

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-532655

(P2014-532655A)

(43) 公表日 平成26年12月8日 (2014. 12. 8)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 9/10 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 9/10	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 47/32 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 47/32	
<b>A 6 1 K 47/38 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 47/38	
<b>A 6 1 K 47/34 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 47/34	
<b>A 6 1 K 47/20 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 47/20	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2014-539026 (P2014-539026)  
 (86) (22) 出願日 平成24年10月26日 (2012. 10. 26)  
 (85) 翻訳文提出日 平成26年6月19日 (2014. 6. 19)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/062026  
 (87) 国際公開番号 W02013/066735  
 (87) 国際公開日 平成25年5月10日 (2013. 5. 10)  
 (31) 優先権主張番号 61/553, 508  
 (32) 優先日 平成23年10月31日 (2011. 10. 31)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 596129215  
 メルク・シャープ・アンド・ドーム・コー  
 ポレーション  
 Merck Sharp & Dohme  
 Corp.  
 アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・オ  
 7065-0907 ローウェイ、イース  
 ト・リンカーン・アベニュー・126  
 126 East Lincoln Av  
 enue, Rahway, New Jer  
 sey 07065-0907 U. S.  
 A.  
 (74) 代理人 100114188  
 弁理士 小野 誠

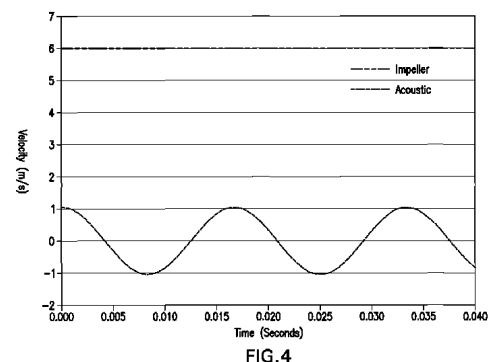
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ナノ懸濁過程

## (57) 【要約】

本明細書中には、少なくとも1つの活性医薬化合物と、水性分散媒と、粉碎媒体と、の混合物を提供することと、約1ミクロン未満、好ましくは約500nm未満の $D_{50}$ を有するナノ懸濁液を与えるのに十分な時間にわたり約10Gから約100Gの直線加速度を与える(ここで「G」は重力である。)、約10ヘルツから1000ヘルツの周波数を有する音響エネルギーをそれに適用することと、を含む、ナノ懸濁液を調製するための過程が記載される。本発明の過程を介して調製される新規性状を有するナノ懸濁液も記載されている。

【選択図】 図4



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

( i ) 活性医薬化合物と、( i i ) 界面活性ポリマーを含み、安定化剤として界面活性剤を含んでいてもよい水性分散媒と、( i i i ) 粉碎媒体と、を含む混合物に低周波音響エネルギーを適用することを含み、前記活性医薬化合物がナノ粒子領域の所望の平均径に粉碎されるまで前記音響エネルギーが適用される、ナノ懸濁液を調製する方法。

## 【請求項 2】

前記低周波音響エネルギーが 10 ヘルツから 100 ヘルツの周波数である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記音響エネルギーが定在波として適用される、請求項 1 または請求項 2 の何れかに記載の方法。

## 【請求項 4】

前記音響エネルギーが、約 10 G から約 100 G の力を付与する、請求項 1 から請求項 3 の何れかに記載の方法。

## 【請求項 5】

音響エネルギーが 60 ヘルツの周波数で適用される、請求項 1 から請求項 4 の何れかに記載の方法。

## 【請求項 6】

請求項 1 から請求項 5 の何れかに従い調製される、ナノ懸濁液。

## 【請求項 7】

前記ナノ粒子が 75 から 99 w t . % を超える活性医薬化合物を含む、請求項 6 に記載のナノ懸濁液。

## 【請求項 8】

複数のナノ懸濁液試料を同時に調製するための過程であって、( a ) ( i ) 活性医薬化合物と、( i i ) 水性分散媒と、( i i i ) 粉碎媒体と、を含む混合物を、多チャンバー型装置中の各チャンバーにおいて調製することと；( b ) 前記薬物粒子がナノ粒子領域の所望の平均径を獲得するまで前記多チャンバー型装置に音響エネルギーを適用することと、を含む、方法。

## 【請求項 9】

前記低周波音響エネルギーが 10 ヘルツから 100 ヘルツの周波数である、請求項 8 に記載の過程。

## 【請求項 10】

前記音響エネルギーが定在波として適用される、請求項 8 または請求項 9 の何れかに記載の過程。

## 【請求項 11】

前記音響エネルギーが、約 10 G から約 100 G の力を付与する、請求項 8 から請求項 10 の何れかに記載の過程。

## 【請求項 12】

音響エネルギーが 60 ヘルツの周波数で適用される、請求項 8 から請求項 11 の何れかに記載の過程。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

ナノ懸濁液は、BCS クラス I I およびクラス I V ( 非水溶性 ) 製剤原料である活性医薬化合物を含む経口および注射用薬剤に対して、このような化合物の優先される形態として現れつつある。薬剤に対するこのアプローチの可能性を強調する総説としては、B a l a , I . ら、P L G A N a n o p a r t i c l e s i n D r u g D e l i v e r y : S t a t e o f t h e A r t , T h e r a p e u t i c D r u g C a r r i e r S y s t e m s , 2 0 0 4 , V o l 2 1 , i s s u e 5 ; R a b i n o w ,

10

20

30

40

50

B. E. , Nanosuspensions in Drug Delivery , Nature Reviews , Drug Discovery , Vol 3 ( 2004 ) pp 785 - 796 ; Patravale , V. B. ら、Nanosuspensions : a promising drug delivery strategy , Journal of Pharmacy and Pharmacology , ( 2004 ) 56 : pp 827 - 840 ; および Koteswara , K. B. ら、Nanosuspensions : a Novel Drug Delivery Approach , Int. Journal . Of Res . In Ayurveda & Pharmacy ( 2011 ) , 2 ( 1 ) pp 162 - 165 による論文における評論的総説が挙げられる。経口投与用の薬剤において利用される場合、クラスIIおよびクラスIVの製剤原料のナノ懸濁液は、非常に小さな粒径が、それが投与される生体系に化合物の極めて大きい表面積を提示する形態でこれらの化合物を提供し、溶解および吸収に対する障壁を減らすことによって、低溶解性および低バイオアベイラビリティという2つの問題に対処する剤形を提供し得る。注射を介した投与のための薬剤において利用される場合、ナノ懸濁液は、高薬物負荷量を含有し、それが注射される系内で容易に分散される剤形を提供し得る。

10

20

30

40

50

#### 【0002】

通常、活性医薬化合物のナノ懸濁液は、化合物、水性分散媒および粉碎媒体の混合物への、極めて高いせん断条件の適用により調製される（本明細書中で「高せん断粉碎」）。殆どの高せん断粉碎適用において、粉碎媒体は、それが供されるせん断力によって推進される小型のポリエステル製の小球であり、微視的なボールミルのように作用して、混合物中に存在する医薬化合物に衝撃を与える（通常、活性医薬化合物（APC）は、スラリー中で、最初に粉末として巨視的微粒子の形態で存在し、1ミクロン超の $D_{50}$ を有する）。このようなナノ懸濁液を調製する際に用いられる典型的な装備は、ステンレス鋼製の羽が活性医薬化合物、水性分散媒および粉碎媒体の混合物を保持するチャンバー中で数千RPMで回転する、高せん断ミキサーである。この過程で利用される市販の装備の例はElan Nanomill（登録商標）である。

#### 【0003】

高せん断混合過程を用いたナノ懸濁液に対して提示される難点、例えば、ナノ懸濁液を調製する際に使用される装備において与えられる高せん断ストレスの結果としての金属粒子の脱落、ナノ懸濁液を調製する混合物の加熱とその結果の薬物製品の分解、薬物負荷量の制限が報告されており、ナノ懸濁液を調製するために必要とされる長時間混合は、薬剤の工業的調製での使用のための工業レベル量のAPCのナノ懸濁液を提供するためにこのような過程を用いることに対して不利に働く。これらの欠点に加えて、高せん断粉碎装備および過程をナノ懸濁液の「ベンチスケール」の調製から工業スケールに拡大するには、大規模な工学および過程開発が必要である。高せん断過程の必要条件により混合および再循環チャンバーが必要であることから、無菌製造にこのような過程を適応させることは並外れて困難である。工業スケールの薬剤製造のための活性医薬成分としてのナノ懸濁液の開発において様々な処方物を比較することが可能であるかについても、処方物のスクリーニングスループットが装備により制限されるなどの問題点および、異なる処方物を用いた複数回の試験にわたり一貫した条件を維持することにおける問題点がある。

#### 【0004】

前述のことを考慮して、ナノ懸濁液を調製する過程を改善する必要性がある。

#### 【0005】

音響式ミキサー（acoustic mixer）、例えばResodyn（商標）音響式ミキサーが市販されている。この技術は、例えば、Howeらに対する米国特許第7,188,993号明細書に記載されており、機器に装着される容器内に存在する媒体、例えば、気体、液体または固体に定在線形音波を導入するために直線変位を用いる。エネルギー的またはショック感受性材料を含む混合物の調製は、音響式混合を使用して、例えば米国特許公開出願第2010/0294113号明細書（McPherson）において記載されている。予め生成されたナノ微粒子材料の水性媒体中での懸濁も記載されてお

り、例えば音響式ミキサーを用いた水中での20 nmから30 nmの銀ナノ粒子の分散である(Resodyn(商標)マーケティング資料)。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】米国特許第7,188,993号明細書

【特許文献2】米国特許出願第2010/0294113号明細書

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Bala, I.ら、PLGA Nanoparticles in Drug Delivery: State of the Art, Therapeutic Drug Carrier Systems, 2004, Vol 21, issue 5 10

【非特許文献2】Rabinow, B. E., Nanosuspensions in Drug Delivery, Nature Reviews, Drug Discovery, Vol 3 (2004) pp 785 - 796

【非特許文献3】Patravale, V. B.ら、Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy, Journal of Pharmacy and Pharmacology, (2004) 56 : pp 827 - 840 20

【非特許文献4】Koteswara, K. B.ら、Nanosuspensions: a Novel Drug Delivery Approach, Int. Journal. Of Res. In Ayurveda & Pharmacy (2011), 2 (1) pp 162 - 165

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明の過程は、ナノ懸濁液の調製のための高せん断過程において存在する上述の満たされていない要求に対処し、次のことから明らかとなる他の長所を提供する。従って、ある態様において、本発明は、(i)少なくとも1つの活性医薬化合物と、水性分散媒と、粉砕媒体と、の混合物を提供することと；(ii)約1ミクロン未満の粒子 $D_{50}$ 、好ましくは約500 nm未満の粒子 $D_{50}$ を有するナノ懸濁液を生成させるのに十分な時間にわたり、好ましくは約10 Gから約100 Gの直線加速度を与える定在波(式中、「G」は重力である。)である、約10ヘルツから1000ヘルツの周波数を有する音響エネルギーを前記混合物に適用することと、を含む、活性医薬化合物からナノ懸濁液を調製するための過程である。 30

【0009】

通常、このようにして提供されるナノ懸濁液は、好ましくは傾斜法を行うことによるかまたはナノ懸濁液から粉砕媒体を分離するのに適切なサイズを有するふるい上で遠心することによって、粉砕媒体から分離される。このようにしてナノ懸濁液が回収されたら、固体の状態で活性医薬化合物のナノ粒子を得るために、例えば、凍結乾燥によって、水性分散媒を除去してもよい。 40

【0010】

ある態様において、本発明は、本発明の過程に従い作製されるナノ懸濁液であり、好ましくは、少なくとも1つのBCSクラスIIまたはクラスIVの活性医薬化合物を含むナノ懸濁液である。いくつかの実施形態において、約95 wt. % APC 負荷量を超える活性医薬化合物(APC)のナノ粒子を含むナノ懸濁液を提供することが好ましい。

【0011】

次の発明を実施するための形態および添付の図面において、本発明をより詳細に記載する。 50

## 【図面の簡単な説明】

## 【0012】

【図1】高せん断機械式粉碎装置を使用して60分間の粉碎時間で調製された、試験薬物「B」およびPVPK29-32を含むナノ懸濁液の顕微鏡写真を提示する。

【図2】粉碎装置として音響式ミキサーを使用して90分間の粉碎時間で調製された試験薬物「B」およびPVPK29-32を含むナノ懸濁液の顕微鏡写真を提示する。

【図3】(i)ソースとされる、実施例において使用された活性医薬化合物としての、「試験APC B」(下部のトレース)；(ii)本発明の過程により調製されたナノ懸濁液中に存在する「試験APC B」化合物(中央のトレース)；および(iii)高せん断粉碎条件を用いて調製されたナノ懸濁液中に存在する「試験APC B」(上部のトレース)を比較する、高速液体クロマトグラフィー分析を示す積み重ねクロマトグラムを提示する。

【図4】音響により推進される粉碎系および従来の攪拌粉碎系内で観察されるせん断の図式的な比較を提示する。

【図5A】羽からの距離の関数としての羽により推進される粉碎系内のせん断力を示す様々な断面図を提示する。

【図5B】羽からの距離の関数としての羽により推進される粉碎系内のせん断力を示す様々な断面図を提示する。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0013】

本発明の過程は、水性分散媒中に分散されたAPCのナノ粒子懸濁液(ナノ懸濁液)を提供するために、スラリー-容器中で、水性分散媒と、少なくとも1つの活性医薬化合物と、粉碎媒体と、を混合することと、十分に持続的な時間にわたり、この混合物を十分な周波数および振幅の音響エネルギーに供することと、を含む。本発明のナノ懸濁液中で、ナノ懸濁液が所望の粒径に粉碎された後、ナノ懸濁液を粉碎媒体から分離する。当然のことながら、ナノ懸濁液の回収(粉碎媒体からの分離)は何らかの公知の物理的分離方法によって遂行され得、例えば、媒体が許す場合、例えば、本明細書中で提示される本発明の実施例の場合のように、傾斜法によって分離が遂行され得、YTZ粉碎媒体を用いて調製されたナノ懸濁液は、粉碎媒体が20ゲージ針およびシリンジを用いた分離を可能とするのに十分な密度およびサイズであるので、20ゲージ針およびシリンジを用いて回収され得る。傾斜法が可能でない場合、例えば粉碎媒体がポリエステル小球である場合、例えば、適正なサイズのふるいを通じて遠心することによって、サイズ排除分離を用い得る。

## 【0014】

本明細書中でその用語が使用される場合、音響エネルギーは、10ヘルツから20,000ヘルツの周波数領域内にある有形媒体を通じた直線または球面エネルギー伝搬である。本発明の過程のいくつかの実施形態において、約10ヘルツから約100ヘルツの周波数である直線音響エネルギーを用いることが好ましく、より好ましくは約60ヘルツの周波数で音響エネルギーが供給される。当然のことながら、本発明の過程において、公知の原理に従い、ナノ懸濁液が提供されているスラリー中で定在波を提供するための的確な周波数が選択されよう。定在波を達成するために必要とされる周波数は、音響エネルギーが適用されるスラリーの性質およびスラリーの大きさに依存して、公知の原理に従い変動する。

## 【0015】

何らかの公知の起源を使用して、音響エネルギーが混合物に供給され得るが、一般的には、混合物を満たした容器の周期的な直線変位によってエネルギーを供給することが好ましい。本発明の過程において、好ましくは、直線変位により供給される音響エネルギーは、約10倍のG加速度(ここで「G」は重力である。)から約100倍のG加速度の間を示す。所望の周波数領域内の所望のG加速度を生成させるために必要とされる周期的な直線変位を供給するために、多数の機械式または電子変換器配置が利用され得ることは当然ではあるものの、必要な音響エネルギーを供給するのに適した市販の装備の一例は、Re

10

20

30

40

50

s o d y n ( 商 標 ) 音 響 式 ミ キ サ ー ( R e s o d y n A c o u s t i c M i x e r s , I n c . ) で あり、これにより、装備が、ベンチスケールから数 k g の限度容量の限度容量範囲で利用可能となる。

#### 【 0 0 1 6 】

上述のように、予め生成させたナノ微粒子材料および水性分散媒を混合することによって懸濁液を効率的に提供するために、音響式ミキサー、例えば R e s o d y n ( 商 標 ) 音響式ミキサーなどを使用し得ることが既に知られていたが、バルク粉末固体材料（すなわち、本明細書中で  $D_{50} > 1$  ミクロンであるとして定められるマクロ微粒子材料）からナノ粒子を調製するために、音響式混合が以前に使用されたことはない。驚くべきことに、発明者らは、マクロ微粒子固体材料からナノ懸濁液を調製するのに音響エネルギーを使用することによって、高せん断混合を使用して調製されるナノ懸濁液では得られない、特有の安定性および特有の性状を有するナノ懸濁液生成物が提供されることを見出した。本発明の過程に従い調製されるナノ懸濁液によって提供されるこのような性状の例としては、( i ) 活性医薬化合物のより高い負荷量を示すナノ懸濁液；( i i ) 凝集量が少ないナノ懸濁液；および( i i i ) ナノ懸濁液を調製した混合物中で使用された A P C からの分解生成物の量が少ないナノ懸濁液が挙げられる。

#### 【 0 0 1 7 】

理論により縛られることを望むものではないが、本発明の過程に従いナノ懸濁液を調製する際に使用される混合物に音響エネルギーの定在波を供給することにより、混合物全体で供給されるエネルギーの均一分布がもたらされ、混合物のせん断発熱において供給されるエネルギーを消費する割合がより小さくなると考えられる。これは、ナノ粒子生成がより効率的に起こり、従って、より短時間で特定の  $D_{50}$  の粒子が提供されるという目に見える長所を有する。さらに、および繰り返すが、理論に縛られるものではないが、音響粉碎は、ナノ粒子生成中、せん断および並進力に向けるエネルギーがより小さいので、粉碎過程中、混合物が受ける発熱はより少なく、粒子を粉碎するためにせん断力を利用する過程において共通する金属粒子脱落が減少するか、または音響エネルギーが用いられる場合は排除されると考えられる。繰り返すが、理論により縛られることを望むものではないが、ナノ粒子生成中の混合物内のエネルギーの均一分布の結果、粉碎されているときにスラリー中に存在するマクロ微粒子 A P C 固形物に付与されているエネルギーがより低くなり、その結果、生成されるナノ粒子において消散させることを必要とする表面エネルギーが小さくなり、それにより、ナノ懸濁液がより安定となり、( 医薬化合物 ) / ( 懸濁媒体 ) の比率をより高くできるようになり、用いられる界面活性構成成分と比較して、単位体積あたりの活性医薬化合物の負荷量がより高いナノ懸濁液が得られる。

#### 【 0 0 1 8 】

この系は、従来からの高せん断粉碎および本発明のナノ懸濁液を調製する際に使用される音響粉碎に関与する力を試し、さらに説明し、比較するためにモデル化したものである。従来からの羽により攪拌されるミルおよび音響式ミル内でのせん断応力の大きさおよび分布は、各系においてエネルギーが流体に付与される様式の相違により異なる。せん断応力 ( ) は、下記で示されるように、流体の粘度 (  $\mu$  ) にせん断速度 ( ) を乗じるというように ( ここで、せん断速度は流動場内の速度勾配 (  $\dot{\gamma}$  ) と等しい。 ) 計算することができる。

#### 【 0 0 1 9 】

$$\text{せん断応力} = \tau = \mu \cdot \dot{\gamma}$$

音響系内での流体および粒子の運動は破碎チャンバー全体の運動により推進されるので、速度勾配 ( および従ってせん断応力の分布 ) は、高い速度勾配が存在する羽付きの系と比較した場合、より均一であると予想される。応力の均一分布によって、粉碎中にエネルギーの使用がより効率的となる。羽推進型の系の場合、粒子粉碎を進行させるためにエネルギーが確実に中央に位置する羽から破碎体積を通じて伝搬されるようにするために、より高いせん断状態が必要とされる。理論により縛られることを望むものではないが、このようにエネルギーの使用があまり効率的ではない場合、粒子および破碎媒体が非常に非均

10

20

30

40

50

一的な応力に曝され、例えば A P I 分解および金属脱落といった望ましくない結果が導かれると考えられる。

【 0 0 2 0 】

粉碎作業にエネルギーを付与するために羽が用いられる場合、羽によりスラリーに付与される応力は、均一性がより低いだけではなく、局所的な速度勾配がより高いがゆえに、音響エネルギーにより粉碎が推進される場合、混合物内で認められるものよりも高い領域を有すると考えられる。流体運動が、エネルギーを付与する羽により推進される場合、羽と直接接触がある流体成分の速度が羽の付近の領域で最大となり、動きがない破砕チャンバーの外壁では速度が急速に 0 に低下する。流体運動が音響エネルギーにより推進される系においては、破砕チャンバーの全体積要素を通じて運動が実質的に均一に付与され、破砕チャンバー中の材料内の速度勾配がより小さくなる。従って、チャンバー中の材料全体で応力をより均一に分布させると考えられる流体全体にわたり、エネルギーがより均一に付与され、付与されるせん断応力の全体的な大きさがより小さくなる。

10

【 0 0 2 1 】

破砕過程を推進する羽の最高速度は、下記の方程式で示されるように計算することができる羽の先端速度によって定められ得る：

【 数 1 】

$$\text{先端速度} = v_{ip} = 2\pi\omega r,$$

【 0 0 2 2 】

20

( 式中、 および  $r$  は、それぞれ角速度および羽の半径である。 )。粉碎中に適用される典型的な操作条件で (  $\sim 4280 \text{ rpm}$  で回転する  $14.5 \text{ mm}$  半径羽 )、先端速度はおおよそ  $6.5 \text{ m/s}$  であり、処理を通じて一定である。

【 0 0 2 3 】

音響エネルギーにより推進される粉碎操作の場合、破砕チャンバーの運動は垂直方向 (  $z$  ) に限定され、下記の一連の方程式により説明され得る。

【 数 2 】

$$\begin{aligned}\text{位置} &= z = a \sin(\omega t) \\ \text{速度} &= \frac{dz}{dt} = a\omega \cos(\omega t) \\ \text{加速度} &= \frac{d^2z}{dt^2} = -a\omega^2 \sin(\omega t)\end{aligned}$$

30

【 0 0 2 4 】

( 式中、  $a$  および  $\omega$  は、それぞれ振動の振幅および周波数 (  $\sim 3 \text{ mm}$  および  $\sim 60 \text{ Hz}$  ) である。 )。

【 0 0 2 5 】

40

重力の加速度の 40 から 50 倍の典型的な操作条件に対して、チャンバーの最高速度はおおよそ  $1 \text{ m/s}$  である。速度は、上記の方程式に従い、時間の関数として変動し、典型的な羽攪拌系のスピードよりも少なくとも 6.5 倍低い。2 種類の粉碎方法間の速度のこの相違は、羽推進粉碎操作においておよび音響エネルギー推進粉碎操作において観察される最大速度が比較のためにプロットされている図 4 で図式的に提示される。この相違は、各系に対して観察される粉碎性能の相違を導くと考えられる。

【 0 0 2 6 】

図 5 は、ANSYS Fluent ソフトウェアを用いて計算流体力学 ( CFD ) シミュレーションを行うことによって羽攪拌系に対して生成された、定常状態 ( 時間非依存性 ) 速度プロファイルを提示する。この系は、実際のミルと同様の幾何学的寸法を有する動

50

かないより大きなシリンダー中で回転するより小さいシリンダーとしてモデル化された。系の流動体は水を使用した。これらの結果を図5 aで提示するが、これは、ミルおよび容器の上面を通る縦断面内の速度勾配を例示しており、一方で図5 bは、容器の上面での速度プロファイルの拡大図を示す。これらの図面の中央の空白領域は回転する羽に相当し、一方で流体の領域は速度の大きさに応じて陰影を付け、濃い灰色は最大値（最大～6.5 m/s）であり、淡い灰色から白は最低値となる。

【0027】

図5で図式的に示されるこれらのデータは、羽により推進される粉碎系内に比較的高い速度勾配が存在する（濃い灰色の非常に小さい部分が、より淡い灰色の陰影のある領域に囲まれている。）ことを示す。この系内の速度は、羽付近の中央部での高速領域から、チャンパーの外壁に向かって動きながら急激に低下する。この大きな速度勾配によって、比較的高いせん断応力および上述の付随する問題が生じる。

10

【0028】

本明細書中でその用語が使用される場合、ナノ懸濁液は、水性分散媒中でコロイド状分散物として存在する活性医薬化合物（APC、すなわち製剤原料）のサブミクロンの粒子（すなわち $D_{50}$ の測定値が<1ミクロンとなる粒子）を含む。一般に、本発明のナノ懸濁液中に存在するAPCは、低水溶性（例えば、BCS（Biopharmaceutical Classification System）クラスIIまたはクラスIV製剤原料）の活性医薬化合物を含み、好ましくはBCSクラスIV製剤原料である。「マクロ微粒子」材料という用語は、本明細書中で、一般に $D_{50}$ 値が1ミクロンを大幅に超える、通常の粉碎または沈殿技術、例えばバルク固形活性医薬化合物を提供するために典型的に使用されるものにより提供される粉末化材料と、本発明の過程により提供されるナノ微粒子材料とを区別するために使用される。

20

【0029】

一般に、本発明のナノ懸濁液において用いられる水性分散媒は、主に水（wt.%に基づく。）および1以上の水混和性の界面活性構成成分を含む。本発明のナノ懸濁液において、好ましくは界面活性構成成分は、本明細書中で詳述される水混和性のポリマーであり、界面活性剤も含んでいてもよい。本発明のナノ懸濁液を調製するために使用される水性分散媒中で界面活性剤が用いられる場合、好ましくは、界面活性剤はイオン性界面活性剤であり、本明細書中で詳述される。

30

【0030】

当然のことながら、ナノ懸濁液の2つの重要な評価基準は、(i)ナノ懸濁液を調製するスラリー中で用いられ得る、薬物と水性分散媒との比率；および(ii)形成されるナノ粒子を安定化させるための、ナノ懸濁液を調製するスラリー中で用いられる、APCと界面活性構成成分（水混和性のポリマーおよび任意の界面活性剤）との比率である。続く実施例から理解されるように、本発明の過程により、スラリーが、水性分散媒（水および上述の界面活性構成成分）に対してより高い重量%（wt.%）のAPCを用い得るナノ懸濁液の調製が可能となる。さらに、続く実施例を再び参照すると、本発明の過程によって、懸濁液中のナノ粒子が、存在する界面活性構成成分に対して、高せん断処理を用いて得ることができるものよりも高いwt.%のAPCを含む、ナノ懸濁液が調製できるようになる。これにより、同様に、本発明のナノ懸濁液は、以前の過程から得ることができるものよりも高いAPC負荷量を示せるようになる。

40

【0031】

上述のように、本発明のナノ懸濁液中で利用される水性分散媒は、水と、ナノ懸濁液中に存在する粒子を安定化する1以上の界面活性構成成分と、を含む。水性分散媒およびAPCの比率はAPCの性質によって変動するものの、一般に、ナノ懸濁液を調製するスラリーは、用いられる水性分散媒の重量に対して約1wt.% APCから、用いられる水性分散媒の重量に対して約40wt.%のAPCを含むことになる。

【0032】

APCと、水性分散媒中に存在（従って、粉碎過程の最後に本発明のナノ懸濁液中に存

50



在するナノ粒子と会合)する界面活性構成成分とのwt. %の比率に関して、この比率は用いられるAPCの性質によって変動する。一般に、安定なナノ懸濁液を提供するのである界面活性構成成分の重量に対するAPCの重量比が最大となるナノ懸濁液を調製することが好ましい。いくつかの実施形態において、ナノ懸濁液中に存在する界面活性構成成分の重量に対して約25wt %から約99wt %のAPCを含む本発明のナノ懸濁液を提供することが好ましい。いくつかの実施形態において、ナノ懸濁液中に存在する界面活性構成成分の重量に対して少なくとも約40wt. %を超えるAPCを有するナノ懸濁液を提供することが好ましい。いくつかの実施形態において、用いられる界面活性構成成分の重量に対して90wt %を超えるAPCを有するナノ懸濁液を提供することが好ましく、いくつかの実施形態において、用いられる界面活性構成成分の量に対して95wt %を超えるAPCを有するナノ懸濁液を提供することが好ましい。いくつかの実施形態において、用いられる界面活性構成成分の量に対して98wt. %ものAPCが存在する。

10

20

30

40

50

#### 【0033】

一般に、本発明での使用に適切な界面活性ポリマーは、水混和性ポリマーである。適切なポリマーの例としては、ヒドロキシプロピルセルローズに基づくポリマー、例えば、HPC-SL (Ashland Chemical) ; アルコキシドブロックコポリマー、例えばエチレンオキシド/プロピレンオキシドコポリマー、例えばBASFからのブルニックF127 ; ポリエチレンソルビトールポリマー、例えばTween 80 (Sigma、商品) ; ポリビニルピロリドンポリマー、例えばAshland Chemicalからのプラスドン (登録商標) ; メチルセルローズ (商品、例えばSigmaから入手可能) およびセルローズ誘導体、例えばカルボキシセルローズ誘導体、例えばヒドロキシプロピルメチルセルローズ誘導体、例えば、Dow Chemicalからのメトセルポリマーおよびポリプロピレン - およびポリエチレングリコールポリマーおよび誘導体、例えばDow Chemicalから入手可能なカルボワックス (登録商標) が挙げられるが、これらに限定されない。当然のことながら、分散されている活性医薬化合物の性質によって、他の界面活性ポリマーが用いられ、指示され得る。

#### 【0034】

いくつかの実施形態において、分散の維持を促進するために、界面活性ポリマーが界面活性剤と組み合わせられる。公知のように、用いられる界面活性剤の性質および量は、用いられるポリマーおよび分散される活性医薬化合物の粒子の表面の性質に依存する。本発明のナノ懸濁液中での使用に適切な界面活性剤の例としては、ジオクチルスルホスクシネート (ドクサートナトリウム、DOSS、商品) およびドデシル硫酸ナトリウム、ラウレルアルコール (laural alcohol) から調製されるイオン性界面活性剤、商品、例えば両者ともFlukaから入手可能、が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0035】

上述のように、本発明のナノ懸濁液は、適切なスラリー容器中に含有されるスラリーに音響エネルギーを適用することによって調製される。本発明の過程を遂行するために、スラリーを調製するために利用される音響式混合装備の運び台に固定され得る何らかの好都合な密封可能容器を用い得る。適切な容器の例は、密封可能な瓶 (何らかの材料、例えば、ガラス、プラスチックまたは金属、好ましくはガラスまたはプラスチック製)、密封可能なビニール袋および密封可能なマイクロタイターウェルプレートであるが、これらに限定されない。

#### 【0036】

前述のものから認識されるであろうが、適切なスラリー容器の選択に柔軟性があることは、本発明の過程が容易に、無菌製造条件下でナノ懸濁液を提供し、同時に、「ベンチスケール」のバッチサイズから、工業スケールのAPIに対するナノ懸濁液の工業レベルの調製に適切な体積まで、特定の一連のパラメーターの「照準合わせ可能な」規模拡張をもたらすことを可能にすることを意味する。

#### 【0037】

ある態様において、本発明は、本発明の過程によって調製されるナノ懸濁液である。上

述のように、および下記で例示されるように、本発明の過程によって調製されるナノ懸濁液は、分解産物および金属負荷量がより低レベルであり、同等に構成されたスラリーから高せん断粉碎過程によって調製されるナノ懸濁液よりも高いAPC負荷量を示し得る。例えば、本発明の過程を使用して、高せん断粉碎過程を使用して得られない、90wt%より高いAPC負荷量を有するナノ粒子が調製され得る。さらに、当然のことながら、本発明の過程は、薬剤の調製における使用のためのナノ懸濁液の大規模調製のための「バッチ」または「連続過程」方式の何れにも容易に適応可能である。

#### 【0038】

当然のことながら、本発明の過程は、同じ混合条件を用いたナノ懸濁液の複数の同時調製試料の提供を行い易い。この後者の特性によって、同じ条件下で、処方物の比較または最適化のために、様々な処方物を同時に調製することが可能となる。当然のことながら、本発明のこの態様は、例えば、密封可能なマイクロタイターウェルプレートのスラリー容器として使用することにより小さい試料サイズが調製される場合、少量のAPCのみを消費しながら、処方物のスクリーニングおよび最適化を提供する。

10

#### 【0039】

本発明は、本発明を限定するのではなく例示するためのものである次の実施例からさらに理解されよう。

#### 【0040】

##### [ 実施例 ]

次の実施例は、本発明の過程から得ることができる長所および本発明に従い提供される優れたナノ懸濁液を明らかにする。

20

#### 【0041】

次の実施例において、Resodyn (商標) Resonant Acoustic Mixer (登録商標) (LabRAM (商標)) および指定の出力設定を用いて供給される音響出力がある社内組み立てセルにおいて、本発明のナノ懸濁液を調製した。実施例において、10mLのステンレス鋼製混合チャンバーおよび混合プローブが装備されたElan Nanomill (登録商標) 装置 (Elan Delivery Systems、Alkermes plc から入手可能、Nanomill-01 (登録商標)) を使用して比較用ナノ懸濁液試料を調製した。

30

#### 【0042】

動的光散乱 (DLS、Wyatt、Dyanopro Plate Reader) を使用して、実施例ナノ懸濁液を粒径および粒径分布について評価した。粒径分析に対して報告された結果 ( $D_{50}$  および  $D_{90}$ ) は、粒径分析の技術分野で理解されるようなそれらの通常の意味を有する。別段の指示がない限り、 $D_{50}$  および  $D_{90}$  に対する値は、ナノメートル (nm) の単位で報告される。高速液体クロマトグラフィー (HPLC、Hewlett Packard、Agilent 1100) を用いて実施例ナノ懸濁液におけるAPCを評価した。誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS、Perkin Elmer) を用いて残留金属分析を行った。

#### 【0043】

実施例で使用される場合、別段の断りがない限り、試薬は全て商品である。ブルロニックF127は、エチレンオキシド/プロピレンオキシドコポリマーであり、例えばBASFから入手可能な商品であり、HPC-SLは、Ashland Chemicalから入手可能なSL-グレードのヒドロキシプロピルセルロースであり、Tween 80は、Sigmaから入手可能なポリエチレンソルビトール製品であり、SDSはドデシル硫酸ナトリウム (商品) であり、DCAはデオキシコール酸ナトリウム (商品) であり、PVPはポリビニルピロリドン (商品、例えばAshland Chemicalからのプラスドン (登録商標)) であり、HPMCはヒドロキシプロピルメチルセルロース、商品である。

40

#### 【0044】

##### [ 実施例1 ]

50

高せん断粉碎（以前からの過程）および音響粉碎（本発明の過程）を使用して同等のスラリーから調製されたナノ懸濁液の比較

高せん断機械式攪拌による粉碎を介したナノ懸濁液の提供と低周波の音響式混合を使用した粉碎を介したナノ懸濁液の提供との間の直接的な比較において、10 mL 粉碎チャンバー（Nanomill（登録商標）高せん断機械式粉碎機での使用のため）および8 mLのキャップ付きガラスバイアル（Resodyn（商標）LabRAM（商標）音響式ミキサーでの使用のため）に、表ⅠのNanomill（登録商標）または音響式ミキサーについて表示される個々のカラムで示される混合物を、示される量充填した。このようにして充填した10 mL 粉碎チャンバーおよび8 mL キャップ付きガラスバイアルをそれぞれNanomill（登録商標）およびLabRAM（商標）音響式ミキサーに収め、各装置を90分間操作した。得られた材料を評価し、結果を下記表ⅠⅠで提示した。

【0045】

表Ⅰ

【表1】

構成成分	Nanomill(登録商標) 10 mL 粉碎チャンバーに 充填した重量	8mL ガラスバイアル(音響式 ミキサー)に充填した重量
ナプロキセンナトリウム (USP)	233mg	176mg
粉碎媒体	5.43g ポリスチレン粉碎ビーズ (Elan Drug Technologies)	9.12g イットリア安定化ジル コニア粉碎ビーズ (Tosoh YTZ (R) 破碎媒体)
水性 5% PVP-K29-32 ポリマー分散媒	1.165g	0.876g
水性 5% SDS 界面活性剤	0.093g	0.036g
水	3.169g	2.272g

【0046】

表ⅠⅠ

【表2】

性状	Elan Nanomill(登録商標)	Resodyn(商標)LabRAM(商標)
粉碎時間終了時の試料温度	52℃	26℃
薬物ナノ粒子径(D <sub>50</sub> )	354nm	286nm
残留金属	>1000ppm	<1ppm
回収率、wt.%(回収された薬物の重量／用いられた薬物の重量)	56%	84%

【0047】

粉碎時間終了後すぐに、温度計を使用して各ナノ懸濁液の温度を調べた。本明細書中で記載のように、粒径および金属含量を分析した。10ミクロンポリプロピレンメッシュ上での遠心ろ過を通じ（Nanomill）、または20ゲージ針が装備されているシリンジを通じ（音響式ミキサー）、各操作で作製されたナノ懸濁液生成物を回収した。音響式混合で調製されたナノ懸濁液の場合、YTZ 粉碎媒体は十分に高密度であり、これはナノ懸濁液から沈降し、メッシュを通じた分離の必要なく傾斜法による分離を可能とする。

【0048】

比較例 2：高せん断機械式粉碎装置（10 - mL スケール）を用いたナノ粒子の調製  
従来の高せん断粉碎装置（Nanomill（登録商標））と、APC と、水、界面活性ポリマーおよびいくつかの例では界面活性剤を含む水性分散媒と、を使用してナノ懸濁液を調製した。これらの懸濁液を調製する際の使用のために、50 g の選択ポリマーを 950 mL の水中で溶解させる（5 wt % ポリマー溶液）ことによって、界面活性ポリマーの水溶液を調製した。界面活性剤を用いた場合、必要に応じて、水性分散媒への添加のために、50 g のドデシル硫酸ナトリウムを 950 mL の水中で溶解させることによって、界面活性剤の保存用 5 wt . % 水溶液を調製した。

#### 【0049】

典型的な操作において、10 mL 体積の Nanomill（登録商標）粉碎チャンバーに 5.43 g の架橋ポリスチレン粉碎ビーズ（Elan Drug Technologies）を充填し、それに 0.233 g の「試験 APC A」（クラス IV 製剤原料）、1.165 g の懸濁ポリマー水溶液（水中 5 wt . % 懸濁ポリマー）および（表 III で指定されるように用いられる場合）0.093 g の 5 % 界面活性剤水溶液を添加した。スパチュラを用いて混合物を手動で混ぜ、次いで混合チャンバーを Nanomill（登録商標）装置に収め、羽を 5500 rpm で 90 分間操作した。得られた懸濁液を 10 ミクロンポリプロピレンフィルター上で遠心ろ過し、上述の手順を用いた粒径分析に、このようにして得られた回収ナノ懸濁液を供した。APC および水性分散媒のいくつかの異なる組み合わせに対して、結果（ $D_{50}$  および  $D_{90}$  の両方に対するもの）を表 III で報告する。

#### 【0050】

表 III

#### 【表 3】

番号	懸濁ポリマー (5Wt.%水溶液)	界面活性剤 (5Wt.%水溶液)	粒径 $D_{50}\text{nm}/D_{90}\text{nm}$
S-1	プルロニック F127	なし	214nm/290nm
S-2	PVP K29-32	SDS	880nm/1636nm
S-3	Tween80(登録商標)	なし	1340nm/2070nm

#### 【0051】

これらのデータから、「試験 APC A」に対して、ナノ懸濁液を調製するために高せん断粉碎を用いた場合、水性分散媒中でプルロニックポリマーを用いた場合のみ、安定なナノ懸濁液が提供され、一方で、他のポリマーおよび界面活性剤を用いた試料については、顕著な凝集が観察されたことが示される。

#### 【0052】

#### 【実施例 3】

音響式混合（0.35 - mL スケール）を用いた「試験 APC A」のナノ懸濁液の調製

50 g の選択ポリマーを 950 g の水中で溶解させることによって、選択ポリマーの 5 wt . % 水溶液を調製した。同様にして、10 g の選択界面活性剤を 990 g の水で溶解させることによって、界面活性剤の 1 wt . % 水溶液を調製した。本発明によるナノ懸濁液を提供する際に調製される場合、これらの溶液を用いた。

#### 【0053】

各ウェル 350  $\mu\text{L}$  のプラスチック 96 ウェルマイクロタイタープレートに、0.80 g のイットリア安定化ジルコニア粉碎ビーズ（Tosoh YTZ（登録商標）破碎媒体）および 4 mg の「試験 APC A」（実施例 2 で使用したクラス IV 製剤原料）を充填した。この混合物に、19  $\mu\text{L}$  のポリマーの 5 % 水溶液（表 IV 参照）および、用いる場合は 4  $\mu\text{L}$  の界面活性剤の 1 % 水溶液（表 IV 参照）および 123  $\mu\text{L}$  の水を添加した。

このように充填したマイクロタイタープレートを加熱により密封し、音響式ミキサー（Resodyne（商標）LabRAM（商標））に入れた。60ヘルツ、40%出力で90分間、音響式ミキサーを操作した。得られたナノ懸濁液を粉碎媒体から分離し、20-ゲージ針を取り付けたシリンジを用いて回収し、このようにして得られたナノ懸濁液を評価した。上記の記述に従い粒径分析を行い、結果を下記の表ⅠⅤで報告する。

【0054】

表ⅠⅤ

【表4】

番号	懸濁ポリマー	界面活性剤	粒径 D <sub>50</sub> nm/D <sub>90</sub> nm
A-1	プルロニック F127	なし	260nm/406nm
A-2	PVP K29-32	SDS	238nm/264nm
A-3	Tween80(登録商標)	なし	342nm/556nm
A-4	HPC-SL	SDS	268nm/342nm
A-5	HPMC	SDS	240nm/256nm

10

【0055】

これらのデータは、比較例2で試験したポリマーおよび界面活性剤の組み合わせ全てについて、「試験APC A」を用いて、安定なナノ懸濁液を調製し得たことを示す。比較例2（同じ比率の同じ構成成分を利用して高せん断粉碎を介して調製したナノ懸濁液）で報告された結果とこれらのデータの比較から、APCを粉碎するための音響式混合の使用によって、ナノ懸濁液を提供するために高せん断機械粉碎を用いた場合に得ることができない性状および安定性を有するナノ懸濁液が予想外にもたらされることが示される。

20

【0056】

〔実施例4〕音響式混合（4.0mLスケール）を用いた「試験APC A」のナノ懸濁液の調製

実施例A-2のスラリー組成物を大規模調製した。従って、4mLのガラスバイアルに、9.12gのイトリア安定化ジルコニア粉碎ビーズおよび42.6mgの「試験薬物A」、続いて216.6μLのポリマーの5%水溶液、45.6μLの界面活性剤の1%水溶液および1.448mLの水を入れた。スパチュラを用いて手で混合物を軽く撹拌し、バイアルを密封した。このバイアルを音響式ミキサー（Resodyne（登録商標）LabRAM（商標））に置き、60ヘルツ、40%出力で90分間、ミキサーを操作した。20-ゲージ針を取り付けたシリンジを用い、粉碎媒体から得られたナノ懸濁液を分離した。上記で参照した手順に従う回収ナノ懸濁液に対する粒径分析から、D<sub>50</sub>値が252nmであり、実施例3で35μLスケールで調製したナノ懸濁液と実質的に同じであることが示される。

30

【0057】

〔実施例5〕単一の音響式混合装置（0.35-mLスケール）を用いた複数のナノ懸濁液検体の同時調製

40

プラスチック製96ウェルマイクロタイタープレートのそれぞれ個々のウェルに2mgのナプロキセン、上述のように調製された10μLの5wt%水性ポリマー、136μLの水および2μLの1wt%界面活性剤水溶液（990μLの水中で10mgの界面活性剤を溶解させることにより調製）を充填した。このようにして充填したマイクロタイタープレートを加熱により密封し、Resodyne（商標）Labram（商標）音響式ミキサーに固定した。下記の表（表ⅠⅤ）で反映されるように、音響式ミキサーを60ヘルツ、40%出力で90分間操作し、次いでシリンジを用いてウェルから出し、得られたナノ懸濁液を前述の手順に従い粒径について評価した。下記の表Ⅴで結果を報告する。

【0058】

表Ⅴ

50

【表 5】

番号	ポリマー	界面活性剤	粒径 D <sub>50</sub> nm/D <sub>90</sub> nm
B-1	プルロニック F127	なし	382nm/640nm
B-2	PVP K29-32	SDS	240nm/404nm
B-3	Tween80(登録商標)	なし	310nm/636nm
B-4	HPC-SL	SDS	260nm/406nm
B-5	HPMC	SDS	228nm/432nm

【 0 0 5 9 】

10

個々の操作において、前の操作でのように B - 2 スラリー処方物を調製し、96 ウェルマイクロタイタープレートの各ウェルに入れた。このプレートを密封し、前の実施例 5、B - 2 の操作に従い処理した。90 分間の音響粉碎の終了時に、ある一定の混合物に対してウェルプレートの各範囲にわたり無作為にウェルから試料を採取し、各試料を粒径について評価した。実施例 B - 2 に対する表 V で報告したナノ懸濁液の試料採取に対して、表 V I においてこの分析の結果を報告する。表 V I のデータにより示されるように、このようにして調製されたナノ懸濁液の無作為な試料採取から、各試料に対して実質的に同じ性状が示される。これらのデータは、この技術を用いて同じ組成物のスラリーを同時に粉碎する場合、音響式混合によって、再現可能な結果がもたらされることを示す。当然のことながら、これらのデータは、試料が異なるスラリー組成を含む場合、ナノ懸濁液の調製のための本発明の過程を複数の試料の同時調製に適応させ得、それによって様々な処方物の比較が可能になることを示す。

20

【 0 0 6 0 】

表 V I - 水媒体中の 1 . 3 w t . % ナプロキセン / P V P K 2 9 - 3 2 / S D S

【表 6】

B-2 ナノ懸濁液マイクロタイタープレートにおけるウェルでの位置	粒径 D <sub>50</sub> nm
(上左)	240nm
(上右)	248nm
(下左)	248nm
(下右)	254nm
(中左)	248nm
(中右)	252nm

30

【 0 0 6 1 】

[ 実施例 6 ]

40

処方物 2 B、実施例 4 - 音響式混合装置 ( 1 4 0 - m L スケール ) の拡大

実施例 5 で 0 . 3 5 m L スケールで調製された処方物 B - 2 のナノ懸濁液を 1 4 0 m L スケールで調製した。従って、140 - m L のプラスチック瓶に、15 . 3 3 g のナプロキセン、12 . 7 8 m L の P V P K 2 9 - 3 2 の 3 0 w t % 水溶液、2 . 9 4 m L の S D S の 5 w t . % 水溶液および 3 0 . 2 7 m L の水および 3 1 9 . 2 g のイットリア安定化ジルコニア粉碎ビーズ ( T o s o h Y T Z ) を入れた。この瓶に蓋をし、音響式混合装置に入れ、40 % 出力で 90 分間、内容物を混合した。90 分の終了時に、20 - ゲージ針を取り付けたシリンジを用い、得られたスラリーを粉碎媒体から分離し、回収ナノ懸濁液を粒径および凝集について評価した。得られた試料において、スラリーに負荷された薬物の 8 1 % が、ナノ懸濁液中に存在することが分かった ( 8 1 % 回収率 )。粒径分析が

50

ら、このスケールで調製したナノ懸濁液が、実施例4のマイクロタイタープレート調製で使用されたB-2スラリー組成物から調製したナノ懸濁液と同じであったことが確認された。これらのデータから、同様の共鳴音響条件を使用して調製したナノ懸濁液は、容器体積および薬物濃度の拡大（この実施例のように、ベンチスケールまたはマイクロスケール調製を使用して得られる結果と実質的に同じ結果を提供するために顕著な装備のリエンジニアリングまたは手順変更なく、0.35 mL容器中の2 mgのナプロキセンから140 mL容器中の15.33 gのナプロキセン（およそ7600 x スケール拡大））が可能であることが示される。従って、当然のことながら、本発明の過程によって、過程のリエンジニアリングを殆ど必要とせずに、「スクリーニング」レベルのスケールから工業スケールへの処方物の移行が促進される。

10

【0062】

[実施例7]

ナノ懸濁液検体において観察される凝集：音響式混合および機械式せん断装置を用いて調製される試料の比較

上記の表III（比較例2）およびIV（実施例3）を参照して、表で報告される $D_{50}$ および $D_{90}$ 値の比較は、高せん断粉碎過程を用いて調製される懸濁液において、APCを粉碎するために音響式混合が用いられる場合には観察されない顕著な凝集が起こることを示す。高せん断粉碎および本発明の音響粉碎過程を用いて作製される懸濁液の性状の驚くべき相違が、高せん断粉碎の60分後の、試料S-2（活性医薬化合物「試験APC A」と、ポリマーPVP K29-32を含む水性分散媒と、を含むスラリー）に従い調製されたナノ懸濁液のマイクログラフである図1および、音響粉碎90分後の、試料A-2（活性医薬化合物「試験APC A」と、ポリマーPVP K29-32を含む水性分散媒と、を含むスラリー）に従い調製されたナノ懸濁液のマイクログラフである図2を参照してさらに例示される。これらの顕微鏡写真は、高せん断粉碎で調製された試料が、粉碎の僅か60分後に大規模な凝集を示し、一方で、音響粉碎を用いて調製された試料は、粉碎の90分後でさえも目視できる凝集は示さなかったことを示す。これらのデータは、本発明の過程によって、高せん断混合を用いる過程によりもたらされるナノ粒子よりも界面活性が低いナノ粒子が提供されることを示す。当然のことながら、本発明のナノ懸濁液中に存在する凝集がより小さいことは、本発明の過程により提供されるナノ粒子の界面活性がより低いことを例証する。

20

30

【0063】

[実施例8]

音響式混合および機械式せん断装置により調製されたナノ懸濁液のHPLC分析

図3を参照して、本発明のナノ懸濁液中および高せん断粉碎過程を使用して調製されるナノ懸濁液中に存在するAPCと、これらのナノ懸濁液のそれぞれを提供するときに用いられるスラリーを調製する際に用いられる粉末APCを、HPLC分析により比較する。従って、図3の上部のトレースは、「試験APC B」と、比較例2に従い高せん断粉碎過程によって調製された、HPC-SLポリマーおよびSDS界面活性剤を含む水性分散媒と、を含むナノ懸濁液から単離されたAPCのHPLC分析を提示する。図3の中央のトレースは、上部のトレースのナノ懸濁液（「試験APC B」、HPC-SLポリマー/SDS界面活性剤）を調製する際に使用されたものと同じスラリー構成成分から調製されたナノ懸濁液から単離されたAPCのHPLC分析を提示するが、中央のトレースにおいて分析されるナノ懸濁液を調製するために実施例3に従い音響粉碎を用いた。図3の下部のトレースは、HPLC分析に課される実施例および比較例ナノ懸濁液を調製したスラリーを調製する際に用いられた「試験APC B」の試料のHPLC分析を提示する。

40

【0064】

図3を参照して、薬物製品に対するピークが正規化される場合、クロマトグラフは、高せん断粉碎を用いて調製されたナノ懸濁液のAPC中に、音響粉碎を用いて調製されたナノ懸濁液には存在しなかったかまたは、音響粉碎を用いて調製されたナノ懸濁液中に、「試験薬物B」APC試料中でこれらの不純物が存在したレベルとほぼ同じレベルで存在す

50

るかの何れかであった、殆どの場合分解産物である不純物が存在することを示す（例えば、上部のトレースにおいて、保持時間 12 . 12 に位置する薬物 - 生成物ピークの何れかの側で上昇するピークおよび保持時間 10 . 34 に存在する主要な不純物を参照）。これらのデータは、予想外に、本発明の音響粉碎過程では、高せん断粉碎過程を使用して得ることができるものよりも、ナノ懸濁液を調製したときの A P C の分解が少なくなることを示す。

【 0 0 6 5 】

[ 実施例 9 ]

音響式混合により調製された高い薬物負荷量を含有するナノ懸濁液の調製

表 V I I の各項目に対して示されるように、同じ相対重量で調製したスラリーを使用して、高せん断粉碎および音響粉碎の両方により「試験 A P C C」（クラス I V 薬物）を含むナノ懸濁液を調製した。各過程で使用されるスラリー中の A P C および懸濁媒体の比率が同じであるならば、調製されたスラリーの体積の相違は、N a n o m i l l（登録商標）装置の混合チャンバーおよび音響式ミキサー装置とともに利用されるバイアルの体積の相違の理由である。

10

【 0 0 6 6 】

表 V I I

【表 7】

構成成分	Nanomill(登録商標) 10 mL 粉碎チャンバーに 充填した重量	4 mL ガラスバイアル(音響式 ミキサー)に充填した重量
「試験 APC C」	233 mg	88 mg
粉碎媒体	5.43g ポリスチレン粉碎ビーズ(Elan Drug Technologies)	9.12g イットリア安定化ジル コニア 粉碎 ビーズ (Tosoh YTZ(R)破砕媒体)
水性 5% PVP-K15-17 ポリマー分散媒	0.140g	0.053g
水性 5% DCA 界面活性剤	0.034g	0.013g
水	4.254g	1.597g

20

30

【 0 0 6 7 】

各粉碎操作を 90 分間行い、遠心（高せん断粉碎過程）または 20 ゲージ針を取り付けたシリンジ（音響粉碎過程）の何れかを使用し、得られた生成物を回収した。回収された材料を本明細書中で参照される手順に従い、粒径分析に供し、結果を下記の表 V I I I で報告する。

【 0 0 6 8 】

表 V I I I

【表 8】

性状	Elan Nanomill(登録商標)	Resodyn LabRAM
ナノ粒子薬物負荷	96%	96%
薬物粒子径(D <sub>50</sub> )	>3000nm	280nm

40

【 0 0 6 9 】

この実施例は、96%の薬物負荷量を有するナノ粒子をもたらす A P C / 界面活性構成成分比率を用いて安定なナノ懸濁液を調製するために、本発明の音響粉碎過程を使用し得ることを明らかにする。対して、スラリーにおいて利用される A P C / 界面活性構成成分

50



のその比率は、高せん断粉碎過程が用いられる場合、ナノ懸濁液を提供しない。これらのデータから、本発明の過程により、高せん断機械式粉碎を用いてもたらされるものとは基本的に異なる特徴のナノ懸濁液が提供されることが示される。さらに、本発明の過程により提供される本発明のナノ懸濁液は、それらの性状において高せん断粉碎過程により提供されるナノ懸濁液とは明らかに区別される。

【 図 1 】

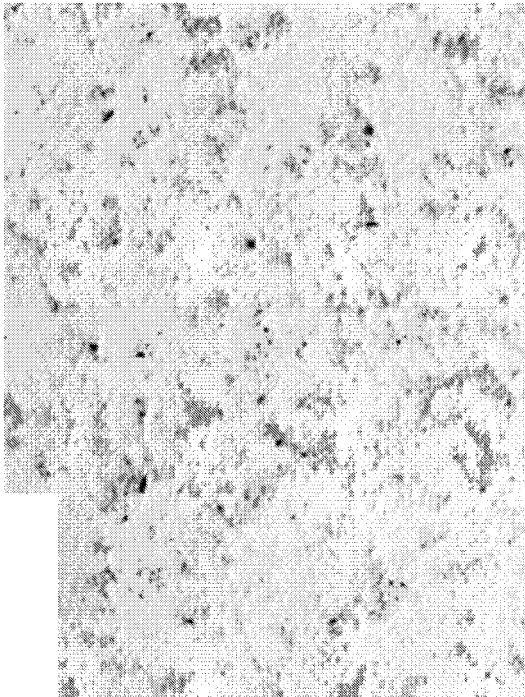


FIG.1

【 図 2 】

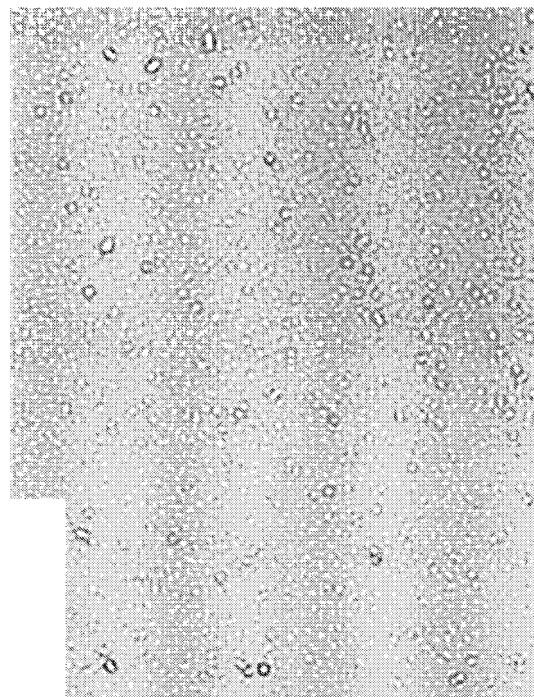


FIG.2

【図 3】

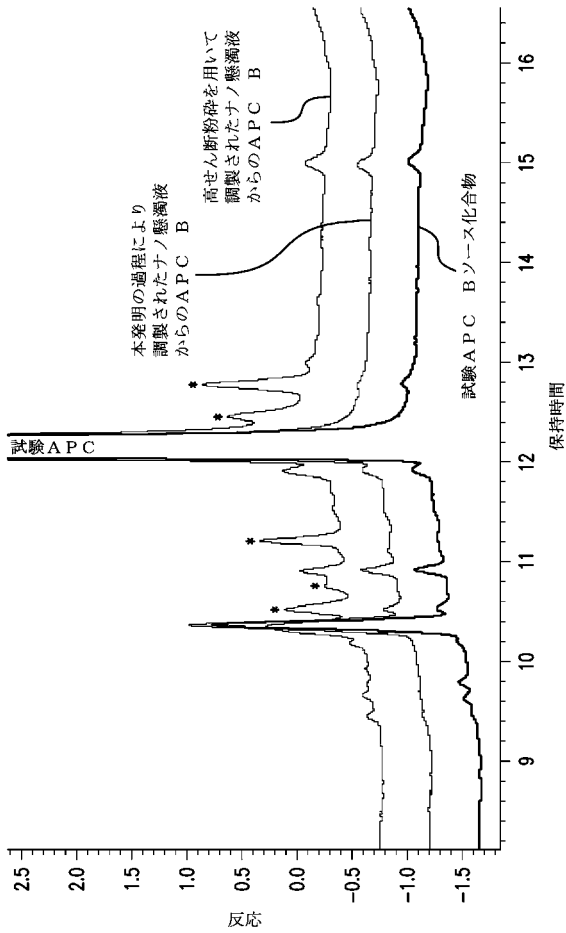


FIG.3

【図 4】

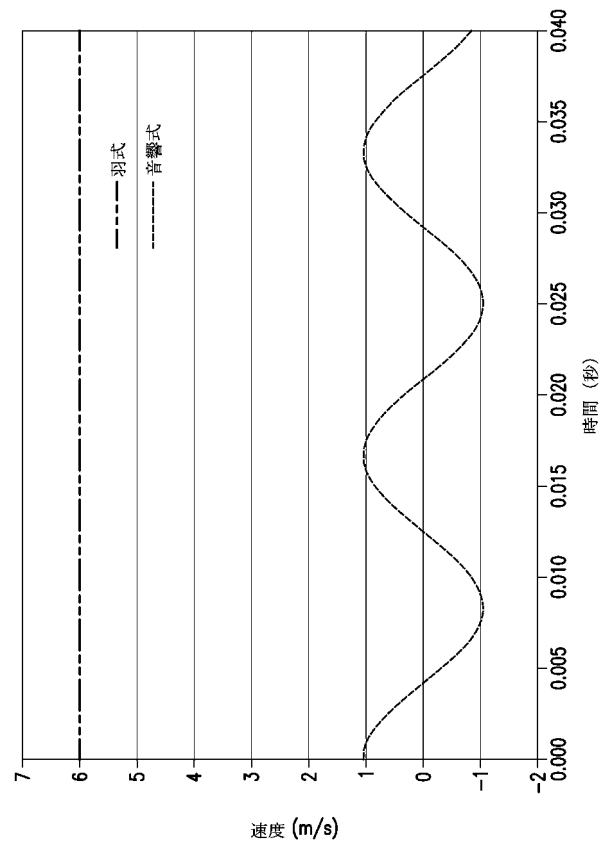


FIG.4

【図 5 A】

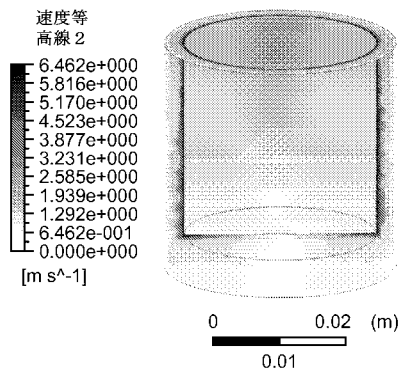


FIG.5A

【図 5 B】

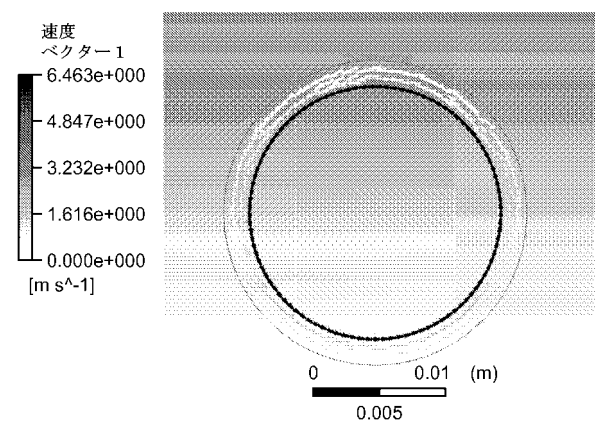


FIG.5B

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/62026

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 9/00 (2012.01)

USPC - 424/400

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
USPC-424/400Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
USPC-424/489; 977/773, 906  
IPC(8)-A61K 9/00 (2012.01)Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
PatBase (PGPB, USPT, USOC, EPAB, JPAB, DWPI, TDBD), FreePatentsOnline (US Pat, PgPub, EPO, JPO, WIPO, NPL),  
GoogleScholar (PL, NPL); search terms: nano sonication suspension low frequency nano-suspension low frequency  
drug deliver standing wave hertz several samples simultaneous multi chamber apparatus

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2011/0223216 A1 (Da Rocha, et al.) 15 September 2011 (15.09.2011) para [0037]- [0039], [0048], [0055], [0078]	1
-		-
Y		2-3, 8-10
Y	US 2007/0108320 A1 (Pfeffer et al.) 17 May 2007 (17.05.2007) especially para [0018]	2-3, 9-10
Y	US 2008/0033296 A1 (Isem) 07 February 2009 (07.02.2009) especially para [0203]; [0215]	8-10
A	US 2006/0134616 A1 (Belgrader et al.) 22 June 2006 (22.06.2006) Abstract	1-3, 8-10
A	WO/2000/004978 A1 (Cefai et al.) 03 February 2000 (03.02.2000)	1-3, 8-10
A	US 2006/0110462 A1 (Papadopoulos et al.) 25 May 2006 (25.05.2006) para [0144], [0163]	1-3, 8-10
A	US 5,922,355 A (Parikh et al.) 13 July 1999 (13.07.1999) entire document, col 4, ln 48-65	1-3, 8-10
A	US 2006/0003012 A1 (Brynjelsen et al.) 05 January 2006 (05.01.2006) para [0016]-[0017]	1-3, 8-10
A	US 2010/0310661 A1 (Chen et al.) 09 December 2010 (09.12.2010) Abstract	1-3, 8-10
A	US 2006/0141048 A1 (Kipp et al.) 29 June 2006 (29.06.2006) Abstract	1-3, 8-10
A	US2006/0198893 A1 (Lindfors) 07 September 2006 (07.09.2006) Abstract	1-3, 8-10
A	US 2008/0251375 A1 (Huelscher et al.) 16 October 2008 (16.10.2008) Abstract	1-3, 8-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 December 2012 (06.12.2012)

Date of mailing of the international search report

24 JAN 2013

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/62026

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☒ Claims Nos.: 4-7, 11-12  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード ( 参考 )
<b>A 6 1 K 47/28 (2006.01)</b>		A 6 1 K 47/28	
<b>A 6 1 K 47/14 (2006.01)</b>		A 6 1 K 47/14	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74)代理人 100119253  
弁理士 金山 賢教

(74)代理人 100124855  
弁理士 坪倉 道明

(74)代理人 100129713  
弁理士 重森 一輝

(74)代理人 100137213  
弁理士 安藤 健司

(74)代理人 100146318  
弁理士 岩瀬 吉和

(74)代理人 230105223  
弁護士 城山 康文

(72)発明者 リュウン, デニス  
アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・07065-0907、ローウェイ、イースト・リンカーン・アベニュー・126

(72)発明者 ネルソン, トッド, デイ  
アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・07065-0907、ローウェイ、イースト・リンカーン・アベニュー・126

(72)発明者 ローズ, テイモシー, エー  
アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・07065-0907、ローウェイ、イースト・リンカーン・アベニュー・126

(72)発明者 クオン, エリザベス  
カナダ国、ケベック・アツシュ9ジエイ・4シー9、カークランド、ジエラル・グインドン・117

Fターム(参考) 4C076 DD46F DD55F DD70E EE16F EE23F EE32F GG41