



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년06월01일
(11) 등록번호 10-1152458
(24) 등록일자 2012년05월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/337 (2006.01) A61K 9/10 (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-7008686
(22) 출원일자(국제) 2004년11월03일
심사청구일자 2009년11월03일
(85) 번역문제출일자 2006년05월04일
(65) 공개번호 10-2006-0118455
(43) 공개일자 2006년11월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2004/036604
(87) 국제공개번호 WO 2005/046671
국제공개일자 2005년05월26일
(30) 우선권주장
10/703,395 2003년11월07일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
W01999059550 A1
전체 청구항 수 : 총 34 항

(73) 특허권자
백스터 인터내셔널 인코포레이티드
미국 일리노이주 60015 디어필드 원 백스터 파크
웨이
(72) 발명자
차우발, 마헤쉬
미국 60067 일리노이주 팰러타인 넘버203 엔. 컨
트리사이드드라이브 915
월링, 제인
미국 60005 일리노이주 알링톤 하이츠 사우스 하
일랜드 예비뉴605
라비노우, 바렛, 이.
미국 60076 일리노이주 스코키 트립 예비뉴 9119
(74) 대리인
김영, 장수길

심사관 : 김은희

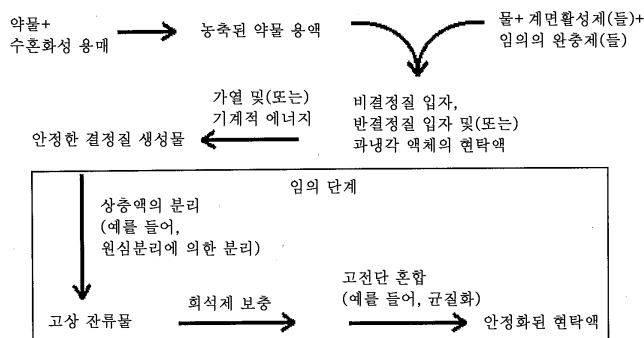
(54) 발명의 명칭 파클리탁셀의 서브미크론 입자의 제조 방법

(57) 요약

본 발명은, 항종양제를 수성 매질에서 침전시켜 예비-현탁액을 형성한 후에 균질화시킴으로써, 항종양제, 특히 파클리탁셀의 서브미크론 입자를 형성하는 것에 관한 것이다. PEG와 같은 수용성 또는 친수성 중합체가 컨쥬게이션된 인지질을 갖는 계면활성제는 입자의 코팅으로서 사용된다. 생성된 입자는 일반적으로 약 1000 nm 미만의 평균 입자 크기를 가지며 속용성이 아니다.

대표도 - 도1

방법 A



특허청구의 범위

청구항 1

- (i) 수용성 또는 친수성 중합체와 컨쥬게이션된 인지질을 포함하는 제1 표면 개질제를 수산화성 제1 용매 또는 제2 용매, 또는 수산화성 제1 용매 및 제2 용매 둘 다와 혼합하는 단계;
- (ii) 음이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제 및 표면 활성 생물학적 개질제로 구성된 군으로부터 선택되는 제2 표면 개질제를 수산화성 제1 용매 또는 제2 용매, 또는 수산화성 제1 용매 및 제2 용매 둘 다와 혼합하는 단계;
- (iii) 파클리탁셀 또는 그의 유도체 화합물을 수산화성 제1 용매에 용해시켜 용액을 형성하는 단계;
- (iv) 용액을 제2 용매와 혼합하여 입자의 예비-현탁액을 형성하는 단계; 및
- (v) 예비-현탁액을 균질화시켜, 1000 nm 미만의 평균 유효 입자 크기를 갖는 침전된 소립자의 현탁액을 형성하는 단계

를 포함하는, 수성 제2 용매에서보다 수산화성 제1 용매에서 용해도가 더 높은 파클리탁셀 또는 그의 유도체 화합물의 서브미크론(submicron) 입자의 제약 조성물의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 인지질이 천연 또는 합성 인지질인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 인지질이 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 디아실-글리세로-포스포에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜글리세롤, 포스파티드산, 리소인지질, 계란 또는 대두 인지질, 또는 이들의 조합인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 디아실-글리세로-포스포에탄올아민이 디미리스토일-글리세로-포스포에탄올아민 (DMPE), 디팔미토일-글리세로-포스포에탄올아민 (DPPE), 디스테아로일-글리세로-포스포에탄올아민 (DSPE) 및 디올레올릴-글리세로-포스포에탄올아민 (DOPE)로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 인지질과 컨쥬게이션되는 수용성 또는 친수성 중합체가 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)인 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, PEG가 PEG 350, PEG 550, PEG 750, PEG 1000, PEG 2000, PEG 3000 및 PEG 5000으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 인지질과 컨쥬게이션되는 수용성 또는 친수성 중합체가 텍스트란, 히드록시프로필 메타크릴레이트 (HPMA) 및 폴리글루타메이트로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

제1항에 있어서, 제2 표면 개질제가 옥시에틸렌과 옥시프로필렌의 공중합체인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 옥시에틸렌과 옥시프로필렌의 공중합체가 블록 공중합체인 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 제2 표면 개질제가 폴록사머인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 수산화성 제1 용매가 N-메틸-2-피롤리디논인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 균질화가 30 ℃ 이상에서 수행되는 것인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 소립자의 평균 유효 입자 크기가 400 nm 미만인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 소립자의 평균 유효 입자 크기가 200 nm 미만인 방법.

청구항 16

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 소립자의 평균 유효 입자 크기가 150 nm 미만인 방법.

청구항 17

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물을 멸균하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 조성물을 멸균하는 단계가, 용액과 제2 용매를 혼합하기 전에 멸균 여과하고 무균 조건 하에 후속 단계들을 수행하는 것을 포함하는 방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 조성물을 멸균하는 단계가 입자를 멸균 여과하는 것을 포함하는 방법.

청구항 20

제17항에 있어서, 멸균 단계가 가열 멸균을 포함하는 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 가열 멸균이 멸균용 가열 및 가압원으로 기능하는 균질화기 내에서 가열에 의해 수행되는 것인 방법.

청구항 22

제17항에 있어서, 멸균 단계가 감마선 조사를 포함하는 방법.

청구항 23

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 현탁액으로부터 수산화성 제1 용매를 제거하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 수혼화성 제1 용매를 제거하는 단계가 여과에 의해 수행되는 것인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 여과가 직교류 한외여과 (cross-flow ultrafiltration)인 방법.

청구항 26

제23항에 있어서, 수혼화성 제1 용매를 제거하는 단계가 균질화와 동시에 수행되는 것인 방법.

청구항 27

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 현탁액의 액상을 제거하여 입자의 건조 분말을 형성하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 액상 제거가 증발, 회전 증발, 동결건조, 냉동건조, 정용여과, 원심분리, 역장 분별 (force-field fractionation), 고압 여과 및 역삼투로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 29

제27항에 있어서, 건조 분말에 희석제를 첨가하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 희석제가 입자의 비경구 투여에 적합한 것인 방법.

청구항 31

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 비경구, 경구, 폐내, 국소, 안내, 비내, 구강내, 직장내, 질내 및 경피로 구성된 군으로부터 선택되는 경로에 의한 투여를 위해 제형화되는 것인 방법.

청구항 32

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 입자가 가용성이 아닌 것인 방법.

청구항 33

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 입자가 스트레스 조건 하에 또는 저장시 응집되지 않는 것인 방법.

청구항 34

제1항 내지 제4항, 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항의 방법에 따라 제조된, 파클리탁셀 또는 그의 유도체 화합물의 서브미크론 입자의 제약 조성물.

청구항 35

제1항에 있어서, 파클리탁셀을 수혼화성 제1 용매에 용해시키는 방법.

명세서

[0001] <관련 출원에 대한 상호 참조>

[0002] 본 출원은, 2000년 12월 22일부로 출원된 미국 가출원 제60/258,160호를 우선권으로 주장하는 미국 출원 제 09/874,637호 (2001년 6월 5일 출원)의 일부계속출원인 미국 출원 제09/953,979호 (2001년 9월 17일 출원)의 일부계속출원인 미국 출원 제10/035,821호 (2001년 10월 19일 출원)의 일부계속출원인 미국 출원 제 10/246,802호 (2002년 9월 17일 출원)의 일부계속출원인 미국 출원 제10/390,333호 (2003년 3월 17일 출원)의

일부계속출원이다. 상기 언급된 출원 모두는 그 거명을 통해 본원에 포함되어 본 발명의 일부를 형성한다.

[0003] <연방 정부가 후원하는 연구 또는 개발>

[0004] 해당없음.

기술 분야

[0005] 본 발명은, 항종양제를 수성 매질에서 침전시켜 예비-현탁액을 형성한 후에 균질화시킴으로써, 항종양제, 특히 파클리탁셀 또는 그의 유도체 화합물의 서브미크론(submicron) 입자를 형성하는 것에 관한 것이다. 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 수용성 또는 친수성 중합체와 컨쥬게이션된 인지질을 갖는 계면활성제는 입자의 코팅으로서 사용된다. 생성된 입자는 일반적으로 약 1000 nm 미만의 평균 입자 크기를 가지며 수용성이 아니다.

배경 기술

[0006] 치료 또는 진단 효과를 위해 제제화되는, 수용액에 대해 난용성 또는 불용성인 유기 화합물의 수는 점점 증가하고 있다. 이러한 약물을 상기 상술된 투여 경로에 의해 전달해야 하는 과제가 제공된다. 수불용성 화합물은 서브미크론 입자의 안정한 현탁제로서 제형화되는 경우에 상당한 이점을 가질 수 있다. 이러한 제형의 안전하고 효능있는 사용을 위해서는 입자 크기의 정확한 제어가 필수적이다. 색전을 유발하지 않으면서 모세혈관을 안전하게 통과하기 위해서는 입경이 7 미크론 미만이어야 한다 [Allen et al., 1987; Davis and Taube, 1978; Schroeder et al., 1978; Yokel et al., 1981]. 상기 문제에 대한 하나의 해결책은 불용성 약물 후보체의 소립자를 생성하여 마이크로입자성 또는 나노입자성 현탁액을 제조하는 것이다. 이러한 방식으로, 기존에는 수성계로 제형화될 수 없었던 약물이 정맥내 투여에 적합해질 수가 있다. 정맥내 투여의 적합성 관별 요인에는 작은 입자 크기 (7 μm 미만), 저독성 (독성 제형 성분 또는 잔류 용매로부터), 및 투여 후 약물 입자의 생체이용율이 포함된다.

[0007] 수불용성 약물 소립자의 제제는 경구, 폐내, 국소, 안내, 비내, 구강내, 직장내, 질내 또는 경피 투여, 또는 다른 투여 경로에도 적합할 수 있다. 입자의 크기가 작으면 약물의 용해 속도를 증가시켜 그의 생체이용율 및 잠재적으로 그의 독성 프로파일이 개선된다. 상기 경로로 투여되는 경우, 약물의 투여 경로, 제형, 용해도 및 생체이용율에 따라 5 내지 100 μm 범위의 입자 크기를 갖는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 경구 투여를 위해서는 약 7 μm 미만의 입자 크기를 갖는 것이 바람직하다. 폐내 투여를 위해서는 약 10 μm 미만의 입자 크기가 바람직하다.

[0008] <발명의 요약>

[0009] 본 발명은 항종양제, 특히 파클리탁셀 또는 그의 유도체 화합물의 서브미크론 입자 조성물의 제조 방법을 제공한다. 항종양제의 용해도는 수성 제2 용매에서보다 수혼화성 제1 용매에서 더 높다. 상기 방법은

[0010] (i) 수용성 또는 친수성 중합체와 컨쥬게이션된 인지질을 포함하는 제1 표면 개질제를 수혼화성 제1 용매 또는 제2 용매, 또는 수혼화성 제1 용매 및 제2 용매 둘 다와 혼합하는 단계;

[0011] (ii) 항종양제를 수혼화성 제1 용매에 용해시켜 용액을 형성하는 단계;

[0012] (iii) 용액을 제2 용매와 혼합하여 입자의 예비-현탁액을 형성하는 단계; 및

[0013] (iv) 예비-현탁액을 균질화시켜, 약 1 μm 미만의 평균 유효 입자 크기를 갖는 입자의 현탁액을 형성하는 단계

[0014] 를 포함한다. 상기 입자는 바람직하게는 약 400 nm 미만, 보다 바람직하게는 200 nm 미만, 가장 바람직하게는 약 150 nm 미만의 평균 유효 입자 크기를 갖는다.

[0015] 바람직한 실시양태에서, 인지질에 컨쥬게이션된 수용성 또는 친수성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이다. 임의로, 제2 표면 개질제가 수혼화성 제1 용매 또는 제2 용매, 또는 수혼화성 제1 용매 및 제2 용매 둘 다에 혼합될 수 있다. 바람직한 제2 표면 개질제는 폴록사머(poloxamer)이다.

[0016] 한 실시양태에서, 균질화는 약 30 $^{\circ}\text{C}$ 이상에서 수행된다.

[0017] 상기 방법은 현탁액으로부터 수혼화성 제1 용매 또는 액상 전부를 제거하는 단계를 더 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 상기 수혼화성 제1 용매는 균질화와 동시에 제거된다.

[0018] 또한, 상기 방법은 조성물을 멸균하는 단계를 더 포함할 수 있다.

- [0019] 바람직한 실시양태에서, 상기 입자는 가용성이 아니다.
- [0020] 또다른 바람직한 실시양태에서, 상기 입자는 스트레스 조건 하에 또는 저장시 응집되지 않는다.
- [0021] 본 발명의 상기 및 다른 측면들 및 특성들은 하기 도면 및 명세서를 참조하여 논의될 것이다.

발명의 상세한 설명

- [0043] 본 발명에서는 다양한 형태의 실시양태가 가능하다. 본 발명의 바람직한 실시양태들은 개시된 내용이 본 발명의 원리를 예시하는 것으로 여겨져야 한다는 인식으로 개시되어 있으며, 본 발명의 광범위한 측면을 예시된 실시양태로 제한하려는 의도는 아니다.
- [0044] 본 발명은 유기 화합물의 소립자를 형성하는 방법 및 그 소립자 조성물을 제공한다. 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 유기 화합물은 용해도가 한 용매에서보다 다른 용매에서 더 낮아지는 임의의 유기 화합물질이다. 이러한 유기 화합물은 제약 활성 화합물일 수 있으며, 이것은 치료제, 진단제, 화장품, 영양 보충제 및 살충제로부터 선택될 수 있다.
- [0045] 치료제는 다음과 같은 각종 공지된 약제로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다: 진통제, 마취제, 각성제, 아드레날린 작용제, 아드레날린 차단제, 항아드레날린제, 아드레노코르티코이드, 아드레날린 유사 작용제, 항콜린제, 항콜린에스테라제, 항경련제, 알킬화제, 알카로이드, 알로스테릭 억제제, 동화작용성 스테로이드, 식욕감퇴제, 제산제, 지사제, 해독제, 항염산제, 해열제, 항류마티스제, 정신치료제, 신경차단제, 소염제, 구충제, 항부정맥제, 항생제, 항응고제, 항우울제, 당뇨병 치료제, 항간질제, 항진균제, 항히스타민제, 고혈압 치료제, 항무스카린제, 항미코박테리아제, 항말라리아제, 방부제, 항종양제, 항원충제, 면역억제제, 면역자극제, 항갑상선제, 항바이러스제, 항불안성 진정제, 수렴제, 베타-아드레날린수용체 차단제, 조영제, 코르티코스테로이드, 기침 억제제, 진단제, 진단 조영제, 이뇨제, 도파민 유사약물, 지혈제, 혈액 작용제, 헤모글로빈 개질제, 호르몬, 수면제, 면역 작용제, 항고지질혈증제 및 다른 지질 조절제, 무스카린제, 근육 이완제, 부교감신경 흥분제, 부갑상선 칼시토닌, 프로스타글란딘, 방사성 약제, 진정제, 성 호르몬, 항알레르기제, 자극제, 교감신경 흥분제, 갑상선제, 혈관 확장제, 백신, 비타민 및 크산틴. 항종양제 또는 항암제로는 파클리탁셀 및 유도체 화합물과, 알카로이드, 항대사제, 효소 억제제, 알킬화제 및 항생제로 구성된 군으로부터 선택되는 다른 항종양제가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 치료제는 또한 단백질, 폴리펩티드, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드 및 핵산 (이에 제한되는 것은 아님)을 비롯한 생물학적 작용제일 수 있다. 상기 단백질은 폴리클로날 또는 모노클로날일 수 있는 항체일 수 있다.
- [0046] 진단제로는 X선 조영제 및 조영제가 포함된다. X선 조영제의 예로는 디아트라조산의 에틸 에스테르 (EEDA)로도 알려진 WIN-8883 (에틸 3,5-디아세트아미도-2,4,6-트리요오도벤조에이트), WIN 67722, 즉 (6-에톡시-6-옥소헥실-3,5-비스(아세트아미도)-2,4,6-트리요오도벤조에이트; 에틸-2-(3,5-비스(아세트아미도)-2,4,6-트리요오도-벤조일옥시) 부티레이트 (WIN 16318); 에틸 디아트리족시아세테이트 (WIN 12901); 에틸 2-(3,5-비스(아세트아미도)-2,4,6-트리요오도벤조일옥시) 프로피오네이트 (WIN 16923); N-에틸 2-(3,5-비스(아세트아미도)-2,4,6-트리요오도벤조일옥시) 아세트아미드 (WIN 65312); 이소프로필 2-(3,5-비스(아세트아미도)-2,4,6-트리요오도벤조일옥시) 아세트아미드 (WIN 12855); 디에틸 2-(3,5-비스(아세트아미도)-2,4,6-트리요오도벤조일옥시) 말로네이트 (WIN 67721); 에틸 2-(3,5-비스(아세트아미도)-2,4,6-트리요오도벤조일옥시) 페닐아세테이트 (WIN 67585); 프로판디산, [[3,5-비스(아세틸아미노)-2,4,5-트리요오도벤조일]옥시]비스(1-메틸)에스테르 (WIN 68165); 및 벤조산, 3,5-비스(아세틸아미노)-2,4,6-트리요오도-4-(에틸-3-에톡시-2-부텐오에이트) 에스테르 (WIN 68209)가 포함된다. 바람직한 조영제로는 생리학적 조건 하에 비교적 신속하게 분해되어 임의의 입자 관련 염증성 반응을 최소화시킬 것으로 예상되는 조영제들이 포함된다. 분해는 효소적 가수분해, 생리학적 pH에서의 카르복실산 가용화 또는 다른 메카니즘으로부터 비롯될 수 있다. 따라서, WIN 67721, WIN 12901, WIN 68165 및 WIN 68209 등과 같은 가수분해되기 쉬운 요오드화 종과 함께, 요오디파미드 (iodipamide), 디아트리조산 및 메트리조산과 같은 난용성 요오드화 카르복실산이 바람직할 수 있다.
- [0047] 다른 조영제로는 자기 공명 영상화 보조제, 예를 들어 가돌리늄 킬레이트, 또는 다른 상자성 조영제의 미립자 제제가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이러한 화합물의 예로는 가도펜테테이트 디메글루민 (마그네비스트 (Magnevist, 등록상표)) 및 가도테리돌 (프로헨스 (Prohance, 등록상표))이 있다.
- [0048] 상기 치료제 및 진단제 군에 대한 기재 및 각 군내 종들의 목록은 문헌 [Martindale, The Extra Pharmacopoeia, Twenty-ninth Edition, The Pharmaceutical Press, London, 1989]에서 찾아볼 수 있으며, 상기 문헌은 그 거명을 통해 본원에 포함되어 본 발명의 일부를 형성한다. 이러한 치료제 및 진단제는 시판중

이고(거나) 당업계에 공지된 기술로 제조될 수 있다.

- [0049] 화장제는 화장 활성을 가질 수 있는 임의의 활성 성분이다. 상기 활성 성분의 예로는 특히, 피부 연화제, 보습제, 자유 라디칼 억제제, 소염제, 비타민, 탈색제, 여드름 치료제, 항지루제, 각질 용해제, 슬리밍제, 피부 착색제 및 일광 차단제, 특히 리놀레산, 레티놀, 레티노산, 아스코르브산 알킬 에스테르, 다불포화 지방산, 니코틴산 에스테르, 토코페롤 니코티네이트, 베타, 대두 또는 쉬어 (shea)의 불비누화물, 세라미드, 히드록시산, 예를 들어 글리콜산, 셀레늄 유도체, 산화방지제, 베타-카로텐, 감마-오리자놀 및 스테아릴 글리세레이트를 들 수 있다. 이러한 화장품은 시판중이고(거나) 당업계에 공지된 기술로 제조될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 실시 용도로 고려되는 영양 보충제의 예로는 단백질, 탄수화물, 수용성 비타민 (예를 들어, 비타민 C, B-복합 비타민 등), 지용성 비타민 (예를 들어, 비타민 A, D, E, K 등) 및 허브 추출물이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이러한 영양 보충제는 시판중이고(거나) 당업계에 공지된 기술로 제조될 수 있다.
- [0051] 살충제란 용어에는 제초제, 살충제, 살비제, 살선충제, 외부기생충 박멸제 (ectoparasiticide) 및 살진균제가 포함되는 것으로 이해된다. 본 발명의 살충제에 속할 수 있는 화합물 군의 예로는 우레아, 트리아진, 트리아졸, 카바메이트, 인산 에스테르, 디니트로아닐린, 모르폴린, 아실알라닌, 피레트로이드, 벤질산 에스테르, 디페닐에테르 및 폴리시클릭 할로겐화 탄화수소가 포함된다. 이들 각 군에 있어서 살충제의 구체적인 예는 문헌 [Pesticide Manual, 9th Edition, British Crop Protection Council]에 열거되어 있다. 이러한 살충제는 시판중이고(거나) 당업계에 공지된 기술로 제조될 수 있다.
- [0052] 유기 화합물 또는 제약 활성 화합물은 수난용성인 것이 바람직하다. "수난용성"이란 화합물의 수용해도가 약 10 mg/ml 미만, 바람직하게는 1 mg/ml 미만임을 의미한다. 수난용성 작용제를 수성 매질 중에서 제형화시키는 방법들은 한계가 있으므로, 상기 수난용성 작용제는 수현탁액 제제로 만들기 가장 적합하다.
- [0053] 본 발명은 수용성 제약 활성 화합물을 고상 담체 매트릭스 (예를 들어, 폴리락티드-폴리글리콜리드 공중합체, 알부민, 전분)로 포획하거나, 또는 상기 화합물을 이 화합물이 투과하지 못하는 포위 소낭 (surrounding vesicle)으로 캡슐화시킴으로써, 수용성 제약 활성 화합물을 사용해서도 실시될 수 있다. 상기 캡슐화 소낭은 폴리아크릴레이트와 같은 중합체성 코팅일 수 있다. 또한, 이들 수용성 약제로부터 제조된 소립자는 입자로부터 약제가 방출되는 것을 제어함으로써 약제의 약동학적 특성을 제어하고 화학적 안정성을 개선시키도록 개질될 수 있다. 수용성 약제의 예로는 간단한 유기 화합물, 단백질, 펩티드, 뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드 및 탄수화물이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 본 발명의 입자는 일반적으로 동적 광 산란 방법, 예를 들어 광산란 분광법, 레이저 회절, 저각 레이저 광 산란법 (LALLS), 중각 레이저 광 산란법 (MALLS), 광 차단 방법 (예를 들어, 쿨터 (Coulter) 방법), 유변학 또는 (광학 또는 전자) 현미경 검사에 의해 측정시 약 100 μm 미만의 평균 유효 입자 크기를 갖는다. 그러나, 약 20 μm 내지 약 10 nm, 약 10 μm 내지 약 10 nm, 약 2 μm 내지 약 10 nm, 약 1 μm 내지 약 10 nm, 약 400 nm 내지 약 50 nm, 약 200 nm 내지 약 50 nm, 또는 이들 내의 임의 범위 또는 범위들의 조합과 같은 광범위한 크기로 입자가 제조될 수 있다. 바람직한 평균 유효 입자 크기는 의도하는 화합물의 투여 경로, 제형, 용해도, 독성 및 생체이용율과 같은 인자에 따라 결정된다.
- [0055] 비경구 투여에 적합한 입자의 평균 유효 입자 크기는 바람직하게는 약 7 μm 미만, 보다 바람직하게는 약 2 μm 미만, 또는 이들 내의 임의 범위 또는 범위들의 조합이다. 비경구 투여로는 정맥내, 동맥내, 포막내, 복강내, 안내, 관절내, 경질막내, 심실내, 심장막내, 근육내, 피내 또는 피하 주사가 포함된다.
- [0056] 경구 투여형을 위한 입자 크기는 2 μm 초과일 수 있다. 입자 크기는 약 100 μm 이하의 범위일 수 있으나, 단 이러한 입자는 충분한 생체이용율, 및 경구 투여형의 여타 특성을 가져야 한다. 경구 투여형으로는 정제, 캡슐제, 캐플릿제, 연질 및 경질 캡슐제, 또는 경구 투여에 의해 약물을 전달하기 위한 다른 전달 비히클이 포함된다.
- [0057] 본 발명은 폐내 투여에 적합한 형태의 유기 화합물 입자를 제공하는 데에도 적합하다. 폐내 투여형을 위한 입자 크기는 500 nm 초과, 전형적으로는 약 10 μm 미만일 수 있다. 현탁액 중의 입자는 에어로졸화되어 폐내 투여용 네뷸라이저 (nebulizer)에 의해 투여될 수 있다. 별법으로, 현탁액으로부터 액상을 제거한 후, 건조 분말 흡입기에 의해 건조 분말로서 입자를 투여할 수 있거나, 계량 흡입기에 의한 투여를 위해 비-수성 분사제 중에 건조 분말을 재현탁시킬 수 있다. 적합한 분사제의 예로는 히드로플루오로카본 (HFC), 예를 들어 HFC-134a (1,1,1,2-테트라플루오로에탄) 및 HFC-227ea (1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판)이 있다. HFC는 클로로플루오로카본 (CFC)과는 달리 오존 고갈 가능성이 거의 또는 전혀 없다.

- [0058] 비내, 국소, 안내, 구강내, 직장내, 질내, 경피 등과 같은 다른 전달 경로용 투여형도 본 발명으로부터 제조된 입자로부터 제형화될 수 있다.
- [0059] 입자 제조 공정은 4가지의 일반 군으로 나눌 수 있다. 각 공정 군은 (1) 유기 화합물을 수산화성 제1 용매에 용해시켜 제1 용액을 생성하는 단계, (2) 제1 용액을 제2 용매인 물과 혼합하여 유기 화합물을 침전시켜서 예비-현탁액을 생성하는 단계, 및 (3) 예비-현탁액에 에너지를 고전단 혼합 또는 가열, 또는 이들의 조합 형태로 부가하여 상기 정의된 목적하는 크기 범위를 갖는 안정한 형태의 유기 화합물을 제공하는 단계를 공유한다. 상기 혼합 단계 및 에너지 부가 단계는 연속 단계로 또는 동시에 수행될 수 있다.
- [0060] 공정 군들은 X선 회절 조사, 시차 주사 열량 (DSC) 조사, 또는 에너지 부가 단계 이전 및 에너지 부가 단계 이후에 수행되는 다른 적합한 조사를 통해 측정된 유기 화합물의 물리적 특성을 기준으로 하여 구별된다. 제 1 공정 군에서는, 에너지 부가 단계 이전에 예비-현탁액 중의 유기 화합물이 비결정질 형태, 반결정질 형태 또는 과냉각 액체 형태를 취하며 소정의 평균 유효 입자 크기를 갖는다. 에너지 부가 단계 이후, 유기 화합물은 예비-현탁액과 본질적으로 동일하거나 그보다 작은 평균 유효 입자 크기를 갖는 결정질 형태이다.
- [0061] 제2 공정 군에서는, 에너지 부가 단계 이전에 유기 화합물이 결정질 형태이며 소정의 평균 유효 입자 크기를 갖는다. 에너지 부가 단계 이후, 유기 화합물은 에너지 부가 단계 이전과 본질적으로 동일한 평균 유효 입자 크기를 갖는 결정질 형태이나, 에너지 부가 단계 이후의 결정은 응집되는 경향이 보다 약하다.
- [0062] 유기 화합물의 보다 약한 응집 경향은 레이저 동적 광 산란법과 광학 현미경 검사에 의해 관찰된다.
- [0063] 제3 공정 군에서는, 에너지 부가 단계 이전에 유기 화합물이 이쇄성 (易碎性; friable) 결정질 형태이며 소정의 평균 유효 입자 크기를 갖는다. "이쇄성"이란 입자가 깨지기 쉬워 (fragile) 보다 쉽게 작은 입자로 분쇄되는 것을 의미한다. 에너지 부가 단계 이후, 유기 화합물은 평균 유효 입자 크기가 예비-현탁액의 결정보다 작은 결정질 형태이다. 유기 화합물을 이쇄성 결정질 형태로 만드는 데 필요한 단계들을 수행함으로써, 이쇄성이 낮은 결정 형태의 유기 화합물에 비해 보다 신속하고 효율적으로 후속 에너지 부가 단계를 수행할 수 있다.
- [0064] 제4 공정 군에서는, 제1 용액 및 제2 용매에 대해 동시에 에너지 부가 단계를 수행한다. 따라서, 에너지 부가 단계 전후의 유기 화합물의 물리적 특성은 측정하지 않았다.
- [0065] 에너지 부가 단계는 예비-현탁액 또는 제1 용액 및 제2 용매를 캐비테이션력 (cavitation force), 전단력 또는 충격력에 노출시키는 임의의 방식으로 수행될 수 있다. 본 발명의 한 바람직한 형태에서, 에너지 부가 단계는 어닐링 단계이다. 본 발명에서 어닐링은 에너지 (직접적인 열 또는 기계적 응력)를 단일 또는 반복 적용시킨 다음 열 이완시킴으로써, 열역학적으로 불안정한 물질을 보다 안정한 형태로 전환시키는 공정으로 정의된다. 상기 에너지 저하는 고체 형태를 덜 정렬된 격자 구조로부터 보다 더 정렬된 격자 구조로 전환시킴으로써 달성될 수 있다. 별법으로, 이러한 안정화는 계면활성제 분자를 고체-액체 계면에 재정렬시킴으로써 수행될 수 있다.
- [0066] 상기 4가지 공정 군은 이하에서 각각 논의될 것이다. 그러나, 계면활성제 또는 계면활성제들의 조합의 선택, 계면활성제의 사용량, 반응 온도, 용액의 혼합 속도, 침전 속도 등과 같은 공정 조건은, 임의의 약물이 다음에 논의되는 공정 군들 중 어느 하나에 의해 처리되기 적합하도록 선택될 수 있다.
- [0067] 제1 공정 군 뿐만 아니라 제2, 제3 및 제4 공정 군은 2개의 아군 (방법 A 및 B)으로 더 구분될 수 있다 (도 1 및 2에 모식도로 도시되어 있음).
- [0068] 본 발명에 따른 제1 용매는 관심 유기 화합물이 비교적 가용성이며 제2 용매와 혼화성인 용매 또는 용매 혼합물이다. 이러한 용매로는 분자의 수소 원자가 전기음성 원자, 예를 들어 산소, 질소, 또는 원소 주기율표의 다른 제VA족, 제VIA족 및 제VII A족에 결합된 수산화성 양성자성 화합물이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이러한 용매의 예로는 알콜, (1급 또는 2급) 아민, 옥심, 히드록삼산, 카르복실산, 술폰산, 포스포산, 인산, 아마이드 및 우레아가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0069] 또한, 제1 용매의 다른 예로는 비양성자성 유기 용매가 포함된다. 이들 비양성자성 용매들 중 일부는 물과 수소 결합을 형성할 수 있으나, 이들에게는 유효 양성자 공여기가 없으므로 오직 양성자 수용체로서만 작용할 수 있다. 일군의 비양성자성 용매는 문헌 [the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) Compendium of Chemical Terminology, 2nd Ed., 1997]에 정의된 바와 같은 쌍극성 비양성자성 용매이다:
- [0070] 강력한 수소 결합을 형성하도록 적합하게 불안정한 수소 원자를 공여할 수 없고, 약 15를 초과하는 비교적 높

은 상대 유전율 (또는 유전 상수) 및 상당히 큰 영구적 쌍극자 모멘트를 갖는 용매 (예를 들어, 디메틸 술포시드).

[0071] 쌍극성 비양성자성 용매는 아마이드 (완전 치환됨, 질소에 부착된 수소 원자가 없음), 우레아 (완전 치환됨, 질소에 부착된 수소 원자가 없음), 에테르, 시클릭 에테르, 니트릴, 케톤, 술폰, 술포시드, 완전 치환된 포스페이트, 포스포네이트 에스테르, 포스포르아미드, 니트로 화합물 등으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 것들 중에서도 디메틸술포시드 (DMSO), N-메틸-2-피롤리디논 (NMP), 2-피롤리디논, 1,3-디메틸이미다졸리디논 (DMI), 디메틸아세트아미드 (DMA), 디메틸포름아미드 (DMF), 디옥산, 아세톤, 테트라히드로푸란 (THF), 테트라메틸렌술폰 (술폴란), 아세토니트릴, 및 헥사메틸포스포르아미드 (HMPA), 니트로메탄이 상기 군의 구성원이다.

[0072] 또한, 일반적으로는 수-불혼화성이나, 적은 부피 (10% 미만)에서 충분한 수용해도를 가져 이러한 감소된 부피에서 수혼화성 제1 용매로서 작용하는 용매가 선택될 수 있다. 그 예로는 방향족 탄화수소, 알켄, 알칸, 및 할로젠화 방향족 화합물, 할로젠화 알켄 및 할로젠화 알칸이 포함된다. 방향족 화합물의 예로는 (치환 또는 미치환) 벤젠, 및 모노시클릭 또는 폴리시클릭 아렌이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 치환 벤젠의 예로는 크실렌 (오르토, 메타 또는 파라) 및 톨루엔이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 알칸의 예로는 헥산, 네오펜탄, 헵탄, 이소옥탄 및 시클로헥산이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 할로젠화 방향족 화합물의 예로는 클로로벤젠, 브로모벤젠 및 클로로톨루엔이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 할로젠화 알칸 및 알켄의 예로는 트리클로로에탄, 메틸렌 클로라이드, 에틸렌디클로라이드 (EDC) 등이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0073] 상기 용매 군 모두의 예로는 N-메틸-2-피롤리디논 (N-메틸-2-피롤리돈으로도 지칭됨), 2-피롤리디논 (2-피롤리돈으로도 지칭됨), 1,3-디메틸-2-이미다졸리디논 (DMI), 디메틸술포시드, 디메틸아세트아미드, 아세트산, 락트산, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 3-펜탄올, n-프로판올, 벤질 알콜, 글리세롤, 부틸렌 글리콜 (부탄디올), 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 모노- 및 디아실화 모노글리세리드 (예를 들어, 글리세틸 카프릴레이트), 디메틸 이소소르비드, 아세톤, 디메틸술폰, 디메틸포름아미드, 1,4-디옥산, 테트라메틸렌술폰 (술폴란), 아세토니트릴, 니트로메탄, 테트라메틸우레아, 헥사메틸포스포르아미드 (HMPA), 테트라히드로푸란 (THF), 디옥산, 디에틸에테르, tert-부틸메틸 에테르 (TBME), 방향족 탄화수소, 알켄, 알칸, 할로젠화 방향족 화합물, 할로젠화 알켄, 할로젠화 알칸, 크실렌, 톨루엔, 벤젠, 치환 벤젠, 에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 부틸 아세테이트, 클로로벤젠, 브로모벤젠, 클로로톨루엔, 트리클로로에탄, 메틸렌 클로라이드, 에틸렌디클로라이드 (EDC), 헥산, 네오펜탄, 헵탄, 이소옥탄, 시클로헥산, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG, 예를 들어 PEG-4, PEG-8, PEG-9, PEG-12, PEG-14, PEG-16, PEG-120, PEG-75, PEG-150), 폴리에틸렌 글리콜 에스테르 (예를 들어, PEG-4 디라우레이트, PEG-20 디라우레이트, PEG-6 이소스테아레이트, PEG-8 팔미토스테아레이트, PEG-150 팔미토스테아레이트), 폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 (예를 들어, PEG-20 소르비탄 이소스테아레이트), 폴리에틸렌 글리콜 모노알킬 에테르 (예를 들어, PEG-3 디메틸 에테르, PEG-4 디메틸 에테르), 폴리프로필렌 글리콜 (PPG), 폴리프로필렌 알기네이트, PPG-10 부탄디올, PPG-10 메틸 글루코스 에테르, PPG-20 메틸 글루코스 에테르, PPG-15 스테아릴 에테르, 프로필렌 글리콜 디카프릴레이트/디카프레이트, 프로필렌 글리콜 라우레이트 및 글리코푸롤 (테트라히드로푸르푸릴 알콜 폴리에틸렌 글리콜 에테르)이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직한 제1 용매는 N-메틸-2-피롤리디논이다. 또다른 바람직한 제1 용매는 락트산이다.

[0074] 제2 용매는 수성 용매이다. 상기 수성 용매는 물 자체일 수 있다. 이 용매는 완충액, 염, 계면활성제(들), 수용성 중합체, 및 이들 부형제의 조합도 함유할 수 있다.

[0075] 방법 A

[0076] 방법 A (도 1 참조)에서는, 유기 화합물 ("약물")을 우선 제1 용매에 용해시켜 제1 용액을 생성한다. 유기 화합물은 제1 용매 중 유기 화합물의 용해도에 따라 약 0.1 내지 약 50% (w/v)로 첨가될 수 있다. 상기 화합물을 제1 용매에 완전히 용해시키기 위해 농축물을 약 30 내지 약 100 °C로 가열하는 것이 필요할 수 있다.

[0077] 제2 수성 용매에는 음이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제, 또는 첨가된 생물학적 표면 활성 분자와 같은 임의의 표면 개질제 1종 이상이 제공된다. 적합한 음이온성 계면활성제로는 알킬 술포네이트, 알킬 포스페이트, 알킬 포스포네이트, 칼륨 라우레이트, 트리에탄올아민 스테아레이트, 나트륨 라우릴 술포네이트, 나트륨 도데실술포네이트, 알킬 폴리옥시에틸렌 술포네이트, 나트륨 알기네이트, 디옥틸 나트륨 술포숙시네이트, 포스파티딜 콜린, 포스파티딜 글리세롤, 포스파티딜 이노신, 포스파티딜세린, 포스파티드산 및 그의 염, 글리세릴 에스테르, 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 콜산 및 다른 담즙산 (예를 들어, 콜산, 데옥

시콜산, 글리코콜산, 타우로콜산, 글리코데옥시콜산) 및 그의 염 (예를 들어, 나트륨 데옥시콜레이트 등)이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 적합한 양이온성 계면활성제로는 4급 암모늄 화합물, 예를 들어 벤즈알코늄 클로라이드, 세틸트리메틸암모늄 브로마이드, 키토산, 라우릴디메틸벤질암모늄 클로라이드, 아실 카르니틴 히드록로라이드, 또는 알킬 피리디늄 할라이드가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 음이온성 계면활성제로서 인지질이 사용될 수 있다. 적합한 인지질로는 예를 들어, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 디아실-글리세로-포스포에탄올아민 (예를 들어, 디미리스토일-글리세로-포스포에탄올아민 (DMPE), 디팔미토일-글리세로-포스포에탄올아민 (DPPE), 디스테아로일-글리세로-포스포에탄올아민 (DSPE) 및 디올레일-글리세로-포스포에탄올아민 (DOPE)), 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜글리세롤, 포스파티드산, 리소인지질, 계란 또는 대두 인지질, 또는 이들의 조합이 포함된다. 인지질은 염 (salt)화 또는 탈염되거나, 수소화 또는 부분 수소화되거나, 또는 천연, 반합성 또는 합성일 수 있다. 또한, 인지질에는 수용성 또는 친수성 중합체가 컨주게이션될 수 있다. 바람직한 중합체는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) (모노메톡시 폴리에틸렌 글리콜 (mPEG)로도 알려져 있음)이다. PEG의 분자량은 예를 들어, 200 내지 50,000의 범위일 수 있다. 통상적으로 사용되는 특정 시판 PEG로는 PEG 350, PEG 550, PEG 750, PEG 1000, PEG 2000, PEG 3000 및 PEG 5000이 포함된다. 또한, 인지질 또는 PEG-인지질 컨주게이트는, 단백질, 펩티드, 탄수화물, 당단백질, 항체 또는 제약 활성 작용제 (이에 제한되는 것은 아님)를 비롯한 리간드에 공유 결합될 수 있는 관능기를 포함할 수 있다. 이들 관능기에는 예를 들어 아마이드 결합 형성, 디설피드 또는 티오에테르 형성, 또는 바이오틴/스트렙타비딘 결합을 통해 리간드가 컨주게이션될 수 있다. 리간드-결합성 관능기의 예로는 헥사노일아민, 도데카닐아민, 1,12-도데칸디카르복실레이트, 티오에탄올, 4-(p-말레이미도페닐)부티르아미드 (MPB), 4-(p-말레이미도메틸)시클로헥산-카르복사미드 (MCC), 3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (PDP), 숙시네이트, 글루타레이트, 도데카노에이트 및 바이오틴이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0078] 적합한 비이온성 계면활성제로는 폴리옥시에틸렌 지방 알콜 에테르 (마크로콜 (Macrogol) 및 브리즈 (Brij)), 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르 (폴리소르베이트), 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르 (미르즈 (Myrj)), 소르비탄 에스테르 (스판 (Span)), 글리세롤 모노스테아레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 세틸 알콜, 세토스테아릴 알콜, 스테아릴 알콜, 아릴 알킬 폴리에테르 알콜, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체 (폴록사머), 폴록사민, 메틸셀룰로스, 히드록시메틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 비결정질 셀룰로스, 전분 및 전분 유도체를 비롯한 다당류 (예를 들어, 히드록시에틸전분 (HES)), 폴리비닐 알콜 및 폴리비닐피롤리돈이 포함된다. 본 발명의 바람직한 형태에서, 비이온성 계면활성제는 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체, 바람직하게는 프로필렌 글리콜과 에틸렌 글리콜의 블록 공중합체이다. 상기 중합체는 상표명 폴록사머 (중중 플루로닉 (PLURONIC, 등록상표)으로도 지칭됨)로 시판되고 있으며, 스펙트럼 케미칼 앤드 루거 (Spectrum Chemical and Ruger)를 비롯한 여러 공급업체에 의해 시판되고 있다. 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르 중에서도 알킬 단쇄를 갖는 것들이 포함된다. 이러한 계면활성제의 일례로는 바스프 악티엔게젤샤프트 (BASF Aktiengesellschaft)에 의해 제조된 솔루톨 (SOLUTOL, 등록상표) HS 15 (폴리에틸렌-660-히드록시스테아레이트)가 있다.

[0079] 표면 활성 생물학적 분자로는 알부민, 카세인, 히루딘 또는 다른 적절한 단백질과 같은 분자들이 포함된다. 전분, 해파린 및 키토산 (이에 제한되는 것은 아님)으로 구성되는 다당류 생물학적 작용제도 포함된다.

[0080] 수산화나트륨, 염산, 트리스 완충액 또는 시트레이트, 아세테이트, 락테이트, 메글루민 등과 같은 pH 조정제를 제2 용매에 첨가하는 것이 바람직할 수 있다. 제2 용매의 pH는 약 3 내지 약 11 범위 내에 있어야 한다.

[0081] 경구 투여형의 경우, 다음 부형제들 중 1종 이상이 사용될 수 있다: 젤라틴, 카세인, 레시틴 (포스파티드), 아카시아 검, 콜레스테롤, 트라가칸트, 스테아르산, 벤즈알코늄 클로라이드, 칼슘 스테아레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 세토스테아릴 알콜, 세토마크로콜 유화성 왁스, 소르비탄 에스테르, 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르, 예를 들어 마크로콜 에테르 (예를 들어, 세토마크로콜 1000), 폴리옥시에틸렌 피마자유 유도체, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르 (예를 들어, 시판중인 트윈스 (Tweens, 상표명)), 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 콜로이드상 이산화규소, 포스페이트, 나트륨 도데실술페이트, 카르복시메틸셀룰로스 칼슘, 카르복시메틸셀룰로스 나트륨, 메틸셀룰로스, 히드록시메틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트, 비결정질 셀룰로스, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 트리에탄올아민, 폴리비닐 알콜 (PVA) 및 폴리비닐피롤리돈 (PVP). 상기 부형제의 대부분은 문헌 [Handbook of Pharmaceutical Excipients, published jointly by the American Pharmaceutical Association and The Pharmaceutical Society of Great Britain, the Pharmaceutical Press, 1986]에 상술되어 있다. 표면 개질제는 시판중이고(거나) 당업계에 공지된 기술로 제조될 수 있다. 2종 이상의 표면 개질제가 조합되어 사용될

수 있다.

[0082] 본 발명의 바람직한 형태에서, 유기 화합물 소립자의 제조 방법은 제1 용액을 제2 용매에 첨가하는 단계를 포함한다. 첨가 속도는 배치 크기 및 유기 화합물에 대한 침전 역학에 따라 결정된다. 통상적으로, 소규모 실험실 공정 (1 리터 제조)의 경우, 첨가 속도는 약 0.05 내지 약 10 cc/분이다. 첨가 동안 용액은 일정하게 진탕시켜야 한다. 광학 현미경 검사에 의해, 비결정질 입자, 반결정질 고형물 또는 과냉각 액체가 형성되어 예비-현탁액을 생성하는 것으로 관찰되었다. 상기 방법은 예비-현탁액에 대해 에너지 부가 단계를 수행하여 비결정질 입자, 과냉각 액체 또는 반결정질 고형물을 보다 안정한 결정질 고체 상태로 전환시키는 단계를 더 포함한다. 생성된 입자는 동적 광 산란법 (예를 들어, 광상관 분광법, 레이저 회절, 저각 레이저 광 산란법 (LALLS), 중각 레이저 광 산란법 (MALLS), 광 차단 방법 (예를 들어, 코울터 방법), 유변학 또는 (광학 또는 전자) 현미경 검사)에 의해 측정시 상기 제시된 범위 내의 평균 유효 입자 크기를 가질 것이다. 제4 공정 군에서는 에너지 부가 단계를 수행함과 동시에 제1 용액과 제2 용매를 합한다.

[0083] 에너지 부가 단계는 초음파 처리, 균질화, 역류 균질화, 마이크로유동화, 또는 충격력, 전단력 또는 캐비테이션력을 제공하는 다른 방법을 통해 에너지를 부가하는 것을 포함한다. 이 단계 동안 샘플은 냉각 또는 가열될 수 있다. 본 발명의 한 바람직한 형태에서, 에너지 부가 단계는 아베스틴 인코포레이티드 (Avestin Inc.)에 의해 상표명 에멀시플렉스 (EmulsiFlex)-C160으로 시판되고 있는 것과 같은 피스톤 잭 균질화기로 수행된다. 본 발명의 다른 바람직한 형태에서, 에너지 부가 단계는 소닉스 앤드 머티리얼스, 인코포레이티드 (Sonics and Materials, Inc.)에 의해 제조된 비브라-셀 울트라소닉 프로세서 (Vibra-Cell Ultrasonic Processor) (600 W)와 같은 초음파 처리기를 사용하는 초음파 처리에 의해 달성될 수 있다. 본 발명의 또 다른 바람직한 형태에서, 에너지 부가 단계는 미국 특허 제5,720,551호 (그 거명을 통해 본원에 포함되어 본 발명의 일부를 형성함)에 기재된 바와 같은 유화 장치를 사용함으로써 달성될 수 있다.

[0084] 에너지 부가 속도에 따라, 처리되는 샘플의 온도를 약 -30 내지 30 °C의 범위 내로 조정하는 것이 바람직할 수 있다. 별법으로, 처리되는 고형물에서 목적하는 상 변화를 수행하기 위해서는, 에너지 부가 단계 동안 예비-현탁액을 약 30 내지 약 100 °C 범위 내의 온도로 가열하는 것이 필요할 수 있다.

[0085] 방법 B

[0086] 방법 B는 다음과 같은 측면에서 방법 A와 다르다. 첫번째 차이점은 계면활성제 또는 계면활성제 조합물을 제1 용액에 첨가한다는 것이다. 계면활성제는 상기 설명된 음이온성, 비이온성, 양이온성 계면활성제 및 표면활성 생물학적 개질제로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0087] 방법 A 및 방법 B와 미국 특허 제5,780,062호의 비교예

[0088] 미국 특허 제5,780,062호에는 유기 화합물을 우선 적합한 수산화성 제1 용매에 용해시킴으로써 유기 화합물의 소립자를 제조하는 방법이 개시되어 있다. 제2 용액은 중합체와 양친매체를 수성 용매에 용해시킴으로써 제조한다. 이후, 제1 용액을 제2 용액에 첨가하여, 유기 화합물 및 중합체-양친매체 복합체로 구성된 침전물을 형성한다. 본 발명의 방법 A 및 B의 에너지 부가 단계를 이용하는 것은 상기 '062 특허에는 개시되어 있지 않다. 안정성 결여는 전형적으로 급격한 응집 및 입자 성장에 의해 입증된다. 일부 경우에는 비결정질 입자가 큰 결정으로 재결정화된다. 통상적으로, 상기 개시된 방식으로 예비-현탁액에 에너지를 부가함으로써, 입자의 응집 및 성장 속도가 저하될 뿐만 아니라 제품 저장시 재결정화되지 않는 입자가 얻어진다.

[0089] 방법 A 및 B는 침전 이전에 중합체-양친매체 복합체를 형성하는 단계가 없다는 점에서 상기 '062 특허의 방법과 더욱 구별된다. 방법 A에서는 이러한 복합체가 형성될 수 없는데, 이는 회석 (수성) 상에 중합체가 전혀 첨가되지 않기 때문이다. 방법 B에서는 양친매체로도 작용할 수 있는 계면활성제, 또는 중합체를 유기 화합물과 함께 제1 용매에 용해시킨다. 이는 침전 이전에 임의의 양친매체-중합체 복합체가 형성되는 것을 막는다. '062 특허에서, 소립자의 성공적인 침전은 침전 이전 양친매체-중합체 복합체의 형성 여부에 따라 결정된다. '062 특허에는 양친매체-중합체 복합체가 수성 제2 용액 중에서 응집물을 형성하는 것으로 개시되어 있다. '062 특허는 소수성 유기 화합물이 양친매체-중합체 복합체와 상호작용함으로써 상기 응집물의 용해도를 저하시켜 침전을 유발하는 것으로 설명한다. 본 발명에서는, 계면활성제 또는 중합체를 제1 용매에 도입시킴 (방법 B)으로써, 제2 용매에 후속 첨가시 상기 '062 특허에서 개략된 공정에 의해 얻어지는 것보다 더 균일하고 미세한 입자가 형성된다는 것이 입증되었다.

[0090] 이를 위하여, 2종의 제형을 제조 및 분석하였다. 각 제형은 함께 혼합된 후에 초음파 처리되는 2종의 용액 (농축물 및 수성 회석제)을 함유한다. 각 제형의 농축물은 유기 화합물 (이트라코나졸), 수산화성 용매 (N-

메틸-2-피롤리디논, 즉 NMP) 및 가능하게는 중합체 (폴록사머 188)를 함유한다. 수성 희석제는 물, 트리스 완충액 및 가능하게는 중합체 (폴록사머 188) 및(또는) 계면활성제 (나트륨 데옥시콜레이트)를 함유한다. 유기 입자의 평균 입경은 초음파 처리 이전 및 이후에 측정한다.

[0091] 제1 제형 A는 농축물로서 이트라코나졸 및 NMP를 함유한다. 수성 희석제는 물, 폴록사머 188, 트리스 완충액 및 나트륨 데옥시콜레이트를 포함한다. 이에 따라, 수성 희석제는 중합체/양친매체 복합체를 형성할 수 있는 중합체 (폴록사머 188) 및 양친매체 (나트륨 데옥시콜레이트)를 포함하므로, 이는 '062 특허에 개시된 바에 따른 것이다. (그러나, '062 특허에는 에너지 부가 단계에 대해 전혀 개시되어 있지 않다.)

[0092] 제2 제형 B는 농축물로서 이트라코나졸, NMP 및 폴록사머 188을 함유한다. 수성 희석제는 물, 트리스 완충액 및 나트륨 데옥시콜레이트를 포함한다. 이 제형은 본 발명에 따라 제조된 것이다. 수성 희석제는 중합체 (폴록사머)와 양친매체 (나트륨 데옥시콜레이트)의 조합물을 함유하지 않기 때문에, 혼합 단계 이전에는 중합체/양친매체 복합체가 형성될 수 없다.

[0093] 표 1에는 3종의 복제 현탁액 제제 상에서 레이저 회절에 의해 측정된 평균 입경이 제시되어 있다. 최초 크기 측정을 수행한 후, 샘플을 1 분간 초음파 처리하였다. 이어서, 크기 측정을 반복하였다. 방법 A의 초음파 처리시 입자 크기가 많이 축소된 것은 입자가 응집되었음을 나타낸다.

표 1

방법	농축물	수성 희석제	평균 입경 (미크론)	초음파 처리 후 (1 분)
A	이트라코나졸(18%), N-메틸-2-피롤리디논 (6 ml)	폴록사머 188 (2.3%), 나트륨 데옥시콜레이트 (0.3%), 트리스 완충액 (5 mM, pH 8), 물 (94 ml까지 적당량)	18.7 10.7 12.1	2.36 2.46 1.93
B	이트라코나졸(18%), 폴록사머 188 (37%), N-메틸-2-피롤리디논 (6 ml)	나트륨 데옥시콜레이트 (0.3%), 트리스 완충액 (5 mM, pH 8), 물 (94 ml까지 적당량)	0.194 0.178 0.181	0.198 0.179 0.177

[0095] 본 발명에 기재된 공정들을 적용하여 얻은 약물 현탁액은 주사 용액으로서 직접 투여될 수는 있으나, 주사용수가 제형화에 사용되고 용액의 멸균에 적절한 수단이 적용되어야 한다. 멸균은 당업계에 잘 알려진 방법, 예를 들어 증기 또는 가열 멸균, 감마선 조사 등에 의해 달성될 수 있다. 또한, 특히 200 nm 미만의 입자가 99%를 초과하는 입자에 대한 다른 멸균 방법은, 우선 3.0 미크론 필터를 통해 예비-여과한 다음, 0.45 미크론 입자 필터를 통해 여과한 후, 증기 또는 가열 멸균, 또는 추가의 0.2 미크론 막 필터를 통해 멸균 여과하는 것을 포함할 것이다. 또다른 멸균 방법으로는 약물 및 임의의 계면활성제(들)를 함유하는 제1 용매로부터 제조된 농축물의 멸균 여과, 및 수성 희석제의 멸균 여과가 있다. 이후, 이들을 멸균 혼합 용기, 바람직하게는 격리된 멸균 환경 하에 합한다. 이후, 무균 조건 하에 현탁액의 혼합, 균질화 및 후속 처리를 수행한다.

[0096] 또다른 멸균 방법은 균질화 단계 이전, 균질화 단계 동안 또는 균질화 단계에 이어 균질화기 자체 내에서의 가열 멸균 또는 오토클레이빙으로 구성될 것이다. 이러한 열 처리 이후의 처리들은 무균 조건 하에 수행될 것이다.

[0097] 임의로, 침전 후에 용매를 제거함으로써 무용매 현탁액을 제조할 수 있다. 이는 원심분리, 투석, 정용여과 (diafiltration), 역장 분별 (force-field fractionation), 고압 여과, 역삼투, 또는 당업계에 잘 알려진 다른 분리 기술에 의해 달성될 수 있다. N-메틸-2-피롤리디논의 완전한 제거는 전형적으로 1 내지 3회의 연속적인 원심분리에 의해 수행하였고, 각 원심분리 (30 분간 18,000 rpm) 후, 상층액을 경사 분리하여 버렸다. 유기 용매가 없는 소정 부피의 새로운 현탁 비히클을 잔류 고형물에 첨가하고, 혼합물을 균질화에 의해 분산시켰다. 당업자는 다른 고전단 혼합 기술이 상기 재구성 단계에 적용될 수 있음을 알 것이다. 별법으로, 무용매 입자는 경구, 폐내, 비내, 국소, 근육내 등과 같은 다양한 투여 경로에 요구되는 각종 투여형으로 제형화시킬 수 있다.

[0098] 또한, 계면활성제와 같은 임의의 바람직하지 않은 부형제는 위 단락에 기재된 분리 방법을 이용하여 보다 바

람직한 부형제로 대체할 수 있다. 용매 및 제1 부형제는 원심분리 또는 여과 후에 상층액과 함께 버릴 수 있다. 이후, 용매 및 제1 부형제가 없는 소정 부피의 새로운 현탁 비히클을 첨가할 수 있다. 별법으로, 새로운 계면활성제를 첨가할 수 있다. 예를 들어, 원심분리 및 상층액 제거 후, 약물, N-메틸-2-피롤리디논 (용매), 폴록사머 188 (제1 부형제), 나트륨 데옥시콜레이트, 글리세롤 및 물로 구성된 현탁액을 인지질 (새로운 계면활성제), 글리세롤 및 물로 대체할 수 있다.

[0099] I. 제1 공정 군

[0100] 제1 공정 군의 방법은 일반적으로 유기 화합물을 수산화성 제1 용매에 용해시키는 단계, 및 이 용액을 수성 용매와 혼합하여 예비-현탁액 (이때, 유기 화합물은 X선 회절 조사, DSC, 광학 현미경 검사 또는 다른 분석 기술에 의해 측정시 비결정질 형태, 반결정질 형태 또는 과냉각 액체 형태이며 상기 설명된 유효 입자 크기 범위들 중 하나 이내의 평균 유효 입자 크기를 가짐)을 형성하는 후속의 단계를 포함한다. 혼합 단계에 이어 에너지 부가 단계가 수행된다.

[0101] II. 제2 공정 군

[0102] 제2 공정 군의 방법은 제1 공정 군의 단계들과 본질적으로 동일한 단계들을 포함하나, 다음 측면에서 상이하다. 예비-현탁액의 X선 회절, DSC 또는 다른 적합한 분석 기술에 의해, 유기 화합물은 결정질 형태이며 평균 유효 입자 크기를 갖는 것으로 나타난다. 에너지 부가 단계 이후의 유기 화합물은 에너지 부가 단계 이전과 실질적으로 동일한 평균 유효 입자 크기를 가지나, 예비-현탁액의 입자에 비해 보다 큰 입자로 응집되는 경향이 약하다. 특정 이론에 속박되는 것은 아니나, 입자 안정성의 차이는 고체-액체 계면에서의 계면활성제 분자의 재배열로부터 비롯된 것으로 생각된다.

[0103] III. 제3 공정 군

[0104] 제3 공정 군의 방법에서는, 예비-현탁액 중의 유기 화합물이 평균 유효 입자 크기를 갖는 이쇄성 형태 (예를 들어, 얇은 침정 및 박판)가 되도록 제1 및 제2 공정 군의 방법의 최초 두 단계가 변형된다. 이쇄성 입자는 적합한 용매, 계면활성제 또는 계면활성제 조합물, 개별 용액의 온도, 혼합 속도 및 침전 속도 등을 선택하여 형성될 수 있다. 또한, 제1 용액을 수성 용매와 혼합하는 단계 동안에 격자 결함 (예를 들어, 절단면)을 도입하여 이쇄성을 강화시킬 수 있다. 이는 침전 단계에서 부여된 바와 같은 급격한 결정화에 의해 일어날 것이다. 에너지 부가 단계에서, 이들 이쇄성 결정은 역학적으로 안정화되고 예비-현탁액보다 작은 평균 유효 입자 크기를 갖는 결정으로 전환된다. 역학적으로 안정화되었다는 것은 역학적으로 안정화되지 않은 입자에 비해 입자의 응집 경향이 약해졌음을 의미한다. 이러한 경우, 에너지 부가 단계로 인해 이쇄성 입자들이 분쇄된다. 예비-현탁액의 입자를 이쇄성 상태가 되도록 함으로써, 입자를 이쇄성 형태로 만들기 위한 단계가 수행되지 않은 유기 화합물 처리에 비해 유기 화합물을 보다 용이하고 신속하게 목적하는 크기 범위 내의 입자로 만들 수가 있다.

[0105] IV. 제4 공정 군

[0106] 제4 공정 군의 방법은 혼합 단계를 에너지 부가 단계와 동시에 수행하는 것을 제외하고 제1 공정 군의 단계들을 포함한다.

[0107] 동질이상체 제어

[0108] 본 발명은, 유기 화합물의 결정 구조를 제어하여 궁극적으로는 목적하는 크기 범위와 목적하는 결정 구조를 갖는 화합물의 현탁액을 생성하는 추가 단계를 더 제공한다. "결정 구조"란 용어는 결정의 단위 셀 내에서의 원자 배열을 의미한다. 다양한 결정 구조로 결정화될 수 있는 화합물을 동질이상성으로 칭한다. 동일한 약물의 상이한 동질이상체들은 용해도, 치료 활성, 생체이용률 및 현탁 안정성의 차이를 나타낼 수 있기 때문에 동질이상체의 식별은 약물 제형화에서 중요한 단계이다. 따라서, 제품 순도 및 배치-대-배치 (batch-to-batch) 재현성을 보장하기 위해서는 화합물의 동질이상체 형태를 제어하는 것이 중요하다.

[0109] 화합물의 동질이상체 형태를 제어하는 단계는 목적하는 동질이상체를 형성하도록 제1 용액, 제2 용매 또는 예비-현탁액을 시딩하는 것을 포함한다. 시딩에는 시드 (seed) 화합물을 사용하거나 에너지를 부가하는 것이 포함된다. 본 발명의 바람직한 형태에서, 시드 화합물은 목적하는 동질이상체 형태의 제약 활성 화합물이다. 별법으로, 시드 화합물은 또한 불활성 불순물, 또는 목적하는 동질이상체와 구조상 무관하나 결정 핵의 템플레이팅 (templating)을 초래할 수 있는 특징을 갖는 화합물, 또는 목적하는 동질이상체와 유사한 구조를 갖는 유기 화합물일 수 있다.

- [0110] 시드 화합물은 제1 용액으로부터 침전될 수 있다. 이 방법은 제1 용매 중 유기 화합물의 용해도를 초과하기에 충분한 양의 유기 화합물을 첨가하여 과포화 용액을 생성하는 단계들을 포함한다. 과포화 용액은 목적하는 동질이상체 형태의 유기 화합물을 침전시키도록 처리된다. 과포화 용액의 처리에는 결정(들)이 형성되어 시딩 혼합물이 생성될 때까지 용액을 숙성시키는 것이 포함된다. 에너지를 상기 과포화 용액에 부가하여 용액으로부터 유기 화합물이 목적하는 동질이상체로 침전되도록 하는 것도 가능하다. 에너지는 상기 기재된 에너지 부가 단계를 비롯한 다양한 방식으로 부가될 수 있다. 또한, 가열하거나, 예비-현탁액을 전자기 에너지, 입자 빔 또는 전자 빔 공급원에 노출시킴으로써 에너지를 부가할 수 있다. 전자기 에너지로는 광 에너지 (자외선, 가시광선 또는 적외선), 또는 레이저에 의해 제공되는 것과 같은 간섭성 방사선, 메이저 (maser) (방사선 방출의 자극에 의한 마이크로파 증폭)에 의해 제공되는 것과 같은 마이크로파, 동적 전자기 에너지 또는 다른 방사선원이 포함된다. 또한, 에너지 부가원으로서 초음파, 정전기장 또는 정자기장, 또는 이들의 조합을 사용하는 것이 고려된다.
- [0111] 본 발명의 바람직한 형태에서, 숙성된 과포화 용액으로부터 시드 결정을 생성하는 방법은
- [0112] (i) 소정량의 유기 화합물을 제1 유기 용매에 첨가하여 과포화 용액을 생성하는 단계,
- [0113] (ii) 과포화 용액을 숙성시켜 검출가능한 결정을 형성함으로써 시딩 혼합물을 생성하는 단계, 및
- [0114] (iii) 시딩 혼합물을 제2 용매와 혼합하여 유기 화합물을 침전시킴으로써 예비-현탁액을 생성하는 단계
- [0115] 를 포함한다. 이후, 예비-현탁액을 상기 상술된 바와 같이 더 처리하여 목적하는 동질이상체와 목적하는 크기 범위를 갖는 유기 화합물의 수현탁액을 제공할 수 있다.
- [0116] 또한, 제1 용액, 제2 용매 또는 예비-현탁액에 에너지를 부가함으로써 시딩이 달성될 수 있으나, 노출된 액체(들)은 유기 화합물 또는 시드 물질을 함유해야 한다. 에너지는 과포화 용액에 대해 상기 기재된 바와 동일한 방식으로 부가될 수 있다.
- [0117] 따라서, 본 발명은 불특정 동질이상체(들)이 본질적으로 없는 목적하는 동질이상체 형태의 유기 화합물의 조성물을 제공한다. 본 발명의 바람직한 형태에서, 유기 화합물은 제약 활성 물질이다. 이러한 일례가 하기 실시예 16 (마이크로침전 동안의 시딩에 의해, 원료의 동질이상체가 본질적으로 없는 이트라코나졸의 동질이상체를 제공함)에 설명되어 있다. 많은 제약 활성 화합물에 대한 목적하는 동질이상체를 선택적으로 생성하기 위해 본 발명의 방법이 이용될 수 있는 것으로 생각된다.
- [0118] 항종양제의 서브미크론 현탁액
- [0119] 본 출원에서 앞서 기재된 방법은 수불용성 항종양제, 특히 파클리탁셀 또는 그의 유도체 화합물 (도세탁셀 및 다른 파클리탁셀 유사체가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아님)의 서브미크론 입자의 현탁액을 함유하는 제형을 제조하는 데 이용될 수 있다. 이러한 제형에서는 약물 함량 1 내지 20% w/v의 다량의 약물 로딩이 가능하다. 20% w/v 초과인 약물 로딩도 상기 제형에서 달성될 수 있다. 상기 제형은 다양한 경로, 예를 들어 경구, 비경구 및 폐내로 투여될 수 있다.
- [0120] 항종양제의 입자는, 부형제로서의 크레모포르를 제거함과 동시에 긴 순환 시간의 특성을 갖는 투여형을 달성하도록 제형화될 수 있다. 입자 흡소닌화 및 그에 따른 세망내피계 (RES) 흡수를 방지하기 위해, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 관능기를 갖는 표면 개질제로 제형화된 입자가 사용될 수 있다. 또한, 긴 순환 시간 뿐만 아니라 유창 중앙 맥관계를 통한 투과에 의한 종양 표적화를 촉진시키기 위해 200 nm 미만, 특히 150 nm 미만의 입자 크기를 갖는 입자가 사용될 수 있다.
- [0121] 상기 항종양제의 서브미크론 입자의 바람직한 제조 방법은
- [0122] (i) 수용성 또는 친수성 중합체와 컨쥬게이션된 인지질을 포함하는 제1 표면 개질제를 수혼화성 제1 용매 또는 제2 용매, 또는 수혼화성 제1 용매 및 제2 용매 둘 다와 혼합하는 단계;
- [0123] (ii) 항종양제를 수혼화성 제1 용매에 용해시켜 용액을 형성하는 단계;
- [0124] (iii) 용액을 제2 용매와 혼합하여 입자의 예비-현탁액을 형성하는 단계; 및
- [0125] (iv) 예비-현탁액을 균질화시켜, 약 1 μm 미만의 평균 유효 입자 크기를 갖는 입자의 현탁액을 형성하는 단계
- [0126] 로 구성된다. 바람직한 수혼화성 제1 용매는 N-메틸-2-피롤리돈이다. 입자의 평균 유효 입자 크기는 바람직하게는 약 400 nm 미만, 보다 바람직하게는 200 nm 미만, 가장 바람직하게는 약 150 nm 미만이다.

- [0127] 사용되는 인지질은 천연 또는 합성일 수 있다. 적합한 인지질의 예로는 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 디아실-글리세로-포스포에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜글리세롤, 포스파티드산, 리소인지질, 계란 또는 대두 인지질, 또는 이들의 조합이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 디아실-글리세로-포스포에탄올아민은 디미리스토일-글리세로-포스포에탄올아민 (DMPE), 디팔미토일-글리세로-포스포에탄올아민 (DPPE), 디스테아로일-글리세로-포스포에탄올아민 (DSPE), 디올레올릴-글리세로-포스포에탄올아민 (DOPE) 등으로부터 선택될 수 있다.
- [0128] 바람직한 실시양태에서, 인지질에 컨쥬게이션된 수용성 또는 친수성 중합체는 PEG 350, PEG 550, PEG 750, PEG 1000, PEG 2000, PEG 3000 및 PEG 5000 (이에 제한되는 것은 아님)과 같은 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)이다. 다른 친수성 중합체 컨쥬게이트, 예를 들어 텍스트란, 히드록시프로필 메타크릴레이트 (HPMA), 폴리글루타메이트 등도 사용될 수 있다.
- [0129] 임의로, 제2 표면 개질제가 수산화성 제1 용매 또는 제2 용매, 또는 수산화성 제1 용매 및 제2 용매 둘 다에 혼합될 수 있다. 제2 표면 개질제는 입자를 더 안정화시키기 위해 필요할 수 있다. 제2 표면 개질제는 본 출원에서 앞서 상세하게 기재된 바와 같은 음이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제 및 표면 활성 생물학적 개질제로부터 선택될 수 있다. 바람직한 제2 표면 개질제는 폴록사머, 예를 들어 폴록사머 188이다.
- [0130] 생성된 입자의 크기는 실시예 19에 예시된 바와 같이, 균질화가 수행되는 온도에 의해 제어할 수 있다. 한 실시양태에서, 균질화는 약 30 °C 이상, 예를 들어 약 40 °C 또는 약 70 °C에서 수행된다.
- [0131] 상기 방법은 현탁액으로부터 수산화성 제1 용매를 제거하여 용매가 본질적으로 없는 입자의 수현탁액을 형성하는 단계를 더 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 동시 계류중이며 본원과 공동 명의인 미국 특허 출원 대리인 문서 번호 113957-375에 상세하게 기재되어 있는 바와 같이, 수산화성 제1 용매는 균질화와 동시에 제거된다.
- [0132] 또한, 상기 방법은 현탁액의 액상 전부를 제거하여 입자의 건조 분말을 형성하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이 건조 분말은 대상체에게 폐내 경로로 투여될 수 있거나, 또는 적절한 희석제, 예를 들어 비경구 또는 경구 투여에 적합한 희석제에 재현탁될 수 있다. 상기 입자는 경구 투여용으로도 제형화될 수 있다. 비경구 및 경구 투여용 제형은 당업자에게 잘 알려져 있다. 상기 제형은 대상체에게 비경구, 경구, 폐내, 국소, 안내, 비내, 구강내, 직장내, 질내 및 경피 (이에 제한되는 것은 아님)와 같은 다양한 경로에 의한 투여에 사용될 수 있다.
- [0133] 또한, 상기 방법은 본 출원에서 앞서 기재된 바와 같이, 조성물을 멸균하는 단계를 더 포함할 수 있다. 제약 조성물의 멸균 방법으로는 여과, 가열 멸균 및 감마선 조사가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 가열 멸균은 멸균용 가열 및 가압원으로 기능하는 균질화기 내에서 가열에 의해 수행될 수 있다.
- [0134] 바람직한 실시양태에서, 상기 입자는 가용성이 아니다. 입자의 용해도에 대해서는 용해의 척도로서 400 nm에서의 투과율 (%)을 이용한 용해 역학으로 시험할 수 있다. 투과율 (%)이 처음값의 95% 이상으로 복귀되지 않는 경우, 입자는 가용성이 아니다.
- [0135] 다른 바람직한 실시양태에서, 상기 입자는 스트레스 조건 하에 또는 저장시 응집되지 않는다. 스트레스 조건의 예로는 열 순환, 반복적인 냉동-해동 순환, 진탕 및 원심분리가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 입자에 대한 스트레스 시험 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 통상적인 스트레스 시험 방법은 문헌 [Novel Injectable Formulations of Insoluble Drugs, Pace et al., Pharm Tech, March 1999, pg 116-134]에 상세하게 기재되어 있다. 응집률은 초음파 처리 1 분 전후의 입자 크기를 측정하고, 하기 수학적식을 통해 그 차이를 비교함으로써 추정될 수 있다:
- [0136]
$$\text{응집률 (\%)} = \frac{(P_{99} - P_{99S}) \times 100}{P_{99S}}$$
- [0137] 식 중, P_{99} 는 초음파 처리 이전 입자의 입자 크기 분포의 제99 백분위수를 나타내고, P_{99S} 는 초음파 처리 이후 입자의 입자 크기 분포의 제99 백분위수를 나타낸다.

실시예

- [0138] A. 제1 공정 군의 실시예

- [0139] 실시예 1: 균질화를 포함하는 제1 공정 군의 방법 A를 이용한 이트라코나졸 현탁액의 제조
- [0140] 3 l 플라스크에 주사용수 1680 ml를 첨가하였다. 액체를 60 내지 65 °C로 가열한 후에 플루로닉 F-68 (폴록사머 188) 44 g 및 나트륨 데옥시콜레이트 12 g을 서서히 첨가하고, 각 첨가가 완료된 후에는 교반하여 고형물을 용해시켰다. 고형물 첨가가 완료된 후, 60 내지 65 °C에서 15 분간 더 교반하여 완전히 용해시켰다. 트리스 6.06 g을 주사용수 800 ml에 용해시켜 50 mM 트리스 (트로메타민) 완충액을 제조하였다. 이 용액을 0.1 M 염산으로 적정하여 pH 8.0으로 만들었다. 생성된 용액을 추가의 주사용수에 의해 1 l로 희석시켰다. 트리스 완충액 200 ml를 폴록사머/데옥시콜레이트 용액에 첨가하였다. 완전히 교반하여 용액을 혼합하였다.
- [0141] 150 ml 비이커에 이트라코나졸 20 g 및 N-메틸-2-피롤리디논 120 ml를 첨가하였다. 혼합물을 50 내지 60 °C로 가열하고, 교반하여 고형물을 용해시켰다. 완전히 용해된 것을 육안으로 확인한 후, 15 분간 더 교반하여 완전히 용해시켰다. 이트라코나졸-NMP 용액을 실온으로 냉각시켰다.
- [0142] 앞서 제조된 이트라코나졸 용액 120 ml를 주사기 펌프 (2개의 60 ml 유리 주사기)에 도입하였다. 그러는 동안, 계면활성제 용액 전부를 0 내지 5 °C로 냉각 (이는 냉매가 순환되는 재킷 호퍼를 사용하거나, 또는 호퍼를 얼음으로 둘러싸므로써 달성할 수 있음)된 균질화기 호퍼에 부었다. 블레이드가 완전히 침지되도록 기계 교반기를 계면활성제 용액 중에 위치시켰다. 주사기 펌프를 사용하여, 이트라코나졸 용액 전부를 상기 교반 및 냉각된 계면활성제 용액에 서서히 (1 내지 3 ml/분) 첨가하였다. 700 rpm 이상의 교반 속도가 권장된다. 생성된 현탁액 (현탁액 A)의 분취량을 광학 현미경 검사 (호프만 모듈레이션 콘트라스트 (Hoffmann Modulation Contrast)) 및 레이저 회절 (호리바 (Horiba))에 의해 분석하였다. 현탁액 A는 광학 현미경 검사에 의해, 서로 응집물로 결합되어 있거나 또는 브라운 운동에 의해 자유롭게 운동하는 거의 구형의 비결정질 입자 (1 미크론 미만)로 구성된 것으로 관찰되었다. 도 3을 참조한다. 동적 광 산란 측정에 의해 통상적으로, 응집물 (10 내지 100 미크론 크기)의 존재 및 중간 (median) 입경이 200 내지 700 nm의 범위인 단일 비결정질 입자의 존재를 나타내는 쌍봉 (bimodal) 분포 패턴이 얻어졌다.
- [0143] 상기 현탁액을 즉시 10 내지 30 분간 (10,000 내지 30,000 psi에서) 균질화시켰다. 균질화 완료시, 호퍼내 현탁액의 온도는 75 °C를 초과하지 않았다. 균질화 현탁액을 500 ml 병에 수집하고, 이를 즉시 냉장고 (2 내지 8 °C)에서 냉각시켰다. 이 현탁액 (현탁액 B)을 광학 현미경 검사로 분석하여, 길이 0.5 내지 2 미크론 및 폭 0.2 내지 1 미크론 범위의 작은 종장형 플레이트로 구성되었음을 알게 되었다. 도 4를 참조한다. 동적 광 산란 측정에서는 통상적으로 평균 직경이 200 내지 700 nm로 나타났다.
- [0144] 현탁액 A ("예비-현탁액") (실시예 1)의 안정성
- [0145] 현탁액 A의 분취량을 현미경으로 검사하는 동안, 비결정질 고체의 결정화가 직접 관찰되었다. 현탁액 A를 12 시간 동안 2 내지 8 °C에서 저장하고, 광학 현미경으로 검사하였다. 샘플을 전체적으로 육안 검사한 결과, 극심한 응집이 나타났다 (내용물 중 일부는 용기 바닥에 침강되었음). 현미경 검사에서는 10 미크론 초과 길이를 갖는 큰 종장형 플레이트상 결정이 존재하는 것으로 나타났다.
- [0146] 현탁액 B의 안정성
- [0147] 불안정한 현탁액 A와 달리, 현탁액 B는 예비 안정성 조사 기간 (1 개월) 동안 2 내지 8 °C에서 안정하였다. 숙성된 샘플을 현미경으로 검사한 결과, 입자의 형태 또는 크기가 유의하게 변하지 않은 것으로 명백히 입증되었다. 광 산란 측정에 의해 이를 확인하였다.
- [0148] 실시예 2: 초음파 처리를 포함하는 제1 공정 군의 방법 A를 이용한 이트라코나졸 현탁액의 제조
- [0149] 500 ml 스테인레스강 용기에 주사용수 252 ml를 첨가하였다. 액체를 60 내지 65 °C로 가열한 후에 플루로닉 F-68 (폴록사머 188) 6.6 g 및 나트륨 데옥시콜레이트 0.9 g을 서서히 첨가하고, 각 첨가가 완료된 후에는 교반하여 고형물을 용해시켰다. 고형물 첨가가 완료된 후, 60 내지 65 °C에서 15 분간 더 교반하여 완전히 용해시켰다. 트리스 6.06 g을 주사용수 800 ml에 용해시켜 50 mM 트리스 (트로메타민) 완충액을 제조하였다. 이 용액을 0.1 M 염산으로 적정하여 pH 8.0으로 만들었다. 생성된 용액을 추가의 주사용수에 의해 1 l로 희석시켰다. 트리스 완충액 30 ml를 폴록사머/데옥시콜레이트 용액에 첨가하였다. 완전히 교반하여 용액을 혼합하였다.
- [0150] 30 ml 용기에 이트라코나졸 3 g 및 N-메틸-2-피롤리디논 18 ml를 첨가하였다. 혼합물을 50 내지 60 °C로 가열하고, 교반하여 고형물을 용해시켰다. 완전히 용해된 것을 육안으로 확인한 후, 15 분간 더 교반하여 완전히 용해시켰다. 이트라코나졸-NMP 용액을 실온으로 냉각시켰다.

- [0151] 전 단계에서 제조된 이트라코나졸 용액 18 ml를 주사기 펌프에 도입하였다. 블레이드가 완전히 침지되도록 기계 교반기를 계면활성제 용액 중에 위치시켰다. 용기를 빙조에 침지시켜 0 내지 5 °C로 냉각시켰다. 주사기 펌프를 사용하여, 이트라코나졸 용액 전부를 상기 교반 및 냉각된 계면활성제 용액에 서서히 (1 내지 3 ml/분) 첨가하였다. 700 rpm 이상의 교반 속도가 권장된다. 프로브가 스테인레스강 용기 바닥 위로 약 1 cm에 있도록, 생성된 현탁액에 초음파 처리기 혼 (horn)을 침지시켰다. 15 내지 20 분간 5 분 간격으로 초음파 처리 (10,000 내지 25,000 Hz, 400 W 이상)하였다. 최초 5 분간의 초음파 처리 후에는 빙조를 제거하고 초음파 처리를 계속하였다. 초음파 처리 완료시, 용기내 현탁액의 온도는 75 °C를 초과하지 않았다.
- [0152] 현탁액을 500 ml I형 유리병에 수집하고, 이를 즉시 냉장고 (2 내지 8 °C)에서 냉각시켰다. 초음파 처리 전후의 현탁액 입자 형태의 특성들은 균질화 이전 및 이후에 방법 A에서 관찰된 것과 매우 유사하였다 (실시에 1 참조).
- [0153] 실시에 3: 균질화를 포함하는 제1 공정 군의 방법 B를 이용한 이트라코나졸 현탁액의 제조
- [0154] 트리스 6.06 g을 주사용수 800 ml에 용해시켜 50 mM 트리스 (트로메타민) 완충액을 제조하였다. 이 용액을 0.1 M 염산으로 적정하여 pH 8.0으로 만들었다. 생성된 용액을 추가의 주사용수에 의해 1 l로 희석시켰다. 3 l 플라스크에 주사용수 1680 ml를 첨가하였다. 트리스 완충액 200 ml를 물 1680 ml에 첨가하였다. 완전히 교반하여 용액을 혼합하였다.
- [0155] 150 ml 비이커에서, 플루로닉 F-68 (폴록사머 188) 44 g 및 나트륨 데옥시콜레이트 12 g을 N-메틸-2-피롤리디논 120 ml에 첨가하였다. 혼합물을 50 내지 60 °C로 가열하고, 교반하여 고형물을 용해시켰다. 완전히 용해된 것을 육안으로 확인한 후, 15 분간 더 교반하여 완전히 용해시켰다. 이 용액에 이트라코나졸 20 g을 첨가하고, 완전히 용해될 때까지 교반하였다. 이트라코나졸-계면활성제-NMP 용액을 실온으로 냉각시켰다.
- [0156] 앞서 제조된 농축 이트라코나졸 용액 120 ml를 주사기 펌프 (2개의 60 ml 유리 주사기)에 도입하였다. 그러는 동안, 상기 제조된 트리스 희석 완충액을 0 내지 5 °C로 냉각 (이는 냉매가 순환되는 제트 호퍼를 사용하거나, 또는 호퍼를 얼음으로 둘러싸므로써 달성될 수 있음)된 균질화기 호퍼에 부었다. 블레이드가 완전히 침지되도록 기계 교반기를 완충 용액 중에 위치시켰다. 주사기 펌프를 사용하여, 이트라코나졸-계면활성제 농축물 전부를 상기 교반 및 냉각된 완충 용액에 서서히 (1 내지 3 ml/분) 첨가하였다. 700 rpm 이상의 교반 속도가 권장된다. 생성된 냉각 현탁액을 즉시 10 내지 30 분간 (10,000 내지 30,000 psi에서) 균질화시켰다. 균질화 완료시, 호퍼내 현탁액의 온도는 75 °C를 초과하지 않았다.
- [0157] 균질화 현탁액을 500 ml 병에 수집하고, 이를 즉시 냉장고 (2 내지 8 °C)에서 냉각시켰다. 균질화 전후의 현탁액 입자 형태의 특성들은 실시에 1에서 관찰된 것과 매우 유사하였으나, 제1 공정 군의 방법 B에서는 예비-균질화된 물질이 보다 소량의 작은 응집물을 형성하는 경향이 있어서, 레이저 회절에 의해 측정시 전반적인 입자 크기가 훨씬 작았다. 균질화 후, 동적 광 산란 결과는 통상적으로 실시에 1에 제시된 것과 동일하였다.
- [0158] 실시에 4: 초음파 처리를 포함하는 제1 공정 군의 방법 B를 이용한 이트라코나졸 현탁액의 제조
- [0159] 500 ml 플라스크에 주사용수 252 ml를 첨가하였다. 트리스 6.06 g을 주사용수 800 ml에 용해시켜 50 mM 트리스 (트로메타민) 완충액을 제조하였다. 이 용액을 0.1 M 염산으로 적정하여 pH 8.0으로 만들었다. 생성된 용액을 추가의 주사용수에 의해 1 l로 희석시켰다. 트리스 완충액 30 ml를 물에 첨가하였다. 완전히 교반하여 용액을 혼합하였다.
- [0160] 30 ml 비이커에서, 플루로닉 F-68 (폴록사머 188) 6.6 g 및 나트륨 데옥시콜레이트 0.9 g을 N-메틸-2-피롤리디논 18 ml에 첨가하였다. 혼합물을 50 내지 60 °C로 가열하고, 교반하여 고형물을 용해시켰다. 완전히 용해된 것을 육안으로 확인한 후, 15 분간 더 교반하여 완전히 용해시켰다. 이 용액에 이트라코나졸 3.0 g을 첨가하고, 완전히 용해될 때까지 교반하였다. 이트라코나졸-계면활성제-NMP 용액을 실온으로 냉각시켰다.
- [0161] 앞서 제조된 농축 이트라코나졸 용액 18 ml를 주사기 펌프 (1개의 30 ml 유리 주사기)에 도입하였다. 블레이드가 완전히 침지되도록 기계 교반기를 완충 용액 중에 위치시켰다. 용기를 빙조에 침지시켜 0 내지 5 °C로 냉각시켰다. 주사기 펌프를 사용하여, 이트라코나졸-계면활성제 농축물 전부를 상기 교반 및 냉각된 완충 용액에 서서히 (1 내지 3 ml/분) 첨가하였다. 700 rpm 이상의 교반 속도가 권장된다. 생성된 냉각 현탁액을 즉시 15 내지 20 분간 5 분 간격으로 초음파 처리 (10,000 내지 25,000 Hz, 400 W 이상)하였다. 최초 5 분간의 초음파 처리 후에는 빙조를 제거하고 초음파 처리를 계속하였다. 초음파 처리 완료시, 호퍼내 현탁액의 온도는 75 °C를 초과하지 않았다.

- [0162] 생성된 현탁액을 500 ml 병에 수집하고, 이를 즉시 냉장고 (2 내지 8 ℃)에서 냉각시켰다. 초음파 처리 전후의 현탁액 입자 형태의 특성들은 실시예 1에서 관찰된 것과 매우 유사하였으나, 제1 공정 군의 방법 B에서는 예비-초음파 처리된 물질이 보다 소량의 작은 응집물을 형성하는 경향이 있어서, 레이저 회절에 의해 측정시 전반적인 입자 크기가 훨씬 작았다. 초음파 처리 후, 동적 광 산란 결과는 통상적으로 실시예 1에 제시된 것과 동일하였다.
- [0163] B. 제2 공정 군의 실시예
- [0164] 실시예 5: 제2 공정 군의 방법 B를 이용한, 0.75% 솔루톨 (등록상표) HR (PEG-660 12-히드록시스테아레이트)을 함유하는 1% 이트라코나졸 현탁액의 제조
- [0165] 솔루톨 (2.25 g) 및 이트라코나졸 (3.0 g)을 비이커에 계량 투입하고, 여과된 N-메틸-2-피롤리디논 (NMP) 36 ml를 첨가하였다. 용액 성분들이 용해될 때까지 상기 혼합물을 약 15 분간 저온 가열 (40 ℃ 이하) 하에 교반하였다. 용액을 실온으로 냉각시키고, 진공 하에 0.2 미크론 필터로 여과하였다. 여과된 약물 농축물을 2 개의 60 ml 주사기에 충전하고, 이를 주사기 펌프에 놓았다. 급속 교반 (400 rpm)된 수성 완충 용액에 농축물을 약 1 ml/분으로 전달하도록 펌프를 설정하였다. 완충 용액은 5 mM 트리스 완충액 중의 글리세롤 22 g/l로 구성되었다. 농축물을 첨가하는 내내 완충 용액을 2 내지 3 ℃의 빙조에서 유지시켰다. 침전이 완료되었을 때, 완충 용액으로 농축물 첨가가 완료된 후에 현탁액 약 100 ml를 1 시간 동안 원심분리하고, 상층액을 버렸다. 침전물을 20% NMP 수용액에 재현탁시키고, 1 시간 동안 다시 원심분리하였다. 이 물질을 25 ℃의 진공 오븐에서 밤새 건조시켰다. 건조된 물질을 바이알에 옮긴 후, 크롬 방사선을 이용한 X선 회절 측정에 의해 분석하였다 (도 5 참조).
- [0166] 마이크로침전된 현탁액의 또다른 분취량 (100 ml)을 30 분간 20,000 Hz 및 80% 전체 진폭 (전체 진폭 = 600 W)에서 초음파 처리하였다. 초음파 처리된 샘플을 3개의 동일한 분취량으로 각각 45 분간 균질화 (아베스틴 C5, 2 내지 5 ℃, 15,000 내지 20,000 psi)시켰다. 합한 분획을 약 3 시간 동안 원심분리하고, 상층액을 제거하고, 침전물을 20% NMP에 재현탁시켰다. 재현탁된 혼합물을 (5 ℃에서 15,000 rpm으로) 다시 원심분리하였다. 상층액을 경사 분리하여 제거하고, 침전물을 25 ℃에서 밤새 진공 건조시켰다. 침전물을 X선 회절 측정에 의해 분석하였다 (도 5 참조). 도 5에 도시된 바와 같이, 균질화 전후의 처리된 샘플의 X선 회절 패턴들은 실질적으로 동일하나, 출발 원료와 비교시 상당히 다른 패턴을 나타낸다. 균질화되지 않은 현탁액은 실온 저장시 불안정하고 응집되었다. 계면활성제가 입자 표면 상에 재배열되어, 균질화의 결과로서 안정화가 이루어지는 것으로 생각된다. 상기 재배열은 입자의 응집 성향을 약화시킬 것이다.
- [0167] C. 제3 공정 군의 실시예
- [0168] 실시예 6: 균질화를 포함하는 제3 공정 군의 방법 A를 이용한 카르바마제핀 현탁액의 제조
- [0169] 카르바마제핀 2.08 g을 NMP 10 ml에 용해시켰다. 이어서, 이 농축물 1.0 ml을 1.2% 레시틴과 2.25% 글리세린의 교반 용액 20 ml에 0.1 ml/분으로 적하하였다. 상기 첨가 동안 내내 레시틴계의 온도를 2 내지 5 ℃로 유지시켰다. 다음에는, 예비-분산액을 15,000 psi에서 35 분간 차갑게 (5 내지 15 ℃) 균질화시켰다. 압력을 23,000 psi로 증가시키고, 20 분간 더 균질화시켰다. 상기 공정에 의해 생성된 입자는 평균 직경이 0.881 μm 였으며, 입자들 중 99%는 2.44 μm 미만이었다.
- [0170] 실시예 7: 균질화를 포함하는 제3 공정 군의 방법 B를 이용한, 0.125% 솔루톨 (등록상표)을 함유하는 1% 카르바마제핀 현탁액의 제조
- [0171] N-메틸-2-피롤리디논 중의 20% 카르바마제핀 및 5% 글리코데옥시콜산 (시그마 케미칼 컴퍼니 (Sigma Chemical Co.))의 약물 농축물을 제조하였다. 마이크로침전 단계에는 약물 농축물을 수용 용액 (증류수)에 0.1 ml/분의 속도로 첨가하는 것이 포함되었다. 수용 용액을 교반하고, 침전 동안 약 5 ℃로 유지시켰다. 침전 후, 최종 성분 농도는 1% 카르바마제핀 및 0.125% 솔루톨 (등록상표)이었다. 약물 결정을 포지티브 위상 콘트라스트 (positive phase contrast)를 이용하여 광학 현미경으로 검사 (400X)하였다. 침전물은 직경 약 2 미크론 및 길이 50 내지 150 미크론 범위의 미세 침정으로 구성되었다.
- [0172] 약 15 분간 약 20,000 psi에서 균질화 (아베스틴 C-50 피스톤 잭 균질화기)시켜, 크기가 1 미크론 미만이고 대부분 응집되지 않은 소립자를 생성하였다. 균질화된 물질을 레이저 회절 분석 (호리바)한 결과로는 입자의 평균 크기가 0.4 미크론이었으며, 입자들 중 99%는 0.8 미크론 미만이었다. 응집 입자의 분쇄에는 적합하나, 각 입자의 분쇄에는 충분하지 않은 에너지를 갖는, 샘플의 저에너지 초음파 처리를 호리바 분석 이전에 수행하는 것은 결과에 전혀 영향을 미치지 않았다 (초음파 처리 여부에 관계 없이 수치들은 동일하였

음). 이러한 결과는 입자 응집의 부재와 부합하였다.

- [0173] 상기 공정에 의해 제조된 샘플을 원심분리하고, 상층액을 0.125% 솔루톨 (등록상표)로 구성된 대체 용액으로 대체하였다. 원심분리 및 상층액 대체 후, 현탁액 성분 농도는 1% 카르바마제핀 및 0.125% 솔루톨 (등록상표)이었다. 샘플을 피스톤 잭 균질화기에 의해 재균질화시키고, 5 °C에서 저장하였다. 4 주간 저장한 후, 현탁액은 평균 입자 크기가 0.751이었으며, 입자들 중 99%는 1.729 미만이었다. 보고된 수치들은 초음파 처리되지 않은 샘플에 대한 호리바 분석 결과이다.
- [0174] 실시예 8: 균질화를 포함하는 제3 공정 군의 방법 B를 이용한, 0.06% 나트륨 글리코데옥시콜레이트 및 0.06% 폴록사머 188을 함유하는 1% 카르바마제핀 현탁액의 제조
- [0175] N-메틸-2-피롤리디논 중의 20% 카르바마제핀 및 5% 글리코데옥시콜레이트를 포함하는 약물 농축물을 제조하였다. 마이크로침전 단계에는 약물 농축물을 수용 용액 (증류수)에 0.1 ml/분의 속도로 첨가하는 것이 포함되었다. 이에 따라, 다음 실시예들은 방법 A 및 B에서 계면활성제 또는 다른 부형제를 수성 침전성 용액에 첨가하는 것이 임의적임을 입증한다. 수용 용액을 교반하고, 침전 동안 약 5 °C로 유지시켰다. 침전 후, 최종 성분 농도는 1% 카르바마제핀 및 0.125% 솔루톨 (등록상표)이었다. 약물 결정을 포지티브 위상 콘트라스트를 이용하여 광학 현미경으로 검사 (400X)하였다. 침전물은 직경 약 2 마이크론 및 길이 50 내지 150 마이크론 범위의 미세 침전으로 구성되었다. 침전물을 침전 이전의 원료와 비교한 결과, 표면 개질제 (글리코데옥시콜산)의 존재 하에서의 침전 단계에 의해 매우 얇은 결정 (출발 원료보다 더욱 얇음)이 생성되는 것으로 밝혀졌다 (도 6 참조).
- [0176] 약 15 분간 약 20,000 psi에서 균질화 (아베스틴 C-50 피스톤 잭 균질화기)시켜, 크기가 1 마이크론 미만이고 대부분 응집되지 않은 소립자를 생성하였다. 도 7을 참조한다. 균질화된 물질을 레이저 회절 분석 (호리바)한 결과로는 입자의 평균 크기가 0.4 마이크론이었으며, 입자들 중 99%는 0.8 마이크론 미만이었다. 샘플의 초음파 처리를 호리바 분석 이전에 수행하는 것은 결과에 전혀 영향을 미치지 않았다 (초음파 처리 여부에 관계 없이 수치들은 동일하였음). 이러한 결과는 입자 응집의 부재와 부합하였다.
- [0177] 상기 공정에 의해 제조된 샘플을 원심분리하고, 상층액을 0.06% 글리코데옥시콜산 (시그마 케미칼 컴퍼니) 및 0.06% 폴록사머 188로 구성된 대체 용액으로 대체하였다. 샘플을 피스톤 잭 균질화기로 재균질화시키고, 5 °C에서 저장하였다. 2 주간 저장 후, 현탁액의 평균 입자 크기는 0.531 마이크론이었으며, 입자들 중 99%는 1.14 마이크론 미만이었다. 보고된 수치들은 초음파 처리되지 않은 샘플에 대한 호리바 분석 결과이다.
- [0178] 침전된 입자를 분쇄하는 데 필요한 힘의 수학적 분석 (출발 원료 (카르바마제핀)의 입자를 분쇄하는 데 필요한 힘과 비교함) (실시예 8):
- [0179] 카르바마제핀 원료에서 나타난 결정의 최대 폭 (도 6의 좌측 사진)은 마이크로침전된 물질에서의 결정의 폭 (도 6의 우측 사진)보다 거의 10배 더 크다. 다음에 따르면, 결정 두께의 비율 (1:10)이 결정 폭의 비율 (1:10)에 비례한다고 가정할 때, 원료 중에서 보다 큰 결정을 절단하는 데 필요한 힘의 모멘트는 마이크로침전된 물질을 분쇄하는데 필요한 힘보다 약 1,000배 더 커야 한다:
- 수학적 1**
- [0180] $e_L = 6PL/(Ew_x^2)$
- [0181] 식 중,
- [0182] e_L = 결정을 분쇄하는 데 필요한 종방향 변형률 ("항복값")
- [0183] P = 빔 상의 하중
- [0184] L = 하중으로부터 받침점까지의 거리
- [0185] E = 탄성률
- [0186] w = 결정의 폭
- [0187] x = 결정의 두께.
- [0188] L과 E이 원료와 침전된 물질에 대해 동일하다고 가정한다. 또한, $w/w_0 = x/x_0 = 10$ 이라고 가정하면,

- [0189] $(e_L)_0 = 6P_0L/(Ew_0x_0^2)$ (여기서, 아래첨자 '0'은 원료 물질을 나타냄),
- [0190] 마이크로침전물에 대해서는 $e_L = 6PL/(Ewx^2)$,
- [0191] $(e_L)_0$ 과 e_L 이 같을 때,
- [0192] $6PL/(Ewx^2) = 6P_0L/(Ew_0x_0^2)$
- [0193] 간단히 하면,
- [0194] $P = P_0(w/w_0) (x/x_0)^2 = P_0 (0.1)(0.1)^2 = 0.001 P_0$
- [0195] 따라서, 마이크로침전된 고형물을 분쇄하는 데 필요한 항복력 P는 출발 결정질 고형물을 분쇄하는 데 필요한 힘의 1/1000이다. 급속한 침전 때문에 격자 결함 또는 비결정질 특성이 도입되는 경우, 탄성률 (E)가 감소되어 마이크로침전물을 보다 더 용이하게 절단시킬 수 있을 것이다.
- [0196] 실시예 9: 제3 공정 군의 방법 B를 이용한, 0.05% 나트륨 데옥시콜레이트 및 3% N-메틸-2-피롤리디논을 함유하는 1.6% (w/v) 프레드니솔론 현탁액의 제조
- [0197] 전체 제조 공정에 관한 모식도가 도 8에 제시되어 있다. 프레드니솔론과 나트륨 데옥시콜레이트의 농축 용액을 제조하였다. 프레드니솔론 (32 g) 및 나트륨 데옥시콜레이트 (1 g)를 충분한 부피의 1-메틸 2-피롤리디논 (NMP)에 첨가하여 60 ml의 최종 부피를 생성하였다. 생성된 프레드니솔론 농도는 약 533.3 mg/ml였고, 나트륨 데옥시콜레이트 농도는 약 16.67 mg/ml였다. NMP 농축물 60 ml를 5 °C로 냉각된 물 2 l에 2.5 ml/분의 첨가 속도로 첨가하면서 약 400 rpm로 교반하였다. 생성된 현탁액은 폭 2 μm 미만의 얇은 침상 결정을 함유하였다 (도 9). 침전된 현탁액에 함유된 농도는 1.6% (w/v) 프레드니솔론, 0.05% 나트륨 데옥시콜레이트 및 3% NMP였다.
- [0198] 침전된 현탁액을 수산화나트륨과 염산에 의해 pH 7.5 내지 8.5로 조정한 후, 10,000 psi에서 10회 균질화 (아베스틴 C-50 피스톤 잭 균질화기)시켰다. 상층액을 새로운 계면활성제 용액 (현탁액의 안정화에 필요한 원하는 농도의 계면활성제를 함유함)으로 매번 대체하는 2회의 연속적인 원심분리 단계를 수행하여 NMP를 제거하였다 (표 2 참조). 현탁액을 10,000 psi에서 10회 더 균질화시켰다. 최종 현탁액은 평균 입자 크기가 1 μm 미만인 입자를 함유하였으며, 입자들 중 99%는 2 μm 미만이었다. 도 10은 균질화 이후의 최종 프레드니솔론 현탁액의 현미경사진이다.
- [0199] 원심분리/계면활성제 대체 단계에서는 다양한 농도의 각종 계면활성제를 사용하였다 (표 2 참조). 표 2에는 입자 크기 (평균 < 1 μm, 99% < 2 μm), pH (6-8), 약물 농도 (2% 미만의 손실) 및 재현탁능 (60초 이내에 재현탁됨)에 관해 안정한 계면활성제의 조합들이 열거되어 있다.
- [0200] 상기 공정에서는 계면활성제 또는 다른 첨가제 없이 활성 화합물을 수성 희석제에 첨가할 수 있음을 주목할 만하다. 이는 도 2의 공정 방법 B의 변형이다.

표 2

도8의 마이크로침전 공정에 의해 제조된 안정한 프레드니솔론 현탁액 목록 (실시에9)

			2 주		2 개월						
	최초		40°C		5°C		25°C		40°C		
제형	평균	>99%	평균	>99%	평균	>99%	평균	>99%	평균	>99%	% 손실
1.6% 프레드니솔론, 0.6% 인지질, 0.5% 나트륨 데옥시콜레이트, 5 mM 트리스, 2.2% 글리세롤**	0.79	1.65	0.84	1.79	0.83	1.86	0.82	1.78	0.82	1.93	<2%
1.6% 프레드니솔론, 0.6% 솔루톨 (등록상표), 0.5% 나트륨 데옥시콜레이트, 2.2% 글리세롤	0.77	1.52	0.79	1.67	0.805	1.763	0.796	1.693	0.81	1.633	<2%
1.6% 프레드니솔론, 0.1% 폴록사머 188, 0.5% 나트륨 데옥시콜레이트, 2.2% 글리세롤	0.64	1.16	0.82	1.78	0.696	1.385	0.758	1.698	0.719	1.473	<2%
1.6% 프레드니솔론, 5% 인지질, 5 mM 트리스, 2.2% 글리세롤	0.824	1.77	0.87	1.93	0.88	1.95	0.869	1.778	0.909	1.993	<2%

* 2 개월간 5 및 25 °C로 저장된 샘플들 간의 이트라코나졸 농도의 차이.

** 적어도 6 개월간은 안정함.

입자 크기 (레이저 광 산란법에 의해 측정됨) (미크론):

5 °C: 0.80 (평균), 1.7 (99%)

25 °C: 0.90 (평균), 2.51 (99%)

40 °C: 0.99 (평균), 2.03 (99%)

5 및 25 °C로 저장된 샘플들 간의 이트라코나졸 농도의 차이: 2% 미만.

실시에 10: 균질화를 포함하는 제3 공정 군의 방법 A를 이용한 프레드니솔론 현탁액의 제조

프레드니솔론 32 g을 NMP 40 ml에 용해시켰다. 40 내지 50 °C에서 서서히 가열하여 용해시켰다. 이어서, 0.12% 레시틴 및 2.2% 글리세롤로 구성된 교반 용액 2 l에 약물 NMP 농축물을 2.5 ml/분으로 적하하였다. 다른 표면 개질제는 첨가하지 않았다. 5 mM 트리스 완충액을 사용하여 계면활성제계를 pH = 8.0에서 완충시켰고, 전체 침전 공정 동안 온도를 0 내지 5 °C로 유지시켰다. 다음에는, 침전 후의 분산액을 10,000 psi에서 20회 차압계 (5 내지 15 °C) 균질화시켰다. 균질화시킨 다음, 현탁액을 원심분리하고, 상층액을 제거하고, 상층액을 새로운 계면활성제 용액으로 대체하여 NMP를 제거하였다. 이후, 원심분리 후의 현탁액을 10,000 psi에서 20회 더 차압계 (5 내지 15 °C) 재균질화시켰다. 상기 공정에 의해 생성된 입자는 평균 직경이 0.927 μm 였으며, 입자들 중 99%는 2.36 μm 미만이었다.

실시에 11: 균질화를 포함하는 제3 공정 군의 방법 B를 이용한 나부메톤 (nabumetone) 현탁액의 제조

계면활성제 (폴록사머 188 2.2 g)를 N-메틸-2-피롤리딘은 6 ml에 용해시켰다. 이 용액을 15 분간 45 °C에서 교반한 후, 나부메톤 1.0 g을 첨가하였다. 약물이 신속하게 용해되었다. 2.2% 글리세롤을 함유하는 5 mM 트리스 완충액으로 구성된 희석제를 제조하여 pH 8로 조정하였다. 희석제 중 100 ml를 빙조에서 냉각시켰다. 약물 농축물을 희석제에 서서히 첨가 (약 0.8 ml/분)하면서 강력 교반하였다. 이 조질의 현탁액을 30 분간 15,000 psi에서 균질화시킨 후에 30 분간 20,000 psi (온도 = 5 °C)에서 균질화시켰다. 최종 나노현탁액은 유효 평균 직경 (레이저 회절로 분석됨)이 930 nm인 것으로 밝혀졌다. 입자들 중 99%는 약 2.6 미크론 미만이었다.

실시에 12: 균질화를 포함하는 제3 공정 군의 방법 B를 이용하고, 계면활성제로서 솔루톨 (등록상표) HS 15를 사용한 나부메톤 현탁액의 제조 (상층액을 인지질 매질로 대체하였음)

나부메톤 (0.987 g)을 N-메틸-2-피롤리딘은 8 ml에 용해시켰다. 이 용액에 솔루톨 (등록상표) HS 15 2.2 g을 첨가하였다. 계면활성제가 약물 농축물에 완전히 용해될 때까지 상기 혼합물을 교반하였다. 2.2% 글리세롤을 함유하는 5 mM 트리스 완충액으로 구성된 희석제를 제조하여 pH 8로 조정하였다. 희석제를 빙조에서 냉각시키고, 약물 농축물을 희석제에 서서히 첨가 (약 0.5 ml/분)하면서 강력 교반하였다. 이 조질의 현탁액을 15,000 psi에서 20 분간 균질화시키고, 20,000 psi에서 30 분간 균질화시켰다.

현탁액을 15 분간 15,000 rpm으로 원심분리하고, 상층액을 제거하여 버렸다. 잔류 고상 펠렛을 1.2% 인지질로 구성된 희석제에 재현탁시켰다. 이 매질은 전 단계에서 제거된 상층액의 양과 부피가 동일하였다. 이후, 생성된 현탁액을 30 분간 약 21,000 psi에서 균질화시켰다. 최종 현탁액을 레이저 회절에 의해 분석한 결과, 현탁액은 평균 직경이 542 nm인 입자를 함유하였고, 1 미크론 미만 입자의 누적 분포는 99%였다.

실시에 13: 폴록사머를 함유하는 평균 입경 약 220 nm의 1% 이트라코나졸 현탁액의 제조

- [0210] 이트라코나졸 10.02 g을 N-메틸-2-피롤리디논 60 ml에 용해시켜 이트라코나졸 농축물을 제조하였다. 70 °C로 가열하여 약물을 용해시켰다. 이후, 이 용액을 실온으로 냉각시켰다. 소정량의 50 mM 트리스(히드록시메틸)아미노메탄 완충액 (트리스 완충액)을 제조하고, 5 M 염산을 사용하여 pH 8.0으로 조정하였다. 폴록사머 407 22 g/l, 계란 포스포티드 3.0 g/l, 글리세롤 22 g/l 및 나트륨 콜레이트 디히드레이트 3.0 g/l를 배합하여 수성 계면활성제 용액을 제조하였다. 계면활성제 용액 900 ml를 트리스 완충액 100 ml와 혼합하여 수성 희석제 1000 ml를 제공하였다.
- [0211] 얼음 재킷에 의해 냉각되는, 균질화기 (APV 가울린 (Gaulin) 모델 15MR-8TA)의 호퍼에 상기 수성 희석제를 첨가하였다. 이 용액을 급속 교반 (4700 rpm)하고, 온도를 모니터링하였다. 주사기 펌프를 사용하여, 이트라코나졸 농축물을 약 2 ml/분의 속도로 서서히 첨가하였다. 약 30 분 후에 첨가가 완료되었다. 호퍼가 얼음 재킷 내에서 냉각된 동안, 생성된 현탁액을 30 분간 더 교반하고, 광학 현미경 검사 및 임의의 동적 광 산란법으로 분석하기 위해 분취량을 분리하였다. 이어서, 나머지 현탁액을 10,000 psi에서 15 분간 균질화시켰다. 균질화가 완료되었을 때, 온도는 74 °C로 상승되었다. 균질화 현탁액을 1 l I형 유리병에 수집하여 고무 마개로 밀폐시켰다. 현탁액을 함유하는 병을 냉장고 (5 °C)에 저장하였다.
- [0212] 균질화 이전의 현탁액 샘플에서는, 상기 샘플이 자유 입자, 입자 클럼프 및 다중막 (multilamellar) 지질체로 구성된 것으로 나타났다. 자유 입자는 브라운 운동으로 인해 육안으로 확실하게 보이지는 않았으나, 응집물의 대부분은 무정형 비결정질 물질로 구성된 것으로 나타났다.
- [0213] 균질화된 샘플은 크기 균질도가 탁월한 1 마이크로 미만의 자유 입자를 함유하였다 (육안으로 볼 수 있는 지질 소낭은 없었음). 동적 광 산란법의 결과, 평균 직경 약 220 nm의 단분산 대수 크기 분포가 나타났다. 상위 99% 누적 크기 컷-오프는 약 500 nm였다. 도 11은 제조된 나노현탁액의 크기 분포와, 전형적인 비경구 지방 에멀션 제품 (파마시아 (Pharmacia)의 10% 인트라리피드 (Intralipid, 등록상표))의 크기 분포의 비교도를 도시한다.
- [0214] 실시예 14: 히드록시에틸전분을 함유하는 1% 이트라코나졸 나노현탁액의 제조
- [0215] 용액 A의 제조: 히드록시에틸전분 (1 g, 아지노모토 (Ajinomoto))을 N-메틸-2-피롤리디논 (NMP) 3 ml에 용해시켰다. 이 용액을 수조에서 1 시간 동안 70 내지 80 °C로 가열하였다. 또다른 용기에는 이트라코나졸 ((와 이코프 (Wyckoff)) 1 g을 첨가하였다. NMP 3 ml를 첨가하고, 혼합물을 70 내지 80 °C로 가열하여 용해시켰다 (약 30 분). 이 고온 용액에 인지질 (리포이드 (Lipoid) S-100)을 첨가하였다. 인지질 전부가 용해될 때까지 30 분간 70 내지 90 °C에서 가열을 계속하였다. 히드록시에틸전분 용액을 이트라코나졸/인지질 용액과 혼합하였다. 이 혼합물을 80 내지 95 °C에서 30 분간 더 가열하여 혼합물을 용해시켰다.
- [0216] 트리스 완충액으로 용액 A 첨가: 50 mM 트리스(히드록시메틸)아미노메탄 완충액 94 ml를 빙조에서 냉각시켰다. 트리스 용액을 급속 교반하면서, 고온 용액 A (상기 참조)를 서서히 적가 (2 cc/분 미만)하였다.
- [0217] 첨가가 완료된 후, 생성된 현탁액을 빙조에서 냉각시키면서 초음파 처리 (콜-파머 (Cole-Parmer) 울트라소닉 프로세서 - 20,000 Hz, 80% 진폭 설정)하였다. 1인치 고상 프로브를 사용하였다. 초음파 처리를 5 분간 계속하였다. 빙조를 제거하고, 프로브를 분리하여 재조정하고, 프로브를 현탁액에 다시 침지시켰다. 현탁액을 빙조 없이 추가 5 분간 다시 초음파 처리하였다. 초음파 처리기 프로브를 다시 꺼내어 재조정 한 다음, 이 프로브를 침지시킨 후, 샘플을 5 분간 더 초음파 처리하였다. 이때, 현탁액의 온도는 82 °C로 상승되었다. 현탁액을 빙조에서 신속하게 재냉각시키고, 이것이 실온 미만으로 나타나면 I형 유리병에 붓고 밀폐시켰다. 입자를 현미경으로 관찰한 결과, 각 입자 크기는 1 마이크로 이하로 나타났다.
- [0218] 실온에서 1 년간 저장한 후, 현탁액을 입자 크기에 대해 재평가한 결과, 평균 직경이 약 300 nm인 것으로 밝혀졌다.
- [0219] 실시예 15: HES를 사용하는 방법 A의 예상 실시예
- [0220] 본 발명에서는 방법 A를 이용하고, NMP 용액 대신 트리스 완충 용액에 HES를 첨가한 것을 제외하고는 실시예 14의 단계들에 따라 히드록시에틸전분을 함유하는 1% 이트라코나졸 나노현탁액을 제조하는 것이 고려된다. HES를 용해시키기 위해 수용액을 가열해야 할 수도 있다.
- [0221] 실시예 16: 동질이상체 혼합물을 보다 안정한 동질이상체로 전환시키기 위한, 균질화 동안의 시딩
- [0222] 샘플 제조. 마이크로침전-균질화 방법에 의해 다음과 같이 이트라코나졸 나노현탁액을 제조하였다. 이트라코

나졸 (3 g) 및 솔루톨 HR (2.25 g)을 N-메틸-2-피롤리디논 (NMP) 36 ml에 용해시키면서 저온 가열 및 교반하여 약물 농축물 용액을 형성하였다. 용액을 실온으로 냉각시키고, 진공 하에 0.2 μ m 나일론 필터에 통과시켜 용해되지 않은 약물 또는 입자성 물질을 제거하였다. 용액을 편광 하에 관찰하여, 여과 후에는 결정질 물질이 존재하지 않음을 확인하였다. 이후, 약물 농축물 용액을 수성 완충 용액 약 264 ml (5 mM 트리스 완충액 중의 글리세롤 22 g/l)에 1.0 ml/분으로 첨가하였다. 수용액을 2 내지 3 $^{\circ}$ C로 유지시키고, 약물 농축물 첨가 동안 약 400 rpm으로 계속 교반하였다. 생성된 현탁액 중 약 100 ml를 원심분리하고, 고형물을 20% NMP의 사전-여과된 수용액에 재현탁시켰다. 이 현탁액을 다시 원심분리하고, 고형물을 진공 오븐으로 옮겨서 25 $^{\circ}$ C에서 밤새 건조시켰다. 생성된 고형물 샘플을 SMP 2 PRE로 표지하였다.

[0223] 샘플 특성 분석. 샘플 SMP 2 PRE 및 원료 이트라코나졸 샘플을 분말 X선 회절 측정에 의해 분석하였다. 상기 측정은 구리 방사선, 구간 크기 0.02 $^{\circ}$ 2 θ 및 스캔 속도 0.25 $^{\circ}$ 2 θ /분을 갖는 리가쿠 미니플렉스+ (Rigaku MiniFlex+) 기기를 이용하여 수행하였다. 생성된 분말 회절 패턴은 도 12에 도시되어 있다. 이 패턴에서는 SMP-2-PRE가 원료와 상당히 상이한 것으로 나타나며, 이는 상이한 동질이상체 또는 유사-동질이상체가 존재함을 암시한다.

[0224] 샘플에 대한 시차 주사 열량법 (DSC) 자취가 도 13a 및 13b에 도시되어 있다. 상기 샘플 둘 다를 밀폐된 (hermetically sealed) 알루미늄 팬에서 2 $^{\circ}$ C/분으로 180 $^{\circ}$ C로 가열하였다.

[0225] 원료 이트라코나졸에 대한 자취 (도 13a)에서는 약 165 $^{\circ}$ C에서 예리한 흡열 피크가 나타난다.

[0226] SMP 2 PRE에 대한 자취 (도 13b)에서는 약 159 $^{\circ}$ C 및 153 $^{\circ}$ C에서 2개의 흡열 피크가 나타난다. 이 결과는 분말 X선 회절 패턴과 함께, SMP 2 PRE는 동질이상체 혼합물로 구성되며, 우세한 형태는 원료에 존재하는 동질이상체보다 덜 안정한 동질이상체임을 암시한다.

[0227] 상기 결론에 대한 추가적인 증거가 도 14의 DSC 자취에 의해 제공되며, 여기서는 도 14는 SMP 2 PRE를 제1 전이를 통해 가열한 후에 냉각 및 재가열시키면, 덜 안정한 동질이상체가 용융되고 재결정화되어 보다 안정한 동질이상체가 형성되는 것으로 나타난다.

[0228] 시딩. 고상 SMP 2 PRE 0.2 g 및 원료 이트라코나졸 0.2 g을 증류수와 합하여 20 ml의 최종 부피 (시딩 샘플)를 제조하였다. 고형물 전부가 습윤화될 때까지 현탁액을 교반하였다. 제2 현탁액을 동일한 방식으로 제조하였으나, 원료 이트라코나졸은 첨가하지 않았다 (미시딩 샘플). 상기 현탁액 둘 다를 30 분간 약 18,000 psi에서 균질화시켰다. 균질화 이후의 현탁액의 최종 온도는 약 30 $^{\circ}$ C였다. 이후, 현탁액을 원심분리하고, 고형물을 30 $^{\circ}$ C에서 약 16 시간 동안 건조시켰다.

[0229] 도 15에서는 시딩 샘플과 미시딩 샘플의 DSC 자취가 도시되어 있다. 상기 샘플 둘 다를 밀폐된 알루미늄 팬에서 2 $^{\circ}$ C/분으로 180 $^{\circ}$ C로 가열하였다. 미시딩 샘플에 대한 자취에서는 2개의 흡열 피크가 나타났으며, 이는 균질화 후에도 동질이상체 혼합물이 존재함을 나타낸다. 시딩 샘플에 대한 자취에서는 시딩 및 균질화가 고형물을 안정한 동질이상체로 전환시키는 것으로 나타난다. 따라서, 시딩은 덜 안정한 동질이상체 형태로부터 보다 안정한 동질이상체 형태로의 전이 역학에 영향을 미치는 것으로 보인다.

[0230] 실시예 17: 안정한 동질이상체를 우선적으로 형성하기 위한 침전 동안의 시딩

[0231] 샘플 제조. 이트라코나졸 1.67 g을 NMP 10 ml에 용해시키면서 교반하고 서서히 가열하여 이트라코나졸-NMP 약물 농축물을 제조하였다. 용액을 0.2 μ m 주사기 필터를 사용하여 2회 여과하였다. 이후, 약 30 $^{\circ}$ C에서 약물 농축물 1.2 ml를 수성 수용 용액 20 ml에 첨가하고, 약 500 rpm으로 교반하여 이트라코나졸 나노현탁액을 제조하였다. 수용 용액으로서 증류수 중의 원료 이트라코나졸 약 0.02 g의 혼합물을 사용하여 시딩된 나노현탁액을 제조하였다. 수용 용액으로서 증류수만을 사용하여 미시딩 나노현탁액을 제조하였다. 상기 현탁액 둘 다를 원심분리하고, 상층액을 경사 분리하고, 고형물을 약 16 시간 동안 30 $^{\circ}$ C의 진공 오븐에서 건조시켰다.

[0232] 샘플 특성 분석. 도 16은 시딩된 현탁액 및 미시딩된 현탁액으로부터의 고형물에 대한 DSC 자취들을 비교한 것이다. 샘플을 밀폐된 알루미늄 팬에서 2 $^{\circ}$ C/분으로 180 $^{\circ}$ C로 가열하였다. 점선은 미시딩 샘플을 나타내고, 여기서는 2개의 흡열 피크가 나타나며, 이는 동질이상체 혼합물이 존재함을 암시한다.

[0233] 실선은 시딩 샘플을 나타내며, 여기서는 원료의 예상 용점 근처에 오직 하나의 흡열 피크가 나타남으로써, 시드 물질이 보다 안정한 동질이상체 1가지만의 형성을 유도하였음을 암시한다.

[0234] 실시예 18: 약물 농축물의 시딩에 의한 동질이상체 제어

[0235] 샘플 제조. 실온 (약 22 $^{\circ}$ C)에서 NMP 중 이트라코나졸의 용해도를 실험적으로 측정하였다 (0.16 g/ml). 이트

라코나졸 2.0 g 및 폴록사머 188 0.2 g을 NMP 10 ml에 용해시키면서 가열 및 교반하여 0.20 g/ml 약물 농축물 용액을 제조하였다. 이후, 이 용액을 실온으로 냉각시켜 과포화 용액을 얻었다. 마이크로침전 실험을 즉시 수행하였다 (여기서, 0.1% 테옥시콜레이트 및 2.2% 글리세롤을 함유하는 수용액 30 ml에 약물 농축물 1.5 ml를 첨가하였음). 상기 첨가 단계 동안 수용액을 약 2 °C에서 350 rpm의 교반 속도로 유지시켰다. 생성된 예비-현탁액을 50 °C에서 약 10 분간 약 13,000 psi로 균질화시켰다. 이후, 현탁액을 원심분리하고, 상층액을 경사 분리하고, 고상 결정을 135 시간 동안 30 °C의 진공 오븐에서 건조시켰다.

[0236] 이어서, 결정화를 유도하기 위해 실온 저장시켜, 과포화 약물 농축물을 숙성시켰다. 12 일 후, 약물 농축물이 불투명해졌는데, 이는 결정이 형성되었음을 나타낸다. 이트라코나졸 현탁액을 첫번째 실험과 동일한 방식으로, 0.1% 테옥시콜레이트 및 2.2% 글리세롤을 함유하는 수용액 30 ml에 약물 농축물 1.5 ml를 첨가함으로써, 약물 농축물로부터 제조하였다. 상기 첨가 단계 동안 수용액을 약 5 °C에서 350 rpm의 교반 속도로 유지시켰다. 생성된 예비-현탁액을 50 °C에서 약 10 분간 약 13,000 psi로 균질화시켰다. 이후, 현탁액을 원심 분리하고, 상층액을 경사 분리하고, 고상 결정을 135 시간 동안 30 °C의 진공 오븐에서 건조시켰다.

[0237] 샘플 특성 분석. X선 분말 회절 분석법을 이용하여, 건조된 결정의 형태를 측정하였다. 생성된 패턴은 도 17에 도시되어 있다. 첫번째 실험 (새로운 약물 농축물을 사용하였음)의 결정은 보다 안정한 동질이상체로 구성된 것으로 측정되었다. 이와 달리, 두번째 실험 (숙성된 약물 농축물을 사용하였음)의 결정은 주로 덜 안정한 동질이상체 및 소량의 보다 안정한 동질이상체로 구성되었다. 따라서, 숙성은 약물 농축물에서 덜 안정한 동질이상체의 결정 형성을 유도하였고, 이 결정은 덜 안정한 동질이상체가 우선적으로 형성되도록 마이크로침전 및 균질화 단계 동안 시드 물질로서 작용한 것으로 생각된다.

[0238] 실시예 19: 파클리탁셀 입자의 제조를 위한 마이크로침전 및 균질화 공정

[0239] **실시예 A:**

[0240] 저온 (10 °C 미만)에서 NMP 중 파클리탁셀의 용액을, 0.5% 폴록사머 188 및 0.05% mPEG-DSPE를 함유하는 계면활성제 용액 (장성 조절제 (tonicity agent)로서 2% 글리세린 함유)에서 침전시켰다. 현탁액의 총 부피는 10 ml였고, 약물 농도는 1% (w/v)였다. 침전 직후, 40 °C의 온도에서 약 25,000 psi로 고압 균질화를 수행하였다. 균질화 (20 분) 후, 광 산란법에 의해 현탁액의 입자 크기를 조사하였다. 평균 입자 크기는 186 nm였다.

[0241] **실시예 B:**

[0242] 저온 (10 °C 미만)에서 NMP 중 파클리탁셀의 용액을, 0.5% w/v 폴록사머 188 및 0.05% w/v mPEG-DSPE를 함유하는 계면활성제 용액 (장성 조절제로서 2% 글리세린 함유)에서 침전시켰다. 현탁액의 총 부피는 20 ml였고, 약물 농도는 1% (w/v)였다. 침전 직후, 40 °C의 온도에서 약 25,000 psi로 고압 균질화를 수행하였다. 균질화 (30 분) 후, 광 산란법에 의해 현탁액의 입자 크기를 조사하였다. 평균 입자 크기는 204 nm였다.

[0243] **실시예 C:**

[0244] 저온 (10 °C 미만)에서 NMP 중 파클리탁셀의 용액을, 0.5% 폴록사머 188 및 0.05% mPEG-DSPE를 함유하는 계면활성제 용액 (장성 조절제로서 2% 글리세린 함유)에서 침전시켰다. 현탁액의 총 부피는 10 ml였고, 약물 농도는 1% (w/v)였다. 침전 직후, 70 °C의 온도에서 약 25,000 psi로 고압 균질화를 수행하였다. 균질화 후, 광 산란법에 의해 현탁액의 입자 크기를 조사하였다. 평균 입자 크기는 158 nm였다. 입자들 중 약 45%는 150 nm 미만이었다.

[0245] **실시예 D:**

[0246] 저온 (10 °C 미만)에서 NMP 중 파클리탁셀의 용액을, 0.05% mPEG-DSPE를 함유하는 계면활성제 용액 (장성 조절제로서 2% 글리세린 함유)에서 침전시켰다. 현탁액의 총 부피는 10 ml였고, 약물 농도는 1% (w/v)였다. 침전 직후, 40 °C의 온도에서 약 25,000 psi로 고압 균질화를 수행하였다. 균질화 후, 광 산란법에 의해 현탁액의 입자 크기를 조사하였다. 평균 입자 크기는 244 nm였다.

[0247] 실시예 20: 파클리탁셀 서브미크론 입자의 용해 특성

[0248] 항종양제의 서브미크론 제형의 바람직한 특성들 중 하나는, 이들이 용해되지 않기 때문에 대상체에게 투여시킨 순환을 촉진시킨다는 점이다. 실시예 19에 기재된 방법에 의해 제조된 파클리탁셀 입자의 제형 2종의 용해도에 대해, 용해의 척도로서 400 nm에서의 투과율 (%)을 이용한 용해 역학으로 시험하였다. 현탁액을 첨가한 후에 투과율 (%)이 100%로 복귀되지 않는 경우, 입자는 가용성이 아니다. 한 제형은 표면 개질제인

폴록사머 188 (P188) 및 mPEG-DSPE를 함유하였다. 다른 제형은 mPEG-DSPE만을 표면개질제로 함유하였다. 도 18에 그 결과가 제시되어 있다. 두 경우 모두에서, 투과율 (%)은 초기에 약 60%로 감소된 후로는 증가되지 않았으며, 이는 입자가 용해되지 않았음을 나타낸다.

[0249] 실시예 21: 스트레스 조건 하에서 및 저장시 파클리탁셀 서브미크론 입자의 안정성

[0250] 가중 스트레스 시험 및 1 개월간 5 °C 저장을 수행하여, 실시예 19의 실시예 A에서 제조된 파클리탁셀 서브미크론 입자의 안정성을 시험하였다. 도 19 및 20에 도시된 바와 같이, 평균 입자 크기 및 제99 백분위수 모두가 실질적으로 불변하였다. 모든 스트레스 시험 이후에도 제형에서는 응집이 관찰되지 않았다. 초음파 처리 1 분 전후의 입자 크기를 측정하고, 하기 수학적식을 통해 그 차이를 비교함으로써 응집률을 추정하였다:

[0251]
$$\text{응집률 (\%)} = \frac{(P_{99} - P_{99S}) \times 100}{P_{99S}}$$

[0252] 식 중, P_{99} 는 초음파 처리 이전 입자의 입자 크기 분포의 제99 백분위수를 나타내고, P_{99S} 는 초음파 처리 이후 입자의 입자 크기 분포의 제99 백분위수를 나타낸다.

[0253] 특정 실시양태를 예시 및 기재하였으나, 본 발명의 취지를 벗어나지 않고서 다양한 변형이 고려되며, 보호받 고자 하는 범위는 첨부된 청구의 범위에 의해서만 제한된다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 본 발명의 한 방법의 모식도를 나타낸다.

[0023] 도 2는 본 발명의 다른 방법의 모식도를 나타낸다.

[0024] 도 3은 균질화 이전의 비결정질 입자를 나타낸다.

[0025] 도 4는 균질화에 의한 어닐링 이후의 입자를 나타낸다.

[0026] 도 5는 균질화 전후에 폴리에틸렌 글리콜-660 12-히드록시스테아레이트에 의해 마이크로침전된 이트라코나졸 (itraconazole)의 X선 회절도이다.

[0027] 도 6은 균질화 이전의 카르바마제핀 (carbamazepine) 결정을 나타낸다.

[0028] 도 7은 균질화 (아베스틴 (Avestin) C-50) 이후의 카르바마제핀 마이크로입자를 나타낸다.

[0029] 도 8은 프레드니솔론 (prednisolone)에 대한 마이크로침전 공정을 도시하는 모식도이다.

[0030] 도 9는 균질화 이전의 프레드니솔론 현탁액의 현미경사진이다.

[0031] 도 10은 균질화 이후의 프레드니솔론 현탁액의 현미경사진이다.

[0032] 도 11은 나노현탁액 (본 발명)과 시판 지방 에멀션의 크기 분포 비교도를 나타낸다.

[0033] 도 12는 원료 이트라코나졸 (상단) 및 SMP-2-PRE (하단)에 대한 X선 분말 회절 패턴을 나타낸다. 명료한 기재를 위해 원료 패턴을 위쪽으로 옮겼다.

[0034] 도 13a는 원료 이트라코나졸에 대한 DSC 자취를 도시한다.

[0035] 도 13b는 SMP-2-PRE에 대한 DSC 자취를 도시한다.

[0036] 도 14는 160 °C로 가열시 덜 안정한 동질이상체가 용융되고, 냉각시 재결정화가 발생하고, 이어서 180 °C로 재가열시 보다 안정한 동질이상체가 용융된 것을 나타내는, SMP-2-PRE에 대한 DSC 자취를 도시한다.

[0037] 도 15는 균질화 이후 SMP-2-PRE 샘플간 비교도를 나타낸다. 실선 = 원료 이트라코나졸이 시딩된 샘플. 점선 = 미시딩 샘플. 명료한 기재를 위해 실선을 1 W/g 만큼 옮겼다.

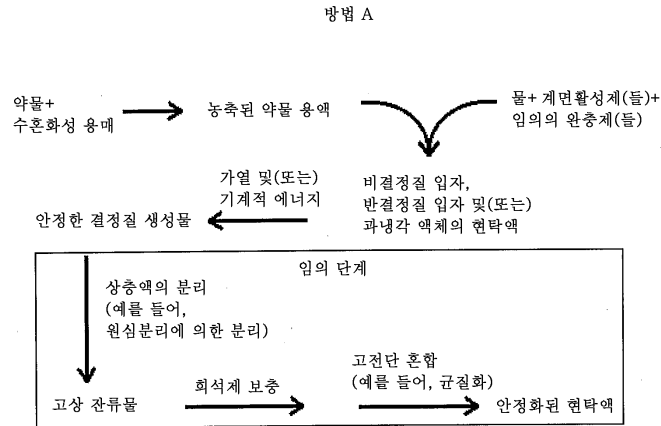
[0038] 도 16은 침전 동안 시딩의 효과를 도시한다. 점선 = 미시딩 샘플. 실선 = 원료 이트라코나졸이 시딩된 샘플. 명료한 기재를 위해 미시딩 자취 (점선)를 위쪽으로 1.5 W/g 만큼 옮겼다.

[0039] 도 17은 숙성을 통한 약물 농축물 시딩의 효과를 도시한다. 상단의 X선 회절 패턴은 새로운 약물 농축물로부터 제조된 결정에 대한 것이며, 안정한 동질이상체와 일치한다 (도 12의 상단 참조). 하단의 패턴은 숙성 (시딩)된 약물 농축물로부터 제조된 결정에 대한 것이며, 준안정한 동질이상체와 일치한다 (도 12의 하단 참조). 명료한 기재를 위해 상단의 패턴을 위쪽으로 옮겼다.

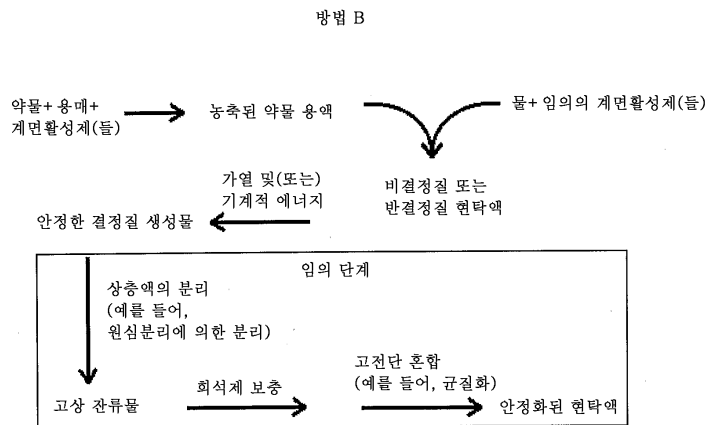
- [0040] 도 18은 파클리탁셀의 서브미크론 입자 제형 2종의 용해도를 나타낸다.
- [0041] 도 19는 다양한 스트레스 조건이 파클리탁셀의 서브미크론 입자의 입자 크기에 미치는 영향을 나타낸다.
- [0042] 도 20은 저장이 파클리탁셀의 서브미크론 입자의 입자 크기에 미치는 영향을 나타낸다.

도면

도면1

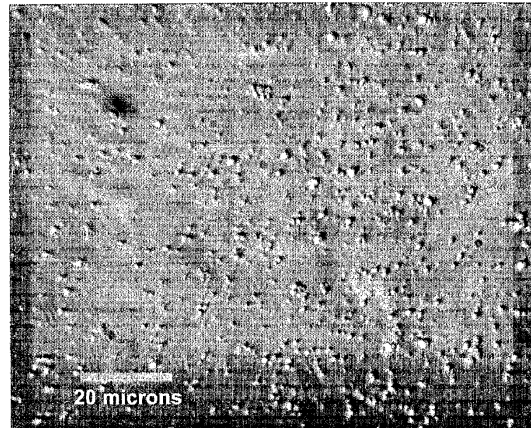


도면2



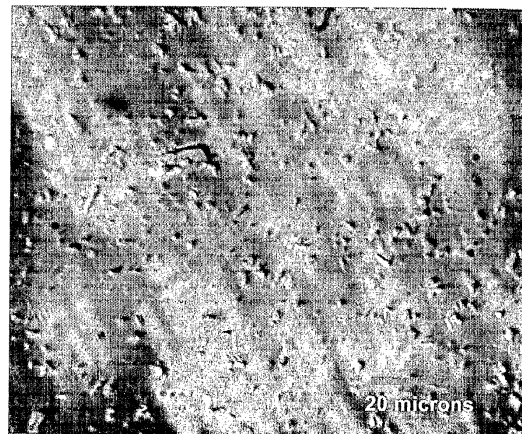
도면3

균질화 이전의 비결정질 입자 (실시예 1)



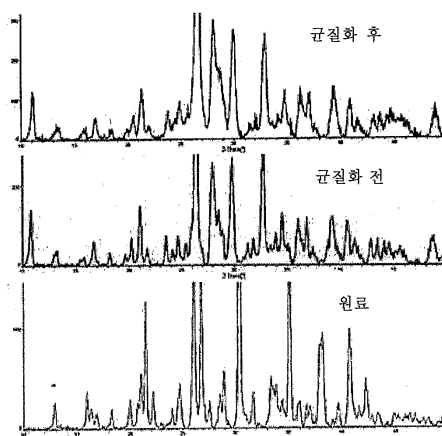
도면4

균질화에 의한 어닐링 이후의 입자



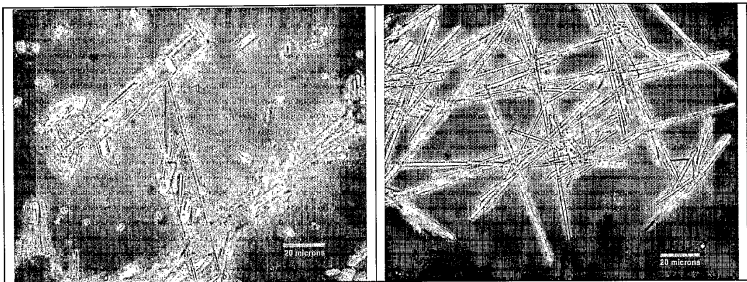
도면5

균질화 전후에 폴리에틸렌 글리콜-660 12-히드록시스테아레이트에 의해 마이크로침전된 이트라코나졸의 X선 회절도 (실시예 5)



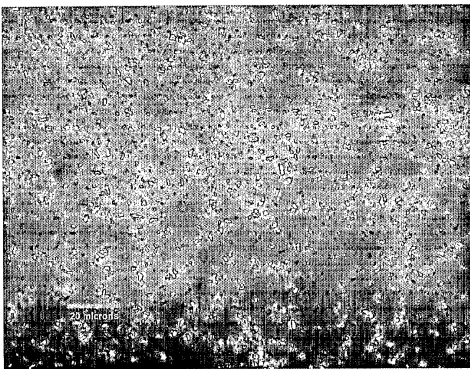
도면6

균질화 이전의 카르바마제핀 결정 (실시예 6)



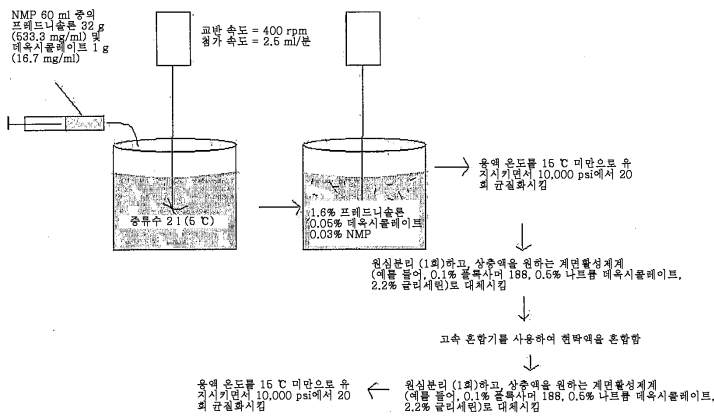
도면7

균질화 (아베스틴 C-50) 이후의 카르바제핀 마이크로입자



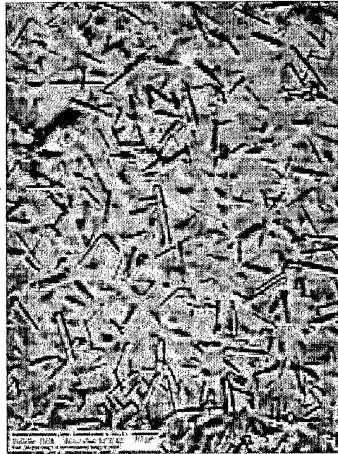
도면8

프레드니솔론에 대한 마이크로침전 공정의 모식도 (실시예 9-12)



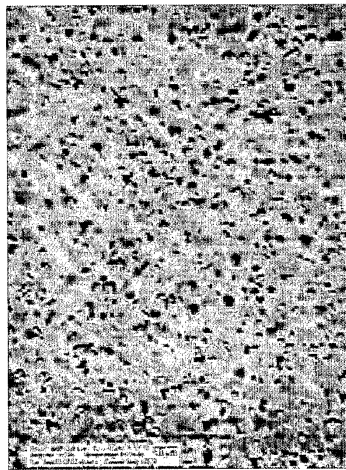
도면9

균질화 이전의 프레드니솔론 현탁액의 현미경사진
(호프만 모듈레이션 콘트라스트, 1250X 배율)



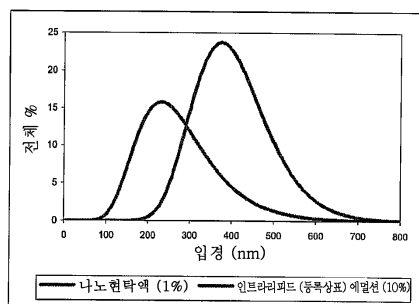
도면10

균질화 이후의 프레드니솔론 현탁액의 현미경사진
(호프만 모듈레이션 콘트라스트, 1250X 배율)



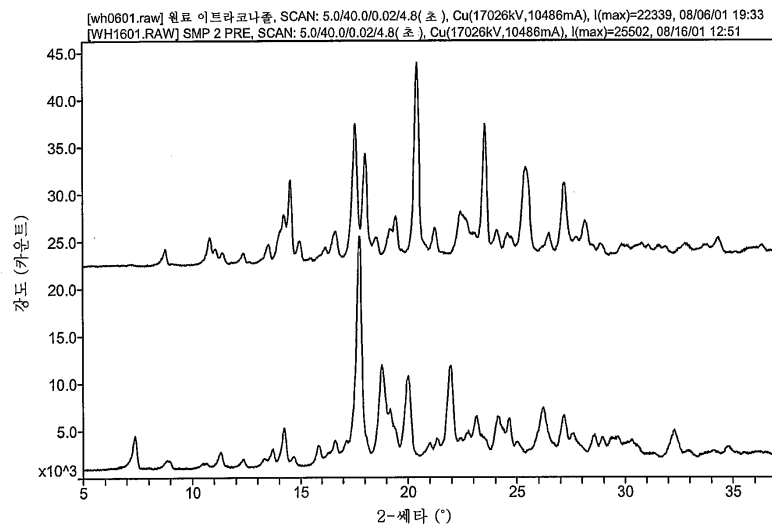
도면11

나노현탁액 (본 발명)과 시판 지방 에멀션의 크기 분포 비교도 (실시예 13)



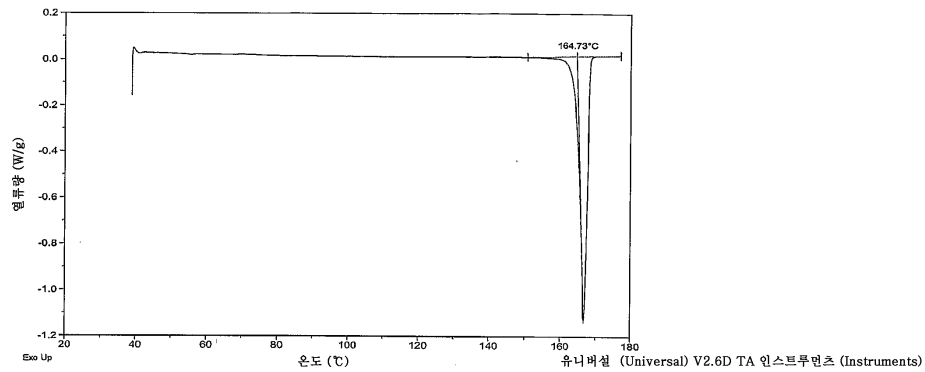
도면12

원료 이트라코나졸 (상단) 및 SMP-2-PRE (하단)에 대한 X선 분말 회절 패턴
('명료한 기재를 위해 원료 패턴을 위쪽으로 옮겼음') (실시예 16)



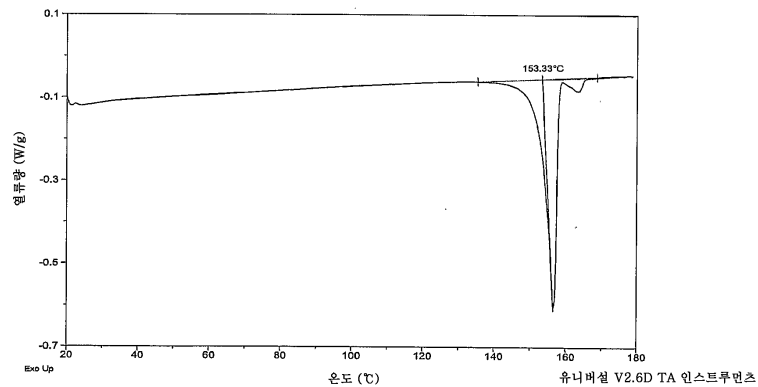
도면13a

원료 이트라코나졸에 대한 DSC 자취 (실시예 16)



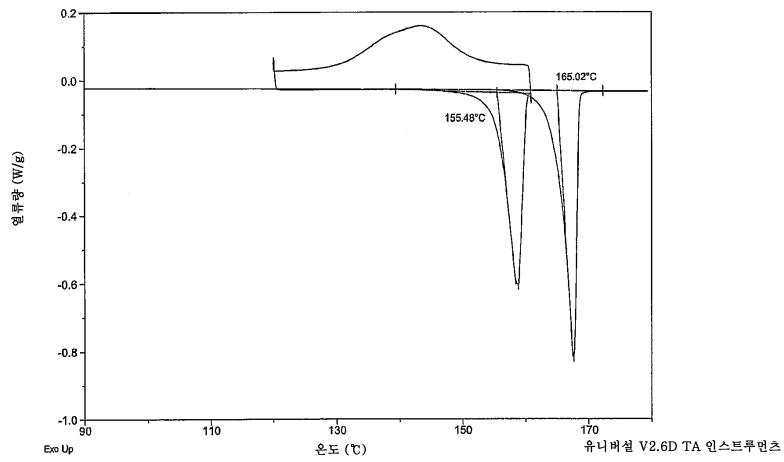
도면13b

SMP-2-PRE에 대한 DSC 자취 (실시예 16)



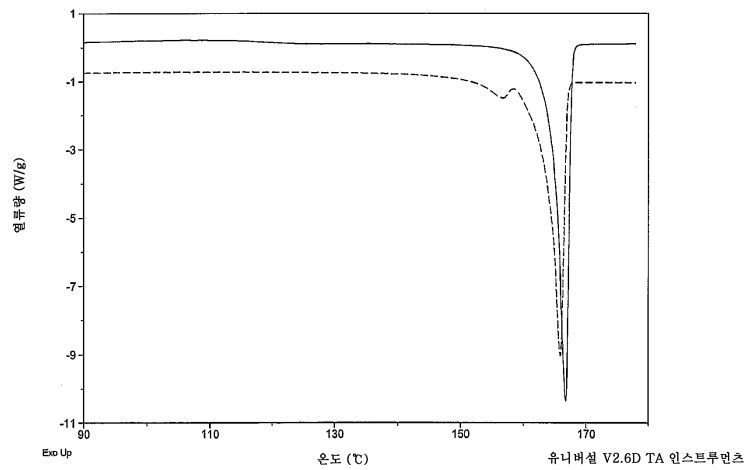
도면14

160 ℃로 가열시 덜 안정한 동질이상체가 용융되고, 냉각시 재결정화가 발생하고, 이어서 180 ℃로 재가열시 보다 안정한 동질이상체가 용융된 것을 나타내는, SMP-2-PRE에 대한 DSC 자취 (실시에 16)



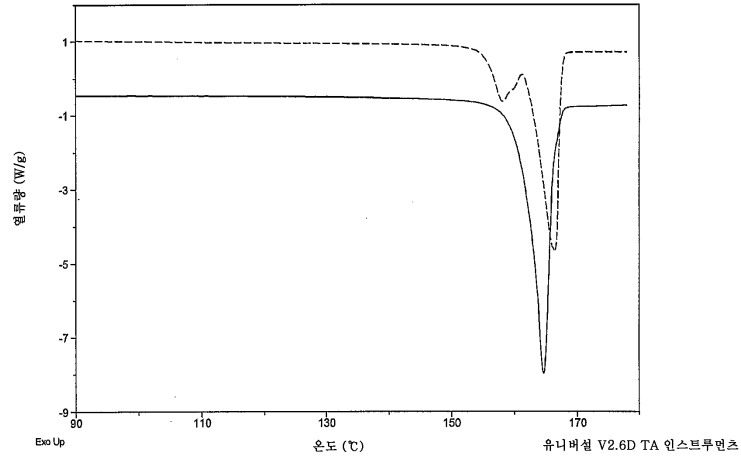
도면15

균질화 이후 SMP-2-PRE 샘플간 비교도 (실선 = 원료 이트라코나졸이 시딩된 샘플, 점선 = 미시딩 샘플. 명료한 기제를 위해 실선을 1 W/g 만큼 옮겼음) (실시에 16)



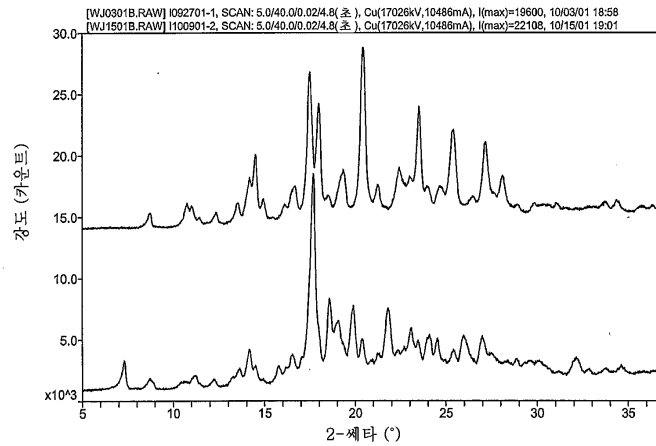
도면16

침전 동안 시딩의 효과 (점선 = 미시딩 샘플, 실선 = 원료 이트라코나졸이 시딩된 샘플. 명료한 기제를 위해 미시딩 자취 (점선)를 위쪽으로 1.5 W/g 만큼 옮겼음) (실시에 17)



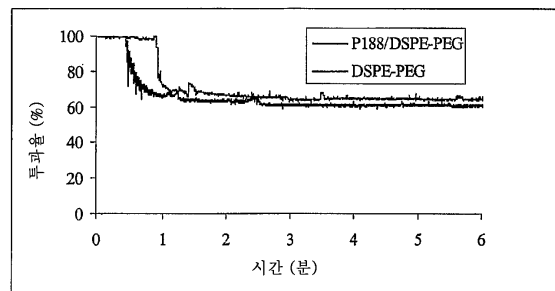
도면17

숙성을 통한 약물 농축물 시딩의 효과 (상단의 X선 회절 패턴은 새로운 약물 농축물로부터 제조된 결정에 대한 것이며, 안정한 동질이상체와 일치함 (도 12의 상단 참조). 하단의 패턴은 숙성 (시딩)된 약물 농축물로부터 제조된 결정에 대한 것이며, 준안정한 동질이상체와 일치함 (도 12의 하단 참조). 명료한 기제를 위해 상단의 패턴을 위쪽으로 옮겼음) (실시에 18)



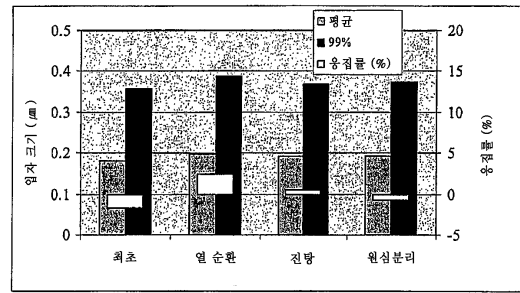
도면18

서브미크론 파클리탁셀의 제형 2종의 용해도



도면19

다양한 스트레스 조건이 파클리탁셀의 서브미크론 입자의 입자 크기에 미치는 영향



도면20

저장이 파클리탁셀의 서브미크론 입자의 입자 크기에 미치는 영향

