°C в течение 20 ч, температуру полок линейно повышали до 25°C в течение 20 ч, затем держали при 25°C в течение 20 ч. Вторичную сушку проводили при 25°C в течение 20 ч. Во время процесса лиофилизации поддерживали давление 100 мТорр.

Порошковая рентгеновская дифракция (ПРД)

[00148] Кристалличность порошка определяли с помощью рентгеновской дифракции (MiniFlex 600, Rigaku Co., Tokyo, Japan) с измерением от $5-40^{\circ}2\theta$ (шаг $0,02^{\circ}$, $2^{\circ}/\text{мин}$, 40 кВ, 15 мА).

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

[00149] СЭМ (Zeiss Supra 40V SEM, Carl Zeiss, Heidenheim an der Brenz, Germany) применяли для определения морфологии порошковых образцов и для идентификации наночастиц после аэролизации. Для определения морфологии поверхности аликвоту порошка помещали на угольную ленту и покрывали методом напыления 60/40 Pd/Au с толщиной 20 нм перед получением изображений. Для определения наночастиц 1-2 мг порошка помещали в инсуффлятор DP4 (Penn-Century Inc., Wyndmoor, PA) и распыляли на 380 мкм одностороннюю отполированную кремниевую подложку Р-типа, используя 3 мл шприц, и покрывали методом напыления 60/40 Pd/Au с толщиной 5 нм перед получением изображений.

Атомная силовая микроскопия (АСМ)

[00150] Для получения изображений наноагрегатов использовали микроскоп Asylum MFP-3D AFM (Oxford Instruments, Oxfordshire, United Kingdom), который был оснащен покрытым золотом кантилевером MikroMasch Hi'Res-C15/Cr-Au (nanoWorld AG, Neuchatel, Switzerland), который имел резонансную частоту 325 кГц, константу взаимодействия 40 Н/м и типичный радиус наконечника 1 нм. Инсуффлятор DP4 (Penn-Century Inc., Wyndmoor, PA) использовали для фиксации порошков на кремниевой подложке. 1-2 мг порошка помещали в инсуффлятор и распыляли порошок на 380 мкм одностороннюю отполированную кремниевую подложку Р-типа, используя 3 мл шприц. После загрузки порошка избыток порошка, который не был сильно прикреплен к кремниевой подложке, сдували сжатым газообразным азотом. Исследование топографии проводили в полуконтактном режиме со скоростью сканирования 1,00 Гц. Другие значения для АСМ оптимизировали для каждого образца. Изображения получали в разрешении 512×512 и обрабатывали с помощью программного обеспечения Gwyddion (64-битная Windows, версия 2.50) (Necas and Klapetek, 2012).

Кондиционирование порошка

[00151] 1,3 г порошка добавляли в 60 мл бутылку Ругех. Бутылку вращали при 60 об/мин в течение 30 мин для сдвига слоев порошка и хранили в десиканте при комнатной температуре.

Анализ аэродинамического распределения частиц по размеру

[00152] Аэродинамические свойства порошка определяли с помощью фармацевтического импактора нового поколения (NGI) (MSP Corporation, Shoreview, MN), оснащенного контроллером критического потока (модель ТРК, MSP Corporation, Shoreview, MN) и высокопроизводительным насосом (модель НСР5, MSP Corporation, Shoreview, MN). Приблизительно 5-20 мг порошкового состава помещали в капсулу HPMC № 3 (Vcaps® plus, Capsugel®, Morristown, NJ) и диспергировали с помощью ИСП Plastiapе RS01 или RS00 в NGI через впускной канал USP, в целом с 4 л потока воздуха. Пресепаратор не использовали. 1,5% (масс./об.) полисорбата 20 в метаноле наносили на улавливающие пластины NGI для покрытия и сушки в течение 20 мин перед использованием. После диспергирования порошок экстрагировали смесью воды и ацетонитрила (50:50 об./об.), содержащей 0,1% (об./об.) ТФУ и анализировали содержание вориконазола методом ВЭЖХ. ММАД, геометрическое стандартное отклонение (ГСО) и мелкодисперсную фракцию (МДФ) рассчитывали, используя программное обеспечение Copley Inhaler Testing Data Analysis Software (CITDAS) версии 3.10 (Copley Scientific, Nottingham, UK).

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

[00153] Для количественного анализа содержания вориконазола использовали ВЭЖХ-систему Dionex Ultimate 3000 (Sunnyvale, CA), подсоединенную к дегазатору Shimadzu DGU 14A (Shimadzu, Kyoto, Japan) и колонке Waters Xbridge C18 (4,6×150 мм, 3,5 мкм) (Milford, MA). Использовали изократический метод с подвижной фазой 40/60 (об./об.) вода/ацетонитрил, содержащей 0,1% (об./об.) ТФУ при скорости потока 0,8 мл/мин в течение 4 мин при 25 °С. Концентрацию образца устанавливали, используя длину волны 254 нм. Исследование линейности стандартной кривой между концентрациями вориконазола 62,5 нг/мл и 500 нг/мл проводили с объемом ввода 7 мкл.

Анализ удельной площади поверхности (УПП) по методу Брюнера - Эммета - Теллера (БЭТ)

[00154] Для определения УПП использовали быстрый анализатор площади поверхности Monosorb™ модели MS-21 (Quantachrome Instruments, Boynton Beach, FL). Образцы порошковых составов дегазировали, используя газообразный азот при 20 фунт/кв. дюйм при температуре окружающей среды в течение 24 ч. В качестве газа-адсорбента использовали смесь азота и гелия (30:70 об./об.).

Термогравиметрический анализ (ТГА)

[00155] ТГА проводили для определения содержания влаги в порошковых составах. Использовали термогравиметрический анализатор Mettler модели

TGA/DSC 1 (Columbus, OH). Приблизительно 2-5 мг образца помещали в алюминиевый тигель (Mettler-Toledo, Columbus, OH) и накрывали крышкой тигля. Тигель нагревали от 25°C до 150°C при скорости изменения 5 °C/мин. Содержание влаги образца рассчитывали путем сравнения снижения массы образца между 25°C и 125 °C.

Фотографии замораживания при разных температурах

[00156] Для того, чтобы проследить разницу в скорости замерзания между разными температурами обработки ЗТП, процесс замерзания снимали камерой Canon DSLR модели EOS Rebel SL1 (Canon USA, Melville, NY), оснащенной 18-55 мм объективом IS STM (Canon USA, Melville, NY), с частотой кадров 60 кадров в секунду с разрешением 1280×720. Полученные изображения обрезали приблизительно до 200×200, чтобы они представляли только образцы.

Статистический анализ

[00157] Для определения, являются ли аэродинамические свойства статистически отличными, применяли t-критерий Стьюдента. Р-значение < 0,05 считалось значимой разницей. Для расчета р-значения для данных использовали JMP® 10.0.0.

* * *

[00158] Все описанные и заявленные в данном документе композиции и способы можно реализовать и осуществлять без проведения ненужных экспериментов в свете представленного описания. Хотя композиции и способы по этому изобретению были описаны в контексте предпочтительных вариантов осуществления, специалистам в данной области техники будет очевидно, что можно применять вариации в отношении способов и этапов или последовательности этапов способа, описанных в данном документе, не отступая от концепции, сущности и объема изобретения. В частности, будет очевидно, что определенными агентами, которые являются химически и физиологически родственными, можно замещать агенты, описанные в данном документе, с достижением таких же самых или сходных результатов. Подразумевается, что все такие аналогичные замены и модификации, очевидные для специалистов в данной области техники, находятся в рамках сущности, объема и концепции изобретения, определяемых прилагаемой формулой изобретения.

Список литературы

[00159] Нижеприведенные ссылки, в той степени, в которой они описывают типовые процедурные или другие подробности, дополняющие приведенные в данном документе, явным образом включены в данный документ посредством ссылки.

Заявка на патент США № 2010/0221343

Armer et al., WO2016057712A1, 2016.

Arora et al., Mol Pharm.; 12(6):2001-9, 2015.

- Arora et al., Expert opinion on drug delivery; 13(2):183-93, 2016.
- Beach et al., J Colloid Interface Sci.; 247(1): 84-99, 2002.
- Begat et al., KONA Powder Part J.; 23:109-21, 2005.
- Begat et al., J Pharm Sci.; 98(8):2770-83, 2009.
- Beinborn al., Int J Pharmaceut.;429(1--2): 46--57, 2012.
- Beinborn et al., European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e V.; 81(3):600-8, 2012a.
- Beinbom et al., Int J Pharmaceut.; 429(1-2):46-57, 2012b.
- Besbes et al., J Mol Liq.;145: 1--4, 2009.
- Borro et al., Transplant Proc.; 40(9):3090-3, 2008.
- Carvalho et al., European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e V.;88(1): 136-47, 2014.
- Chiou and Riegelman, J Pharm Sci.; 60(9): 1281-302, 1971.
- Correa-Soto et al., Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.; 146:86-95, 2017.
- Cunningham et al., J. Chem Eng Data.; 12(3):336--7, 1967.
- Dal Negro RW, Multidiscip Respir Med.;10(1): 13, 2015.
- DiNunzio et al., Mol Pharm.;5(6):968-80, 2008.
- Dry Powder Inhaler RS01: How to Use: Plastiapae; [Доступный от: plastiapae.com/en/content/1635/dry--powder--inhaler--rs01--how--use].
- Du et al., Evaluation of Granulated Lactose as a Carrier for DPI Formulations: Effect of Drug Loading.; 743-6, 2014.
- Du et al., J Pharm Sci.; 106(1):366-76, 2017.
- Elkins et al., Open Respir Med J.;8. 1--7. 2014.
- Engstrom et al., Pharm Res.; 25(6): 1334-46, 2008.
- Engstrom et al., Pharm Res.;25(6): 1334--46, 2008.
- Espina et al., Chemical research in toxicology; 22(2):299-310, 2009.
- Flament et al., Int J Pharmaceut.; 275(1-2):201-9, 2004.
- Gu et al., Sep Technol.; 4:258--61, 1994.
- Hickey et al., Pharm Tech.; 18:58-64, 1994.
- Hilberg et al., Eur Respir J.; 40(1):271-3, 2012.
- Hinds WC., Aerosol technology : properties, behavior, and measurement of airborne particles. 2nd ed. New York: Wiley; xx, 483 p. p., 1999.
- Johnston et al., USA patent PCT/US2008/067766. 2015 Mar 3, 2015.
- Kawashima et al., Pharm Res.; 15(11):1748-52, 1998.
- Lang et al., Mol Pharm.; 11(1): 186-96, 2014.
- Lang et al., J Drug Deliv Sci Tec.;24(2):205-11, 2014.
- Le and Schiller, Curr Fungal Infect Rep.; 4(2):96-102, 2010.

Liu et al., European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e V.;96:132-42, 2015.

Longest and Hindle, Pharm Res.; 34(10):2049-65, 2017.

Moon et al, Mol Pharm. 2019.

Moon et al., Respir Drug Deliv.;3:611--6, 2016.

Necas and Klapetek, Dent Eur J Phys.;10(1): 181--8, 2012.

Necas and Klapetek, Dent Eur J Phys.; 10(1): 181-8, 2012.

O'Donnell et al., Drug Dev Ind Pharm.;39(2):205-17, 2013.

Offerdahl et al., J Pharm Sci.; 94(12):2591-605, 2005.

Overhoff et al., Pharm Res.;25(1): 167-75, 2008.

Overhoff et al., European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e V.;65(1):57-67, 2007b.

Overhoff et al., Int J Pharmaceut.;336(1): 122-32, 2007a.

Overhoff et al., J Drug Del Sci Tech.; 19(2):89-98, 2009.

Overhoff et al., J Drug Del Sci Tech.; 19(2):89--98, 2009.

Overhoff et al., European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e V.;65(1):57--67, 2007.

Parumasivam et al., Aaps J.; 19(1): 191--202, 2017.

Pauli et al., J Nat Prod.; 75(4):834-51 2012.

Price et al., Int J Pharmaceut.; 246(1-2):47-59, 2002.

Purvis et al., Aaps Pharmscitech.;8(3):E58, 2007.

Rambhatla et al., Aaps Pharmscitech., 5(4):e58, 2004.

Ramos and Diogo, Int J Pharmaceut.; 501(1-2):39-48, 2016.

Roscigno et al, WO2017192993A1, 2017.

Shaikh and Patil, Sci Pharm.; 80(4):879-88 2012.

Silverstein et al., Spectrometric identification of organic compounds. 7th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; x, 502 p. p., 2005.

Sinha et al., Nanomedicine; 9(1):94-104, 2013.

Sinswat et al., European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e V.; 69(3): 1057-66, 2008.

Steckel and Muller, Int J Pharm.;154(1):31-7, 1997.

Tan et al., Pharm Res.; 33(8): 1923-35, 2016.

Thakkar et al., Hum Vaccin Immunother.;13(4):936-46, 2017.

Thompson et al., J Chromatogr A.; 1134(1--2):201--9, 2006.

Tian et al., The journal of physical chemistry B.; 121(25):6108-16, 2017.

Tolman et al., Eur J Pharm Biopharm.; 72(1): 199-205, 2009a.

- Tolman et al., Antimicrobial agents and chemotherapy; 53(6):2613-5, 2009b.
- Wang et al., Aaps Pharmscitech.;15(4):981-93, 2014.
- Watts et al., Int J Pharmaceut.;384(1-2):46-52, 2010.
- Watts et al., Pharm Res.;30(3):813--25, 2013.
- Watts, et al., 2013
- Wisniewski R., Spray Drying Technology Review. 45th International Conference on Environmental Systems; 12-16 July 2015; Bellevue, Washington 2015.
- Wong YL, Ann Acad Med Singapore;22(1):99-102, 1993.
- Yang et al., Int J Pharmaceut.;361(1-2):177-88, 2008.
- Yazdi and Smyth, Int J Pharm.; 511(1):403-14, 2016a.
- Yazdi and Smyth, Int J Pharm.; 502(1-2): 170-80, 2016b.
- Young et al., J Pharm Pharmacol.; 54(10): 1339-44, 2002.
- Yu et al., J Pharm Sci.; 87(6):774-7, 1998.
- Zarzycki et al., The international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry; 22(3):453--6, 2006.
- Zhang et al., European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e V.;82(3):534-44, 2012.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтический агент; и вспомогательное вещество, причем вспомогательное вещество составляет менее чем около 10% по массе фармацевтической композиции; причем фармацевтическая композиция составлена в виде наноагрегата, содержащего наночастицы терапевтического агента, а поверхность наночастиц терапевтического агента содержит дискретные домены вспомогательного вещества и при этом дискретные домены вспомогательного вещества уменьшают площадь контакта между наночастицами терапевтического агента.
2. Фармацевтическая композиция по п. 1, отличающаяся тем, что терапевтический агент находится в кристаллической форме.
3. Фармацевтическая композиция по п. 1, отличающаяся тем, что терапевтический агент находится в аморфной форме.
4. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество составляет от около 9% масс./масс. до около 1% масс./масс. фармацевтической композиции.
5. Фармацевтическая композиция по п. 4, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество составляет от около 6% масс./масс. до около 2% масс./масс. фармацевтической композиции.
6. Фармацевтическая композиция по п. 5, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество составляет около 3% масс./масс. фармацевтической композиции.
7. Фармацевтическая композиция по п. 5, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество составляет около 5% масс./масс. фармацевтической композиции.
8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, отличающаяся тем, что дискретные домены вспомогательного вещества составляют один или более не непрерывных доменов вспомогательного вещества на поверхности.
9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, отличающаяся тем, что дискретные домены вспомогательного вещества составляют непрерывный слой вспомогательного вещества.
10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество является водорастворимым.
11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество представляет собой сахарный спирт.
12. Фармацевтическая композиция по п. 11, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество представляет собой маннит.
13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-12, отличающаяся тем, что вспомогательное вещество находится в виде нанодомена в фармацевтической

композиции.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, отличающаяся тем, что нанодомен вспомогательного вещества имеет размер от около 50 нм до около 500 нм.

15. Фармацевтическая композиция по п. 14, отличающаяся тем, что размер нанодомена вспомогательного вещества составляет от около 100 нм до около 200 нм.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-15, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция имеет масс-медианный аэродинамический диаметр от около 1,5 до около 7,5 мкм.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, отличающаяся тем, что масс-медианный аэродинамический диаметр составляет от около 2,5 до около 6,5 мкм.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-17, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция не содержит восковое вспомогательное вещество.

19. Фармацевтическая композиция по п. 18, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция не содержит гидрофобное вспомогательное вещество.

20. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-19, отличающаяся тем, что терапевтический агент выбран из группы, включающей противораковые агенты, противогрибковые агенты, психиатрические агенты, такие как анальгетики, агенты, изменяющие уровень сознания, такие как анестетики или снотворные, нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты (NSAIDs), противогельминтные средства, бета-агонисты, агенты против акне, антиангинальные агенты, антиаритмические агенты, противоастматические агенты, антибактериальные агенты, агенты против доброкачественной гипертрофии предстательной железы, антикоагулянты, антидепрессанты, противодиабетические средства, противорвотные средства, противоэпилептические средства, агенты против подагры, антигипертензивные агенты, противовоспалительные агенты, противомаларийные средства, противомигренозные агенты, антимускариновые агенты, антинеопластические агенты, агенты против ожирения, агенты против остеопороза, антипаркинсонические агенты, антипролиферативные агенты, противопротозойные агенты, антигистаминные агенты, противокашлевые агенты, агенты против недержания мочи, противовирусные агенты, анксиолитические агенты, препараты для подавления аппетита, бета-блокаторы, сердечные инотропные агенты, химиотерапевтические препараты, корректоры нарушений когнитивных функций, контрацептивы, кортикостероиды, ингибиторы Cox-2, диуретики, агенты для коррекции эректильной дисфункции, отхаркивающие средства, желудочно-кишечные агенты, антагонисты гистаминовых рецепторов, иммуносуппрессанты, кератолитики, агенты для регуляции уровня липидов,

ингибиторы лейкотриенов, макролиды, мышечные релаксанты, нейролептики, питательные агенты, опиоидные анальгетики, ингибиторы протеаз и седативные средства.

21. Фармацевтическая композиция по п. 20, отличающаяся тем, что терапевтический агент представляет собой противогрибковый агент.

22. Фармацевтическая композиция по п. 21, отличающаяся тем, что противогрибковый агент представляет собой азольный противогрибковый лекарственный препарат.

23. Фармацевтическая композиция по п. 22, отличающаяся тем, что противогрибковый агент представляет собой вориконазол.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-23, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция дополнительно содержит одно или более дополнительных вспомогательных веществ.

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-24, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более дополнительных терапевтических агентов.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-25, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция составлена для введения перорально, интраадипозально, внутриартериально, внутрисуставно, внутрочерепно, внутрикочно, внутриочагово, внутримышечно, интраназально, внутриглазно, внутриперикардially, внутрибрюшинно, внутриплеврально, внутрипростатно, интаректально, интратекально, интратрахеально, интратуморально, внутрипуповинно, интравагинально, внутривенно, интравезикулярно, интравитреально, липосомально, локально, мукозально, парентерально, ректально, субконъюнктивально, подкожно, сублингвально, местно, трансдермально, вагинально, в кремах, в липидных композициях, посредством катетера, посредством лаважа, посредством непрерывной инфузии, посредством инфузии, посредством ингаляции, посредством инъекции, посредством местной доставки или посредством локализованной перфузии.

27. Фармацевтическая композиция по п. 26, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция составлена для введения посредством ингаляции.

28. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-27, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция составлена для применения с ингалятором.

29. Фармацевтическая композиция по п. 28, отличающаяся тем, что ингалятор представляет собой ингалятор для комбинации с фиксированной дозой, сухопорошковый однократный ингалятор, сухопорошковый многократный ингалятор, сухопорошковый ингалятор на несколько единичных доз, дозированный ингалятор или дозированный ингалятор под давлением.

30. Фармацевтическая композиция по п. 29, отличающаяся тем, что ингалятор представляет собой капсульный ингалятор.

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-30, отличающаяся тем, что ингалятор представляет собой ингалятор низкого сопротивления.

32. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-30, отличающаяся тем, что ингалятор представляет собой ингалятор высокого сопротивления.

33. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-32, отличающаяся тем, что используют ингалятор со скоростью потока от около 10 л/мин до около 150 л/мин.

34. Фармацевтическая композиция по п. 33, отличающаяся тем, что скорость потока составляет около 20 л/мин до около 100 л/мин.

35. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-34, отличающаяся тем, что ингалятор имеет разность давления от 0,5 кПа до около 5 кПа.

36. Фармацевтическая композиция по п. 35, отличающаяся тем, что разность давления составляет 1 кПа, 2 кПа или 4 кПа.

37. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-36, отличающаяся тем, что ингалятор имеет загружаемую дозу от около 0,1 мг до около 50 мг.

38. Фармацевтическая композиция по п. 37, отличающаяся тем, что ингалятор имеет загружаемую дозу от около 0,1 мг до около 10 мг.

39. Фармацевтическая композиция по п. 37, отличающаяся тем, что ингалятор имеет загружаемую дозу от около 5 мг до около 50 мг.

40. Фармацевтическая композиция по п. 39, отличающаяся тем, что загружаемая доза составляет от около 5 мг до около 25 мг.

41. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-40, отличающаяся тем, что ингалятор выполнен с возможностью доставки одной или нескольких доз из одной или более последовательно загруженных единичных доз.

42. Фармацевтическая композиция по п. 41, отличающаяся тем, что ингалятор выполнен с возможностью доставки одной дозы из одной единичной дозы.

43. Фармацевтическая композиция по п. 41, отличающаяся тем, что ингалятор выполнен с возможностью доставки нескольких доз из одной единичной дозы.

44. Фармацевтическая композиция по п. 41, отличающаяся тем, что ингалятор выполнен с возможностью доставки одной дозы, каждой из нескольких последовательно загруженных капсул.

45. Фармацевтическая композиция по п. 41, отличающаяся тем, что ингалятор выполнен с возможностью доставки нескольких доз из нескольких последовательно загруженных капсул.

46. Способ лечения или предотвращения заболевания или нарушения у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 1-45, содержащей терапевтический агент, эффективный для лечения заболевания или

нарушения.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что заболевание или нарушение касается легких.

48. Способ по п. 46 или п. 47, отличающийся тем, что заболевание или нарушение представляет собой инфекцию.

49. Способ по любому из пп. 46-48, отличающийся тем, что инфекция является грибковой.

50. Способ по п. 49, отличающийся тем, что терапевтический агент представляет собой противогрибковый агент.

51. Способ по п. 50, отличающийся тем, что терапевтический агент представляет собой азольный противогрибковый агент.

52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что терапевтический агент представляет собой вориконазол.

53. Способ получения фармацевтической композиции, включающий смешивание терапевтического агента и вспомогательного вещества, причем вспомогательное вещество находится в количестве менее 10% масс./масс., с растворителем с образованием первичного раствора;

нанесение первичного раствора на поверхность при температуре, подходящей для замораживания растворителя; и

удаление растворителя с получением фармацевтической композиции.

54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что растворитель представляет собой смесь двух или более растворителей.

55. Способ по п. 54, отличающийся тем, что смесь растворителей содержит воду.

56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что растворитель представляет собой органический растворитель.

57. Способ по п. 56, отличающийся тем, что органический растворитель представляет собой ацетонитрил.

58. Способ по п. 56, отличающийся тем, что органический растворитель представляет собой 1,4-диоксан.

59. Способ по любому из пп. 53-57, отличающийся тем, что растворитель представляет собой смесь воды и органического растворителя.

60. Способ по п. 59, отличающийся тем, что растворитель представляет собой смесь воды и ацетонитрила.

61. Способ по любому из пп. 53-60, отличающийся тем, что смесь двух или более растворителей содержит от около 10% об./об. до около 90% об./об. органического растворителя.

62. Способ по п. 61, отличающийся тем, что смесь содержит от около 40% об./об. до около 60% об./об. органического растворителя.

63. Способ по п. 62, отличающийся тем, что смесь содержит около 50%

об./об. органического растворителя.

64. Способ по п. 61, отличающийся тем, что смесь содержит от около 20% об./об. до около 40% об./об. органического растворителя.

65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что смесь содержит около 30% об./об. органического растворителя.

66. Способ по любому из пп. 53-65, отличающийся тем, что терапевтический агент и вспомогательное вещество составляют менее 10% масс./об. первичного раствора.

67. Способ по п. 66, отличающийся тем, что терапевтический агент и вспомогательное вещество составляют от около 0,5% до около 5% масс./об. первичного раствора.

68. Способ по п. 67, отличающийся тем, что терапевтический агент и вспомогательное вещество составляют около 1% масс./об. первичного раствора.

69. Способ по п. 67, отличающийся тем, что терапевтический агент и вспомогательное вещество составляют около 3% масс./об. первичного раствора.

70. Способ по любому из пп. 53-69, отличающийся тем, что поверхность вращается.

71. Способ по любому из пп. 53-70, отличающийся тем, что температура составляет от около 0°C до около -200 °C.

72. Способ по п. 71, отличающийся тем, что температура составляет от около 0°C до около -120 °C.

73. Способ по п. 72, отличающийся тем, что температура составляет от около -50°C до около -90 °C.

74. Способ по п. 73, отличающийся тем, что температура составляет около -60 °C.

75. Способ по п. 72, отличающийся тем, что температура составляет от около -125°C до около -175 °C.

76. Способ по п. 73, отличающийся тем, что температура составляет около -150 °C.

77. Способ по любому из пп. 53-76, отличающийся тем, что растворитель удаляют при пониженном давлении.

78. Способ по п. 77, отличающийся тем, что растворитель удаляют посредством лиофилизации.

79. Способ по п. 78, отличающийся тем, что лиофилизацию проводят при температуре лиофилизации от около -20°C до около -100 °C.

80. Способ по п. 79, отличающийся тем, что температура лиофилизации составляет около -40 °C.

81. Способ по любому из пп. 77-80, отличающийся тем, что пониженное давление составляет менее 250 мТорр.

82. Способ по п. 81, отличающийся тем, что пониженное давление составляет

около 100 мТорр.

83. Способ по любому из пп. 53-82, отличающийся тем, что способ дополнительно включает нагревание фармацевтической композиции при пониженном давлении.

84. Способ по п. 83, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию нагревают до температуры от около 0°C до около 30 °C.

85. Способ по п. 84, отличающийся тем, что температура соответствует приблизительно комнатной температуре или около 25 °C.

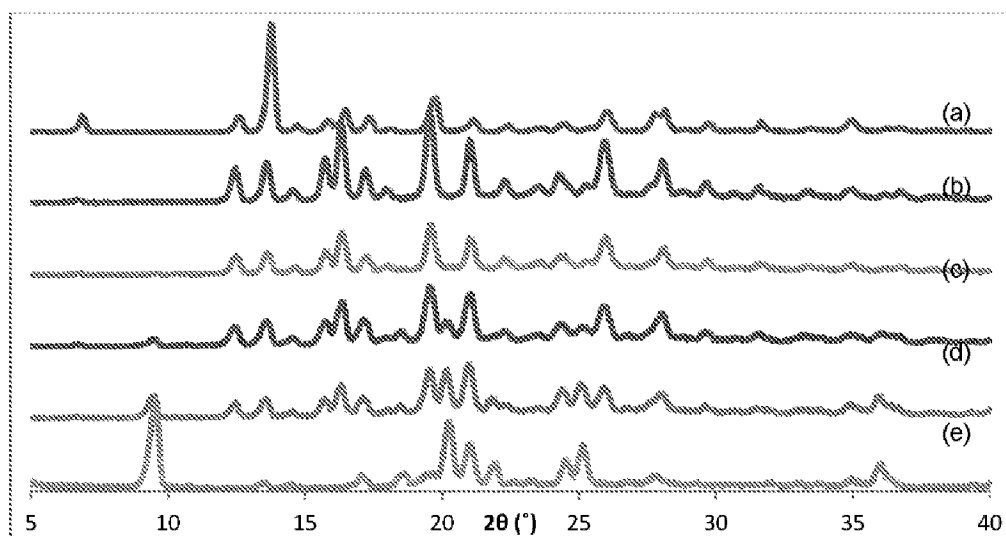
86. Способ по любому из пп. 83-85, отличающийся тем, что пониженное давление составляет менее 250 мТорр.

87. Способ по п. 86, отличающийся тем, что пониженное давление составляет около 100 мТорр.

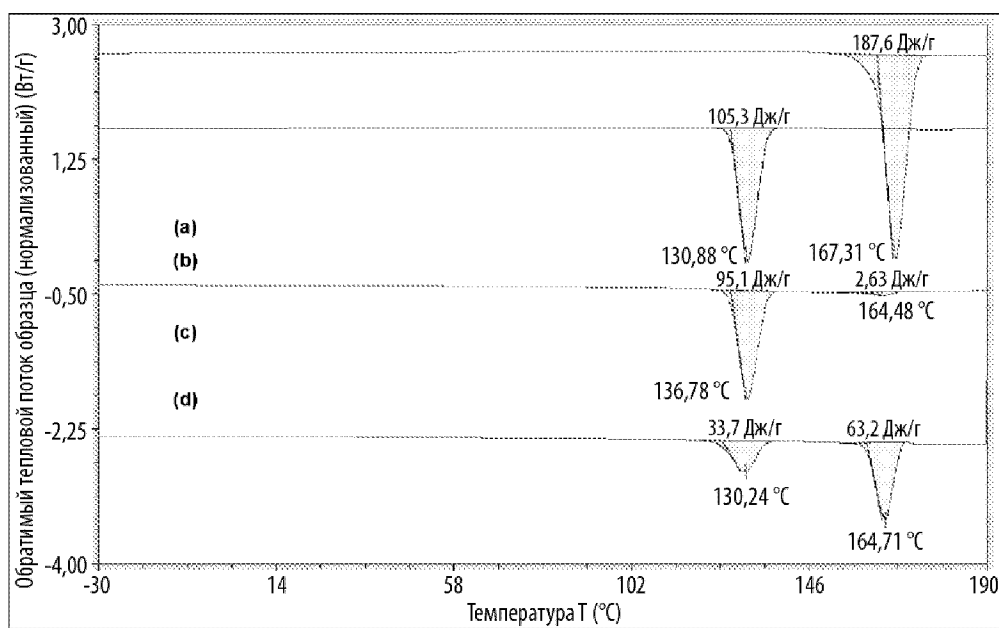
88. Способ по любому из пп. 83-87, отличающийся тем, что пониженное давление является таким же, как и пониженное давлении во время лиофилизации.

89. Фармацевтическая композиция, полученная в соответствии со способами по любому из пп. 53-88.

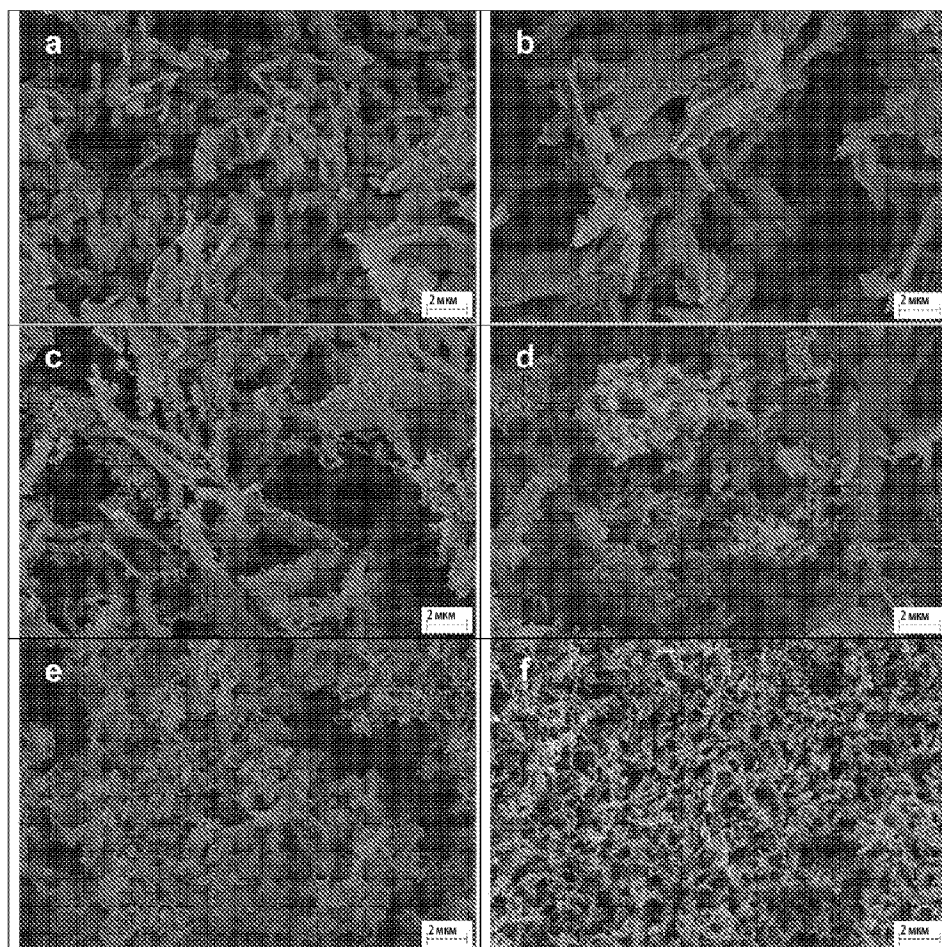
По доверенности



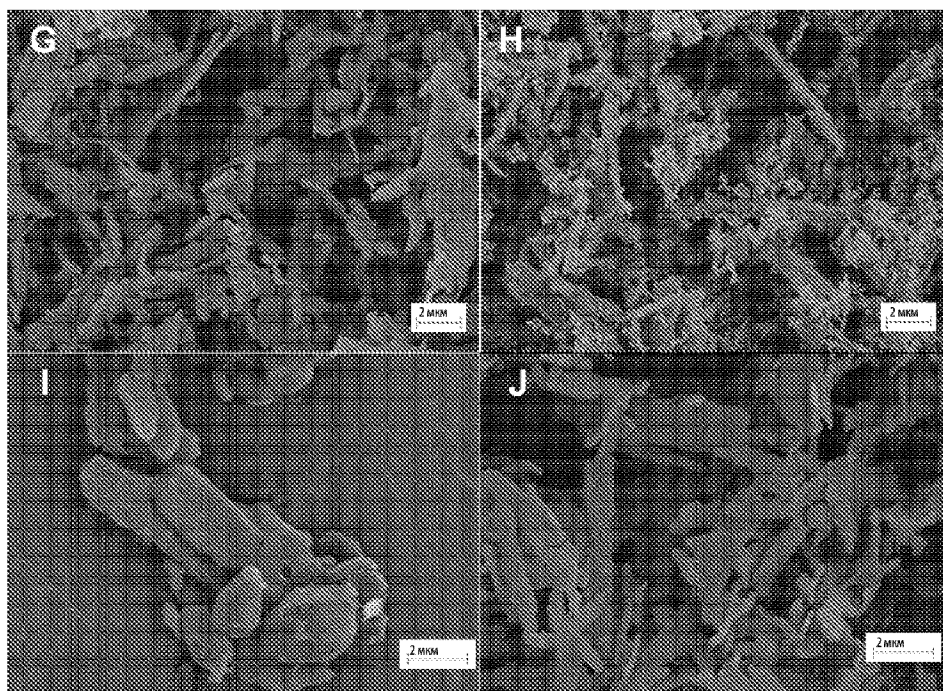
Фиг. 1



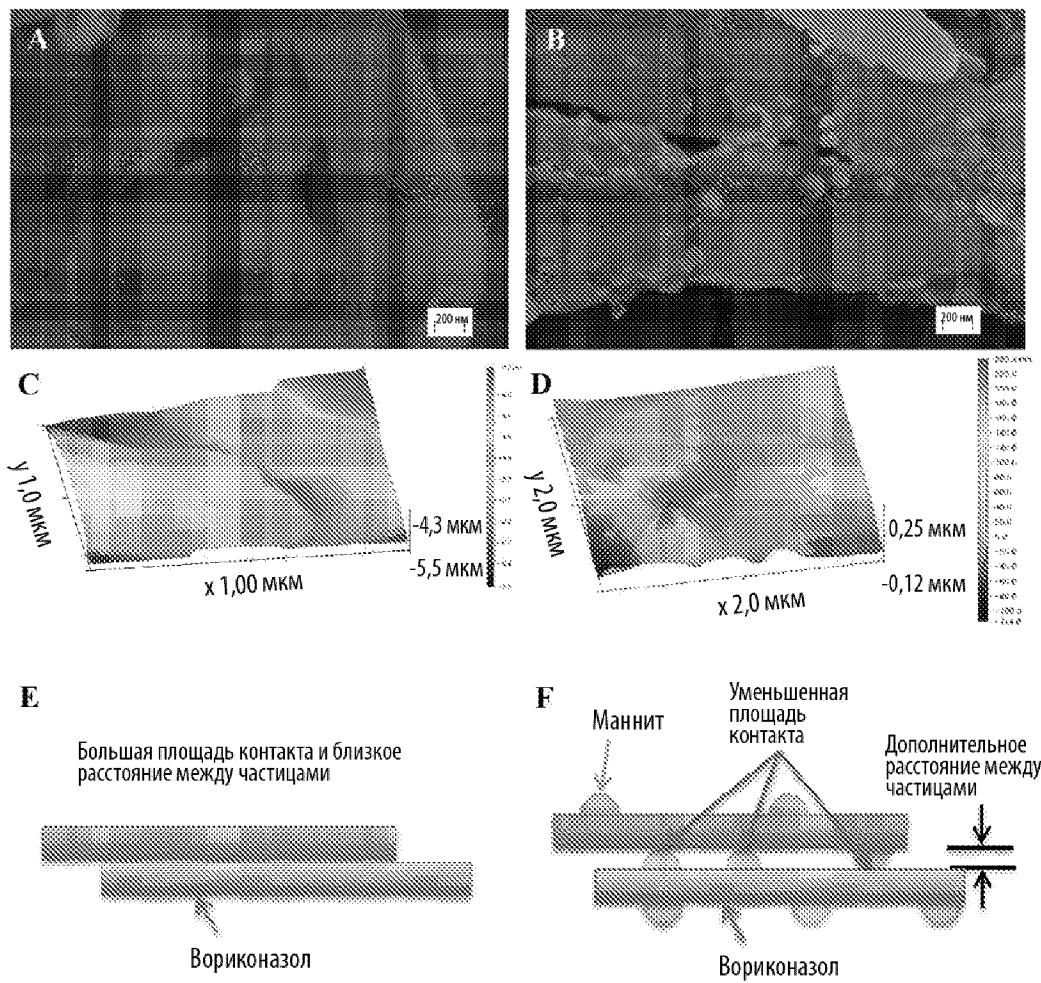
Фиг. 2



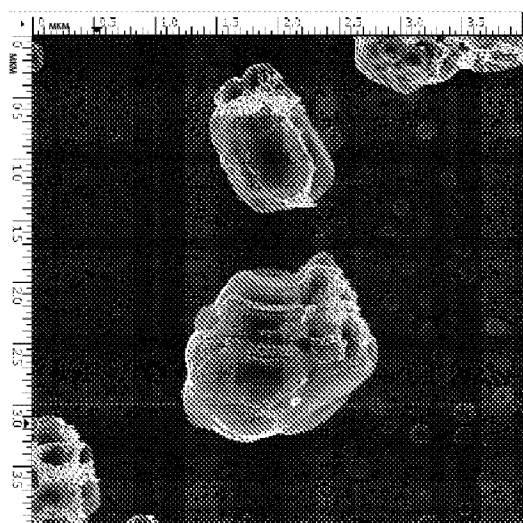
Фиг. 3А-3F



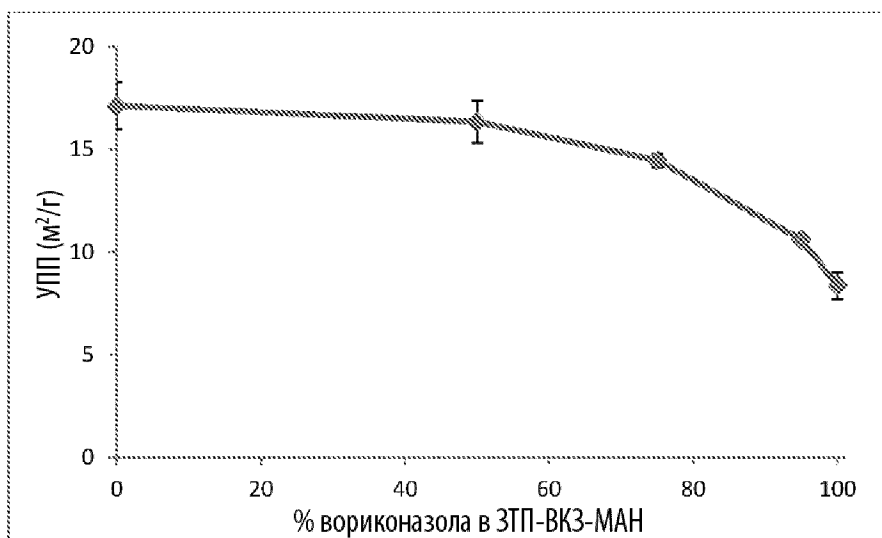
Фиг. 3G-3J



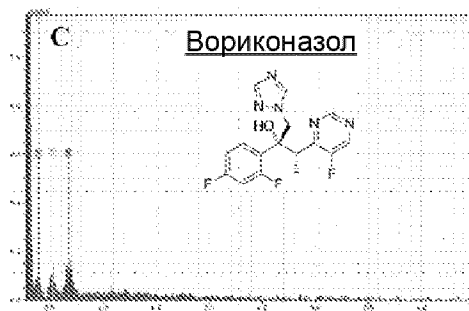
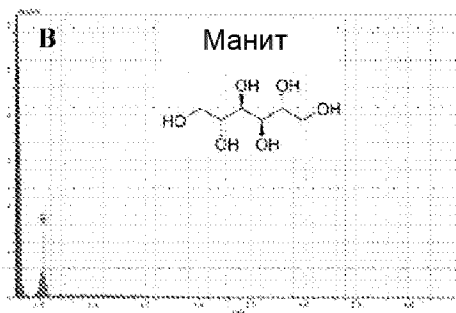
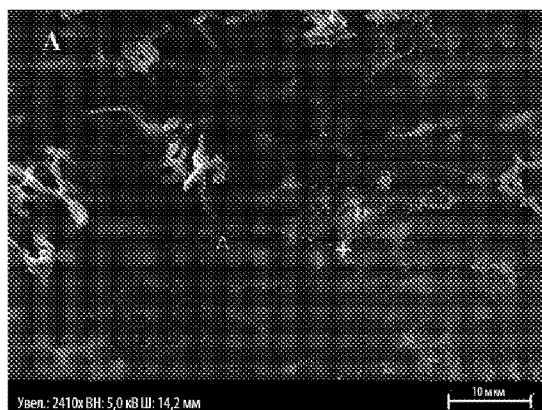
Фиг. 4А-4F



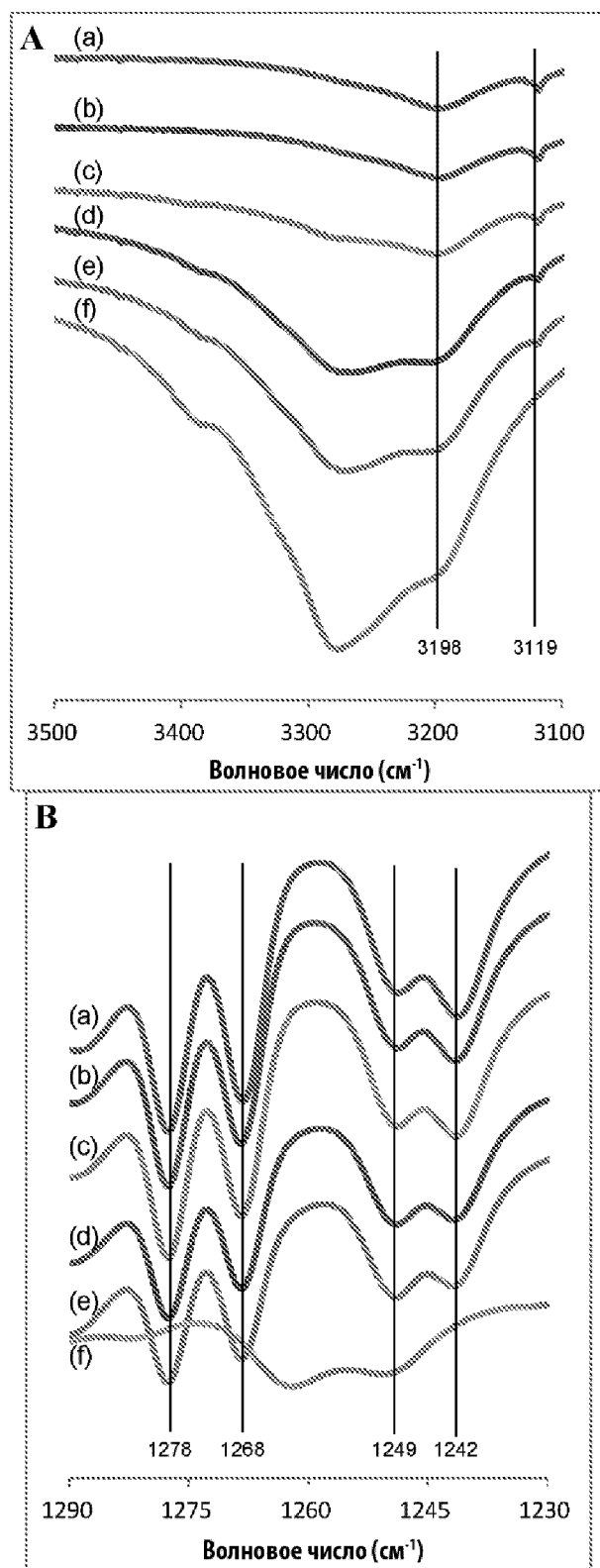
Фиг. 5



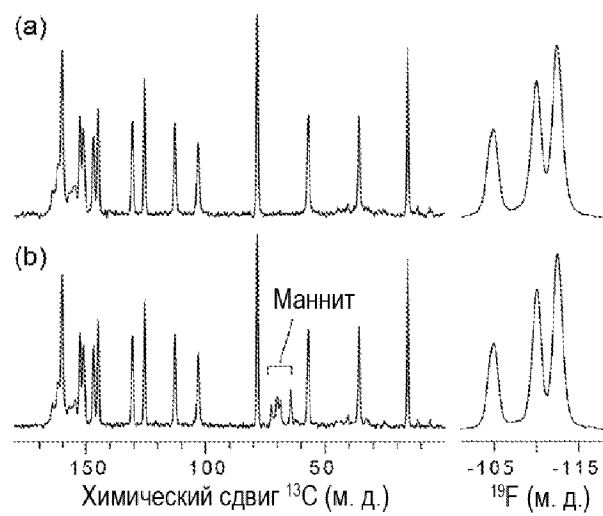
Фиг. 6



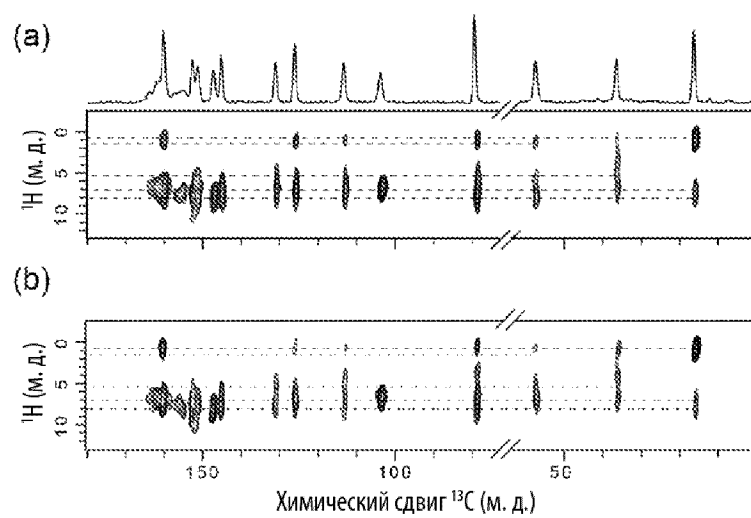
Фиг. 7А-7С



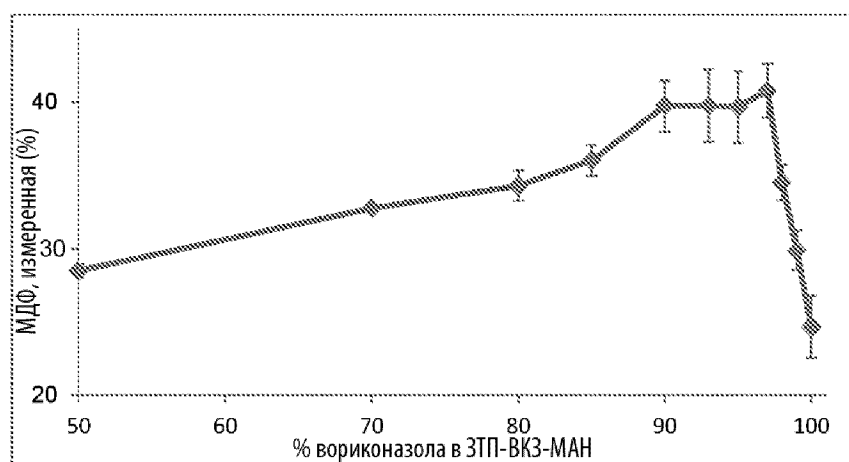
Фиг. 8А-8В



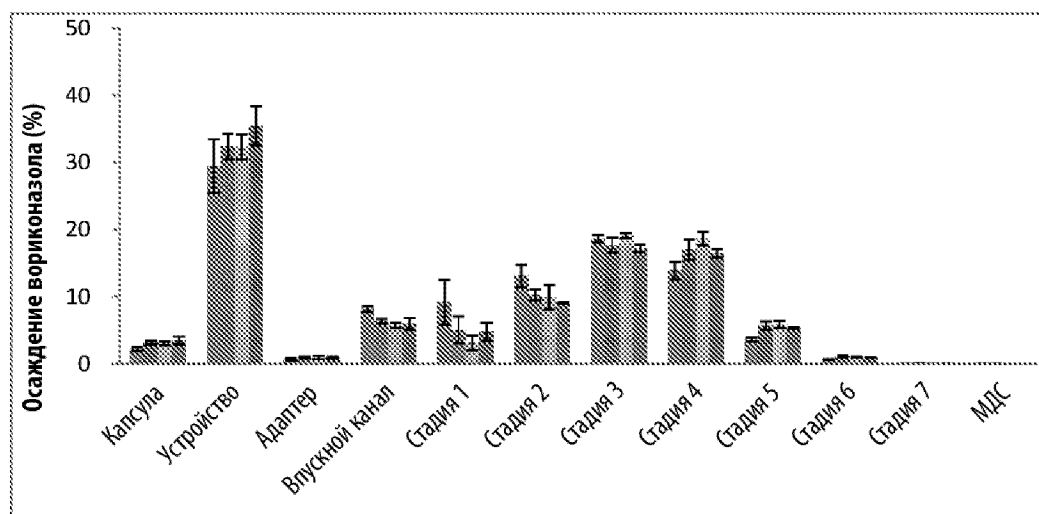
Фиг. 9А-9В



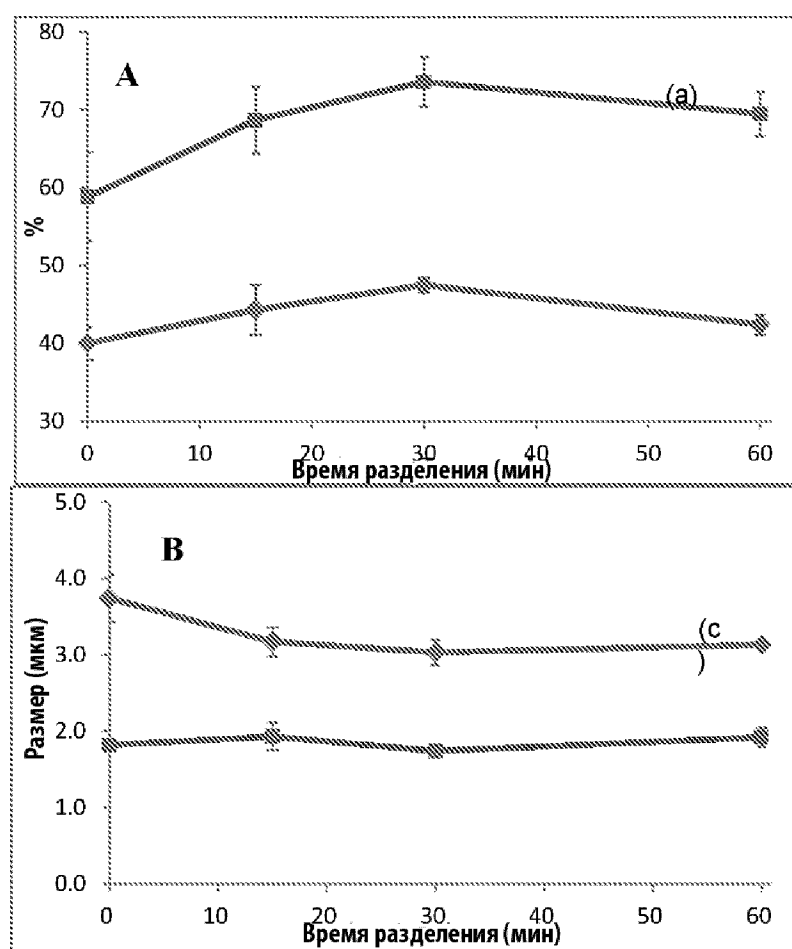
Фиг. 10А-10В



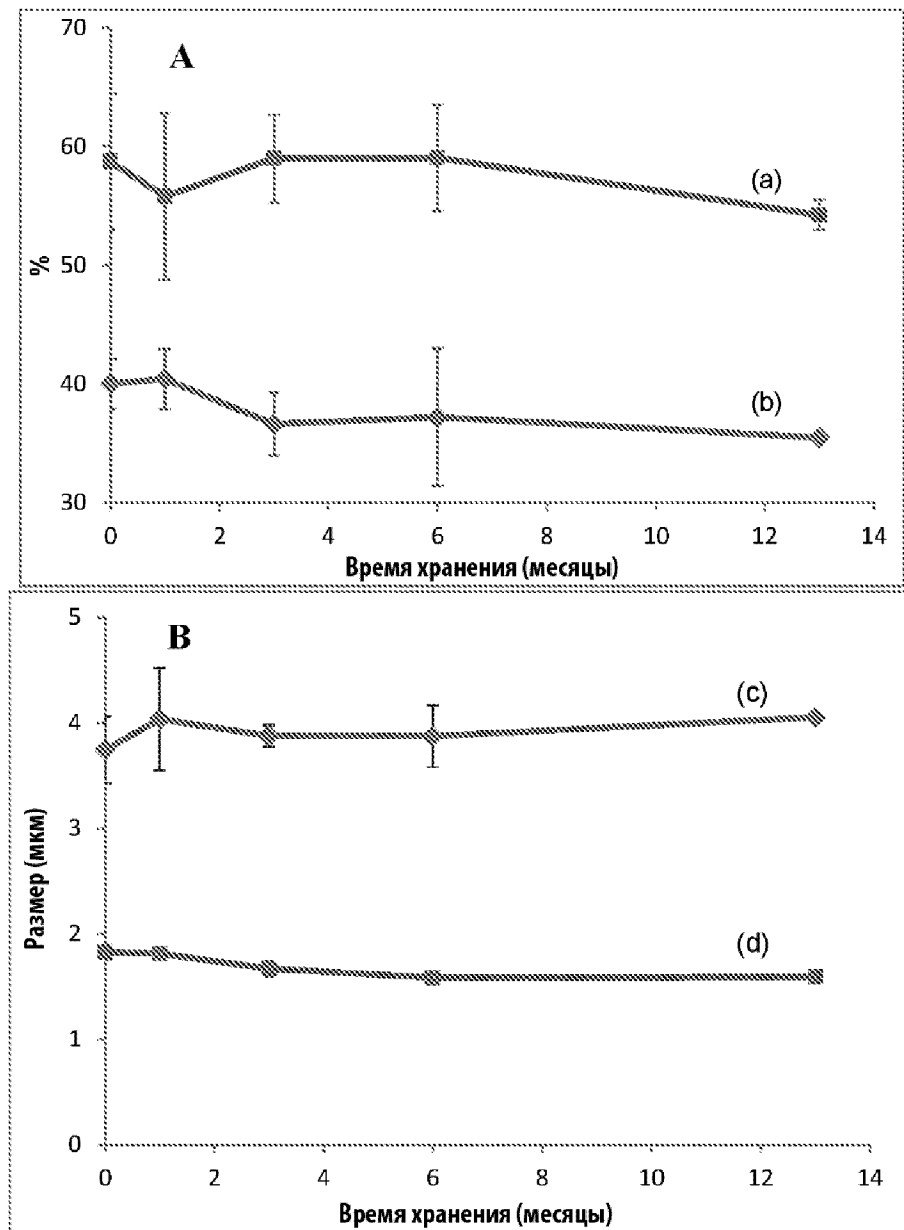
Фиг. 11



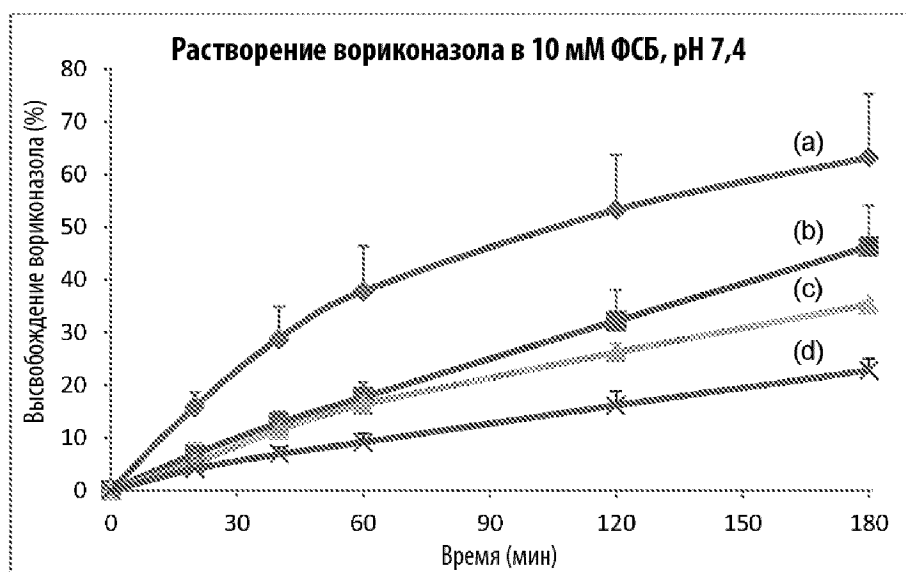
Фиг. 12



Фиг. 13А-13В



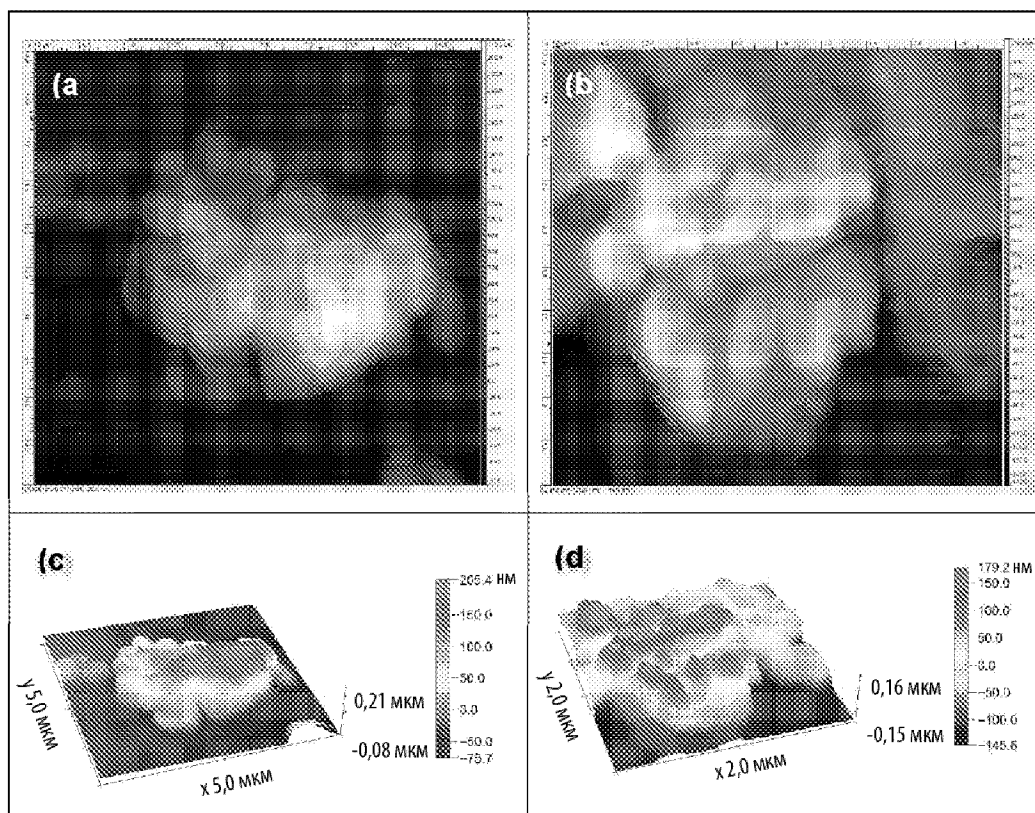
Фиг. 14А-14В



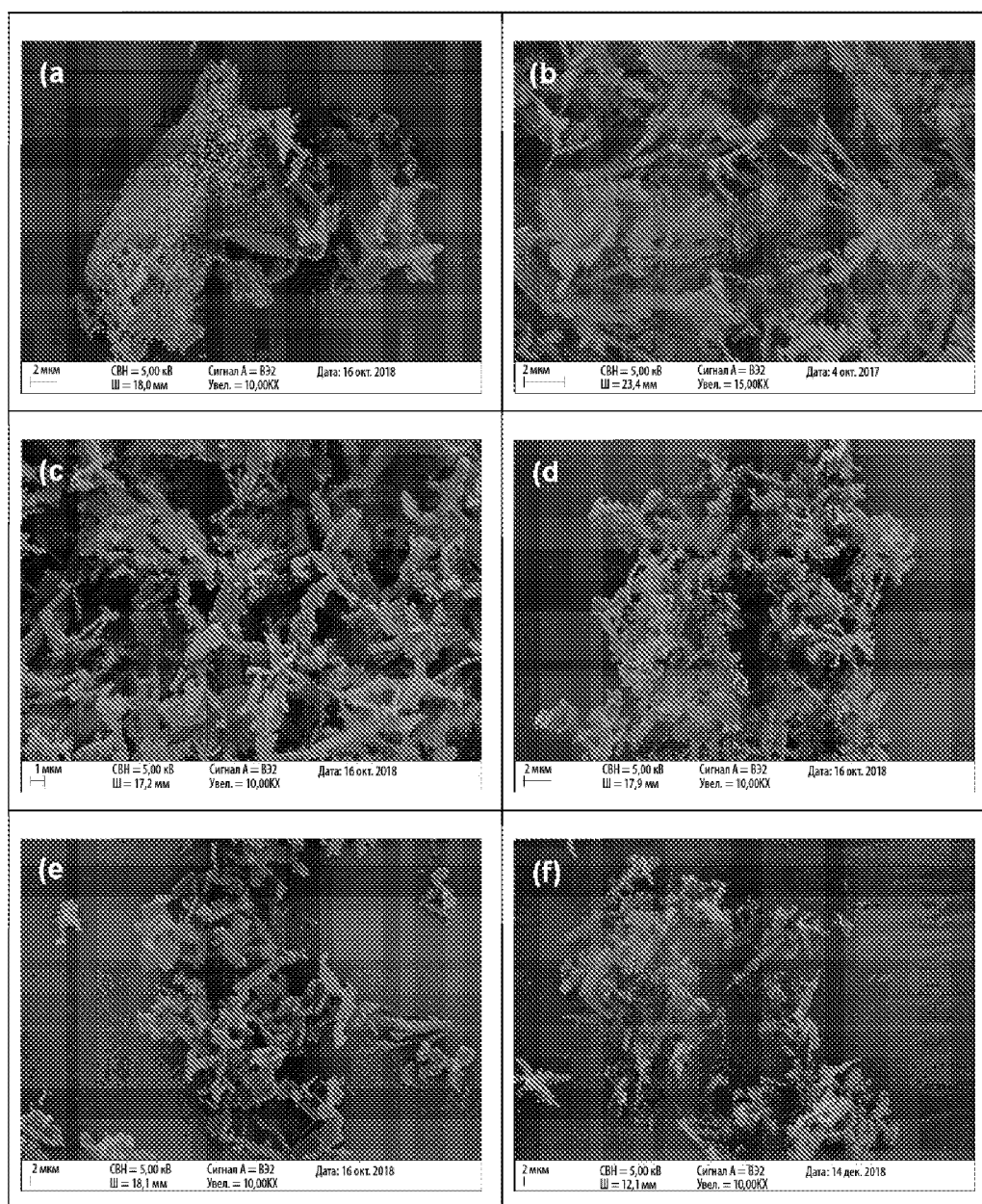
Фиг. 15

Состав	0 с	1/60 с	1/30 с	1/15 с	1/10 с	1/5 с
№ 2 (1%, -60 °C)						
№ 7 (3%, -60 °C)						
№ 4 (1%, -150 °C)						
№ 6 (3%, -150 °C)						

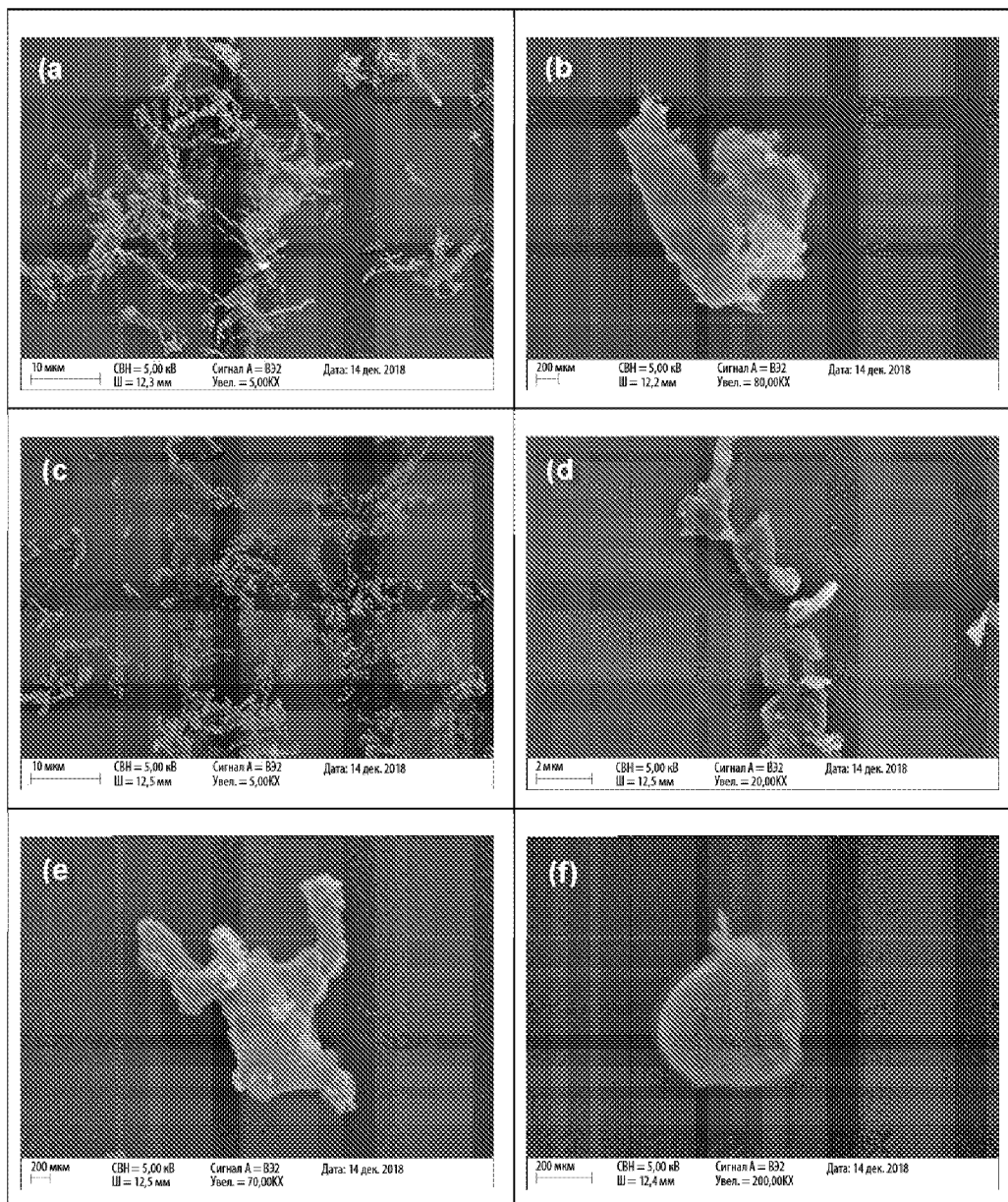
Фиг. 16



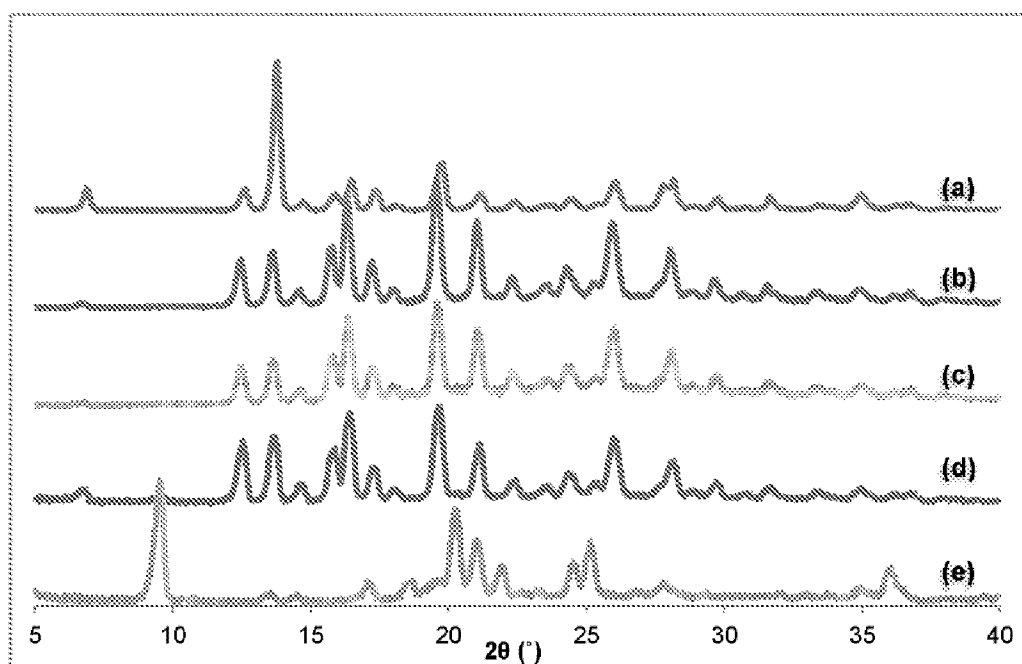
Фиг. 17А-17D



Фиг. 18А-18F



Фиг. 19А-19F



Фиг. 20