

(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2015-529255

(P2015-529255A)

(43) 公表日 平成27年10月5日(2015.10.5)

| | | |
|---------------------------------|----------------|-------------|
| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
| A 6 1 K 9/16 (2006.01) | A 6 1 K 9/16 | 4 C 0 7 6 |
| A 6 1 K 47/34 (2006.01) | A 6 1 K 47/34 | 4 C 0 8 6 |
| A 6 1 K 31/433 (2006.01) | A 6 1 K 31/433 | |
| A 6 1 K 31/542 (2006.01) | A 6 1 K 31/542 | |
| A 6 1 P 27/02 (2006.01) | A 6 1 P 27/02 | |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁) | | |

(21) 出願番号 特願2015-533228 (P2015-533228)
 (86) (22) 出願日 平成25年9月20日 (2013. 9. 20)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年5月15日 (2015. 5. 15)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/060987
 (87) 国際公開番号 W02014/047477
 (87) 国際公開日 平成26年3月27日 (2014. 3. 27)
 (31) 優先権主張番号 61/703, 743
 (32) 優先日 平成24年9月20日 (2012. 9. 20)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

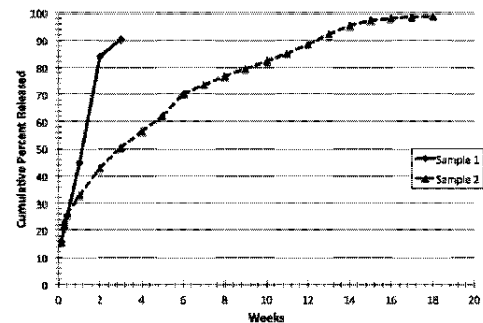
(71) 出願人 515075360
 オーエイチアール ファーマ, エルエル
 シー
 OHR PHARMA, LLC
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 100
 22 ニューヨーク サード アベニュー
 800 11F
 800 Third Avenue, 11
 th Floor, New York, N
 Y 10022 (US)
 (74) 代理人 100136630
 弁理士 水野 祐啓

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療薬の持続放出のための多層の生体分解可能なマイクロ粒子

(57) 【要約】

(a) 固体表面上に一回以上、第一の組成物を析出させることにより、前記固体表面上に第一ポリマーを含む一層を形成するステップであって、前記第一の組成物は、第一のポリマー及び第一の溶媒を含む、ステップと、前記第一の組成物中の第一の溶媒を蒸発させるステップと、(b) ステップ(a) で形成された層の全部又は一部上に第二の組成物を析出させることにより、第二のポリマー及び治療薬を含む1つ以上の層を形成するステップであって、前記第二の組成物が前記第二のポリマー、前記治療薬、及び第二の溶媒を含む、ステップと、前記第二の組成物中の前記第二の溶媒を蒸発させるステップと、(c) 前に形成された層上に一回以上、第三の組成物を析出させることにより、第三のポリマーを含む付加的な層を形成するステップであって、前記第三の組成物が前記第三のポリマー及び第三の溶媒を含む、ステップと、前記第三の組成物中の前記第三の溶媒を蒸発させるステップと、を含む方法により、マイクロ粒子が形成される。



| Sample No. | Sample Description | Drug Load (% w/w) | Inner Layer Polymer | Outer Layer Polymer |
|------------|--------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Sample 1 | Brinzolamide suspension in dichloromethane | 11.9 | 115 kDa PLGA (Evonik Industries/Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E) | None |
| Sample 2 | Brinzolamide suspension in dichloromethane | 10.2 | 115 kDa PLGA (Evonik Industries/Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E) | Two coatings of 5% 175 kDa PLGA (Akina 8520) |

Fig. 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

多層マイクロ粒子を調製する方法であって、

(a) 固体表面上に一回以上、第一の組成物を析出させることにより、前記固体表面上に第一のポリマーを含む一層を形成するステップであって、前記第一の組成物が前記第一のポリマー及び第一の溶媒を含む、ステップと、前記析出した第一の組成物中の前記第一の溶媒を蒸発させるステップと；

(b) ステップ(a)で形成された層の全部又は一部上に第二の組成物を析出させることにより、第二のポリマー及び治療薬を含む一層を形成するステップであって、前記第二の組成物が、前記第二のポリマー、前記治療薬、及び第二の溶媒を含む、ステップと、前記析出した第二の組成物中の前記第二の溶媒を蒸発させるステップと；

(c) 前に形成された層上に一回以上、第三の組成物を析出させることにより、第三のポリマーを含む付加的な層を形成するステップであって、前記第三の組成物が前記第三のポリマー及び第三の溶媒を含む、ステップと；前記析出した第三の組成物中の前記第三の溶媒を蒸発させるステップと、を含む、方法。

【請求項 2】

前記第一及び第三の組成物が治療薬を含有しない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第一及び第三のポリマーが、前記第二の溶媒中で低い可溶性を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第二のポリマーが、前記第一のポリマー及び前記第三のポリマーとは異なる分子量を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記第一及び前記第三のポリマーの分子量が、少なくとも 40 キロダルトン、前記第二のポリマーの分子量よりも大きい、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記第一及び前記第三のポリマーの分子量が、少なくとも 50 キロダルトン、前記第二のポリマーの分子量よりも大きい、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記第一及び前記第三のポリマーが、100 - 350 キロダルトンの分子量を有する、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記第二のポリマーが、15 - 150 キロダルトンの分子量を有する、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第一及び前記第三のポリマーが同じポリマーである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第一及び前記第三の溶媒が同じ溶媒である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第二の溶媒が前記第一及び第三の溶媒とは異なる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記第一、第二、及び第三のポリマーが、ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)、ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(L-乳酸)(PLLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、及びポリ(ε-カプロラクトン)、及びポリ(オルトエステル)から成る群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記治療薬が、低分子薬物、ペプチド薬物、たんぱく質薬物、多糖薬物、オリゴヌクレオチド、及び抗体から成る群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

ステップ (a) が、二回以上、前記第一の組成物を析出させるステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

ステップ (a) が、前記第一の組成物を二回、析出させるステップと、前記第一の組成物中の前記第一の溶媒を二回、蒸発させるステップとを含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

ステップ (c) が、二回以上、前記第三の組成物を析出させるステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

ステップ (c) が、前記第三の組成物を分配するステップと、前記第三の組成物中の前記第三の溶媒を二回、蒸発させるステップとを含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記固体表面が実質的に平面である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 19】

前記固体表面が実質的に平面で、被覆されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】

前記固体表面がウェルの底部である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 21】

前記ウェルを完全に充填するステップを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記ウェルを部分的に充填するステップを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 23】

前記ウェルを過剰に充填するステップを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 24】

前記析出させるステップが、60ミクロン未満の平均直径を有する液滴を生成する装置を用いて噴霧するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 25】

前記装置がマイクロプリンターである、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

1 つ以上の多層マイクロ粒子を含む組成物であって、但しこの場合、前記 1 つ以上の多層マイクロ粒子が：

第一のポリマーを含む 1 つ以上の底面層と；

治療薬及び第二のポリマーを含む 1 つ以上の内側層と、第三のポリマーを含む 1 つ以上の上面層とを含み、

但しこの場合、前記第一及び第三のポリマーの分子量が、前記第二のポリマーの分子量よりも大きい、組成物。

【請求項 27】

前記上面及び底面層が治療薬を含有しない、請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 28】

前記第一及び前記第三のポリマーの分子量が、少なくとも 20 キロダルトン、前記第二のポリマーの分子量よりも大きい、請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 29】

前記第一及び前記第三のポリマーが、100 - 350 キロダルトンの分子量を有する、請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記第二のポリマーが、15 - 150 キロダルトンの分子量を有する、請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 31】

10

20

30

40

50

前記ポリマーが、ポリ（乳酸-コ-グリコール酸）（PLGA）、ポリ（乳酸）（PLA）、ポリ（L-乳酸）（PLLA）、ポリ（グリコール酸）（PGA）、ポリ（ε-カプロラクトン）、及びポリ（オルトエステル）から成る群より選択される、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記治療薬が、低分子薬物、ペプチド薬物、たんぱく質薬物、多糖薬物、オリゴヌクレオチド、及び抗体から成る群より選択される、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記多層マイクロ粒子が基本的に三次元で対称であり、そしてどの一次元でも 8 0 ミクロンを越えない、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記多層マイクロ粒子は二次元で対称であるが、但しこの場合、長い方の対称軸に沿った次元は 1 0 0 ミクロン未満であり、そして短い方の対称軸に沿った次元では 6 0 ミクロン未満である、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 5】

前記組成物が、最大直線寸法が 10mm 未満であるインプラントである、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記組成物が、最大直線寸法が 2mm 未満であるインプラントである、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記組成物が、最大直線寸法が 500 ミクロン未満であるインプラントである、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

更に医薬品添加物を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 9】

前記多層マイクロ粒子が 3 つ以上の層を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 0】

前記多層マイクロ粒子が 5 つ以上の層を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 1】

前記多層マイクロ粒子が均一な厚さの層を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 2】

前記多層マイクロ粒子が異なる厚さの層を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 3】

前記多層マイクロ粒子が、隣接層と一致しない 1 つ以上の層を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 4】

前記多層マイクロ粒子が、開放部を持つ 1 つ以上の層を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 5】

前記開放部が環状である、請求項 4 4 に記載の組成物。

【請求項 4 6】

前記マイクロ粒子が、二つの対向する実質的に平行な表面を有する、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 4 7】

前記粒子が実質的に筒状である、請求項 2 6 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、治療薬の持続放出のための多層マイクロ粒子を形成する方法と、多層マイクロ粒子を含む組成物を形成する方法とに関する。

10

20

30

40

50

【背景技術】

【0002】

背景

生体分解可能なポリマーから成るマイクロ粒子は、治療薬の制御放出にとって有用である。マイクロ粒子はテンプレートを用いて形成することができる (US 2009/0136583)。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献1】米国特許出願公開US 2009/0136583号公報

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

概要

本開示は、治療薬の持続放出のための多層マイクロ粒子を形成する方法を特徴とする。これらの方法は、(a) 固体表面上に一回以上、第一の組成物を析出させることにより、前記固体表面上に第一ポリマーを含む一層を形成するステップであって、前記第一の組成物は、第一のポリマー及び第一の溶媒を含む、ステップと、前記第一の組成物中の第一の溶媒を蒸発させるステップと、(b) ステップ(a) で形成された層の全部又は一部上に第二の組成物を析出させることにより、第二のポリマー及び治療薬を含む1つ以上の層を形成するステップであって、前記第二の組成物が前記第二のポリマー、前記治療薬、及び第二の溶媒を含む、ステップと、前記第二の組成物中の前記第二の溶媒を蒸発させるステップと、(c) 前に形成された層上に一回以上、第三の組成物を析出させることにより、第三のポリマーを含む付加的な層を形成するステップであって、前記第三の組成物が前記第三のポリマー及び第三の溶媒を含む、ステップと；前記第三の組成物中の前記第三の溶媒を蒸発させるステップと、を含む。場合によっては、前記第一及び第三のポリマーの分子量は、前記第二のポリマーの分子量よりも大きい。場合によっては、前記第一及び第三のポリマーは同じ分子量を有し、そして場合によっては、それらは分子量で異なる。いくつかの場合、二つ以上の内側層がある。例えば、1つの内側層が、第一の治療薬を含有することができ、前記第二の内側層が第二の治療薬を含有することができる。加えて、二つ以上の内側層がある場合、それらはポリマー型又は分子量で異なってもよい。その上、二つ以上の内側層がある場合、それらは溶媒で異なる組成を用いても形成することができる。下により詳細に説明する通り、溶媒及び/又はポリマーの点で異なる組成物を用いて隣接層を形成した場合、層形成中に、二つの隣接層の材料が混じり合う傾向が低い。いくつかの実施態様では、前記第一及び第三の組成物は治療薬を含有せず、従っていくつかの場合では、前記第一及び第三の組成物によって形成される層は、ポリマーのみか、又は、ポリマー及び非治療的成分のみを含有する。前記のポリマー外側層は、治療薬の最初のバースト放出を制御するバリヤとして作用し、更にマイクロ粒子の内側層からのその後の放出速度を低下させることができる。このように、ここで開示するマイクロ粒子を形成する方法は、放出を低下させた、又はバーストのない放出の、治療薬の持続放出を達成するために有用である。

20

30

40

【0005】

ここでは、多層マイクロ粒子を調製する方法を解説するが、同方法は：

(a) 固体表面上に一回以上、第一の組成物を析出させることにより、前記固体表面上に第一のポリマーを含む一層を形成するステップであって、前記第一の組成物が前記第一のポリマー及び第一の溶媒を含む、ステップと、前記析出した第一の組成物中の前記第一の溶媒を蒸発させるステップと；

(b) ステップ(a) で形成された層の全部又は一部上に第二の組成物を析出させることにより、第二のポリマー及び治療薬を含む一層を形成するステップであって、前記第二の組成物が、前記第二のポリマー、前記治療薬、及び第二の溶媒を含む、ステップと、前記析出した第二の組成物中の前記第二の溶媒を蒸発させるステップと；

50

(c) 前に形成された層上に一回以上、第三の組成物を析出させることにより、第三のポリマーを含む付加的な層を形成するステップであって、前記第三の組成物が前記第三のポリマー及び第三の溶媒を含む、ステップと；前記析出した第三の組成物中の前記第三の溶媒を蒸発させるステップと、を含む。

【0006】

多様な実施態様では：前記第一及び第三の組成物は治療薬を含有せず；前記第一及び第三のポリマーは、前記第二の溶媒中で低い可溶性を有し；前記第二のポリマーは、前記第一のポリマー及び前記第三のポリマーとは異なる分子量を有し；但しこの場合、前記第一及び前記第三のポリマーの分子量は、少なくとも40キログルトン、前記第二のポリマーの分子量よりも大きく；前記第一及び前記第三のポリマーの分子量は、少なくとも50キログルトン、前記第二のポリマーの分子量よりも大きく；前記第一及び前記第三のポリマーは、100 - 350キログルトンの分子量を有し；前記第二のポリマーは、15 - 150キログルトンの分子量を有し；前記第一及び前記第三のポリマーは同じポリマーであり；前記第一及び前記第三の溶媒は同じ溶媒であり；前記第二の溶媒は前記第一及び第三の溶媒とは異なり；前記第一、第二、及び第三のポリマーは、ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)、ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(L-乳酸)(PLLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、及びポリ(ε-カプロラクトン)、及びポリ(オルトエステル)から成る群より選択され；前記治療薬は、低分子薬物、ペプチド薬物、たんぱく質薬物、多糖薬物、オリゴヌクレオチド、及び抗体から成る群より選択され；ステップ(a)が、二回以上、前記第一の組成物を析出させるステップを含み；ステップ(a)が、前記第一の組成物を二回、析出させるステップと、前記第一の組成物中の前記第一の溶媒を二回、蒸発させるステップとを含み；ステップ(c)が、二回以上、前記第三の組成物を析出させるステップを含み；ステップ(c)が、前記第三の組成物を分配するステップと、前記第三の組成物中の前記第三の溶媒を二回、蒸発させるステップとを含み；前記固体表面が実質的に平面であり；前記固体表面が実質的に平面で、被覆されており；但しこの場合、前記固体表面がウェルの底部であり、前記ウェルを部分的に充填、完全に充填、又は過剰に充填することができる。

【0007】

場合によっては、前記析出させるステップが、200、150、100又は60ミクロン未満の平均直径を有する液滴を生成する装置(例えばマイクロプリンター又はスプレー・ジェット・プリンター)を用いて噴霧するステップを含む。

【0008】

更に、1つ以上の多層マイクロ粒子を含む組成物が開示され、但しこの場合、前記1つ以上の多層マイクロ粒子は：

第一のポリマーを含む第一の層と；

治療薬及び第二のポリマーを含む第二の層と、第三のポリマーを含む第三の層とを含み、

但しこの場合、前記第一及び第三のポリマーの分子量は、前記第二のポリマーの分子量よりも大きい。

【0009】

多様な実施態様では、前記第一及び第三(上面及び底面とも呼ばれる)の層は治療薬を含有せず；前記第一のポリマー及び前記第三のポリマーの分子量は、前記第二のポリマーの分子量よりも少なくとも20キログルトン、大きく；前記第一及び第二のポリマーは、100 - 350キログルトンの分子量を有し；前記第二のポリマーは、15-150キログルトンの分子量を有し；前記ポリマーは、ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)、ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(L-乳酸)(PLLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、ポリ(ε-カプロラクトン)、及びポリ(オルトエステル)から成る群より選択され；前記治療薬は、低分子薬物、ペプチド薬物、たんぱく質薬物、多糖薬物、オリゴヌクレオチド、及び抗体から成る群より選択され；前記多層マイクロ粒子は基本的に三次元で対称であり、そしてどの一次元でも80ミクロンを越えず；前記多層マイクロ粒子は二次元で対称であるが、但しこの場

合、長い方の対称軸に沿った次元は100ミクロン未満であり、そして短い方の対称軸に沿った次元では60ミクロン未満であり；前記組成物は、最大直線寸法が10mm未満であるインプラントであり；前記組成物は、最大直線寸法が2mm未満であるインプラントであり；前記組成物は、最大直線寸法が500ミクロン未満であるインプラントであり；前記組成物が更に薬学的に許容可能な担体又は医薬品添加物を含み；前記多層マイクロ粒子が3つ以上の層を含み；前記多層マイクロ粒子が5つ以上の層を含み；前記多層マイクロ粒子が均一な厚さの層を含み；前記多層マイクロ粒子が異なる厚さの層を含み；前記多層マイクロ粒子が、隣接層と一致しない1つ以上の層を含み；前記多層マイクロ粒子が、開放部（例えば環型の開放部）を持つ1つ以上の層を含み；そして前記マイクロ粒子が、二つの対向する実質的に平行な表面を有し；そして前記粒子は実質的に筒状である。

10

【0010】

ここで説明するように、一個の粒子は複数の層を有することができ、各層は、ある組成物の複数回の塗布により形成することができる。しかしながら、ある組成物の二回以上の析出が一層を形成するのに必要だとしても、前記層はそれでも尚、単一の層とみなされる。なぜなら同じ組成物が、当該層を形成するのに用いられた各析出で用いられたからである。

【0011】

全ての実施態様において、多様な層を形成するために用いられるポリマーは、例えばヒトの眼など、ヒトへの投与に向けて薬学的に許容可能な生体分解性ポリマーなど、生体分解可能なポリマーである。

20

【0012】

本発明の1つ以上の実施態様の詳細を、添付の図面及び下の説明で取り上げる。本発明の他の特徴、目的、及び利点は該説明及び図面、並びに請求の範囲から明白であろう。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1は、in vitro薬物放出研究において、178キロダルトン(kDa)のPLGAの外側層がプリンゾルアミド含有マイクロ粒子からのプリンゾルアミドの最初のバースト放出及びその後の放出速度を減じたことを示す線グラフである。

【図2】図2は、178キロダルトンのPLGAの外側層と同程度に、180kDaのPLLA-20の外側層が、プリンゾルアミド含有マイクロ粒子からのプリンゾルアミドの最初のバースト放出及びその後の放出速度を減じたことを示す線グラフである。

30

【図3】図3は、in vitro薬物放出研究において、109kDaのPLGAの外側層がアセタゾルアミド含有マイクロ粒子からのアセタゾルアミドの最初のバースト放出及びその後の放出速度を減じたことを示す線グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0014】

詳細な説明

本開示は、治療薬の持続放出のための多層マイクロ粒子を形成する方法を特徴とする。本多層マイクロ粒子は以下のステップを用いて形成することができる。まず、第一のポリマーを含む底面の外側層を、第一のポリマー及び第一の溶媒を含有する第一の組成物を、固体表面上に一回以上、析出させ、前記第一の溶媒を蒸発させることにより、形成することができる。次に、1つ以上の内側層を、第二のポリマー、治療薬及び第二の溶媒を含有する第二の組成物を、前記底面相の全部又は一部に析出させ、前記第二の溶媒を蒸発させることにより、形成することができる。最後に、第三のポリマーを含む付加的な上面外側層を、第三のポリマー及び第三の溶媒を含む第三の組成物を、最後に形成された層上に一回以上、析出させ、前記第三の組成物を蒸発させることにより、形成することができる。いくつかの実施態様では、前記第一及び第三の組成物は同じ組成物である。例えば前記第一及び第三のポリマーは同じポリマーであってよい；前記第一及び前記第三の溶媒は同じ溶媒であってよい。他の場合では、前記第一及び第三のポリマーは異なってもよい。場合によっては、前記第一及び第三の溶媒は、前記第二の溶媒から異なり、又は、前記第

40

50

一及び第三のポリマーは前記第二のポリマーから異なり、そのため、前記第一及び第三のポリマーは、前記第二のポリマー中よりも前記第二の溶媒中での方が可溶性が低い。

【0015】

いくつかの実施態様では、前記第一及び前記第三の組成物は治療薬を含有せず、従ってこれらの実施態様では、前記第一及び前記第三の組成物によって形成された上面及び底面の外側層は、ポリマーのみの外側層であるか、又は、ポリマー及び非治療的成分を含有する。このような外側層のない薬物-ポリマーのマイクロ粒子は、おそらくは溶媒中の薬物及びポリマーの可溶性の違いを原因とする、及び、蒸発する溶媒と共にマイクロ粒子表面へ薬物が移動することを原因とする、溶媒蒸発ステップ中に薬物とポリマーとの間の物理的分離によって引き起こされる薬物ポケットを有する傾向がある。投与後、基本的には薬物ポケットからである、マイクロ粒子表面上の薬物は大幅な最初のバーストとして放出される傾向がある。更に、薬物ポケットの溶解の結果、より多孔質のマイクロ粒子ができ、これが更に薬物放出速度を高める。ここで開示するマイクロ粒子は、1つ又は複数の内側層内に含まれた治療薬の最初のバースト放出を制御する上でバリヤとして作用することができ、マイクロ粒子の内側層からのその後の放出速度を抑えることのできる外側層を有する。このように、ここで開示するマイクロ粒子を形成する方法は、長期にわたって治療薬の持続放出を達成するために有用である。いくつかの実施態様では、(上面及び底面層と呼ばれることもある)外側層は治療薬を含有することができ、この治療薬は1つ(又は複数)の内側層に存在するのと同じ治療薬でも、又は異なっているもよい。

10

20

【0016】

その後の析出ステップで、前に形成された層の部分的溶解を防ぐため、そして隣接層の混じり合いを防ぐために、いくつかの実施態様では、前に形成された層中のポリマーは、その後に塗布される組成物の溶媒中での低い可溶性を有することができる。例えば、前記第一のポリマーは、前記第二のポリマー中での低い可溶性を有することができ、従って、前記第一のポリマーを含む乾燥後の底面外側層は、治療剤を含有する1つ又は複数の内側層の形成中に、前記第二の溶媒によって大きく可溶化することはない。前記第三のポリマーもまた、前記第二の溶媒中で低い可溶性を有することができ、従って、前記第三のポリマーを含む付加的な上面外側層は、最後の治療薬を含有する内側層と混合しない。なぜなら、前記第二のポリマー及び前記第三のポリマーは、前記第二の溶媒中でのそれらの可溶性が異なるために、相分離したままであるからである。

30

【0017】

場合によっては、隣接層を形成するために用いた組成物中に用いられた溶媒は同じであるが、ポリマー又はポリマー分子量の違いが、その後に塗布された溶媒含有組成物が、前に形成された層を溶解させる又は部分的に溶解させる傾向を減じた。

【0018】

ある溶媒中でのポリマーの可溶性は、ヒルダーブランド可溶性パラメータ()により推定することができる。ヒルダーブランド可溶性パラメータ()の計算は、言及をもって全文をここに援用することとするMiller-Chou, B.A. 及びKoenig, J.L.が著者のレビュー文献(A review of polymer dissolution, Prog. Polym. Sci. 28:1223-1270, 2003)に解説されている。簡単に説明すると、ヒルダーブランド可溶性パラメータ()は、凝集エネルギー密度(CED)の平方根である：

40

$$= (\text{CED})^{1/2} = (E/V)^{1/2} = [(DH_{\text{vap}} - RT)/V]^{1/2}$$

(但し式中、 DH_{vap} は気化のエンタルピーであり、 V は体積であり、そして T は絶対温度である。可溶性は、「似ているもの同士は似た溶け方をする」の原理として知られる、ポリマーと溶媒との間の構造上の類似性の影響を大きく受ける。このように、1が溶媒のヒルダーブランド可溶性パラメータであり、2がポリマーのヒルダーブランド可溶性パラメータである場合、例えば $|1 - 2| < 4$ であるなど、 $|1 - 2|$ が小さいときに、ポリマーは溶媒中で高い可溶性を示す。反対に、 $|1 - 2| > 4$ であるなど、 $|1 - 2|$ が大きいときには、溶媒中でポリマーは低い可溶性を有する。いくつかの実施態様では、前記第二の溶媒は、前記第二の組成物中の治療薬に基づいて選択される

50

。前記第一及び前記第三のポリマーは、そのヒルダーブランド可溶性パラメータと、前記第二の溶媒のそれとの間の大きな違いに基づいて選択することができる（即ち大きな| 1 - 2|値）。

【0019】

ポリマーの分子量は溶媒中のその可溶性に影響する：ポリマーの分子量が大きいほど、その可溶性は低くなる(Prog. Polym. Sci. 28:1223-1270, 2003)。いくつかの実施態様では、前記第一及び前記第三のポリマーの分子量は、前記第二のポリマーの分子量よりも大きい。例えば、前記第一及び前記第三のポリマーの分子量は 前記第二のポリマーの分子量よりも、例えば20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40kDa、45 kDa、50 kDa、55 kDa、60kDa、65 kDa、70kDa、75 kDa、80 kDa、85 kDa、90 kDa、95 kDa、100 kDaなど、少なくとも40キロダルトン(kDa)、大きくてもよい。例えば、前記第一及び前記第三のポリマーは、100-350 kDaの平均分子量を有することができる；そして前記第二のポリマーは、15-150 kDaの平均分子量を有することができる。場合によっては、内側層と同じ分子量のポリマーから外側層を形成することが好ましいかも知れない。更に、内側層よりも小さい分子量のポリマーから外側層を形成することも好ましいかも知れない。例えば、内側層を形成するために用いるポリマーの分子量は、外側層を形成するために用いるポリマーの分子量よりも、例えば40kDa、45 kDa、50 kDa、55 kDa、60kDa、65 kDa、70kDa、75 kDa、80 kDa、85 kDa、90 kDa、95 kDa、100 kDaなど、少なくとも20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 キロダルトン(kDa)、大きくてもよい。

10

20

【0020】

幅広いポリマーを用いて本マイクロ粒子を形成することができ、そしてポリマーの種類や濃度は、所望の薬物放出特徴を持つ粒子を提供するように、マイクロ粒子の多様な層において異なってもよい。ポリマーの非限定的な例には：ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)、ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(L-乳酸)(PLLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、ポリ(ε-カプロラクトン)、及びポリ(オルトエステル)(POE)、並びにコラーゲン、キトサン及びポリ(アミノ酸)などの他の天然の生体分解可能なポリマーがある。いくつかの実施態様では、前記第一及び第三のポリマーは、PLGA、PLA、及びPLLAから選択することができる。前記第二のポリマーはPLGA、PLA、PLLA、PGA、PCL、及び POEから選択することができる。

30

【0021】

多様な治療薬を、ここで解説する多層マイクロ粒子を用いて送達することができる。例えば治療薬は低分子薬物、ペプチド薬物、たんぱく質薬物、多糖薬物、オリゴヌクレオチド、及び抗体であってよい。

【0022】

多様な溶媒を本マイクロ粒子作製に、当該の治療薬、ポリマー、及び調合物の種類に基づいて用いることができる。例えば、前記第一、第二、及び第三の溶媒はクラス3又はクラス2の有機溶媒から2012年に食品医薬品庁(FDA)によって発行されたICH Guidance for Industry Q3C Impurities: Residual Solvents に従って選択することができる。クラス3の溶媒は毒性が低く、ヒトの健康へのリスクも小さく、その中には酢酸、アセトン、アニソール、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸イソブチル、酢酸プロピル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、1-ブタノール、2-ブタノール、3-メチル-1-ブタノール、メチルエチルケトン、tert-ブチルメチルエーテル、メチルイソブチルケトン、ジメチルスルホキシド(DMSO)、2-メチル-1-プロパノール、エタノール、エチルエーテル、ギ酸エチル、ギ酸、ヘプタン、ペンタン、1-ペンタノール、1-プロパノール、及び2-プロパノールがある。クラス2の溶媒は毒性であるが、それらの残存濃度がFDAの特定するレベルに限られれば、医薬製品に用いることができる。クラス2の溶媒には、アセトニトリル、クロロベンゼン、クロロホルム、クメン、シクロヘキサン、1,2-ジクロロエテン、ジクロロメタン、1,2-ジメトキシエタン、N,N-ジメチルアセトアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、1,4-ジオキサン、2-エトキシエタノール、エチレングリコール、ホルムアミド、ヘキサン、メタノール、2-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、N-メチル

40

50

ピロリドン、ニトロメタン、ピリジン、スルホラン、テトラヒドロフラン、テトラリン、トルエン、トリクロロエチレン、及びキシレンがある。これらの溶媒により、多様な種類の治療薬、ポリマー、及び調合物のための柔軟性を高くすることができる。前記第二の溶媒は前記第二の組成物の治療薬に基づいて選択することができる。前記第一及び前記第三の溶媒は、それぞれ前記第一及び前記第三のポリマーに基づいて選択することができる。

【0023】

前記第一、第二、及び第三の組成物は液体、ゲル又はペーストのいずれであってもよい。場合によっては、前記治療薬は、完全に溶解させるのではなく、前記第二の溶媒及び前記第二のポリマーを含有する組成物中に少なくとも部分的に懸濁させる。時には、治療薬の一部を溶解させ、一部を懸濁させる。いくつかの実施態様では、前記組成物を、例えばマイクロプリンターなど、制御された態様で少量の液体を分配することのできる装置を用いて固体表面上に析出させることができる。例えば、当該のマイクロ粒子の一層を、60ミクロン未満の平均直径を有する液滴を噴霧するマイクロプリンターにより、固体表面上又は前に形成された層上に形成することができる。多くの場合、各層は、一回の析出ステップ及び一回の蒸発ステップを用いて形成される。しかしながら、場合によっては、選択された組成物で析出及び蒸発ステップを繰り返すことにより、より厚い層を提供することが好ましいかも知れない。例えば、析出ステップ及び蒸発ステップを、一回、二回、又は三回、繰り返すことができる。溶媒は、例えば5乃至12分間など、析出させた組成物を室温で空気乾燥することにより、蒸発させることができる。蒸発は、ある層の各析出ステップ後、いくつかの析出ステップ後、又はすべての析出ステップが終わった後に起き得る。しかしながら、その後の層を形成する材料の析出前に、ある層の溶媒の実質的に全てが蒸発することが好ましい。

10

20

【0024】

用いる調合物、溶媒の組成及び析出プロセスに依っては、マイクロ粒子は、多様な種類の層：1) 相互の上に積層された簡単な平らの層、2) 相互に一致しない層、3) 層の中間部分よりも外側の直径が厚い、ドーナツ型を有する非均一な層、4) 層の中間部分よりも外側の直径が薄い、半球形を有する非均一な層、を含んでもよい。一般的には、ある一枚の層は均一な厚さを有する必要はない。

【0025】

いくつかの実施態様では、当該の組成物を実質的に平面状の表面上に析出させることができ、それによって前記表面上に形成されたマイクロ粒子を、その後、下に解説する通りに前記表面から解放させることができる。前記の実質的に平面上の表面を被覆して、組成物の析出及び/又は形成されたマイクロ粒子の放出を促すことができる。

30

【0026】

いくつかの実施態様では、複数のウェルを有するテンプレートを利用して、マイクロ粒子を作成することができる。ヒドロゲル・テンプレートを用いたマイクロ作製技術は：Park (Journal of Controlled Release 141:314-319, 2010)に解説されている。他の種類のテンプレートを用いた他のマイクロ作製技術はWhitesides (Annual Review Biomed Engineering 3:335 - 73, 2001)に解説されている。テンプレートを用いる場合、テンプレート中のウェルの底面は固体表面として役立ち、そして前記ウェルを組成物で完全に充填、部分的に充填、又は過剰充填することにより、多層マイクロ粒子を前記テンプレートの1つ以上のウェル中に形成することができる。この態様で形成された多層マイクロ粒子は、それらが中で形成されたウェルの形状を採るであろう(例えば筒状、キューブ、矩形のプリズムをこのようにして形成することができる)。加えて、析出される組成物が制御不能な態様で基質全体に広がるのではなく、特定の形状を保持することができる態様で基質の表面が異なるように、示差的に被覆されたガラス又は他の基質から成る半球型テンプレート又は大変低いプロファイルのテンプレート又は実質的に平らなテンプレートを用いることにより、ほぼ球形の粒子を構築することができる。このようにして、半球形構造がテンプレートより上方に突出して乾燥するまで、相互の上に層を構築することにより、該構造を生じさせることができる。場合によっては、組成物(溶媒、粘性等)の特徴が粒子の形状

40

50

を制御する。

【0027】

ウェルを有するテンプレートを用いてマイクロ粒子を形成する場合、当該マイクロ粒子は好ましくは、テンプレートを溶解させることによりテンプレートから取り外されるとよい。このように、テンプレートは、例えばヒドロゲルなど、水溶性であってよい。マイクロ粒子が完成したら、それらをテンプレートから下に解説する通りに解放することができる。

【0028】

テンプレートを用いる場合、当該のテンプレートは鋳型を用いて形成することができる。鋳型は、シリコン・ウェーファをフォトレジストで被覆し、テンプレートに所望の形状に食刻した後、それを鋳型上に形成することで、作製することができる。テンプレート中のウェルは、出来上がるマイクロ粒子が、正方形、矩形、円形又は何らかの他の所望の形状である少なくとも1つの横断面を有することができるように、いずれの所望の形状であってもよい。

【0029】

マイクロ粒子は、例えばマイクロ粒子を実質的に溶解させない溶媒に浸漬し、ろ過又は遠心分離するなど、いずれかの適した手段を用いて平面上の表面又はテンプレートから解放することができる。例えば、水溶性のヒドロゲル・テンプレートを用いる場合、当該のマイクロ粒子は、所望の温度の水中にテンプレートを溶解させることにより、解放することができる。当該のマイクロ粒子は、マイクロ粒子含有懸濁液又は溶液をふるいでろ過し、ふるいの上面上のマイクロ粒子を採集することで、回収することができる。過剰な水を取り除くためには、採集されたマイクロ粒子を、例えば12時間など、凍結乾燥させた後、例えば5日間など、1乃至10日間、真空乾燥させることができる。支持表面又はテンプレートを液体窒素又は他の冷却気体流に浸漬することができる。当該のマイクロ粒子を空気又は真空中で吹きつけることができる。加えて、テンプレートを非溶媒に浸漬し、音波破碎してマイクロ粒子を解放してもよい。

【0030】

更にここで、多層マイクロ粒子を含有する組成物も開示する。前記組成物の各多層マイクロ粒子は、第一のポリマーを含む1つ以上の外側層；並びに治療薬及び第二のポリマーを含む1つ以上の内側層を含む。一般的には、1つ以上の外側層は治療薬を含有しない。前記第一のポリマーの分子量は、前記第二のポリマーの分子量よりも、例えば20 kDa、25 kDa、30 kDa、35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa、55 kDa、60 kDa、65 kDa、70 kDa、75 kDa、80 kDa、85 kDa、90 kDa、95 kDa、100 kDaなど、少なくとも20キロダルトン、大きい。例えば、前記第一のポリマーは、100-350 kDaの平均分子量を有することができる；前記第二のポリマーは、15-150 kDaの平均分子量を有することができる。前記第一及び第二のポリマーは、ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)、ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(L-乳酸)(PLLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、ポリ(ε-カプロラクトン)、及びポリ(オルトエステル)(POE)、並びにコラーゲン、キトサン及びポリ(アミノ酸)などの他の天然の生体分解可能なポリマーから選択することができる。

【0031】

いくつかの実施態様では、多層マイクロ粒子は、三次元では基本的に対称であり、いずれの一次元も80ミクロンを越えない。いくつかの実施態様では、多層マイクロ粒子は二次元で対称であり、長い方の対称軸に沿った次元は、100ミクロン未満であり、他方、短い方の対称軸に沿った次元は60ミクロン未満である。

【0032】

いくつかの実施態様では、マイクロカプセルの平均(粒子体積ベースで)Dv(同じ体積の球形粒子の直径)は100 μm未満であり；マイクロカプセルの平均Dvは：90、80、70、60又は50 μm未満から選択される。いくつかの実施態様では、マイクロ粒子は実質的に単分散である。いくつかの実施態様では、組成物中のマイクロ粒子の少なくとも70%(80%、90%)は、組成物中のマイクロカプセルの平均Dvから50%(40%、30%、20%以下)以下、異な

10

20

30

40

50

る。場合によっては、マイクロカプセルの平均最大直線寸法は：100、90、80、70、60、50又は40 μm 未満から選択され、そして30、40又は50 μm よりも大きい。いくつかの実施態様では、マイクロ粒子は、例えば二つの外側層及び1つの内側層を含むなど、3つ以上の層を含む。いくつかの実施態様では、マイクロ粒子は、例えば二つの外側層（上面の外側層及び底面の外側層）及び二つ以上の（例えば2、3、4、5、6、7、8、9、又は10など）内側層を含むなど、4つ以上の層を含む。前記マイクロ粒子は多様な種類の層を含むことができる。例えば、多層マイクロ粒子は均一な厚さの層を含むことができる。いくつかの実施態様では、マイクロ粒子は、互いの上面に積層された、均一な平らの層から成る。多層マイクロ粒子は更に異なる厚さの層を含むこともできる。いくつかの実施態様では、マイクロ粒子は、例えば環型の開放部を持つドーナツ型の層又は半球形の層など、マイクロ粒子は、隣接層と一致しない1つ以上の層を含有することができる。一般的には、層は均一な厚さを有する必要はない。例えば、マイクロ粒子は、外側の直径が層の中間部分よりも厚い又は薄いような不均一な層を含有することができる。

10

【0033】

ここで解説する組成物は更に、治療薬の特定の調合物に適した医薬品添加物、賦形剤、又は緩衝剤も含むことができる。いくつかの実施態様では、多層マイクロ粒子を含有する組成物は、患者に注射されたときにインプラントを形成することができる。該インプラントは、例えば2mm \times 0.75mmの寸法を持つ筒状のインプラントなど、0.5乃至10mmの最大直線寸法を有することができる。該インプラントの総重量は100乃至5000マイクログラム（例えば

20

250-1000マイクログラムなど）であってよい。このような大型のインプラントは、より大量の治療薬を含有することができ、当該の治療薬はより長期にわたって放出され得る。例えばマイクロ粒子は少なくとも3か月、6か月、9か月、12か月、18か月、2年又はそれ以上の期間にわたって治療薬を放出するように調合することができる。

【0034】

組成物は多様な方法でテンプレート又は平面上の表面上に析出させることができる。例えばマイクロプリンターを平面上の表面上への析出に用いる場合、各層の面積は、まずプリンター・ノズルの直径、層を形成させるために析出させる液体組成物の量、及び、液体組成物の物理的特徴に依存する。しかしながら、プリント・ヘッドを移動させることにより、多様なサイズ及び形状で層を生じさせることが可能である。制御可能なプリント・ヘッドを用いることにより、異なる層が異なるサイズ及びノ形状を有することができる。例えば第一の層は50ミクロンの直径の円盤であってよく、第二の層は、第一の層の中央にある20ミクロンの直径の円盤であってよく、第三の層は、前記第一の層の中央にある50ミクロンの直径の円盤であってよい。いくつかの実施態様では、液体組成物を、マイクロプリンターにより、実質的に平面上の表面でなくテンプレート上に析出させることができる。この実施態様では、当該のマイクロプリンターは、複数のウェルを有するテンプレートの1つ以上のウェル中に液体組成物を析出させる。

30

【0035】

マイクロプリンターを用いる場合、液体組成物の析出が起きる包囲空間の雰囲気は、プリンティング・ノズルの効率を高め、ノズルの詰まりを防ぎ、析出する液体組成物中の溶媒の蒸発を制御し、そして所望の条件を提供するために、制御することができる。ポリマー溶媒、治療薬、医薬品添加物及び調合物に応じて、温度、湿度、及び気圧を増減させることが有用であろう。不活性ガス雰囲気（例えば窒素又はアルゴン）を利用したり、あるいは少なくとも部分的に溶媒で飽和させた雰囲気を用いたりすることも有用であろう。更に、ノズル及びノ又は析出表面の温度も、冷却又は加熱により制御することができる。

40

【実施例】

【0036】

実施例

本発明を更に、請求の範囲に解説された本発明の範囲を限定するものではない以下の実施例で解説する。

50

【 0 0 3 7 】

材料

市販の材料：ポリビニルアルコール (PVA、Sigma)；ポリ(乳酸-コ-グリコール酸) (PLGA)：54 kDa のPLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 6535DLG4A)、109 又は118 kDa のPLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)、115 kDa のPLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E)、及び178 kDa PLGA (Akina 8520)；ポリ(L-乳酸) (PLLA)：180 kDa PLLA-20 (Akina)；プリンゾルアミド (BRZ、Chemvon Biotechnology)、アセタゾルアミド(ACZ、Spectrum Chemical)、テトラヒドロフラン(THF、EMD Millipore)、ジクロロメタン (DCM、EMD Millipore)、ジメチルホルムアミド (DMF、EMD Millipore) 及びリン酸緩衝生理食塩水 pH 7.4 (PBS、VWR International)を用いて実験を行なった。

10

【 0 0 3 8 】

フォトリソグラフィーによるシリコン・ウェーファ・マスター・テンプレートの作製

シリコン・ウェーファをSU8 2010 フォトレジスト (Microchem、MA) で3,500 rpm で30秒間、回転被覆して所望の厚さを得た後、95℃で3分間、焼成した。フォトレジストで被覆されたシリコン・ウェーファを紫外線に10µmの直径の円形パターンを含有するマスクを通して12秒間、暴露した。暴露後、シリコン・ウェーファを95℃で3分間、事後焼成した後、SU-8 現像液中で2分間、現像させた。シリコン・ウェーファをイソプロパノールですすいだ後、窒素ガスで乾燥させた。こうして作製されたウェーファは、1.5µm乃至50µmの範囲の、又はそれより大きい、直径を持つウェルを含有していた。

20

【 0 0 3 9 】

e-ビームリソグラフィーによるシリコン・マスター・テンプレートの作製

500nmの直径の円形パターンはCAD 2007プログラムを用いてデザインされた。1µmの厚さのSiO₂層で被覆された3"のシリコン・ウェーファ(University Wafer) (100) を、300nmの厚さの層のポリ(メチルメタクリレート) (PMMA、Microchem) フォトレジストで、回転被覆された (SCS P6708 回転被覆システム、3500 rpm、30秒)を用いて回転被覆した。被覆後のPMMAフォトレジスト層を電子線(e-ビーム)に予めプログラムされたパターンでLeica VB6 高解像能ウルトラワイド・フィールド・フォトリソグラフィー装置 (high resolution Ultrawide Field Photolithography Instrument) (100 KV、伝送速度 25 MHz で電流5 nAで作動する)を用いて暴露した。e-ビーム・リソグラフィー後、シリコン・ウェーファを 3:1 のイソプロパノール：メチルイソブチルケトン溶液で現像して、フォトレジストの暴露領域を取り除いた。5 nm のクロム層及び20 nm の金層をこのパターン上に析出させた後、灌流アセトン中で残余PMMAフィルムを剥離させた。当該のパターンをSF₆/O₂プラズマによる深部反応性イオン食刻により、下にある酸化シリコンに移した。生成したシリコン・マスター・テンプレートを、ヒドロゲル・テンプレートの作製に用いた。

30

【 0 0 4 0 】

溶解可能なPVAテンプレートの作製

マイクロカプセルを作製するための一時的テンプレートは、水溶液か、又は、水溶液及び有機溶液の混合液(例えば水及びエタノール)に溶解させることのできるポリマーを用いて形成することができる。テンプレート溶解に用いる溶液の温度及び/又はpHは変更することができ、一時的テンプレートを溶解させるために室温から増減させることができる。実施例で用いられたテンプレートを形成するために、澄んだポリ(ビニルアルコール) (PVA) 溶液(水中% w/v、5 ml)をピペットで、円形のピラー(例えば直径50µmで高さ70µmのものなど)を含有するシリコン・ウェーファ・マスター・テンプレート又はポリ(ジメチルシロキサン) (PDMS)から成る選択的な中間テンプレート(3"の直径)に移した。PVA溶液を均一に広げて、マスター又はPDMS中間テンプレートを完全に覆う薄膜を形成し、70℃のオーブン中に30分間、維持した。このステップの結果、薄く、機械的に強度のあるPVAテンプレートが形成された。このPVA テンプレートをマスター・テンプレート又はPDMS中間テンプレートから剥がした。得られたPVAテンプレートは直径で約3"であり、円形のウェル(例えば直径50µmで深さ70µmのものなど)を含有していた。このPV

40

50

A連プレートを明視野反射顕微鏡下で調べてその構造上の一体性を判定した。

【0041】

治療薬含有マイクロ粒子の作製

治療薬及び調合物ポリマーに適した溶媒に溶解させて、10-15% (w/v、治療薬及びポリマーの合計量) 薬物-ポリマー懸濁液又は溶液を作製した。治療薬は総固体の1-30%を構成する；調合物ポリマーは、薬物-ポリマー懸濁液/溶液中の固体の残りを構成する。溶媒は治療薬に基づいて選択された。コーティング・ポリマー溶液は、コーティング・ポリマーをそのポリマーに適した溶媒に溶解させることにより、調製された。

【0042】

例えば、プリンゾルアミド含有マイクロ粒子を作製するためには、粉碎された又はマイクロ流動化プリンゾルアミド及びPLGA (118 kDa 又は115 kDa) をジクロロメタンに溶解させて15% (w/v) 薬物-ポリマー懸濁液を得た。コーティング・ポリマー溶液を、178 kDa PLGA (Akina 8520) 又は180 kDa PLLA-20 (Akina) をジクロロメタンに約5-7.5% (w/v) 濃度に達するように溶解させることで調製した。

【0043】

アセタゾルアミド含有マイクロ粒子を作製するために、アセタゾルアミドをジメチルホルムアミド (DMF) にまず300 mg/mL ストックに溶解させ、このストックを次に、ジクロロメタン逆溶剤に均質化させてアセタゾルアミド微結晶を形成させた。アセタゾルアミド微結晶及びPLGA (65kDa) をジクロロメタンに溶解させて、15% (w/v) の薬物-ポリマー懸濁液を得た。コーティング・ポリマー溶液は109 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E) をジクロロメタンに約 2% (w/v) 濃度に達するように溶解させることで調製された。

【0044】

マイクロ粒子は、50 μ mの直径及び70 μ mの深さの円形ウェルを含有する水溶性のPVA ヒドロゲル・テンプレートを用いて形成された。まず、150 μ lのコーティング・ポリマー溶液を、PVAテンプレート中の1つ以上のウェルの底面に分配することにより、ポリマー単独の底面外側層を形成した。コーティング・ポリマー溶液をテンプレート上に析出させることができ、テンプレートの表面上にわたってブレードを引くことで、コーティング・ポリマー溶液をウェル中に促し、ウェル同士の間のテンプレート表面上の過剰な溶液を実質的に取り除くことができる。代替的には、コーティング・ポリマー溶液を、マイクロ分配器を用いるか、又は噴霧により、ウェル中に直接、析出させることができる。コーティング・ポリマー溶液が析出した後に、ジクロロメタンを室温で5分間、空中に蒸発させる。この析出ステップを繰り返せば、外側層をより厚くすることができる。このように、コーティング・ポリマー溶液を1回、2回、3回又はそれ以上、析出させることができる。しかしながら、ウェルはこのプロセス中、部分的に充填されるのみであるべきである。溶媒の蒸発は、各析出ステップ後、全析出ステップよりも少ないステップ後、又は底面外側層を完成させるための全ステップ後に、起こさせることができる。しかしながら、底面外側層中の溶媒は、内側層を形成するために材料を析出させる前に蒸発させるべきである。

【0045】

次に、150 μ lの薬物-ポリマー懸濁液を、前に形成された底面外側層に分配することにより、薬物含有内側層を形成した。薬物-ポリマー懸濁液を、前に形成された底面外側層上に析出させた後、室温で5分間、ジクロロメタンを空中に蒸発させた。このステップを3乃至6回、繰り返した。マイクロ粒子中の薬物-ポリマー内側層。コーティング・ポリマー溶液と同じ態様、あるいは異なる態様で、薬物-ポリマー懸濁液をウェル中に析出させることができる（例えば広げることにより両者を析出させることも、あるいは、広げることにより一方を析出させ、分配により他方を析出させることもできる）。

【0046】

最後に、150 μ lのコーティング・ポリマー溶液を内側層に析出させることにより、上面外側層を形成した。コーティング・ポリマー溶液を内側層上に均一に広げた後、室温で5分間、ジクロロメタンを空中に蒸発させた。底面外側層の形成とまったく同じように、こ

のステップを繰り返すと外側層を厚くすることができる。

【0047】

全ての所望の層を形成後、マイクロ粒子を持つPVAテンプレートを室温で少なくとも12時間、乾燥させた。次に、テンプレートを37℃の水中で少なくとも30分間、溶解させることにより、マイクロ粒子を回収した。マイクロ粒子を含有する懸濁液を104ミクロンのふるいでまずろ過した。次にろ過物を45ミクロンのふるいでろ過し、マイクロ粒子を45ミクロンのふるいの上面に採集した。採集されたマイクロ粒子を少なくとも12時間、凍結乾燥させた後、40℃で5日間、真空乾燥させた。

【0048】

In vitro薬物放出研究

In vitro プリンゾルアミド研究のために、少なくとも5mgのプリンゾルアミド含有マイクロ粒子を10mLのリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中に懸濁させ、in vitro薬物放出研究に向けて37℃の振盪水槽中に配置した。指定された検査点 (例えば最初のインキュベート後各週) で、試料を遠心分離し、1 mL の上清を高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) によるプリンゾルアミド解析用に取り出した。次に、8 mL の上清を取り出し、廃棄し、9 mL の新鮮なPBSを試料に加えた。適した補正を行って、次の放出期間に残る、1mLの取り出されなかった上清中の薬物を勘案した。終了点に達するまで、同じ手法を各検査点 (例えば1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、11週、12週、13週、14週、15週、16週) で行なった。

【0049】

図1-2において、in vitro プリンゾルアミド放出結果は、放出された薬物の累積パーセントで示された。図1-2に示すように、178 kDa PLGA (Akina 8520) の外側層は、このような外側層のないマイクロ粒子に比較したときに、プリンゾルアミドの最初のバースト放出を大きく減少させていた。注目すべきことに、2週目では、ポリマー単独の178 kDa PLGA (Akina 8520) の外側層のマイクロ粒子からのプリンゾルアミドの累積放出は約40%であったが、外側層のないマイクロ粒子からのそれは80%を超えた (図1)。図2において、最初のバースト放出における同様な減少は、180 kDa PLLA-20 (Akina) の外側層を持つマイクロ粒子で観察された。更に、178 kDa PLGA の外側層を持つマイクロ粒子は、18週間にわたる薬物プリンゾルアミドの長期の放出を達成したが、他方、このような外側層のない同様なマイクロ粒子は、最初の三週間、薬物の90%を放出した (図1)。同様な長期の薬物放出傾向は、180 kDa PLLA-20 の外側層を持つマイクロ粒子で観察された (図2)。

【0050】

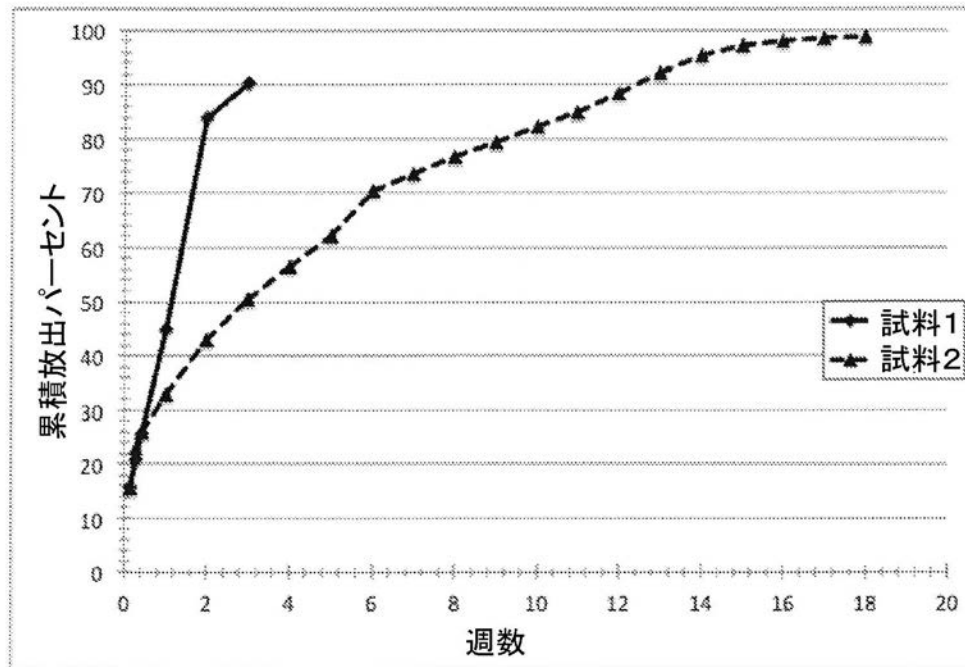
このin vitro アセタゾルアミド放出研究のために、少なくとも5mgのアセタゾルアミド含有マイクロ粒子を1 mL PBSに懸濁させ、in vitro 薬物放出研究に向けて37℃の振盪水槽中に配置した。指定された検査点 (例えば、最初のインキュベート後、各週) で、試料を遠心分離し、0.9 mL の上清を、HPLCによるアセタゾルアミド解析に向けて取り出した。その後、0.9 mL の新鮮なPBSを試料に加えた。適した補正を行って、次の放出期間に残る、0.1mLの取り出されなかった溶液中のアセタゾルアミドを勘案した。この手法を、終了点に達するまで各時点で行なった。このin vitro アセタゾルアミド放出結果は、図3において放出された薬物の累積パーセントで示された。図3に示すように、2%という僅かな109kDa PLGA 外側層でも、アセタゾルアミド含有マイクロ粒子からのアセタゾルアミドの最初のバースト放出を減少させていた。

【0051】

他の実施態様

以上、本発明をその詳細な説明と関連付けて解説してきたが、前述の説明は描写を意図されたものであり、本発明の範囲を限定するものとは意図されておらず、本発明の範囲は添付の請求の範囲によって定義されると理解されたい。他の局面、利点、及び変更は、以下の請求の範囲内である。

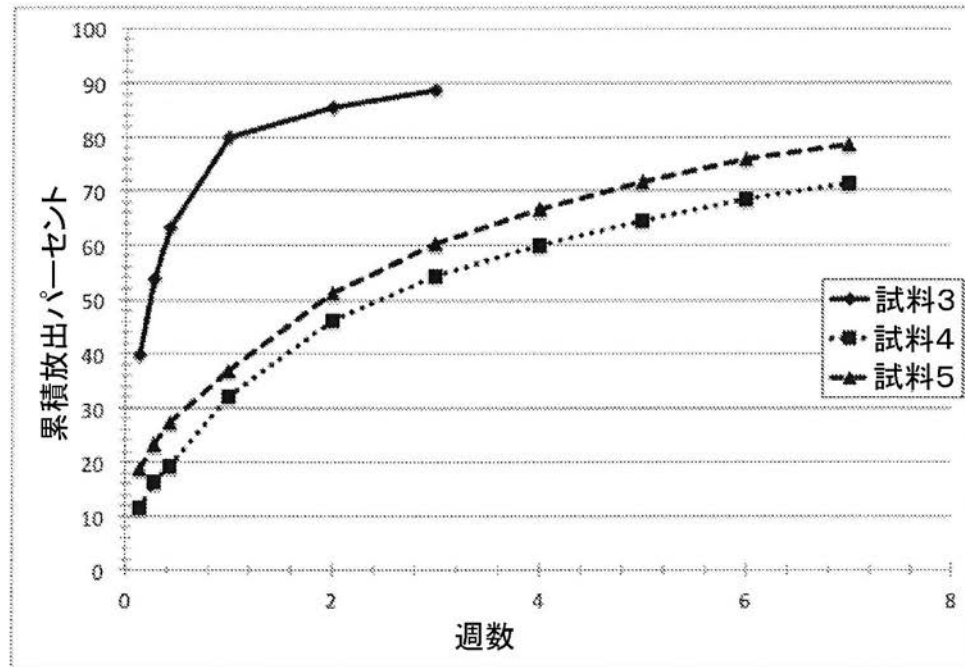
【図 1】



| 試料No. | 試料の解説 | 薬物負荷 (% w/w) | 内側層ポリマー | 外側層ポリマー |
|-------|-------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 試料1 | プリンゾルアミドの ジクロロメタン懸濁液 | 11.9 | 115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E) | なし |
| 試料2 | プリンゾルアミドの ジクロロメタン懸濁液 | 10.2 | 115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E) | 5% 178 kDa PLGA (Akina 8520)の 二回のコーティング |

図 1

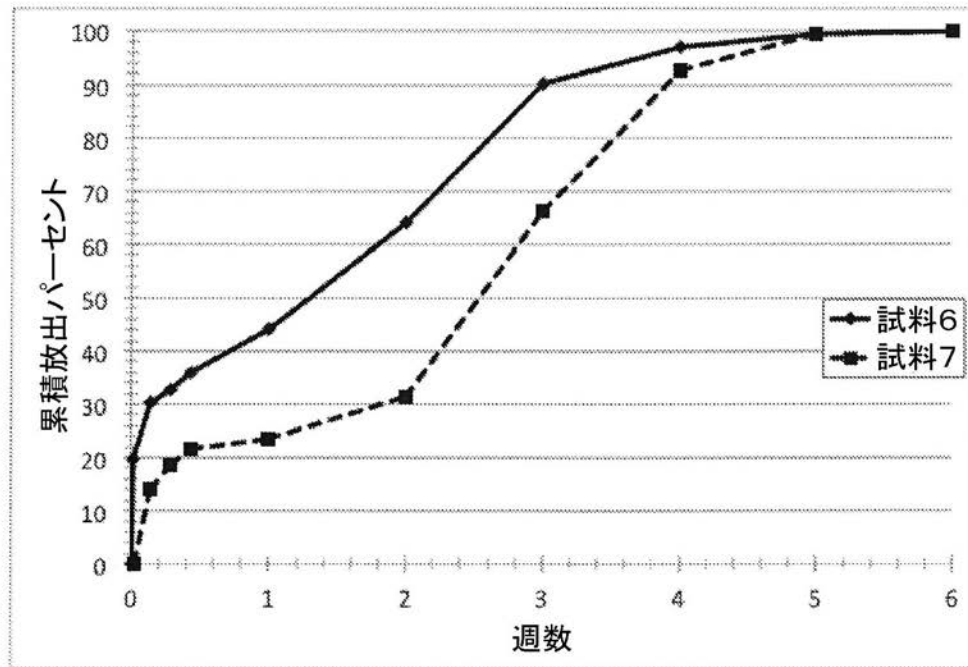
【図 2】



| 試料No. | 試料の解説 | 薬物負荷 (% w/w) | 内側層ポリマー | 外側層ポリマー |
|-------|-----------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 試料3 | ブリンゾルアミドの ジクロロメタン 懸濁液 | 18.9 | 118 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E) | なし |
| 試料4 | ブリンゾルアミドの ジクロロメタン 懸濁液 | 14.1 | 118 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E) | 7.5% 178 kDa PLGA (Akina 8520)の 一回のコーティング |
| 試料5 | ブリンゾルアミドの ジクロロメタン 懸濁液 | 14.4 | 118 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E) | 7.5% 180 kDa PLLA-20 (Akina)の 一回のコーティング |

図2

【図 3】



| 試料No. | 試料の解説 | 薬物負荷 (% w/w) | 内側層ポリマー | 外側層ポリマー |
|-------|--------------------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 試料6 | アセタゾルアミドの ジクロロメタン微結晶 懸濁液 | 6.1 | 54 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 6535 DLG 4A) | なし |
| 試料7 | アセタゾルアミドの ジクロロメタン微結晶 懸濁液 | 2.8 | 54 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 6535 DLG 4A) | 2% 109kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)の一回の コーティング |

図3

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2013/060987

| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 9/58 (2014.01) USPC - 424/497 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) IPC(8) - A61K 9/14, 9/52, 9/58; B05D 1/02 (2014.01) USPC - 424/458, 449, 497; 427/213.36; 977/890, 906 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched CPC - A61K 9/2081, 9/5031, 9/5089 (2014.02) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Orbit, Google Patents, Google Scholar | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | US 2011/0256218 A1 (VENKATESH et al) 20 October 2011 (20.10.2011) entire document | 1-4, 9-11, 13-17, 24 |
| Y | | 5-8, 12, 18-23, 25 |
| Y | US 2012/0027833 A1 (ZILBERMAN) 02 February 2012 (02.02.2012) entire document | 5-8 |
| Y | US 2009/0136583 A1 (PARK et al) 28 May 2009 (28.05.2009) entire document | 12, 18-23, 25 |
| A | ALRASHIDI et al. Fluidised bed granule coating: Case studies of top and bottom spray coating. Glatt Times. No. 30, Pages 10-12, 2010. [retrieved on 26 March 2014]. Retrieved from the Internet. <URL: http://www.glatt.com/crm/fileadmin/material/glatt_times_30.pdf >. entire document | 1-25 |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> | | |
| * 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 "&" document member of the same patent family | | |
| Date of the actual completion of the international search 26 March 2014 | | Date of mailing of the international search report 18 APR 2014 |
| 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: Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774 |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2013/060967

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.:
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:

See Extra Sheet

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.:
1-25

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2013/060987

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I: Claims 1-25 are drawn to a method for preparing a multilayer microparticle

Group II: Claims 26-47 are drawn to a composition comprising one or more multilayer microparticles

The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The special technical features of Group I, a method of preparing a multilayer microparticle, are not found in Group II; and the special technical features of Group II, a composition comprising one or more multilayer microparticles, are not found in Group I.

Groups I and II share the technical features of a multilayer microparticles, wherein the one or more multilayer microparticles comprise one or more bottom layers comprising a first polymer; and one or more inner layers comprising a therapeutic agent and a second polymer, and one or more top layers comprising a third polymer. However, these technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2011/0256218 A1 to Venkatesh et al. teaches a multilayer microparticles (Fig. 1; Para. [0014], ...controlled-release (CR) particles, wherein each CR particle comprises a core comprising a pharmaceutically acceptable organic acid and a polymeric binder, a first coating disposed over said acid core, comprising a water insoluble polymer alone or a water-insoluble polymer in combination with an optional water-soluble or enteric polymer to produce a CR coated acid core, and a second coating disposed over said CR acid core, comprising a weakly basic, piperazine derivative of H1-receptor antagonists, such as meclizine, and a polymeric binder, and a third coating disposed over said drug core comprising an enteric polymer and optionally a water-insoluble polymer...; Paras. [0015]-[0019]; Para. [0085], ...CR beads...should have an average particle size of about 400 microns or less...), wherein the one or more multilayer microparticles (Paras. [0014]-[0019]) comprise one or more bottom layers comprising a first polymer (Paras. [0014]-[0019]); and one or more inner layers comprising a therapeutic agent and a second polymer (Paras. [0014]-[0019]), and one or more top layers comprising a third polymer (Paras. [0014]-[0019]).

The inventions listed in Groups I and II therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(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, KM, 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, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ

(72)発明者 ローズ, クリス

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 1 0 2 0 グレイト ネット メドウ ウッズ ロード 5
7

(72)発明者 マラビア, ニキータ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 1 0 2 0 グレイト ネット メドウ ウッズ ロード 5
7

(72)発明者 ジェニングス, ロバート

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 1 0 2 0 グレイト ネット メドウ ウッズ ロード 5
7

(72)発明者 ラクスマ, レディ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 1 0 2 0 グレイト ネット メドウ ウッズ ロード 5
7

(72)発明者 ノーマン, ベティー

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 1 0 2 0 グレイト ネット メドウ ウッズ ロード 5
7

F ターム(参考) 4C076 AA99 BB24 CC10 EE24A FF32 GG16

4C086 AA10 BC85 CB29 MA03 MA05 MA43 MA58 NA12 ZA33