



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년03월30일

(11) 등록번호 10-1505419

(24) 등록일자 2015년03월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/08 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7014449

(22) 출원일자(국제) 2008년12월23일

심사청구일자 2013년12월20일

(85) 번역문제출일자 2010년06월29일

(65) 공개번호 10-2010-0112564

(43) 공개일자 2010년10월19일

(86) 국제출원번호 PCT/IN2008/000857

(87) 국제공개번호 WO 2009/087678

국제공개일자 2009년07월16일

(30) 우선권주장

2527/MUM/2007 2007년12월24일 인도(IN)

(56) 선행기술조사문헌

US20060188566 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

썬 파마 어드밴스드 리서치 컴패니 리미티드

인디아 뭄바이 400 093 안드헤리 (이스트) 오프
마하칼리 케이브즈 로드 마할 인터스트리얼 이스
테이트 17/비

(72) 발명자

코파데 아제이 제이싱

인도 바로다 390 020 탄탈자 로드 니어 프라탐 엔
클레이브 니마 컴파운드 썬 파마 어드밴스드 리서
치 컴패니 리미티드

보우믹 서브하스 발라람

인도 바로다 390 020 탄탈자 로드 니어 프라탐 엔
클레이브 니마 컴파운드 썬 파마 어드밴스드 리서
치 컴패니 리미티드

아를수다르 엔.

인도 바로다 390 020 탄탈자 로드 니어 프라탐 엔
클레이브 니마 컴파운드 썬 파마 어드밴스드 리서
치 컴패니 리미티드

(74) 대리인

백덕열

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 정명주

(54) 발명의 명칭 나노분산액

(57) 요약

본 발명은 수산화성 용매 및 물을 포함하는 비히클에 분산된 300 nm 미만의 평균 입자 크기를 갖는 나노입자를 포함하며, 상기 나노입자는 1 이상의 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염과 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 포함하는 나노분산액을 제공한다.

특허청구의 범위

청구항 1

수산화성 용매 및 물을 포함하는 비히클에 분산된 300 nm 미만의 평균 입자 크기를 갖는 나노입자를 포함하는 나노분산액으로서, 상기 나노입자는 파클리탁셀 또는 도세탁셀로부터 선택되는 1 이상의 탁산 유도체, 수용성 중합체, 및 카프릴산 또는 그의 염 및 콜레스테릴 설페이트 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 포함하는, 나노분산액.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1항에 있어서, 탁산 유도체에 대한 계면활성제의 중량비가 1:5 내지 1:10이며 또 상기 나노분산액은 적어도 4시간 동안 안정한 나노분산액.

청구항 4

제 1항에 있어서, 파클리탁셀에 대한 계면활성제의 중량비가 1:5 내지 1:10이며 또 상기 나노분산액은 24시간 동안 안정한 나노분산액.

청구항 5

제 1항에 있어서, 도세탁셀에 대한 계면활성제의 중량비가 1:10이며 또 상기 나노분산액은 8시간 동안 안정한 나노분산액.

청구항 6

제 1항에 있어서, 나노입자의 평균 크기가 10 nm 내지 200 nm 범위인 나노분산액.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 수산화성 용매는 알코올, 글리콜 및 그의 유도체, 폴리알킬렌 글리콜 및 그의 유도체, 글리세롤, 글리코푸롤 및 그의 조합물로부터 선택되는 나노분산액.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 수산화성 용매는 알코올 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG)로 구성된 군으로부터 선택되는 나노분산액.

청구항 9

삭제

청구항 10

제 1항에 있어서, 상기 수용성 중합체는 폴리비닐피롤리돈 및 폴리에틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 나노분산액.

청구항 11

제 10항에 있어서, 사용된 폴리비닐피롤리돈은 1000 내지 50,000 범위의 분자량을 갖고 또 0.001% w/v 내지 10% w/v 범위의 양으로 사용되는 나노분산액.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

제 1항에 있어서, 계면활성제는 0.001% w/v 내지 5.0 % w/v 범위의 양으로 사용되는 나노분산액.

청구항 16

파클리탁셀 또는 도세탁셀로부터 선택되는 1 이상의 탁산 유도체, 수용성 중합체, 및 카프릴산 또는 그의 염 및 콜레스테릴 설페이트 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 수혼화성 용매 중에 포함하고, 수성 액체 비히클에 의해 희석하면 나노분산액을 형성하는 용액.

청구항 17

평균 입자 크기가 300 nm 미만이고, 파클리탁셀 또는 도세탁셀로부터 선택되는 1 이상의 탁산 유도체, 수용성 중합체, 및 카프릴산 또는 그의 염 및 콜레스테릴 설페이트 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 포함하는 나노입자.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 탁산(taxane) 유도체의 나노분산액 및 그의 제조 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 수용액에 용해성이 불량하거나 또는 불용성인 약제학적 약물이 다수 존재한다. 이러한 약물은 경구 생체이용능이 불량한 점에서 또는 이들을 특히 정맥경로를 통하여 약물 전달하기 위하여 제형화하는 측면에서 어려움을 제공한다. 어떤 약물이 정맥 투여되면, 입자들은 색전(emboli)을 유발하지 않고 모세관을 통하여 안전하게 통과하기에 충분히 작아야 한다. 정맥 투여의 경우, 용액, 에멀전, 리포솜, 나노분산액 등의 형태의 약물을 투여하는 것이 안전한 것으로 인정되고 있다. 특히 소수성 약물에 대한 약물전달계를 제형화하는 동안 충족되어야 하는 다른 요건은 실온에서 소망하는 시간 동안 저장할 때 약물의 실질적인 응집이나 결정화 또는 제형 외관에서의 변화없이 그 제형이 물리적으로 안정해야 하는 점이다.

[0003] 용해성이 불량한 약물의 예는 항암 활성으로 널리 알려진 탁산 유도체를 포함한다. 탁산 유도체 또는 탁소이드는 서양 주목(Western Yew)인 탁수스 브레비폴리아(*Taxus brevifolia*)의 줄기로부터 주로 유도되는 착물 디테르페노이드 천연 산물이며 또 필수적으로 탁산 골격을 갖는다. 탁산은 다양한 화학요법 약물을 제조하기 위해 사용되어 왔다. 현재 2개의 탁산 유도체, 파클리탁셀 및 도세탁셀이 강력한 항암제로서 시판되고 있다.

[0004] 탁산 유도체는 물 및 대부분의 약제학적으로 허용되는 용매에서 아주 불량한 용해성을 나타내므로, 이들의 환자에 대한 투여를 제한한다. 이러한 바람직하지 않은 고유 특성으로 인하여, 시판되는 파클리탁셀 주사인 탁솔(TAXOL) 주사는 Cremophor™ EL(폴리에톡시화된 피마자유) 및 탈수 알코올 중의 비수성 용액으로 제형화된다. 그러나, Cremophor™ EL과 같은 용해화제를 다량하는 것은 심각한 또는 치명적인 과민반응 또는 고혈압 반응, 서맥성 부정맥, 빈혈, 호중성백혈구감소증 및/또는 말초 신경병증과 같은 다양한 악영향을 초래한다. 따라서 파클리탁셀을 복용하는 모든 환자는 스테로이드, 항히스타민제 및 H2 수용체 길항제에 의해 앞서 투약(premedicated)된 다음 파클리탁셀을 적어도 3시간 또는 그 이상 동안에 걸쳐 매우 서서히 주입한다.

[0005] 탁솔 제형과 관련된 이들 문제 측면에서, 연구자들은 Cremophor EL을 사용하지 않고 탁솔 제형을 제조하려 노력하였다.

[0006] 미국특허 번호 6537579호는 약리학적 활성제가 단백질 (안정화제로서 작용함)에 의해 피복된 현탁 입자 형태로

존재하는, 파클리탁셀과 같은 실질적으로 수불용성 약리학적 활성제의 조성물을 기재한다. 특히, 생체적합성 분산 매질 중의 단백질 및 약리학적 활성제는 통상의 계면활성제 부재하에서 또 입자의 중합성 코어 물질 부재하에서 고전단 처리된다. 이 과정으로 입경이 약 1 미크론 미만인 입자를 얻는다. 본 발명에 따라 제조된 미립자제는 단백질에 의해 피복된 수용성 약물의 나노입자, 및 약리학적 물질 분자가 결합된 단백질을 포함하는 재분산성 건조 분말로 전환될 수 있다.

[0007] 미국특허 번호 6,017,948호는 약제학적으로 허용되는, 수산화성, 비수성 용매(N-메틸 피롤리돈과 같은) 중의 파클리탁셀 용액 형태인 파클리탁셀을 포함하고 또 약제학적으로 허용되는 용해화제(트리아세틴과 같은)를 더 포함하는 조성물에 관한 것으로, 단 폴리에톡시화된 피마자유(Cremophor)는 조성물로부터 배제된다. 바람직한 구체예로서, 다량의 용매, 즉 4000 mg의 NMP(실시예 1) 또는 2000 mg의 NMP와 2000 mg의 에탄올의 조합물(실시예 2)을 사용하여 온화한 교반하에서 10 mg의 파클리탁셀을 용해시켰다. 치료 유효량의 약물이 이러한 조성물을 통하여 전달되면, 체내에서 과량의 에탄올, 비수성 용매 또는 용해화제의 진입과 관련될 것이다.

[0008] 미국특허 번호 6046230호는 파클리탁셀 및 2개의 용해화제 - 옥시에틸렌 소르비톨 올레레이트 및 (옥시에틸렌 글리콜)₁₅₋₂₀ 지방산 모노에스테르와 함께 포비돈 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 부가적 성분을 함유하는 안정한 주사 제형에 관한 것이다. 약자수 올레인 유도된 올레산의 에틸렌 옥사이드 부가 생성물인 제형 폴리에톡시화된 소르비톨 올레익 폴리에스테르에 사용된 주요 용해화제는 10℃ 미만의 온도에서 고화되는 고유 특성을 가지므로, 단독으로 사용될 때 파클리탁셀을 용해화하기에는 적합하지 않게 한다. 그러나 보조 용해화제 폴리에틸렌 글리콜 모노 지방산 에스테르와 함께 조합되면, 상기 2개 용해화제는 함께 물 및 무수 알코올에서 양호한 용해도를 나타내며 또 이들은 저온에서도 유체 상으로 존재한다. 따라서, 2개의 용해화제를 함께 사용하는 것이 의무적이다. 또한 소망하는 특성을 만족하는 용해화제의 HLB 값은 15로 높아야 하지만 13 이상이어야 하는 것이 필수 기준이다. 생성한 제형은 용액이다.

[0009] PCT 출원번호 WO 2006/133510호는 도세탁셀 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염; 1 이상의 글리콜 및 약제학적으로 허용되는 비수성 용매 계를 포함하는 비경구 투여용 액체 약제학적 제형을 개시하며, 상기 제형은 2.5 내지 7.0 범위의 pH 미터 관독치를 갖는다. 이 발명의 구체예는 다량의 계면활성제 (약 25%v/v의 폴리소르베이트 80 또는 30 % v/v의 Cremophor)의 사용을 포함하며, 이는 독성 부작용을 초래할 수 있다. 상기 출원은 제형의 효능 및 독성 특징을 개시하지 않고 있다. 또한 '510호 출원에 의해 기재된 상기 제형은 주입 희석제(0.9% NaCl 또는 5% 텍스트로오스 용액)와 혼합시 주입 용액을 생성하는 비수성 용매 중의 약물 용액이다. 상기 방법에서는 어떠한 신규 전달계 또는 나노분산액도 형성되지 않는다. 주입 희석제에 의해 희석한 후 제형 용액의 안정성은 약 4 내지 6시간의 아주 짧은 기간이며, 이는 투여 효능을 제한할 수 있다.

[0010] US2002/0058060호(이후 '060호 특허출원이라 칭함)는 소수성 물질 및 상이한 상 전이 온도를 갖는 2개의 인지질을 함유하는 리포솜 및 콜레스테롤과 친수성 중합체 변성 지질과 같은 리포솜 형성물질을 개시한다. 인지질 및 리포솜 형성물질에 대한 약물의 비율은 상이한 리포솜 제형을 얻기 위하여 다양할 수 있다. 특허 출원 '060호는 체내에서 과량의 지질 주사는 특정 정도의 독성을 초래하기 때문에, 2개의 특정 유형의 인지질을 사용하는 것에 의해 사용된 지질의 전체 양을 감소시키는 것에 의해 상승된 약물: 지질 비율을 갖는 탁산의 리포솜을 제형화하기 위한 몇 가지 시도를 나타낸다.

[0011] 따라서, 탁산 조성물을 제형화하는 것과 관련된 주요 문제는 탁산의 소수성이라는 것은 종래 기술로부터 분명하며, 이로 인하여

[0012] (a) 약물의 용해화된 형태를 함유하고 또 약물의 실질적인 응집 또는 결정화 또는 제형의 외관 변화없이 소망하는 시간까지 안정한 조성물을 조성물을 제형화하기가 어렵게 되고,

[0013] (b) 다량의 용해화제, 인지질 및 계면활성제의 사용을 필요로 하게 된다.

[0014] 또한 탁솔(TAXOL)(Cremophor 및 알코올 중의 파클리탁셀 시판되는 용액)의 독성 연구는 미국 특허번호 6,753,006호에 기재된 바와 같은 7.5-12.0 mg/kg의 LD₅₀ 값을 나타내며, 이는 용액 형태로 투여된 약물이 매우 낮은 치료 지수를 가지고 또 중간 정도의 투여량도 심각한 부작용 및 독성 반응을 나타낼 수 있음을 나타낸다. 따라서 (a) 다량의 부형제의 사용을 피하고, (b) Cremophor의 사용을 피하며, (c) 증가된 LD₅₀ 값을 나타내고, 용액 형태의 약물 투여와 관련된 독성 부작용을 최소화하는, 신규 전달계를 통하여 약물을 전달하고, 또 (d) 소수성 성질과 관련된 약물의 제한을 극복하고 또 약물을 투여하는 동안 및 저장하는 동안 실질적인 약물의 응집 또는 결정화 또는 제형의 외관 변화없이 필요한 기간 동안 안정한, 탁산 유도체의 주사가 가능한 제형에 대한 필요

성이 존재한다.

- [0015] 본 발명자들은 수혼화성 용매 및 물을 포함하는 비히클(vehicle)에 분산된 300 nm 미만의 평균 크기를 갖는 나노입자를 포함하는 나노분산액을 개발하였으며, 이들 나노입자는 탁산 유도체, 중합체 및 아주 적은 양의 계면활성제를 포함한다. 본 발명은 Cremophor의 사용을 피하고, 더욱 감소된 양의 첨가제(인지질)의 사용을 포함하며 또 나노입자 형태의 약물 전달함으로써 약물 투여와 관련된 독성 반응과 부작용을 최소화하는 제형을 제공한다. 본 발명의 제형에 대해 관찰된 LD₅₀ 값은 342.5 mg/kg으로서, 미국특허 번호 6,753,006호에 기재된 바와 같은 시판되는 탁솔(TASOL[®]) 용액의 LD₅₀ 값 7.5-12.0 mg/kg 보다 훨씬 더 큰 값이다. 또한 본 발명의 제형은 투여하는 동안 및 저장하는 동안 약물의 실질적인 응집 또는 결정화 또는 제형의 외관 변화없이 일정 기간 동안 안정하다.

발명의 내용

[0016] 발명의 목적

- [0017] 본 발명의 목적은 비경구적 경로에 의해 투여하기 전 및 투여하는 동안 소망하는 시간 동안 탁산 유도체의 나노분산액을 제공하는 것이다.

- [0018] 본 발명의 다른 목적은 실온에서 4시간 이상 동안 저장시 응집 또는 외관 변화의 징후를 나타내지 않는 나노분산액을 제공하는 것이다.

- [0019] 본 발명의 다른 목적은 화학적으로 안정하고 또 실온에서 적어도 3시간 동안 저장할 때 응집 또는 외관 변화의 징후를 나타내지 않으며 또 수성 액체 비히클에 의해 희석하면 안정한 나노분산액을 형성하는 탁산 유도체의 예비농축액을 제공하는 것이다.

- [0020] 본 발명의 또 다른 목적은 수혼화성 용매 중의 탁산 유도체의 예비농축액을 포함하는 제1 용기 및 수성 액체 비히클을 포함하는 제2 용기를 가지며, 제2 용기의 내용물을 제1 용기의 내용물에 부가시 또는 제1 용기의 내용물을 제2 용기의 내용물에 부가시 약한 교반 또는 진탕을 적용하는 것만으로 정맥 투여에 적합한 안정한 나노분산액이 형성되는, 2개의 용기를 갖는 키트를 제공하는 것이다.

- [0021] 본 발명의 다른 목적은 나노분산액의 동결건조 형태를 포함하는 제1 용기 및 수성 액체 비히클을 포함하는 제2 용기를 가지며, 제2 용기의 내용물을 제1 용기의 내용물에 부가하거나 또는 제1 용기의 내용물을 제2 용기의 내용물에 부가하면 약한 교반 또는 진탕을 적용하는 것만으로 정맥 투여에 적합한 안정한 나노분산액이 형성되는, 2 이상의 용기를 갖는, 예컨대 2개의 용기를 갖는 키트를 제공하는 것이다.

- [0022] 본 발명의 다른 목적은 치료를 필요로 하는 환자에게 나노분산액 조성물을 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법을 제공한다.

[0023] 발명의 요약

- [0024] 본 발명은 수혼화성 용매 및 물을 포함하는 비히클에 분산된 300 nm 미만의 평균 입자 크기를 갖는 나노입자를 포함하며, 상기 나노입자는 1 이상의 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염과 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 포함하는 나노분산액을 제공한다.

- [0025] 본 발명은 1 이상의 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 수혼화성 용매 중에 포함하고, 수성 액체 비히클에 의해 희석하면 나노분산액을 형성하는 용액을 제공한다.

- [0026] 본 발명은 또한 평균 입자 크기가 300 nm 미만이고, 1 이상의 탁산 유도체, 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염 및 지방산 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제 및 중합체를 포함하는 나노입자를 제공하는 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 실시예 27에 자세하게 기재된 연구에 따라서 대조 샘플, 참조 샘플 (ABRAXANE[®]) 및 시험 샘플 (본 발명의 실시예 12a의 조성물)에 대하여 Balb/c 자성(female) 누드 마우스에 이식된 인간 유방암 이종이식편(MX-1)의 시간(일수)에 따른 종양 부피의 변화의 비교 해석을 나타낸다.

도 2는 실시예 28에 자세하게 기재된 연구에 따라서 대조 샘플, 참조 샘플 (ABRAXANE[®]) 및 시험 샘플 (본 발명의 실시예 9의 조성물)에 대하여 무흉선 자성 nude 마우스에 이식된 인간 유방암 이종이식편(MX-1)의 시간(일수)에 따른 종양 부피의 변화의 비교 해석을 나타낸다.

도 3은 실시예 29에 자세하게 기재된 연구에 따라서 대조 샘플, 시험 샘플 (본 발명의 실시예 9의 조성물) 및 2개의 참조 샘플 (ABRAXANE[®] 및 ONCOTAXEL[®])에 대하여 무흉선 음성(male) nude 마우스에 이식된 인간 대장암 이종이식편(HT-29)의 시간(일수)에 따른 종양 부피의 변화의 비교 해석을 나타낸다.

도 4: 도 4a는 초기 시간에서 실시예 9의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램을 도시하고 또 도 4b는 실온에서 24시간 저장될 때 실시예 9의 파클리탁셀의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램을 도시한다.

도 5: 도 5a는 초기 시간에서 실시예 24D의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램을 도시하고 또 도 5b는 실온에서 8시간 동안 저장될 때 실시예 24D의 도세탁셀의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명은 수산화성 용매 및 물을 포함하는 비히클에 분산된 300 nm 미만의 평균 입자 크기를 갖는 나노입자를 포함하며, 상기 나노입자는 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 포함하는 나노분산액을 제공한다.

[0029] 본 발명은 또한 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 수산화성 용매 중에 포함하고, 수성 비히클에 의해 희석하면 나노분산액을 형성하는 용액을 제공한다.

[0030] 본 발명은 또한 평균 입자 크기가 300 nm 미만이고, 탁산 유도체, 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염 및 지방산 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제 및 중합체를 포함하는 나노입자에 관한 것이다. 본 발명의 나노분산액은 Cremophor와 같은 독성 부형제를 갖지 않으며 또 탁산 유도체의 안정한 나노분산액을 제형화하는데 필요한 훨씬 감소된 양의 첨가제(계면활성제 및 인지질 같은)의 사용을 포함하므로, 관련된 독성 반응을 최소화한다.

[0031] 나노입자 또는 나노크기의 입자 그 자체는 효과적인 약물 전달 면에서 많은 이점을 갖는다. 약물을 전달 비히클에 혼입하거나 또는 약물을 비히클에 부착하는 것은 약물을 그의 유리 형태로 투여하는 것에 비하여 많은 이점을 가질 수 있음이 밝혀졌다. 약물을 비히클에 혼입하는 것은 특정 관심 조직 또는 질병 부위에서 조직 특이적 분포, 특히 우선적 축적, 약물을 특정 세포 유형에 표적화하는 것, 혈액 성분과의 상호작용 감소, 조기성숙 분해로부터 약물의 보호 증가 및 순환 시간의 증가에 영향을 줄 수 있다. 나노입자는 중요한 약물 전달 비히클의 하나이다. 나노입자는 특이적으로 엔지니어링처리되어, 이들로 하여금 고농도의 약제학적 물질을 소망하는 위치로 전달하게 하거나 또는 작용부위로 표적화한다(Kayser et al, Current Pharmaceutical Biotechnology, 2005, 6, page number 3-5). 표적화된 약물 전달은 다수의 적용에서 중요하며, 특히 전신적으로 전달되면 약물의 독성이 문제가 되는 경우에 중요하다. 표적화된 약물 전달은 기타 유리한 특징들 중에서도 독성 부작용을 제거하거나 또는 적어도 최소화하고 또 필요한 투여량을 저하시키는데 일조할 수 있다. 약물을 작용 부위로 표적화하는 데는 상이한 접근법이 존재한다. 아주 간단하지만 그의 적용성 면에서 제한되는 방법은 표적 부위에 직접 주사하는 방법, 즉, 종양 조직에 주사하는 것이다. 다른 접근법은 경구 및 비경구적 투여를 위한 상이한 투여 경로(예컨대 국소 전달을 위한 트랜스페로좀), 미소구(microsphere) 또는 나노입자에 대한 특이적인 캐리어 계를 이용하는 것이다. 비경구적 경로 중에서, 정맥 주사가 가장 흔히 이용된다. 정맥 투여시, 입자는 간 및 비장 대식세포에 의해 인식되며 또 우선적으로 이들은 간 대식세포에 의해 흡수된다. 이러한 효과는 MPS (단핵성 식세포계) 또는 RES(세망내피계)의 감염을 치료하기 위하여 간 및 비장 또는 일반적으로 대식세포에 약물 로딩된 캐리어를 표적화하도록 이용될 수 있으며 또 이러한 표적화 현상은 흔히 "수동적 표적화(passive targeting)"이라 불린다. 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 Poloxamine 908과 같은 중합체를 함유하는 PEG 사슬에 의해 캐리어의 표면을 변형시키는 것에 의해 MPS/RES 인식을 피하는 것이 가능하다. 이것은 정맥 주사시 혈류에서 캐리어의 순환 기간을 증가시킨다. 정상 순환 캐리어 뿐만 아니라 장기 순환 캐리어는 보통 리간드로 불리는 표적화 잔기(렉틴 또는 모노클로날 항체 또는 만노오스/갈락토오스 같은 당 등)를 구비할 수 있다. 이들 리간드는 캐리어를 함유하는 약물을 리간드에 대한 적절한 수용체를 갖는 소망하는 표적 세포로 보낸다. 표적화 리간드를 사용하는 것

에 의해 달성되는 이러한 부위 특이적 전달은 능동적인(active) 공정을 포함한다; 따라서 이것은 "능동 표적화(active targeting)"으로도 불린다. 특이적 크기를 갖는 나노입자는 종양 생물의 특이적 특징을 이용하는 현상을 통하여 고형 종양을 수동적으로 표적화할 수 있다. 종양 조직은 누출성 혈관을 가질 수 있어, 투과성이 향상되고 림프 배액(lymphatic drainage)이 불량하다. 대조적으로, 정상 조직 중의 혈관 내피세포는 종양 조직과 비교하여 나노입자에 대하여 더 낮은 투과성을 갖는다. 이것은 나노캐리어가 종양에 축적되게 한다. 이 효과는 향상된 투과성 및 체류 효과 또는 EPR 효과로 공지되어 있다(Nanoparticle Technology for drug delivery, edited by Ram B. Gupta and Uday B. Kompella, published by Taylor and Francis, 2005, page 539). 또한, 200 nm 미만의 나노입자는 세망내피 계를 더욱 효과적으로 회피하며 또 장시간 동안 순환에 잔류한다(Nanoparticle Technology for drug delivery, edited by Ram B. Gupta and Uday B. Kompella, published by Taylor and Francis, 2005, page 540).

[0032] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 나노입자는 나노미터 치수의 제어되는 치수를 갖는 입의 입자를 의미한다. 본 발명에 특허청구된 바와 같은 나노입자는 중합성 나노입자(약물을 포획하는 중합체 매트릭스) 및/또는 중합성 나노베시클(nanovesicle)(약물을 캡슐화하는 중합체 안정화된 나노 크기의 베시클) 및/또는 중합성 나노캡슐(코어에 약물을 둘러싸는 중합성 막) 및/또는 계면활성제 등에 의해 안정화된 약물의 평균 크기가 300 nm 미만인 나노 크기의 입자일 수 있다. 나노입자의 입자 크기는 매크로 입자 크기 분석, 체질, 광 산란 광학 현미경, 영상 분석, 침강법 및 기타 당업자에게 공지된 방법을 비롯한 입자 크기를 측정하여 나타내는 통상의 방법을 이용하여 측정한다. 입자 크기 분포 정보는 어떠한 이론에 얽매이지 않고 매크로 입자 크기 측정법으로부터 생성될 수 있는 것과 같은 D_{10} , D_{50} , 및 D_{90} 값으로부터 얻을 수 있으며, 출원인들은 300 nm 미만의 평균 크기를 갖는 나노입자를 포함하는 나노분산액을 통한 약물의 전달은 표적 종양 조직 및 세포에서 약물의 내재화 및 축적 향상을 초래한다고 믿고 있다. 이러한 내재화 수준 증가는 암과 관련된 종양을 치료하기 위한 강력한 치료 전략을 제공한다.

[0033] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 나노입자의 입자 크기는 10 nm 내지 275 nm 범위이다. 본 발명의 바람직한 구체예로서, 입자 크기는 200 nm 미만이다. 본 발명의 가장 바람직한 구체예로서, 입자 크기는 10 nm 내지 200 nm 범위이다.

[0034] 본 발명은 수산화성 용매 및 물을 포함하는 비히클에 분산된 300 nm 미만의 평균 크기를 갖는 나노입자를 포함하고, 상기 나노입자는 1 이상의 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 포함하는, 나노분산액을 제공한다.

[0035] 본 발명은 또한 1 이상의 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제를 수산화성 용매 중에 포함하며, 수성 액체 비히클에 의해 희석되면 나노분산액을 생성하는 용액을 제공한다.

[0036] 본 발명의 나노입자는 300 nm 미만의 평균 입자 크기를 가지며, 이때 상기 입자는 1 이상의 탁산 유도체, 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염 및 지방산 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제 및 중합체를 포함한다.

[0037] 본 발명의 구체예에서 언급된 탁산 유도체는 필수적으로 탁산 골격을 지니고 또 원칙적으로 서양 주목(Western Yew)인 탁수스 브레비폴리아(*Taxus brevifolia*)의 줄기로부터 또는 세포 배양액으로부터 주로 유도되는 착물 디테르페노이드 천연 산물, 또는 화학적으로 합성된 분자인 화합물이다. 약물의 탁산류 작용의 기본적인 메커니즘은 미세관 작용의 억제이다. 이것은 미세관에서 GDP-결합 튜불린을 안정화하는 것에 의해 가능하다. 미세관은 세포 분열에 필수적이며, 또 따라서 탁산은 이것을 중지시킨다 - 이를 "냉동 유사분열"이라 부른다.

[0038] 본 발명의 조성물에 사용된 상기 군의 가장 저명한 대표류는 파클리탁셀 및 도세탁셀 그리고 이들의 약제학적으로 허용되는 염, 유도체, 유사체 및 이성질체, 예컨대 7-에피파클리탁셀, t-아세틸 파클리탁셀, 10-데스아세틸-파클리탁셀, 10-데스아세틸-7-에피파클리탁셀, 7-자일로실파클리탁셀, 10-데스아세틸-7-글루타릴파클리탁셀, 7-N,N-디메틸글리실파클리탁셀, 7-L-알라닐파클리탁셀 등과 그의 혼합물이다.

[0039] 파클리탁셀은 항암 활성을 갖는 천연 산물이다. 파클리탁셀은 탁수스 브레비폴리아(*Taxus brevifolia*) 및/또는 탁수스 박타(*Taxus baccata*)로부터 세미합성 공정을 통하여 얻는다. 파클리탁셀에 대한 화학명은 (2R,3S)-N-벤조일-3-페닐이소세린과의 5 α , 20-에폭시-1,2 α , 4,7 β , 10 β , 13 α -헥사히드록시탁스-11-엔-9-온 4,10-디아세테이트 2-벤조에이트 13-에스테르이다. 파클리탁셀은 TAXOL 주사로서 미국에서 입수할 수 있다. 파클리탁셀은 난소의 진행 암종의 치료를 위한 1차 치료(first-line therapy)와 후속 요법으로 지시되어 있다. 1차 치료로서, 파

클리탁셀은 시스플라틴과 조합이 지시되어 있다. 파클리탁셀은 또한 임파절-양성(node positive) 유방암의 보조 요법을 위하여 표준 독소루비신-함유 조합 화학요법에 이어 투여되는 것으로 지시되어 있다. 파클리탁셀은 또한 전이 질병에 대한 조합 화학요법의 실패 후 또는 보조 화학요법의 6개월 이내에 재발한 후 유방암 치료를 위해 지시되어 있다. 시스플라틴과 조합된 파클리탁셀은 또한 가능성있는 치료 수술 및/또는 방사선 요법에 대한 후보가 아닌 환자에서 비소세포 폐암의 1차 치료로서 지시된다. 파클리탁셀은 또한 AIDS-관련된 카포씨 육종의 2차 치료로 지시된다.

[0040]

도세탁셀은 탁소이드 패밀리에 속하는 다른 항종양제이다. 이것은 주목의 재생가능한 침상 및 바이오매스로부터 추출한 전구체로써 개시되는 세미합성 방법에 의해 제조된다. 도세탁셀의 화학명은 5β -20-에폭시-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -헥사히드록시탁스-11-엔-9-온 4-아세테이트 2-벤조에이트, 삼수화물과의 (2R,3S)-N-카복시-3-페닐 이소세린,N-*tert*-부틸에스테르,13-에스테르이다. 도세탁셀은 미국에서 TAXOTERE[®] 주사 농축액으로서 입수할 수 있다. 도세탁셀은 단일제로서 이전의 백금-계 화학요법의 실패 이후에 국소적으로 진행된 또는 전이성 비소세포 폐암 환자의 치료를 위해 지시되어 있다. 시스플라틴과 조합된 도세탁셀은 상기 상태에 대하여 이전에 화학요법을 받지 않은 절제할 수 없는, 국소적으로 진행된 또는 전이성 비소세포 폐암 환자의 치료를 위해 지시되어 있다. 프레드니손과 조합된 도세탁셀은 안드로겐 독립적 (호르몬 난치성) 전이성 전립선암 환자의 치료를 위해 지시되어 있다. 시스플라틴 및 플루오로우라실과 조합된 도세탁셀은 진행 질병에 대하여 이전에 화학요법을 받지 않은, 위식도 접합부의 샘암종을 비롯한 진행된 위장 샘암종 환자의 치료를 위해 지시되어 있다. 시스플라틴 및 플루오로우라실과 조합된 도세탁셀은 머리 및 목의 수술할 수 없는, 국소적으로 진행된 편평세포 암종 환자의 치료를 위해 지시되어 있다. 본 발명의 구체예는 약 0.001 mg/ml 내지 약 15.0 mg/ml, 더욱 바람직하게는 약 0.1 mg/ml 내지 약 10.0 mg/ml 그리고 가장 바람직하게는 약 1.5 mg/ml 내지 약 5.0 mg/ml 범위량의 파클리탁셀을 포함한다. 도세탁셀은 본 발명의 구체예에서 약 0.001 mg/ml 내지 약 10.0 mg/ml, 더욱 바람직하게는 약 0.1 mg/ml 내지 약 1.0 mg/ml 그리고 가장 바람직하게는 약 0.3 mg/ml 내지 약 0.7 mg/ml 범위량으로 사용된다.

[0041]

나노입자를 포함하는 나노분산액은 항염증제, 항히스타민제, 5-HT₃ 길항제, H₂-수용체 길항제, 비타민 및 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 부가적인 치료적 활성제를 더 포함한다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 항염증제는 스테로이드성 항염증성 약물 및 비-스테로이드성 항염증성 약물로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 구체예는 바람직하게는 글루코코르티코이드와 같은 스테로이드성 항염증성 약물을 포함한다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 글루코코르티코이드의 예는 코르티솔 또는 히드로코르티손, 프레드니손, 프레드니솔론, 텍사메타손, 베타메타손, 부데소나이드, 트리암시놀론 등 및 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 바람직한 구체예로서, 텍사메타손은 항염증제로 사용된다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 항히스타민제 또는 히스타민 길항제는 에틸렌디아민 (메피라민, 안타졸린), 에탄올아민 (디펜히드라민, 카르비녹사민, 클레마스틴, 디펜히드리네이트), 알킬아민 (페니라민, 클로르페니라민, 텍스클로르페니라민, 트리프로리딘), 피페라진(시클리진, 클로르시클리진, 히드록시진, 메클리진), 트리스클릭 및 테트라시클릭 (프로메타진, 알리메마진, 시프로헵타딘, 아자타딘, 케토티펜) 등과 같은 제1 세대 항히스타민제; 아크리바스틴, 아스테미졸, 세티리진, 로라티딘, 미졸라스틴, 테르페나딘, 아젤라스틴, 레보카바스틴, 올라파티딘 등과 같은 제2 세대 항히스타민제; 레보세트리진, 데소라티딘, 펙소페나딘 등과 같은 제3 세대 항히스타민제 및 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 5-HT₃ 길항제는 온단세트론, 그라니세트론, 돌라세트론, 트로피세트론, 팔로노세트론, 알로세트론, 실란세트론 등 및 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 H₂-수용체 길항제 또는 H₂-길항제는 시메티딘, 라니티딘, 니자티딘, 파모티딘, 록사티딘, 부리마미드, 메티아미드 등 및 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 비타민은 비타민 A, 비타민 D, 비타민 E 및 비타민 K와 같은 지용성 비타민 및 비타민 C와 비타민(B1: 티아민; B2: 리보플라빈; B3: 니아신; B5: 판토텐산; B7: 비오틴; B9: 엽산; B12: 시아노코발라민)을 비롯한 비타민 B와 같은 수용성 비타민 그리고 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 일 구체예로서 사용된 비타민은 비타민 D이다.

[0042]

본 발명의 나노분산액에 존재하는 나노입자는 1 이상의 중합체를 포함한다. 본 발명의 나노입자에 적합한 중합체는 바람직하게는 수용성이다. 수용성 중합체의 예는, 비제한적으로, 폴리비닐피롤리돈, 폴옥사머, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 알코올, 나트륨 알지네이트, 나트륨 히알루로네이트, 젤라틴, 카라기난, 크산탄 겔, 텍스트란 설페이트, 콘드로이틴 설페이트, 펙티네이트, 헤파린, 메타크릴산 공중합체, 더마탄 설페이트; 나트륨 카복시메틸 셀룰로오스, 히드록시에틸 셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스성 중합체 및 그의 혼합물을 포함한다.

- [0043] 폴리비닐피롤리돈은 이후 PVP로 표시되고 또 포비돈으로도 공지된 1-비닐-2-피롤리돈의 직선으로 배열된 단량체 단위를 갖는 3급 아미드 중합체이다. 이것은 약 10,000 내지 약 700,000 범위의 평균 분자량을 갖는 일련의 제품으로서 시판되고 있다. K-값으로 표시된 평균 분자량에 따라서 다양한 제품이 시판되고 있다; 예컨대 GAF 코포레이션은 다음 K-값을 갖는 PVP를 제공한다.
- | [0044] | K-값 | 평균 분자량 |
|--------|-----|-----------|
| [0045] | 15 | 약 10,000 |
| [0046] | 30 | 약 40,000 |
| [0047] | 60 | 약 160,000 |
| [0048] | 90 | 약 360,000 |
- [0049] 다른 공급자, BASF는 예컨대 2000-3000 (Kollidon 12 PF), 7000-11,000 (Kollidon 17 PF), 28,000-34,000 (Kollidon 25), 1,000,000-1,500,000 (Kollidon 90 F)의 분자량을 갖는 등급의 Kollidon으로서 폴리비닐 피롤리돈의 상이한 수용성 등급을 제공한다. 일 구체예로서, 폴리비닐피롤리돈은 수용성 중합체로서 사용된다. 본 발명에 적합한 폴리비닐피롤리돈의 등급은 약 1,000 내지 약 45,000, 바람직하게는, 약 4,000 내지 약 30,000 범위의 분자량을 갖는 등급을 포함한다. 본 발명의 일 구체예에 따르면, 나노분산액에 사용된 중합체의 양은 약 0.001% w/v 내지 약 20% w/v 범위이다. 상기 중합체는 바람직하게는 약 0.01% w/v 내지 약 5.0% w/v의 양으로 사용된다. 가장 바람직하게는, 약 0.01% w/v 내지 약 1.0 % w/v의 양으로 사용된다.
- [0050] 본 발명의 나노분산액은 1 이상의 계면활성제를 포함한다. 용어 계면활성제는 "표면 활성제"의 혼합물이다. 계면활성제는 수용성 (친수성) 부분 및 지용성(친유성) 부분을 포함하는 분자이다. 본 발명의 나노분산액에 사용된 계면활성제는 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함한다.
- [0051] 용어 지방산은 동물성 또는 식물성 지방, 오일 또는 왁스에 에스테르화된 형태로부터 유도되거나 또는 그 속에 함유되어 있는 지방족 (포화 또는 불포화) 일카복시산을 포함한다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 지방산 또는 그의 염의 예는, 비제한적으로, 탄소원자의 'n' 수를 갖는 지방산 또는 그의 염을 포함하며, 이때 'n'은 약 4 내지 약 28 범위이다. 지방산은 포화 지방산 또는 불포화 지방산, 및 그의 염 및 그의 조합물일 수 있다. 포화 지방산 및 그의 염은 부티르산, 카프로산, 카프릴산, 카프르산, 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 아라키드산, 베헨산, 나트륨 카프릴레이트, 나트륨 라우레이트, 나트륨 미리스테이트, 나트륨 팔미테이트 등 및/또는 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 불포화 지방산 및 그의 염은 미리스트올레산, 팔미트올레산, 올레산, 리놀레산, 알파 리놀렌산, 아라키돈산, 아이코사헵타에논산, 에루식산, 도코사헵사에논산, 나트륨 올레이트, 나트륨 아라키도네이트 등 및/또는 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 나노분산액 또는 나노입자에 사용될 수 있는 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 예는 스테롤의 산 에스테르일 수 있다. 본 발명에 따라 적합할 수 있는 스테롤은, 비제한적으로, 콜레스테롤, 피토스테롤, 에르고스테롤, 담즙산 염 및 그의 혼합물을 포함한다. 사용될 수 있는 콜레스테롤의 산 염은, 비제한적으로, 콜레스테릴 설페이트, 콜레스테롤 아세테이트, 콜레스테롤 클로로아세테이트, 콜레스테롤 벤조에이트, 콜레스테롤 미리스테이트, 콜레스테롤 헤미숙시네이트, 콜레스테롤 포스페이트, 콜레스테롤 포스페이트, 포스포네이트, 보레이트, 니트레이트, 콜레스테롤 신나메이트, 콜레스테롤 크로타노에이트, 콜레스테롤 부티레이트, 콜레스테롤 헵타노에이트, 콜레스테롤 헥사노에이트, 콜레스테롤 옥타노에이트, 콜레스테롤 노나노에이트, 콜레스테롤 데카노에이트, 콜레스테롤 올레이트, 콜레스테롤 프로피오네이트, 콜레스테롤 발레레이트, 디콜레스테릴 카보네이트 등 및 그의 혼합물을 포함한다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 피토스테롤은, 비제한적으로, 시토스테롤, 캄페스테롤, 스티그마스테롤, 브라시카스테롤 및 그의 유도체, 그의 염 및 그의 혼합물을 포함한다. 예컨대, 미국에서 Sigma에 의해 시판되는 피토스테롤* 은 시토스테롤, 캄페스테롤 및 디히드로브라시카스테롤을 함유한다. 담즙산은 콜린산(cholic acid), 체노데옥시콜린산, 데옥시콜린산, 글리코콜린산, 타우로콜린산, 우르소데옥시콜린산 및 그의 유도체, 그의 염 및 그의 혼합물을 포함한다. 스테롤은 또한 콜레스테롤 헤미숙시네이트를 비롯한 콜레스테롤의 에스테르, 콜레스테롤 수소 설페이트 및 콜레스테롤 설페이트를 비롯한 콜레스테롤의 염, 에르고스테롤; 에르고스테롤 헤미숙시네이트를 비롯한 에르고스테롤의 에스테르; 에르고스테롤 수소 설페이트 및 에르고스테롤 설페이트를 비롯한 에르고스테롤의 염; 라노스테롤, 라노스테롤 헤미숙시네이트를 비롯한 라노스테롤의 에스테르; 라노스테롤 수소 설페이트 및 라노스테롤 설페이트를 비롯한 라노스테롤의 염일 수 있다.

- [0053] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 나노입자는 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염 및 지방산 또는 그의 염의 혼합물인 계면활성제를 포함한다. 다른 바람직한 구체예로서, 상기 나노입자는 극성 산의 콜레스테롤 에스테르를 포함한다. 일개의 바람직한 구체예로서, 나노분산액 중에 사용된 계면활성제는 카프릴산 및 콜레스테릴 설페이트의 혼합물이다. 옥타논산으로 알려진 카프릴산은 구체예에서 약 0.001% w/v 내지 약 5.0% w/v, 더욱 바람직하게는 약 0.01%w/v 내지 약 1.0%w/v 그리고 가장 바람직하게는 약 0.01%w/v 내지 약 0.5 % w/v 범위의 양으로 사용될 수 있다. 콜레스테릴 설페이트는 본 발명의 구체예에서 약 0.001% w/v 내지 약 5.0% w/v, 더욱 바람직하게는 약 0.01%w/v 내지 약 1.0%w/v 그리고 가장 바람직하게는 약 0.01%w/v 내지 약 0.5 %w/v 범위의 양으로 사용된다.
- [0054] 계면활성제의 특정 혼합물은 탁산 유도체에 대한 계면활성제의 비율이 낮을 때에도 6시간 이상 동안 안정하게 유지되는 탁산 유도체의 나노분산액을 제공함이 놀랍게도 밝혀졌다.
- [0055] 본 발명의 상기 나노분산액에서, 탁산 유도체에 대한 계면활성제의 비율은 약 1: 5 내지 약 1: 10이다. 본 발명의 나노분산액은 적어도 6시간 동안 안정하게 유지되며, 특히 파클리탁셀을 포함하는 나노분산액은 24시간 동안 안정하게 유지되는 것으로 밝혀진 반면에, 도데탁셀을 포함하는 나노분산액은 8시간 동안 안정하게 유지되는 것으로 밝혀졌다.
- [0056] 다른 바람직한 구체예에 따르면, 사용된 계면활성제는 올레산 및 콜레스테릴 설페이트 및/또는 그의 혼합물로부터 선택된다.
- [0057] 본 발명의 다른 구체예에 따르면, 사용된 계면활성제는 포화 지방산 및 담즙산 또는 담즙 염 및/또는 그의 혼합물로부터 선택된다. 바람직한 구체예에 따르면, 사용된 계면활성제는 카프릴산 및 나트륨 글리코콜레이트 또는 우르소스테옥시콜린산 및/또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0058] 담즙 염이 사용될 때, 담즙 염은 약 0.001% w/v 내지 약 5.0% w/v, 더욱 바람직하게는 약 0.01%w/v 내지 약 1.0%w/v 그리고 가장 바람직하게는 약 0.01%w/v 내지 약 0.75 %w/v 범위의 양으로 사용된다.
- [0059] 본 발명의 조성물은 소량의 레시틴/인지질 및/또는 이들의 유도체를 더 포함할 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "소량"은 탁산 유도체에 대한 인지질의 비율이 약 1: 4 내지 약 1:10이어서, 인지질이 사용되더라도 이들은 탁산 유도체의 양에 비하여 아주 적은 양으로 사용되는 것을 의미하며, 즉 인지질의 양은 매우 적다. 일반적으로, 리포솜인 종래 기술의 조성물은 약물의 양에 비하여 다량의 인지질을 필요로 한다.
- [0060] 인지질이 소량으로 사용될 때 일부 구체예에서, 이러한 인지질의 예는, 비제한적으로, 레시틴 천연, 부분적으로 수소화된 또는 수소화된 레시틴 또는 스핀고지질을 포함한다. 천연 레시틴은 상이한 인지질의 혼합물이다. 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 인지질은 포스파티딜 콜린, (디미리스토일 포스파티딜 콜린, 디팔미토일 포스파티딜 콜린, 디스테아로일 포스파티딜 콜린, 디올레오일 포스파티딜 콜린, 디라우릴로일 포스파티딜 콜린, 1-팔미토일-포스파티딜 콜린, 1-미리스토일-2-팔미토일 포스파티딜 콜린, 1-팔미토일-2-미리스토일 포스파티딜 콜린, 1-스테아로일-2-팔미토일 포스파티딜 콜린); 포스파티딜 에탄올아민(디미리스토일 포스파티딜 에탄올아민, 디팔미토일 포스파티딜 에탄올아민, 디스테아로일 포스파티딜 에탄올아민, 리소파티딜 에탄올아민); 스핀고미엘린(뇌 스핀고미엘린, 디팔미토일 스핀고미엘린); 라이소레시틴; 세레브로시드 등 및 그의 혼합물로부터 선택된다. 또한 폴리에틸렌 글리콜-디스테아로일 포스파티딜에탄올아민 (PEG-DSPE), 메톡시폴리에틸렌 글리콜-디스테아로일 포스파티딜콜린 m-PEG-DSPE 등 및 그의 혼합물과 같은 지질의 폴리에틸렌 글리콜 유도체가 본 발명의 조성물에 사용될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 부틸렌시드는 m-PEG-DSPE (메톡시 폴리에틸렌 글리콜-디스테로일 포스파티딜 에탄올아민)이다.
- [0061] 본 발명의 일 구체예로서, 사용된 인지질은 mPEG-DSPE이다. 이것은 약 0.001%w/v 내지 약 10.0% w/v, 더욱 바람직하게는 약 0.01%w/v 내지 약 5.0%w/v 그리고 가장 바람직하게는 약 0.03%w/v 내지 약 0.5 %w/v 범위의 양으로 사용된다.
- [0062] 본 발명의 조성물에 사용된 비수성 용매는 탁산 유도체가 비교적 용해성인 용매이다. 비수성 용매는 물 또는 수성 용매와 혼화성이다. 본 발명에 사용된 수혼화성 용매의 예는, 비제한적으로, 에탄올, n-프로판올, 이소프로판올과 같은 알코올; 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 부틸렌 글리콜 및 그의 유도체와 같은 글리콜; PEG 400 또는 PEG 3350같은 폴리에틸렌 글리콜; PPG-10 부탄디올, PPG-10 메틸 글루코오스 에테르, PPG-20 메틸 글루코오스 에테르, PPG-15 스테아릴 에테르와 같은 폴리프로필렌 글리콜 및 그의 유도체; 글리세롤; 글리코푸롤 등 및 그의 혼합물을 포함한다.

- [0063] 본 발명의 일 구체예로서, 비수성 용매는 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 그의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 바람직한 구체예로서, 에탄올 및 PEG (폴리에틸렌 글리콜)의 혼합물이 수산화성 용매로 사용된다. 에탄올은 본 발명의 나노분산액 조성물에서 약 0.001% w/v 내지 약 5% w/v, 더욱 바람직하게는 약 0.05% w/v 내지 약 0.5% w/v 그리고 가장 바람직하게는 약 0.1% w/v 내지 약 0.25% w/v 범위의 양으로 사용된다. 사용되는 폴리에틸렌 글리콜은 바람직하게는 PEG-400 및 PEG-3350을 포함한다. PEG-400은 본 발명의 구체예에서 약 0.01% w/v 내지 약 20.0% w/v, 더욱 바람직하게는 약 0.05% w/v 내지 약 5.0% w/v 그리고 가장 바람직하게는 약 1.0% w/v 내지 약 2.5% w/v 범위의 양으로 사용된다. PEG-3350은 본 발명의 구체예에서 약 0.001% w/v 내지 약 10.0% w/v, 더욱 바람직하게는 약 0.05% w/v 내지 약 5.0% w/v 그리고 가장 바람직하게는 약 0.1% w/v 내지 약 3% w/v 범위의 양으로 사용된다.
- [0064] 일반적으로, 탁산 예비농축액, 즉 수성 비히클에 의해 희석하면 나노분산액을 생성하는 상기 용액은 적어도 약 4시간 동안 안정하게 유지된다. 이 시간은 나노분산액이 주입물 형태로 환자에게 투여될 수 있는 시간이다. 따라서, 최소 4시간 안정성의 본 발명의 나노분산액을 달성하는 것이 항상 바람직하다. 비히클은 주사액의 경우 물 중의 약 5% 내지 약 10.0 % w/v 텍스트로오스 용액 및 기타 약제학적으로 허용되는 정맥 수성 액체 비히클 및 그의 혼합물을 더 포함할 수 있다. 탁산 유도체가 파클리탁셀인 본 발명의 구체예의 하나에서, 수성 비히클은 부가적 안정화제가 수성 상 중에 존재할 수 있는 상기 안정성을 향상시키기 위하여 5 % 텍스트로오스 용액을 더 포함할 수 있다. 이러한 안정화제의 예는 헤타스타치, 텍스트란, 나트륨 히알уро네이트, 글루타치온, 오르니틴-L-아스파테이트 등 및 그의 혼합물이다. 다른 구체예로서, 5 % 텍스트로오스 용액 중의 0.01 %의 아르기닌의 사용은 8시간 동안 안정한 도데탁셀의 나노분산액을 생성할 수 있는 반면에, 5 % 텍스트로오스 용액 중의 1 % 히스티딘의 사용은 5시간 동안 안정한 도데탁셀의 나노분산액을 초래함이 밝혀졌다. 도세탁셀이 탁산 유도체로 사용되는 구체예에서, 수성 비히클은 헤타스타치, 텍스트란, 나트륨 히알уро네이트, 글루타치온, 오르니틴-아스파테이트; 히스티딘, 아르기닌 등과 같은 아미노산 및 그의 혼합물을 더 포함할 수 있다. 이들 부가적인 안정화제는 수성 비히클의 약 0.02 % 내지 약 5 % 범위 양으로 존재할 수 있다. 일개의 바람직한 구체예로서, 도데탁셀의 나노분산액에 대하여 5 % 텍스트로오스 용액 중의 0.5 %의 헤타스타치의 사용은 5시간 이상 동안 입자 크기 면에서 안정하였다.
- [0065] 본 발명의 탁산 유도체의 나노분산액은 이하에 수록된 공정 중의 하나에 의해 전형적으로 제조될 수 있다:
- [0066] 1) 치료적 활성성분 (탁산 유도체 및/또는 기타 물질), 중합체(들) 및 지방산 또는 그의 염, 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염 및 그의 혼합물로부터 선택된 계면활성제(들)를 에탄올 및/또는 PEG와 같은 수산화성 용매에 용해시키고, 그와 함께 교반 및 가열하여 약물의 농축된 용액을 얻었다. 얻어진 용액은 막 필터를 통하여 여과한다. 이 용액에, 수성 액체 비히클(5% 텍스트로오스 용액)을 서서히 부가하고 또 그 혼합물을 진탕/교반시키고, 따라서 본 발명의 나노분산액 형성을 초래한다. 이렇게 형성된 나노분산액은 경우에 따라 균질화되거나 및/또는 초음파처리, 여과 또는 동결건조된다. 의약의 동결건조 분말은 수성 매질에 의해 재구성되어 환자에게 투여되기 전에 본 발명의 나노분산액을 재형성할 수 있다.
- [0067] 2) 탁산 유도체, 중합체(들) 및 지방산 또는 그의 염, 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염 및 그의 혼합물로부터 선택된 계면활성제(들)를 에탄올 및/또는 PEG와 같은 수산화성 용매에 용해시키고 그와 함께 교반하고 가열하여 약물의 농축된 용액을 얻었다. 이렇게 얻어진 용액은 막 필터를 통하여 여과시키고 또 수성 매질(5% 텍스트로오스 용액)에 부가하고 또 그 혼합물을 진탕/교반하여, 본 발명의 나노분산액 형성을 초래하였다. 이렇게 형성된 나노분산액을 경우에 따라 균질화시키거나 및/또는 초음파처리, 여과 또는 동결건조시켰다. 의약의 동결건조 분말은 환자에게 투여하기 전에, 수성 매질에 의해 재구성되어, 본 발명의 나노분산액을 재형성한다.
- [0068] 3) 탁산 유도체 및 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염의 혼합물을 포함하는 계면활성제(들)를 에탄올 및/또는 PEG와 같은 수산화성 용매에 용해시키고 원형 바닥 플라스크내, 40℃에서 약간 가온시키는 것에 의해 용매를 증발시켜 약물의 박막을 얻었다. 이 중합체(들)을 소망하는 양의 수성 매질에 용해시키고 또 이 용액을 3-4시간 동안 부드럽게 교반 및 진탕하면서 필름에 부가하여, 본 발명의 나노분산액의 형성을 초래하였다. 이렇게 형성된 나노분산액은 경우에 따라 균질화되거나 및/또는 초음파처리, 여과 및 동결건조시킨다. 의약의 동결건조 분말은 환자에게 투여하기 전에 수성 매질에 의해 재구성되어 본 발명의 나노분산액을 재형성한다.
- [0069] 본 발명의 나노분산액은 300 nm 미만의 평균 크기를 갖는 나노입자를 포함하는 탁산 유도체의 콜로이드성 나노분산액이기 때문에, 이들을 물리적 및 화학적 안정성에 대해 분석하였다. 입자들은 실온에서 약 8시간 내지 약 24시간 저장할 때 응집되지 않으며 또 상기 나노분산액은 외관 변화 징후도 나타내지 않음이 관찰되었는데, 이

로부터 투여하기 전 또는 투여하는 동안 상기 나노분산액은 소망하는 시간 동안 안정하다는 것을 추론할 수 있다.

[0070] 탁산 유도체 및/또는 기타 물질이 수산화성 용매에 용해된 용액을 시험할 때, 상기 용액은 적어도 3개월 동안 물리적으로 또 화학적으로 안정하게 유지되며, 약물의 에세이에서 유의한 변화를 나타내지 않고 또 제형의 실질적인 응집 또는 외관 변화도 나타내지 않음이 관찰되었다. 상기 관찰은 하기 실시예에 예시되어 있다.

[0071] 본 발명의 나노분산액은 2개 또는 그 이상의 용기, 예컨대 2개의 용기를 갖는 키트로 제공될 수 있으며, 이때 제1 용기는 탁산 유도체, 중합체 및 지방산 또는 그의 염 및 스테롤 또는 그의 유도체 또는 그의 염을 포함하는 계면활성제가 수산화성 용매에 용해된 용액을 포함하고, 또 제2 용기는 수성 액체 비히클을 포함하고 있어, 제2 용기의 내용물을 제1 용기의 내용물에 부가하거나 또는 제1 용기의 내용물을 제2 용기의 내용물에 부가하고, 약하게 교반 또는 진탕하면 본 발명의 나노분산액 형성을 초래하며 이것은 정맥 투여에 적합하다. 부가적 용기는 탁산 나노분산액을 형성하기 이전에 또는 상기 탁산의 나노분산액이 형성된 후 혼합하기 위한 제3 성분을 함유할 수 있다.

[0072] 본 발명은 또한 2개 용기를 갖는 키트를 제공하며, 이때 제1 용기는 동결건조 형태의 나노분산액을 포함하고 또 제2 용기는 수성 액체 비히클을 포함하며, 환자에게 투여하기 전에 제2 용기의 내용물을 제1 용기의 내용물에 부가할 수 있거나 또는 제1 용기의 내용물을 제2 용기의 내용물에 부가하고 온화하게 교반 또는 진탕하여, 본 발명의 나노분산액의 형성을 초래한다.

[0073] 필요로 하는 환자에게 본 발명의 나노분산액을 투여하는 것은 당해 분야에서 공지된 다양한 유형의 암을 치료하는 효과적인 방법을 제공할 것이다.

[0074] 본 발명의 나노분산액의 효능 및 독성을 Abraxane[®], Oncotaxel[®] 등과 같은 시중에서 입수할 수 있는 탁셀 제품과 비교하였다. 효능은 다음 변수를 기준으로 하여 평가하였다:

[0075] 1. 종양 평가: 시간(일수)에 따른 종양 부피(mm³) 감소에 대해 종양을 평가하였다. 종양들은 42일에 걸쳐 평가하였다.

[0076] 2. % T/C= (X일에 약물 처리군의 평균 종양 부피/X일에 약물 미처리군의 평균 종양 부피) x 100

[0077] 3. 종양 회귀: 임상 관련에서 중요한 종말점인 실험 동물 종양 모델에서의 종양 회귀. 종양 회귀는 종양 부피가 측정가능한 크기 아래로 떨어짐 없이 처리 개시시의 종양 부피의 50% 미만으로 감소하면 부분적(PR)으로 기록하거나, 또는 종양 부담이 축적하기 힘들면 완전함(CR)으로 기록하였다.

[0078] 4. 특이적 종양 성장 지연(SGD)은 동일 부피(V)에 도달하는 대조 종양에 대하여 소정 부피(v) 및 시간에 도달하는 약물 처리 종양 및 대조 종양에서 시간의 차이 비율로서 정의되며, 이때 V는 처리 개시시에 초기 종양 부피로부터 2회의 부피 배가후 종양 부피이고 또 Tv는 소정 부피에 도달하는 약물 처리 군 또는 대조군에 대한 시간이다. V 값이 시험군 또는 참조군 동물에서 45일 이내에 도달하지 않으면, 동일 값 *45일은 그 동물에 대한 Tv에 있는 것으로 간주된다. 이 시험은 SGD 변수가 1 이상이면 효과적인 것으로 간주된다.

[0079] 5. 체중 변화도 산출하였다(X일에서 동물의 체중 - 0일에서 동물의 체중) x 100

[0080] 6. 생존 분석은 카플란 마이어법(Kaplan Meier method)에 의해 실시하였다. P 값 <0.05은 유의한 것으로 간주되었다.

[0081] 본 발명의 나노분산액의 효능은 상술한 변수에 의해 평가하였지만, 나노분산액의 효능을 측정하기 위해서는 다른 적합한 또는 유사한 시험 방법을 적용할 수 있다. 본 발명의 시험된 나노분산액은 실시예 27, 28 및 29에서 예시된 바와 같이 유효한 것이 밝혀졌다.

[0082] 본 발명의 나노분산액의 독성은 정맥 경로에 의해 시험을 CD-1에 투여하는 것에 의해 측정하였다. 마지막 주사 후, 투여 후 동물을 1시간 및 4-6시간 동안 관찰하였다. 그후, 마우스를 15일 동안 임상 증상 및 사망률에 대해 매일 1회 2회 관찰하였다. 투여한지 1, 7 및 14일 후에 모든 생존 동물의 체중을 기록하였다. 15일에, 생존 동물의 부검을 실시하고 육안병리소견(gross pathology)을 기록하였다. 독성 연구의 결과는 파클리탁셀 나노분산액 및 도세탁셀 나노분산액 각각에 대하여 실시예 25 및 26에서 자세하게 기재되어 있다.

[0083] 본 발명은 상기에 일반적으로 기재하였지만, 이하의 실시예를 참조하여 부가적인 특징을 더욱 논의하고 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 어떠한 제한을 의미하지 않는다.

실시예 1 - 5

본 발명의 나노분산액은 하기 표 1에 기재한다.

표 1

일련 번호	성분	양 (% w/v)				
		실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4	실시예 5
1	파클리탁셀	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.01	0.01	0.01	0.02	0.04
3	카프릴산	0.0125	0.0125	0.0125	0.025	0.05
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	0.125	0.0625	0.0325	0.125	0.125
5	에탄올	0.14825	0.14825	0.14825	0.14825	0.14825
6	PEG-400	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
7	텍스트로오스 (5%)	100.0을 이루 는 충분량	100.0을 이루 는 충분량	100.0을 이루 는 충분량	100.0을 이루 는 충분량	100.0을 이루 는 충분량

과정:

- 약물, 콜레스테릴 설페이트, 카프릴산 및 PVP K-30을 바이얼에서 정확하게 측량하였다.
 - 내용물을 소망하는 양의 무수 에탄올 및 PEG-400에 용해시키고, 교반하고 45℃에서 가열하는 것에 의해 용액을 얻었다.
 - 상기 용액을 0.2μ PVDF 막 필터를 통하여 여과하였다.
 - 상기 약물의 용액을 함유하는 바이얼에 텍스트로오스 용액(5%)을 부가하고 또 부드럽게 진탕하여 투명 내지 반투명 나노분산액을 얻었다.
 - 상기 나노분산액의 pH는 pH 미터(Mettler Toledo-seven easy)를 이용하여 측정하였다.
 - 나노분산액의 입자 크기는 입자 크기 분석기(Nano-ZS, Malvern)에 의해 측정하였다.
- 조성물의 외관, pH 및 입자 크기를 관찰하고 하기 표 2에 요약하였다.

표 2

관찰					
	실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4	실시예 5
외관					
초기	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액
RT에서 24시간	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액	거의 투명 내지 반투명 분산액
pH	3.86	4.0	4.0	4.0	4.0
입자 크기 (nm)					
초기	127	146	179	136	122
3시간	134	148	156	138	158
24시간	128	154	158.2	169	169

본 발명의 나노분산액은 물리적으로 안정하며, 실온에서 24시간 저장하면 제형의 실질적인 응집이나 외관변화를 나타내지 않는다.

이들 실시예의 나노분산액 조성물은 150 mg/100 ml의 파클리탁셀을 함유한다. 70 kg 사람에 대하여 약 300 mg의 파클리탁셀을 인간 투여하는 경우, 200 ml의 각 나노분산액 조성물을 환자에게 투여할 수 있다. 따라서 20 내지

80 mg의 콜레스테릴 설페이트, 25 내지 100 mg의 카프릴산, 65 내지 250 mg의 PVP 및 약 300mg 에탄올이 실시예 1 내지 5의 파클리탁셀 조성물의 단일 성인 투여량을 받을 것이다. 따라서 본 발명의 조성물은 활성제와 함께 공동투여되는 아주 소량의 부형제를 갖는 나노크기의 입자를 제공한다.

실시예 6-7에 기재된 바와 같은 약제학적 조성물은 환자에게 투여하기 전에 본 발명의 나노분산액을 얻기 위하여 희석제(5% w/v 텍스트로오스 용액)에 의해 몇 회 희석되어야 한다.

본 발명은 특정 구체에 및 적용 면에서 기재하였지만, 상기 내용을 참조하여 당업자는 특허청구범위의 정신을 벗어나거나 초과하지 않으면서 추가적인 구체에 및 변형을 생성할 수 있다. 본 발명의 상술한 구체에, 특히 "바람직한 구체에"는 본 발명을 실시할 수 있는 가능한 예이며, 본 발명의 원리를 잘 이해하기 위해 제시된 것이다.

따라서, 본 명세서의 도면 및 상세한 설명은 본 발명의 이해를 용이하게 하기 위한 바람직한 예이며 본 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다.

실시예 6-7

탁산 유도체의 농축 용액으로서 본 발명의 조성물은 하기 표 3에 기재되어 있다.

표 3

일련 번호	성분	양 (%w/w)	
		실시예 6 (약물 농도: 60mg/gm)	실시예 7 (약물 농도: 100mg/gm)
1	파클리탁셀	6.0	10.0
2	콜레스테릴 설페이트	0.400	0.66
3	카프릴산	0.500	0.830
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	5.0	4.16
5	에탄올	6.0	10.0
6	PEG-400	100.0을 이루는 충분량	100.0을 이루는 충분량

과정:

● 약물, 콜레스테릴 설페이트, 카프릴산 및 PVP K-30을 유리 용기에서 정확하게 측량하였다.

● 내용물을 소망하는 양의 무수 에탄올 및 PEG-400에 용해시키고 교반하고 또 45℃에서 가열하여 농축된 약물 용액을 얻었다.

● 상기 용액을 0.2μ PVDF 막 필터를 통하여 여과하였다.

● 실시예 6의 용액을 바이얼에 충전하고(60 mg 약물을 함유하는 바이얼 당 1 gm) 또 안정성을 위해 하전시켰다.

나노분산액 형태의 안정성 샘플을 분석하였다. 텍스트로오스 용액(5%w/v) (40 ml)을 약물 농축액(60 mg 약물)을 함유하는 바이얼에 서서히 부가하고 부드럽게 진탕시켜 1.5 mg/ml로 희석된 약물의 투명 내지 반투명 나노분산액을 얻었다. 이 나노분산액을 다음 시험에 대해 분석하였다: 하기 표 4에 기재된 바와 같이 외관, 약물의 에세이, pH(Mettler Toledo-seven easy, pH Meter) 및 입자 크기(Nano-ZS, Malvern 입자 크기 분석기).

표 4

실시예 6의 안정성 데이터

안정성 조건	농축된 약물 용액	나노분산액				
		외관	약물의 에세이	pH	입자 크기 (nm)	
					초기	24시간 후
초기	투명, 무색, 점성 액체	거의 투명 내지 반투명 나노분산액	96.59	3.97	152	146
25℃/60% RH						
1 M	-do-	-do-	93.55	4.00	133	149
3 M	-do-	-do-	94.07	4.00	165	162
냉장고 2-8℃						
1 M	-do-	-do-	94.86	3.96	132	127
3 M	-do-	-do-	94.47	3.99	159	165

[0110]

[0111]

3개월에 걸친 파클리탁셀의 에세이에서 아무런 변화가 없었고, 이는 상기 제형이 화학적으로 안정함을 나타낸다. 또한, 본 발명의 조성물은 물리적으로 안정하며, 저장시 제형의 실질적인 응집이나 외관 변화를 나타내지 않음을 알 수 있다.

[0112]

실시예 8

[0113]

PVP K-12를 사용하는 본 발명의 약제학적 조성물은 하기 표 5에 기재되어 있다. 나노분산액의 제조 과정은 실시예 1-7에서와 동일하다.

표 5

일련 번호	성분	양 (% w/v)
1	파클리탁셀	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.01
3	카프릴산	0.0125
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-12	0.125
5	에탄올	0.14825
6	PEG-400	2.0
7	텍스트로오스 (5%)	100.0을 이루는 총분량

[0114]

[0115]

조성물의 육안 외관, pH 및 입자 크기를 관찰하고 하기 표 6에 요약하였다.

표 6

관찰 외관	
초기	거의 투명 내지 반투명 분산액
RT에서 24시간	거의 투명 내지 반투명 분산액
pH	4.0
입자 크기 (nm)	
초기	164
1h	169
3h	179
5h	177
24h	177

[0116]

RT: 실온

[0117] 본 발명의 조성물은 물리적으로 안정하며, 실온에서 24시간 저장시 제형의 실질적인 응집이나 외관 변화가 없음을 알 수 있다.

[0118] 실시예 9

[0119] 탁산 유도체의 농축 용액으로서 본 발명의 조성물은 하기 표 7에 기재된다.

표 7

일련 번호	성분	양 (%w/w) (약물 농도: 100mg/gm)
1	파클리탁셀	10.0
2	콜레스테릴 설페이트	0.66
3	카프릴산	0.83
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-12	8.33
5	에탄올	10.0
6	PEG-400	100.0이루도록 충분량

[0120]

[0121] 안정성 샘플은 하기 기재한 바와 같이 분석하고 안정성 데이터를 하기 표 8에 수록한다.

[0122] 약물의 에세이는 농축된 약물 용액에서 실시하였다. 다른 관찰의 경우, 텍스트로오스 용액(5%w/v)(40 ml)을 약물 농축액(60 mg 약물)을 함유하는 바이알에 서서히 부가하고 부드럽게 진탕하여 1.5 mg/ml 희석율을 갖는 약물의 투명 내지 반투명 나노분산액을 얻었다. 이 나노분산액을 하기 시험에 대해 분석하였다: 외관, pH (Mettler Toledo-seven easy, pH Meter) 및 입자 크기 (Nano-ZS, Malvern 입자 크기 분석기)

표 8

실시예 9의 안정성 데이터

안정성 조건	예비농축액		나노분산액				
	외관	에세이	외관	pH	입자 크기 (nm)		
					초기	8시간 후	24시간 후
초기	투명, 무색, 점성 액체	97.02	거의투명 내지 반투명 나노분산액	3.87	149	156	160
25℃/60% RH							
1 M	-do-	97.81	-do-	3.90	159	225	246
3 M	-do-	99.08	-do-	3.74	146	153	160
12 M	-do-	100.32	-do-	3.8	110	115	114
냉장고 2-8℃							
1M	-do-	98.02	-do-	3.92	140	150	150
3M	-do-	98.02	-do-	3.72	97.9	109	111
12M	-do-	99.10	-do-	3.75	113	119	113

[0123] RH: 상대습도

[0124] 3개월에 걸친 파클리탁셀의 에세이에서 아무런 변화가 없었고, 이는 상기 제형이 저장시 화학적으로 안정함을 나타낸다. 또한, 본 발명의 조성물은 물리적으로 안정하며, 다양한 저장 조건에서 저장시 제형의 실질적인 응집이나 외관 변화가 없음을 알 수 있다. 도 4a는 초기 시간에서 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램을 도시하고 또 도 4b는 실온에서 24시간 동안 저장될 때 실시예 9의 파클리탁셀의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램을 도시한다. 상기 히스토그램은 실온에서 약 24시간 동안 저장된 후 평균 입자 크기가 거의 일정해서 나노분산액의 안정한 성질을 나타냄을 보여준다.

[0125] 실시예 10

[0126] PEG-3350을 함유하는 본 발명의 약제학적 조성물은 하기 표 9에 기재된다.

표 9

일련 번호	성분	양 (% w/v)
1	파클리탁셀	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.01
3	카프릴산	0.0125
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	0.0625
5	에탄올 (%v/v)	2.5
6	PEG-3350	0.5
7	텍스트로오스 (5%)	100.0을 이루는 충분량

제조:

- 약물, 콜레스테릴 설페이트, 카프릴산, PVP K-30 및 PEG 3350을 바이알에서 측정하였다.
 - 바이알의 내용물을 소망하는 양의 무수 에탄올에 용해시키고 교반하고 또 투명 용액이 얻어질 때까지 45℃에서 가열하였다.
 - 상기 에탄올성 용액을 서서히 텍스트로오스 용액(5%)에 부가하고 교반하여 나노분산액을 형성하였다.
 - 나노분산액의 pH는 pH 미터(Mettler Toledo-seven easy)를 이용하여 측정하였다.
 - 나노분산액의 입자 크기는 입자 크기 분석기(Nano-ZS, Malvern 입자 크기 분석기)를 이용하여 측정하였다.
 - 상기 나노분산액은 0.2μ 필터 막을 통하여 여과하였다.
 - 20 ml의 상기 나노분산액을 바이알에 충전하고 또 동결건조(Virtis)시켰다.
- 동결건조하기 전에 나노분산액의 육안 외관 및 입자 크기는 나노분산액이 제조된 직후 및 실온(RT)에서 저장한 지 24시간 및 48시간 후에 관찰하였다. 이들을 하기 표 10에 요약하였다.

표 10

관찰	외관	입자 크기 (nm)
초기	반투명 나노분산액	128
RT에서 24시간	반투명 나노분산액	132
RT에서 48시간	반투명 나노분산액	137

RT: 실온

본 발명의 조성물은 물리적으로 안정하며 실온에서 24 내지 48시간 동안 저장시 제형의 실질적인 응집이나 외관 변화를 나타내지 않음을 알 수 있다.

동결건조 케이크의 재구성: 동결건조 후, 바이알에서 얻어진 케이크는 주사(20 ml)를 위해 물에 주입하는 것에 의해 분산되며 부드럽게 진탕되어 1.5 mg/ml 농도를 갖는 파클리탁셀 나노분산액을 얻었다.

바이알당 내용물 및 재구성된 나노분산액의 특징은 각각 하기 표 11 및 12에 나타낸다.

표 11

일련 번호	성분	양 (mg/바이알)
1.	파클리탁셀	30.0
2.	콜레스테릴 설페이트	2.0
3.	카프릴산	2.5
4.	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	12.5
5.	PEG-3350	100.0

[0141]

[0142]

각 바이알은 조성물 내에 30 mg 파클리탁셀을 함유하였다. 70 kg 되는 사람에 대해 약 300 mg의 파클리탁셀을 투여하기 위하여, 상기 조성물의 10개 바이알을 취하여 WFI와 같은 희석제 60 내지 600 ml에서 재구성되어 0.5 내지 5.0 mg/ml의 파클리탁셀 주입물을 얻었다. 이렇게 희석된 조성물은 환자에게 투여되면 20 mg의 콜레스테릴 설페이트, 25 mg의 카프릴산 및 125 mg의 PVP를 함유할 것이다.

표 12

관찰 재구성 후.	외관	입자 크기 (nm)
초기	반투명 나노분산액	217
RT에서 24시간	반투명 나노분산액	225

[0143]

[0144]

본 발명의 조성물은 물리적으로 안정하며, 실온에서 24시간 저장시 제형의 실질적인 응집이나 외관 변화를 나타내지 않음을 알 수 있다.

[0145]

실시예 11 및 비교예 I-III

표 13

일련 번호	성분	양 (%w/v)			
		실시예 11	비교예		
			I	II	III
1.	파클리탁셀	0.15			
2.	콜레스테릴 설페이트	0.01	-	0.01	0.01
3.	카프릴산	0.0125	0.0125	-	0.0125
4.	폴리비닐 피롤리돈 (K-30)	0.0625	0.0625	0.0625	-
5.	에탄올	0.1875	0.1875	0.1875	0.1875
6.	PEG-400	2.0	2.0	2.0	2.0
7.	텍스트로오스 (5% w/v)	100 ml			

[0146]

표 14

관찰

초기 외관	투명, 청색 색조를 띠	청색 색조를 띠는 균일한 분산액	청색 색조를 띠 반투명	청색 색조를 띠는 균일한 분산액
입자 크기(nm)				
초기		234	175	237
1 시간		243	176	-
3 시간		253	178	258
5 시간		응집 관찰됨		

[0147]

[0148]

실시예 12

[0149]

본 발명의 약제학적 조성물을 표 15에 기재하며 또 다양한 변수에 대한 관찰은 표 16에 기재한다.

표 15

일련 번호	성분	실시에 농축된 약물 용액	
		실시에 12 농축된 약물 용액	실시에 12a 나노분산액
		양 (%w/w)	양 (%w/v)
1	파클리탁셀	10.0	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.66	0.01
3	카프릴산	0.830	0.0125
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	4.16	0.0625
5	mPEG-디스테아로일 포스파티딜 에탄올아민 (mPEG-DSPE)	4.16	0.0625
6	에탄올	10.0	0.14825
7	PEG-400	100을 이루는 충분량	2.0
8	텍스트로오스 (5% w/v)	-	100.0 ml를 이루는 충분량

[0150]

표 16

관찰	실시에 12	실시에 12 a
pH	-	4.0
제타 전위	-	-32.4
외관		
초기	투명 무색 점성 액체	거의 투명 내지 반투명 나노분산액
RT에서 24시간	투명 무색 점성 액체	거의 투명 내지 반투명 나노분산액
입자 크기 (nm)	투명 용액	
초기		146
1h		146
3h		146
5h		147
8h		147
24h		130

[0151]

실시예 13-14

올레산 및 스테아르산을 사용하여 제조한 본 발명의 나노분산액 조성물은 하기 표 17에 기재한다:

표 17

일련 번호	성분	양 (%w/v)	
		실시예 13 (약물 농도: 1.5 mg/ml)	실시예 14 (약물 농도: 1.5 mg/ml)
1	파클리탁셀	0.15	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.01	0.01
3	올레산	0.0125	-
4	스테아르산	-	0.0125
5	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	0.0625	0.0625
6	에탄올	0.14825	0.14825
7	PEG-400	2.0	2.0
8	텍스트로오스 (5% w/v)	100.0 ml를 이루는 충분량	100.0 ml를 이루는 충분량

이들 조성물의 제조 과정은 실시예 1-5에서와 동일하다. 이렇게 얻어진 나노분산액은 거의 투명 내지 반투명하고 또 각각 134 nm 및 155 nm의 평균 입자 크기를 갖는다.

실시예 15

콜레스테롤을 사용하여 제조한 본 발명의 약제학적 조성물을 하기 표 18에 기재한다.

표 18

일련 번호	성분	양 (%w/v)
1	파클리탁셀	0.15
2	콜레스테롤	0.01
3	카프릴산	0.830
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	0.0625
5	에탄올	0.14825
6	PEG-400	2.0
7	텍스트로오스 (5% w/v)	100.0 ml를 이루는 충분량

과정:

- 약물, 콜레스테롤, 카프릴산 및 PVP K-30을 유리 용기에서 정확하게 측정하였다.
 - 내용물을 소망하는 양의 무수 에탄올 및 PEG-400에 용해시키고 교반 및 45℃에서 가열하여 농축된 용액을 얻었다.
 - 농축된 용액을 0.2 μ PVDF 막 필터를 통하여 여과하였다.
 - 텍스트로오스 용액(5%w/v)을 농축된 용액(100 mg 약물)을 함유하는 상기 바이알에 서서히 부가하고 부드럽게 진탕하여 1.5 mg/ml로 희석된 투명 내지 반투명 나노분산액을 얻었다.
 - 나노분산액의 pH는 pH 미터(Mettler Toledo-seven easy)를 이용하여 측정하였다.
 - 나노분산액의 입자 크기는 입자 크기 분석기(Nano-ZS, Malvern)를 이용하여 측정하였다.
- 상기 실시예의 나노분산액 조성물은 거의 투명 내지 반투명하였고 또 217 nm의 평균 입자 크기를 가졌다.

실시예 16

담즙산/염(나트륨 글리코콜레이트 및 우르소데옥시콜린산)을 사용하여 제조한 본 발명의 약제학적 조성물을 하기 표 19에 기재한다.

표 19

일련 번호	성분	양 (%w/v) (약물 농도 :1.5 mg/ml)	
		실시예 16 a	실시예 16 b
1	파클리탁셀	0.15	0.15
2	나트륨 글리코콜레이트	0.75	-
3	우르소데옥시콜린산	-	0.01
4	카프릴산	0.0125	0.0125
5	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	0.0625	0.0625
6	에탄올	0.14825	0.14825
7	PEG-400	2.0	2.0
8	텍스트로오스 (5% w/v)	100.0 ml를 이루는 충분량	100.0 ml를 이루는 충분량

과정:

- 약물, 담즙산/염, 카프릴산, PVP K-30을 유리 용기에서 정확하게 측정하였다.
 - 내용물을 소망하는 양의 무수 에탄올 및 PEG-400에 용해시키고 교반하고 또 45℃에서 가열하여 농축된 용액을 얻었다.
 - 상기 농축된 용액을 0.2μ PVDF 막 필터를 통하여 여과하였다.
 - 상기 농축된 용액(100 mg 약물)을 함유하는 바이알에 텍스트로오스 용액 (5%w/v)을 서서히 부가하고 부드럽게 진탕시켜 1.5mg/ml로 희석된 반투명의 나노분산액을 얻었다.
 - 나노분산액의 pH는 pH 미터(Mettler Toledo-seven easy)를 이용하여 측정하였다.
 - 나노분산액의 입자 크기는 입자 크기 분석기(Nano-ZS, Malvern)에 의해 측정하였다.
- 이렇게 제조된 나노분산액 조성물은 거의 반투명 외관을 갖고 또 각각 197 nm 및 180 nm의 평균 입자 크기를 가졌다.

실시예 17

PVP K-90을 함유하는 본 발명의 약제학적 조성물은 하기 표 20에 기재한다.

표 20

일련 번호	성분	양 (%w/v)
1.	파클리탁셀	0.15
2.	콜레스테릴 설페이트	0.01
3.	카프릴산	0.0125
4.	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-90	0.0625
5.	에탄올	0.14825
6.	PEG-400	2.0
7.	텍스트로오스 (5% w/v)	100.0 ml를 이루는 충분량

제조 과정은 실시예 1-5에서와 동일하다. 이렇게 제조한 나노분산액은 거의 투명 내지 반투명한 외관을 가지며

또 207 nm의 평균 입자 크기를 가졌다.

[0182] 실시예 18

[0183] 히알루론산 염을 함유하는 본 발명의 약제학적 조성물은 하기 표 21에 기재한다.

표 21

일련 번호	성분	양 (%w/v)
1	파클리탁셀	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.01
3	카프릴산	0.0125
4	나트륨 히알уро네이트	0.025
5	에탄올	0.148
6	PEG-400	2.0
7	텍스트로오스 (5% w/v)	100.0 ml를 이루는 충분량

[0184] 과정:

- 약물, 콜레스테릴 설페이트 및 카프릴산을 유리 용기에서 정확하게 측량하였다.
- 내용물을 소망하는 양의 무수 에탄올 및 PEG-400에 용해시키고 교반하고 45℃에서 가열하여 농축된 약물 용액을 얻었다.
- 이 용액을 0.2μ PVDF 막 필터를 통하여 여과하였다.
- 나트륨 히알уро네이트를 텍스트로오스 용액(5%w/v)에 용해시키고 또 상기 농축된 약물 용액(30mg)을 함유하는 바이알에 서서히 부가한 다음 나머지 5% w/v 텍스트로오스 용액을 부가하고 부드럽게 진탕하여 1.5mg/ml 희석된 반투명한 나노분산액을 얻었다.
- 나노분산액의 pH는 pH 미터(Mettler Toledo-seven easy)를 이용하여 측정하였다.
- 나노분산액의 입자 크기는 입자 크기 분석기(Nano-ZS, Malvern)에 의해 측정하였다.

[0190] 이렇게 하여 얻은 나노분산액 조성물은 거의 반투명한 외관이며 또 평균 입자 크기는 263 nm이었다.

[0191] 실시예 19

[0192] 폴리글루탐산 염을 함유하는 본 발명의 약제학적 조성물은 하기 표 22에 기재된다.

표 22

일련 번호	성분	양 (%w/v)
1	파클리탁셀	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.01
3	카프릴산	0.0125
4	폴리글루탐산, 나트륨 염	0.0625
5	에탄올	0.148
6	PEG-400	2.0
7	텍스트로오스 (5% w/v)	100.0 ml를 이루는 충분량

[0195] 나노분산액의 제조 과정은 실시예 18에서와 동일하다. 이렇게 제조한 나노분산액 조성물은 거의 반투명한 외관이며 또 평균 입자 크기가 295 nm이었다.

[0196] 실시예 20

[0197] 부가적인 치료제 텍사메타손을 함유하는 본 발명의 약제학적 조성물은 하기 표 23에 기재한다.

표 23

일련 번호	성분	양 (%w/v)
1	파클리탁셀	0.15
2	텍사메타손	0.01
3	카프릴산	0.0125
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	0.0625
5	에탄올	0.148
6	PEG-400	2.0
7	텍스트로오스 (5% w/v)	100.0 ml를 이루는 충분량

[0199]

[0200] 이렇게 제조한 나노분산액 조성물은 거의 반투명한 외관이며 또 평균 입자 크기가 185 nm이었다.

[0201] 실시예 21

[0202] 도세탁셀을 함유하는 본 발명의 약제학적 조성물은 하기 표 24에 기재된다.

표 24

일련 번호	성분	양 (%w/v)
1	도세탁셀	0.15
2	콜레스테릴 설페이트	0.01
3	카프릴산	0.0125
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-30	0.125
5	에탄올	0.14825
6	PEG-400	2.0
7	텍스트로오스 (5%)	100.0을 이루는 충분량

[0203]

[0204] 상기 실시예의 나노분산액은 실시예 1-5에서의 과정에 의해 제조하였다. 이 나노분산액은 청색 색조를 띠는 백 색이며 또 평균 입자 크기가 172 nm이었다.

[0205] 상기 조성물은 1.50 mg/ml의 도세탁셀을 함유한다. 70 kg 사람에 대하여 약 180 mg의 도세탁셀을 투여하기 위하여, 120 ml의 나노분산액 조성물을 환자 투여용으로 사용될 수 있으며, 따라서 상기 조성물은 180 mg의 도세탁셀을 함유한다. 상기 실시예의 조성물이 투여된 환자는 12 mg의 콜레스테릴 설페이트, 15 mg의 카프릴산, 150 mg의 PVP 및 약 180 mg의 에탄올을 투여받았다. 따라서 본 발명의 조성물은 활성제와 함께 공동투여되는 최소량의 부형제를 갖는 나노크기의 입자를 제공한다. 에탄올(만일 있다면)은 비 부가적 양이다.

[0206] 실시예 22

[0207] 도세탁셀을 함유하는 본 발명의 약제학적 조성물을 하기에 나타낸다.

표 25

일련 번호	성분	양 (%w/w)		
		21 (a)	22 (b)	23 (c)
1	도제탁셀	6.0	6.0	6.0
2	나트륨 콜레스테릴 설페이트	0.4	0.4	0.4
3	카프릴산	0.40	0.40	0.40
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP)	K-12	-	-
		K-17	5.0	-
		K-30	-	5.0
5	에탄올	6.0	6.0	6.0
6	PEG-400	100을 이루는 충분량		

[0208]

[0209]

표 25에 나타난 제형에 따른 도제탁셀의 예비농축액은 상이한 분자량의 폴리비닐 피롤리돈을 사용하여 제조하였다.

[0210]

증가된 분자량의 폴리비닐 피롤리돈은 응집 및 나노분산액이 안정하게 유지되는 시간 측면에서 나노분산액의 안정성을 개선시킴이 밝혀졌다.

[0211]

실시예 23 및 비교예 IV, V 및 VI

표 26

일련 번호	성분	양 (%w/v)			
		실시예 23	비교예		
			IV	V	VI
1	도제탁셀	6	6	6	6
2	콜레스테릴 설페이트 나트륨	0.4	0.8	0.4	5
3	카프릴산	0.4	-	-	-
4	폴리비닐 피롤리돈 (k17)	5	5	5	10.6
5	에탄올	6	6	6	6
6	PEG-400	충분량	충분량	충분량	충분량
7	텍스트로오스 (5% w/v)	0.5 mg/ml를 달성하기 위한 양			

[0212]

[0213]

● 특정 양의 약물, 콜레스테릴 설페이트 및 카프릴산을 유리 용기에서 정확하게 측량하였다.

[0214]

● 내용물을 소망하는 양의 무수 에탄올 및 PEG-400에 용해시켜 교반하고 또 45℃에서 가열하여 농축된 약물 용액을 얻었다.

[0215]

● 상기 용액을 0.2μ PVDF 막 필터를 통하여 여과하였다.

[0216]

● 농축된 약물 용액(30mg)을 함유하는 바이알에 텍스트로오스 용액(5%w/v)을 서서히 부가한 다음 나머지 5% w/v 텍스트로오스 용액을 부가하고 부드럽게 진탕하여 1.5mg/ml 희석된 반투명 나노분산액을 얻었다.

[0217]

● 나노분산액의 pH는 pH 미터(Mettler Toledo-seven easy)를 이용하여 측정하였다.

[0218]

● 나노분산액의 입자 크기는 입자 크기 분석기(Nano-ZS, Malvern)에 의해 측정하였다.

표 27

관찰

평가 변수	실시예 23	비교예		
		IV	V	VI
pH	4.00	4.0		
제타 전위	-26.0 mV	-30.4 mV 내지 -34.2 mV		
외관	투명, 청색 색조를 띠			
입자 크기 (nm)				
초기	114	174	171	364
1시간	114	164	백색 헤이즈	
2 시간	113	백색 헤이즈		
3 시간	129			
4 시간	외관변화			

[0219]

[0220]

실시예 24

표 28

일련 번호	성분	양 (%w/v)
1	도세탁셀	9
2	콜레스테릴 설페이트 나트륨	0.6
3	카프릴산	0.6
4	폴리비닐피롤리돈 (PVP) K-17	5
5	에탄올	9
6	폴리에틸렌 글리콜 400	충분량

[0221]

[0222]

특정 양의 도세탁셀, 나트륨 콜레스테릴 설페이트, 카프릴산 및 폴리비닐 피롤리돈을 바이얼에서 측량하였다. 탈수된 양의 알코올 및 폴리에틸렌 글리콜을 약 40℃에서 약간 가온되는 초음파세척기(bath sonicator)에서 혼합하고 용해시켜 맑은 투명한 예비농축액을 얻었다. 이 예비농축액은 표 29에 기재된 바와 같은 부가적인 첨가제를 함유하는 수성 비히클에 의해 희석시켰다. 이렇게 형성된 나노분산액은 맬버튼 입자 크기 분석기를 이용하여 평균 입자 크기 측정처리하였다.

표 29

나노분산액의 안정성에 대한 수성 비히클에서 첨가제의 효과

실시예 24 희석제	A	B	C	D
	5% 텍스트로오스 주사 중의 0.01% 아르기닌 USP	5% 텍스트로오스 주사 중의 1% 히스티딘 USP	5% 텍스트로오스 주사 중의 1% 히스티딘 + 0.001% 디나트륨 에테데이트	5% 텍스트로오스 주사 중의 0.5% 히스티딘 + 0.001% 디나트륨 에테데이트
강도:	0.5mg/ml	0.5mg/ml	0.5mg/ml	0.5mg/ml
나노분산액의 설명	거의 투명, 청색 색조를 띠	거의 투명, 청색 색조를 띠	거의 투명, 청색 색조를 띠	거의 투명, 청색 색조를 띠
물리적 안정성 입자 크기:				
0h	143 nm	130	128nm	118nm
1h	146 nm	133	131nm	121nm
3h	147 nm	136 nm	131nm	123nm
5h	-	138nm	-	130nm
6h	-	-	135nm	-
8h	145 nm	-	-	136nm
제타 전위	-52.2 mV	-32.0 mV	-29.0mv	-29.8mV
pH	8.11	7.06	7.2	6.74
비교	8시간 동안 안정	5시간 동안 안정	6시간 동안 안정	8시간 동안 안정
화학적 안정성 분석	-	-	-	-
초기				103.57
25°C/60% RH				
1개월				100.37
냉장고 2-8°C				
1개월				99.02
40°C/75 % RH				
1개월				101.53

[0223]

[0224]

0.5% 히스티딘, 0.001% 디나트륨 에테데이트를 5% 텍스트로오스 주사액에 갖는 상기 실시예의 입자 크기 분포의 결과를 도 5a 및 도 5b에 도시한다. 도 5a는 초기 시간에서 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램을 도시하고 (평균 입자 크기 = 98 nms) 또 도 5b는 8시간에서 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램(평균 입자 크기 = 96.4 nms)을 도시하며, 이는 나노분산액의 안정한 성질을 나타낸다.

[0225]

실시예 25

[0226]

CD-1 마우스에서 본 발명의 파클리탁셀 나노분산액의 급성 독성

[0227]

시험물질:

[0228]

1. 텍스트로오스 5% w/v에 의해 희석시 10mg/ml로 되는 실시예 12a의 조성물과 함께 위약

[0229]

2. 텍스트로오스 5% w/v에 의해 희석시 8 mg/ml로 되는 실시예 9의 조성물과 함께 위약; 및

[0230]

3. 0.9% 나트륨 클로라이드에 의해 희석시 10mg/ml로 되는 ABRAXANE[®]

[0231]

CD-1 마우스를 동물 우리 2에서 개별적으로 통기되는 우리 시스템(IVC)에 5일간 익숙해지도록 하였다. 수의과적 건강 확인을 한 후, 5마리의 음성 및 5마리의 자성 마우스를 각 투여량에 할당하였다. 마우스는 실험 기간 동안 물과 먹이에 자유로이 접근할 수 있었다. 하기에 나타난 투여량의 시험물질 및 위약을 정맥 투여하며, 어떠한 비히클에 의해 희석하지 않고, 눈금이 매겨진 주사기에 부착된 26 게이지 바늘을 이용하여 마우스의 꼬리부 꼬리 정맥을 통하여 투여하였다. 주사 전에, 꼬리는 솜막대를 이용하여 온수로 혈관을 확대시켰다. 파클리탁셀 나노분산액 (실시예 12)에 대해서는 전체 투여량 150, 200, 250, 300, 350 및 400mg/kg을 시험하였고, 위약(실시예 12의 위약)에 대해서는 250, 300 및 400mg/kg의 투여량을 시험하였고, 파클리탁셀 나노분산액 (실시예 9)에 대해서는 200 및 250mg/kg의 투여량을 시험하였고, 위약(실시예 9의 위약)에 대해서는 250mg/kg의 투여량을 시

험하였고, 또 ABRAXANE[®]에 대해서는 300mg/kg의 투여량을 시험하였다. 이들 모든 제형을 주사당 2회의 복용 사이의 1 시간의 차를 두고 3회 나뉜 투여량을 통하여 CD-1 마우스에 정맥 투여하였다. 마지막 주사 후, 투여 후 매일 2회씩 1시간 동안 또 4-6 시간 사이에 동물을 관찰하였다. 그 후, 매일 2회씩 마우스를 관찰하여 독성 증상과 사망률을 45일까지 기록하였다.

표 30

시험물질	파클리탁셀의 투여량 정맥주사 (mg/kg)	% 사망률	LD ₅₀
파클리탁셀 나노분산액 (실시예 12a)	150	0	~342.5 mg/kg
	200	0	
	250	0	
	300	0	
	350	60	
	400	90	
실시예 12a의 위약	250	0	
	300	0	
	400	0	
파클리탁셀 나노분산액 (실시예 9)	200	20	> 250mg/kg
	250	20	
실시예 9의 위약	250	0	
ABRAXANE [®]	300	90	

[0232]

[0233]

상기 결과는, 실시예 12의 파클리탁셀 나노분산액이 400mg/kg 투여량에서 90% 사망률 및 300mg/kg 투여량에서 0% 사망률을 나타냄을 보여준다. 최고 투여량(400mg/kg) 적용시 실시예 12의 위약에 의해서는 사망률이 관찰되지 않았다. 파클리탁셀 나노분산액의 선형 외삽시, 얻어진 LD₅₀ 및 LD₁₀ 값은 각각 342.5mg/kg 및 310mg/kg이었다. 유사하게, 실시예 9의 파클리탁셀 나노분산액은 250mg/kg에서 20% 사망률을 나타내었고 또 파클리탁셀 나노분산액에 대한 LD₅₀은 >250mg/kg 이었다. 시험된 최고 투여량(250mg/kg)에서 실시예 9의 위약에 의해서는 사망률이 관찰되지 않았다. 시판되는 나노입자 제형, ABRAXANE[®]은 300mg/kg에서 90% 독성을 나타내었다. 이들 데이터는 본 발명의 나노분산액 조성물이 시판되는 ABRAXANE[®]에 비하여 독성이 덜할 수 있음을 분명히 나타낸다. 또한, 본 발명의 나노분산액 조성물의 LD₅₀ 값(342.5 mg/kg)을 시판되는 탁셀 제형(7.5-12.0 mg/Kg; 미국특허 번호- 6753006)의 LD₅₀ 값과 비교하면, 본 발명의 파클리탁셀 나노분산액에 대해 관찰된 LD₅₀ 값이 시판되는 탁셀 용액의 LD₅₀ 값에 비하여 훨씬 더 크다는 것이 분명하다.

[0234]

SD 래트에서 본 발명의 파클리탁셀 나노분산액의 급성 독성

[0235]

시험물질:

[0236]

1. 텍스트로오스 5% w/v에 의해 희석시 10mg/ml로 되는 실시예 9의 조성물과 함께 위약, 및

[0237]

2. 0.9% 나트륨 클로라이드에 의해 희석시 5mg/ml로 되는 ABRAXANE[®]

[0238]

래트를 동물 우리 3에서 개별적으로 통기되는 우리 시스템(IVC)에 5일간 익숙해지도록 하였다. 수의과적 건강 확인을 한 후, 5마리의 웅성 및 5마리의 자성 SD 래트를 각 투여군에 할당하였다. 이들 래트는 실험 기간 동안 물과 먹이에 자유로이 접근할 수 있었다. 하기에 나타난 투여량의 시험물질 및 위약을 정맥 투여하며, 어떠한 비히클에 의해 희석하지 않고, 눈금이 매겨진 주사기에 부착된 26 게이지 바늘을 이용하여 래트의 꼬리부 꼬리정맥을 통하여 투여하였다. 주사 전에, 꼬리는 솜막대를 이용하여 온수로 혈관을 확대시켰다. 모든 주사 동물은 투여 후 매일 2회씩 1시간 동안 또 4-6 시간 사이에 관찰하였다. 그 후, 매일 2회씩 래트를 관찰하여 독성 증상과 사망률을 14일까지 기록하였다.

표 31

SD 래트에서 급성 독성 연구		
시험물질	파클리탁셀의 투여량 정맥주사(mg/kg)	% 사망률
파클리탁셀 나노분산액 (실시예 9)	60	30
	90	40
실시예 9의 위약	90	0
SD 래트에서 LD ₅₀ : > 90/mg/kg		
ABRAXANE®	70	100

[0239]

[0240]

상기 결과는 실시예 9의 본 발명의 나노분산액의 파클리탁셀이 90mg/kg에서 40% 사망률을 나타냄을 보여준다. 시험한 최고 투여량(90mg/kg)에서 실시예 9의 위약에 의해서는 어떠한 사망률도 관찰되지 않았다. 본 발명의 파클리탁셀 나노분산액의 LD₅₀ 값은 >90 mg/kg 이었다. 시판되는 나노입자 제형 ABRAXANE®은 70 mg/kg에서 100%의 사망률을 나타내었다.

[0241]

상기 결과는 본 발명의 나노분산액 조성물이 약물과 관련된 독성을 최소화하고 또 약물의 투여가능한 유효 치료 범위를 넓히며 또 ABRAXANE®와 같은 시판되는 제형에 비하여 독성이 덜함을 분명히 보여준다.

[0242]

실시예 26

[0243]

텍스트로오스 5% w/v로 희석하면 10mg/ml로 되는 실시예 24B의 조성물과 함께 위약 및 10mg/ml로 희석된 시판되는 제형 Taxotere®을 정맥 경로에 의해 CD-1 마우스에서 도세탁셀 나노분산액 및 위약의 급성 독성 연구에 처리하였다. 마우스를 동물 우리 번호 2의 실험실 조건에 6일간 익숙해 지도록 하였다. 수의과적 건강 확인 후, 5마리의 웅성 및 5마리의 자성 마우스를 각 투여군에 임의로 할당하였다. 마우스는 연구 기간 동안 물과 음식에 자유로이 접근할 수 있었다. 시험물질 및 위약을 정맥 투여하며, 어떠한 비히클에 의해 희석하지 않고, 눈금이 매겨진 주사기에 부착된 26 게이지 바늘을 이용하여 래트의 꼬리부 꼬리 정맥을 통하여 투여하였다. 주사 전, 꼬리는 솜막대를 이용하여 온수로 혈관을 확대시켰다. 모든 주사 동물은 투여 후 매일 2회씩 1시간 동안 또 4-6 시간 사이에 관찰하였다. 도세탁셀 나노분산액(실시예 24B), 최고 투여량의 위약(실시예 24B의 위약)에 대해 총 투여량 200, 250 및 300mg/kg를 시험하였다. 이들 제형은 주사당 2회의 복용 사이의 1 시간의 차를 두고 3회 나눠진 투여량을 통하여 CD-1 마우스에 정맥 투여하였다. 마지막 주사 후, 투여 후 1시간 동안 또 4-6 시간 사이에 동물을 관찰하였다. 그 후, 매일 2회씩 마우스를 관찰하여 임상 증상 및 사망률을 15일 동안 관찰하였다. 모든 생존 동물의 체중은 투여한 지 1, 7 및 14일 후에 기록하였다. 15일에 생존 동물의 해부를 실시하고 육안병리 소견을 기록하였다.

표 32

급성 독성 연구의 결과

시험물질	도세탁셀의 투여량 정맥주사 (mg/kg)	% 사망률	LD ₁₀
도세탁셀 나노분산액 (실시예 24B)	200	0	
	250	0	
	300	10	300mg/kg
실시예 24B의 위약	300	0	
Taxotere®	80	0	
	120	10	LD ₁₀ : 120mg/kg
	160	70	LD ₅₀ : 150mg/kg

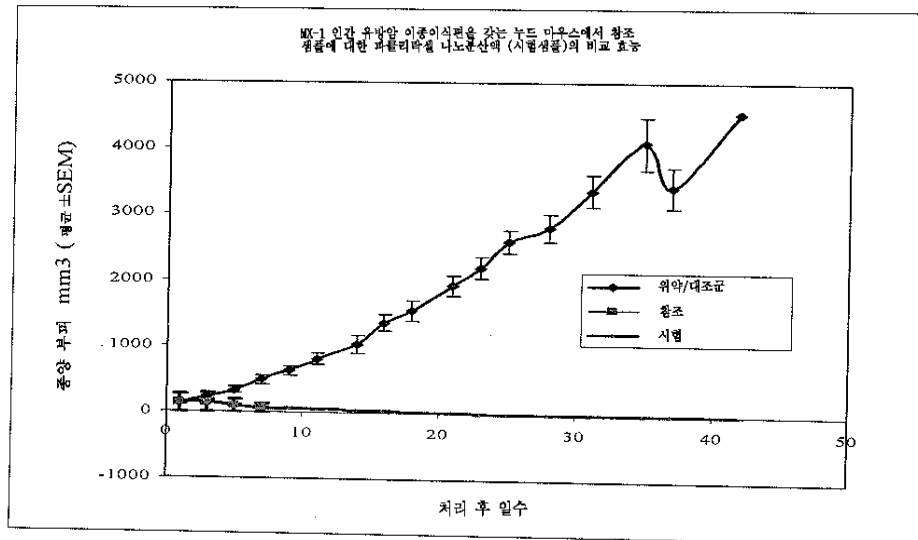
[0244]

- [0245] 상기 결과는, 실시예 24B의 본 발명의 도세탁셀 나노분산액이 300mg/kg에서 10% 사망률을 나타내었고 또 250mg/kg 투여량에서 LD₀ 를 나타냄을 보여준다. 시험된 최고 투여량(300mg/kg)의 위약에 의해서는 사망률이 관찰되지 않았다. 시판되는 제형, Taxotere[®]은 120mg/kg에서 10% 독성을 나타내었다. 본 발명의 도세탁셀 나노분산액에 대해 관찰된 LD₁₀ 값은 시판되는 Taxotere[®] 용액 제형의 LD₁₀ 값보다 훨씬 더 큰 것이 분명하다. Taxotere[®]의 보고된 LD₁₀ 값은 95mg/kg (Ref: SBA-NDA-20449)이다.
- [0246] **실시예 27**
- [0247] MX-1 종양 이종이식편이 이식된 누드 마우스에서 파클리탁셀 나노분산액 (실시예 12a의 조성물)의 항암 효능(종양 회귀)
- [0248] 동물: 종: 마우스, 균주: Balb/c 누드, 성별: 자성, 나이: 6-8 주 (18.9 g ± 1.8 gs)
- [0249] 인간 종양 이종이식편: MX-1 (유방)
- [0250] 시험 샘플: 텍스트로오스 5%에 의해 희석되면 2mg/ml로 되는 실시예 12a의 조성물
- [0251] 참조: 시판되는 제형, ABRAXANE[®] (0.9 % 나트륨 클로라이드에 의해 2 mg/ml로 재구성됨).
- [0252] 위약: 타산 유도체를 갖지 않는 시험 샘플.
- [0253] 투여량: 20 mg/kg, 5일 연속 동안 1일 1회, 10 ml/kg 체중으로 정맥 투여 경로
- [0254] 연구 디자인:
- [0255] 1. 종양을 피하 경로에 의해 동물의 오른쪽 옆구리에 30 mg 내지 40 mg 단편으로서 이식하였다.
- [0256] 2. 이 종양을 처리 개시 하기 전에 125 mm³ 내지 132 mm³ 평균 크기로 증가시켰다.
- [0257] 3. 종양을 갖는 동물을 10개 동물로 이루어진 군으로 나누었다.
- [0258] 4. 동물에게 상술한 바와 같은 투여량을 투여하고 종양을 이하와 같이 평가하였다.
- [0259] **결과:** 대조군과 비교하여 시험에서 8일로부터 종양 부피의 현저한 감소가 보였다. 종양은 시간(일수)에 따라 종양 부피(mm³)로 평가하였다. 42일 동안의 데이터를 도 1에 그래프적으로 도시한다.
- [0260] 20 mg/kg에서 중간정도의 항암 활성이 관찰(최적 %T/C < 20)된 반면에, 최고 현저한 항암 활성은 20 mg/kg 체중에서의 시험에서 관찰(최적 % T/C < 10)되었다. 시험 및 참조에 대한 최적 % T/C 값은 각각 0 및 13.34 이었다. 누드 마우스에서 MX-1 인간 유방암종 이종이식편 중에서 20 mg/kg에서 시험(주사용으로 파클리탁셀 나노분산액 농축액)에 의해 매우 아주 유의한 항암 활성이 드러났다.
- [0261] **실시예 28**
- [0262] MX-1 종양 이종이식편이 이식된 누드 마우스에서 파클리탁셀 나노분산액(실시예 9의 조성물)의 항암 효능(종양 회귀)
- [0263] 동물: 종: 마우스, 균주: 무흉선 누드(Athymic nude), 성별: 자성, 나이: 6-8 주령 (20-25g)
- [0264] 인간 종양 이종이식편: MX-1 (유방)
- [0265] 시험 샘플: 텍스트로오스 5%에 의해 희석되면 2 mg/ml로 되는 실시예 9의 조성물
- [0266] 참조: 0.9 % w/v 나트륨 클로라이드에 의해 희석되어 2 mg/ ml로 되는 시판되는 제형, ABRAXANE[®]
- [0267] 투여량: 20 mg/kg, 1일 1회 5일 연속, 정맥 투여, 10 ml/kg 체중.
- [0268] 연구 디자인:
- [0269] 1. 종양은 피하 경로에 의해 동물의 오른쪽 옆구리에 약 2 x 2 mm 단편으로 이식하였다.
- [0270] 2. 종양은 처리 개시 이전에 200 mm³ 내지 220 mm³ 크기로 증가시켰다.

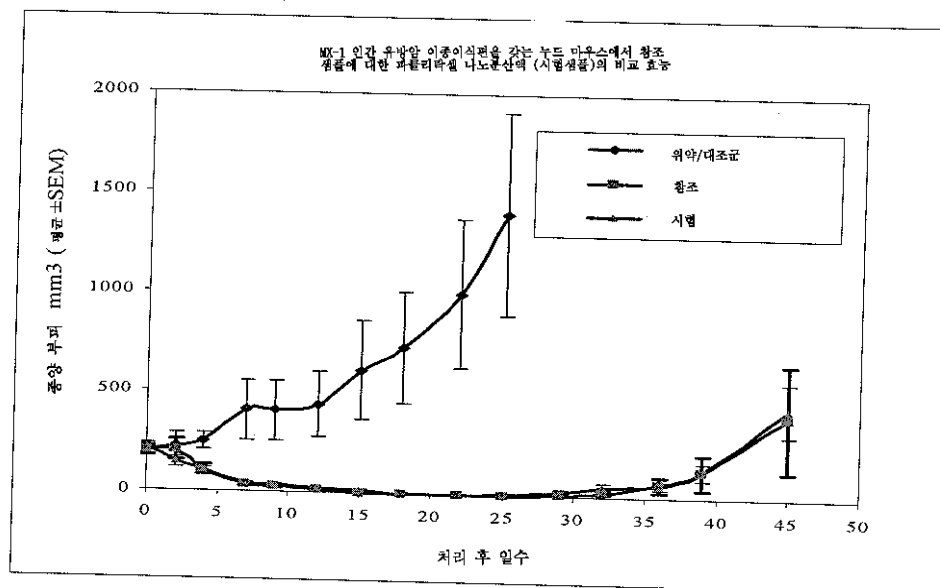
- [0271] 3. 종양을 갖는 동물은 10마리로 이루어진 군으로 나누었다.
- [0272] 4. 상기 기재한 바와 같은 투여량으로 동물에게 투여하고 종양을 이하와 같이 평가하였다.
- [0273] 종양 평가: 종양은 시간(일수)에 따른 종양 부피(mm³)로 평가하였다. 42일 동안의 이들 데이터를 도 2에 그래프적으로 도시한다.
- [0274] 결과: 시험군 및 Abraxane[®] 군에서 매우 유의한 항암 활성이 나타났다(최적 % T/C < 10). 시험군 및 Abraxane[®] 군에 대한 20 mg/kg 투여량에서의 최적 % T/C 값은 각각 0.25 및 0.00이었다. 0일에 비하여 위약/대조군에서는 유의한 체중 감소는 관찰되지 않았다. 누드 마우스에서 MX-1 인간 유선종양 이종이식편에서 20 mg/kg에서 시험(주사의 경우 파클리탁셀 나노분산액 농축액)에 의해서는 아주 유의한 항암 활성이 나타났다.
- [0275] 실시예 29
- [0276] HT-29 인간 대장암 이종이식편이 이식된 누드 마우스에서 파클리탁셀 나노분산액 (실시예 9의 조성물)의 항암 효능(종양 회귀)
- [0277] 동물: 종: 마우스, 균주: 무흉선 누드, 성별: 웅성, 나이: 6-8 주령(20-25g)
- [0278] 인간 종양 이종이식편: HT-29 인간 대장.
- [0279] 시험 샘플: 텍스트로오스 5%에 의해 희석시 2mg/ml로 되는 실시예 9의 조성물
- [0280] 투여량: 20 mg/kg, 1일 1회 5일 연속, 정맥주사, 10 ml/kg 체중.
- [0281] 참조:
- [0282] (a) 0.9 % 나트륨 클로라이드에 의해 희석되어 2 mg/ml로 재구성되는 시판 제형, ABRAXANE[®].
- [0283] 투여량: 20 mg/kg, 1일 1회 5일 연속, 정맥 주사, 10 ml/kg 체중.
- [0284] (b) 시판되는 제형, ONCOTAXEL[®]
- [0285] 투여량: 13.4 mg/kg 1일 1회 5일 연속, 정맥 주사
- [0286] 연구 디자인:
- [0287] 1. 종양은 피하 경로에 의해 동물의 오른쪽 옆구리에 약 2 x 2 x 2 mm 단편으로 이식하였다.
- [0288] 2. 종양은 처리 개시 이전에 130 mm³ 내지 220 mm³ 크기로 증가시켰다.
- [0289] 3. 종양을 갖는 동물은 10마리로 이루어진 군으로 나누었다.
- [0290] 4. 상기 기재한 바와 같은 투여량으로 동물에게 투여하고 종양을 이하와 같이 평가하였다.
- [0291] 종양 평가: 종양은 시간(일수)에 따른 종양 부피(mm³)로 평가하였다. 49일 동안의 이들 데이터를 도 3에 나타낸다.
- [0292] 결과: 시험군 및 Oncotaxel[®] 100 군에서 매우 유의한 항암 활성이 나타났다(최적 % T/C < 10). 20mg/kg 투여량에서 시험군에 대한 최적 % T/C 값 및 13.4 mg/kg 투여량에서 Oncotaxel[®] 100에 대한 최적 % T/C 값은 각각 5.92 및 8.79이었고, 반면에 Abraxane[®]에 의해서는 중간 정도의 항암 활성이 나타나며 최적 % T/C 값은 20.33이었다. 누드 마우스에서 HT-29 인간 대장암종 이종이식편에서 20 mg/kg에서 시험군(주사를 위한 파클리탁셀 나노분산액 농축액)에 의해서는 매우 유의한 항암 활성이 나타났다.
- [0293]

도면

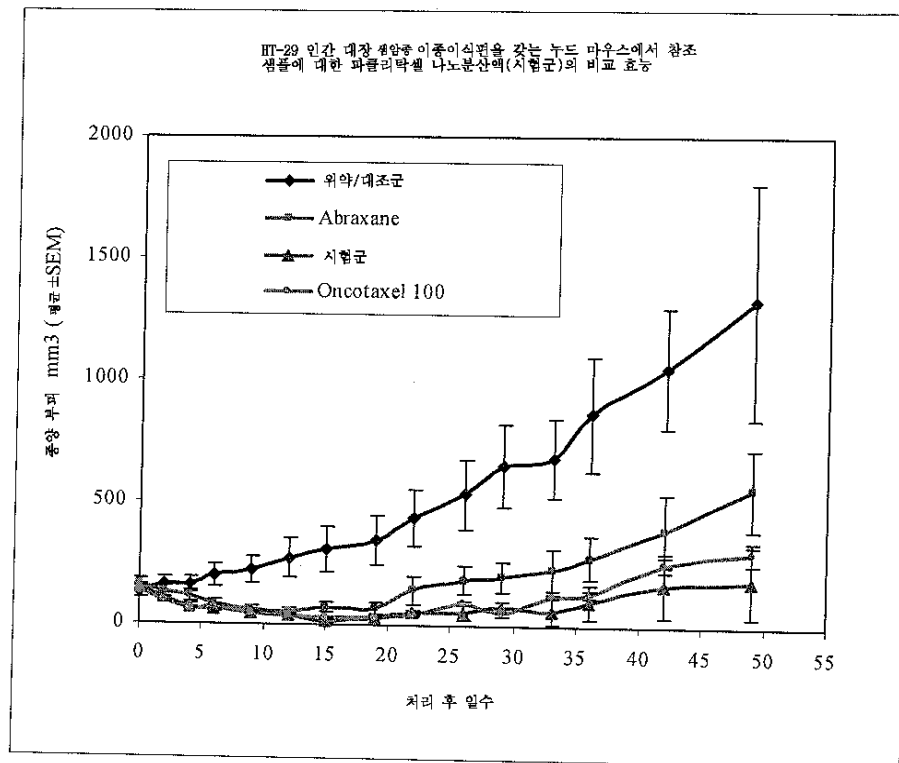
도면1



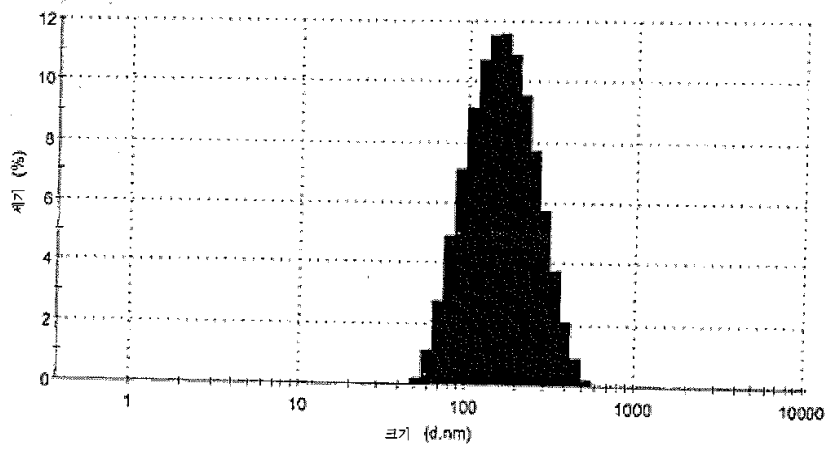
도면2



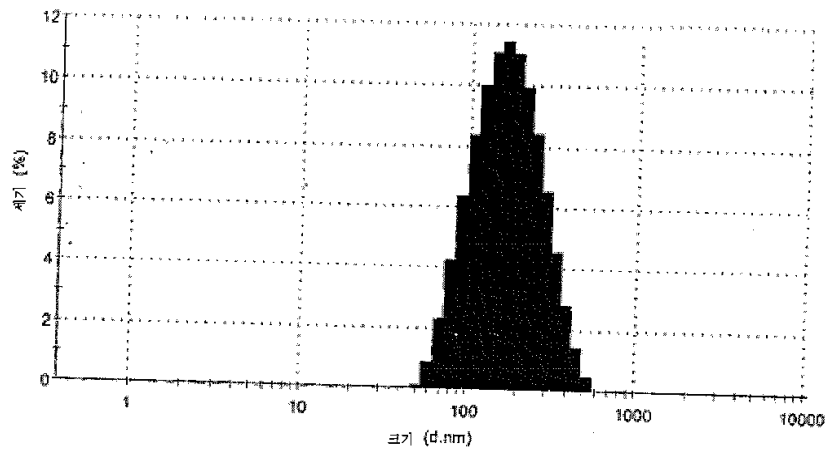
도면3



도면4

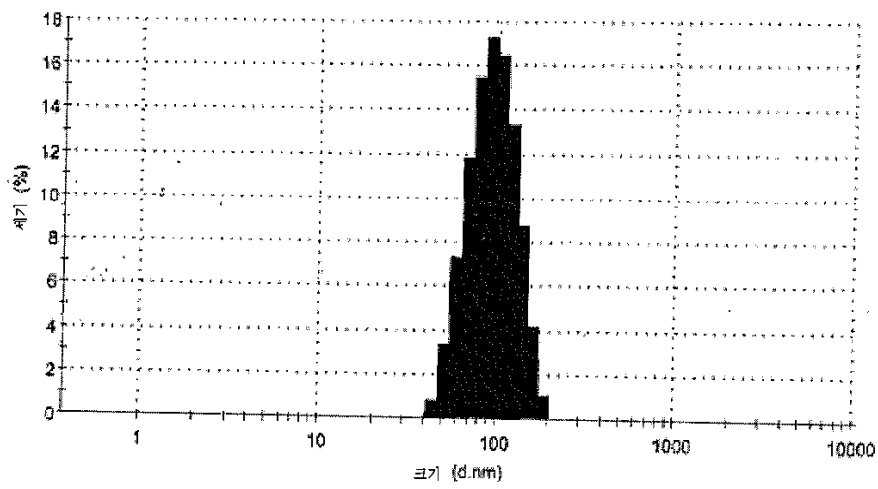


도 4a: 초기 시간에서 실시예 9의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램

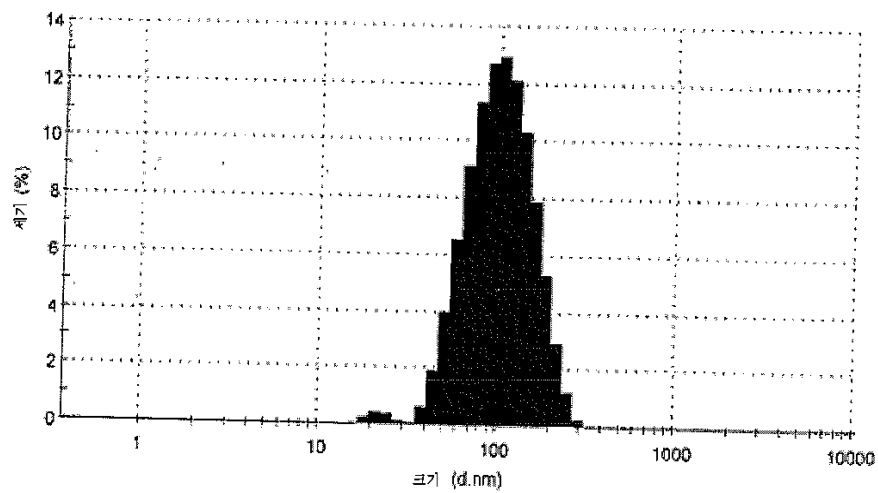


도 4b: 실온에서 24시간 동안 저장될 때 실시예 9의 파클리탁셀의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램

도면5



도 5a: 초기 시간에 실시예 24D의 도세막셀의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램



도 5b: 실온에서 8시간 동안 저장할 때 실시예 24D의 도세막셀의 나노분산액의 입자 크기 분포를 나타내는 히스토그램