



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년11월02일
(11) 등록번호 10-1793101
(24) 등록일자 2017년10월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/107 (2006.01) A61K 31/7036 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) A61K 9/16 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7006779
(22) 출원일자(국제) 2010년12월17일
심사청구일자 2015년12월11일
(85) 번역문제출일자 2013년03월18일
(65) 공개번호 10-2013-0112870
(43) 공개일자 2013년10월14일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/061015
(87) 국제공개번호 WO 2012/023955
국제공개일자 2012년02월23일
(30) 우선권주장
61/375,502 2010년08월20일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
W02007133711 A2*
European Journal of Pharmaceutics and
Biopharmaceutics 58 (2004) 587-593
Seminars in Pediatric Infectious Diseases,
Vol 8, No 2(April), 1997: pp105-110
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
닥터 레드스 래보러토리즈 에스에이
스위스 바젤 4051 엘리자베텐안라게 11
(72) 발명자
첸 헤일리앙
미국 92130 캘리포니아 샌디에고 #136 카멜 카운
티 로드 12638
첸 앤드류 지안
미국 92130 캘리포니아 샌디에고 윈스턴리 웨이
13629
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
백덕열

전체 청구항 수 : 총 14 항

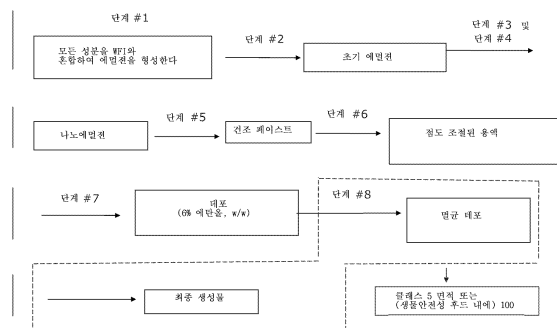
심사관 : 김훈석

(54) 발명의 명칭 인지질 데포

(57) 요약

본 발명은 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 오일, 경우에 따라 pH 조절제, 및 에탄올, 이소프로판올, 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 점도조절제를 포함하는 투명 데포로서 상기 데포 중에 존재하는 물이 상기 데포의 전체 중량에 대하여 약 4 중량% 이하이고 또 상기 데포는 약 3 내지 약 6 사이의 pH를 갖는 투명 데포, 및 그를 제조하고 투여하는 방법을 제공한다.

대표도



(72) 발명자

수라칸티 두스히안쓰

미국 08807 뉴저지 브릿지워터 7층 소머셋 코포레
이트 빌딩 200

오쿠무 프랭클린

미국 94611 캘리포니아 오크랜드 피드몬트 애비뉴
4096

명세서

청구범위

청구항 1

(1) 인지질; 오일; 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제; 및 물을 포함하는 수중유형(oil-in-water) 에멀전을 형성하는 단계;

(2) 상기 에멀전을 pH 3 내지 6을 갖는 단상(monophasic) 용액으로 전환하는 단계;

(3) 상기 단상 용액을 동결건조시켜 건조 페이스트를 얻는 단계;

(4) 상기 건조 페이스트에 점도조절제를 점도 조절된 용액을 얻기 위해 75 중량% 이상의 양으로 추가하는 단계;

(5) 점도조절제의 일부를 제거하여 데포(depot)를 얻는 단계; 및

(6) 상기 데포를 멸균하는 단계를 포함하고,

상기 점도조절제는 에탄올 및 이소프로판올 또는 그의 혼합물로부터 선택되는, 데포의 제조 방법으로서, 상기 데포 중에 존재하는 점도조절제의 양은 상기 데포의 전체 중량에 대하여 2 중량% 내지 18 중량%이고, 상기 데포 중에 존재하는 물의 양은 데포의 전체 중량에 대하여 2 중량% 이하인 데포의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 수중유형 에멀전을 형성하는 단계는 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제를 물에 용해시켜 수용액을 얻고; 또 상기 수용액을 인지질 및 오일과 혼합하는 것을 포함하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 에멀전을 단상 용액으로 전환하는 단계는 상기 에멀전을 균질화하여 초기 에멀전(primary emulsion)을 얻는 단계 및 상기 초기 에멀전을 미소유동화(microfluidize)하여 단상 용액을 얻는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

제1항 또는 제3항에 있어서, 안정화제 또는 pH 조절제를 상기 에멀전, 초기 에멀전 또는 단상 용액에 추가하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 안정화제는 EDTA 디소듐, 글리신, L-히스티딘, 시트르산, 메티오닌, 아스코르브산, L-시스테인, 알파-토코페롤, 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, 점도 조절된 용액을 얻기 위하여 추가된 점도조절제의 양은 점도 조절된 용액의 전체 중량에 대하여 25 중량% 이상인 방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

제1항의 방법으로 제조한 데포.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 데포의 점도가 1 센티포아즈 내지 5000 센티포아즈인 데포.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 데포의 pH가 3 내지 6인 데포.

청구항 12

반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 오일, pH 조절제, 및 에탄올, 이소프로판올, 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 점도조절제를 포함하는 데포이며, 상기 데포에 존재하는 물은 상기 데포의 전체 중량에 대하여 2 중량% 이하이고, 상기 데포 중에 존재하는 점도조절제의 양은 상기 데포의 전체 중량에 대하여 2 중량% 내지 18 중량%이며, 또 상기 데포는 3 내지 6의 pH를 갖는, 데포.

청구항 13

반코마이신 히드로클로라이드 및 젠타마이신 설페이트, 물, 인지질, 오일, pH 조절제, 및 에탄올을 포함하는 투명 데포이고, 상기 데포 중에 존재하는 물은 상기 데포의 전체 중량에 대하여 2 중량% 이하이며, 상기 데포 중에 존재하는 에탄올의 양은 상기 데포의 전체 중량에 대하여 2 중량% 내지 18 중량%이며, 또 상기 데포는 3 내지 6 사이의 pH를 갖는, 투명 데포.

청구항 14

삭제

청구항 15

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 데포의 점도는 100 센티포아즈 내지 5000 센티포아즈인 데포.

청구항 16

제9항, 제12항 또는 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 데포는 그를 필요로 하는 환자에게 피부내, 절개창, 근육내, 피하, 주입 또는 국소적으로 투여되고, 상기 데포는 0.1 mL 내지 100 mL의 투여 부피에 의해 최소 하루의 기간에 걸쳐 약학적 활성제를 방출하는 것을 특징으로 하는, 데포.

청구항 17

제9항, 제12항 또는 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 외과수술 부위 감염 치료용으로서, 상기 데포는 0.1 mL 내지 100 mL의 투여 부피에 의해 최소 하루의 기간에 걸쳐 약학적 활성제를 방출하는, 데포.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 교차 참고

[0002] 본 출원은 그 내용이 참조에 의해 본 명세서에 포함되는, 2010년 8월 20일 출원된 미국 특허 가출원 번호 61/375,502호의 출원일을 우선권 주장한다.

[0003] 본 발명은 인지질 데포에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 데포(depot)는 전신적 또는 국소 작용을 위해 환자 몸에 활성 성분을 투여하는 한가지 방법이다. 이는 피하주사 또는 근육내 주사에 의해 또는 다른 체내 조직, 혈관 또는 공동(cavities)에 주입(instillation)하는 것에 의해 일반적으로 투여된다. 데포는 지혈처리되거나, 봉합되거나, 밴드를 붙이거나 또는 다른 방식으로 밀폐되기 전의 상처에 적용될 수 있다. 제거가능한 데포와는 달리, 생분해성(biodegradable) 데포는 소정 시간 내에, 전형적으로 포획된 활성 약물 성분이 전달되기 전에 붕해 또는 분해된다. 다른 구조에서는, 상기 생분해성 주사가능한 데포는 그의 점진적 분해와 동시에 또는 그의 점진적 분해의 작용으로 대개 그의 활성 약물 성분을 방출한다. 특정 생분해성 전달 데포의 주요 이점은 전신적 레벨과 비교할 때 원하는 작용 부위에 약물을 직접적으로 전달 하여 약물의 증가된 국소 농도를 제공하는 능력이다.

- [0005] 데포는 약물 전달을 조절하여 다양한 방출 프로파일(profiles)을 가능하게 할 수 있다. 상기 방출 프로파일은 즉각적 방출(파열(burst))에 이은 안정 상태일 수 있으며, 다른 것 중에서도, "0차(zero order)" 전달 또는 일정한 속도의 전달일 수 있고, 안정 상태로 향한 느린 증가를 제공할 수 있거나, 또는 지연 방출을 제공할 수 있다. 또한, 데포는 단일 투여에 의해 연장된 기간에 걸친 방출을 허용하는 이점을 갖는다. 혈중 수준은 예를 들어, 환자 순응성 문제에 의해 상충되지 않는다.
- [0006] 데포는 미소구-계(microsphere-based) 데포 및 나노구계(nanosphere-based) 데포와 같은 미립자 계로 이루어질 수 있거나, 또는 생분해성 겔로 이루어질 수 있고, 전형적으로 용해성 매트릭스 형성제(중합체, 지질, 탄수화물) 및 유기 용매 또는 수산화성 및 불산화성 용매의 혼합물로 이루어질 수 있다.
- [0007] 인지질은 친유성 약리 활성제를 포함하는 데포를 제조하기 위해 사용되어 왔다. 인지질은 오일 또는 유기 용매에 용해성이지만 물에는 불용성이다. 데포를 형성하기 위하여, 고농도의 데포-형성 인지질이 흔히 요구된다. 이는 생성하는 데포의 부피와 점도에 영향을 줄 수 있고, 또 따라서, 현재 입수가 가능한 인지질 데포는 통상의 바늘 또는 주사기를 통해서 주사하기가 아주 어려울 수 있다. 인지질계 제형을 기재하는 참고문헌은 WO 89/00077호, WO 02/32395호, EP 0282405호 및 미국 특허번호 5,863,549호, 4,252,793호, 5,660,854호, 5,693,337호 및 Wang et al., Lyophilization Of Water-In-Oil Emulsions To Prepare Phospholipid-based Anhydrous Reverse Micelles For Oral Peptide Delivery, 39 European Journal of Pharmaceutical Sciences, 373-79 (2010)를 포함한다.
- [0008] 반코마이신은, 그람 양성(Gram-positive) 세균에 의해 유발된 감염을 예방 및 치료하는데 사용되는 글리코펩티드(glycopeptide) 항생물질이다. 이것은 약물 알레르기 또는 내성으로 인하여 β -락탐이 사용될 수 없을 때, 예스. 아우레우스(*S. aureus*), 코아굴라제(coagulase)-음성 스태필로코커스(*staphylococci*), 스트렙토코커스 뉴모니아제(*streptococcus pneumoniae*), β -용혈성 스트렙토코커스(*streptococci*), 코리네박테리움(*corynebacterium*) 그룹 JK, 비리단스 스트렙토코커스(*viridans streptococci*), 또는 엔테로코커스(*enterococci*)와 같은 것에 의해 유발된 심각한 감염 및 심내막염에 대하여 일반적으로 선택되는 약물이다. 반코마이신은 그 중에서도, 메티실린(methicillin)-내성 코아굴라제-음성 스태필로코커스성 인공판막(prosthetic valve) 심내막염(endocarditis), 및 엔테로코커스성 심내막염을 치료할 때 다른 항균제(antimicrobials)와 조합될 수 있다. 이것은 또한 감소된 페니실린 감수성을 갖는 균주(strains)에 의해 유발된 뉴모코커스 메닝기티스(pneumococcal meningitis)에 대한 대체제로서 사용되어 왔다. 반코마이신은 외과 수술후 감염을 방지하기 위하여 심장 및 혈관 수술에서 사용되고 있다. 참고: Rybak et al., Vancomycin Therapeutic Guidelines: A Summary of Consensus Recommendations From The Infectious Diseases Society of America, The American Society Of Health-System Pharmacists, and The Society Of Infectious Disease Pharmacists, CID 2009:49 (1 August), pg. 325.
- [0009] 젠타마이신은 다양한 유형의 세균 감염, 특히 감수성(susceptible) 그람 음성 세균에 의해 유발된 세균 감염을 치료하기 위하여 사용된 아미노글리코사이드 항생물질이다. 이것은 슈도모나스 아에로기노사(*pseudomonas aeruginosa*) 및 에세리키아 콜리(*escherichia coli*)와 같은 병원체에 대하여 작용하기 때문에 외과 세팅에 사용되어 왔다. 젠타마이신은 다른 외과적 적용(예컨대 정형외과 세팅에서 골 시멘트와 함께 배합)에서 사용되어 왔다. 생분해성 콜라겐 이식물(스폰지)에 의해 함침된 젠타마이신은 외과 부위 감염(SSI) 방지용으로 미국 밖의 몇 개 시장에서 현재 사용되고 있다. 그러나, 2개의 대형 피보탈 상 III(pivotal phase III) 연구에 의해, 젠타마이신 스폰지를 받는 환자(직장 수술)에서 고발생율의 SSI 및 SSI의 발생을 대 치료 표준(심장흉부 수술)에서 아무런 차이가 없음이 밝혀졌다. 참고: 일반적으로, E. Bennett-Guerrero, NEJM, 2010, 1-10; and E. Bennett-Guerrero, JAMA, August 18, 2010, 755-762.
- [0010] 반코마이신과 젠타마이신 모두는 매우 친수성인 항생물질이다. 이들은 인지질 또는 오일에 자유로이 용해되지 않기 때문에 인지질 또는 기타 고 오일상 함량 제형을 기본으로 하는 주사가 가능한 데포로 제형화하기 어렵다.
- [0011] 또한, 일련의 안정성 시험을 실시하는 것에 의해, 반코마이신과 젠타마이신은 상이한 메카니즘에 의해 분해되는 것이 밝혀졌다. 반코마이신은 가수분해를 통하여 안정성을 상실하는 반면에 젠타마이신은 산화 또는 부가물 형성으로 인하여 분해된다. 따라서, 이들 활성제 중의 하나를 함유하는 제형은 일반적으로 이들 조건에 민감하다. 더구나, 반코마이신 및 젠타마이신은 열민감성이어서 오토클레이브처리 또는 감마-방사선과 같이 열을 사용하는 것에 의해서는 멸균될 수 없다.
- [0012] 따라서, 반코마이신, 젠타마이신 또는 이들 양쪽을 인지질 및 오일과 함께 포함하는 데포를 제형화하는 것은 많은 실질적 도전을 제공한다. 이러한 속성은 상기 제형이 약 0.2 미크론 이하의 기공(pore)을 갖는 것과 같은 멸

균 막을 통하여 여과하는 것에 의해 멸균되어야 하기 때문에 상기 제형이 고점도 특징을 가지지 않아야 하는 것을 포함한다. 또한 특정의 양분된 문제가 존재한다. 예를 들어, 이들 2개의 특정 활성제는 점도와 같은 인지질과의 상용성 문제를 지니고 있어, 인지질을 함량을 낮게 유지시킬 필요를 제시한다. 그러나, 결합성 및 응집성 겔 형성 및 적합한 방출 특징에 대한 필요성은 상반되는 것을 제시한다.

[0013] 따라서, 피하주사 또는 근육내 주사에 의해, 절개창(intraincisional) 주사에 의해 또는 외과 상처 또는 기타 체조직(body tissue), 혈관 또는 공동에 배치되는 것에 의해 투여될 수 있는 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적 염 또는 그의 혼합물을 함유하는 저장 안정성 인지질 데포가 오랫동안 요구되고 있다.

발명의 내용

[0014] 발명의 요약

[0015] 본 발명의 일 관점은 (1) 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 및 오일을 혼합하여 수중유형(oil-in-water) "에멀전"을 형성하는 단계; (2) 상기 에멀전을 균질화(homogenizing)하여 "초기 에멀전"을 얻는 단계; (3) 상기 초기 에멀전을 미소유동화(microfluidize)하여 "단상(monophasic) 용액"을 얻는 단계; (4) 필요에 따라 pH를 조절하는 것에 의해 초기 에멀전 및/또는 단상 용액의 pH를 약 3 내지 약 6, 및 일 실시양태에서, 약 3 내지 약 5, 또 다른 실시양태에서, 약 3 내지 약 4가 되도록 하는 단계; (5) 소망하는 pH의 상기 단상 용액을 동결건조시켜 건조 페이스트를 얻는 단계; (6) 상기 건조 페이스트에 점도조절제를 충분한량으로 부가하여 투명 용액을 얻는 단계; (7) 점도조절제의 적어도 일부를 상기 투명 용액으로부터 제거하여 전체 중량에 대하여 약 5.5 중량% 내지 약 7.5 중량%의 점도조절제를 갖는 데포를 얻는 단계; 및 (8) 상기 데포를 여과에 의해 멸균하는 단계를 포함하는, 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제를 포함하는 데포를 제조하는 방법을 제공한다.

[0016] 일 실시양태에서, 상기 에멀전과 초기 에멀전을 형성하는 단계들은 생성하는 생성물이 초기 에멀전인 한 1 단계로 조합될 수 있다. 다른 실시양태에서, 상기 초기 에멀전 및 단상 용액을 형성하는 단계들은 생성하는 생성물이 단상 용액인 한 1 단계로 조합될 수 있다. 다른 실시양태에서, 상기 에멀전, 초기 에멀전, 및 단상 용액을 형성하는 단계들은 1 단계로 조합될 수 있으므로, 직접적으로 단상 용액으로 될 수 있다.

[0017] 일 실시양태에서, 데포에 존재하는 물은 데포의 전체 중량에 대하여 약 4 중량% 이하이다. 다른 실시양태에서, 데포의 물 함량은 약 2 중량% 이하, 더 다른 실시양태에서, 약 1 중량% 이하이다. 다른 실시양태에서, 데포의 전체 중량에 대하여 약 0.5 중량% 이하의 물이 존재한다. 다른 실시양태에서, 상기 약학적 활성제는 반코마이신 히드로클로라이드 및 젠타마이신 설페이트이다. 다른 실시양태에서, 상기 데포는 투명(clear)하고, 또 더 다른 실시양태에서, 상기 데포는 아주 투명하다.

[0018] 본 발명의 다른 요지는 (1) 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제를 물에 용해시켜 수용액을 형성하는 단계; (2) 인지질, 오일, 및 수용액을 포함하는 수중유형(oil-in-water) 에멀전을 형성하는 단계; (3) 상기 에멀전을 균질화시켜 초기 에멀전을 형성하는 단계; (4) 상기 초기 에멀전을 미소유동화시켜 단상 용액을 얻는 단계; (5) 필요에 따라 에멀전, 초기 에멀전 및/또는 단상 용액의 pH를 약 3 내지 약 6, 다른 실시양태에서, 약 3 내지 약 5, 및 다른 실시양태에서, 약 3 내지 약 4로 조절하는 단계; (6) 소망하는 pH의 상기 단상 용액을 동결건조시켜 건조 페이스트를 얻는 단계, (7) 상기 건조 페이스트에 점도조절제를 소망하는 점도 및/또는 소망하는 투명성을 얻기에 충분한 양으로 부가하는 단계; (8) 상기 점도 조절된 용액을 예비여과(pre-filtering)하여 투명 용액을 얻는 단계; (9) 상기 투명 용액으로부터 적어도 일부의 점도조절제를 제거하여 데포의 전체 중량에 대하여 약 5.5 중량% 내지 약 7.5 중량%의 점도조절제를 갖는 데포를 얻는 단계; 및 (10) 실질적 가열없이 데포를 멸균시키는 단계를 포함하는, 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제를 포함하는 투명 데포를 제조하는 방법을 제공한다. 이러한 멸균 과정은 다른 방법 중에서도 여과에 의해 실시될 수 있다. 다른 실시양태에서, 예비여과 및 점도조절제 제거는 선택적 단계이다. 일 실시양태에서, 상기 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제는 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물이다.

[0019] 본 발명의 다른 요지는 (1) 인지질, 오일, 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제 및 물을 포함하는 수중유형(oil-in-water) 에멀전을 형성하는 단계; (2) 상기 에멀전을 약 3 내지 약 6 범위의 pH를 갖는 단상 용액을 으로 전환하는 단계; (3) 상기 단상 용액을 동결건조시켜 건조 페이스트를 얻는 단계; (4) 상기 건조 페이스트에 점도조절제를 부가하여 점도 조절된 용액을 얻는 단계; (5) 적어도 일부의 점도조절제를 제거하여 데포를 얻는

단계; 및 (6) 상기 데포를 멸균시키는 단계(이때 상기 데포는 투명함)를 포함하는, 데포를 제조하는 방법을 제공한다.

- [0020] 일 실시양태에서, 상기 방법은 또한 주사기, 바이얼 또는 데포를 처리 부위 또는 상처로 저장 및/또는 전달할 수 있는 기타 적절한 장치에 상기 데포를 무균적으로 충전하는 단계를 더 포함한다.
- [0021] 본 발명의 다른 요지에 따르면, 안정화제는 약학적으로 허용되는 성분(들)과 함께 경우에 따라 물에 용해된다. 본 발명의 다른 요지에서, 안정화제는 약학적으로 허용되는 성분(들), 물, 인지질, 및 오일과 함께 경우에 따라 혼합된다. 상기 안정화제의 예는, 비제한적으로, EDTA 디소듐, 글리신, L-히스티딘, 시트르산, 메티오닌, 아스코르브산, L-시스테인, 알파-토코페롤, 및 그의 혼합물을 포함한다. 본 발명의 다른 요지에서, 상기 데포는 안정화제를 포함하지 않는다.
- [0022] 일 실시양태에서, 상기 수중유형 에멀전을 형성하는 단계에서, 물 부가량은 생성 에멀전의 전체 중량에 대하여 약 60 중량% 내지 약 80 중량%이다. 다른 실시양태에서, 상기 수중유형 에멀전을 형성하는 단계에서 에멀전 중의 물의 양은 에멀전의 중량의 약 2배이다.
- [0023] 다른 실시양태에서, 초기 에멀전을 미소유동화하는 단계 이후, 본 명세서에서 "나노에멀전"이라 지칭되는 단상 용액이 초래되며, 상기 나노에멀전 점적(droplet) 크기는 약 120 nm 미만, 약 100 nm 미만, 또는 약 80 nm 미만의 평균 직경을 갖는다.
- [0024] 나노에멀전/단상 용액의 점적 크기의 평균 직경의 감소는, 비제한적으로, 생성하는 단상 용액의 점도를 감소시킬 것이라 믿어지며, 오토클레이브처리 또는 감마방사선 멸균과 같이 반코마이신 및/또는 젠타마이신의 안정성에 영향을 줄 수 있열을 기본한(heat-based) 멸균을 이용한 것에 비하여 필터를 통한 멸균을 허용한다.
- [0025] 미소유동화하는 단계 이전에, 상기 초기 에멀전은 일반적으로 백색이고, 불투명하며, 걸쭉한(thick) 요구르트와 같은 덩어리이다. 미소유동화 후, 생성한 단상 용액은 일반적으로 투명, 반투명하며 점도 및 유동특성에서 물과 유사하다.
- [0026] 본 발명은 특정 동작 이론에 얽매이지 않으나, 아주 친수성인 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 혼합물은 인지질과 제형화되어 본 명세서에서 정의된 바와 같은 단상 용액을 형성하여, 소망하는 특성을 갖는 저장 안정한 데포를 초래하는 것으로 추정된다. 미소유동화하는 동안 제공된 극히 소량의 나노에멀전 점적은 관여될 수 있는, 다른 인자 중에서, 생성될 데포의 최종 특성에서 중요할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 다른 실시양태에 따르면, 상기 에멀전, 초기 에멀전 및/또는 단상 용액의 pH는 약 3 내지 약 6, 약 3 내지 약 5, 또는 약 3 내지 약 4이다. 상기 범위가 아니면, 상기 pH는 소망하는 범위내에 들도록 조절될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 실시양태에 따르면, 최종 생성물인 상기 데포의 pH는 약 3 내지 약 6, 약 3 내지 약 5, 및 다른 실시양태에서, 약 3 내지 약 4이다.
- [0029] 본 발명의 다른 요지는 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 및 하나 이상의 오일, 경우에 따라 pH 조절제, 및 점도조절제를 포함하는 데포이며, 상기 데포 중에 존재하는 물은 데포의 전체 중량에 대하여 약 4 중량% 이하, 약 2 중량% 이하, 약 1 중량% 이하, 또는 약 0.5 중량% 이하의 물이다. 다른 실시양태에서, 상기 데포는 주사기로 주사가능하다.
- [0030] 본 발명의 일 실시양태에서, 상기 데포는 반코마이신 및 젠타마이신을 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 데포는 반코마이신 및 젠타마이신의 하나 또는 양쪽의 약학적 염을 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 데포는 반코마이신 또는 젠타마이신을 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 데포는 반코마이신 또는 젠타마이신의 약학적 염을 포함한다.
- [0031] 본 발명에 따른 상기 데포는, 일 실시양태에서, "투명"하다. 이것은 포획된 공기, 외래 물질 등을 볼 수 있게 하는 이점이 있어 이들이 바람직하지 않게 몸에 도입되는 것을 방지한다. 재미있게는, 반코마이신 및 젠타마이신 양쪽이 데포에 존재할 때, 본 발명의 데포는, 데포가 반코마이신 또는 젠타마이신 단독을 함유할 때에 비하여 더 투명하다. 반코마이신 및 젠타마이신이 데포에 존재하는 실시양태에서, 이러한 데포의 투명성은 본 명세서에 정의된 바와 같이 "아주 투명"하다. 상기 데포가 반코마이신 또는 젠타마이신을 함유하는 일 실시양태에서, 이러한 데포의 투명성은 "반투명" 또는 "투명"하다.

- [0032] 일 실시양태에서, 상기 점도조절제는 에탄올이며, 상기 데포 중에 존재하는 에탄올의 양은 약 3 중량% 내지 약 25.0 중량%, 약 4 중량% 내지 약 10 중량%이다. 다른 실시양태에서, 존재하는 에탄올의 양은 데포의 전체 중량에 대하여 약 5 중량% 내지 약 6.5 중량%이다. 다른 실시양태에서, 상기 점도조절제는 무수 에탄올이다.
- [0033] 일 실시양태에서, 상기 점도조절제는 점도조절제의 양이 점도 조절된 용액의 약 75 중량% 이상일 때까지 건조 페이스트에 부가될 수 있다. 다른 실시양태에서, 점도조절제의 양은 약 50 중량% 이상이며, 다른 실시양태에서, 약 30 중량% 이상이다. 마지막으로, 점도조절제의 양은 점도 조절된 용액의 전체 중량에 대하여 약 25 중량% 이상이다.
- [0034] 다른 실시양태에서, 상기 데포 중에 존재하는 인지질의 양은 데포의 전체 중량에 대하여 약 5 중량% 내지 약 95 중량%, 및 다른 실시양태에서, 약 25 중량% 내지 약 75 중량%이다. 다른 실시양태에서, 인지질의 양은 약 35 중량% 내지 약 60 중량%이다.
- [0035] 본 발명의 다른 실시양태에 따르면, 상기 데포 중에 존재하는 오일의 양은 데포의 전체 중량에 대하여 약 5 중량% 내지 약 95 중량%, 다른 실시양태에서, 약 25 중량% 내지 약 75 중량%이다. 다른 실시양태에서, 오일의 양은 데포의 전체 중량에 대하여 약 35 중량% 내지 약 60 중량% 범위이다.
- [0036] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 매질로서 탈이온수 500 ml를 사용하는 USP 방법 I에 따라 측정할 때 2시간에 약 80% 이하의 반코마이신 및/또는 젠타마이신이 방출된다. 다른 실시양태에서, 매질로서 탈이온수 500 ml를 사용하는 USP 방법 I에 따라 측정할 때 2시간에 약 50% 이하, 다른 실시양태에서, 약 20% 이하의 반코마이신 및/또는 젠타마이신이 방출된다.
- [0037] 본 발명의 다른 요지에 따르면, 상기 데포는 반코마이신, 젠타마이신 또는 양쪽의 안정성을 개선시키기 위한 안정화제를 경우에 따라 포함한다. 상기 안정화제의 예는 비제한적으로 EDTA (디소듐 에텐테이트), 글리신, L-히스티딘, 시트르산, 메티오닌, 아스코르브산, L-시스테인, 알파-토코페롤, 및 그의 혼합물을 포함한다. 본 발명의 다른 요지에 따르면, 상기 데포는 안정화제를 함유하지 않는다. 더 다른 실시양태에서, 사용된 안정화제(있다면)의 양은 데포 중의 각 활성인 반코마이신 또는 젠타마이신의 안정성에 나쁜 영향을 주지 않을 것이다.
- [0038] 본 발명의 다른 요지에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 데포는 도포기(applicator), 주사기, 바이얼 또는 상기 데포를 처리 부위, 데포 부위 또는 상처에 저장 및/또는 전달할 수 있는 다른 장치에 제공된다.
- [0039] 본 발명의 다른 요지는 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 오일, 경우에 따라 pH 조절제 및 점도조절제를 포함하는 본 발명의 상기 데포를 치료를 필요로 하는 환자에게 피부내, 근육내, 절개창, 피하, 주입 또는 국소적으로 투여하는 방법이다.
- [0040] 본 발명의 다른 요지는 본 발명의 데포를 도입하는 것에 의해 외과수술 후 감염을 예방 및/또는 치료하는 방법이다.
- [0041] 본 발명의 다른 요지는 신장 및/또는 기타 기관에 대한 독성없이 또 세균의 약물 내성 균주의 출현에 기여하지 않고 국소 부위에서 감염을 치료 및/또는 예방하기에 충분한 높은 국소 조직 농도를 달성하는 본 발명의 데포를 투여하는 것을 포함하는, 감염을 예방 및/또는 치료하는 방법이다.
- [0042] 다른 요지에서, 본 발명의 데포를 상처에 투여하는 것에 의해 국소 조직이 병원성 미생물을 유지할 수 없게 만드는 방법이 제공된다.
- [0043] 본 발명의 다른 요지는 신장 및 기타 기관에 대한 독성을 유발하지 않고 또 세균의 약물 내성 균주의 출현을 유발하지 않으면서 본 발명의 데포를 투여하는 것에 의해 국소 조직이 병원성 미생물을 유지할 수 없게 만드는 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0044] 도 1은 본 발명의 요지에 따른 본 발명의 조성물을 제조하는 방법의 일 구체예의 공정 플로우 다이어그램이다.
- 도 2는 오토클레이브 처리 후 실시예 1의 제형의 반코마이신 및 젠타마이신의 에세이 회수를 도시한다.
- 도 3은 USP 방법 I을 이용한 실시예 6의 제형의 젠타마이신 및 반코마이신의 시험관내 방출 프로파일이다.
- 도 4는 토끼에서 실시예 1의 제형의 반코마이신의 혈장 농도를 도시한다.

도 5는 토끼에서 실시예 1의 제형의 반코마이신의 조직 농도를 도시한다.

도 6는 토끼에서 실시예 1의 제형의 젠타마이신의 혈장 농도를 도시한다.

도 7은 토끼에서 실시예 1의 제형의 젠타마이신의 조직 농도를 도시한다.

도 8은 실시예 6의 제형의 단일 SC 상처 주입 후 토끼에서 반코마이신 혈장 농도를 도시한다.

도 9는 토끼에서 실시예 6의 제형의 젠타마이신의 혈장 농도를 도시한다.

도 10은 상부 외과수술 부위 감염(SSI) 병원체에 대한 본 발명의 데포 대 MIC 90의 절개창 투여시 돼지에서 조직 농도를 도시한다.

도 11은 치료적 IV 후 반코마이신 혈장 농도 대 돼지에서 본 발명에 따른 제형을 투여할 때 절개창 투여를 비교 도시한다.

도 12는 실시예 10A 내지 10F의 작은 각도 X-선 회절(SAXS) 패턴을 도시한다.

도 13은 실시예 10A 내지 10D의 열중량 측정분석을 도시한다.

도 14는 실시예 10A 내지 10D의 미분주사열량계(DSC) 분석을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

본 발명은 이하에 더욱 자세하게 기재될 것이다.

본 명세서에서는 본 발명을 특정적으로 지적하고 분명하게 청구하는 특허청구범위를 포함하지만, 본 발명은 이하의 상세한 설명으로부터 더욱 잘 이해될 것이라 믿는다. 본 명세서에 사용된 모든 % 및 비율은 전체 조성물의 중량을 기준으로 하며 또 모든 측정은 특별히 다르게 나타내지 않는 한 25℃ 및 상압에서 측정된다. 모든 온도는 특별히 다르게 나타내지 않는 한 섭씨이다. 본 발명은 본 명세서에 기재된 바와 같은 본 발명의 성분뿐만 아니라 다른 성분 또는 요소를 포함하거나(개방형(open end)) 또는 주로 구성될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "포함하는"은 구조 또는 작용에서 적시된 요소 또는 그 등가물과 적시되지 않은 다른 요소 또는 요소들을 의미한다. 용어 "갖는", "비롯한" 및 "로 이루어지는"은 그 내용이 다르게 제시하지 않는 한 개방형으로 이해되어야 한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "주로 이루어지는"은 청구범위에 적시된 성분을 포함하지만, 부가적 성분이 특허청구된 발명의 기본적 및 신규 특징을 실질적으로 변경하지 않는 것을 의미한다. 일반적으로, 이러한 첨가제는 전혀 존재하지 않거나 또는 미량으로만 존재할 수 있다. 그러나, 화합물(유용성의 정도와 반대로)의 유용성이 유지되는 한 본 발명의 기본적 및 신규 특징을 구체적으로 변경하는 약 10 중량% 이하의 물질을 포함할 수 있었다. 본 명세서에 개시된 모든 범위는 종점(endpoint)을 포함하며, 2개 값 사이의 범위를 포함한다. "약", "일반적으로", "실질적으로" 등과 같은 용어는 절대치가 아닌 용어 또는 값을 변형하는 것으로 이해된다. 이러한 용어는 환경에 따라 정의되며, 또 이들 용어에 의해 변형되는 용어는 당업자에 의해 잘 이해되는 것으로 본다. 이것은 적어도 어떤 값을 측정하는데 사용된 수법에 대한 예상된 실험오차의 정도, 기술적 오차 및 계기 오차를 포함한다.

명세서 및 특허청구범위는 예를 들어 중간체 상태에서 pH를 갖는 것과 같은 본 발명의 데포 또는 기타 투여 형태와 같은 최종 생성물을 지칭할 수 있고, 적시된 사항이 충족되는 최종 투여 형태를 구별하는 것은 어려운 것이다. 그러나, 이러한 적시는 최종 생성 이전에 사용된 물질이 그 적시를 충족한다면 만족될 수도 있다. 유사하게, 에멀전에 도입된 성분의 양은 예를 들어 중량으로 기재된 경우 중량 이상 또는 미만일 수 있는 최종 데포에 서와 같은 제조의 일부 다른 상에서 생성물의 중량에 대하여 변경될 수 있다. 중량%는 임의 제조 단계 및/또는 임의의 중간체에서 정확하다면 충분하다. 투여 형태로부터 직접적으로 확실하지 않은 최종 생성물의 특성 또는 특징에 대하여, 상기 특성이 최종 생성 단계 바로 전에 적시된 성분에 잔류한다면 충분하다.

본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "에멀전"은 2개의 불혼화성 액체 상의 계이다. 2개 상(내부 상, 불연속 상 또는 연속 상) 중의 하나는 제2 상(외부 또는 연속 상)을 통하여 점적(droplets)/작은방울(globule)로서 분포된다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 에멀전은 주로 오일로 지칭되는 극성이 덜한 액체가 내부 상인 주로 수중유형(oil-in-water: O/W) 에멀전; 및 수성 또는 기타 비교적 극성 액체가 내부 상인 유중수형(water-in-oil: W/O) 에멀전을 포함한다.

본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "초기 에멀전"은 균질화 단계의 생성물을 지칭하며, 예를 들어 고전단 혼합

기를 이용할 수 있다.

- [0051] 용어 "단상 용액" 및 "나노에멀전"은 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. "단상 용액" 중의 용어 "용액"은 이것이 2개 이상의 물질의 균질 혼합물이라는 것을 의미하는 것은 아니지만, 예를 들어 고압 미소유동화기(microfluidizer)를 이용할 수 있는 미소유동화 단계의 생성물이다.
- [0052] 용어 "단상", "1상" 및 "1상 유사"는 생성하는 생성물이 1 g 샘플 양으로 헤라에우스(Heareus), 모델 바이오퓨지 프레스코(Model Biofuge Fresco)에 의해 제조된 원심분리기 또는 등가의 기기를 이용하여 25℃에서 6000 g으로 10분간 원심분리한 후에도 상의 분리 또는 석출이 없이 1상으로 유지되는 것을 의미하기 위해 사용된다.
- [0053] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "점성"은 조성물의 점도가 약 1 센티포아즈 내지 약 5000 센티포아즈, 약 200 센티포아즈 내지 약 2000 센티포아즈, 또는 약 300 센티포아즈 내지 약 1500 센티포아즈인 것을 의미한다.
- [0054] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "주사가능한"은 조성물이 주사기 또는 카테터 또는 바이얼로부터 제거되어 주사기로 투여될 수 있는 것을 의미한다. 그러나, 특별히 적시하거나 또는 그 내용이 그러한 의미를 제시하지 않는 한 본 발명의 조성물이 주사기 내에 존재하거나 또는 주사기를 이용하여 투여되어야 하는 것을 의미하는 것은 아니다.
- [0055] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "반투명" 및 "투명"은 상호교환적으로 사용되며 최종 데포 또는 용액, 에멀전, 초기 에멀전, 나노에멀전 및/또는 겔과 같은 중간체 단계 조성물이 흐리거나(hazy) 또는 불투명한 것이 아니라는 것과 육안으로 현탁된 입자가 보이지 않는 것을 의미한다. 기포를 갖지 않아야 한다. 또한, 반투명이라는 것은, 상기 데포 또는 용액, 에멀전, 초기 에멀전, 나노에멀전 및/또는 겔과 같은 중간체 단계 조성물이 육안으로 현탁된 입자를 갖지 않는 것을 의미하며 또 기포를 갖지 않아야 함을 의미한다. 또한, "반투명" 또는 "투명"이라는 것은 본 발명의 상기 데포 또는 용액, 에멀전, 초기 에멀전, 나노에멀전 및/또는 겔과 같은 중간체 단계 조성물이 파마시아에 의해 제조된 모델 Ultrospec III과 같은 UV-가시 분광광도계에 의해 측정할 때 알코올을 블랭크로서 사용하여 1cm 패치 석영 큐벳내 800 nm에서 측정된 약 90%보다 큰 광 투과성(T800)을 갖는 것을 의미한다.
- [0056] "흐리거나" 또는 "불투명"한 것은 상기 데포의 T800 값이 약 90% 미만인 것을 의미한다.
- [0057] "아주 투명"하다는 것은 상기 데포의 T800 값이 약 92% 또는 95% 초과인 것을 의미한다.
- [0058] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "안정한"은 (1) 상기 제형이 25℃에서 1년 이상 동안 투명하게 유지되는 것, 또는 (2) 상기 제형을 40℃에 1주간 노출시킬 때 원심분리 후 투명하게 유지되고 또 분리 또는 석출되지 않는 것을 의미한다.
- [0059] 용어 "겔" 및 "데포"는 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0060] **공정 설명**
- [0061] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일 요지는 (1) 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 및 오일을 혼합하여 수중유형(oil-in-water) "에멀전"을 형성하는 단계 (참고: 도 1, 단계 1); (2) 상기 에멀전을 균질화(homogenizing)하여 "초기 에멀전"을 얻는 단계 (참고: 도 1, 단계 2); (3) 상기 초기 에멀전을 미소유동화(microfluidize)하여 본 명세서 및 도 1에서 나노에멀전이라고 기재된 "단상 용액"을 얻는 단계 (참고: 도 1, 단계 3); (4) 필요에 따라 pH를 조절하는 것에 의해 초기 에멀전 및/또는 단상 용액의 pH를 약 3 내지 약 6, 및 일 실시양태에서, 약 3 내지 약 5, 또 다른 실시양태에서, 약 3 내지 약 4가 되도록 하는 단계 (참고: 도 1, 단계 4); (5) 소망하는 pH의 상기 단상 용액을 동결건조시켜 건조 페이스트를 얻는 단계 (참고: 도 1, 단계 5); (6) 상기 건조 페이트에 점도조절제를 충분량으로 부가하여 투명 용액을 얻는 단계 (참고: 도 1, 단계 6); (7) 점도조절제의 적어도 일부를 상기 투명 용액으로부터 제거하여 전체 중량에 대하여 약 5.5 중량% 내지 약 7.5 중량%의 점도조절제를 갖는 데포를 얻는 단계 (참고: 도 1, 단계 7); 및 (8) 상기 데포를 여과에 의해 멸균하는 단계 (참고: 도 1, 단계 8)를 포함하는, 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제를 포함하는 데포를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0062] 본 발명의 일 실시양태에서, 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 및 오일을 혼합하여 수중유형(oil-in-water) 에멀전을 형성하는 단계는 (1) 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물을 물에 용해시켜 수용액을 형성하고; 또 (2) 인지질, 오일, 및 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허

용되는 염 또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 친수성 수용성 약학적으로 허용되는 성분을 포함하는 수용액을 포함하는 에멀전을 형성하는 것을 포함한다.

[0063] 다른 실시양태에서, 소망하는 점도를 얻기에 충분한 양으로 점도 조절제를 건조 페이스트에 부가한 다음 점도 조절된 용액을 예비여과하여 투명 용액을 얻는다.

[0064] 일 실시양태에서, 상기 데포 중에 존재하는 물 함량은 데포의 전체 중량에 대하여 약 4 중량% 이하, 약 2 중량% 이하, 약 1 중량% 이하, 또는 약 0.5 중량% 이하의 물이다. 다른 실시양태에서, 상기 약학적 활성제는 반코마이신 히드로클로라이드 및 젠타마이신 설페이트이다. 다른 실시양태에서, 상기 데포는 투명하고, 또 다른 실시양태에서, 상기 데포는 아주 투명하다.

[0065] **수중유형 에멀전 형성**

[0066] 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 및 오일을 혼합하여 수중유형(oil-in-water) 에멀전을 형성한다.

[0067] 다른 실시양태에서, 먼저, 반코마이신 히드로클로라이드, 젠타마이신 설페이트 또는 이들 모두를 물에 용해시켜 수용액을 형성한다.

[0068] 물 중의 반코마이신 히드로클로라이드의 초기 약물 농도는 약 1 mg/ml 내지 약 50 mg/ml 또는 약 20 mg/ml 내지 약 30 mg/ml이고, 또 물 중의 젠타마이신 설페이트의 초기 약물 농도는 약 1 mg/ml 내지 약 75 mg/ml, 또는 약 10 mg/ml 내지 약 30 mg/ml이다.

[0069] 이어 반코마이신 및/또는 젠타마이신, 인지질, 오일, 경우에 따라 pH 조절제 및 경우에 따라서 안정화제의 수용액을 혼합하여 수중유형(oil-in-water) 에멀전을 형성한다.

[0070] **초기 에멀전을 얻기 위한 균질화**

[0071] 이어, 상기 에멀전을 고전단 혼합기(예를 들어 Silverson Model L5M 혼합기와 같은)를 이용하여 균질화되어 초기 에멀전을 형성할 수 있다.

[0072] **단상 용액을 얻기 위한 미소유동화**

[0073] 상기 초기 에멀전을 예를 들어 고압 미소유동화기를 이용하여 미소유동화되어 나노에멀전/단상 용액을 얻는다. 생성한 나노에멀전/단상 용액은 120 nm 미만, 100 nm 미만, 및 또는 80 nm 미만의 평균 직경을 가져 단상 용액/나노에멀전을 형성한다. 180 nm를 초과하는 점적 크기는 흐린 용액을 초래할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

[0074] 나노에멀전 점적의 평균 직경의 감소는, 비제한적으로, 생성한 단상 용액의 점도를 감소시켜, 반코마이신 및/또는 젠타마이신의 안정성에 영향을 줄 수 있는 오토클레이브 또는 감마-방사선에 의한 것과 같은 열을 기본한 멸균처리계를 이용하는 것에 비하여 필터를 통한 멸균을 허용할 것으로 믿어진다.

[0075] 미소유동화하는 단계 이전에, 상기 초기 에멀전은 일반적으로 백색의 불투명하며, 걸쭉한 요구르트와 유사한 덩어리이다. 미소유동화 이후, 생성한 단상 용액은 일반적으로 투명, 반투명하고, 또 점도 및 유동 특성에서 물과 유사하다.

[0076] 투명한 단상 용액을 생성하기 위하여, 상기 수중유형 에멀전은 유리하게는 MICROFLUIDIZER와 같은 고압 균질기에서 가공될 소망하는 유동 특성을 갖도록 상기 수중유형 에멀전의 전체 중량에 대하여 약 10 중량% 내지 약 80 중량%의 물, 약 30 중량% 내지 약 80 중량%의 물, 또는 약 60 중량% 내지 80 중량%의 물을 함유한다.

[0077] **pH 조절**

[0078] 상기 에멀전, 초기 에멀전 또는 단상 용액의 pH는 상기 에멀전, 초기 에멀전 또는 단상 용액의 pH가 약 3 내지 약 6, 약 3 내지 약 5 범위, 또는 약 3 내지 약 4 범위이도록 pH 조절제를 부가하는 것에 의해 조절될 수 있다.

[0079] 다른 실시양태에서, 상기 단계는 적절한 양의 pH 조절제를 상기 에멀전에 부가한 다음, 고전단 혼합 균질 단계에 의해 약 1분간 처리하는 것에 의해 실시된다. 이어, 균질화 단계 이후, 조성물의 pH를 확인하고 또 필요에 따라 다시 조절할 수 있다.

[0080] **동결건조, 승화 또는 증발**

[0081] 물을 제거하는 것에 의해, 젠타마이신 및/또는 반코마이신은 인지질/오일 부형제에 균일하게 분산된다. 동결건

조, 승화 및/또는 증발에 의해 단상 용액으로부터 물을 제거하여 생성한 건조 페이스트 또는 최종 주사가능한 투명 데포 중의 잔류하는 물의 양이 건조 페이스트 또는 점성 투명 데포의 전체 중량에 대하여 약 4 중량% 이하, 약 2 중량% 이하, 또는 약 0.5 중량% 이하의 물이 되게 한다.

[0082] 다른 실시양태에서, 상기 단상 용액은 트레이 동결건조기를 이용하여 냉동-건조된다. 다른 실시양태에서, 상기 동결건조기의 트레이는 스테인레스 강으로 제조된 것이다.

[0083] 다른 실시양태에서, 상기 스테인레스 강 동결건조기 트레이 중에 액체 충전 높이는 약 3 cm 이하이다. 일 실시양태에서, 동결건조 이후, 건조 페이스트 상태인 생성한 생성물은 건조 페이스트의 전체 중량에 대하여 1 중량% 이하의 물을 갖는다.

[0084] **점도조절제의 부가**

[0085] 상기 점도조절제는 건조 페이스트가 완전히 용해될 때까지 건조 페이스트에 부가된다. 상기 점도조절제는 점도 조절제의 양이 점도 조절된 용액의 전체 중량에 대하여 약 75 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 30 중량% 이상 또는 약 25 중량% 이상이도록 상기 건조 페이스트에 부가될 수 있다. 일 실시양태에서, 상기 점도조절제 및 건조 페이스트는 약 10℃ 내지 약 80℃, 또는 약 25℃ 내지 약 60℃에서 혼합될 수 있다.

[0086] **예비여과(Pre-filtration)**

[0087] 예비여과는 선택적 단계이며 또 본 발명의 특정 실시양태에서는 필요하지 않을 수 있다. 점도조절제를 부가한 후 얻어진 상기 점도조절된 용액이 흐리면, 점도조절된 용액은 예를 들어 0.65 미크론 필터를 이용하여 여과되어 투명 용액을 형성할 수 있다. 예비여과 단계에 의해 제거된 흐린 성분은 소량의 반코마이신(약 2% 표적 에세이) 및 젠타마이신(3-4% 표적 에세이)으로 이루어진다. 이러한 손실은 초기 로딩(loading)을 조절하거나 또는 에세이 표적을 적하하는 것에 의해 보상될 수 있다. 이는 선택적 단계이므로 본 발명의 특정 실시양태에서는 필요하지 않을 수 있다.

[0088] **점도조절제의 제거**

[0089] 이어, 상기 건조 페이스트를 용해시키기 위하여 부가된 상기 점도조절제는 제거된다. 점도조절제의 제거는 상기 데포 중에 존재할 수 있는 잔류하는 점도조절제의 양이 데포의 전체 중량에 대하여 약 1 중량% 내지 약 50 중량%, 약 2 중량% 내지 약 18 중량%, 또는 약 5 중량% 내지 약 6.5 중량%로 될때까지 실시될 수 있다.

[0090] 과도하게 건조되면, 상기 점도조절제는 필요에 따라 다시 부가될 수 있다. 점도조절제의 제거는 회전 증발기에 의해 또는 질소 가스 또는 공기를 블로잉(blowing)하는 것에 의해 실시될 수 있다. 투명 용액으로부터 제거되어 데포를 형성하는 점도조절제의 양을 측정하기 위해 열중량측정 분석(Thermal gravimetric Analysis: TGA)을 이용할 수 있다.

[0091] 본 발명에 따른 생성한 데포의 점도는 약 100 센티포아즈 내지 약 5000 센티포아즈, 약 200 센티포아즈 내지 약 2000 센티포아즈, 또는 약 300 센티포아즈 내지 약 1500 센티포아즈이다. 점도측정은 스핀들번호 SP-40을 갖는 브룩필드 디지털 프로그램머블 점도측정기(Rheometer) 모델 넘버 DV-III를 이용하는 것을 포함하는 통상의 방법을 이용하여 실시될 수 있다. 이는 선택적 단계이며 또 본 발명의 특정 실시양태에서는 필요하지 않을 수 있다.

[0092] **멸균 여과**

[0093] 상기 데포는 약 0.2 미크론 이하의 기공을 갖는 것과 같이 멸균 막을 통하여 여과하는 것에 의해 멸균된다.

[0094] **데포**

[0095] 본 발명의 다른 요지는 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 데포 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제, 물, 인지질, 오일, pH 조절제 및 점도조절제를 포함하는 데포를 제공하며, 상기 데포 중에 존재하는 물은 약 4 중량% 이하, 약 2 중량% 이하, 또는 약 0.5 중량% 이하의 물이다.

[0096] 본 발명의 다른 요지에 따르면, 상기 데포는 반코마이신, 젠타마이신 또는 양쪽 모두의 안정성을 개선하는 안정화제를 경우에 따라 포함할 수 있다. 발명의 다른 요지에서, 상기 데포는 주사기, 바이알 또는 상기 데포를 처리 부위, 데포 부위 또는 상처에 전달할 수 있는 다른 임의 장치 내에 제공된다.

[0097] **약학적 활성 성분**

- [0098] 본 발명에 따른 약학적 활성성분은 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 혼합물이다. 일 실시양태에서, 본 발명에 따른 약학적 활성성분은 반코마이신 히드로클로라이드, 젠타마이신 설페이트 또는 그의 혼합물이다. 다른 실시양태에서, 본 발명에 따른 약학적 활성성분은 반코마이신 히드로클로라이드 및 젠타마이신 설페이트이다. 다른 실시양태에서, 본 발명에 따른 약학적 활성성분은 반코마이신 히드로클로라이드 또는 젠타마이신 설페이트이다.
- [0099] 약학적으로 허용되는 염의 예는, 비제한적으로, 반코마이신 또는 젠타마이신과 함께 염을 형성할 수 있는 임의의 산, 예컨대 아세트산, 염산, 브롬화수소산, 시트르산, 포름산, 락트산, 숙신산, 황산 등을 포함한다.
- [0100] 상기 데포에 존재할 수 있는 약학적 활성성분의 양은 전체 목적하는 투여량의 크기, 투여 시간, 데포의 크기 및 어디서 및 어떻게 투여되는가, 및 투여될 활성성분의 유형, 투여 패턴(예컨대 연속식, 지연식 등) 등을 비롯한 다수의 변수에 따라 상이할 수 있다. 그러나, 일반적으로, 약학적으로 허용되는 성분의 전체 양은 데포의 전체 중량에 대하여 약 0.001 중량% 내지 약 20 중량%, 약 0.01 중량% 내지 약 10 중량%, 또는 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%일 수 있다.
- [0101] **오일**
- [0102] 본 발명에 따른 오일은 예를 들어 식물 오일, 동물 오일, 비타민 E, 비타민 E 에스테르 등과 같은 천연 오일 및/또는 합성 또는 반합성 오일, 또는 그의 혼합물일 수 있다.
- [0103] 식물 오일은 식물의 씨 또는 너트(nuts)로부터 유도된 오일을 지칭한다. 식물 오일의 예는 비제한적으로 아몬드 오일, 보라지(borage) 오일, 까치밥나무 (black currant) 씨 오일, 피마자 오일, 잇꽃 오일, 대두 오일, 참깨 오일, 면실유, 포도씨 오일, 해바라기 오일, 캐놀라 오일, 코코넛 오일, 팜 오일, 오렌지 오일, 옥수수 오일, 올리브 오일 등을 포함한다.
- [0104] 동물 오일은 동물 공급원으로부터 유래한 트리글리세리드 오일을 지칭한다. 동물 오일의 예는 어유, 또는 텔로우, 라드 등과 같은 다른 공급원으로부터 얻은 것일 수 있다.
- [0105] 합성 또는 반합성 오일의 예는 산 성분이 C6 내지 C20 포화 및/또는 불포화 지방산인 모노-, 디- 또는 트리글리세리드, CAPTEX® (프로필렌 글리콜 디데카노에이트와 같은 다양한 등급의 프로필렌 글리콜 에스테르; 및 글리세릴 트리카프릴레이트/카프레이트와 같은 글리세롤 에스테르); MIGLYOL® (카프릴산/카프릭산 트리글리세리드; 또는 카프릴산/카프릭산/리놀레산 트리글리세리드; 또는 카프릴산/카프릭산/숙신산 트리글리세리드; 또는 카프릴산/카프릭산의 프로필렌 글리콜 디에스테르 및 다른 물질과의 혼합물; CAPMUL® (상이한 등급으로 입수가능함, 예컨대 Capmul MCM)이다. 주로 글리세릴 모노올레에이트 및 프로필렌 글리콜 모노카프릴레이트와 같은 글리세롤 및 프로필렌 글리콜의 모노- 및 디-에스테르이다. 다른 등급은 폴리에틸렌 글리콜 글리세릴 모노스테아레이트로 이루어진다. 일 실시양태에서, 본 발명에 따라 사용된 오일은 참깨 오일이다.
- [0106] 상기 데포에 존재할 수 있는 오일의 양은 데포의 전체 중량에 대하여 약 5 중량% 내지 약 95 중량%, 약 25 중량% 내지 약 75 중량%, 또는 약 35 중량% 내지 약 60 중량%일 수 있다.
- [0107] 특정 실시양태에서, 상기 데포 중의 오일 대 인지질 비율은 약 20:1 내지 약 1:20, 약 3:1 내지 약 1:3, 또는 약 1:2 내지 약 1:1 중량비일 수 있다.
- [0108] **인지질**
- [0109] 본 발명에 따른 인지질은 글리세롤(포스포글리세리드, 글리세로인지질) 또는 스핀고신(스핀고지질)로부터 유도된 것을 비롯한 하나 이상의 포스페이트 기를 함유하는 지질 분자를 지칭한다.
- [0110] 일부 실시양태에서, 인지질은 1개 지방산이 포스페이트 기 및 몇 개의 질소 함유 분자 중의 하나에 의해 치환된 트리글리세리드 유도체이다. 지방산 사슬은 소수성이고 또 포스페이트 및 아미노기 상의 전하는 분자의 부분을 친수성으로 만든다. 그 결과 양쪽성 분자를 초래한다.
- [0111] 미국 약전(USP)에 따르면, 레시틴은 트리글리세리드, 지방산 및 탄수화물과 같은 다양한 양의 다른 물질과 조합된 주로 포스포티딜콜린, 포스포티딜에탄올아민, 포스포티딜세린 및 포스포티딜이노시톨을 포함하는 아세톤-불용성 인지질의 복합 혼합물을 설명하는 비전매특허(non-proprietary) 명칭이다. 레시틴의 조성 및 그의 물리적 특성은 레시틴의 공급원 및 인지질 조성, 예컨대 포스포티딜콜린 함량 등에 따라서 다양할 수 있다.
- [0112] 본 발명의 일 실시양태에 따르면, 사용된 레시틴은 달걀 또는 대두로부터 유도된 약물 등급 레시틴이며, 이들은 비경구 제품에 사용되고 있으며 또 실질적으로 자극성, 알레르겐성, 염증성 물질 또는 다른 나쁜 생물학적 반응

을 유발하는 물질을 갖지 않는다.

- [0113] 본 발명에 따르면, 상기 데포를 제조하기 위한 인지질의 선택은 (1) 반코마이신, 젠타마이신 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 친수성 수용성 약학적 활성제와 화학적으로 상용성이고; (2) 단상 용액을 형성하여 제조 공정을 통하여 또 저장하는 동안 작은 점적 크기를 유지하며; 또 (3) 소망하는 데포를 제공하고 또 약학적 활성제의 소망하는 방출을 제공하는 인지질의 능력을 기초로 하여 결정된다.
- [0114] 인지질의 예는 비제한적으로 스핀고신 및 유도체(대두, 달걀, 뇌 및 우유) 형태의 스핀고지질, 강글리오사이드, 및 피토스핀고신 및 유도체(효모로부터 얻음)를 포함한다.
- [0115] 인지질은 합성될 수 있고 또 통상의 합성 인지질의 예는 비제한적으로 1,2-디라우로일-sn-글리세롤(DLG), 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤(DMG), 1,2-디팔미토일-sn-글리세롤(DPG), 1,2-디스테아로일-sn-글리세롤(DSG)과 같은 디글리세롤; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스파티딘산, 나트륨염(DMPA, Na), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스파티딘산, 나트륨염(DPPA, Na), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스파티딘산, 나트륨염(DSPA, Na)과 같은 포스파티딘산; 1,2-디데카노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DDPC), 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DLPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DMPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DOPC), 1,2-디리놀레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DLOPC), 1,2-디에루코일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DEPC), 1,2-디에이코사헨타에노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(EPA-PC), 1,2-디도코사헨사에닐-sn-글리세로-3-포스포콜린(DHA-PC), 1-미리스토일-2-팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(MPPC), 1-미리스토일-2-스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(MSPC), 1-팔미토일-2-미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(PMPC), 1-팔미토일-2-스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(PSPC), 1-스테아로일-2-미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(SMPC), 1-스테아로일-2-팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(SPPC), 1-미리스토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(MOPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POPC), 1-스테아로일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POPC)과 같은 포스포콜린; 수소화된 대두 포스포에탄올아민(HSPE), 비수소화된 달걀 포스포에탄올아민(EPE), 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DLPE)과 같은 포스포에탄올아민; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DMPE); 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DPPE); 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DSPE); 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE); 1,2-디리놀레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DLOPE), 1,2-디에루실-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DEPE), 1,2-팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(POPE); 수소화된 대두 포스파티딜글리세롤, 나트륨염(HSPG, Na), 비수소화된 달걀 포스파티딜글리세롤, 나트륨염(EPG, Na), 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(DLPG, Na), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(DMPG, Na), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포-sn-1-글리세롤, 암모늄염(DMP-sn-1-G, NH₄), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(DPPG, Na), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(DSPG, Na), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포-sn-1-글리세롤, 나트륨염(DSP-sn-1G, Na), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(DOPG, Na), 1,2-디에루실-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(DEPG, Na), 1,2-팔미토일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(POPG, Na)과 같은 포스포글리세롤; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포-L-신, 나트륨염(DMPS, Na), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포-L-신, 나트륨염(DPPS, Na), 1,2-디스테아릴-sn-글리세로-3-포스포-L-신, 나트륨염(DSPS, Na), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포-L-신, 나트륨염(DOPS, Na), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포-1-신, 나트륨염(POPS, Na)과 같은 포스포티딜세린; 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 나트륨염(POPG, Na), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤, 암모늄염(POPG, NH₄)과 같은 혼합된 사슬 인지질; 1-미리스토일-2-라이소-sn-글리세로-3-포스포콜린(S-lyso-PC), 1-팔미토일-2-라이소-sn-글리세로-3-포스포콜린(P-lyso-PC), 1-스테아로일-2-라이소-sn-글리세로-3-포스포콜린(S-라이소-PC)과 같은 라이소인지질; 및 N-(카보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜 2000)-MPEG-2000-DPPE, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 나트륨염, N-(카보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜 5000)-MPEG-5000-DSPE, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 나트륨염, N-(카보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜 5000)-MPEG-5000-DPPE, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 나트륨염, N-(카보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜 750)-MPEG-750-DSPE, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 나트륨염, N-(카보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜 2000)-MPEG-2000-DSPE, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 나트륨염과 같은 폐길화된 인지질을 포함한다.
- [0116] 상기 데포에 존재할 수 있는 인지질의 양은 최종 제형의 점도, 투여 기간, 데포의 크기 및 어디서 및 어떻게 투

여되는가, 및 투여될 활성성분의 유형, 투여 패턴(예컨대 연속식, 지연식 등) 등을 비롯한 다수의 변수에 따라 상이할 수 있다. 그러나, 일반적으로, 상기 데포에 존재할 수 있는 인지질의 양은 조성물의 전체 중량에 대하여 약 5 중량% 내지 약 95 중량%, 또는 약 35 중량% 내지 약 60 중량%이다.

[0117] **물**

[0118] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 물은 비제한적으로 증류수 및 탈이온수, 또는 친수성 수용성 반코마이신 및/또는 젠타마이신을 용해시킬 수 있고 또 동결건조 단계 동안 승화/증발될 수 있는 임의의 다른 액체를 포함한다.

[0119] 예를 들어 고압 미소유동화기를 사용하여 단상 용액을 얻기 위하여, 상기 수중유형 에멀전은 MICROFLUIDIZER와 같은 균질기에서 가공될 소망하는 유동 특성을 갖도록 상기 수중유형 에멀전의 전체 중량에 대하여 약 50 중량% 내지 약 90 중량% 물, 약 60 중량% 내지 약 80 중량% 물 또는 약 70 중량% 내지 80 중량% 물을 함유할 수 있다.

[0120] 그러나, 일단 단상 용액이 얻어지면, 대부분의 물은 예를 들어 동결건조, 승화 및/또는 증발에 의해 제거될 수 있다.

[0121] 반코마이신은 가수분해로 인하여 분해되며, 또 최종 데포에서 잔류하는 물의 양은 반코마이신의 장기간 안정성에 영향을 준다. 반코마이신이 석출되면, 상기 데포는 반투명에서부터 흐림으로 변하거나 또는 본 명세서의 실시예 2에 나타난 바와 같이 2개 상으로 분리된다.

[0122] 따라서, 본 발명에 따르면, 잔류하는 물의 양은 저장하는 동안 반코마이신을 안정하게 유지하도록 점성의 투명 데포의 전체 중량에 대하여 약 4 중량% 이하, 약 2 중량% 이하 또는 약 0.5 중량% 이하의 물을 유지해야 한다.

[0123] **pH 조절제**

[0124] 본 발명에 따른 pH 조절제는 비독성 산, 염기 또는 염이다.

[0125] pH 조절제의 예는 비제한적으로 염산, 아세트산, 황산, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 리신, 아르기닌, 등을 포함한다.

[0126] 상술한 바와 같이, 젠타마이신은 산화 또는 부가물 형성으로 인하여 분해된다. 이하의 실시예 4에 나타난 바와 같이, pH는 젠타마이신의 장기간 안정성에 영향을 주며, 또 젠타마이신이 석출하면, 상기 데포는 반투명에서부터 흐림으로 변한다.

[0127] 따라서, 상기 데포의 pH는 약 3 내지 약 6, 약 3 내지 약 5 범위, 또는 약 3 내지 약 4 범위일 수 있다.

[0128] **안정화제**

[0129] 본 발명에 따른 안정화제는 산화, 가수분해 또는 기타 분해 반응에 대한 금속 이온의 촉매적 영향을 감소시키거나 및/또는 친수성 수용성 약학적 활성제의 안정성을 증가시키는 물질이다. 이러한 안정화제의 예는 비제한적으로 EDTA(디소듐 에텐테이트), 글리신, L-히스티딘, 시트르산, 메티오닌, 아스코르브산, L-시스테인, 알파-토코페롤, 및 그의 혼합물을 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 데포에 존재하는 안정화제의 양은 조성물의 전체 중량에 대하여 약 0.001 중량% 내지 약 5.0 중량%, 또는 약 0.01 중량% 내지 약 1.0 중량%이다. 다른 실시양태에서, 상기 데포는 안정화제를 함유하지 않는다.

[0130] **점도조절제**

[0131] 본 발명에 따른 점도조절제는 동결건조, 승화 및/또는 증발 후 형성된 건조 페이스트를 용해시킬 수 있는 수성 또는 비수성(물의 오염물 수준을 갖는 것 이외) 액체이다.

[0132] 점도조절제의 예는 비제한적으로 에탄올, 이소프로판올, 및 그의 혼합물을 포함한다. 일 실시양태에서, 상기 점도조절제는 실질적으로 비수성이다. 다른 실시양태에서, 상기 점도조절제는 에탄올이다.

[0133] 상기 점도조절제는 건조 페이스트가 완전히 점도조절제에 용해될 때까지 건조 페이스트에 추가된다. 생성한 점도 조절된 용액은 "흐리게"될 수 있다. 일 실시양태에서, 상기 점도조절제 및 건조 페이스트는 약 10℃ 내지 약 80℃의 온도, 또는 약 50℃ 내지 약 70℃ 범위, 또는 약 25℃ 내지 약 60℃ 범위의 온도에서 혼합된다.

[0134] 상기 점도조절제는 생성한 용액의 전체 중량에 대하여 점도조절제의 양이 약 10 중량%, 20 중량%, 25 중량% 또는 30 중량%이 될때까지 건조 페이스트에 추가된다. 생성한 용액의 점도는 약 10 내지 약 200 센티포아즈, 약 15 내지 약 100 센티포아즈, 또는 약 20 센티포아즈 내지 약 50 센티포아즈일 수 있다.

[0135] 점도는 SP-40 스핀들을 갖는 브룩필드 디지털 프로그래머블 점도계 또는 임의의 다른 등가의 점도계를 이용하여

측정될 수 있다. 더욱 특히, 상기 점도계의 출발 RPM은 0.1 내지 1.0일 수 있고, 이어 매 30초마다 0.1 RPM 증분으로 RPM을 0.1로 감소시킬 수 있다. 점도 측정은 약 30℃의 주위 온도에서 0.8 RPM에서 기록될 수 있다.

[0136] 이어, 건조 페이스트를 용해시키기 위하여 사용된 점도조절제의 일부 양을 제거할 수 있다. 점도조절제의 제거는 상기 데포에 존재할 수 있는 점도조절제의 잔류량이 데포의 전체 중량에 대하여 약 1 중량% 내지 약 20 중량%, 약 2 중량% 내지 약 18 중량%, 또는 약 5 중량% 내지 약 6.5 중량%이 될때까지 실시할 수 있다. 과도하게 건조되면, 점도조절제는 필요에 따라 다시 부가될 수 있다.

[0137] 본 발명에 따른 생성한 데포의 점도는 약 100 센티포아즈 내지 약 5000 센티포아즈, 약 200 센티포아즈 내지 약 2000 센티포아즈, 또는 약 300 센티포아즈 내지 약 1500 센티포아즈이다.

[0138] 처리 방법

[0139] 본 발명의 다른 요지는 반코마이신, 젠타마이신, 그의 약학적으로 허용되는 염 또는 그의 혼합물, 물, 인지질, 오일, 경우에 따라 pH 조절제 및 점도조절제를 포함하는 본 발명의 데포를 피부내, 근육내, 절개창, 피하, 주입 또는 국소적으로 투여하는 방법이다. 상기 데포는 필요에 따라서 다양한 투여 간격 및 다양한 투여량을 이용하여 바람직한 부위에서 투여될 수 있다. 즉 상기 데포는 약 0.1 mL 내지 약 100 mL의 투여 부피에 의해 약 1일 이상 동안의 기간 동안 약학적 활성제를 방출하기에 충분해야 한다. 예를 들어, 약 0.1 mL 내지 약 100 mL의 투여 부피를 이용하여 1일 1회, 2일에 1회, 3일에 1회, 1주에 1회 또는 1달에 1회의 투여 간격이 이용될 수 있다. 전형적으로, 상기 데포는 단일 적용에 사용될 수 있고 또 일반적으로 상처 부위를 봉합하기 전에 상처 부위에 주입된다.

[0140] 본 발명의 다른 요지는 비제한적으로, 국소 부위에서 감염을 치료 및/또는 예방하기 위한 충분하게 높은 조직 농도를 달성하지만 신장 및/또는 기타 기관에 대하여 독성을 유발하지 않으며, 또 세균의 약물 내성 균주의 출현을 유발하지 않거나 및/또는 기여하지 않는 본 발명의 데포를 투여하는 것을 포함하는, 외과수술 부위 감염을 비롯한 감염을 예방 및/또는 치료하는 방법이다.

[0141] 다른 요지에서, 본 발명의 데포를 상처에 투여하는 것에 의해 국소화된 조직이 병원성 미생물을 유지할 수 없게 하는 방법이 제공된다.

[0142] 다른 실시양태에서, 신장 및/또는 기타 기관에 대한 독성을 유발하지 않고, 또 세균의 약물 내성 균주의 출현을 유발하지 않거나 및/또는 기여하지 않게 달성된다.

[0143] 상술한 방법 각각에서, 반코마이신, 젠타마이신 또는 양쪽의 투여량은 데포로부터 방출될 때, 국소화된 조직은 적어도 24시간 동안, 또 다른 실시양태에서, 적어도 48 시간 동안 병원성 세균을 유지할 수 없다. 더 다른 실시양태에서, 상기 국소화된 조직은 병원성 세균을 적어도 3일 동안, 1주 동안 또는 1달 동안 병원성 세균을 유지할 수 없다.

[0144] 도 10에 도시된 바와 같이, 및 공개된 데이터에 따르면, 스태필로코커스 아우레우스(*staphylococcus aureus*), 코아글라제-음성 스태필로코커스, 엔테로코커스(*enterococci*), 슈도모나스 아에루기노사(*pseudomonas aeruginosa*), 및 에세리키아 콜리(*escherichia coli*)와 같은 잘 공지된 외과수술 부위 감염(SSI) 병원체에 대한 생물 생장의 90%를 억제하는데 필요한 최소 억제 농도(MIC₉₀ (mcg/ml))는 1-4 mcg/ml 범위이다. 참고: 일반적으로 M.J. Rybak, et al., Vancomycin Therapeutic Guidelines, CID 2009:49 (1 August), 325-327; and A.I. Hidron, et al., Infection and Hospital Epidemiology, November 2008, vol. 29, No. 11, 996-1011. 이들은 예시된 바와 같이 반코마이신 및 젠타마이신을 개별적으로 사용하는 것을 기본으로 한다. 반코마이신(4.37 mg/kg) 및 젠타마이신(3.89 mg/kg)을 포함하는 본 발명의 상기 데포를 돼지에 투여할 때, 본 발명의 데포에 의해 달성된 반코마이신의 국소화된 돼지 조직 농도는 48시간에서 19 mcg/ml 초과이며, 이는 상기 확인된 SSI 병원체에 대한 MIC₉₀ 보다 과학적으로 더 높다. 유사하게, 본 발명의 데포를 투여하는 것에 의해 달성된 젠타마이신의 돼지 조직 농도는 48시간에 약 12 mcg/ml 이었다.

[0145] 이를 위하여, 본 발명자들은 상기 확인된 SSI 병원체에 의해 돼지를 접종하지 않았고 이어 본 발명의 효능을 측정하기 위하여 국소 부위에 상기 데포를 투여하는 것을 알 수 있다. 그럼에도 불구하고, 상기 확인된 SSI 병원체에 대한 공개된 MIC₈₀ 및 반코마이신 및 젠타마이신을 포함하는 본 발명의 제형의 달성가능한 조직 농도는 본 발명의 상기 데포의 사용이 국소화된 조직이 병원체 미생물을 유지할 수 없게 하는 것에 의해 감염을 치료 및/또는 예방하는데 효과적인 국소화된 약물 수준을 제공하는데 아주 효과적이라는 것을 나타낸다.

- [0146] 도 11은 본 발명의 데포가 돼지 절개창에 투여될 때 양쪽 활성물질인 반코마이신 및 젠타마이신의 높은 국소 조직 농도 및 낮은 전신 농도(혈장)를 제공하는 것을 설명한다. 본 발명의 데포를 사용하여 관찰된 젠타마이신의 낮은 전신 농도는 젠타마이신 독성(신 독성 및 이독성(renal and ototoxicity))이 10 mg/L보다 큰 혈장 농도에 관련된 것으로 알려져 있기 때문에 현저한 안전성 차이를 제공한다. 참고: 일반적으로 D. S. Reeves, Infection 8 (1980) Suppl. 3, S 313-S320.
- [0147] 반코마이신 신 독성은 과도한 약물 노출에 관련되지만 특정 피크 농도에 용이하게 관련지을 수 없다. 그러나, 상기 본 발명의 데포 투여를 이용하여 관찰된 낮은 전신 농도는 어느 하나의 약물에 대한 돼지 모델에서 어떠한 전신 독성을 나타내지 않았고 또 젠타마이신에 대하여 이하에 공개된 값으로 분명히 나타낸다.
- [0148] 반코마이신에 관련된 제2의 우려는 세균 내성의 생성이다. 반코마이신 내성은 세균을 서식하는 표적 조직 또는 보조 조직이 상당한 시간 동안 반코마이신 부영향(sub-effective) 농도에 노출될 때 생긴다. 반코마이신 단독을 전신 투여한 후, 안정 상태에서 소망하는 최저 혈장 농도는 적어도 10 mg/L이거나 또는 약 15-20 mg/L 범위일 수 있다. 혈액으로부터 조직에 의한 반코마이신의 낮은 흡수를 고려하면, 이들 농도는 치료적으로 유효한 농도가 조직에 들어가서 치료 효과를 달성하기에 충분하다. 혈액 농도는 표적 조직에 대한 대리 마커(surrogate marker)로서 작용하며, 그 목적은 약 400 내지 약 300,000의 혈장 AUC_{0-t}/MIC_{90} 비율 또는 >400의 AUC_{0-t}/MIC_{90} 비율 또는 >1600의 AUC_{0-t}/MIC_{90} 비율을 달성하는 것이다. 이 비율은 최저혈중 약물농도가 상기 개시된 수준에서 유지될 때 달성된다.
- [0149] 본 발명의 데포를 사용하면, 매우 낮은 농도의 반코마이신이 순환 혈장에서 관찰되는 한편, 높은 치료 치료 농도는 젤이 도 10에 도시된 바와 같이 투여되는 절개부위에서 존재한다. 혈장에서부터 조직으로 반코마이신의 낮은 수준의 흡수를 고려하면, 반코마이신의 낮은 전신적 농도는 절개 부위로부터 떨어진 조직에서 무시가 가능한 수준의 반코마이신을 초래한다. 유일한 수송 메카니즘은 혈장을 통하여 이루어지며 혈장에서부터 조직에 의한 흡수의 양은 낮다. 따라서, 절개로부터 떨어진 부위에서 생기는 반코마이신 내성의 확률은 아주 낮아야 한다.
- [0150] 따라서 본 발명의 다른 요지에서, 치료 유효량의 반코마이신 단독 또는 젠타마이신 또는 약학적 허용되는 그의 염과 조합된 치료 유효량의 반코마이신을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 환자의 치료 방법이 제공되며, 에스 아우레우스(s. aureus)에서 내성 출현을 방지하도록 반코마이신에 대하여 >400의 AUC_{0-t}/MIC_{90} 비비율이 달성된다. 본 발명의 다른 요지에서, 상기 나타난 투여를 받는 환자는 통상의 방법에 의한 반코마이신의 고투여량 투여에 의해 나타났던 신독성을 피하도록 1/10 안정 상태 혈중 혈장 농도를 나타낸다. 참고: 일반적으로 M. J. Rybak, Vancomycin Therapeutic Guidelines, CID 2009:49 (1 August), 325-327.

[0151] 실시예

[0152] 실시예 1: 본 발명에 따른 데포

표 1

[0153] 본 발명에 따른 데포의 성분 목록

성분	w/w%
젠타마이신 설페이트	"USP 젠타마이신 에세이" 값에서 0.36% 에 상응함
반코마이신 히드로클로라이드	"USP 반코마이신 에세이" 값에서 0.24%에 상응함
대두 레시틴 (Phospholipon 90G 또는 PL90G)	53.3
L-히스티딘	0.1
에탄올	6.0
참깨 오일	40.0
합계	100%

- [0154] 먼저, 500 mL 비커에 0.36 g의 젠타마이신 설페이트, 0.24 g의 반코마이신 히드로클로라이드, 53.3 g의 PL90G, 40 g의 참깨 오일 및 0.1 g의 L-히스티딘을 장입하였다. 여기에 주사용 물(WFI)을 부가하고 또 그 혼합물을 고전단 혼합기, 5000 RPM에서 15분간 균질화시켰다. 생성한 단상 용액을 동결전조시켜 물을 제거하여 잔류수분이 0.2% 미만인 건조 페이스트를 얻었다.

[0155] 실시예 2: 실시예 1의 외관에 대한 물 함량의 효과

[0156] 상기 건조 페이스트를 물 및/또는 에탄올과 혼합하여 점도 조절된 용액을 형성하고 또 이하에 기재된 바와 같이 실시예 2 내지 실시예 5를 비롯한 몇 개의 연구에 사용하였다.

[0157] 다양한 양의 물(1.1 중량% 내지 4.1 중량%) 및 에탄올(6 중량%)을 실시예 1의 건조 페이스트에 추가하여 몇 개의 샘플을 생성하였다. 이들 샘플을 비드비터(BeadBeater) 혼합기에 의해 잘 혼합하고, 원심분리하여 공기 기포를 제거한 다음 초기 외관에 대해 관찰하였다("초기 샘플"). 또한, 샘플들을 0.4 μm 필터를 통과시키고 또 그 여액을 2-8°C에서 저장하여 외관을 더욱 관찰하였다("여과된 샘플"). 표 2는 제형의 외관에 대한 물 함량의 효과를 나타낸다. 물 함량은 제형의 외관에 상당히 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다.

표 2

[0158] 실시예 1 제형의 외관에 대한 물 함량의 효과

샘플 ID	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S-7	S-8
물 (%)	1.14	1.46	1.83	2.05	2.61	3.06	3.70	4.07
초기 샘플	흐림				투명			2 상
여과 샘플	여과 후 모두 투명. 그러나, 더 많은 물을 사용하면, 약 3 내지 7일 후 2-8℃에서 지연 석출이 생김 시험되지 않음							

[0159] 실시예 3: 젠타마이신 및 반코마이신 안정성에 대한 물 함량의 효과

[0160] 실시예 1의 제형의 젠타마이신 및 반코마이신 안정성에 대한 잔류하는 물 함량의 효과는 60분간 오토클레이브 처리하는 것에 의해 평가하였다. 하기 표 3에 요약한 바와 같이, 반코마이신은 높은 잔류하는 물 함량에서 회수율 또는 순도 측면에서 감소된 안정성을 가짐이 밝혀졌다. 젠타마이신 안정성에 대한 물의 효과는 동일 범위에 관찰되지 않았다.

표 3

[0161] 젠타마이신 및 반코마이신 안정성에 대한 물 함량의 효과

ID		반코마이신		젠타마이신
		회수율 (예비-오토클레이브에 대한 %)	순도 (%)	회수율 (예비-오토클레이브에 대한 %)
실시예 1* (0.76% H ₂ O)	예비-오토클레이브	69.4	89.2	67.7
	오토클레이브		68.8	
실시예 1* (1.26% H ₂ O)	예비-오토클레이브	65.7	89.9	80.2
	오토클레이브		64.5	
실시예 1* (1.76% H ₂ O)	예비-오토클레이브	62.0	89.5	/
	오토클레이브		63.2	
실시예 1* (2.26% H ₂ O)	예비-오토클레이브	60.5	88.8	77.5
	오토클레이브		58.8	
	오토클레이브		69.4	

[0162] * pH 5.7

[0163] 실시예 4: 실시예 1 제형에서 젠타마이신 및 반코마이신의 pH-안정성 및 pH-용해성 프로파일

[0164] 실시예 1의 pH 조절된 제형을 2-8°C에 놓고 외관을 조사하였다. (참고: 하기 표 4).

표 4

[0165] 실시예 1 제형의 외관에 대한 pH의 효과

pH	물 (%)	외관	
		여과 전	2-8℃에서 여과
3.21	0.17	투명	투명
5.54	0.15	흐림	5-7일 동안 투명한 다음 흐림
5.63	0.13		
6.02	0.04		
6.01	0.11		
6.99	0.11		
7.67	0.09		

[0166]

[0167] pH-안정성 프로파일은 실시예 1로부터 얻은 샘플을 가열하여 생성되었다. (하기 표 5 참조).

표 5

[0168] 실시예 1 제형의 안정성에 대한 pH의 효과

pH	물 (%)	에세이 회수율 (예비-처리에 대한 %)		반코마이신 순도 (%)	
		반코마이신	젠타마이신	예비-처리	후-처리
3.21	0.17	82.9	94.1	91.6	79.4
5.54	0.15	82.3	79.6	91.5	81.6
5.63	0.13	78.0	81.6	90.4	73.6
6.02	0.04	77.0	79.6	90.5	74.3
6.01	0.11	80.1	82.7	89.6	75.0
6.99	0.11	80.5	73.1	90.7	76.2
7.67	0.09	77.4	75.3	91.2	77.1
5.99	0.201	80.8	84.3	87.8	71.5

[0169] 결과는 다음을 나타내었다:

[0170] (1) pH는 실시예 1 제형의 외관에 영향을 주었다. 상기 제형은 pH 3.2에서 투명하였다;

[0171] (2) pH는 제형 중의 젠타마이신의 안정성에 영향을 주었다. 젠타마이신 안정성을 위해서는 낮은 pH (예컨대 3 내지 4의 pH)가 바람직하다; 및

[0172] (3) pH는 반코마이신 안정성은 현저하게 영향을 주지 않았다.

[0173] 실시예 5: pH 3.0 내지 5.5 사이에서 실시예 1 제형 중의 젠타마이신의 pH 안정성 프로파일 (하기 표 5 참조).

[0174] 3.0 내지 5.5 사이의 3개의 상이한 pH 수준에서 실시예 1 제형의 샘플을 제조하였다. 또한, 실시예 1의 제형의 안정성에 대한 L-히스티딘의 효과를 시험하고, L-히스티딘을 함유하는 제형과 L-히스티딘을 함유하지 않는 제형을 비교하였다. 젠타마이신 및 반코마이신의 안정성은 실시예 3에 기재된 바와 동일하게 평가하였다. 다음과 같은 것이 밝혀졌다:

[0175] (1) 제형 중의 젠타마이신의 안정성은 pH-의존적이다(젠타마이신은 낮은 pH를 선호한다(예컨대 3 내지 4의 pH));

[0176] (2) 제형 중의 반코마이신의 안정성은 연구된 pH 범위에서 덜 pH-민감성이다;

[0177] (3) L-히스티딘은 연구된 pH 범위에서 젠타마이신 안정성을 증가시켰다; 및

[0178] (4) L-히스티딘은 연구된 pH 범위에서 반코마이신 안정성을 감소시켰다.

[0179] 도 2는 오토클레이브 처리 후 에세이 회수율을 도시한다.

[0180] 실시예 6: 본 발명에 따른 다른 데포 및 제형의 제조 방법

표 6

[0181] 본 발명에 따른 다른 데포의 성분 목록

성분	w/w%
젠타마이신 설페이트	"USP 젠타마이신 에세이" 값에서 1.675%에 상응
반코마이신 히드로클로라이드	"USP 반코마이신 에세이" 값에서 1.876%에 상응
대두 레시틴 (PL90G)	50.0
에탄올	6.0
참깨 오일	100을 이루는 충분량
HCl	pH 3.3 +/- 0.2로 조절하기 위한 충분량

[0182] pH 3.3의 잔류하는 물 0.5 중량% 미만을 함유한 투명한 황색 멸균 데포(배치 크기: 1500 g)은 다음 단계에 따라 다단계 공정으로 제조하였다:

[0183] (1) 유화 단계, (2) 균질화/미소유동화 단계, (3) 동결건조 단계, (4) 에탄올 희석 단계, (5) 예비여과 단계, (6) 에탄올 제거 단계 및 (7) 여과 단계. 상기 수록된 성분 모두를 단순 혼합하는 것은 투명한 데포를 형성하지 않는다.

[0184] 상기 언급된 단계 각각에 대한 상세한 과정은 다음과 같다: 먼저, 물을 젠타마이신 설페이트, 반코마이신 히드로클로라이드에 부가하여 젠타마이신 설페이트 및 반코마이신 히드로클로라이드의 완전 용해를 허용하였다. 이어, PHOSPHOLIPON® 90G (Phospholipid GmbH) 및 참깨 오일을 부가한 다음, 5000 rpm에서 60분간 고 전단 혼합하여 균일한 초기 에멀전을 얻었다. 이어 상기 초기 에멀전의 pH는 1N의 HCl을 부가하는 것에 의해 3.3 ± 0.2 로 조절하였다. 이는 적당량의 1N HCl을 상기 에멀전에 부가한 다음 1분간 고전단 혼합하는 것에 의해 실시되었다. 이어 pH의 측정은 초기 에멀전이 pH 3.3 ± 0.2 를 갖도록 실시하였다.

[0185] 이어, 상기 초기 에멀전을 미소유동화기에 넣어 단상 용액을 생성하였다. 상기 단상 용액의 평균 직경은 레이저 광 산란 장치를 이용하여 측정하였다.

[0186] 이어, 상기 단상 용액을 동결건조시켜 물을 제거하여 잔류하는 물 함량이 0.5% 미만인 건조 페이스트를 얻었다. 이어 건조 페이스트를 탈수된 알코올과 혼합하였다. 이 혼합물을 60-70°C 수조(water bath)에서 투명 용액(점도 변형)이 얻어질 때까지 초음파처리하였다. 이어 상기 용액을 실온으로 냉각시키고, 또 0.65 미크론 멸균 필터를 통하여 예비여과하였다.

[0187] 이어 탈수 알코올의 잔류량이 6.5 중량% 내지 7 중량%이 될때까지 질소 가스를 블로잉하는 것에 의해 상기 용액 으로부터 알코올을 제거하여 점성의 투명 겔을 얻었다. 과도하게 건조된 경우 필요에 따라 탈수 알코올을 다시 부가하였다.

[0188] 생물안전 후드(biosafety hood)에서, 40 psi에서의 아르곤 가스를 적용하여 0.2 미크론 필터를 통하여 데포를 여과하여 제형을 멸균시켰다. 이어, 생물안전 후드에서, 여과된 데포를 유리 바이알에 충전하였다.

[0189] **실시예 7: 시험관내 방출 프로파일**

[0190] 젠타마이신 및 반코마이신을 함유하는 실시예 6의 제형의 시험관내 방출 프로파일은 베스킷 장치(37°C에서 100 rpm)를 이용하는 USP 방법 I을 이용하여 측정하였다. 1.36 g의 실시예 6 제형을 000 크기 캡슐에 충전하고 또 충전된 캡슐을 칸막이가 있는 40 메쉬 베스킷에 두었다. 또 3은 USP 방법 I을 이용하여 측정된 실시예 6의 제형의 젠타마이신 및 반코마이신의 시험관내 방출 프로파일을 도시한다.

[0191] **실시예 8: 토끼에서 약동학적 연구**

[0192] 본 발명에 따른 제형의 전달을 평가하기 위한 약동학적("PK") 연구를 실시하기 위해 뉴질랜드 흰토끼를 사용하였다. 실시예 1 및 실시예 6에 기재된 과정에 따라 2개 제형을 제조하고 외과수술 상처 또는 피하 포켓에 투여하였다. 하기 표 7은 토끼 PK 연구 디자인을 더욱 자세하게 나타낸다.

표 7

[0193]

연구	젤 형성	반코 투여량 (mg/kg)	젠타 투여량 (mg/kg)	체중 (kg)	주사 부피 (ml)	반코 농도 (mg/g)	젠타 농도 (mg/g)
제1 실험	실시예 1	2.06	3.08	2.5	2.0	2.57	3.85
제2 실험	실시예 6	12.6 또는 25.2	11.5 또는 22.9	3.0	2 또는 4	18.76	16.75

[0194]

제1 실험에서, 2마리 뉴질랜드 흰토끼를 시험하였다. 실시예 1의 제형을 상처에 주입한 후, 반코마이신 및 젠타마이신이 신속하게 흡수되어, 1-2 시간의 혈장 Tmax를 갖는다. 혈장 Cmax 농도는 마우스에서 관찰된 것과 유사하였다. 혈장 농도는 36시간에 달하는 한도 근처까지 감소하였다. 반코마이신의 조직 농도는 72시간에서 피크가 나타났고 또 도 4 및 도 5에 도시된 바와 같이, 168시간에 걸친 최소 억제 농도(MIC)를 상회하였다.

[0195]

젠타마이신의 조직 농도는 72시간에서 피크가 나타났고 또 도 6 및 도 7에 도시된 바와 같이, 168시간에 걸친 MIC 또는 그 아래이었다.

[0196]

혈장 및 조직 분석은 액체 크로마토그래피/질량 분광계(LC-MS/MS)에 의해 실시하였고 또 실시예 1의 제형의 약동학적(PK) 결과는 하기 표 8 및 9에 각각 요약한다.

표 8

[0197]

실시예 1 제형의 토끼 혈장 PK 변수

PK 변수	반코	젠타 C1a	젠타 C1	젠타 C2/C2a	젠타 합계	반코 AUC/MIC	젠타 C _{max} /MIC
C _{max} (μg/ml)	0.702	0.278	1.063	0.746	2.085		0.3
T _{max} (hr)	2	1	1	1	1		
AUC (hr* μg/ml)	11.60	3.44	14.13	9.85	27.42	15.5	
T _{1/2} (hr)	39.16	10.50	23.24	23.83	22.91		

표 9

[0198]

실시예 1 제형의 토끼 조직 PK 변수

PK 변수	반코	젠타 C1a	젠타 C1	젠타 C2/C2a	젠타 합계	반코 AUC/ MIC	젠타 C _{max} / MIC
C _{max} (μg/ml)	3.73	1.0525	5.865	3.23	10.1475		1.3
T _{max} (hr)	72	72	72	72	72		
AUC (hr* μg/ml)	354.88	104.28	573.10	324.86	1002.25	473.2	
T _{1/2} (hr)	35.32	50.32	49.68	51.60	50.35		

[0199]

제2 실험에서는 12.6 mg/kg의 반코마이신 및 11.46 mg/kg의 젠타마이신의 투여량을 함유하는 실시예 6의 제형의 상처 주입에 의해 6마리 뉴질랜드 토끼(그룹 I)를 시험하였고; 또 25.2 mg/kg의 반코마이신 및 22.9 mg/kg의 젠타마이신의 투여량을 함유하는 실시예 6의 제형의 상처 주입에 의해 6마리의 뉴질랜드 토끼(그룹 II)를 시험하였다.

[0200]

저농도(그룹 I) 젤은 상처 부위에서 반코마이신 및 젠타마이신 합계에 대한 평균이 4 μg/g인 반면에, 고농도 젤(그룹 II)은 평균이 26 및 19.4 μg/g 이었고, 이는 MIC(최소 억제 농도) 값의 4배 이상 큰 값이다. 실시예 6의 제형의 MPI 연구로부터 얻은 반코마이신 및 젠타마이신의 혈장 농도는 양쪽 투여량에서 400 초과의 반코마이신 AUC/MIC(농도 곡선 아래의 면적/최소 억제 농도) 비율 및 양쪽 투여량에서 800 초과의 젠타마이신 Cmax/MIC (최

대 농도/최소 억제 농도) 비율을 나타내었다.

도 8은 단일 피하(SC) 상처 주입 후 토끼에서 평균 반코마이신 혈장 농도를 도시하고 또 도 9는 토끼에서 전체 젠타마이신 혈장 농도를 도시한다.

혈장 및 조직 분석은 LC-MS/MS 분석에 의해 실시하였고, 또 실시예 6의 제형의 PK 결과는 하기 표 10에 요약한다:

표 10

	반코		젠타 C1		젠타 C1a		젠타 C2+C2a		젠타 합계		반코		젠타 합계	
그룹	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	AUC/MIC		C _{max} /MIC	
	평균	평균	평균	평균	평균	평균	평균	평균	평균	평균	1	2	1	2
C _{max}	3125	3150	2737	3586	769	1023	3188	4318	6679	8927			835	1116
T _{max}	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1				
AUC 마지막	47392	60114	19216	25447	5463	7351	23286	31652	47966	64451	63190	80151		

실시예 6의 제형(고 강도)과 실시예 1의 제형(저 강도) 사이의 주요 차이는 마우스와 같은 작은 동물에서 이들 2개 제형의 PK 프로파일은 유사하였지만, 토끼와 같은 큰 동물에서 시험되면 성능에서 큰 차이를 나타내는 것으로, 실시예 1의 제형의 조직 농도는 MIC 값의 4배 아래로 떨어지기 때문에, 농도 곡선 아래의 면적(AUC)이 더 낮아 MIC에 대하여 4배 이상 시간/면적 소모되었다.

비교예 1

성분	중량%
젠타마이신 설페이트	3
반코마이신 히드로클로라이드	2
Phospholipon 90G	63
참깨 오일	27
에탄올	5
합계	100.00

비교예 1은 균질화, 에탄올 제거 및/또는 예비여과 단계를 실시하지 않는 이외는 실시예 1 또는 6과 동일한 방법을 이용하여 제조하였다.

비교예 1은 동결건조 후 불투명 경질 페이스트를 형성하였고 또 점도조절제(에탄올)를 부가한 후에도 투명하지 않고 여과할 수 없었다.

실시예 9: 본 실시예는 본 발명의 제형을 제조하는 공정을 더 자세하게 설명한다.

표 11

본 발명에 따른 제형의 성분 목록

성분	w/w%
젠타마이신 설페이트	2.67*
반코마이신 히드로클로라이드	1.83**
대두 레시틴(PL90G)	50.0

에탄올	6.0
참깨 오일	39.50
1N HCl	pH 3.3 +/- 0.2로 조절하기 위한 충분량

[0212] * 16.75 mg/g 젠타마이신에 상응

[0213] ** 18.76 mg/g 반코마이신에 상응

[0214] 젠타마이신 설페이트, 반코마이신 히드로클로라이드, PL90G 및 참깨 오일과 물을 비이커에 부가하고, 500 RPM에서 고전단 혼합기에 의해 30분간 혼합 및 균질화하여 초기 에멀전을 얻었다. 초기 에멀전의 pH는 1N HCl에 의해 3.3으로 조정하였다.

[0215] 미소유동화기(M-110EH, Microfluidics Corp)를 이용하여 초기 에멀전의 점적 크기를 감소시켰다. 작업 압력은 25000 psi에 설정하였다. 6회 통과한 후, 단상 용액의 점적 크기(Z-Ave)는 레이저 광 산란 산란기(Nano-ZS, Malvern)에 의해 80 nm 미만이었다. 단상 용액의 pH를 확인하고 필요에 따라 3.3으로 조정하였다.

[0216] 상기 단상 용액을 충전 높이 3 cm 미만으로 스테인레스 강 용기에 전달한 다음 동결건조하여 1% 잔류하는 물(칼 피셔 적정에 의해) 정도로 물을 제거하여 건조 페이스트를 얻었다. 동결건조 후, 건조 페이스트를 2L 비커에 수집하였다. 탈수 알코올을 페이스트에 부가하여 최종 25%(w/w)로 만들었다. 이 혼합물을 실온에서 교반에 의해 용해시켜 투명한 황색 용액을 형성하였다.

[0217] 투명 용액을 증발시켜 질소 가스 블로잉에 의해 알코올 함량을 감소시켜 6% 알코올(w/w)을 갖는 점성이고 투명한 데포를 얻었다. 이어 상기 데포를 0.2 μ m SARTOPORE® 2 필터를 통하여 통과시키는 것에 의해 멸균시켰다.

[0218] 비교예 2: 미소유동화 단계 없이 제조한 제형

[0219] 실시예 9에 기재된 것과 동일한 방식으로 초기 에멀전을 제조하였다. 이 초기 에멀전을 철야로 진탕하거나 또는 5000 RPM에서 2시간 동안의 고전단 혼합에 의해 균질화시킨 다음, 실시예 9에 기재된 것과 동일한 방식으로 동결건조시켰다. 예를 들어, 미소유동화 단계는 적용하지 않았다. 동결건조 후, 탈수 알코올을 페이스트에 부가하여 탈수 알코올의 양이 약 25%(w/w)이게 하였다. 생성한 혼합물은 교반된 후 또는 연장된 기간 동안 투명하지 않았다. 이 공정은 연속될 수 없는데 이는 투명 또는 여과가능한 용액이 얻어지지 않기 때문이다.

[0220] 비교예 3: 동결건조용 비-스테인레스강 용기를 이용하여 제조한 제형

[0221] 초기 에멀전 및 단상 용액은 실시예 9에 기재된 방법과 동일하게 제조하였다. 상기 나노에멀전은 스테인레스 강 용기 대신 유리 용기를 사용하는 이외는 실시예 9에 기재된 바와 같은 방식으로 동결건조되었다. 동결건조 후, 상기 건조 페이스트에 탈수 알코올을 부가하여 탈수 알코올의 양이 생성한 점도 조절된 용액의 전체 중량에 대하여 약 25% (w/w)이도록 하였다. 생성한 혼합물은 교반한 후 또는 연장된 기간 동안 가열한 후에도 투명하지 않았다. 이 공정은 연속될 수 없는데 이는 투명 또는 여과가능한 용액이 얻어지지 않기 때문이다.

[0222] 비교예 4: 탈수 알코올을 약 25% (w/w)로 부가하지 않고 제조한 제형

[0223] 초기 에멀전, 단상 용액 및 건조 페이스트는 실시예 9에 기재된 것과 동일한 방식으로 제조하였다. 동결건조 후, 상기 페이스트에 탈수 알코올을 부가하여 탈수 알코올의 양이 생성한 점도 조절된 용액의 전체 중량에 대하여 25% (w/w)가 아니라 약 6%(w/w)이도록 하였다. 생성한 혼합물은 흐리며 또 교반한 후 또는 연장된 기간 동안 가열한 후에도 투명하지 않았다.

[0224] 상술한 바와 같이, 상기 용액의 투명도는 외관에 의해 측정하며, 예컨대 육안으로 현탁된 입자를 갖지 않으며, 또 중간체 용액은 1cm 석영 큐벳 내에서 800 nm (T800)에서 파마시아가 제조한 Model Ultrospec III와 같은 UV-가시광 분광광도계에 의해 측정할 때 알코올을 블랭크로 사용하여 측정된 약 90%보다 큰 광 투과성을 갖는다.

[0225] 실시예 10A-10F

성분	실시예 10A	실시예 10B	실시예 10F
젠타마이신 설페이트	USP 에세이에서 1.68% (w/w) 젠타마이신에 상응하는 양	USP 에세이에서 1.68% (w/w) 젠타마이신에 상응하는 양	0
반코마이신 히드로클로라이드	USP 에세이에서 1.88% (w/w) 젠타마이신에 상응하는 양	0	0
대두 레시틴	50.00	51.00	50.00
탈수 알코올	6.00	6.00	6.00
참깨 오일	100을 이루도록 부가	100 을 이루도록 부가	100 을 이루도록 부가

[0226]

[0227] 상기 확인된 실시예 10A는 본 발명의 방법에 따라 제조하였다.

[0228] 상기 확인된 실시예 10B는 본 발명의 방법에 따라 제조하였다.

[0229] 상기 확인된 실시예 10C는 친수성 수용성 약학적 활성제를 함유하지 않고 본 발명의 방법에 따라 제조하였다.

[0230] 실시예 10D는 실시예 10C의 제형을 젠타마이신 설페이트 및 반코마이신 히드로클로라이드와 혼합하여 제조하였다. 따라서 실시예 10D는 본 발명의 방법에 따라 제조하지 않았다.

[0231] 실시예 10E는 실시예 10C의 제형을 젠타마이신 설페이트와 혼합하는 것에 의해서 제조하였다. 따라서 실시예 10E는 본 발명에 따라 제조하지 않았다.

[0232] 실시예 10F는 미소유동화 단계없이 제조하였다. 따라서 실시예 10F 또한 본 발명에 따라 제조하지 않았다. 미소 유동화의 생략은 데포를 초래하였다. 따라서 생성한 데포는 투명하지 않았다.

[0233] 실시예 11: 실시예 10A-10F의 작은 각 X-선 회절(Small Angle X-ray Diffraction: SAXSS)에 의한 구조적 특성화

[0234] 과정: 작은 각 X-선 산란(Small angle X-ray scattering: SAXS) 데이터는 핀홀 콜리메이터(collimator)를 이용하여 콜리메이트된 CuK ($\lambda = 1.541838 \text{ \AA}$) 방사선 빔을 적용하여 50 kV 및 50 mA에서 동작하는 Bruker M18XHF22 회전 애노드 발생기를 이용하여 헬륨 챔버 내에서 수집하였다. K β 방사선은 Ni 필터에 의해 걸러졌다. 데이터를 수집하기 위하여 하이스타 멀티와이어 검출기(Highstar multiwire detector)를 이용하였다. 샘플은 변형없이 0.9 mm 보로실리케이트 유리 모세관에 장입하고 에폭시에 의해 밀봉하였다. 샘플은 자동화된 고니 오미터(goniometer) 상의 He 챔버 내에서 64.55 cm 검출기 거리로 샘플에 장착되었다. 공기로부터 산란을 방지하기 위하여 He 가스로 챔버를 1시간 동안 세정한 다음 각 샘플을 7200 초 동안 수집하였다. 이 데이터를 수집하고 0.1 및 0.02° 폭에 있어서 0.8 내지 4.7° 2 θ 에 이르는 360° χ 원(circle) 상에서 통합(integrate)하였다. 패턴을 비교하고 피크 위치의 세분화(refinement)에 대해 0.1° 폭 통합을 이용하였다.

[0235] 결과: 도 12는 실시예 10A-10F의 작은 각도 X-선 회절(SAXS) 패턴을 도시한다. 2개의 뚜렷한 회절 피크가 관찰되었다. 실시예 10A, 10B 및 10F는 약 2 세타(도)에서 낮은 각도 회절 피크를 나타내었고 또 2개의 물리적 혼합물(실시예 10D 및 10E) 및 활성제를 갖지 않는 데포 부형제(실시예 10C)는 약 2.5 세타(도)에서 훨씬 더 넓은 회절 피크를 나타내었다.

[0236] 본 발명의 방법을 이용하여 제조된 제형(실시예 10A 및 10B)은 약 2 세타(도)에서 형성된 독특한 SAXS 회절 피크를 가졌고, 이는 실시예 10C 또는 동일 약물을 갖는 상기 데포 부형제의 물리적 혼합물(실시예 10D 및 10E)에서는 발견되지 않았다. 실시예 10C는 실시예 10A, 10B 및 10F에 비하여 더 작은 격자 간격을 갖는다.

[0237] 젠타마이신 및 반코마이신이 본 발명에 따른 상기 데포에 혼입될 때 격자 간격에서 약 8-9Å 증가가 산출되며, 이러한 독특한 구조를 형성한다(이후 "2-세타 구조"라 칭함).

[0238] 2개의 물리적 혼합물(실시예 10D 및 10E)은 데포 부형제(실시예 10C)와 일치하는 초기 회절 피크의 격자 간격을

나타내었고, 이는 젠타마이신 및 반코마이신을 갖는 상기 테포 부형제의 물리적 혼합이 부형제의 구조를 변화시키지 않음을 나타낸다.

[0239] 2-세타 구조가 형성되는 것은 본 발명의 방법을 이용하여 상기 테포 부형제에 반코마이신 및/또는 젠타마이신이 혼입된 후이다.

[0240] 이는 본 발명의 조성물이 독특한 2-세타 구조를 가지고 또 이러한 구조는 본 발명의 제조 방법을 이용하여서만 얻어질 수 있음을 분명히 나타낸다.

[0241] 예를 들어 10F에서 관찰된 2세타(도)에서 감소된 회절 세기는 미소유동화 단계없이 제조된 조성물에 "2-세타 구조"가 부분적으로 존재함을 제시한다.

[0242] 결론: 본 발명, 실시예 10A 및 10B의 조성물은 독특하게 상이한 2-세타 구조를 함유한다.

[0243] **실시예 12: 실시예 10A 및 10D의 열중량 분석(TGA)에 의한 구조적 특징화**

[0244] 과정: TGA 실험은 세이코 인스트루먼트 TG/DTA 220 nit 상에서 실시하였다. 온도 및 엔탈피는 인듐 및 주석 표준을 이용하여 검량하였다. 스캔(scan)은 10°C/분의 비율, 25-300°C에서 80 ml/분의 질소 세정율로 오픈 팬(open pan)에서 5 내지 10 mg 샘플 크기를 이용하여 완성하였다.

[0245] 결과: 도 13에 도시한 바와 같이, TGA 결과는 본 발명의 방법에 따라 제조한 실시예 10A 및 본 발명의 방법에 따라 제조하지 않은 실시예 10D 사이에는 중량 손실 프로파일에서 작은 차이를 나타내었다.

[0246] **실시예 13: 실시예 10A 및 10D의 미분주사열량계(DSC)에 의한 구조적 특징화**

[0247] 과정: DSC 실험은 RSC(냉장된 냉각) 유닛을 구비한 세이코 인스트루먼트 DSC 120 단일 셀 모듈레이티드(modulated) DSC를 이용하여 실시하였다. 상기 DSC는 인듐 표준을 이용하여 온도 및 셀 일정한 것에 대해 검량하였다. 스캔은 각 샘플에 대해 사용된 5 내지 10 mg 중량과 40 ml/분의 질소 세정 속도를 갖는 밀봉된 팬에서 10°C/분의 속도로 정상 DSC 모드로 실시하였다. 스캔은 25-300°C에서 실시하였다.

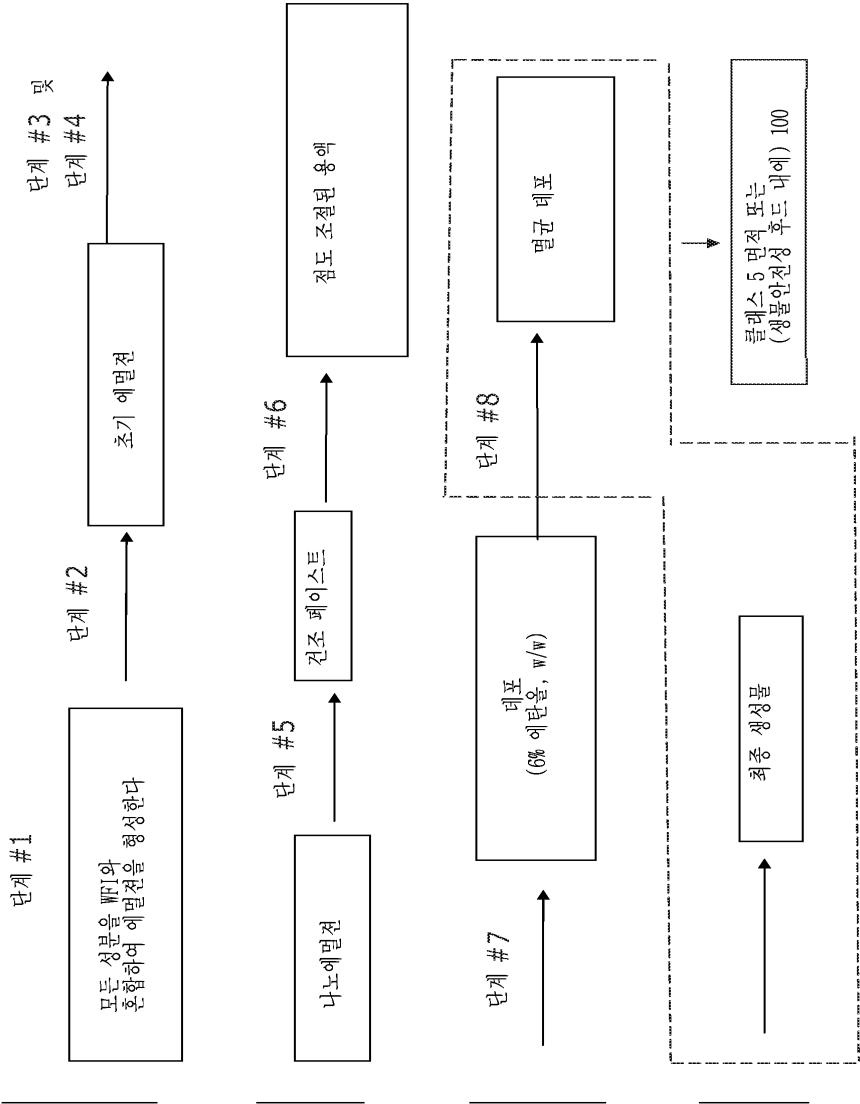
[0248] 결과: 도 14에 도시된 바와 같이, 양쪽 샘플(실시예 10A 및 10D)에 대한 DSC 프로파일은 약 100°C 이하까지 주요 발열 이벤트를 특징으로 하며, 이는 샘플의 용해와 관련되는 것으로 보인다. 그러나, 실시예 10D는 약 80°C에서 부가적 발열 피크를 나타내었고, 이는 고형 약물, 즉 젠타마이신 설페이트 및/또는 반코마이신 히드로클로라이드의 용점에 기인하는 것으로 보인다.

[0249] 본 발명은 특정 실시양태를 참조하여 기재하였으나, 이들 실시양태는 본 발명의 원리와 적용의 일례로서 든 것임을 이해해야 한다. 따라서, 첨부된 특허청구범위에 의해 정의된 본 발명의 정신과 범위를 벗어나지 않는 한 예시적 실시양태에 대해 다수의 변형이 가해질 수 있으며 또 다른 배열도 고안될 수 있음을 이해해야 한다.

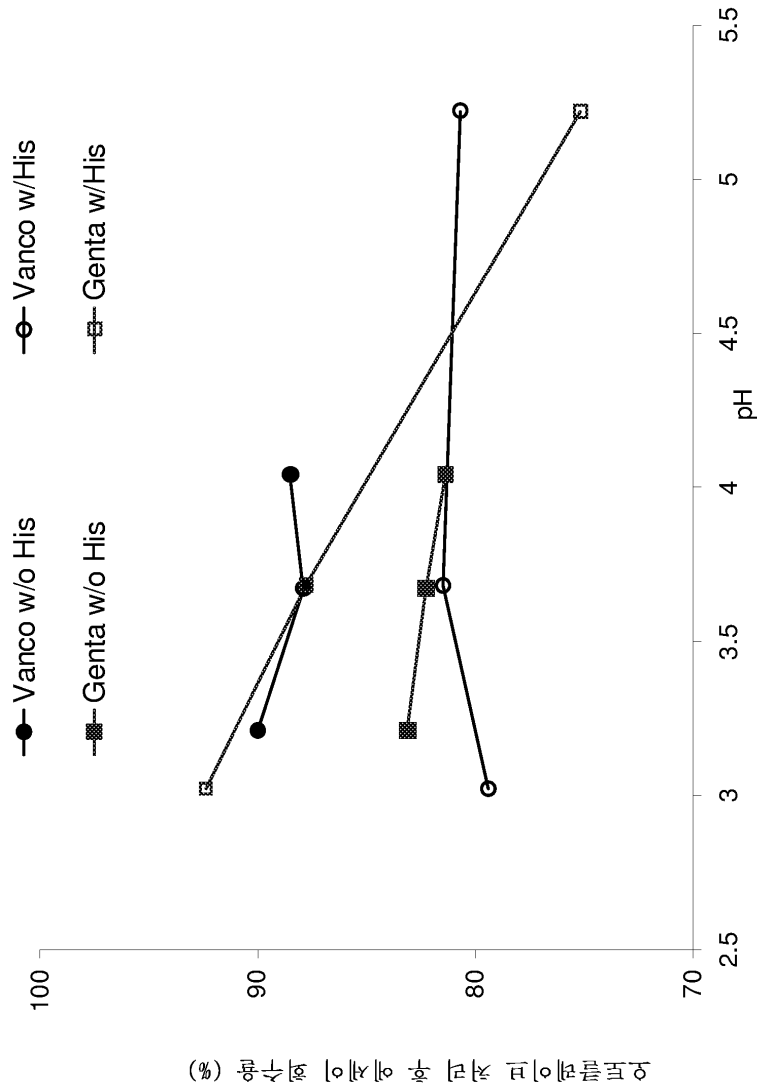
[0250]

도면

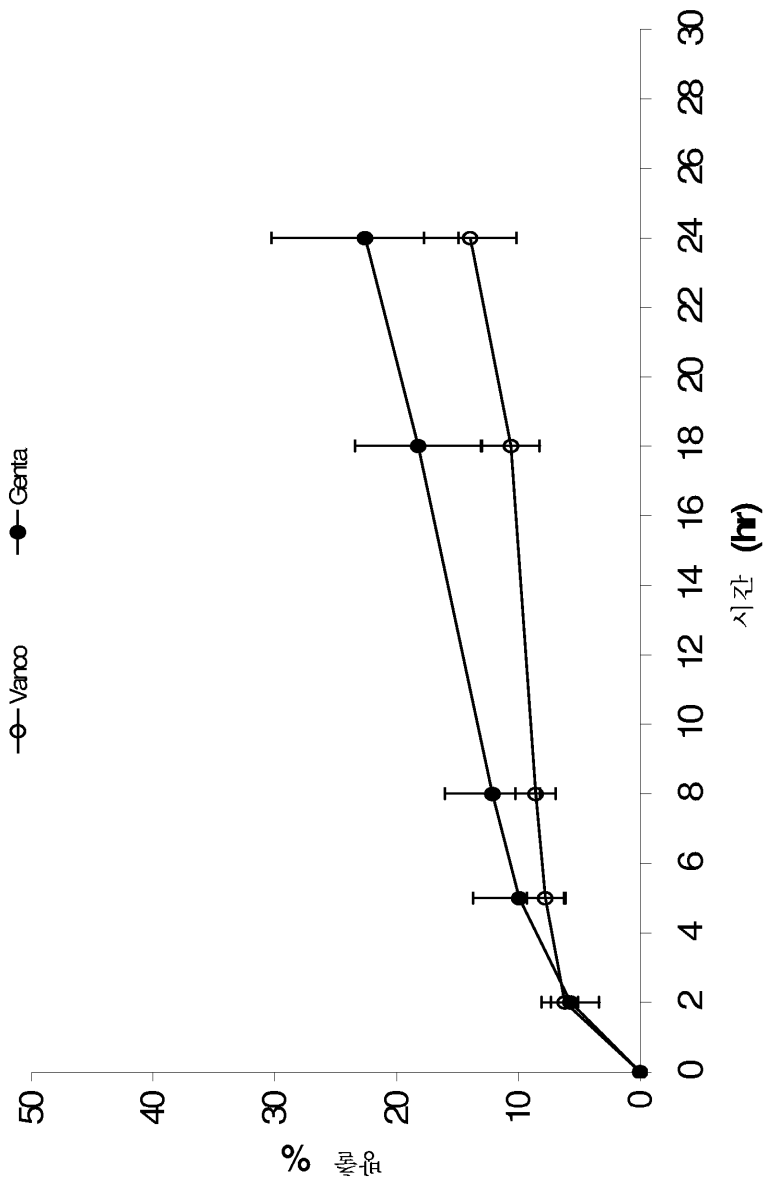
도면1



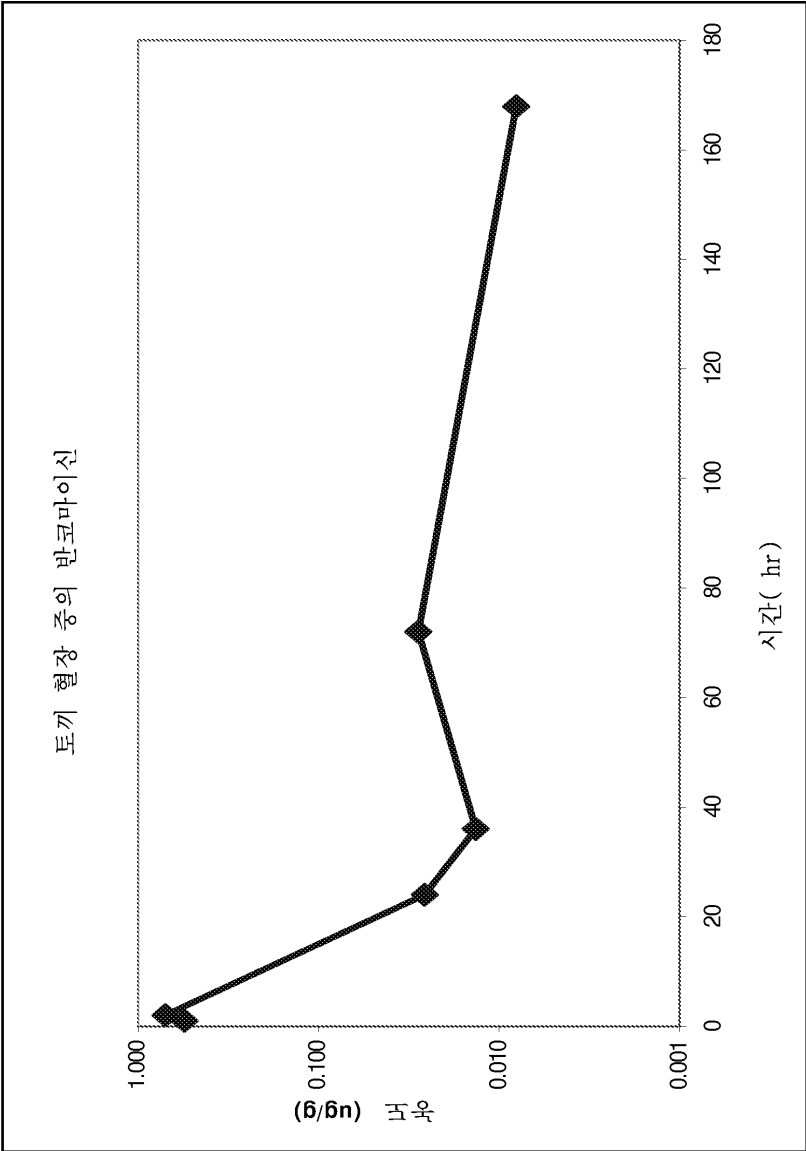
도면2



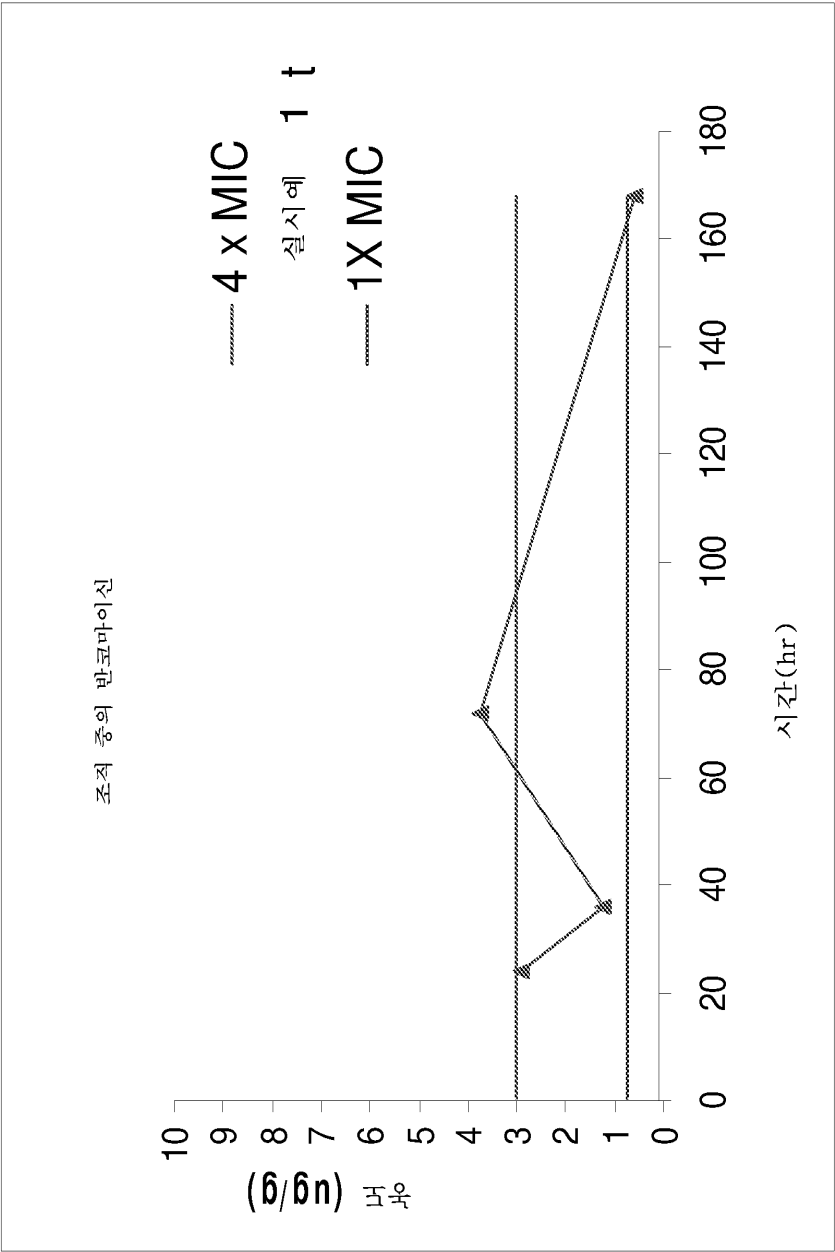
도면3



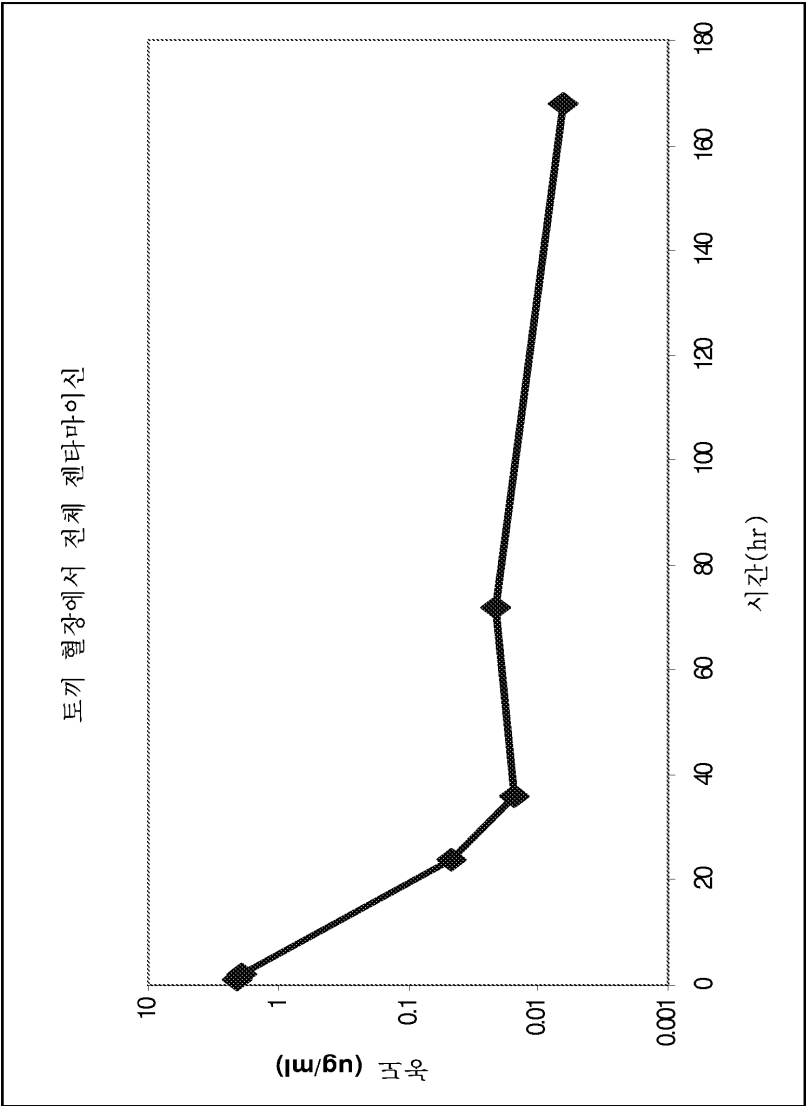
도면4



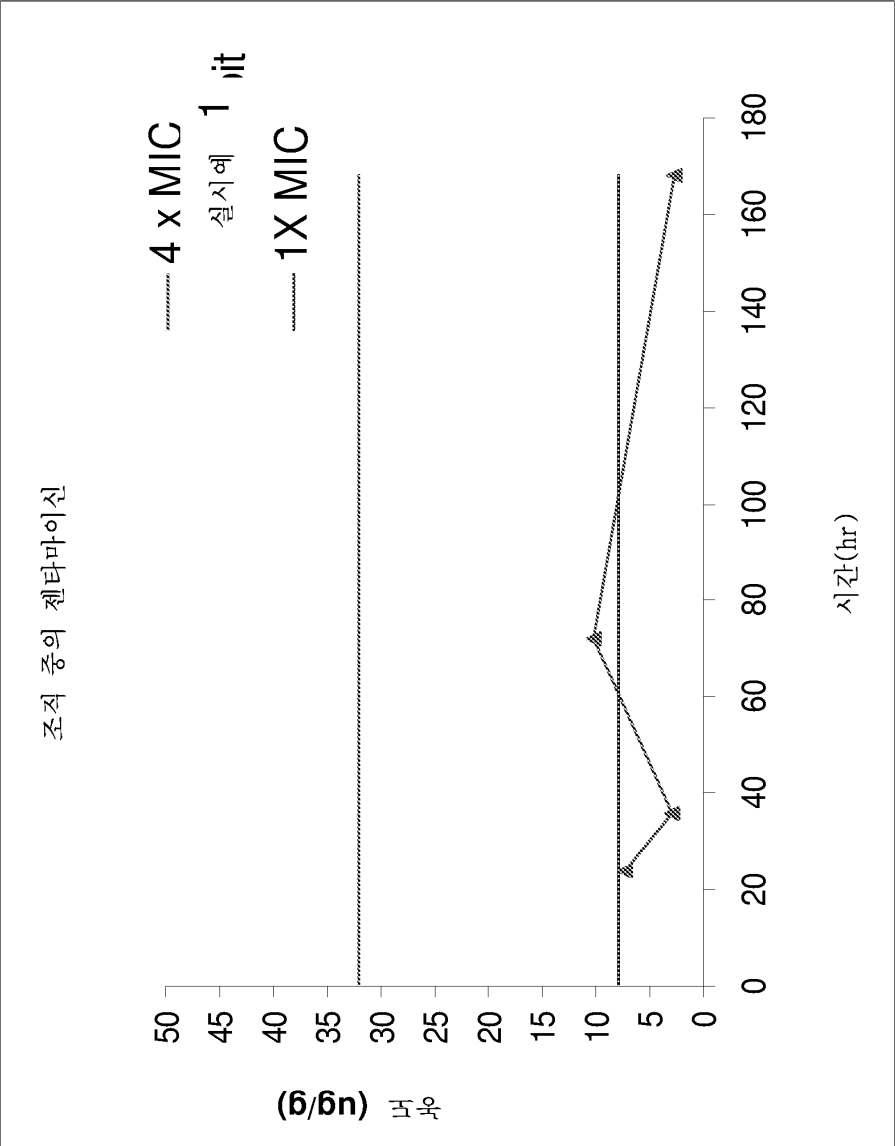
도면5



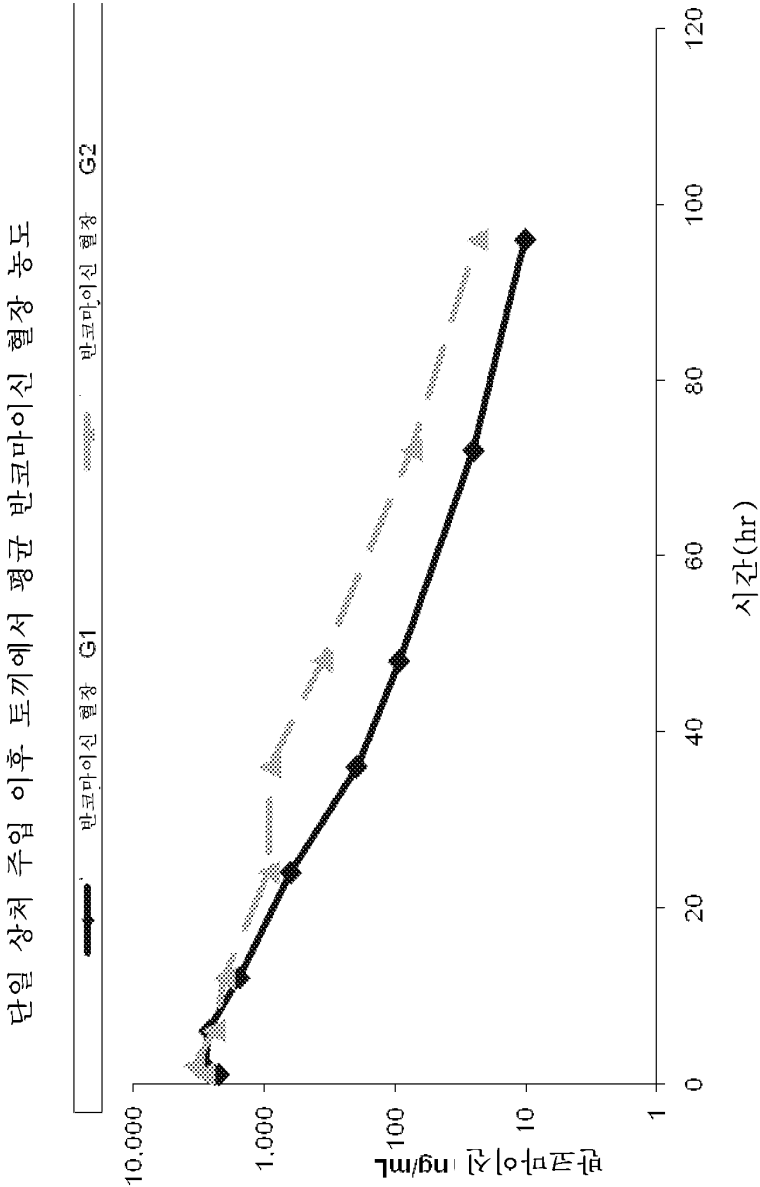
도면6



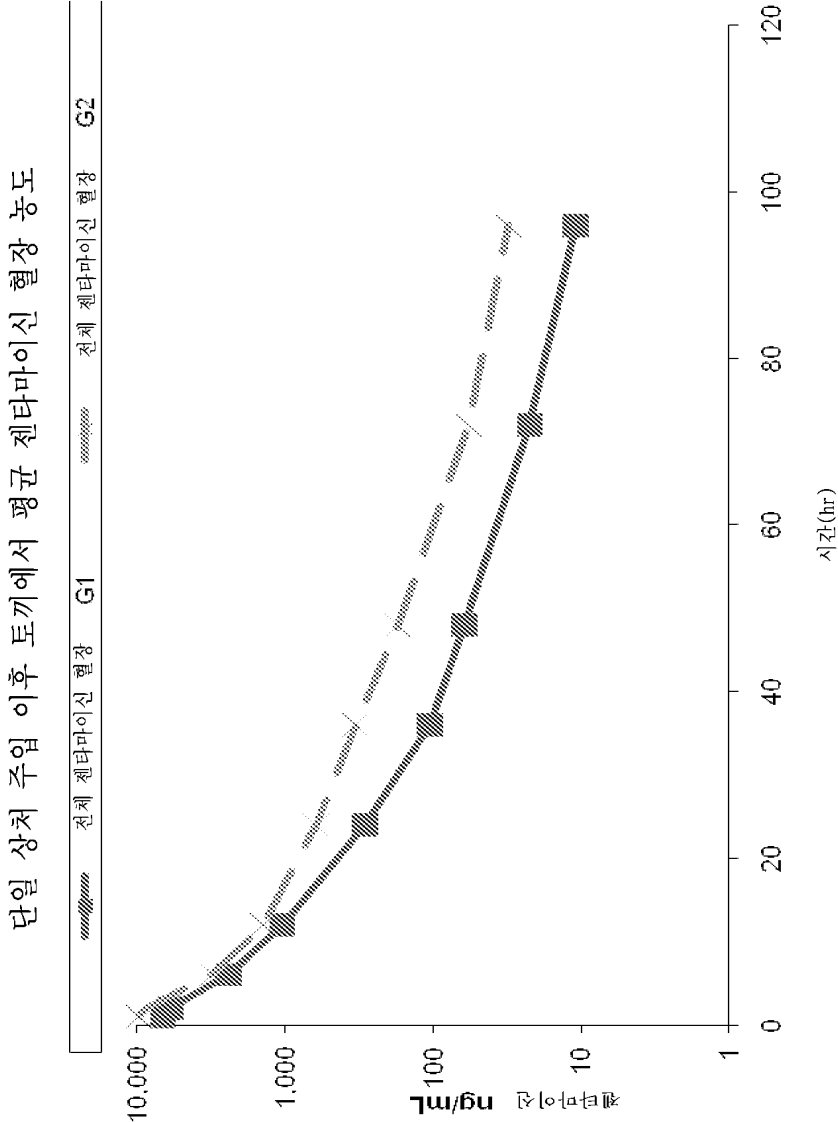
도면7



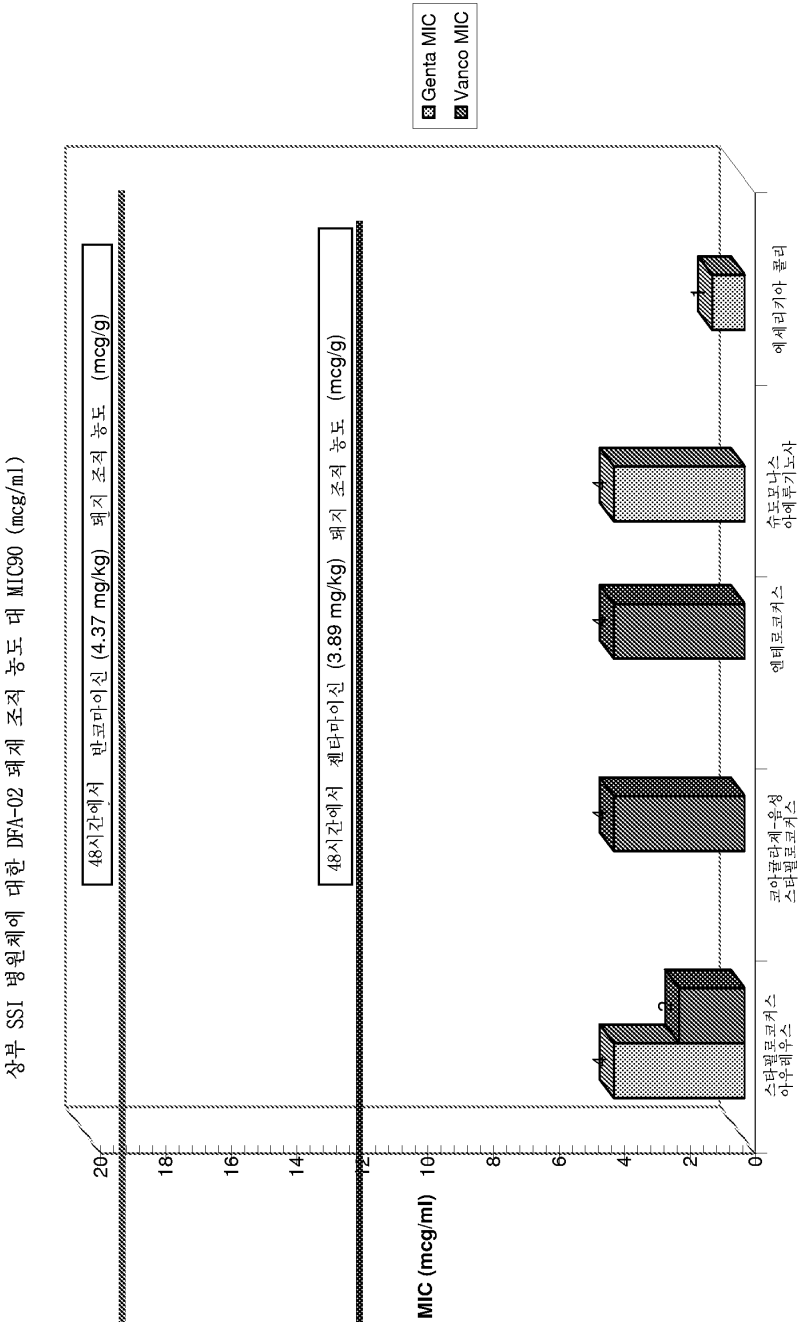
도면8



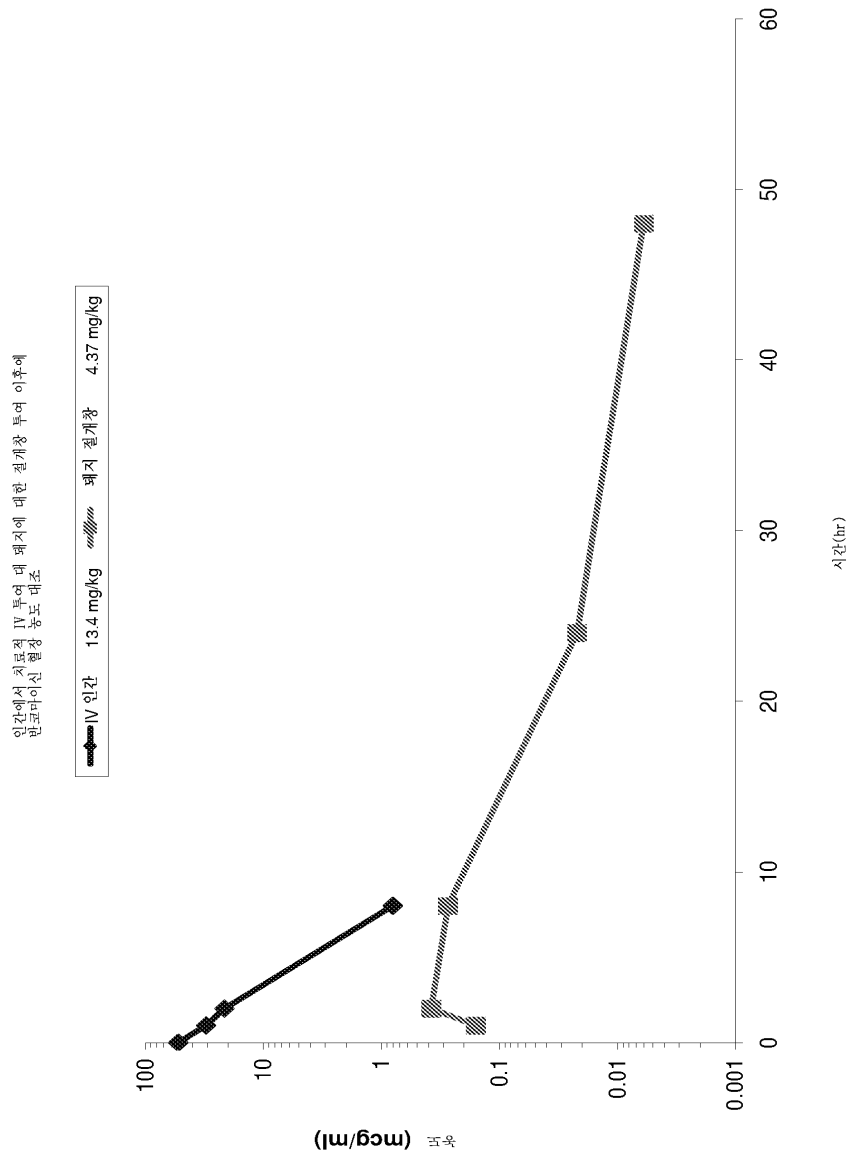
도면9



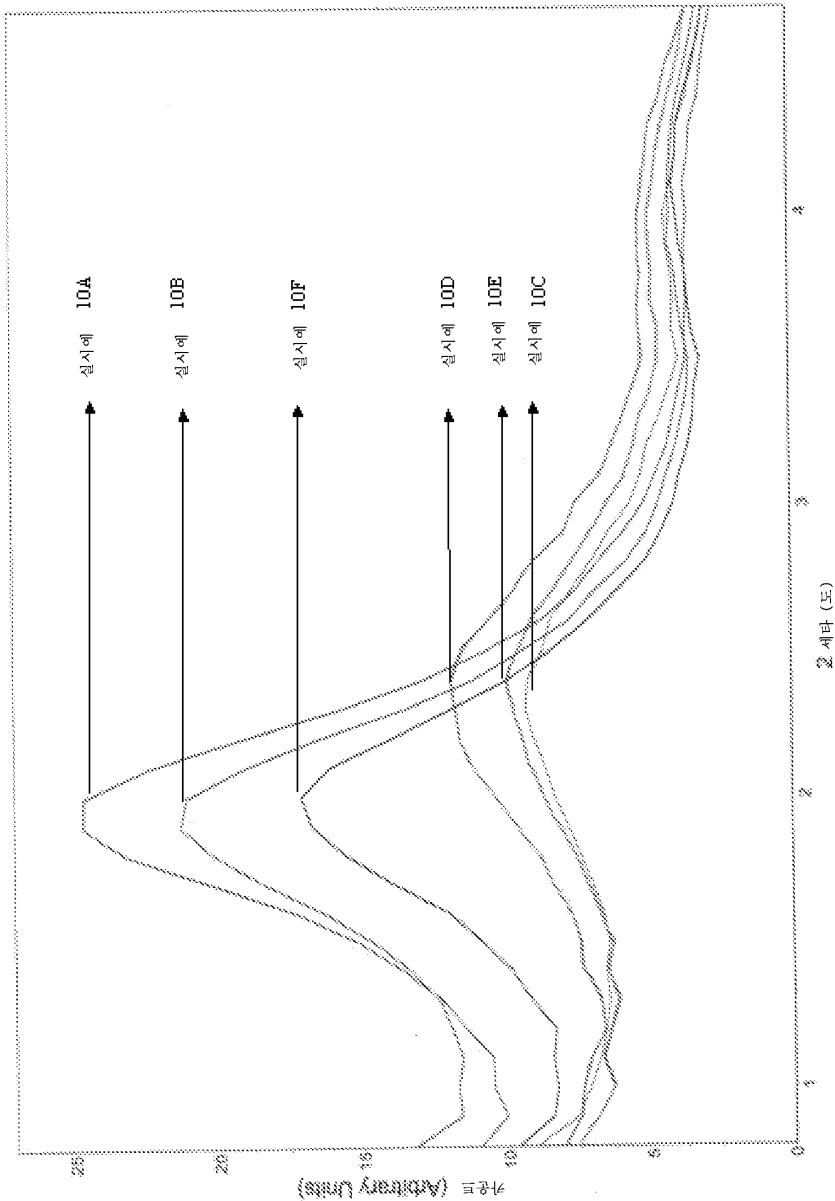
도면10



도면11

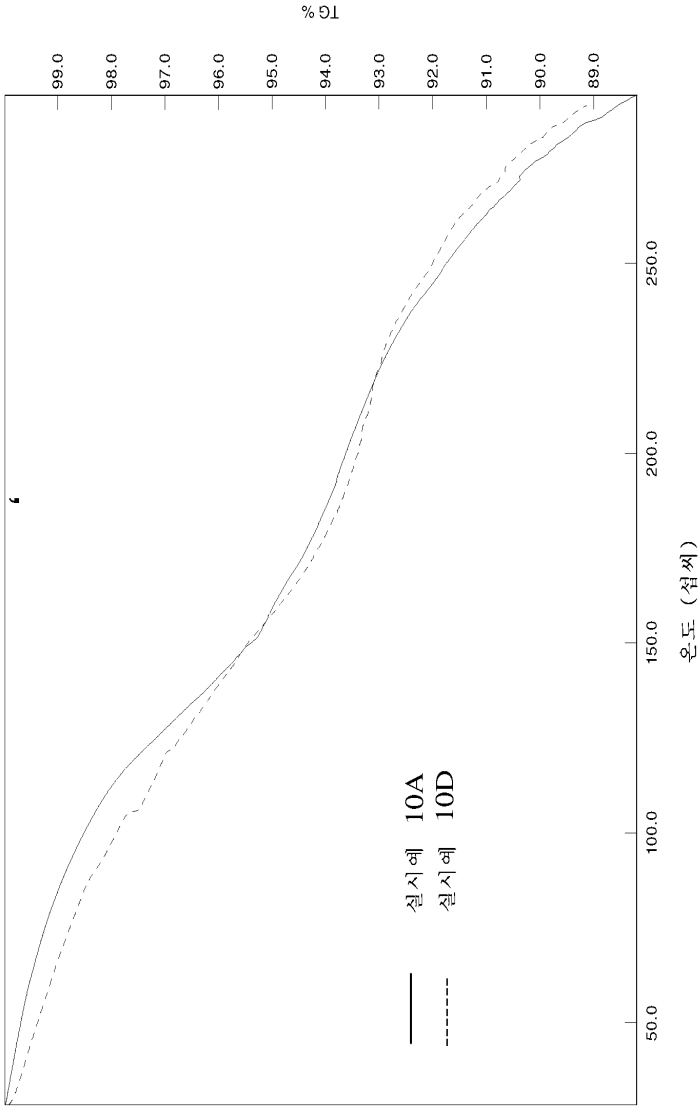


도면12



도면13

실시예 10A 및 실시예 10D의 열중량분석



도면14

실시예 10A 및 실시예 10D의 시차주사 열량측정법 (DSC)

