



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0011344
(43) 공개일자 2012년02월08일

(51) Int. Cl.

A61K 9/14 (2006.01) A61K 9/22 (2006.01)
A61K 31/57 (2006.01) C08J 3/12 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0070407

(22) 출원일자 2010년07월21일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

에스케이케미칼주식회사

경기도 성남시 분당구 삼평동 686

이화여자대학교 산학협력단

서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교내

(72) 발명자

사홍기

서울특별시 양천구 목동로 212, 712동 503호 (목동, 목동신시가자아파트7단지)

이봉용

서울특별시 서초구 남부순환로 2183, 201동 2013호 (방배동, 방배래미안타워)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이희숙, 김석만

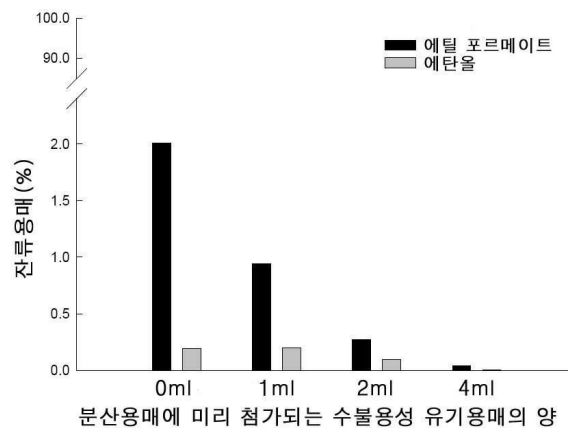
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 고분자 미립구의 제조방법 및 그 방법에 의해 제조된 고분자 미립구

(57) 요약

본 발명은 고분자 미립구의 제조방법 및 그 방법에 의해 제조된 고분자 미립구에 관한 것으로, 구체적으로는 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계, 고분자 화합물, 약물 및 상기 수불용성 유기용매와 동일한 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계, 분산상을 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 유제를 제조하는 단계 및 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법, 그 방법에 의해 제조된 고분자 미립구 및 상기 고분자 미립구를 포함하는 약물 전달용 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 수불용성 유기용매를 염기 또는 산을 이용하여 유제에서 제거하는 새로운 고분자 미립구의 제조방법, 상기 제조방법에 따라 제조된 고분자 미립구 및 상기 고분자 미립구를 포함하는 약물 전달용 조성물을 제공한다. 따라서 본 발명의 제조방법은 기존의 용매증발 또는 용매추출 공정과는 달리, 적은 양의 물을 사용하여 폐수 발생을 최소화하면서 빠른 시간 내에 간편하게 목적하는 약물 함유 고분자 미립구를 제조하는 데에 사용할 수 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

엄기안

경기도 수원시 장안구 조원동 한일타운 138동 601호

오준교

경기도 수원시 장안구 조원동 한일타운 153-1704

황용연

경기도 수원시 장안구 경수대로994번길 46, 101동 906호 (송죽동, 희훈루체펠리스아파트)

김홍기

경기도 군포시 산본동 삼성장미아파트 1140동 703호

이규호

경기도 수원시 장안구 하물로1번길 22-8, 402호 (천천동)

홍석현

서울특별시 서초구 서초대로4길 72, 202호 (방배동)

이윤정

경기도 용인시 기흥구 관곡로 53, 가현마을 601동 203호 (구갈동)

특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계;
- (b) 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계;
- (c) 상기 (b)단계의 분산상을 상기 (a)단계의 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계; 및
- (d) 상기 (c)단계에서 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 2

- (a) 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계;
- (b) 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계;
- (c) 상기 (b)단계의 분산상을 상기 (a)단계의 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계;
- (d) 상기 (c)단계에서 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계; 및
- (e) 상기 (d) 단계에서 제조한 수불용성 유기용매가 제거된 고분자 미립구를 수득하여 가온된 분산용매에 재분산하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 (b) 단계의 수불용성 유기용매는 상기 (a) 단계의 수불용성 유기용매와 동일한 것임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 (c) 단계는 (b)단계의 분산상과 (a)단계의 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매의 비가 1 : 3 내지 100인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 (c) 단계는 (b)단계의 분산상과 (a)단계의 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매의 비가 1 : 4 내지 20인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 6

제2항에 있어서, 상기 (e) 단계의 가온된 분산용매의 온도는 20℃ 내지 80℃인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 7

제2항에 있어서, 상기 (e) 단계의 가온된 분산용매의 온도는 30℃ 내지 50℃인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 (c) 단계 및 (d) 단계의 유체의 온도는 0℃ 내지 35℃인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구 제조방법.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 고분자 화합물은 폴리락트산, 폴리락타이드, 폴리락틱-코-글리콜산, 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA), 폴리포스파진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르, 폴리안하이드라이드, 폴리오르쏘에스테르, 락트산과 카프로락톤의 공중합체, 폴리카프로락톤, 폴리하이드록시발레이트, 폴리하이드록시부티레이트, 폴리아미노산, 락트산과 아미노산의 공중합체 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 고분자 화합물은 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA)인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 약물은 프로게스테론(progesterone) 할로페리돌(haloperidol), 티오티센(thiothixene), 올란자핀(olanzapine), 클로자핀(clozapine), 브로페리돌(bromperidol), 피모자이드(pimozide), 리스페리돈(risperidone), 지프라시돈(ziprasidone), 디아제프마(diazepam), 에틸 로플라제페이트(ethyl loflazepate), 알프라졸람(alprazolam), 네모나프라이드(nemonapride), 플루옥세틴(fluxoxetine), 세르트랄린(sertraline), 베날라팍신(venlafaxine), 도네페질(donepezil), 타크린(tacrine), 갈란타민(galantamine), 리바스티그민(rivastigmine), 셀레길린(selegiline), 로피니롤(ropinirole), 페르골리드(pergolide), 트리헥시페니딜(trihexyphenidyl), 브로모크립틴(bromocriptine), 벤즈트로핀(benzotropine), 콜치킨(colchicine), 노르다제팜(nordazepam), 에티졸람(etizolam), 브로마제팜(bromazepam), 클로티아제팜(clotiazepam), 멕사졸람(mexazolam), 부스피론(buspiron), 고세렐린 아세테이트(goserelin acetate), 소마토트로핀(somatotropin), 루프로리드 아세테이트(leuprolide acetate), 옥트레오티드(octreotide), 세트로렐릭스(cetrorelix), 산도스타틴 아세테이트(sandostatin acetate), 고나도트로핀(gonadotropin), 플루코나졸(fluconazole), 이트라코나졸(itraconazole), 미조리빈(mizoribine), 사이클로스포린(cyclosporin), 타크롤리무스(tacrolimus), 날록손(naloxone), 날트렉손(naltrexone), 클라드리빈(cladribine), 클람부실(chlorambucil), 트레티노인(tretinoin), 카르무시틴(carmustine), 아나그렐리드(anagrelide), 독소루비신(doxorubicin), 아나스트로졸(anastrozole), 이다루비신(idarubicin), 시스플라틴(cisplatin), 닥티노마이신(dactinomycin), 도세탁셀(docetaxel), 파클리탁셀(paclitaxel), 랄티트렉세드(raltitrexed), 에피루비신(epirubicin), 레트로졸(letrozole), 메플로퀸(mefloquine), 프리마퀸(primaquine), 옥시부티닌(oxybutynin), 톨테로딘(tolterodine), 알릴에스트레놀(allylestrenol), 로보스타틴(lovostatin), 심바스타틴(simvastatin), 프로바스타틴(provastatin), 아트로바스타틴(atrovastatin), 알렌드로네이트(alendronate), 살카토닌(salcatonin), 랄록시펜(raloxifene), 옥사드롤론(oxadrolone), 콘쥬게이트드 에스트로겐(conjugated estrogen), 에스트라디올(estradiol), 에스트라디올 발러레이트(estradiol valerate), 에스트라디올 벤조에이트(estradiol benzoate), 에티닐 에스트라디올(ethinylestradiol), 에토노게스트렐(etonogestrel), 레보노르게스트렐(levonorgestrel), 티볼론(tibolone), 피록시캄(piroxicam) 및 노르에티스테론(norethisterone)로 이루어진 군에서 선택된 하나 또는 둘이상인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 수불용성 유기용매는 할로젠산(acid halogen), 안하이드라이드(anhydride), 포스포릭 안하이드라이드(phosphoric anhydride), 에스테르(ester), 카르복실 에스테르(carboxylic esters), 포스포릭 에스테르(phosphoric esters), 황산 에스테르, 질산 에스테르, 붕산 에스테르, 아마이드(amide) 및 카르복실 아마이드(carboxylic amides)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 구조를 가지는 수불용성 유기용매임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 수불용성 유기용매는 메틸 아세테이트(methyl acetate), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 프로필 아세테이트(propyl acetate), 이소프로필 아세테이트(isopropyl acetate), 부틸 아세테이트(butyl acetate), 메틸 포르메이트(methyl formate), 에틸 포르메이트(ethyl formate), 이소프로필 포르메이트(isopropyl formate), 프로필 포르메이트(propyl formate), 부틸 포르메이트(butyl formate), 메틸 다이클로로아세테이트(methyl dichloroacetate), 메틸 클로로아세테이트(methyl chloroacetate), 에틸 클로로아세테이트(ethyl chloroacetate), 에틸 다이클로로아세테이트(ethyl dichloroacetate), 메틸 플루로아세테이트(methyl fluoroacetate), 메틸 다이플루로아세테이트(methyl difluoroacetate), 에틸 플루로아세테이트(ethyl fluoroacetate), 에틸 다이플루로아세테이트(ethyl difluoroacetate), 말레익 안하이드라이드(maleic anhydride), 아세트 안하이드라이드(acetic anhydride), 프로피오닉 안하이드라이드(propionic anhydride), 포스포릭 안하이드라이드(phosphoric anhydride), 아세트아마이드(acetamide), 프로피온아마이드(propionamide), 부틸아마이드(butylamide) 및 카르복실 아마이드(carboxyl amide)로 이루어진 군에서 선택된 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 분산용매가 폴리비닐 알코올 수용액, 폴리소베이트 계열 수용액 또는 이의 공용매인 수성 분산용매이거나, 또는 글리세린지방산에스터(Glycerin Esters of Fatty Acids), 레시틴(lecithin)과 같은 유화제를 함유하는 실리콘 오일, 야채 기름, 톨루엔 및 자일렌으로 이루어진 군으로부터 선택된 비수성 분산용매임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 염기는 수산화나트륨(NaOH), 수산화리튬(LiOH), 수산화칼륨(KOH), 수산화암모늄(NH₄OH), 수산화구리(Cu(OH)₂), 및 수산화철(Fe(OH)₃)로 이루어진 군에서 선택된 것임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 산은 염산(HCl), 질산(HNO₃), 황산(H₂SO₄), 아세트산(CH₃COOH), 붕산(H₃BO₃) 및 탄산(H₂CO₃)으로 이루어진 군에서 선택된 것임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

청구항 17

제1항 또는 제2항의 방법에 의해 제조된 고분자 미립구.

청구항 18

제17항의 고분자 미립구를 유효성분으로 포함하는 약물 전달용 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 고분자 미립구의 제조방법 및 그 방법에 의해 제조된 고분자 미립구에 관한 것으로, 구체적으로는 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계, 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계, 분산상을 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 유제를 제조하는 단계 및 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법, 그 방법에 의해 제조된 고분자 미립구 및 상기 미립구를 포함하는 약물전달용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 수액제, 현탁제 및 유제와 같은 종래 주사제형들은 근육이나 피하 투여 후 재빨리 체내에서 제거되기 때문에 만성질환 치료시에는 빈번한 주사투여가 필수적이었다. 이러한 문제점을 해결하고자 고안된 마이크로캡슐화(microencapsulation)는 고분자 화합물로 구성된 미립구(microsphere, 이하의 서술에서 미립구는 초미립구(nanosphere)를 포함함) 제형에 약물을 봉입시키는 제조공정을 지칭하는데, 미립구는 보통 μm 단위의 크기를 지니므로 인체나 동물에 근육 또는 피하주사로 투여 가능하며, 다양한 약물 방출속도를 지니도록 제조할 수 있어 약물 전달기간을 제어할 수 있다. 그러므로 단 한 번의 투여만으로도 장시간 동안 유효한 치료약물농도를 유지할 수 있어 치료에 필요한 약물 총 투여량을 극소화시킬 수 있으며, 환자의 약물치료 순응도를 향상시킬 수 있어, 현재 우수한 전 세계 제약회사에서 약물 함유 고분자 미립구 제조에 지대한 관심을 보이고 있다.

[0003] 마이크로캡슐화를 통해 고분자 미립구를 제조하는 데에 폴리-D,L-락타이드-코-글리콜라이드(poly-D,L-lactide-co-glycolide, PLGA)가 고분자 화합물로서 가장 널리 사용된다. PLGA는 생체 내에서 가수분해되어 무독성의 락트산(lactic acid)과 글리콜산(glycolic acid)으로 변환되는 생체친화적인 고분자 화합물이다. 그러므로 제약 산업계는 PLGA를 사용한 의약품 제형의 개발에 많은 노력을 기울이고 있는데, 현재 시판되는 PLGA로 만든 미립구 제품의 예로서 리스퍼달 콘스타(Risperdal Consta), 산도스타틴(Sandostatin) LAR, 비비트롤(Vivitrol), 그리고 루프론 데포트(Lupron Depot) 등을 들 수 있다. 이들 각각은, 환자에게 1회 주사 투여되어 리스페리돈(risperidone), 옥트레오타이드 아세테이트(octreotide acetate), 나트렉손(naltrexone) 및 루프로라이드 아세테이트(leuprolide acetate)의 방출을 2주에서 4개월까지 조절한다.

[0004] 이러한 약물 함유 고분자 미립구는 메틸렌 클로라이드 및 에틸 아세테이트와 같은 유기용매를 사용하는 용매증발법 또는 용매추출법에 의해 통상적으로 제조된다.

[0005] 먼저, 용매증발법에 대하여 간략히 설명하자면(미국 특허 제6,471,996호, 제5,985,309호 및 제5,271,945호 참조), 고분자 화합물을 녹인 유기용매 상에 약물을 분산 또는 녹인 후, 물과 같은 분산매에 유화시켜 수중유형(O/W, oil-in-water) 유제를 제조한 다음, 유제에 있는 유기용매를 분산매로 확산시켜 공기/물 계면을 통하여 유기용매를 증발시킴으로써 약물 함유 고분자 미립구를 형성한다. 이때, 유기용매의 분산매로의 확산을 촉진하기 위하여 감압, 온도 상승, 과량의 물을 사용한 유기용매 추출 등의 기법을 활용한다. PLGA 고분자 화합물을 녹이기 위해 일반적으로 사용되는 분산유기용매는 메틸렌 클로라이드로서, 이 메틸렌 클로라이드가 다양한 분자량과 락타이드: 글리콜라이드 비를 지닌 PLGA 공중합체를 잘 녹일 수 있고, 물 용해도가 1.32 중량%로 낮아 물과 잘 섞이지 않으므로 수중유형 형태의 유제를 만들기에 적합하기 때문이다. 그리고 39.8°C의 낮은 끓는점(비점)에 기인하여 유제 액체방울로부터 물로 확산한 소량의 메틸렌 클로라이드 분자들이 물과 공기 계면을 통하여 잘 증발된다. 이러한 과정이 지속적으로 반복되면 유제방울로부터 메틸렌 클로라이드가 제거됨에 따라 미립구가 만들어진다. 마지막으로, 낮은 비점 덕분에 미립구에 존재하는 잔류 메틸렌 클로라이드를 건조하여 제거하는 것이 매우 손쉽다는 장점을 갖는다.

[0006] 이처럼, 메틸렌 클로라이드는 강한 휘발성을 지니고 물과 잘 섞이지 않으며 물 보다 훨씬 낮은 비점을 갖는 등, 유제를 만들기 위한 최적의 유기용매임에도 불구하고, 다음과 같은 심각한 문제점들을 갖는다: (a) 실험적으로 확인된 발암물질이다; (b) 대기의 오존층을 파괴시켜 환경독성을 야기하며, 이러한 결과로 인해 피부암 발생을 증가시킨다. (c) 미국 보건복지부 소속의 독성 물질 및 질병 담당 부서(Agency for Toxic Substances and

Disease Registry)에서 규정하고 있는 가장 위험한 38가지 독성 유해물질 중의 하나에 속한다. (d) 물용해도가 약 1.32 중량%로 낮아 사용된 총량의 메틸렌 클로라이드 중 극히 일부만이 물에 용해되어 증발되므로 유제방울에 있는 메틸렌 클로라이드가 완전히 제거되려면 상당한 시간이 소요된다. 예로서, 미국 특허 제6,884,435호에서는 유제로부터 메틸렌 클로라이드를 제거하기 위하여 밤새 유제를 교반하고 있으며, 미립구 제조시간을 단축하기 위해 반응조(reactor)의 온도를 상승시키거나 또는 감압조건을 도입하기도 한다(미국 특허 제3,691,090호, 제3,891,570호, 제6,270,700호 및 제6,572,894호 참조).

[0007] 한편, 약물 함유 고분자 미립구의 제조에 사용되는 용매추출법은 유제방울에 있는 유기용매를 대량의 가용화 용매를 사용하여 효과적으로 추출하는 방법이다. 유기용매가 유제방울로부터 추출되면, 녹아있던 고분자 화합물이 경화되어 유제방울이 미립구로 전환된다. 일반적으로 사용되는 가용화 용매는 물인데, 유기용매의 물 용해도 정도가 필요로 되는 물의 양에 큰 영향을 미친다. 예를 들면, 메틸렌 클로라이드의 경우 물용해도가 1.32 중량%이므로 매우 많은 양의 물을 사용해야만 유제에 있는 메틸렌 클로라이드를 추출할 수가 있다. 하지만, 이 경우 메틸렌 클로라이드를 함유하는 폐수가 다량 생성되어 이러한 폐수의 처리가 또한 문제가 되므로, 용매추출법에는 메틸렌 클로라이드에 비하여 물용해도가 높은 에틸 아세테이트가 주로 사용된다. 에틸 아세테이트는 물용해도가 8.7 중량%에 달하여 메틸렌 클로라이드에 비하여 상대적으로 적은 양의 물로도 추출이 가능하며, 또한 비할로겐화 유기용매라는 장점을 갖는다. 하지만, 에틸 아세테이트의 비점은 77℃로서 메틸렌 클로라이드의 비점인 39.8℃보다 훨씬 높아 건조시 잔류용매를 제거하는 것이 상대적으로 힘들다는 단점을 갖는다. 또한, 특정 분자량과 락타이드: 글리콜라이드 비를 지닌 PLGA 고분자 화합물이 에틸 아세테이트에 잘 녹지 않는 물성을 나타낸다.

[0008] 이에, 미국 특허 제4,389,840호, 제4,530,840호, 제6,544,559호, 제6,368,632호 및 제6,572,894호 등은 용매증발법과 용매추출법을 동시에 활용하는 기술을 개시한다. 즉, 유제를 만든 후 일부 유기용매는 증발과정을 통하여 제거하고 잔존하는 유기용매는 용매추출법을 사용하여 제거한다. 예를 들면, 미국 특허 제4,389,840호의 경우, 약물과 PLGA 고분자 화합물을 메틸렌 클로라이드에 녹인 후 물에 유화시켜 수중유형 유제를 제조한 다음, 40 내지 60 중량%의 메틸렌 클로라이드를 증발과정을 통해 제거하고 잔존하는 메틸렌 클로라이드를 다량의 물로 추출함으로써 미립구를 제조하는 방법을 개시하고 있다.

[0009] 그러나 이들 기존의 방법은 모두 사용된 유기용매의 물용해도가 충분히 높지 않기 때문에 아주 과량의 물(유기용매의 물용해도 $\times$ 10배 이상)을 사용해야 한다. 따라서 이를 위해 매우 큰 용량의 반응조가 필요하고, 유기용매를 함유하는 폐수가 다량 생성되어 폐수 처리를 위한 부대비용이 증가하는 비효율성 문제에 직면하게 된다. 또한, 미립구 내에 잔존하는 유기용매를 효과적으로 제거하기도 어렵다는 문제점을 갖는다.

[0010] 본 발명자들은 대한민국 등록특허 제10-0918092호에서는 암모니아 용액을 첨가하여 수불용성 유기용매를 수용성 유기용매로 변환시키는 단계를 포함하는 약물함유 고분자 미립구 제조방법을 개시하였다. 상기 방법에 의하여 폐수 발생을 최소화하면서 간편하고 신속하게 고분자 미립구를 제조할 수 있다. 그러나 이러한 방법에 의하는 경우에도 고분자 미립구 내의 잔존 유기용매의 양이 1% 이상을 차지하고 있는 문제가 있다.

[0011] 미립구에 현저한 양의 유기용매가 잔류하는 경우 건조 도중 발생하는 미립구간의 응집 현상이 두드러진다. 그러므로 건조 후 미립구가 개별적으로 분산되지 않아 주사과정에 문제가 발생할 소지가 커지고, 약물방출 재현성이 떨어지며, 또한 잔류용매 양이 허가 한계치를 초과하여 규제당국으로부터 제품허가를 받기가 어려워지는 문제점이 발생한다.

[0012] 따라서 고분자 미립구 내의 잔존 유기용매를 극소화 할 수 있는 새로운 제조방법의 개발이 시급한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 이에 본 발명자들은 수불용성 유기용매를 산이나 염기를 이용하여 제거하는 고분자 미립구 제조방법에 있어서 제조된 고분자 미립구의 잔류 유기용매의 양을 줄이는 방법에 관하여 연구하던 중 분산상 제조에 사용되는 수불

용성 유기용매를 분산용매에 미리 추가하는 경우 제조된 고분자 미립구의 잔류 유기용매의 농도가 더욱 줄어드는 것을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

[0014] 따라서 본 발명의 목적은 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계; 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계; 상기 분산상을 상기 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계; 및 상기 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0015] 또한 본 발명의 다른 목적은 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계; 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계; 상기 분산상을 상기 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계; 상기 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계; 및 제조한 수불용성 유기용매가 제거된 고분자 미립구를 수득하여 가온된 분산용매에 재분산하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 다른 목적은 상기 방법에 의해 제조된 고분자 미립구를 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명의 다른 목적은 상기 방법에 의해 제조된 고분자 미립구를 유효성분으로 포함하는 약물 전달용 조성물을 제공하는 것이다.

파제의 해결 수단

[0018] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계; 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계; 상기 분산상을 상기 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계; 및 상기 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법을 제공한다.

[0019] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계; 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계; 상기 분산상을 상기 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계; 상기 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계; 및 제조한 수불용성 유기용매가 제거된 고분자 미립구를 수득하여 가온된 분산용매에 재분산하는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법을 제공한다.

[0020] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기의 방법에 의해 제조된 고분자 미립구를 제공한다.

[0021] 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 고분자 미립구를 유효성분으로 포함하는 약물 전달용 조성물을 제공한다.

[0022] 이하 본 발명의 내용을 보다 상세히 설명하기로 한다.

- [0023] 본 발명의 고분자 미립구 제조방법은
- [0024] (a) 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계;
- [0025] (b) 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계;
- [0026] (c) 상기 (b)단계의 분산상을 상기 (a)단계의 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계; 및
- [0027] (d) 상기 (c)단계에서 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계
- [0028] 를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0029] 본 발명의 고분자 미립구 제조방법을 단계별로 나누어 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0030] (a) 단계에서는 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합한다.
- [0031] 본 발명의 수불용성 유기용매는 당업계에 공지되어 있는 고분자 미립구의 제조를 위하여 사용되는 고분자 화합물을 녹일 수 있으며, 산이나 염기에 의해 가수분해되며, 가수분해 산물이 모두 물에 잘 녹는 성분이면 제한 없이 사용될 수 있다. 일반적으로 아미드(amide), 에스테르(ester), 안하이드라이드(anhydride) 및 할로젠 산(halogen acid) 구조를 가진 화합물은 산/염기에 의해 가수분해 되는 것으로 잘 알려져 있다. 안하이드라이드 구조를 가진 화합물은 가수분해 반응을 거쳐 수용성인 카르복시산이 생성되며, 에스테르 구조를 가진 화합물은 수용성인 카르복시산과 알코올로 가수분해된다. 할로젠산 구조를 가진 화합물은 수용성인 카르복시산과 할로젠산(HF, HCl, HBr, HI 등)으로 가수분해된다. 아미드 구조를 가진 화합물의 경우 카르복시산과 아민으로 가수분해되므로 이때 생성되는 아민이 물에 용해되는 산물인 경우 상기 아미드는 본 발명의 수불용성 유기용매에 포함된다.
- [0032] 본 발명에서의 수불용성 유기용매는 할로젠산(acid halogen) 구조를 지닌 화합물, 안하이드라이드(anhydride) 구조를 지닌 화합물, 포스포릭 안하이드라이드(phosphoric anhydride) 화합물, 에스테르 구조를 지닌 화합물, 카르복실 에스테르(carboxylic esters) 화합물, 포스포릭 에스테르(phosphoric esters) 화합물, 황산 에스테르 화합물, 질산 에스테르 화합물, 붕산 에스테르 화합물, 아미드(amide) 구조를 지닌 화합물 및 카르복실 아미드(carboxylic amides) 화합물일 수 있으며, 바람직하게는 메틸 아세테이트(methyl acetate), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 프로필 아세테이트(propyl acetate), 이소프로필 아세테이트(isopropyl acetate), 부틸 아세테이트(butyl acetate), 메틸 포르메이트(methyl formate), 에틸 포르메이트(ethyl formate), 이소프로필 포르메이트(isopropyl formate), 프로필 포르메이트(propyl formate), 부틸 포르메이트(butyl formate), 메틸 다이클로로아세테이트(methyl dichloroacetate), 메틸 클로로아세테이트(methyl chloroacetate), 에틸 클로로아세테이트(ethyl chloroacetate), 에틸 다이클로로아세테이트(ethyl dichloroacetate), 메틸 플루로아세테이트(methyl fluoroacetate), 메틸 다이플루로아세테이트(methyl difluoroacetate), 에틸 플루로아세테이트(ethyl fluoroacetate), 에틸 다이플루로아세테이트(ethyl difluoroacetate), 말레익 안하이드라이드(maleic anhydride), 아세트 안하이드라이드(acetic anhydride), 프로피오닉 안하이드라이드(propionic anhydride), 포스포릭 안하이드라이드(phosphoric anhydride), 아세트아마이드(acetamide), 프로피온아마이드(propionamide), 부틸아마이드(butylamide) 및 카르복실 아마이드(carboxyl amide) 일 수 있다.
- [0033] 더 바람직하게는 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 메틸 아세테이트(methyl acetate), 메틸 포르메이트(methyl formate), 에틸 포르메이트(ethyl formate), 이소프로필 포르메이트(isopropyl formate), 프로필 포르메이트(propyl formate), 아세트 안하이드라이드(acetic anhydride) 또는 프로피오닉 안하이드라이드(propionic anhydride) 일 수 있다.
- [0034] 본 발명에 사용되는 분산용매는 유화제를 함유하는 수성 분산용매 또는 비수성 분산용매를 포함하며, O/W형 및 W/O/W형 유제 제조시에는 수성 분산용매가, O/O형 유제 제조시에는 비수성 분산용매가 사용될 수 있다. 수성 분산용매로는 친수성 유화제, 예를 들어 폴리비닐 알코올 및 폴리소베이트(Polysorbate) 계열(예를 들면 폴리소베

이트 20, 폴리소베이트 60, 폴리소베이트 65, 폴리소베이트 80, 폴리소베이트 85)과 같은 유화제를 함유하는 수용액 또는 이의 공용매를 사용할 수 있다. 비수성 분산용매로는 친유성 유화제, 예를 들어 글리세린지방산에스터(Glycerin Esters of Fatty Acids), 레시틴(lecithin)과 같은 유화제를 함유하는 실리콘 오일, 야채 기름, 톨루엔 또는 자일렌을 사용할 수 있다. 상기 분산용매에 함유되어 있는 유화제의 농도는 0.05 내지 15 %(w/v)일 수 있다.

[0035] 상기 분산용매에 혼합되는 수불용성 유기용매의 양은 고분자 미립구 제조에 사용되는 고분자 화합물의 종류, 봉입되는 약물의 종류 및 분산용매의 종류에 따라 달라질 수 있으며 바람직하게는 수불용성 유기용매의 수용해도(water solubility) 이하로 첨가될 수 있다. 지나치게 적은 양을 섞는 경우 고분자 미립구 표면 구조가 다공성이 되어 약물의 초기 방출양이 증가하며, 수용해도 이상 첨가하는 경우 유기용매 제거가 어려워 잔류 유기용매의 농도가 증가된다.

[0036] (b) 단계에서는 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만든다.

[0037] 본 발명의 ‘분산상’은 고분자 화합물 및 약물이 수불용성 유기용매에 녹아 혼합되어 있는 것을 말한다.

[0038] (b) 단계의 수불용성 유기용매의 예는 상기 (a) 단계에 전술한 바와 같다.

[0039] (b) 단계의 수불용성 유기용매는 바람직하게는 상기 (a) 단계에서 사용된 것과 동일한 종류의 유기용매일 수 있으며, 필요에 따라, 수불용성 유기용매는 1종 이상의 다른 유기용매가 혼합된 공용매를 사용함으로써 미립구에 봉입하고자 하는 약물의 용해도를 조절하거나 유제방울의 경화속도를 원하는 바에 따라 제어할 수 있다.

[0040] 본 발명의 제조방법에 사용되는 고분자 화합물은 당업계에 공지되어 있는 고분자 화합물이라면 제한 없이 사용할 수 있으나, 바람직하게는 폴리락트산, 폴리락타이드, 폴리락틱-코-글리콜산, 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA), 폴리포스포진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르, 폴리안하이드라이드, 폴리오르쏘에스테르, 락트산과 카프로락톤의 공중합체, 폴리카프로락톤, 폴리하이드록시발레이트, 폴리하이드록시부티레이트, 폴리아미노산, 락트산과 아미노산의 공중합체 및 이들의 혼합물일 수 있으며 더욱 바람직하게는 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA)일 수 있다.

[0041] 또한 바람직하게는 본 발명의 제조방법에 사용되는 고분자 화합물은 말단이 산 또는 염기에 의한 가수분해가 일어나지 않도록 처리된 고분자 화합물일 수 있으며, 예를 들어 말단이 에스테르화 된 PLGA, 에스테르화 된 PCL(폴리카프로락톤), 에스테르화 된 폴리안하이드라이드일 수 있다.

[0042] 본 발명의 제조방법에 사용되는 약물은 친수성 약물과 소수성 약물을 모두 포함하며, 고분자 미립구에 봉입될 수 있으면 제한 없이 사용할 수 있으며 바람직하게는 프로게스테론(progesterone) 할로페리돌(haloperidol), 티오티센(thiothixene), 올란자핀(olanzapine), 클로자핀(clozapine), 브로페리돌(bromperidol), 피모자이드(pimozide), 리스페리돈(risperidone), 지프라시돈(ziprasidone), 디아제프마(diazepam), 에틸 로플라제페이트(ethyl loflazepate), 알프라졸람(alprazolam), 네모나프라이드(nemonapride), 플루옥세틴(flouxetine), 세르트랄린(sertraline), 베날라팍신(venlafaxine), 도네페질(donepezil), 타크린(tacrine), 갈란타민(galantamine), 리바스티그민(rivastigmine), 셀레길린(selegiline), 로피니롤(ropinirole), 페르골리드(pergolide), 트리헥시페니딜(trihexyphenidyl), 브로모크립틴(bromocriptine), 벤즈트로핀(benzotropine), 콜치킨(colchicine), 노르다제팜(nordazepam), 에티졸람(etizolam), 브로마제팜(bromazepam), 클로티아제팜(clotiazepam), 맥사졸람(mexazolam), 부스피론(buspirone), 고세렐린 아세테이트(goserelin acetate), 소마트로핀(somatotropin), 루프롤리드 아세테이트(leuprolide acetate), 옥트레오티드(octreotide), 세트로렐릭스(cetrorelix), 산도스타틴 아세테이트(sandostatin acetate), 고나도트로핀(gonadotropin), 플루코나졸(fluconazole), 이트라코나졸(itraconazole), 미조리빈(mizoribine), 사이클로스포린(cyclosporin), 타크롤리무스(tacrolimus), 날록손(naloxone), 날트렉손(naltrexone), 클라드리빈(cladribine), 클람부실(chlorambucil), 트레티노인(tretinoin), 카르무시틴(carmustine), 아나그렐리드(anagrelide), 독소루비신(doxorubicin), 아나스트로졸(anastrozole), 이다루비신(idarubicin), 시스플라틴(cisplatin), 닥티노마이신(dactinomycin), 도세탁셀(docetaxel), 파클리탁셀(paclitaxel), 랄티트렉세드(raltitrexed), 에피루비신(epirubicin), 레트로졸(letrozole), 메플로퀸(mefloquine), 프리마퀸(primaquine), 옥시부티닌(oxybutynin),

톨테로딘(tolterodine), 알릴에스트레놀(allylestrenol), 로보스타틴(lovostatin), 심바스타틴(simvastatin), 프로바스타틴(provastatin), 아트로바스타틴(atorvastatin), 알렌드로네이트(alendronate), 살카토닌(salcatonin), 랄록시펜(raloxifene), 옥사드롤론(oxadrolone), 콘쥬게이트드 에스트로겐(conjugated estrogen), 에스트라디올(estradiol), 에스트라디올 발러레이트(estradiol valerate), 에스트라디올 벤조에이트(estradiol benzoate), 에티닐 에스트라디올(ethinylestradiol), 에토노게스트렐(etonogestrel), 레보노르게스트렐(levonorgestrel), 티볼론(tibolone), 피록시캄(piroxicam) 및 노르에티스테론(norethisterone)일 수 있으며, 단백질, 핵산 등과 같은 고분자 물질일 수도 있다.

[0043] 상기 고분자 화합물은 약물 1 중량부를 기준으로 1 내지 500 중량부, 바람직하게는 1 내지 50 중량부의 양으로 사용할 수 있다.

[0044] (c)단계에서는 상기 (b)단계의 분산상을 상기 (a)단계의 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조한다.

[0045] 유제의 제조는 O/W(oil-in-water)형 유제의 제조를 위하여서는 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만들고, 이를 수불용성 유기용매가 첨가된 분산용매에 혼합하여 제조할 수 있으며, O/O(oil in oil)형 유제의 제조를 위해서는 고분자 화합물, 약물 및 유기용매를 혼합하여 분산상을 만들고, 이를 앞서 사용한 유기용매와 혼합되지 않는 유기용매를 사용한 분산용매에 혼합하여 제조할 수 있으며, W/O/W(water-in-oil-in-water)형 유제의 제조를 위해서는 약물이 녹아있는 수용액을 고분자 화합물이 녹아 있는 수불용성 유기용매에 유화시켜 W/O(water-in-oil)형 유제를 만든 후 이를 다시 수불용성 유기용매가 첨가된 분산용매에 혼합하여 W/O/W(water-in-oil-in-water)형 유제를 제조할 수 있다.

[0046] (c) 단계에서 혼합되는 분산상과, 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매의 부피비는 바람직하게는 1 : 3 내지 100일 수 있으며 가장 바람직하게는 1 : 4 내지 20 일 수 있다.

[0047] 분산용매의 비율이 상기 범위보다 작으면 에멀전 형성이 잘 일어나지 않으며, 상기 범위보다 크면 폐용액이 지나치게 증가하는 문제가 있다.

[0048] (d) 단계에서는 상기 (c)단계에서 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거한다.

[0049] 본 발명에서 염기 또는 산 용액을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계는 바람직하게는 가수분해 반응에 의하여 이루어진다. 가수분해 반응은 물이 첨가되어 2가지 물질로 분해되는 반응으로 에스테르 구조를 가진 화합물의 경우에는 카르복시산과 알코올로 가수분해되며, 안하이드라이드 구조를 가진 화합물의 경우에는 카르복시산으로 가수분해되며, 아마이드 구조를 가진 화합물의 경우에는 카르복시산과 아민으로 가수분해되며, 할로젠산 구조를 가진 화합물의 경우에는 카르복시산과 할로젠산(HF, HCl, HBr, HI 등)으로 가수분해되는 반응을 말한다. 이를 통해 하나의 층(예를 들어, 수층(water phase))에 소량으로 확산되어 있는(또는 녹아 있는) 상기 수불용성 유기용매를 물에 완전히 용해되는 수용성 유기용매로 변환시키고, 변환된 만큼 수불용성 유기용매가 수층으로 확산될 수 있도록 한다. 이러한 과정이 계속적으로 진행되어 유제 내에 수불용성 유기용매가 제거되어 유제방울을 미립구로 경화시킴으로써 목적하는 약물 함유 고분자 미립구를 제조할 수 있다. 상기에서 유제 내에서의 수불용성 유기용매의 제거는 수불용성 유기용매를 완전히 또는 실질적으로(검출되지 않는 수준으로) 없애는 것뿐만 아니라, 수불용성 유기용매를 산 또는 염기 투입전의 초기 수준에 비해 감소시키는 것을 포함한다. 이 때, 유제방울의 빠른 경화에 기인하여 유제방울 입자간의 상호작용이 억제되어 응집 없이 목적하는 고분자 미립구를 얻을 수 있다. 이 때, 산은 상기 반응을 촉매하고 염기는 반응에 소모되며 일단 첨가되면 그 양이 수불용성 유기용매에 비해 적거나 많아도 상기 반응이 일어나는 데에는 크게 지장이 없다. 다만, 너무 많은 물수의 산 또는 염기를 첨가하면 약물과 고분자 화합물의 안정성에 문제가 있을 수 있어 적절한 양을 고려해야 한다.

- [0050] 바람직하게는 염기 용액은 수불용성 유기용매의 물 수와 염기 용액의 물 수 비가 1:0.1 내지 10 이 되도록 첨가될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 1:0.2 내지 5, 더 더욱 바람직하게는 1:0.3 내지 3, 가장 바람직하게는 1:0.5 내지 1.5가 되도록 첨가될 수 있다.
- [0051] 상기 (c) 단계 및 (d) 단계의 유제의 온도는 고분자 화합물, 약물, 수불용성 유기용매, 염기 또는 산의 종류에 따라 달라질 수 있으나 바람직하게는 0℃ 내지 35℃일 수 있다.
- [0052] 유제의 온도가 35℃를 초과하는 경우 약물, 고분자 화합물, 염기 또는 산의 종류에 따라 약물 및 고분자 화합물의 분해가 일어날 수 있으며, 0℃미만으로 내려가는 경우 수용성 분산용매가 얼게 되므로 유제 형성이 잘 되지 않을 수 있다.
- [0053] 염기는 바람직하게는 수산화나트륨(NaOH), 수산화리튬(LiOH), 수산화칼륨(KOH), 수산화암모늄(NH₄OH), 수산화구리(Cu(OH)₂), 및 수산화철(Fe(OH)₃)일 수 있으며, 산은 바람직하게는 염산(HCl), 질산(HNO₃), 황산(H₂SO₄), 아세트산(CH₃COOH), 붕산(H₃BO₃) 및 탄산(H₂CO₃)일 수 있다.
- [0054] 이와 같이, 본 발명의 방법에 의하면, 기존의 용매증발 또는 용매추출 공정을 필요로 하지 않고, 적은 양의 물을 사용하여 폐수 발생을 최소화하면서 빠른 시간 내에 간편하게 약물 함유 고분자 미립구를 제조할 수 있다. 또한 본 발명의 고분자 미립구 제조방법에 의하면 고분자 미립구 내의 잔류 유기용매 농도가 낮은 고분자 미립구를 제조할 수 있다.
- [0055] 한편 본 발명은 (a) 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계;
- [0056] (b) 고분자 화합물, 약물 및 수불용성 유기용매를 혼합하여 분산상을 만드는 단계;
- [0057] (c) 상기 (b)단계의 분산상을 상기 (a)단계의 수불용성 유기용매가 혼합된 분산용매에 혼합하여 O/W(oil-in-water)형, O/O(oil-in-oil)형 또는 W/O/W(water-in oil-in-water)형 유제를 제조하는 단계;
- [0058] (d) 상기 (c)단계에서 제조한 유제에 염기 또는 산을 첨가하여 유제에서 수불용성 유기용매를 제거하는 단계;
- [0059] (e) 상기 (d) 단계에서 제조한 수불용성 유기용매가 제거된 고분자 미립구를 수득하여 가온된 분산용매에 재분산하는 단계
- [0060] 를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법을 제공한다.
- [0061] 본 발명의 고분자 미립구 제조방법을 단계별로 나누어 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [0062] (a) 단계 내지 (d) 단계는 전술한 바와 같다.
- [0063] (e) 단계에서는 상기 (d) 단계에서 제조한 수불용성 유기용매가 제거된 고분자 미립구를 수득하여 가온된 분산용매에 재분산한다.
- [0064] 본 발명의 재분산과정에 사용되는 분산용매는 유화제를 함유하는 수성 분산용매 또는 비수성 분산용매를 포함하며, O/W형 및 W/O/W형 유제 제조시에는 수성 분산용매가, O/O형 유제 제조시에는 비수성 재분산용매가 사용될 수 있다. 수성 분산용매로는 친수성 유화제, 예를 들어 폴리비닐 알코올 및 폴리소베이트(Polysorbate) 계열(예를 들면 폴리소베이트 20, 폴리소베이트 60, 폴리소베이트 65, 폴리소베이트 80, 폴리소베이트 85)과 같은 유화제를 함유하는 수용액 또는 이의 공용매를 사용할 수 있다. 비수성 분산용매로는 친유성 유화제, 예를 들어 글리세린지방산에스터(Glycerin Esters of Fatty Acids), 레시틴(lecithin)과 같은 유화제를 함유하는 실리콘 오일, 야채 기름, 톨루엔 또는 자일렌을 사용할 수 있다. 상기 분산용매에 함유되어 있는 유화제의 농도는 0.05 내지 15%(w/v)일 수 있다.

- [0065] 가온된 분산용매의 온도는 약물, 수불용성 유기용매 및 고분자 화합물의 종류 및 양에 따라 달라질 수 있으나, 바람직하게는 20℃ 내지 80℃일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 30℃ 내지 50℃ 일 수 있으며 가장 바람직하게는 30℃내지 40℃일 수 있다. 상기 분산용매의 온도가 20℃ 미만으로 내려가면 잔류 유기용매의 양이 증가할 수 있으며, 80℃를 초과하는 경우 고분자 미립구의 변형이 일어날 수 있다.
- [0066] 가온된 분산용매에 재분산된 고분자 미립구는 미립구 내의 유기용매 농도가 더욱 감소한다.
- [0067] 이와 같이, 본 발명의 방법에 의하면, 기존의 용매증발 또는 용매추출 공정을 필요로 하지 않고, 적은 양의 물을 사용하여 폐수 발생을 최소화하면서 빠른 시간 내에 간편하게 약물 함유 고분자 미립구를 제조할 수 있으며 제조된 고분자 미립구 내의 잔류 유기용매의 농도를 감소시킬 수 있다.
- [0068] 한편 본 발명에서는 상기 본 발명의 방법에 의해 만들어진 고분자 미립구를 제공한다.
- [0069] 본 발명의 방법에 의해 제조된 고분자 미립구는 잔류 유기용매 농도가 낮으며 약물의 체내 방출 속도를 조절 할 수 있다.
- [0070] 이와 같은 본 발명 방법에 의해 제조된 고분자 미립구는 0.1 내지 1000 μm , 바람직하게는 10 내지 100 μm 의 평균 입경을 가지며, 원하는 바에 따라 다양한 중량의 약물을 함유할 수 있다.
- [0071] 또한, 본 발명의 고분자 미립구를 사용하는 경우 고분자 미립구에 포함되는 약물을 효과적으로 전달할 수 있으므로 본 발명은 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 고분자 미립구를 유효성분으로 포함하는 약물 전달용 조성물을 제공한다.
- [0072] 본 발명의 약물 전달용 조성물은 포함되는 약물에 따라 대상 질환이 달라질 수 있으며, 이는 당업자가 용이하게 이해할 수 있다.
- [0073] 본 발명의 일실시예에서는 분산용매에 혼합된 수불용성 유기용매의 농도를 달리하여 고분자 미립구를 제조한 후 이이 따른 잔류용매의 농도를 측정하였다. 그 결과 약물이 포함되는지 여부에 상관없이 분산용매에 유기용매가 미리 첨가되는 경우 잔류 유기용매의 농도가 최고 25% 수준까지 낮아지는 것을 확인하였다(실시예 1 참조).
- [0074] 본 발명의 다른 일실시예에서는 재분산 단계의 분산용매 온도에 따른 잔류용매 농도를 비교하였다. 미립구 제조 과정에서 염기 또는 산 용액을 가하여 반응을 종결시키는 시점까지를 1단계, 반응 종결 후 여과를 통해 분리한 고분자 미립구를 PVA 용액에 재분산시켜 교반을 종결하는 시점까지를 2단계로 정의하고 올란자핀 60mg을 함유한 고분자 미립구를 제조시 1, 2단계 모두 33℃로 가온, 유지하여 제조한 고분자 미립구와 1단계 혹은 2단계만을 33℃로 가온, 유지하여 제조한 고분자 미립구를 대상으로 잔류 용매를 측정하였다. 그 결과 1단계 가온 여부와는 상관없이 2단계를 가온한 두 그룹의 고분자 미립구가 2단계를 가온하지 아니한 고분자 미립구에 비하여 잔류 용매의 농도가 월등히 낮은 것을 확인하였다(실시예 2-1 참조).
- [0075] 이러한 결과는 PLGA의 종류를 달리하여 반복 실험한 경우에도 동일하게 나왔다(실시예 2-2 참조).
- [0076] 본 발명의 다른 일실시예에서는 사용되는 고분자의 용량 및 약물의 양을 증가시켜 고분자 미립구를 제조하고 잔류 용매의 양을 측정하였다. 그 결과 재분산 단계(2단계)를 가온하는 경우 잔류 용매의 양을 낮게 유지할 수 있음을 확인하였다(실시예 2-3 참조).
- [0077] 본 발명의 다른 일실시예에서는 분산용매에 혼합된 수불용성 유기용매 농도에 따른 잔류용매 농도 비교하였다. 고분자 화합물을 에틸 포르메이트에 녹여 분산상을 만들고, 0, 1, 2 또는 4ml의 에틸 포르메이트가 미리 첨가된 20ml의 0.5% PVA 수용액에 각각 유화시켜 유제를 만들고 염기를 첨가하여 수불용성 유기용매를 제거하는 방법으

로 고분자 미립구를 제조한 후 잔류용매의 양을 측정하고 고분자 미립구를 촬영하였다.

- [0078] 그 결과 분산용매에 미리 첨가되는 유기용매의 농도가 증가할수록 고분자 미립구에 잔류하는 용매의 농도가 낮아지는 것을 확인하였다. 또한 분산용매에 유기용매가 미리 첨가되어도 구형의 고분자 미립구가 안정적으로 제조되는 것을 확인하였다(실시예 3 참조).
- [0079] 본 발명의 다른 일실시예에서는 본 발명의 분산용매에 수불용성 유기용매를 미리 혼합하는 단계를 거치지 아니하고 분산상과 분산용매의 비율을 달리하여 고분자 미립구를 제조하고 이에 따른 잔류 용매의 농도 변화를 측정하였다. 분산상과 분산용매의 비율을 1:10, 1:6 또는 1:4로 조절하여 각각 고분자 미립구를 제조한 후 잔류 용매의 양을 측정하였다.
- [0080] 그 결과 분산상과 분산용매의 비율이 1:4 또는 1:6인 경우에는 1:10인 경우에 비하여 사용용매 (EA 또는 EF)의 잔류량이 줄어들지만 에탄올의 잔류량이 증가하는 것을 확인하였다. 따라서 분산상과 분산용매의 비율 조절을 통해 고분자 미립구의 잔류 용매의 농도 조절이 가능한 것을 확인하였다. 또한 분산상과 분산용매의 비율 조절이 분산상의 양 및 분산용매의 양 중 어떤 것을 조절하였는가에 따른 차이는 없는 것을 확인하였다(실시예 4 참조).
- [0081] 본 발명의 다른 일실시예에서는 분산상과 분산용매의 비율 및 분산용매에 미리 혼합되는 유기용매의 양을 달리하고 재분산 단계의 온도를 40℃로 유지하여 고분자 미립구를 제조하여 이에 따른 특성 변화를 측정하였다. 분산상을 250mg의 고분자 화합물이 녹아있는 4ml의 에틸 포르메이트로 고정하고, 분산용매의 양을 20ml, 30ml, 및 40ml로 하며 분산용매 대비 분산용매에 미리 첨가되는 유기용매의 양을 0%에서 10% 까지 증가시켜 각각 고분자 미립구를 제조하였다.
- [0082] 잔류용매의 양을 측정한 결과, 분산용매에 에틸 아세테이트를 전혀 첨가하지 않은 경우에 비하여 첨가하는 경우 잔류용매의 농도가 감소하는 것을 확인하였으며, 특히 분산상과 분산용매의 비율이 1:10이며(분산용매 PVA 양이 40ml) 분산용매에 유기용매가 미리 첨가되지 않은 경우 잔류용매의 양이 크게 증가하는 것을 확인하였다(실시예 5-1 참조).
- [0083] 제조된 고분자 미립구의 수득율을 측정한 결과 고분자 미립구 수득에는 문제가 없는 것을 확인하였다(실시예 5-2 참조).
- [0084] 고분자 미립구 제조에 사용된 고분자 화합물의 제조 전, 후 분자량 변화를 측정한 결과 제조 전, 후 고분자 화합물의 분자량에는 유의적인 변화가 없는 것을 확인하였다.(실시예 5-3 참조).
- [0085] 본 발명의 다른 일실시예에서는 약물 함유 고분자 미립구 제조 전, 후 고분자 화합물의 분자량 변화를 측정하였다. 고분자 화합물 종류, 약물 종류, 함량 및 1단계, 2단계 온도를 달리하여 고분자 미립구를 제조한 후 그 제조 전, 후 고분자 화합물의 분자량을 측정하였다.
- [0086] 그 결과 모든 고분자 미립구의 고분자 화합물의 분자량이 잘 보존되는 것을 확인하였다. 이로서 본 발명의 제조 방법은 약물의 종류, 반응 온도 등의 조건에 상관 없이 고분자 화합물의 분자량이 잘 보존되는 것을 확인하였다(실시예 6 참조).
- [0087] 본 발명의 다른 일실시예에서는 본 발명의 방법에 따라 올란자핀 함유 고분자 미립구를 제조하였다.
- [0088] 제조된 올란자핀 함유 고분자 미립구의 잔류용매 양, 올란자핀 봉입율 및 고분자 미립구 수득율을 측정한 결과 잔류용매의 농도는 낮게 유지되며, 봉입율 및 수득율은 대부분 70% 이상으로 양호한 것을 확인하였다(실시예 7-2 참조).
- [0089] 본 발명의 다른 일실시예에서는 실시예 1 내지 7에서 사용한 것과 다른 수불용성 유기용매를 사용하여 고분자 미립구를 제조하였다.

- [0090] 에틸 아세테이트를 수불용성 유기용매로 하여 고분자 미립구를 제조하고 잔류용매의 양, 올란자핀 봉입율 및 고분자 미립구 수득율을 측정한 결과 잔류용매의 양은 낮게 유지되며, 봉입율은 대부분 85% 이상, 수득율은 대부분 70% 이상으로 양호한 것을 확인하였다(실시예 8-2 참조).
- [0091] 본 발명의 다른 일실시예에서는 올란자핀 함유 고분자 미립구를 제조하여 분산성과 주사성을 시험한 후 랫(rat)에 주사한 후 혈중 올란자핀의 농도를 측정하는 방법으로 약물동력학적 시험을 하였다.
- [0092] 그 결과 본 발명의 올란자핀 함유 고분자 미립구를 포함하는 조성물은 분산성 및 주사성이 양호하여 주사제로 사용이 가능함을 확인하였으며, 랫에 주사시 혈중 올란자핀이 80일까지 지속 방출되는 것을 확인하였다(실시예 9 참조).
- [0093] 본 발명의 다른 일실시예에서는 올란자핀이 아닌 아나스트로졸이 함유된 고분자 미립구를 제조하였다.
- [0094] 제조된 고분자 미립구의 수득율 및 봉입율은 거의 80% 이상으로 PLGA 종류에 관계없이 적절하였으며, 평균 입자 크기는 30 내지 60 μ m 수준으로 적절한 것을 확인하였다. 잔류 용매의 농도도 매우 낮은 수치로 시료 종류에 상관없이 적합한 것을 확인하였다. 또한 전자현미경 촬영 결과 PLGA의 종류에 관계없이 전반적으로 매끈한 구형으로 잘 제조되었으며, 특히 약물 함량을 40%로 높은 경우에도 표면에 약물의 결정이 관찰되지 않아 잘 봉입되었음을 확인하였다(실시예 10-2 참조).
- [0095] 제조된 고분자 미립구의 겔투과분석(GPC)을 통해 분자량 변화를 측정한 결과 대부분의 경우 분자량의 변화가 없는 것을 확인하였다.
- [0096] 제조된 고분자 미립구 내의 유연물질을 분석하기 위하여 상기 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구를 대상으로 초고성능액체크로마토그래피(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC) 분석을 실시하였다. 그 결과 본 발명의 고분자 미립구의 평균 유연물질은 0.17%로 상당히 낮은 것을 확인하였다.
- [0097] 또한 가속조건에서 2달 까지 안정성 시험을 한 결과 유연물질 함량은 0.23% 미만이며 약물 함량 변화는 10% 미만으로 나타나 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 고분자 미립구의 안정성이 우수한 것을 확인하였다(실시예 10-3 참조).
- [0098] 본 발명의 다른 일실시예에서는 상기 제조된 고분자 미립구의 지속성 시험을 투석용 막(Dialysis membrane)에 본 발명의 고분자 미립구를 넣고 버퍼를 일정시간 마다 갈아주는 방법으로 측정하였다.
- [0099] 그 결과 모든 제형의 고분자 미립구에서 잔류 약물이 거의 없이 방출되는 것을 확인하였다. 또한 사용되는 고분자 화합물의 종류에 따라 lactide의 비율이 높아질수록 약물이 서서히 방출되는 것을 확인하였으며, 약물 함량이 높아질수록 방출속도가 빨라지는 것을 확인하였다. 이로써 고분자 미립구 제조에 사용되는 고분자 화합물의 종류 및 봉입되는 약물의 양을 조절하여 방출속도 조절이 가능함을 확인하였다(실시예 10-4 참조).
- [0100] 본 발명의 다른 일실시예에서는 상기 제조된 고분자 미립구의 지속성 시험을 동물시험을 통하여 측정하였다.
- [0101] 상기 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구를 랫의 근육에 20mg/kg 주사한 후 혈중 아나스트로졸의 농도를 측정하였다.
- [0102] 그 결과 본 발명의 방법에 의해 제조된 고분자 미립구를 투여하는 경우 제조된 고분자 미립구의 종류에 따라 최고 120일까지 약물을 지속적으로 방출하는 것을 확인하였다(실시예 10-5 참조).

발명의 효과

- [0103] 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명은 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계 및 수불용성 유기용매를 얻기 또는 산을 이용하여 유제에서 제거하는 단계를 포함하는 새로운 고분자 미립구의 제조방법, 상기 제조방법에

따라 제조된 고분자 미립구 및 상기 고분자 미립구를 포함하는 약물 전달용 조성물을 제공한다. 본 발명의 제조 방법은 기존의 용매증발 또는 용매추출 공정을 필요로 하지 않고, 적은 양의 물을 사용하여 폐수 발생을 최소화 하면서 빠른 시간 내에 간편하게 목적하는 약물 함유 고분자 미립구를 제조할 수 있으며 제조된 고분자 미립구 내의 잔류용매의 농도를 낮게 유지할 수 있어 지속 방출형 의약품 제조에 효과적이다.

도면의 간단한 설명

- [0104] 도 1은 분산용매에 수불용성 유기용매를 미리 첨가하지 아니하고 제조한 고분자 미립구의 잔류 용매 측정 결과 그래프이다.
- 도 2는 올란자핀을 함유한 고분자 미립구의 전자현미경 사진이다. 도 2A는 제조과정에서 온도를 33℃로 유지하여 제조한 고분자 미립구의 사진이고 도 2B는 가온단계 없이 제조한 고분자 미립구의 사진이다. 두 경우 모두 고분자 미립구가 구형으로 잘 제조되었으며 올란자핀이 고분자 미립구 내로 잘 봉입되어 있는 것을 확인할 수 있다.
- 도 3은 2단계 온도를 40℃로 유지하고 약물 및 고분자 화합물의 양을 증가시켜 제조한 고분자 미립구의 전자현미경 사진이다. 도 3A는 약물양이 60mg인 경우의 고분자 미립구 사진이며, 도 3B는 약물의 양이 80mg인 경우의 고분자 미립구 사진이다.
- 도 4는 분산용매에 미리 첨가된 유기용매의 농도에 따른 고분자 미립구 내의 잔류 용매의 농도를 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 분산용매에 미리 첨가된 유기용매의 농도를 달리하여 제조한 고분자 미립구의 전자현미경 사진이다(Add : 분산용매에 미리 첨가된 수불용성 유기용매(에틸포르메이트)의 양 (ml)).
- 도 6은 고분자 미립구 제조 전, 후의 고분자 화합물의 분자량을 측정하기 위하여 작성한 표준검량곡선이다.
- 도 7은 올란자핀이 함유된 고분자 미립구의 전자현미경 사진이다(제조번호는 실시예 9의 올란자핀 함유 고분자 미립구의 제조번호이다).
- 도 8은 올란자핀 함유 고분자 미립구를 포함하는 조성물을 랫(rat)에 주사한 후 혈중 올란자핀 농도 변화를 측정한 결과 그래프이다(제조번호는 실시예 9의 올란자핀 함유 고분자 미립구의 제조번호이다).
- 도 9는 아나스트로졸이 함유된 고분자 미립구의 전자현미경 사진이다(사진의 번호는 실시예 10의 제조번호를 말하는 것으로 해당 제조번호의 조성으로 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구를 촬영한 것이다).
- 도 10은 본 발명의 방법에 의해 제조된 아나스트로졸이 함유된 고분자 미립구의 시험관내(in vitro) 방출시험 결과 그래프이다.
- 도 11은 본 발명의 방법에 의해 제조된 아나스트로졸이 함유된 고분자 미립구의 지속성 동물실험 결과 그래프이다. 각 조성의 본 발명의 방법에 의해 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구를 랫에 근육주사하여 혈중 아나스트로졸 농도를 측정한 결과 그래프이다(모두 20mg/kg의 용량으로 주사하였음).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0105] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- [0106] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0107] <실시예 1>

[0108] 분산용매에 혼합된 수불용성 유기용매 농도에 따른 잔류용매 농도 비교실험

[0109] <1-1> 기존 방법에 의한 고분자 미립구 제조시 잔류용매 측정

- [0110] 7525 2.5E PLGA 고분자 0.25g을 에틸 포르메이트(EF) 4ml에 녹인 후 0.5% 폴리비닐알코올(PVA) 40ml에 유화시켜 유제를 만들었다. 이후 28% NH₃ 용액 3.4ml을 유제에 첨가하여 30분 반응 시키고 증류수를 첨가한 후 여과하

였다. 미립구를 분리하고 다시 0.1% PVA 80ml에 재분산하여 교반하였다. 본 실험을 위해 사용한 7525 2.5E PLGA 고분자 정보는 다음과 같다.

표 1

7525 2.5E PLGA 고분자 정보

고분자명 및 상표	회사명	Lactide : Glycolide	Inherent viscosity
7525DLG2.5E (LAKESHORE BIOMTERIALS)	SurModics Pharmaceuticals Co. (미국)	75 : 25	0.25 dL/g

미립구 잔류 용매 분석은 다음과 같은 가스 크로마토그래피(GC) 방법을 사용하였다. GC 기기는 shimadzu사(일본)의 GC-2010을 사용했고 컬럼의 경우 phenomenex사(미국)의 ZB-624를 사용하였다. SPL의 온도는 200℃를 유지했고, 샘플의 split ratio는 15였다. Carrier gas는 고순도 질소가스를 사용하였다. 압력은 54.3 kPa (유속 1.3ml/min)에서 2분 유지하고 -50℃의 rate로 40kPa에서 3분을 유지했다. 그 후 rate 80으로 100 kPa까지 압력을 올려 2분 동안 유지했다. Column의 온도는 80℃에서 5.1분을 유지하고 분당 200℃의 속도로 180℃까지 올려 2분을 유지했다. 검출기로 불꽃이온화검출기(FID, flame ionization detector)를 사용했고 온도는 220℃이었다. 고분자 미립구 샘플 50mg 정도를 취해 무게를 정확하게 달고 2ml 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran)에 완전히 녹였다. 이를 펜탄올(pentanol)을 이용하여 4배 희석한 후, 침전된 고분자를 필터로 거른 후 GC에 주입하였다.

그 결과 [도 1]에서 보는 바와 같이 잔류 용매가 1.5% 이상으로 나오는 것을 확인하였다.

<1-2> 분산용매에 혼합된 수불용성 유기용매 농도에 따른 잔류용매 농도

분산용매에 수불용성 유기용매를 미리 혼합하는지 여부에 따라 고분자 미립구에 남아 있는 잔류 유기용매 농도를 측정하였다.

하기 [표 2]와 같은 고분자 미립구 제조 조건에 따라 고분자 미립구를 제조하였다.

표 2

고분자 미립구 제조 조건

번호	분산용매에 혼합된 유기용매(EF)의 양	약물(올란자핀)의 양	NaOH의 양	EF 잔류량%	에탄올 잔류량 %
A	0ml	0mg	5ml	0.62	0.48
B	0.5ml	0mg	5.6ml	0.34	0.52
C	1.0ml	0mg	6.2ml	0.16	0.46
D	0ml	60mg	5ml	0.55	0.94
E	0.5ml	60mg	5.6ml	0.31	1.03
F	1.0ml	60mg	6.2ml	0.21	0.87

먼저 7525 2.5E 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA) 고분자 0.35 g 및 [표 1]에 따른 올란자핀을 에틸 포르메이트(ethyl formate, EF) 4 ml에 녹인 후 [표 1]에 따른 EF 유기용매가 미리 첨가된 0.5 % 폴리(비닐 알코올)(Poly(vinyl Alcohol), PVA) 20ml에 유화시켜 유제를 만들었다. 10 N NaOH를 유제에 첨가하여 30분 반응시키고 증류수를 첨가한 후, 여과하였다. 미립구를 분리하고 다시 0.1 % PVA 80 ml에 재분산하여 교반하였다.

그 결과 상기 [표 2]에서 보는 바와 같이 분산용매에 유기용매를 첨가하는 경우 잔류 유기용매의 농도가 낮아지

는 것을 확인하였다.

[0120] <실시예 2>

[0121] 재분산 단계의 분산용매 온도에 따른 잔류용매 농도 비교실험

[0122] 고분자 미립구 제조시 수불용성 유기용매 제거를 위한 산 또는 염기의 반응을 통해 수상의 온도변화를 가져오고 이는 잔류용매의 양에 영향을 미칠 것이라 예상하였다. 따라서 고분자 미립구 제조 과정을 나누어 염기 또는 산 용액을 가하여 반응을 종결시키는 시점까지를 1단계, 반응 종결 후 여과를 통해 분리한 미립구를 PVA 용액에 재분산시켜 교반을 종결하는 시점까지를 2단계로 정의하였다. 이 중 어떤 단계에서의 온도가 잔류용매를 줄이는데 중요한 역할을 하는지를 알아보았다.

[0123] <2-1> 7525 2.5E PLGA를 이용한 고분자 미립구 제조시 재분산 단계의 분산용매 온도에 따른 잔류용매 농도 비교 실험

[0124] 고분자 미립구 제조 과정은 다음과 같다. 60mg 올란자핀과 250mg의 7525 2.5E PLGA를 4ml의 에틸 포르메이트에 녹였다. 이 분산상을 1ml의 에틸 포르메이트를 미리 녹인 20ml의 0.5% PVA 수용액에 유화시켜 유제를 만들었다. 이 후 10N NaOH 6.2ml을 첨가하여 30분간 반응을 유도하여 고분자 미립구를 제조하였다. 고분자 미립구를 분리하고 0.1% PVA 80ml에 재분산하여 교반한 후 고분자 미립구를 분리하여 진공건조 하였다.

[0125] 상기 과정에서 1단계와 2단계를 하기 [표 3]의 온도 조건하에서 각각 수행을 한 후 <실시예 1>에서와 같은 방법으로 잔류 용매를 측정하였다.

표 3

[0126] 7525 2.5E PLGA를 이용한 고분자 미립구 제조시 제조조건에 따른 잔류용매 농도

제조조건	EF 잔류량(%)	EtOH 잔류량(%)
1단계: 33℃로 가열 2단계: 33℃로 가열	0.12	0.33
1단계: 가열하지 않음 2단계: 33℃로 가열	0.09	0.36
1단계: 33℃로 가열 2단계: 가열하지 않음	0.10	0.68

[0127] 그 결과 [표 3]에서 보는 바와 같이 2단계를 가열하지 않은 경우 고분자 미립구 내의 에탄올의 잔류량은 0.5%를 상회하지만, 2단계에서 수상 온도를 33℃로 유지하는 경우 에탄올의 잔류량이 0.5% 이하로 줄어드는 것을 확인하였다. 또한 1단계의 온도를 33℃로 유지한 경우와 그렇지 않은 경우는, 2단계 수상 온도를 33℃로 유지하는 한, 잔류용매의 농도에는 큰 차이가 없는 것을 확인하였다.

[0128] 이로서 2단계의 수상온도 조절이 잔류용매 제거에 중요한 역할을 하는 것을 확인하였다.

[0129] <2-2> 6535 4.5A PLGA를 이용한 고분자 미립구 제조시 재분산 단계의 분산용매 온도에 따른 잔류용매 농도 비교 실험

[0130] 일반적으로 PLGA 분자량이 커질수록 고분자 미립구에 잔류하는 유기용매의 양이 증가된다. 따라서 본 발명의 방법이 분자량이 큰 6535 4.5A PLGA를 사용하더라도 잔류유기용매 문제를 극복할 수 있는지 시험하였다.

[0131] 사용한 PLGA 고분자 정보는 [표 4]와 같다.

표 4

[0132] 6535 4.5A PLGA 고분자 정보

고분자명 및 상표	회사명	Lactide : Glycolide	Inherent viscosity
6535DLG4.5A (LAKESHORE BIOMATERIALS)	SurModics Pharmaceuticals Co. (미국)	64 : 36	0.49 dL/g

[0133] 고분자 미립구 제조 과정은 <실시예 2-1>과 동일하며 사용된 고분자만 7525 2.5E PLGA에서 6535 4.5A PLGA로 변경되었다.

[0134] 상기 과정에서 1단계와 2단계를 하기 [표 5]의 온도 조건하에서 각각 수행을 한 후 <실시예 1>에서와 같은 방법으로 잔류 용매를 측정하였다.

[0135] 또한 제조된 고분자 미립구의 상태를 전자현미경(SEM, Hitachi S-3000N, 일본, HV 20kv, Working Distance 15mm, Beam current 40) 촬영을 통하여 확인하였다.

표 5

[0136] 6535 4.5A PLGA를 이용한 고분자 미립구 제조시 제조조건에 따른 잔류용매 농도

제조조건	EF 잔류량(%)	EtOH 잔류량(%)
1단계: 33℃로 가열 2단계: 33℃로 가열	0.08	0.55
1단계: 가열하지 않음 2단계: 가열하지 않음	0.26	1.12

[0137] 그 결과 [표 5]에서 보는 바와 같이 6535 4.5A를 사용한 경우에도, 2단계의 수상 온도를 33℃로 유지하는 경우 에틸 포르메이트 및 에탄올의 잔류량이 현격히 줄어드는 것을 확인하였다.

[0138] 또한 전자현미경으로 고분자 미립구를 촬영한 결과 60mg 올란자핀이 고분자 미립구 내로 잘 봉입되어 있는 고분자 미립구가 제조되는 것을 확인하였다([도 2] 참조).

[0139] <2-3> 고분자 사용량 증가시 재분산 단계의 분산용매 온도에 따른 잔류용매 농도 비교실험

[0140] 분산상의 PLGA 농도를 증가시키는 경우에도 고분자 미립구 내의 잔류용매 농도를 분산용매 온도 변화에 따라 감소시킬 수 있는지 알아보았다.

[0141] 60mg 또는 80mg의 올란자핀과 400mg의 6535 4.5A PLGA를 4ml의 에틸 포르메이트에 녹여 분산상을 만들었다. 이후 <실시예 2-1>과 동일한 방법으로 고분자 미립구를 제조하고, <실시예 1>에서와 같은 방법으로 잔류용매 농도를 측정하였다.

[0142] 상기 과정에서 2단계 온도는 [표 6]에 기재된 바와 같다.

표 6

[0143] 6535 4.5A PLGA를 이용한 고분자 미립구 제조시 제조조건에 따른 잔류용매 농도

배취명	2단계 온도(℃)	약물 양(mg)	에틸 포르메이트 잔류량 %	에탄올 잔류량 %
1	33	60	0.91	0.13
2	33	80	1.43	0.1 이하
3	40	60	0.1 이하	0.1 이하
4	40	80	0.1 이하	0.1 이하
5	50	60	0.1 이하	0.1 이하
6	50	80	0.1 이하	0.1 이하

[0144] 그 결과 [표 6]에서 보는 바와 같이 PLGA 양을 400mg으로 증가시킨 경우에도 2단계 온도를 40℃이상으로 유지하는 경우 잔류 용매의 농도를 낮게 유지할 수 있음을 확인하였다.

[0145] 또한 상기 [표 6]의 3번 4번 배취의 고분자 미립구의 상태를 전자현미경(SEM, Hitachi S-3000N, 일본, HV 20kv, Working Distance 15mm, Beam current 40) 촬영을 통하여 확인하였다.

[0146] 그 결과 투여된 올란자핀이 봉입된 고분자 미립구가 제조되는 것을 확인하였다([도 3] 참조).

[0147] <실시예 3>

[0148] 분산용매에 혼합된 수불용성 유기용매 농도에 따른 잔류용매 농도 비교실험 1

[0149] 상기 <실시예 1>에서 분산용매에 유기용매를 미리 첨가하는 경우 잔류 유기용매의 농도가 낮아지는 것을 확인하였다. 이에 재분산 단계의 분산용매 온도를 높게 유지하면서 분산용매에 혼합된 수불용성 유기용매의 양을 달리 하여 이에 따른 잔류용매의 양을 측정하여 비교하였다.

[0150] 500mg의 4.5A PLGA(Lactide : Glycolide=85:15, 0.45 dL/g, SurModics Pharmaceuticals Co., 미국)를 4ml의 에틸 포르메이트에 녹여 분산상을 만들고 이 분산상을 0, 1, 2 또는 4ml의 에틸 포르메이트가 미리 첨가된 20ml의 0.5% PVA 수용액에 각각 유화시켜 유제를 만들었다. 이 후 10N NaOH 6.2ml를 첨가하여 30분간 반응을 유도하여 고분자 미립구를 제조하였다. 고분자 미립구를 분리하고 40℃의 0.1% PVA 80ml에 재분산하여 교반한 후 고분자 미립구를 분리하여 진공건조하였다.

[0151] 고분자 미립구 제조 후 <실시예 1>과 동일한 방법으로 잔류 용매를 측정하고 <실시예 2-2>와 동일한 방법으로 제조된 고분자 미립구를 촬영하였다.

[0152] 그 결과 [도 4]에서 보는 바와 같이 분산용매에 미리 첨가된 유기용매의 농도가 증가할수록 고분자 미립구에 잔류하는 용매의 농도가 낮아지는 것을 확인하였다. 또한 [도 5]에서 보는 바와 같이 분산용매에 유기용매가 미리 첨가되어도 구형의 고분자 미립구가 안정적으로 제조되며, 분산용매에 미리 첨가된 유기용매의 농도가 증가할수록 제조되는 고분자 미립구의 크기도 작아지는 것을 확인하였다.

[0153] <실시예 4>

[0154] 분산상과 분산용매의 비율에 따른 잔류용매 농도 비교실험

[0155] <4-1> 분산상과 분산용매의 비율을 달리하여 고분자 미립구 제조

[0156] 분산상과 분산용매의 비율을 변화시킴에 따른 잔류용매의 양의 변화를 알아보기 위하여 [표 7]과 같이 분산상(O)과 분산용매(W)의 비율을 1:10, 1:6 또는 1:4로 조절하여 각각 고분자 미립구를 제조하였다. 분산상과 분산용매의 비율 조절은 분산상의 양 또는 분산용매의 양을 각각 조절하였다. 또한 분산상을 구성하는 유기용매의

중류도 에틸 아세테이트와 에틸 포르메이트를 각각 사용하여 시험하였으며, 용매 분해 시약도 NaOH와 암모니아를 각각 사용하여 시험하였다.

표 7

실험에 사용된 O/W 비율 및 용매분해 법

	O/W 비 율	분산상(m l)	분산용매 (ml)	용매분해법
EA-1	1:4	40	160	NaOH
EA-2	1:6	27	160	NaOH
EA-3	1:10	16	160	NaOH
EA-4	1:6	27	160	NaOH
EA-5	1:4	16	64	NaOH
EA-6	1:6	16	96	NaOH
EF-1	1:4	42.5	170	NH3
EF-2	1:6	28.3	24	NH3
EF-3	1:10	17	170	NH3
EF-4	1:4	17	68	NH3
EF-5	1:6	17	102	NH3
EF-6	1:4	40	160	NaOH
EF-7	1:6	27	160	NaOH
EF-8	1:10	16	160	NaOH
EF-9	1:4	16	64	NaOH
EF-10	1:6	16	96	NaOH

고분자 화합물 블랜드 1g(4A:2A = 6:4)과 올란자핀 0.333g을 넣고, 에틸 아세테이트, 또는 에틸 포르메이트를 해당량 넣은 후 완전히 용해시킨 후 0.5% PVA를 해당량 넣고 상온에서 교반시켰다. 당량의 10M의 NaOH 또는 암모니아 용액을 넣고 30분간 교반하여 고분자 미립구를 제조하였다. 제조된 고분자 미립구는 필터하여 수득하고 이를 0.1% PVA에 재분산하여 교반한 후 증류수로 세척하고 동결건조 시켰다.

<4-2> 제조된 고분자 미립구의 수율 및 잔류용매 측정

상기 <실시예 4-1>에서 제조된 고분자 미립구의 잔류용매를 <실시예 1>에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

고분자 미립구의 수율은 미리 무게를 측정한 접시에 회수한 고분자 미립구를 넣고 진공 건조 후 무게를 측정하여 회수한 고분자 미립구의 무게 구한 후 하기 식에 의해 구한다.

수율(%) = (회수한 고분자 미립구의 무게)/(제조 시 사용한 고분자와 약물의 무게 합) X 100

표 8

제조된 고분자 미립구의 수율 및 잔류용매 양

	잔류용매 양(%)		수율 (%)
	EA	EtOH	
EA-1	0.023	1.273	62.5
EA-2	0.058	1.249	38.9
EA-3	1.289	0.180	79.8
EA-4	0.113	0.997	53.9

EA-5	0.057	0.506	54.5
EA-6	0.133	0.366	68.6
EF-1	0.249	0.199	66.8
EF-2	0.048	0.027	26.3
EF-3	1.486	0.136	92.6
EF-4	0.530	0.070	77.9
EF-5	0.210	N.D.	62.0
EF-6	N.D.	1.281	43.5
EF-7	0.020	0.192	44.3
EF-8	0.365	N.D.	71.0
EF-9	0.227	0.714	52.2
EF-10	0.739	0.562	59.5

[0164] 그 결과 [표 8]에서 보는 바와 같이 분산상과 분산용매의 비율이 1:4 또는 1:6인 경우에는 1:10인 경우에 비하여 사용용매 (EA 또는 EF)의 잔류량이 줄어들지만 에탄올의 잔류량이 증가하는 것을 확인하였다. 분산상과 분산용매의 비율 조절이 분산상의 양 및 분산용매의 양 중 어떤 것을 조절하였는가에 따른 차이는 없는 것을 확인하였다.

[0165] <실시예 5>

[0166] 분산상과 분산용매 비율, 미리 첨가되는 유기용매 농도 및 재분산 단계의 온도변화에 따른 고분자 미립구 변화

[0167] <5-1> 고분자 미립구 제조 및 잔류 용매 측정

[0168] 상기 <실시예 1> 내지 <실시예 4>에서 분산용매에 혼합된 수불용성 유기용매 농도 변화, 재분산 단계(제2단계)의 분산용매 온도변화 및 분산상과 분산용매의 비율변화에 따른 잔류용매의 농도를 측정하였다.

[0169] 이러한 요소들을 모두 반영하여 고분자 미립구를 제조하고 잔류용매의 농도를 측정하였다.

[0170] 분산상은 250mg의 4.5A PLGA를 4ml의 에틸 포르메이트에 녹인 용액을 사용하였다. 분산용매는 20, 30, 40ml의 0.5% PVA를 사용하였으며, 분산용매에 미리 첨가된 수불용성 유기용매(에틸 포르메이트)는 분산용매 양에 따라 0ml에서부터 4ml 까지 첨가하였다. 용매분해는 10N NaOH를 이용하였으며 이는 첨가된 총 에틸 포르메이트의 양을 고려하여 1:1 당량이 되도록 계산하여 첨가하였다. 고분자 미립구 제조시 염기 또는 산 용액을 첨가하여 반응을 종결시키는 단계(1단계)까지는 실온에서 진행을 하고, 반응 종결 후 여과를 통해 분리한 고분자 미립구를 PVA 용액에 재분산시켜 교반을 종결하는 단계(2단계)까지는 40℃를 유지하였다.

[0171] 제조된 고분자 미립구의 잔류용매 분석은 <실시예 1>에서와 같은 방법으로 측정하였다. 동일한 제조 공정 및 잔류용매 분석을 2회 반복하여 그 수치를 모두 표시하였다.

표 9

[0172]

제조된 고분자 미립구의 잔류용매 양

1 단계 실온 (RT) 으로 유지	분산용매 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되 는 EF의 양(ml)	잔류 EF(%)		잔류 에탄올(%)	
			#1	#2	#1	#2
	20	0	0.175	0.113	0.063	0.080
		1	0.053	0.015	0.044	0.049
		2	0.036	0.006	0.044	0.056
	30	0	0.285	0.291	0.038	0.052
		1	0.156	0.119	0.056	0.052
		2	0.059	0.028	0.037	0.032
		3	0.042	0.020	0.078	0.041
	40	0	0.932	1.204	0.058	0.105
		1	0.231	0.225	0.038	0.053
		2	0.164	0.079	0.040	0.043
		3	0.111	0.061	0.055	0.042
		4	0.040	0.038	0.023	0.112

[0173]

그 결과 [표 9]에서 보는 바와 같이 분산용매에 에틸 포르메이트를 전혀 첨가하지 않은 경우에 비하여 첨가하는 경우 잔류용매의 농도가 감소하는 것을 확인하였으며, 특히 분산상과 분산용매의 비율이 1:10이며(분산용매 PVA 양이 40ml) 분산용매에 EF가 미리 첨가되지 않은 경우 잔류용매의 양이 증가하는 것을 확인하였다.

[0174]

<5-2> 고분자 미립구의 수득율 측정

[0175]

상기 <실시에 5-1>에서 제조한 고분자 미립구의 수득율을 측정하였다. 측정은 <실시에 4-2>에서와 같은 방법으로 하였다.

[0176]

그 결과 [표 10]에서 보는 바와 같이 모든 조건에 있어 고분자 미립구의 수득율에는 문제가 없는 것을 확인하였다.

표 10

[0177]

제조된 고분자 미립구의 수득율

1 단계 실온 (RT) 으로 유지	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EF의 양(ml)	수득율 (%)	
			#1	#2
	20	0	79.56	70.24
		1	66.48	63.88
		2	76.68	66.52
	30	0	69.96	70.24
		1	40.04	75.76
		2	77.56	74.64
		3	88.28	74.16
	40	0	67.68	72.4
		1	67.28	82.8
		2	39.6	82.2
		3	77.04	79.64
		4	55.96	77.92

[0178]

<5-3> 고분자 미립구 제조 전, 후 4.5A PLGA의 분자량 변화 측정(GPC)

[0179] 상기 <실시예 5-1>에서 실시한 고분자 미립구 제조과정에서 PLGA의 분자량 변화 여부를 측정하기 위하여 고분자 미립구 제조 전, 후 4.5A PLGA의 분자량을 겔투과분석(gel permeation chromatography, GPC)을 통하여 측정하였다.

[0180] GPC의 경우 Agilent 1100(Agilent Technologies, Inc, 미국)을 사용하였고, 이동상으로는 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran)을 사용하였다. 분석 컬럼은 Agilent 사의 PLgel 5um 100Å 79911GP-504를 사용하고, 유속은 1ml/min으로 유지하였다. 표준검량곡선 작성을 위하여 Polymer Laboratories 사의 표준품(분자량: 3390000, 1290000, 426600, 151700, 72200, 28500, 9860, 4950, 1300)을 사용하였다. 분석샘플은 고분자 미립구 8mg을 테트라하이드로퓨란 2ml에 녹여 필터하여 사용하였다. GPC 주입량은 50ul이었다.

[0181] 표준품을 이용하여 [도 6]과 같은 표준검량곡선을 구하였다. 이를 바탕으로 제조전 4.5A PLGA와 제조된 고분자 미립구의 4.5A PLGA의 분자량을 구하였다. 그 결과 [표 11]에서 보는 바와 같이 본 발명의 방법에 의해 제조된 고분자 미립구의 4.5A PLGA의 분자량은 55421 내지 58409로 제조전 4.5A분자량인 57542와 비교하여 유의적인 변화는 나타나지 않음을 확인하였다.

[0182] 이로서 본 발명의 고분자 미립구 제조방법은 4.5A PLGA 고분자를 분해하지 않는다는 것을 확인하였다.

표 11

4.5A PLGA의 분자량 비교

[0183]

1 단계 실온 (RT) 으로 유지	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EF의 양(ml)	GPC	
			Mw	다분산성
	20	0	57901	1.4594
		1	57294	1.5004
		2	55743	1.5865
	30	0	57498	1.5405
		1	55573	1.6392
		2	57486	1.5552
		3	55421	1.649
	40	0	57788	1.4495
		1	57704	1.5207
		2	57994	1.5454
		3	57423	1.4922
		4	58409	1.4399
	미립 제조전 4.5A PLGA		57542	1.6122

[0184] <실시예 6>

[0185] 약물 함유 고분자 미립구의 고분자 화합물의 분자량 변화 측정

[0186] <실시예 5-3>에서 약물이 함유되지 않는 경우 고분자 미립구의 분자량 변화가 없는 것을 확인하였다. 약물이 함유된 고분자 미립구를 다양한 조건으로 제조하여 고분자 화합물의 분자량을 측정하였다.

표 12

[0187]

고분자 미립구의 제조 조건

실험 번호	고분자 종류	고분자 량(mg)	약물종류	약물 함량	유기용매	유기용매 양	1단계 온도	2단계 온도
1	5050 2A	1000	아나스트 로졸	111mg	에틸포르메 이트	27	33℃	40℃
2	7525 2.5E	1000	아나스트 로졸	667mg	에틸포르메 이트	19	4℃	33℃
3	6535 4.5A	250	올란자핀	60mg	에틸포르메 이트	4	4℃	40℃

[0188]

상기 [표 12]에 따라 분산상을 만든 후 0.5% PVA에 넣고 유화시켜 유제를 만들었다. 이후 10N NaOH 용액을 첨가하여 30분간 반응을 유발한 후 증류수를 가한 후 고분자 미립구를 여과하여 분리하였다. 분리된 고분자 미립구를 0.1% PVA 용액에 재분산시킨 후 진공건조 하였다. 고분자 미립구 제조시 염기 또는 산 용액을 첨가하여 반응을 종결시키는 단계를 1단계로, 반응 종결 후 여과를 통해 분리한 고분자 미립구를 PVA용액에 재분산시켜 교반을 종결하는 단계를 2단계로 하여 각 단계의 온도를 상기 [표 12]에 따라 유지하였다.

[0189]

상기 제조된 고분자 미립구의 고분자 화합물의 분자량을 <실시에 5-3>에서 측정한 것과 동일한 방법으로 측정하였다.

[0190]

그 결과 [표 13]에서 보는 바와 같이 모든 고분자 미립구의 고분자 화합물의 분자량이 잘 보존되는 것을 확인하였다. 이로서 본 발명의 제조방법은 약물의 종류, 반응 온도 등의 조건에 상관없이 고분자 화합물의 분자량이 잘 보존되는 것을 확인하였다.

표 13

[0191]

고분자 미립구 제조 전 후 고분자 화합물의 분자량 측정 결과

실험 번호	미립구 제조 전 분자량	미립구 제조 후 분자량
1	15000	15709
2	29013	27737
3	56694	54116

[0192]

<실시에 7>

[0193]

올란자핀 함유 고분자 미립구 제조

[0194]

<7-1> 올란자핀 함유 고분자 미립구 제조

[0195]

본 발명의 고분자 미립구 제조방법에 따라 [표 14]에 따른 조건으로 올란자핀 함유 고분자 미립구를 제조하였다.

[0196]

60mg의 올란자핀과 250mg의 6535 4.5A PLGA를 4ml의 에틸 포르메이트에 녹인 후 이 분산상을 [표 14]에 따른, 에틸 포르메이트가 미리 첨가된 분산용매(0.5% PVA)에 넣고 유화시켜 유제를 만들었다. 이후 10N NaOH 용액을 첨가하여 30분간 반응을 유발하고 증류수를 가한 후 고분자 미립구를 여과하여 분리하였다. 분리된 고분자 미립구를 0.1% PVA 용액에 재분산시킨 후 진공건조하였다. 고분자 미립구 제조시 염기 또는 산 용액을 첨가하여 반응을 종결시키는 단계(1단계)까지는 실온에서 진행을 하고, 반응 종결 후 여과를 통해 분리한 고분자 미립구를 PVA 용액에 재분산시켜 교반을 종결하는 단계(2단계)까지는 40℃를 유지하였다.

표 14

[0197]

올란자핀 함유 고분자 미립구 제조 조건

1 단계 온도	PLGA 종류	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EF의 양(ml)	올란자핀 (mg)	2 단계 온도	용매 분해용 NaOH
실온 (RT)	6535DLG4. 5A	30	2	60	40℃	7.4
			3	60	40℃	8.6
		40	3	60	40℃	8.4
			4	60	40℃	9.6

[0198] <7-2> 잔류용매양, 올란자핀 봉입율 및 고분자 미립구 수득율 측정

[0199] <실시예 7-1>에서 제조된 고분자 미립구의 잔류용매 양을 <실시예 1>에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

[0200] 제조된 고분자 미립구의 수득율은 건조 용기에 제조한 고분자 미립구를 넣고 동결건조하여 무게를 측정한 후 다음 식에 따라 계산하였다.

[0201] 수득율(%) = (고분자 미립구 무게)/(제조시 사용한 고분자와 약물의 무게 합) X 100

[0202] 올란자핀 봉입율은 제조된 고분자 미립구의 봉입량과 봉입율은 다음과 같이 측정하였다.

[0203] 건조된 고분자 미립구 10mg을 아세토니트릴:물=50:50(v/v) 용액에 녹인 후 적당한 배수로 희석하였다. 이 용액을 필터 후 UPLC(Ultra Performance Liquid Chromatography)로 분석하여 봉입량 및 봉입율을 계산하였다. UPLC 분석기기는 Waters사(독일)의 ACQUITY를 사용하였고, 컬럼은 HSS C18(Waters ACQUITY UPLC, 독일)을 사용하였다. 이동상은 조건은 암모늄 아세테이트 버퍼와 아세토니트릴이 50:50으로 혼합된 것을 사용하였으며, 희석액은 아세토니트릴과 물이 50:50으로 혼합된 것을 사용하였다.

[0204] 봉입량(%) = (검출된 약물 무게/마이크로스피어 무게) X 100

[0205] 봉입율(%) = 봉입량/(이론적 봉입량) X 100

[0206] 이론적 봉입량 (%) = (제조시 사용한 약물의 무게)/(제조시 사용한 고분자와 약물의 무게 합) X 100

[0207] 그 결과 잔류용매의 양은 [표 15]에서 보는 바와 같이 낮게 유지되며, 봉입율 및 수득율은 [표 16]에서 보는 바와 같이 대부분 70% 이상으로 양호한 것을 확인하였다.

표 15

[0208]

제조된 고분자 미립구의 잔류용매 양

1 단계 온도	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EF의 양(ml)	잔류 EF(%)		잔류 에탄올(%)	
			#1	#2	#1	#2
실온 (RT)	30	2	0.023	0.006	0.199	0.163
		3	0.013	0.003	0.168	0.116
	40	3	0.022	0.011	0.208	0.140
		4	0.013	0.014	0.201	0.145

표 16

[0209]

제조된 고분자 미립구의 봉입율 및 수득율

1 단계 온도	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EF의 양(ml)	봉입율(%)		수득율(%)	
			#1	#2	#1	#2
실온 (RT)	30	2	80.719	76.789	73.613	72.616
		3	80.215	69.635	74.226	72.958
	40	3	80.858	74.364	71.613	75.723
		4	74.205	68.040	72.613	75.942

[0210]

<실시예 8>

[0211]

에틸 아세테이트를 수불용성 유기용매로 한 올란자핀 함유 고분자 미립구 제조

[0212]

<8-1> 올란자핀 함유 고분자 미립구 제조

[0213]

상기 <실시예 7>에서 사용한 수불용성 유기용매(에틸 포르메이트)와 다른 수불용성 유기용매를 이용하여 올란자핀 함유 고분자 미립구를 제조하였다.

[0214]

사용된 수불용성 유기용매는 에틸 아세테이트(EA)이며 제조 조건은 [표 17]에 나와 있는 조건으로 하여 제조하였다.

[0215]

60mg의 올란자핀과 250mg의 4.5A PLGA를 4ml의 에틸 아세테이트에 녹인 후 이 분산상을 [표 17]에 따른, 제조된 에틸 아세테이트가 미리 첨가된 분산용매(0.5% PVA)에 넣고 유화시켜 유제를 만들었다. 이후 10N NaOH 용액을 첨가하여 30분간 반응을 유발하고 증류수를 가한 후 고분자 미립구를 여과하여 분리하였다. 분리된 고분자 미립구를 0.1% PVA 용액에 재분산시킨 후 진공건조 하였다. 고분자 미립구 제조시 염기 또는 산 용액을 첨가하여 반응을 종결시키는 단계(1단계)까지는 4℃에서 진행을 하고, 반응 종결 후 여과를 통해 분리한 고분자 미립구를 PVA 용액에 재분산시켜 교반을 종결하는 단계(2단계)까지는 40℃를 유지하였다.

표 17

[0216]

올란자핀 함유 고분자 미립구 제조 조건

1 단계 온도	PLGA 종류	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EA의 양(ml)	올란자핀 (mg)	2 단계 온도	용매 분해용 NaOH(ml)
4℃	6535 4.5A	30	2	60	40℃	7.4
			3	60	40℃	8.6
		40	3	60	40℃	8.4
			4	60	40℃	9.6

[0217]

<8-2> 잔류용매양, 올란자핀 봉입율 및 고분자 미립구 수득율 측정

[0218]

<실시예 8-1>에서 제조된 고분자 미립구의 잔류용매양을 <실시예 1>에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

[0219]

그 결과 잔류용매의 양은 [표 18]에서 보는 바와 같이 낮게 유지되며, 봉입율, 수득율은 [표 19]에서 보는 바와 같이 봉입율은 대부분 85% 이상, 수득율은 대부분 70% 이상으로 양호한 것을 확인하였다.

표 18

[0220]

제조된 고분자 미립구의 잔류용매 양

1 단계 온도	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EF의 양(ml)	잔류 EA(%)		잔류 에탄올(%)	
			#1	#2	#1	#2
4℃	30	2	0.151	0.153	0.513	0.410
		3	0.134	0.120	0.578	0.506
	40	3	0.085	0.091	0.280	0.242
		4	0.129	0.130	0.310	0.458

표 19

[0221]

제조된 고분자 미립구의 봉입율 및 수득율

1 단계 온도	분산용매 PVA 양(ml)	분산용매에 미리 첨가되는 EF의 양(ml)	봉입율(%)	수득율(%)
4℃	30	2	90.952	71.05
		3	88.892	71.45
	40	3	85.335	75.71
		4	88.993	67.32

[0222]

<실시예 9>

[0223]

올란자핀 함유 고분자 미립구의 약물동력학적 시험

[0224]

<9-1> 올란자핀 함유 고분자 미립구 제조

[0225]

[표 20]의 구성에 따라 다양한 PLGA를 이용하여 올란자핀 함유 고분자 미립구를 제조하였다.

[0226]

PLGA 및 올란자핀을 유기용매(에틸 포르메이트)에 녹여 분산상을 제조하였다. 분산상과 분산용매의 비는 1:5가 되도록 하였으며 분산용매는 0.5% PVA에 에틸포르메이트를 10:1의 비율로 혼합하여 사용하였다. 4℃로 냉각된 분산용매에 분산상을 넣고 유화시켜 유제를 제조한 후 10M NaOH를 [표 20]에 따라 투여하고 30분간 반응을 유도하여 고분자 미립구를 제조하였다. 생성된 고분자 미립구를 증류수로 세척 후 40℃의 0.1% PVA 용액에 재분산하여 교반한 후 고분자 미립구를 분리하여 진공건조 하였다.

[0227]

제조된 고분자 미립구의 상태를 전자현미경(SEM, Hitachi S-3000N, 일본, HV 20kv, Working Distance 15mm, Beam current 40) 촬영을 통하여 확인하였다.

표 20

[0228]

올란자핀 함유 고분자 미립구의 구성

제조번호	PLGA 종류		유기용매 (ml)	올란자핀 (mg)	NaOH 양	0.5% PVA
1	8515	4.5E	30	667	56	150
2	100 DL	2E	30	667	56	150
3	100 DL	4.5E	30	667	56	150
4	100 DL	2E	10	240	18.6	50

[0229]

전자현미경 관찰 결과 올란자핀이 고분자 미립구 내로 잘 봉입이 되었으며 모든 고분자 미립구가 구형으로 잘 제조된 것을 확인하였다([도 7] 참조).

[0230] <9-2> 주사성 및 분산성 시험

[0231] <실시예 9-1>에서 제조된 올란자핀 함유 고분자 미립구를 카복시메틸 셀룰로오스(CMC) 및 트윈20이 함유된 생리 식염수에 30%(w/v) 농도로 현탁한 후 19G 바늘의 주사기를 사용하여 1ml을 주사기에 빨아들였다 다시 내뿜어서 주사가 가능한지를 알아보았다.

[0232] 그 결과 [표 21]에서 보는 바와 같이 본 발명의 올란자핀 함유 고분자 미립구는 주사성 및 분산성이 양호한 것을 확인하였다.

표 21

[0233] 주사성 및 분산성 시험 결과

제조번호	평가 결과
1	+
2	+
3	+

[0234] <9-3> 올란자핀 함유 고분자 미립구의 지속성 평가

[0235] <실시예 9-1>에서 제조된 올란자핀 함유 고분자 미립구를 부형제 용액(카복시메틸 셀룰로오스 및 트윈20이 포함된 생리식염수(saline))에 현탁하여 9주령 암컷 SD 랫에 40mg/kg로 근육 주사 하여 투여하였다. 이후 정해진 시간마다 혈액을 채취하여 혈중 올란자핀의 농도를 측정하였다.

[0236] 그 결과 [도 8]에서 보는 바와 같이, 본 발명의 올란자핀 함유 고분자 미립구는 최고 80일까지 올란자핀을 방출 하는 것을 확인하였다.

[0237] <실시예 10>

[0238] 아나스트로졸 함유 고분자 미립구 제조

[0239] 본 발명의 고분자 미립구 제조방법에 따라 상기 실시예에서 사용된 것과 고분자 종류, 약물 및 봉입량을 달리하여 사용하여 고분자 미립구를 제조하였다.

[0240] <10-1> 아나스트로졸 함유 고분자 미립구 제조

[0241] [표 22]에 따른 포물레이션으로 다양한 조건의 아나스트로졸 함유 고분자 미립구를 제조하였다.

표 22

[0242] 아나스트로졸 함유 고분자 미립구 조성

제조 번호	PLGA 종류	아나스트로졸(mg)
1	5050-4A	429
2	7525-2.5E	429
3	7525-7E	429
4	8515-3E	429
5	8515-4.5E	429
6	100-DL 2E	429

7	7525-2.5E	667
8	8515-4.5E	667

[0243] 아나스트로졸과 PLGA 1000mg을 19ml의 에틸 포르메이트에 넣고 완전히 녹여 분산상을 만든 후, 8ml의 에틸 포르메이트가 첨가되고 4℃로 냉각시킨 0.5% PVA(분산용매)에 넣고 교반하여 유제를 제조하였다. 10M NaOH 34ml을 첨가하여 30분간 교반하였다. 생성된 고분자 미립구를 증류수로 세척 후 33℃의 0.1% PVA에 재분산 하여 교반한 후 여과하고 동결건조하여 고분자 미립구를 제조하였다.

[0244] <10-2> 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구의 기본 특성 평가

[0245] 제조된 고분자 미립구의 수율은 건조 용기에 제조한 고분자 미립구를 넣고 동결건조하여 무게를 측정한 후 다음식에 따라 계산하였다.

[0246] 수율(%) = (고분자 미립구 무게)/(제조시 사용한 고분자와 약물의 무게 합) X 100

[0247] 제조된 고분자 미립구의 봉입량과 봉입율은 다음과 같이 측정하였다.

[0248] 건조된 고분자 미립구 10mg을 아세토니트릴:물=50:50(v/v) 용액에 녹인 후 적당한 배수로 희석하였다. 이 용액을 필터 후 UPLC로 분석하여 봉입량 및 봉입율을 계산하였다. UPLC(Ultra Performance Liquid Chromatography) 분석기기는 Waters사(독일)의 ACQUITY를 사용하였고, 컬럼은 HSS C18(Waters ACQUITY UPLC, 독일)을 사용하였다. 이동상은 조건은 암모늄 아세테이트 버퍼와 아세토니트릴이 50:50으로 혼합된 것을 사용하였으며, 희석액은 아세토니트릴과 물이 50:50으로 혼합된 것을 사용하였다.

[0249] 봉입량(%) = (검출된 약물 무게/마이크로스피어 무게) X 100

[0250] 봉입율(%) = 봉입량/(이론적 봉입량) X 100

[0251] 이론적 봉입량 (%) = (제조시 사용한 약물의 무게)/(제조시 사용한 고분자와 약물의 무게 합) X 100

[0252] 입도 분석은 Malvern mastersizer(Malvern Instruments Ltd, 영국)를 사용하여 측정하였다.

[0253] 잔류용매 양은 <실시에 1>과 같은 방법으로 측정하였으며, 고분자 미립구의 형상은 <실시에 2-2>에서와 같은 방법으로 촬영하였다.

표 23

[0254] 제조된 고분자 미립구의 수득율, 봉입량 및 잔류 용매 농도

제조 번호	수득율 (%)	봉입 량 (%)	봉입 율 (%)	평균 크기 (um)	수분함량 (%)	잔류 EF (%)	잔류 에탄올 (%)
1	82.44	26.6	88.68	56.0	-	N.D.	N.D.
2	82.93	24.68	82.25	44.8	0.47	N.D.	N.D.
3	98.81	25.41	84.71	61.6	-	0.026	N.D.
4	83.55	25.88	86.26	49.9	0.46	N.D.	N.D.
5	85.86	26.41	87.12	59.8	0.51	N.D.	N.D.
6	81.88	25.00	83.34	41.1	0.47	N.D.	N.D.
7	79.48	30.41	76.04	32.5	-	N.D.	N.D.
8	82.42	32.97	82.42	52.7	-	N.D.	N.D.

[0255] 그 결과 [표 23]에서 보는 바와 같이, 수득율 및 봉입율은 거의 80% 이상으로 PLGA 종류에 상관없이 적절하며,

평균 입자크기는 30 내지 60um 수준으로 적절한 것을 확인하였다. 수분함량은 0.5% 수준이며, 잔류용매는 매우 낮은 수치로 시료 종류에 상관없이 적합한 것을 확인하였다.

[0256] 또한 전자현미경 촬영 결과 [도 9]에서 보는 바와 같이 고분자 미립구가 사용된 PLGA의 종류에 상관없이 전반적으로 매끈한 구형으로 잘 제조되었으며, 특히 약물 함량을 40%로 높인 경우에도 표면에 약물의 결정이 관찰되지 아니하고 잘 봉입되었음을 확인하였다.

[0257] <10-3> 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구의 안정성 평가

[0258] 제조된 고분자 미립구 내의 유연물질 분석은 제조번호 8번을 대상으로 이루어졌다. 고분자 미립구에 봉입된 봉입량을 기준으로 API(Active Pharmaceutical Ingredients) 아나스트로졸이 250ug/ml이 되도록 고분자 미립구를 칭량하여 acetonitrile : DW = 50:50 용액에 희석하여 UPLC로 분석하였다.

[0259] GPC 분석을 위하여, 제조된 고분자 미립구 30mg을 3ml (o-CP:chloroform=1:3) 에 녹여 PLgel 5 μ m Mixed-D*2ea 컬럼을 이용하여 40℃ 조건에서 0.7ml/min 으로 하여 RI detector 로 GPC 분석하였다.

[0260] in vivo 안정성 시뮬레이션 시험을 위하여 바닥에 물을 넣어 습도 100%로 만든 데시케이터에 고분자 미립구(제조번호 8번)를 튜브에 담아 넣고, 40℃ 안정성 시험기에 넣는다. 일정 간격(4주, 2달)으로 n=3으로 샘플을 취하여 아세토니트릴로 녹이고 메탄올로 희석하여 약물 함량과 유연물질의 변화를 분석하였다.

[0261] 그 결과 [표 24]에서 보는 바와 같이 본 발명의 고분자 미립구는 평균 0.17%의 유연물질을 가지는 것을 확인하였다. 일반적으로 약물 원료에 대한 유연물질 기준이 총 유연물질 1% 이하, 개별유연물질 0.1% 이하로 관리하는 것과 비교할 때 본 발명의 고분자 미립구 제조과정은 안정성이 확보된 것을 확인하였다.

표 24

[0262] 고분자 미립구의 유연물질 분석 결과

제조 번호	총 유연 물질 (%)	평균 총 유 연 물질(%)
8	0.18	0.17
	0.15	
	0.17	

[0263] 또한 GPC 분석을 통하여 제조 전, 후의 PLGA의 분자량을 측정한 결과 [표 25]에서 보는 바와 같이, 대부분 분자량의 변화가 없는 것을 확인하였다.

표 25

[0264] 제조에 사용된 고분자의 분자량 측정 결과

제조 번호	분자량(Mw)	분자량 보존율(%)
1	38,000	65.5
2	24,412	84.2
3	79,870	68.3
4	37,026	94.9
5	69,843	105.7

6	23,937	108.3
7	27,737	95.6
8	73,065	110.5

[0265] in vivo 안정성 시뮬레이션 결과, [표 26]에서 보는 바와 같이 전 기간내 기간별 평균 총 유연물질 함량(%)은 0.23이하로 나타나며 약물함량은 그 변화가 10% 미만으로 나타나 본 발명의 제조방법은 안정성이 우수함을 확인하였다.

표 26

[0266] in vivo 안정성 시뮬레이션 결과

기간	총 유연물질(%)	약물함량 %	상대함량 %
시작	0.17	33.34±1.19	100.0
4주	0.12	33.95±1.31	101.8
2달	0.23	30.22±0.14	90.6

[0267] <10-4> 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구의 지속성 평가 1 - 시험관 내(in vitro) 방출 실험

[0268] 본 발명의 방법에 의하여 제조된 고분자 미립구의 약물 방출의 지속성을 알아보기 위하여 시험관 내 약물 방출 실험을 수행 하였다.

[0269] 투석용 막(Dialysis membrane, MWCO=12~14KD)에 고분자 미립구를 넣고 투석용 막을 PBS 로 채운다음, 미리 온도 평형을 맞춘 PBS에 넣고 37℃ 항온기에서 지속적으로 저어주며 미리 정한 시간 간격마다 방출된 약물의 양을 측정하였다. 약물 방출이 끝나면 남은 고분자 미립구를 진공건조하여 남아있는 약물의 양을 측정하였다.

[0270] 그 결과 [도 10]에서 보는 바와 같이, 모든 제형의 고분자 미립구에서 잔류 약물이 거의 없이 방출되는 것을 확인하였다. 또한 사용되는 고분자 화합물의 종류에 따라 lactide의 비율이 높아질수록 약물이 서서히 방출되는 것을 확인하였으며, 약물 함량이 높아질수록 방출속도가 빨라지는 것을 확인하였다. 이로서 고분자 미립구 제조에 사용되는 고분자 화합물의 종류 및 봉입되는 약물의 양을 조절하여 방출속도 조절이 가능함을 확인하였다.

[0271] <10-5> 제조된 아나스트로졸 함유 고분자 미립구의 지속성 평가 2 - 동물실험

[0272] 분산성 및 주사성 판단을 위하여 제조된 고분자 미립구에 카복시메틸 셀룰로오스(CMC) 및 트윈 20이 함유된 생리식염수를 첨가하여 현탁액을 만들었다. 이 현탁액을 19G 또는 20G 바늘을 이용하여 1ml 주사기에 빨아들였다 다시 내뿜어서 주사가 가능한지를 살폈다. 고분자 미립구/현탁액 (w/v) 의 10% 농도에서 결과를 판별하였다.

[0273] 랫(rat)에 주사로 투여하는 경우에는 각 제제를 부형제 용액(CMC, Tween20이 포함된 생리식염수(saline))에 현탁하여 투여하였다. 암컷 9주령의 SD 랫을 사용하였으며, 근육에 20 mg/kg로 주사하였다. 이후 정해진 시간마다 혈액을 채취하여 혈중 아나스트로졸 농도를 측정하였다.

[0274] 그 결과 [도 11]에서 보는 바와 같이 본 발명의 방법에 의해 제조된 고분자 미립구는 최고 120일까지 약물을 방출하는 것을 확인하였다.

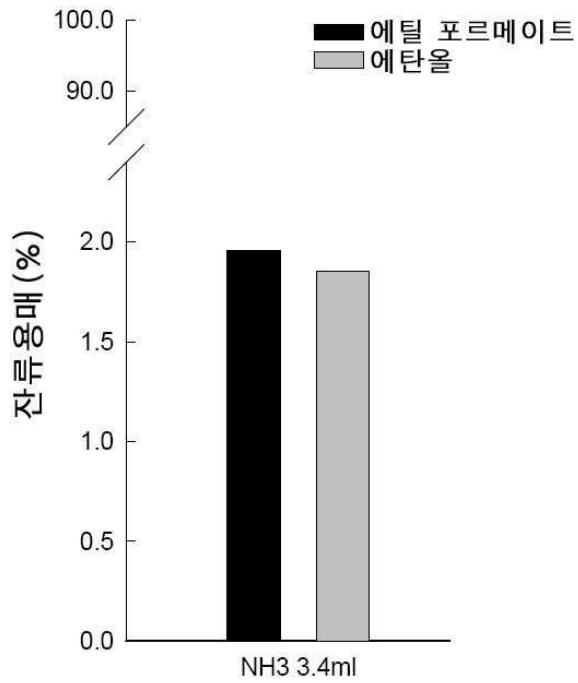
산업상 이용가능성

[0275] 따라서 본 발명은 수불용성 유기용매와 분산용매를 혼합하는 단계 및 수불용성 유기용매를 염기 또는 산을 이용하여 유제에서 제거하는 단계를 포함하는 새로운 고분자 미립구의 제조방법, 상기 제조방법에 따라 제조된 고분자 미립구 및 상기 고분자 미립구를 포함하는 약물 전달용 조성물을 제공한다. 본 발명의 제조방법은 기존의 용매증발 또는 용매추출 공정을 필요로 하지 않고, 적은 양의 물을 사용하여 폐수 발생을 최소화하면서 빠른 시간

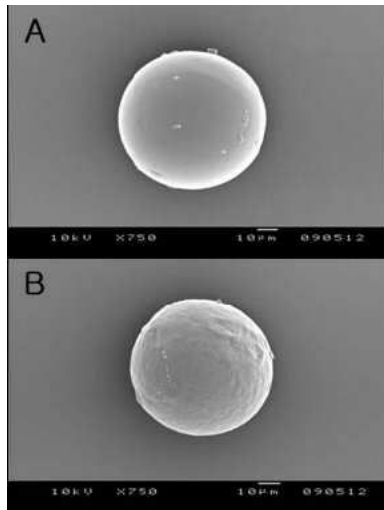
내에 간편하게 목적하는 약물 함유 고분자 미립구를 제조할 수 있으며 제조된 고분자 미립구 내의 잔류용매의 농도를 낮게 유지할 수 있어 지속 방출형 의약품 제조에 효과적이어서 산업상 이용가능성이 높다.

도면

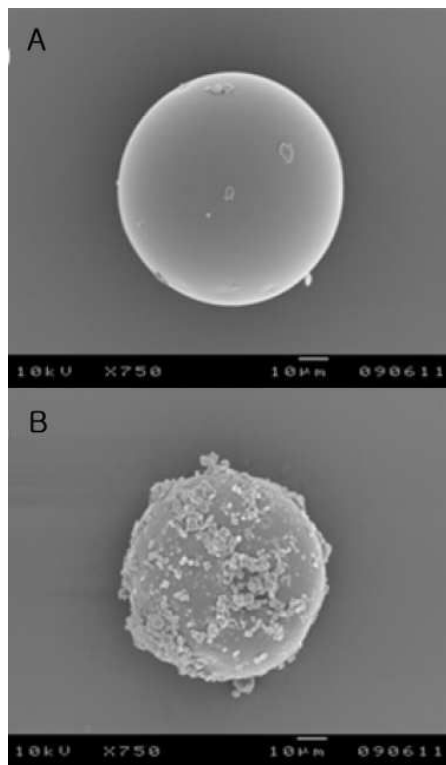
도면1



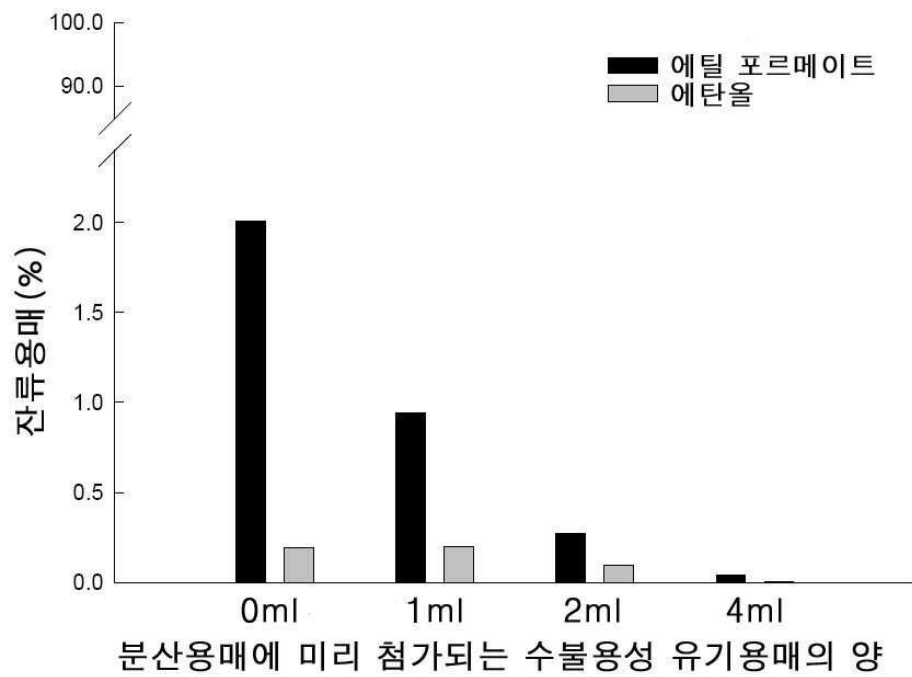
도면2



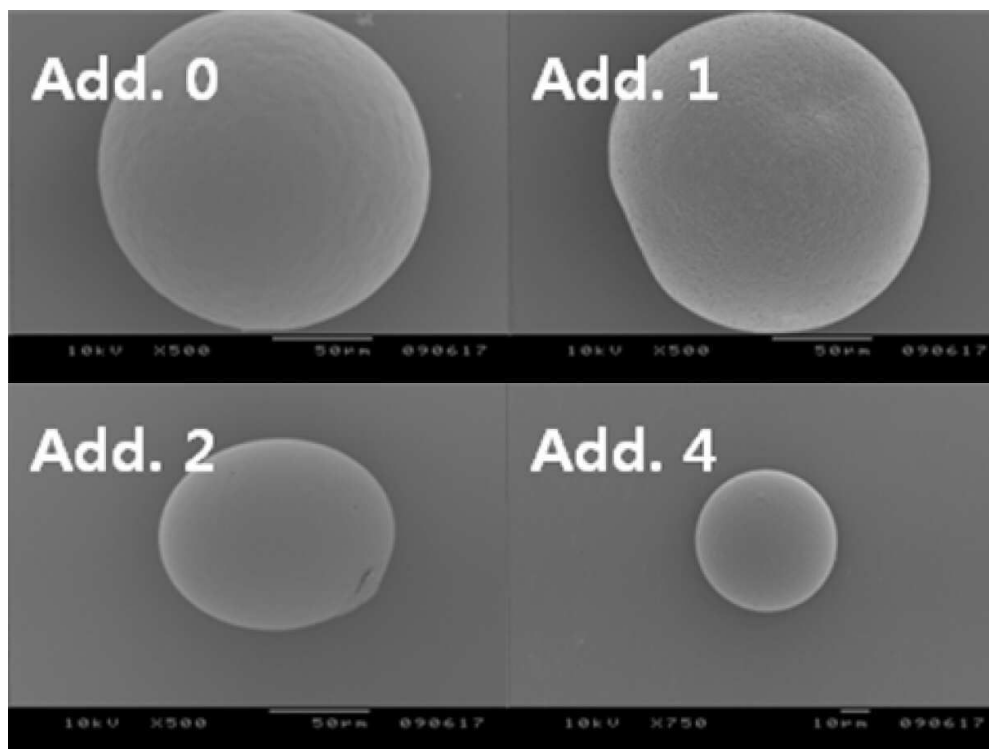
도면3



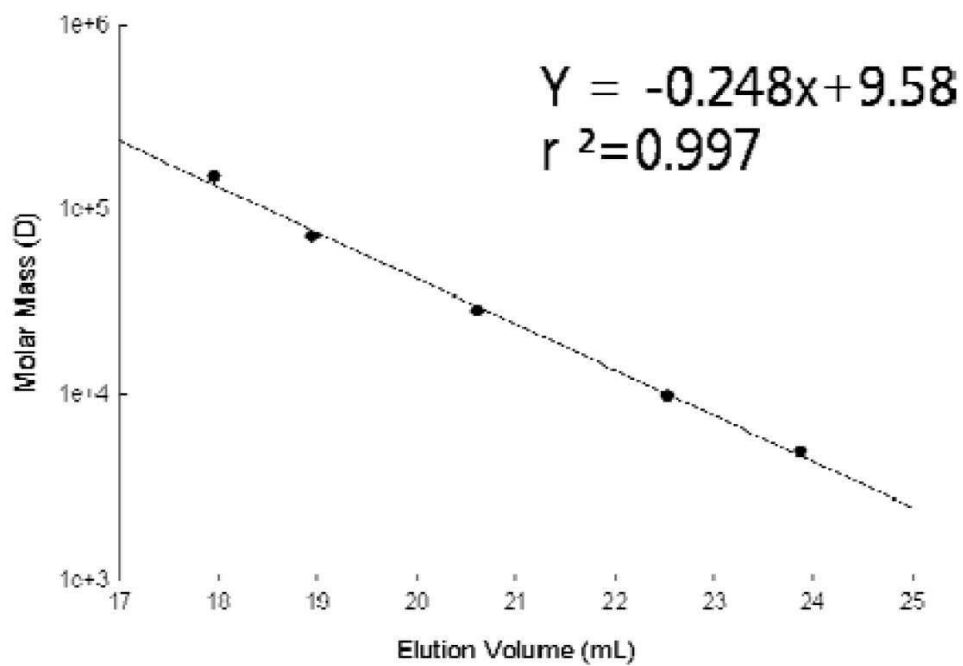
도면4



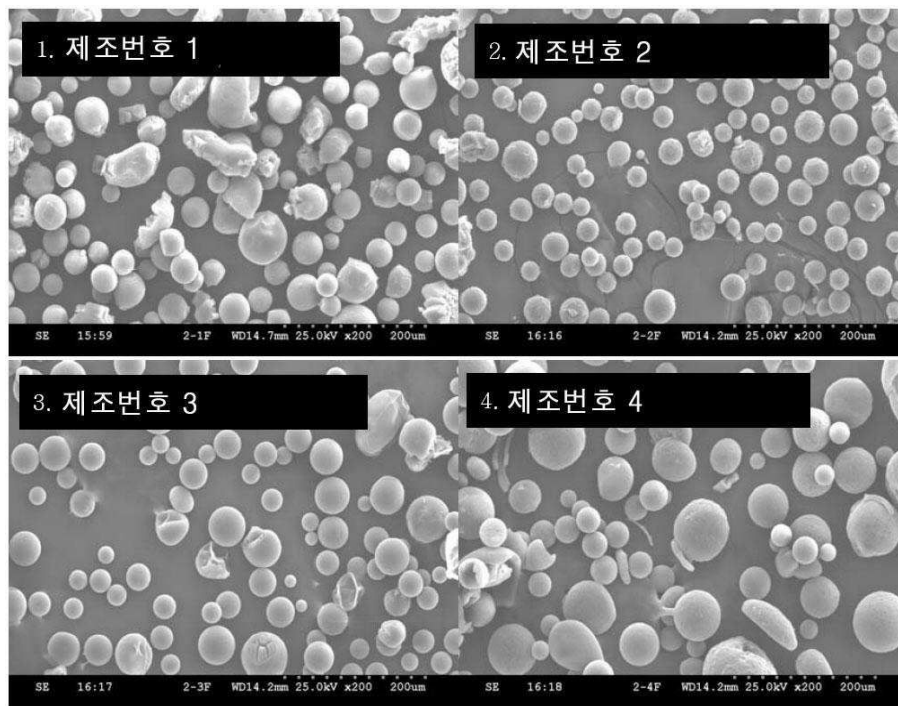
도면5



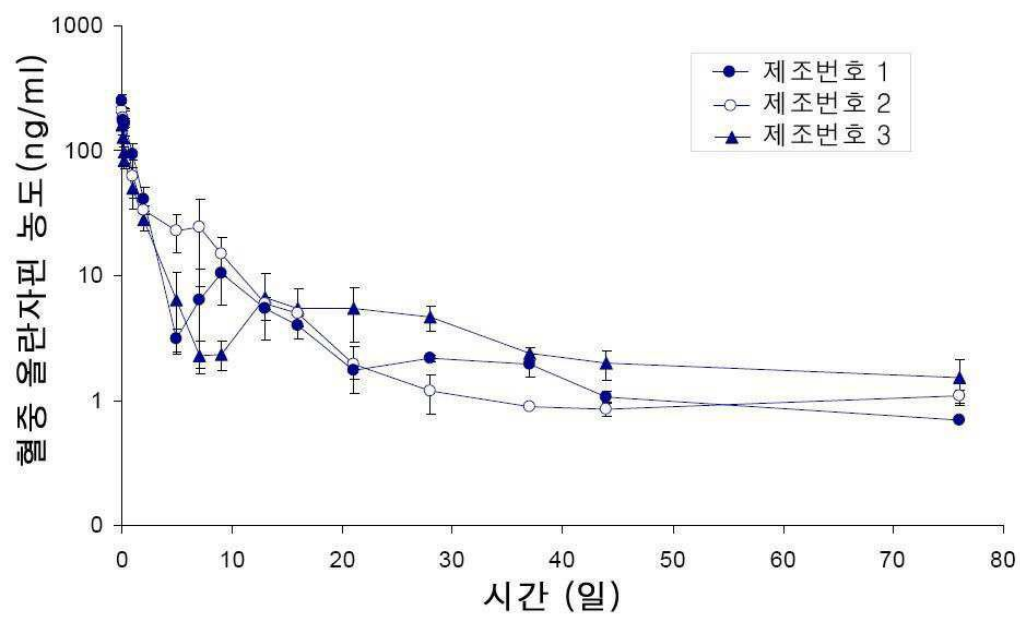
도면6



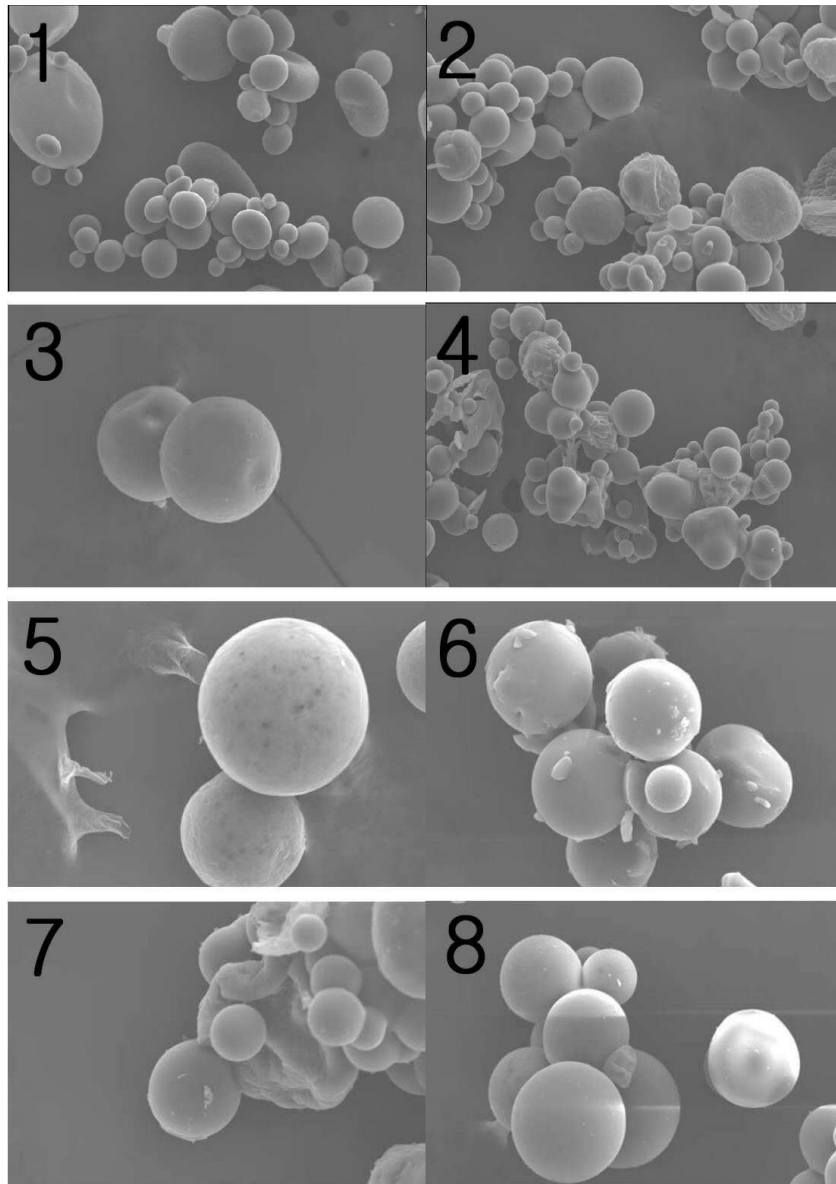
도면7



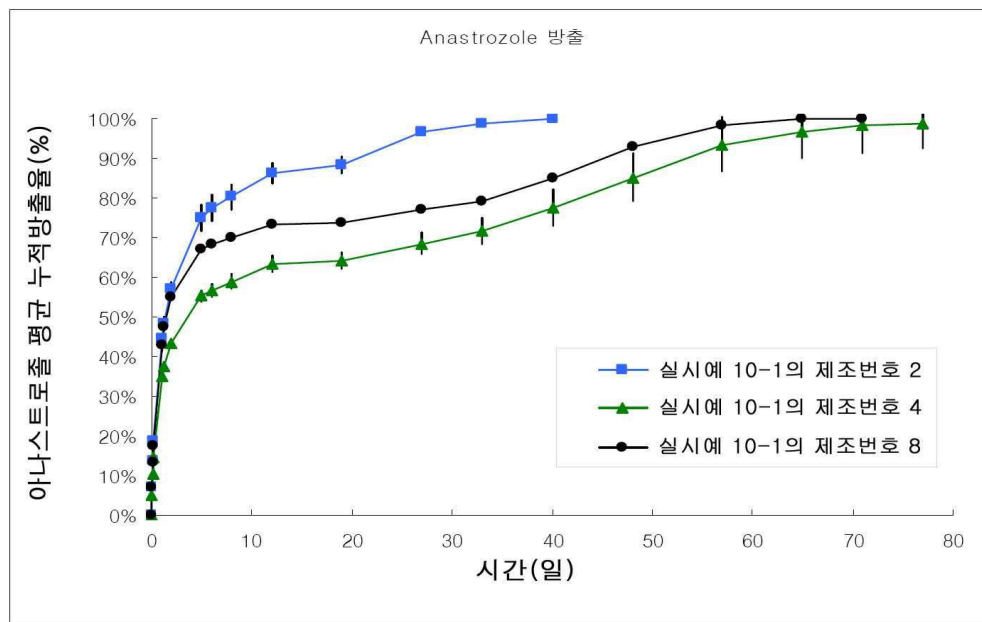
도면8



도면9



도면10



도면11

