



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0098530
(43) 공개일자 2016년08월18일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4184 (2006.01) A61K 47/10 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) A61K 9/19 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A61K 31/4184 (2013.01)
A61K 47/10 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-7021645(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2006년01월13일
심사청구일자 없음</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2007-7018503
원출원일자(국제) 2006년01월13일
심사청구일자 2011년01월12일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2016년08월08일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2006/001308</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2006/076620
국제공개일자 2006년07월20일</p> <p>(30) 우선권주장
60/644,354 2005년01월14일 미국(US)
11/330,868 2006년01월12일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
세파론, 인코포레이티드
미국 19355 펜실바니아주 프레이저 무어스 로드 41</p> <p>(72) 발명자
브리타인, 제이슨, 에드워드
미국 92020 캘리포니아주 이엘 카존 키스워 코트 1580
프랜클린, 조에, 크레이그
미국 74135 오클라호마주 톨사 45번 스트리트 3708</p> <p>(74) 대리인
양영준, 양영환</p> |
|--|--|

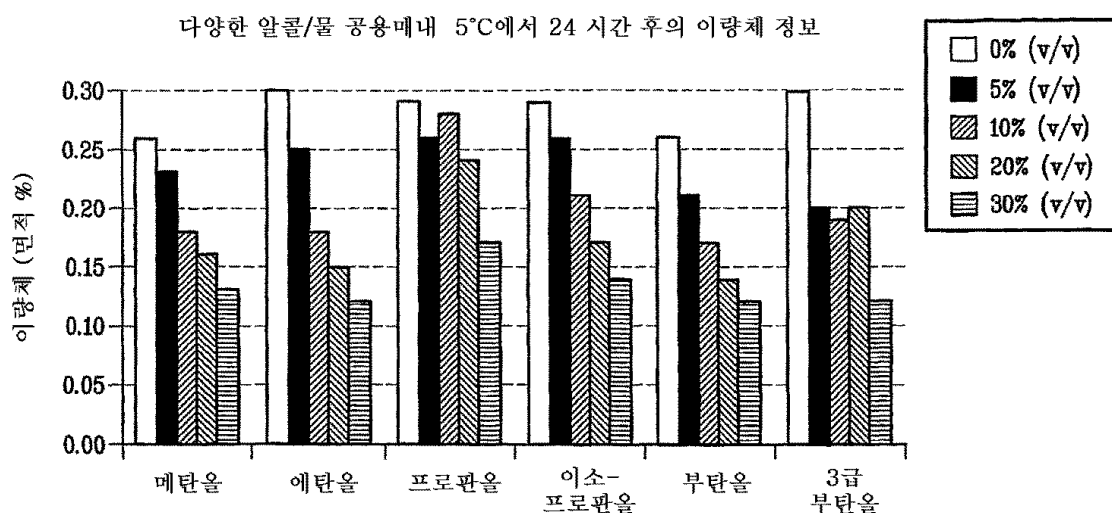
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 동결건조를 위한 벤다무스틴 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 약학 용도에 적합한 동결건조된 벤다무스틴의 약학 배합물을 제공한다. 본 발명은 또한 동결건조된 벤다무스틴의 제조 방법을 제공한다. 약학 배합물은 벤다무스틴에 의한 치료에 민감한 임의의 질환(예: 종양병)에 사용될 수 있다. 벤다무스틴의 전-동결건조(pre-lyophilization) 조성물에 사용되는 바람직한 용매는 3급 부틸 알콜이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/19 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

인간에 대한 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 다양한 질환 상태, 특히 종양병 및 자가면역 질환의 치료를 위한 약학 조성물의 분야에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 질소 머스터드, 특히 질소 머스터드 벤다무스틴, 예컨대 벤다무스틴 HCl을 포함하는 약학 배합물에 관한 것이다.

배경 기술

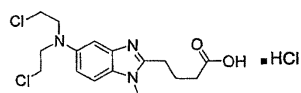
[0002] 본 발명은, 도면 및 청구의 범위를 포함하여 그 전체가 본원에 참조로 인용되어 있는, 2005년 1월 14일자로 출원된, "벤다무스틴 약학 조성물"이라는 발명의 명칭의 미국 특허출원 제60/644,354호를 우선권 주장한다.

[0003] 하기 설명은 본 발명의 이해에 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 임의의 이러한 정보가 본 발명의 종래 기술이거나 본 발명에 관련되거나, 또는 명확하게 또는 암시적으로 인용된 임의의 공개문헌이 종래 기술임을 인정하는 것은 아니다.

[0004] 질소 머스터드는 수용액에서의 높은 반응성 때문에, 약제로서 배합하기가 어렵고, 종종, 숙련된 병원 종사자가 투여 전에 일반적으로 물에 재구성하여야 하는 동결건조 형태로 투여되도록 공급된다. 일단 수용액내에서, 질소 머스터드는 가수분해에 의해 분해되기 쉬우므로, 재구성된 제품은 재구성 후 가능한 빨리 환자에게 투여되어야 한다.

[0005] 벤다무스틴, (4-{5-[비스(2-클로로에틸)아미노]-1-메틸-2-벤즈이미다졸릴}부티르산은 벤즈이미다졸 고리를 갖는 비정형 구조로서, 그의 구조는 활성 질소 머스터드를 포함한다(벤다무스틴 염산염을 나타내는 하기 화학식 I 참조).

[0006] [화학식 I]



[0007]

[0008] 벤다무스틴은 독일 민주 공화국(GDR)에서 1963년 처음 합성되었고, 1971년부터 1992년까지 그 곳에서 시토스타산(Cytostasan, 등록상표)이라는 명칭으로 이용할 수 있었다. 그 때부터, 독일에서 리보무스틴(Ribomustin, 등록상표)이라는 상표명으로 판매되었다. 벤다무스틴은 독일에서 만성 림프성 백혈병, 호지킨병, 비호지킨 림프종, 다발 골수종 및 유방암을 치료하기 위하여 널리 사용되어 왔다.

[0009] 벤다무스틴은 수용액내에서의 그의 분해로 인하여(다른 질소 머스터드와는 달리), 동결건조 제품으로서 공급된다. 통용되는 벤다무스틴의 동결건조 배합물(리보무스틴)은 재구성 후 정맥내 사용을 위한 백색 분말로서 멸균 동결건조 형태로 벤다무스틴 염산염 및 만니톨을 함유한다. 완성된 동결건조물은 빛에 노출되면 불안정하다. 따라서, 제품은 갈색 또는 호박색 유리병에 보관한다. 통용되는 벤다무스틴의 동결건조된 배합물은 약물의 제조 및/또는 약물 완제품을 제조하기 위한 동결건조 과정에서 일어날 수 있는 분해 생성물을 함유한다.

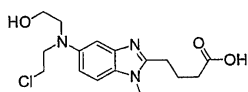
[0010] 일반적으로 벤다무스틴은 50 ml 바이알당 약물 100 mg 또는 20 ml 바이알당 약물 25 mg으로 주사용 동결건조 분말로서 배합된다. 바이알은 환자 투여 시점에 가능한 가까운 시점에 열어 재구성한다. 제품은 주사용 멸균수 40 ml(100 mg 제공을 위하여) 또는 10 ml(25 mg 제공을 위하여)를 사용하여 재구성한다. 재구성된 제품을 500 ml의 주사용 0.9 % 염화 나트륨에 적당량으로 추가 희석한다. 투여 경로는 30 내지 60 분에 걸친 정맥내 주입이다.

- [0011] 주사용 멸균수 40 ml로 재구성한 후, 벤다무스틴의 바이알은 실온 보관시 7 시간동안 또는 2 내지 8 ℃에서 보관시 6 일동안 안정하다. 500 ml 혼합물 용액은 바이알 재구성한 지 7 시간 이내에 환자에게 투여되어야 한다 (혼합물을 실온 보관한다고 가정할 때).
- [0012] 본 발명의 벤다무스틴 동결건조 분말의 재구성은 어렵다. 임상 보고에 의하면, 재구성은 15 분 이상 걸릴 수 있으며, 30 분 정도 걸릴 수도 있다. 제품의 재구성을 담당하는 건강관리 전문가에게 귀찮고 시간이 낭비적이라는 것 외에, 재구성 과정동안 벤다무스틴이 물에 장시간 노출됨으로써 제품이 물에 의해 가수분해됨으로 인해 역가 손실 및 불순물 형성의 가능성이 증가한다.
- [0013] 따라서, 재구성하기가 더 쉽고 통용되는 벤다무스틴의 동결건조물(동결건조 분말) 배합물보다 더 나은 불순물 프로필을 갖는 벤다무스틴의 동결건조 배합물이 필요하다.
- [0014] 독일(GDR) 특허 제34727호에는 1-위치에서 치환된 ω -[5-비스(β -클로로에틸)-아미노-벤즈이미다졸릴-(2)]-알칸 카르복실산의 제조 방법이 개시되어 있다.
- [0015] 독일(GDR) 특허 제80967호에는 γ -[1-메틸-5-비스-(β -클로로에틸)-아미노-벤즈이미다졸릴-(2)]-부티르산 염산 염의 주사용 제제가 개시되어 있다.
- [0016] 독일(GDR) 특허 제159877호에는 4-[1-메틸-5-비스(2-클로로에틸) 아미노-벤즈이미다졸릴-2)-부티르산의 제조 방법이 개시되어 있다.
- [0017] 독일(GDR) 특허 제159289호에는 벤다무스틴의 주사 용액이 개시되어 있다.
- [0018] 리보무스틴 벤다무스틴 제품 논문(2002년 1월 개정)
http://www.ribosepharm.de/pdf/ribomustine_bendamustine/productmonograph.pdf는 제품 설명을 포함하여 리보무스틴에 관한 정보를 제공한다.
- [0019] 니(Ni) 등의 보고에 의하면, 니트로소우레아 SarCNU는 순수한 아세트산, 디메틸 술폰사이드, 메틸히드록시, 물, 또는 TBA/물 혼합물내에서보다 순수한 3급 부탄올내에서 더 안정하였다(문헌[Ni et al. (2001) *Intl. J. Pharmaceutics* 226:39-46]).
- [0020] 동결건조된 시클로포스파미드는 당업계에서 공지되어 있다(예를 들어, 미국 특허 제5,418,223호; 제5,413,995호; 제5,268,368호; 제5,227,374호; 제5,130,305호; 제4,659,699호; 제4,537,883호; 및 제5,066,647호 참조).
- [0021] 동결건조된 질소 머스터드 이포스파미드는 국제 특허출원 공개공보 WO 2003/066027호; 미국 특허 제6,613,927호; 제5,750,131호; 제5,872,912호; 제5,227,373호; 및 제5,204,335호에 개시되어 있다.
- [0022] 티가든(Teagarden) 등은 락토즈 및 3급 부틸 알콜의 용액에 PGE-1을 용해함으로써 제조된 프로스타글란딘 E-1의 동결건조 배합물을 개시하였다(미국 특허 제5,770,230호).

발명의 내용

- [0023] 발명의 요약
- [0024] 본 발명은 질소 머스터드의 안정한 약학 조성물, 특히 동결건조된 벤다무스틴 및 다양한 질환 상태, 특히 종양 병 및 자가면역 질환의 치료에서의 그의 용도에 관한 것이다.
- [0025] 본 발명의 실시양태는 하기 화학식 II에 나타낸 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율)를 함유하는 벤다무스틴의 약학 조성물이고, 이때 HP1은 본원에 기술된 벤다무스틴의 동결건조된 약학 조성물의 방출시 또는 재구성 후 0 시간에 존재하는 HP1의 양이다:

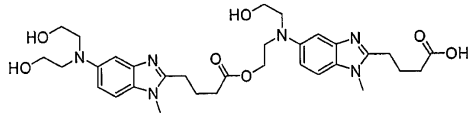
- [0026] [화학식 II]



- [0027]
- [0028] 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 HP1 약 0.5 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율), 바람직하게는 약 0.45 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.40 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.35 % 이하, 더욱 더 바람직하게는 0.30 % 이하를 함유하는 벤다무스틴의 약학 조성물이다.

[0029] 본 발명의 다른 실시양태는 방출시 또는 재구성 후 0 시간에, 하기 화학식 III에 나타낸 벤다무스틴 이량체 약 0.1 내지 약 0.3 % 이하를 함유하는 벤다무스틴의 동결건조 제제이다:

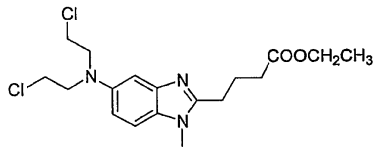
[0030] [화학식 III]



[0031]

[0032] 본 발명의 또 다른 실시양태는 방출시 또는 재구성 후 0 시간에, 하기 화학식 IV에 나타낸 벤다무스틴 에틸에스테르 약 0.5 % 이하, 바람직하게는 0.15 % 내지 약 0.5 %를 함유하는 벤다무스틴의 동결건조 제제이다:

[0033] [화학식 IV]



[0034]

[0035] 본 발명의 또 다른 실시양태는 벤다무스틴 에틸에스테르(화학식 IV)의 농도가, 동결건조 제제를 제조하는데 사용되는 약물에서 발견되는 벤다무스틴 에틸에스테르의 농도보다 0.2 % 이하, 바람직하게는 0.1 % 더 많은 벤다무스틴의 동결 제제이다.

[0036] 본 발명의 다른 실시양태는 약물 제품의 방출시 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율)를 함유하는 벤다무스틴의 동결건조 제제이다. 바람직한 실시양태에서 본 발명은 HP1 약 0.50 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율), 바람직하게는 약 0.45 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.40 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.35 % 이하, 더욱 더 바람직하게는 0.30 % 이하를 함유하는 벤다무스틴의 동결건조 제제이다. 이 실시양태의 양상은, 동결건조 제제를 바이알 또는 다른 약학적으로 허용가능한 용기에 포장한 경우, 약물 제품의 방출시 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하, 바람직하게는 0.5 % (벤다무스틴의 면적 비율)를 함유하는 벤다무스틴의 동결건조 제제이다.

[0037] 본 발명의 또 다른 양상에서, 벤다무스틴의 동결건조 제제는 약 2 내지 약 30 °C에서 보관될 때 HP1의 양에 관하여 약 6 개월 이상, 바람직하게는 12 개월, 바람직하게는 24 개월, 약 36 개월 이상 안정하다. 바람직한 보관 온도는 약 5 °C 내지 약 실온이다.

[0038] 본 발명의 다른 실시양태는 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하, 바람직하게는 약 0.50 % 이하, 바람직하게는 약 0.45 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.40 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.35 % 이하, 더욱 더 바람직하게는 0.30 % 이하를 함유하는 벤다무스틴의 약학 조성물을 포함하는 약학 투여형이고, 이때 HP1은 본 발명의 벤다무스틴의 동결건조 제제의 방출시 또는 재구성 후 0 시간에 존재하는 HP1의 양이다. 본 발명의 바람직한 양상에서, 투여형은 벤다무스틴 약 5 내지 약 500 mg, 벤다무스틴 약 10 내지 약 300 mg, 벤다무스틴 약 25 mg, 벤다무스틴 약 100 mg, 및 벤다무스틴 약 200 mg일 수 있다.

[0039] 본 발명의 또 다른 실시양태는 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하, 바람직하게는 0.5 %를 함유하는 벤다무스틴의 동결건조 제제를 포함하는 약학 투여형이다. 바람직한 투여형은 벤다무스틴 약 5 내지 약 500 mg, 벤다무스틴 약 10 내지 약 300 mg, 벤다무스틴 약 25 mg, 벤다무스틴 약 100 mg, 및 벤다무스틴 약 200 mg일 수 있다.

[0040] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율), 바람직하게는 약 0.50 % 이하, 바람직하게는 약 0.45 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.40 % 이하, 더 바람직하게는 약 0.35 % 이하, 더욱 더 바람직하게는 0.30 % 이하를 함유하는 벤다무스틴, 및 미량의 1종 이상의 유기 용매를 함유하는 벤다무스틴의 약학 조성물이고, 이때 HP1은 본원에 개시된 벤다무스틴의 동결건조된 약학 조성물의 방출시 또는 재구성 후 0 시간에 존재하는 HP1의 양이다. 이 실시양태의 상이한 양상에서, 유기 용매는 1종 이상의 3급 부탄올, n-프로판올, n-부탄올, 이소프로판올, 에탄올, 메탄올, 아세톤, 에틸 아세테이트, 디메틸 카르보네이트, 아세토니트릴, 디클로로메탄, 메틸 에틸 케톤, 메틸 이소부틸 케톤, 1-펜탄올, 메틸 아세테이트, 사염화 탄소, 디메틸 술폰, 헥사플루오로아세톤, 클로로부탄올, 디메틸 술폰, 아세트산, 및 시클로헥산 중에서 선택된다. 바람직한 유기 용매로는 1종 이상의 에탄올, 메탄올, 프로판올, 부탄올, 이소프로판올 및 3급 부탄올이 있

다. 더 바람직한 유기 용매는 TBA, t-부탄올, 3급 부틸 알콜 또는 3급 부틸 알콜로도 알려진 3급 부탄올이다.

- [0041] 본 발명은 벤다무스틴 분해물의 방출 사양을 약 4.0 % 미만, 바람직하게는 약 2.0 % 내지 약 4.0 % (벤다무스틴 면적 비율)로 또는 본원에 기술된 약학 조성물을 얻도록 정함으로써 개선된, 벤다무스틴 제품의 기관 인가를 얻기 위한 방법을 포함한다. 이 실시양태의 양상은 HP1의 방출 사양을 1.5 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율)로 정함을 포함하는, 벤다무스틴 제품의 기관 인가를 얻기 위한 방법이다. 본원의 벤다무스틴 제품은 방출시 HP1 약 0.5 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율)를 함유한다.
- [0042] 다른 실시양태는 제품을 약 2 °C 내지 약 30 °C에서 보관할 때 벤다무스틴 분해물의 보관 기간 사양을 약 7.0 % 미만, 바람직하게는 약 5.0 % 내지 약 7.0 % (벤다무스틴 면적 비율)로 정함으로써 개선된, 벤다무스틴 제품의 기관 인가를 얻기 위한 방법이다. 바람직한 보관 온도는 약 5 °C 내지 실온이다. 본원의 벤다무스틴 제품은 방출시 HP1 약 0.5 % 이하(벤다무스틴의 면적 비율)를 함유한다.
- [0043] 본 발명의 다른 실시양태는 방출시 또는 달리 본원에 기술된 약학 조성물을 얻기 위한, 벤다무스틴 분해물의 농도가 약 4.0 % 미만, 바람직하게는 약 2.0 % 내지 약 4.0 % (벤다무스틴의 면적 비율)이도록, 최종 제품내 벤다무스틴 분해물의 농도를 조절함을 포함하는, 벤다무스틴의 동결건조 제제를 제조하는 방법이다. 본원의 벤다무스틴 제품은 방출시 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하, 바람직하게는 약 0.5 % (벤다무스틴의 면적 비율)를 함유한다.
- [0044] 본 발명은, 방출시 HP1의 농도가 0.9 % 미만, 바람직하게는 0.5 % 미만(벤다무스틴의 면적 비율)이고 제품 유효기간의 만료시에 벤다무스틴 분해물의 농도가 약 7.0 % 미만, 바람직하게는 약 5.0 % 내지 약 7.0 % 이하이도록 (이때 제품은 약 2 °C 내지 약 30 °C에서 보관됨), 최종 제품내 벤다무스틴 분해물의 농도를 조절함을 포함하는, 벤다무스틴의 동결건조 제제를 제조하는 방법이다.
- [0045] 본 발명의 다른 실시양태는, 약 0 내지 24 시간 동결건조하는 동안 생성된 HP1의 양이 약 0.5 % 내지 약 0.9 % (벤다무스틴의 면적 비율), 바람직하게는 0.50 %, 바람직하게는 0.45 %, 더 바람직하게는 0.40 %, 더 바람직하게는 0.35 %, 더욱 더 바람직하게는 0.30 %를 초과하지 않도록 벤다무스틴의 분해 수준을 감소시키는 1종 이상의 안정화 농도의 유기 용매를 포함하는, 1종 이상의 유기 용매를 포함하는 벤다무스틴 전-동결건조(pre-lyophilization) 용액 또는 분산액이다. 이 실시양태의 양상은 전-동결건조 용액 또는 분산액으로부터 생성된 동결건조 분말이다.
- [0046] 본 발명의 또 다른 실시양태는, 약 0 내지 24 시간동안 동결건조하는 중에 생성되는 벤다무스틴의 양이 약 0.5 % (벤다무스틴 면적 비율)를 초과하지 않도록 벤다무스틴의 분해 수준을 감소시키는 1종 이상의 안정화 농도의 유기 용매를 포함하는, 1종 이상의 유기 용매를 포함하는 벤다무스틴 전-동결건조 용액 또는 분산액이다. 이러한 실시양태의 양상은 전-동결건조 또는 분산액으로부터 생성되는 동결건조 분말이다.
- [0047] 본 발명의 또 다른 실시양태는, 약 0 내지 24 시간 동결건조하는 동안 생성되는 벤다무스틴 에틸에스테르(화학식 IV에 나타냄)의 양이 동결건조 용액을 제조하는데 사용되는 약물 물질에 존재하는 벤다무스틴 에틸에스테르의 농도보다 0.2 % 이하, 바람직하게는 0.1 % 크도록 벤다무스틴의 분해 수준을 감소시키는 1종 이상의 안정화 농도의 유기 용매를 포함하는, 1종 이상의 유기 용매를 포함하는 벤다무스틴 전-동결건조 용액 또는 분산액이다. 바람직한 유기 용매는 3급 부탄올이다.
- [0048] 본 발명은 또한 약 5 내지 약 100 % (v/v 알콜)의 안정화 농도의 알콜 용매에 벤다무스틴을 용해시켜 전-동결건조 용액을 형성하고; 전-동결건조 용액을 동결건조함을 포함하는 벤다무스틴 동결건조 제제의 제조 방법을 개시하는데, 이때 이 방법으로부터 제조된 벤다무스틴 동결건조 제제는 화학식 II에 나타난 HP1 약 0.5 % 내지 약 0.9 % 이하, 바람직하게는 0.5 % (벤다무스틴 면적 비율)를 함유하고, HP1은 벤다무스틴의 동결건조된 약학 조성물의 방출시 또는 재구성 후 0 시간에 존재하는 HP1의 양이다. 다른 알콜 농도는 약 5 % 내지 약 99.9 %, 약 5 % 내지 약 70 %, 약 5 % 내지 약 60 %, 약 5 % 내지 약 50 %, 약 5 % 내지 약 40 %, 약 20 % 내지 약 35 %를 포함한다. 알콜의 바람직한 농도는 약 20 % 내지 약 30 %이다. 바람직한 알콜로는 1종 이상의 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소-프로판올, 부탄올 및 3급 부탄올이다. 더 바람직한 알콜은 3급 부탄올이다. 3급 부탄올의 바람직한 농도는 약 20 % 내지 약 30 %, 바람직하게는 약 30 %이다. 이 실시양태의 양상은 동결건조하기 전에 부형제를 첨가하는 것이다. 바람직한 부형제는 만니톨이다. 벤다무스틴의 바람직한 전-동결건조 농도는 약 2 mg/ml 내지 약 50 mg/ml이다.
- [0049] 벤다무스틴 동결건조 제제를 제조하기 위한 바람직한 방법에서, 전-동결건조 용액의 동결건조는 i) 전-동결건조 용액을 약 -40 °C 미만, 바람직하게는 -50 °C로 동결시켜 동결된 용액을 형성하고; ii) 동결된 용액을 -40 °C

이하, 바람직하게는 -50 °C에서 2 시간 이상동안 유지하고; iii) 동결된 용액을 약 -40 °C 내지 약 -10 °C의 1차 건조 온도로 가온(ramping)하여 건조된 용액을 형성하고; iv) 약 10 내지 약 70 시간동안 유지하고; v) 건조된 용액을 약 25 °C 내지 약 40 °C의 2차 건조 온도로 가열하고; vi) 약 5 내지 약 40 시간동안 유지하여 벤다무스틴 동결건조 제제를 형성함을 포함한다. 더 바람직한 방법에서, 전-동결건조 용액의 동결건조는 i) 전-동결건조 용액을 약 -50 °C로 동결하여 동결된 용액을 형성하고; ii) 동결된 용액을 -50 °C에서 2 시간 내지 약 4 시간동안 유지하고; iii) 약 -20 °C 내지 약 -12 °C의 1차 건조 온도로 가온하여 건조된 용액을 형성하고; iv) 1차 건조 온도에서 약 10 내지 약 48 시간동안 유지하고; v) 건조된 용액을 약 25 °C 내지 약 40 °C의 2차 건조 온도로 가온하고; vi) 2차 건조 온도에서 약 5 내지 약 20 시간동안 유지함을 포함한다. 바람직한 알콜은 3급 부탄올이다. 3급 부탄올의 바람직한 농도는 약 20 % 내지 약 30 %, 바람직하게는 약 30 %이다. 이 실시양태의 양상은 동결건조 전에 부형제를 첨가하는 것이다. 바람직한 부형제는 만니톨이다. 벤다무스틴의 바람직한 전-동결건조 농도는 약 2 mg/ml 내지 약 50 mg/ml이다.

[0050] 본 발명의 다른 실시양태는 본원에 개시된 벤다무스틴 동결건조 제제의 제조 방법으로부터 얻어진 동결건조 분말 또는 제제이다.

[0051] 본 발명은 또한 부형제 및 안정화 농도의 유기 용매를 포함하는, 동결건조를 위한 벤다무스틴 배합물을 포함한다. 바람직한 배합물은 약 15 mg/ml 농도의 벤다무스틴, 약 25.5 mg/ml 농도의 만니톨, 약 30 %(v/v) 농도의 3급 부탄올 및 물을 포함한다. 이러한 본 발명의 실시양태는 상기 벤다무스틴 배합물로부터 제조된 동결건조 제제를 포함한다.

[0052] 본 발명은 치료유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 이 약학 조성물로 치료가능한 환자의 의학적 상태를 치료하는 방법이다. 본 발명의 조성물로 치료가능한 몇몇상태로는 만성 림프성 백혈병(CLL), 호지킨병, 비호지킨 림프종(NHL), 다발 골수종(MM), 유방암, 소세포 폐암, 과증식성 장애 및 자가면역 질환이 있다. 바람직한 상태로는 NHL, CLL, 유방암 및 MM이 있다. 바람직한 자가면역 질환으로는 류마티스 관절염, 다발 경화증 또는 루푸스가 있다.

[0053] 본 발명은 치료유효량의 본 발명의 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 상기 정의된, 본 발명의 약학 조성물로 치료가능한 의학적 상태의 치료를 위한 약제의 제조에서의, 본 발명의 약학 조성물 또는 약학 제제의 용도를 포함한다.

[0054] 본 발명은 또한 본 발명의 약학 조성물을 1종 이상의 항종양제와 조합하는 치료 방법을 포함하는데, 이때 항종양제는 본 발명의 약학 조성물을 투여하기 전, 그와 동시에, 또는 그 후에 제공된다. 바람직한 항종양제는 CD20에 특이적인 항체이다. 본 발명의 다른 실시양태는 본 발명의 동결건조된 벤다무스틴 제제를 제조하기 위한 동결건조 주기이다. 바람직한 동결건조 주기는 a) 약 8 시간에 걸쳐 약 -50 °C에서 동결시키고; b) 약 4 시간동안 -50 °C에서 유지하고; c) 약 3 시간에 걸쳐 -25 °C로 가온하고; d) 30 시간동안 -10 °C에서 유지하고; e) 약 3 시간동안 25 °C 내지 약 40 °C 이상으로 가온하고; f) 약 25 시간동안 약 25 °C 내지 약 40 °C에서 유지하고; g) 1 시간에 걸쳐 약 20 °C로 가온하고; h) 기밀된 약학적으로 허용가능한 용기에 약 20 °C, 13.5 psi에서 언로딩(unloading)함을 포함하고, 이때 압력은 1차 건조하는 내내 약 150 μ m이고 2차 건조하는 내내 50 μ m이다. 이 주기의 양상은 3시간동안 약 30 내지 35 °C로 가온한 다음, 5시간동안 40 °C로 가온하는 단계 (e)를 포함한다. 이 실시양태의 다른 양상은 이러한 동결건조 주기로부터 제조된 동결건조 분말이다. 더 바람직한 동결건조 주기는 i) 로딩(loading)을 위하여 약 5 °C의 보관 온도로 출발하고; ii) 약 8 시간에 걸쳐 약 -50 °C로 동결시키고; iii) -50 °C에서 약 4 시간동안 유지하고; iv) 약 3 시간에 걸쳐 약 -20 °C로 가온하고; v) 약 -20 °C에서 6 시간동안 유지하고; 약 1 시간에 걸쳐 약 -15 °C로 가온하고; vi) -15 °C에서 약 20 시간동안 유지하고; vii) 약 1 시간에 걸쳐 약 -15 °C로 가온하고; viii) -15 °C에서 약 20 시간동안 유지하고; ix) 약 0.5 시간에 걸쳐 약 -12 °C로 가온하고; x) -12 °C에서 약 15.5 시간동안 유지하고; xi) 약 15 시간에 걸쳐 약 25 내지 약 40 °C 이상으로 가온하고; xii) 약 25 °C 내지 약 40 °C에서 약 10 시간동안 유지하고; xiii) 약 1 시간에 걸쳐 약 40 °C로 가온하고; xiv) 약 40 °C에서 약 5 시간동안 유지하고; 기밀된 약학적으로 허용가능한 용기에서 약 5 °C, 13.5 psi에서 언로딩함을 포함하고, 이때 압력은 1차 건조하는 내내 약 150 μ m이고 약 2차 건조하는 내내 50 μ m이다. 바람직한 실시양태에서 단계 (xi)은 약 15 시간동안 약 30 내지 35 °C로 가온되었다.

[0055] 본 발명은 또한 HP1 약 0.5 내지 약 0.9 % 이하, 바람직하게는 0.5 %(벤다무스틴의 면적 비율)를 함유하는 약학 투여형을 포함하고, 이때 투여형은 바이알 또는 다른 약학적으로 허용가능한 용기를 포함하고, HP1은 상기 투여형을 재구성하기 전 또는 재구성한 후 0 시간에 존재하는 HP1의 양이다. 벤다무스틴의 바람직한 농도는 약 10

내지 약 500 mg/용기, 약 100 mg/용기, 약 5 mg 내지 약 2 g/용기 및 약 170 mg/용기를 포함한다.

[0056] 본 발명은 또한 벤다무스틴의 전-동결건조 약학 조성물을 포함한다. 바람직한 전-동결건조 조성물은 벤다무스틴 HCl 약 15 mg/ml, 만니톨 약 25.5 mg/ml, 약 30 %(v/v) 3급 부틸 알콜 및 물을 포함한다.

[0057] 본 발명의 상기 및 다른 실시양태는 이후 기술되어 있거나, 또는 당업자가 하기 개시내용에 근거하여 분명히 알 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0058] 도 1은 3급 부탄올내 벤다무스틴의 상이한 두 용액의, 다양한 온도에서의 벤다무스틴의 용해도를 나타낸다.

도 2는 다양한 알콜내에서 5 ℃에서 24시간동안 벤다무스틴을 배양한 후의 HPLC 분석의 순도 결과를 나타낸다. 결과는 벤다무스틴 피크의 면적 비율로서 나타낸다.

도 3은 5 ℃에서 다양한 알콜/물 공용매내에서 24시간 후의 HP1(화학식 II) 형성을 나타낸다.

도 4는 5 ℃에서 다양한 알콜/물 공용매내에서 24시간 후의 이량체(화학식 III) 형성을 나타낸다.

도 5는 TBA/물 공용매를 사용한, 벤다무스틴의 동결건조 주기를 나타낸다.

도 6은 HPLC 방법 No. 1을 사용한, 리보무스틴의 크로마토그램을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0059] 본원에 사용된 바와 같이, "배합하다"란 용어는 포유동물 환자, 바람직하게는 인간에게 투여하기에 적합한 형태의 약물, 예컨대 벤다무스틴의 제제를 가리킨다. 따라서, "배합"은 약학적으로 허용가능한 부형제, 희석제 또는 담체의 첨가를 포함할 수 있다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같이, "동결건조 분말" 또는 "동결건조 제제"란 용어는 수용액의 동결건조, 즉 냉동-건조에 의해 얻어지는 임의의 고체 물질을 가리킨다. 수용액은 비수성 용매, 즉 수성 용매와 1종 이상의 비수성 용매(들)로 이루어진 용액을 함유할 수 있다. 바람직하게는, 동결건조 제제는 수성 용매와 1종 이상의 비수성 용매로 이루어진 용액을 냉동-건조함으로써 얻어지는 것이고, 더 바람직하게는 비수성 용매는 알콜이다.

[0061] "안정한 약학 조성물"이란 용어는 약학 제품으로서 유용성을 갖기에 충분한 안정성을 갖는 임의의 약학 조성물을 뜻한다. 바람직하게는, 안정한 약학 조성물은 편리한 온도, 바람직하게는 -20 ℃ 내지 40 ℃, 더 바람직하게는 약 2 ℃ 내지 약 30 ℃에서 적당한 기간동안, 예컨대 1 개월 정도, 그러나 전형적으로 6 개월 이상, 더 바람직하게는 1 년 이상, 더욱 더 바람직하게는 24 개월 이상, 더욱 더 바람직하게는 36 개월 이상인 제품의 보존 기간동안 보관하기에 충분한 안정성을 갖는다. 보존 기간 또는 유효 기간은 활성 성분이 순도 90 % 미만으로 분해되는 시간의 정도일 수 있다. 본 발명을 위하여, 안정한 약학 조성물은 본원에 기술된 특정 범위의 불순물을 갖는 약학 조성물에 대한 언급을 포함한다. 바람직하게는, 안정한 약학 조성물은 활성 성분이 최소로 분해되는 것, 예컨대 2 내지 3 년의 기간동안 2 내지 30 ℃에서 저장한 후, 분해되지 않은 활성 성분을 약 85 % 이상, 바람직하게는 약 90 % 이상, 더 바람직하게는 약 95 % 이상으로 보유하는 것이다.

[0062] "안정한 동결건조 제제"란 약학 제품으로서 유용성을 갖기에 충분한 안정성(안정한 약학 조성물에 대하여 본원에 유사하게 정의된 바와 같은 특징)을 갖는 임의의 동결건조 제제를 뜻한다.

[0063] "분해"란 활성 성분의 화학 구조에 변화가 일어났음을 뜻한다.

[0064] 본원에 사용된 바와 같이 "치료유효량"이란 용어는 치료할 장애의 하나 이상의 증상을 어느 정도로 경감시킬, 투여될 화합물의 양을 가리킨다. 종양의 치료에 대하여, 치료유효량이란 (1) 종양의 크기를 줄이고, (2) 종양 전이를 저해하고(즉, 어느 정도 늦추고, 바람직하게는 중지시키고), (3) 종양 성장을 어느 정도로 저해하고/저해하거나(즉, 어느 정도로 늦추고, 바람직하게는 중지시키고), (4) 암과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도로 경감시키는(또는 바람직하게는 제거하는) 효과를 갖는 양을 가리킨다. 치료유효량은 또한 질환에 걸리기 쉬울 수 있는, 질환의 증상을 아직 경험하거나 나타내지 않은 동물에서 질환이 발생하지 않도록 방지함을 뜻할 수 있다(예방적 치료). 또한, 치료유효량은 말단 장애에 걸린 환자의 남은 수명을 증가시키는 양일 수 있다. 비호지킨 림프종의 치료를 위한 벤다무스틴의 전형적인 치료유효량은 연속 2 일동안 1회 투여량으로서 주어진 약 60 내지 120 mg/m²일 수 있다. 주기는 대략 3 내지 4 주마다 반복될 수 있다. 만성 림프성 백혈병(CLL)의 치료를 위하여, 벤다무스틴은 1 일 및 2 일에 약 80 내지 100 mg/m²으로 제공될 수 있다. 주기는 약 4 주 후에

반복될 수 있다. 호지킨병(II 내지 IV 기)의 치료를 위하여, 벤다무스틴은 1 일 및 15 일에 다우노루비신 25 mg/m², 1 일 및 15 일에 블레오마이신 10 mg/m², 1 일 및 15 일에 빈크리스틴 1.4 mg/m², 및 1 내지 5 일에 벤다무스틴 50 mg/m²을 사용하는, 대략 4 주마다 주기가 반복되는 "DBVBe 처방"으로 제공될 수 있다. 유방암의 경우에, 1 일 및 8 일에 벤다무스틴(120 mg/m²)을, 1 일 및 8 일에 메토트렉세이트 40 mg/m², 및 1 일 및 8 일에 5-플루오로우라실 600 mg/m²과 함께 제공할 수 있고, 대략 4 주마다 주기가 반복된다. 유방암의 2차 요법으로서, 벤다무스틴은 1 일 및 2 일에 약 100 내지 150 mg/m²으로 제공될 수 있고, 대략 4 주마다 주기가 반복된다.

[0065] 본원에 사용된 바와 같이, "종양"이란 일반적인 성장 제한에 적용되지 않는 세포의 증식으로 인해 일어나는 이상 성장인 신생물을 가리킨다. 본원에 사용된 바와 같이, "항종양제"란 세포의 종양 표현형을 저해하거나, 제거하거나, 지연시키거나, 또는 역전시키는 임의의 화합물, 조성물, 혼합물, 공혼합물 또는 배합물이다.

[0066] 본원에 사용된 바와 같이, "과증식"은 특정 성장 인자에 반응하여 일어나는 세포의 과잉생성이다. "과증식성 장애"는 세포가 특정 증식 인자에 반응하여 과잉생산되는 질환이다. 이러한 "과증식성 장애"의 예로는 당뇨병성 망막병증, 건선, 자궁내막증, 암, 황반변성 장애 및 양성 성장 장애(예: 전립선 비대)가 있다.

[0067] 본원에 사용된 바와 같이, "바이알"이란 용어는 단단하든지 또는 가요성이든지, 임의의 벽이 있는 용기를 가리킨다.

[0068] 본원에 사용된 "제어"란, 제어할 일의 달성을 촉진하는 곳에 공정 제어를 둘을 뜻한다. 예를 들어, 주어진 경우에서, "제어"란 각 로트 또는 다수 로트의 샘플을 규칙적으로 또는 불규칙적으로 시험하고; 분해물의 농도를 방출 명세로서 정하고, 활성 성분의 분해물의 농도가 허용되지 않을 정도로 높지 않도록 공정 조건(예컨대, 전-동결건조 용액 또는 분산액에서의 알콜 및/또는 다른 유기 용매의 사용)을 선택함을 뜻한다. 분해물의 양에 대하여 방출 사양을 정함으로써 분해물에 대한 제어를 사용하여, 규제 기관, 예를 들어 미국 식품의약청 및 다른 나라 또는 지역의 유사 기관("청")에 의한 약학 제품의 감독 기관의 승인을 촉진하는데 사용될 수 있다.

[0069] 본원에 사용된 "약학적으로 허용가능한"이란 용어는 약학적으로 허용가능한 것, 예컨대 약학 조성물의 성분(용기 포함)이 약리학적 활성의 허용불가능한 손실 또는 허용불가능한 부작용을 일으키지 않음을 뜻한다. 약학적으로 허용가능한 성분의 예는 미국 약전(USP), 1990년 메릴랜드주 락빌에서 개최된 미국 약전 회의에서 채택된 국가의약품집(NF) 및 미국 식품의약청에 의해 발행된 FDA 불활성 성분 지침 1990, 1996(이들은 임의의 도면을 포함하여 본원에 참조로 인용되어 있음)에 제공되어 있다. USP/NF의 범위를 넘는 필수 한도 및/또는 명세를 충족시키는 다른 등급의 용액 또는 성분도 또한 사용될 수 있다.

[0070] 본원에 사용된 "약학 조성물"이란 용어는 인간에게 투여하기에 적합한 조건하에 제조되는 조성물을 뜻한다. 예컨대, 조성물은 GMP 조건하에 만들어지고, 약학적으로 허용가능한 부형제, 예컨대 비제한적으로 안정제, 증량제, 완충제, 담체, 희석제, 매개체, 가용화제 및 결합제를 함유한다. 본원에 사용된 바와 같이, 약학 조성물은 비제한적으로 전-동결건조 용액 또는 분산액, 및 동결건조 제제의 재구성 후 바로 주사 또는 주입될 수 있는 액체 형태를 포함한다.

[0071] 본원에 사용된 "약학 투여형"이란, 1 회 이상의 투여량, 전형적으로 약 1 내지 2, 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 1 내지 6, 1 내지 10, 또는 약 1 내지 20 회의 투여량의 재구성 및 투여에 적합한 양으로 용기에 들어 있는 본원에 개시된 약학 조성물을 뜻한다. 바람직하게는, 본원에 사용된 "약학 투여형"이란, 1 회 이상의 투여량, 전형적으로 약 1 내지 2, 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 1 내지 6, 1 내지 10, 또는 약 1 내지 20 회의 투여량의 재구성 및 전달에 적합한 양으로 용기내의 본원에 개시된 동결건조된 약학 조성물을 뜻한다. 주사 또는 주입 용도에 적합한 약학 투여형은 멸균 주사 또는 주입 용액 또는 분산액의 임시 제제에 적응시킨 활성 성분을 포함하는 멸균 수용액 또는 분산액 또는 멸균 분말을 포함할 수 있다. 모든 경우에서, 최종 투여형은 제조 및 보관 조건하에 멸균이고, 유체이고, 안정하여야 한다. 액체 담체 또는 매개체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리에틸렌(예: 글리세롤, 프로필렌 글리콜 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 식물유, 무독성 글리세릴 에스테르, 및 이들의 적합한 혼합물을 포함하는 용매 또는 액체 분산 매질일 수 있다. 미생물 증식의 예방은 다양한 항세균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산, 티메로살 등에 의해 이루어질 수 있다.

[0072] 본원에 사용된 바와 같이, "부형제"란 활성 약학 성분(API)을 약학 배합물로 배합하는데 사용되는 물질을 뜻하고, 바람직한 실시양태에서, 부형제는 API의 1차 치료 효과를 낮추거나 간섭하지 않는다. 바람직하게는, 부형제는 치료적으로 불활성이다. "부형제"란 용어는 담체, 희석제, 매개체, 가용화제, 안정제, 증량제 및 결합제를 포함한다. 부형제는 또한 제조 공정의 간접적이거나 비교의적인 결과로서 약학 배합물에 존재하는 물질일

수 있다. 바람직하게는, 부형제는 인간 및 동물 투여에 안전하다고 승인되거나 생각된다(즉, GRAS 물질(일반적으로 안전하다고 간주되는 물질)). GRAS 물질은 미국 식품의약청에 의해 본원에 참조로 인용된 미국 연방 법령집(CFR) 21 CFR § 182 및 21 CFR § 184에 기재되어 있다. 바람직한 부형제로는 비제한적으로 만니톨 등을 포함한 헥시톨이 있다.

[0073] 본원에 사용된 바와 같이 "안정화 농도의 유기 용매" 또는 "안정화 농도의 알콜"이란, 벤다무스틴의 분해 수준을 감소시켜 최종 약물 제품내 분해물의 특정 수준을 달성하는 유기 용매 또는 알콜의 양을 뜻한다. 예를 들어, 분해물 HP1에 대하여, 유기 용매의 안정화 농도는 약 0.5 % 미만, 바람직하게는 0.45 % 미만, 바람직하게는 0.40 % 미만, 더 바람직하게는 0.35 % 미만, 더 바람직하게는 0.30 % 미만, 더욱 더 바람직하게는 0.25 % 미만의 HP1 농도(벤다무스틴의 면적 비율)를 일으키는 양이다. 최종 약물 제품의 전체 또는 총 분해물 농도에 대하여, 유기 용매의 안정화 농도는 약 7 % 미만(벤다무스틴 면적 비율), 바람직하게는 약 6 % 미만, 더 바람직하게는 약 5 % 미만, 더욱 더 바람직하게는 약 4.0 % 미만의 총 분해물 농도(약물 제품 방출시)를 일으키는 양이다. "벤다무스틴 면적 비율"이란, 예컨대 HPLC에 의해 결정된 벤다무스틴의 양에 대한, 특정화된 분해물, 예컨대 HP1의 양을 뜻한다.

[0074] "유기 용매"란 용어는 다른 물질을 용해시킬 수 있는 유기 물질, 일반적으로는 액체를 뜻한다.

[0075] 본원에 사용된 바와 같이, "미량의 유기 용매"란, 예를 들어 ICH 지침(조화, 불순물에 관한 국제 회의-잔여 용매에 대한 지침. Q3C. 미국 연방정부. 1997; 62(247):67377)에 의해 권장되는, 약학 제품에 대한 권장 수준 이하인 용매의 양을 뜻한다. 하한은 검출될 수 있는 최저 양이다.

[0076] "방출" 또는 "방출시"란 용어는 방출 사양을 충족시키고 소기의 약학 목적을 위해 사용될 수 있는 약물 제품을 뜻한다.

[0077] A. 개론

[0078] 본 발명은 벤다무스틴으로부터 제조된 안전한, 약학적으로 허용가능한 조성물을 제공한다. 특히, 본 발명은 벤다무스틴 HCl의 동결건조를 위한 배합물을 제공한다. 이러한 배합물로부터 얻어진 동결건조 분말은 현재 이용가능한 벤다무스틴의 동결건조 분말보다 더 쉽게 재구성된다. 또한, 본 발명의 동결건조 제품은 재구성하기 전, 동결건조물의 보관시, 또는 재구성 및 혼합한 후, 임의의 불순물, 특히 HP1, 벤다무스틴 이량체 및 벤다무스틴 에틸에스테르에 대하여 리보무스틴보다 더 우수한 불순물 프로필을 갖는다.

[0079] 본 발명은 종양병을 치료하기에 유용한 벤다무스틴의 배합물을 제공한다. 본원에 기술된 배합물은 1종 이상의 추가의 항종양제 및/또는 방사선 요법과 함께 또는 단독으로 투여될 수 있다.

[0080] 본 발명의 양상은 동결건조 과정 전 및 그 동안, 보관시 또는 재구성시, 벤다무스틴의 안정성을 증진시키기 위한 조건 및 수단이다.

[0081] 본 발명의 배합물과 함께 사용될 수 있는 항종양제로는 문헌([Merck Index, pp.16-17, Merck & Co., Inc.(1989)] 및 [The Chemotherapy Source Book (1997)])에 제공된 것이 있다. 이 책들은 널리 인지되어 있고, 숙련자가 쉽게 이용할 수 있다.

[0082] 복합 약물 화학요법에 의한 종양의 치료를 위해 선택될 수 있는, 상업적 사용, 임상 평가 및 전-임상 개발에 이용가능한 다수의 항종양제가 있다. 이러한 항종양제는 몇몇 주요 분류, 즉 항생제형 제제, 공유 DNA-결합 약물, 항대사약, 호르몬 제제(프레드니손 및 텍사메타손과 같은 글루코코르티코이드 포함), 면역 제제, 인터페론형 제제, 분화 제제(예: 레티노이드), 전-세포사멸제, 및 마이셀 제제의 분류(예: 안티센스, 작은 간접 RNA 등과 같은 화합물 포함)로 나뉘어진다. 또 다르게는, 메탈로매트릭스 프로테아제(MMP) 저해제, SOD 미믹스(mimics) 또는 알파_v 베타₃ 저해제와 같은 다른 항종양제가 사용될 수 있다.

[0083] 본 발명의 화합물과 함께 사용될 수 있는 한 부류의 항종양제는 항대사물질형 항종양제로 이루어진다. 적합한 항대사물질 항종양제는 알라노신, AG2037(화이자(Pfizer)사), 5-FU-피브리노겐, 아칸티폴산, 아미노티아디아졸, 브레퀴나르 나트륨, 카르모푸르, 시바-가이거(Ciba-Geigy) CGP-30694, 시클로펜틸 시토신, 시타라빈 포스페이트 스테아레이트, 시타라빈 공액결합물, 릴리(Lilly) DATHF, 메렐 다우(Merrel Dow) DDFC, 데자구아닌, 디데옥시시티딘, 디데옥시구아노신, 디독스, 요시토미(Yoshitomi) DMDC, 독시플루리딘, 웰컴 EHNA, 메르크 & 캄파니 EX-015, 파자라빈, 플록수리딘, 플루다라빈 포스페이트, 5-플루오로우라실, N-(2'-푸라닐)-5-플루오로우라실, 디이치 세이야쿠(Daiichi Seiyaku) FO-152, 이소프로필 피롤리진, 릴리 LY-188011, 릴리 LY-264618, 메토펙사프람, 메토티렉세이트, 웰컴 MZPES, 노르스퍼미딘, NCI NSC-127716, NCI NSC-264880, NCI NSC-39661, NCI NSC-

612567, 워너-램버트(Warner-Lambert) PALA, 펜토스타틴, 피리트렉심, 플리카마이신, 아사히 케미칼(Asahi Chemical) PL-AC, 다케다(Takeda) TAC-788, 티오구아닌, 티아조푸린, 에르바몬트(Erbamont) TIF, 트리메트렉세이트, 티로신 키나제 저해제, 티로신 단백질 키나제 저해제, 다이호(Taiho) UFT 및 우리시틴으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0084]

본 발명의 화합물과 함께 사용될 수 있는 다른 부류의 항종양제는 공유 DNA-결합제로 이루어진다. 적합한 알킬 화물형 항종양제는 시오노기(Shionogi) 254-S, 알도-포스포미드 유사체, 알트레타민, 아낙시론, 뵈링거 만하임(Boehringer Mannheim) BBR-2207, 베스트라부실, 부도티탄, 와쿠나가(Wakunaga) CA-102, 카르보플라틴, 카르무스틴, 치노인(Chinoin)-139, 치노인-153, 클로람부실, 시스플라틴, 시클로포스포미드, 어메리칸 시아나미드(American Cyanamid) CL-286558, 사노피(Sanofi) CY-233, 시플레테이트, 데구사(Degussa) D-19-384, 스미모토(Sumimoto) DACHP(My)2, 디페닐스피로무스틴, 디플라티늄 시토스테틱, 어바(Erba) 디스타미신 유도체, 추가이(Chugai) DWA-2114R, ITI E09, 엘무스틴, 어바몬트(Erbamont) FCE-24517, 에스트라무스틴 포스페이트 나트륨, 포테무스틴, 유니메드(Unimed) G-6-M, 치노인 GYKI-17230, 헵술-팜, 이포스포미드, 이프로플라틴, 로무스틴, 마포스포미드, 펠팔란, 미토락톨, 니폰 가야쿠(Nippon Kayaku) NK-121, NCI NSC-264395, NCI NSC-342215, 옥살리플라틴, 업존(Upjohn) PCNU, 프레드니무스틴, 프로터(Proter) PTT-119, 라니무스틴, 세무스틴, 스미스클라인(SmithKline) SK&F-101772, 야쿠르트 혼샤(Yakult Honsha) SN-22, 스피로무스틴, 다나베 세이야쿠(Tanabe Seiyaku) TA-077, 타우로무스틴, 메토줄로마이드, 테록시론, 테트라플라틴 및 트리멜라몰로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0085]

본원에 개시된 화합물과 함께 사용될 수 있는 다른 부류의 항종양제는 항생제형 항종양제로 이루어진다. 적합한 항생제형 항종양제는 다이호 4181-A, 아클라루비신, 악티노마이신 D, 악티노플라논, 알라노신, 어바몬트 ADR-456, 에어로플리시닌 유도체, 아지노모토(Ajinomoto) AN-201-II, 아지노모토 AN-3, 니폰 소다아니조마이신, 안트라사이클린, 아지노마이신-A, 비수카베린, 브리스톨-마이어스(Bristol-Myers) BL-6859, 브리스톨-마이어스 BMY-25067, 브리스톨-마이어스 BMY-25551, 브리스톨-마이어스 BMY-26605, 브리스톨-마이어스 BMY-27557, 브리스톨-마이어스 BMY-28438, 블레오마이신 술페이트, 브리오스타틴-1, 다이호 C-1027, 칼리케마이신, 크로목시마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 교와 하꼬(Kyowa Hakko) DC-102, 교와 하꼬 DC-79, 교와 하꼬 DC-88A, 교와 하꼬 DC89-A1, 교와 하꼬 DC92-B, 디트리사루비신 B, 시오노기 DOB-41, 독소루비신, 독소루비신-피브리노젠, 엘사미신-A, 에피루비신, 에르브스타틴, 예소루비신, 에스페라미신-A1, 에스페라미신-A1b, 어바몬트 FCE-21954, 후지사사와(Fujisawa) FK-973, 포스트리에신, 후지사사와 FR-900482, 글리도박틴, 그레가틴-A, 그린카마이신, 허비마이신, 이다루비신, 일루딘스, 카주사미신, 케사리리딘스, 교와 하꼬 KM-5539, 기린 브루어리(Kirin Brewery) KRN-8602, 교와 하꼬 KT-5432, 교와 하꼬 KT-5594, 교와 하꼬 KT-6149, 어메리칸 시아나미드 LL-D49194, 메이지 세이카(Meiji Seika) ME 2303, 메노가릴, 미토마이신, 미톡산트론, 스미스클라인 M-TAG, 네오에낙틴, 니폰 가야쿠 NK-313, 니폰 가야쿠 NKT-01, SRI 인터내셔널 NSC-357704, 옥살리신, 옥사우노마이신, 페플로마이신, 필라틴, 피라루비신, 포르토티라미신, 피린다마이신 A, 도비시(Tobishi) RA-I, 라파마이신, 리족신, 로도루비신, 시바노미신, 시웬마이신, 스미토모 SM-5887, 스노우 브랜드(Snow Brand) SN-706, 스노우 브랜드 SN-07, 소란지신-A, 스파소마이신, SS 파마슈티컬(SS Pharmaceutical) SS-21020, SS 파마슈티컬 SS-7313B, SS 파마슈티컬 SS-9816B, 스테피마이신 B, 다이호 4181-2, 탈리소마이신, 다케다 TAN-868A, 테르켄테신, 트라진, 트리크로자린 A, 업존 U-73975, 교와 하꼬 UCN-10028A, 후지사사와 WF-3405, 요시토미 Y-25024 및 조루비신으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0086]

본 발명의 화합물과 함께 사용될 수 있는 제4 부류의 항종양제로는 알파-카로텐, 알파-디플루오로메틸-아르기닌, 아시트레틴, 삼산화 비소, 아바스틴(Avastin, 등록상표)(베바시주맵), 바이오텍(Biotec) AD-5, 교린(Kyorin) AHC-52, 알스토닌, 아모나파이드, 암페티닐, 암사크린, 안지오스타트, 안키노마이신, 안티네오플라스톤(antineoplaston) A10, 안티네오플라스톤 A2, 안티네오플라스톤 A3, 안티네오플라스톤 A5, 안티네오플라스톤 AS2-1, 헨켈(Henkel) APD, 아피디콜린 글리시네이트, 아스파라기나제, 아바롤, 바카린, 바트라실린, 벤플루론, 벤조트리프트, 입센-보포(Ipsen-Beaufour) BIM-23015, 비산트렌, 브리스톨-마이어스 BMY-40481, 베스타(Vestar) 보론-10, 브로모포스포미드, 웰컴 BW-502, 웰컴 BW-773, 카라세마이드, 카르메티졸 염산염, 아지노모토 CDAF, 클로르술파퀴녹살론, 케멕스(Chemex) CHX-2053, 케멕스 CHX-100, 워너-램버트 CI-921, 워너-램버트 CI-937, 워너-램버트 CI-941, 워너-램버트 CI-958, 클란페너, 클라비리데논, ICN 화합물 1259, ICN 화합물 4711, 콘트라칸(Contracan), 야쿠르트 혼샤(Yakult Honsha) CPT-11, 크리스나톨, 쿠라덤, 시토칼라신 B, 시타라빈, 시토시틴, 메르츠(Merz) D-609, DABIS 말리에이트, 다카르바진, 다텔립티늄, 디렘닌-B, 디해마토포르피린 에테르, 디히드롤렌페론, 디날린, 디스타마이신, 도요 파마르(Toyo Pharmar) DM-341, 도요 파마르 DM-75, 다이이치 세이야쿠(Daiichi Seiyaku) DN-9693, 엘리프라빈, 엘리프티늄 아세테이트, 에포티온스, 쓰무라

(Tsumura) EPMTc, 에르비투스, 에르고타민, 에를로트립, 에토포시드, 에트레티네이트, 펜레티니드, 후지사아 FR-57704, 갈륨 니트레이트, 젱과다프닌, 글리벡(Gleevec, 등록상표)(이마트립), 츠가이(Chugai) GLA-43, 글락소(Glaxo) GR-63178, 게피티립, 그리폴란 NMF-5N, 헥사데실포스포콜린, 녹색자(Green Cross) HO-221, 호모해링 토닌, 히드록시우레아, BTG ICRF-187, 인다노신, 일모포신, 이소글루타민, 이소트레티노인, 오쓰카(Otsuka) JI-36, 라모트(Ramot) K-477, 오쓰카 K-76COONa, 구레하 케미칼(Kureha Chemical) K-AM, MECT 코포레이션 KI-8110, 어메리칸 시아나미드 L-623, 류코레굴린, 로니다민, 룬드벡(Lundbeck) LU-23-112, 릴리 LY-186641, NCI (US) MAP, 메리신, 메플로퀸, 메렐 다우 MDL-27048, 메드코(Medco) MEDR-340, 머바론, 메로시아닌 유도체, 메틸아닐리노아크리딘, 몰레쿨러 제네틱스(Molecular Genetics) MGI-136, 미낙티빈, 미토나피드, 미토퀴돈, 모피다몰, 모트레티니드, 제냐쿠 고교(Zenyaku Kogyo) MST-16, N-(레티노일)아미노산, 닛신 플라우어 밀링(Nisshin Flour Milling) N-021, N-아실화-테히드로알라닌, 나파자트롬, 다이쇼(Taisho) NCU-190, 노코다졸 유도체, 노르모상(Normosang), NCI NSC-145813, NCI NSC-361456, NCI NSC-604782, NCI NSC-95580, 옥트레오티드, 오노(Ono) ONO-112, 오키자노신, 아크조 오르그(Akzo Org)-10172, 파클리탁셀, 판크레티스타틴, 파젤립틴, 워너-램버트 PD-111707, 워너-램버트 PD-115934, 워너-램버트 PD-131141, 피에르 파브레(Pierre Fabre) PE-1001, ICRT 캅티드 D, 피록산트론, 폴리해마토프로피린, 폴리프레산, 에파몰 포르피린, 프로비만, 프로카르바진, 프로글루미드, 인비트론(Invitron) 프로테아제 넥신 I, 도비시(Toboshi) RA-700, 라족산, 삿포로 브루이어리스(Sapporo Breweries) RBS, 레스트릭틴-P, 레텔립틴, 레티노산, 론-폴랑(Rhone-Poulenc) RP-49532, 론-폴랑 RP-56976, 리톡산(Rituxan, 등록상표)(및 다른 항 CD20 항체, 예컨대 벅사르(Bexxar, 등록상표), 제발린(Zevalin, 등록상표)), 스미쓰클라인 SK&F-104864, 스타틴스(리피터(Lipitor, 등록상표) 등), 스미토모 SM-108, 구라라이(Kuraray) SMANCS, 씨팜(SeaPharm) SP-10094, 스파툴, 스피로시클로프로판 유도체, 스피로게르마늄, 유니메드, SS 파마슈티컬 SS-554, 스트리폴디논, 스티폴디온, 섀토리 SUN 0237, 섀토리 SUN 2071, 초과산화물 디스뮤타제, 탈리도미드, 탈리도미드 유사체, 도야마(Toyama) T-506, 도야마 T-680, 탁솔, 테이진(Tiejin) TEI-0303, 테니포시드, 탈리블라스틴, 이스트만 코닥(Eastman Kodak) TJB-29, 토포트리예놀, 토포스틴(Topostin), 테이진 TT-82, 교와 하꼬 UCN-01, 교와 하꼬 UCN-1028, 우크라인, 이스트만 코닥 USB-006, 빈블라스틴 술페이트, 빈크리스틴, 빈데신, 비네스트라미드, 비노렐빈, 빈트립톨, 빈줄리딘, 위다놀리드 및 야마노우치(Yamanouchi) YM-534, 조메타(Zometa, 등록상표)로 이루어진 군에서 선택되는 항종양제의 마이셀 부류가 있다.

[0087] 본 발명의 복합 화학요법에 사용될 수 있는 방사선방호제의 예는 AD-5, 아드크논, 아미소프틴 유사체, 데톡스, 디메스나, 1-102, MM-159, N-아실화-테히드로알라닌, TGF-제네테크, 티프로티모드, 아미포스틴, WR-151327, FUT-187, 케토프로펜 트랜스더멀, 나부메톤, 초과산화물 디스뮤타제(키론 앤 엔존(Chiron and Enzon))이다.

[0088] 전술된 항종양제의 제조 방법은 문헌에서 찾을 수 있다. 예를 들어, 독소루비신의 제조 방법은 미국 특허 제 3,590,028호 및 제4,012,338호에 기술되어 있다. 메탈로매트릭스 프로테아제 저해제의 제조 방법은 EP 780386호에 기술되어 있다. 알파_v.베타₃ 저해제의 제조 방법은 WO 97/08174호에 기술되어 있다.

[0089] 바람직한 항종양제로는 비제한적으로 다루노루비신, 블레오마이신, 빈크리스틴, 독소루비신, 다카르바진, 프레드니솔론, 미톡산트론, 프레드니손, 메토포렉세이트, 5-플루오로우라실, 텍사메타손, 탈리도미드, 탈리도미드 유도체, 2ME2, 네오바스타트(Neovastat), R 11 5777, 삼산화 비소, 보르테조미, 타목시펜, G3139(안티센스) 및 SU5416, 미토마이신, 항-CD20 항체(예: 리톡산(Rituxan) 및 R-에토돌락(R-etodolac))중 1종 이상이 있다.

[0090] 본 배합물이 1종 이상의 성분과 함께 또는 그의 대체물로서 사용될 수 있는 바람직한 약물 처방으로는 비제한적으로 ABVD(독소루비신, 블레오마이신, 빈크리스틴, 다카르바진), DBV(다루노루비신, 블레오마이신, 빈크리스틴), CVPP(시클로포스파미드, 빈블라스틴, 프로카르바진, 프레드니솔론), COP(시클로포스파미드, 빈크리스틴, 프레드니솔론), CHOP(시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손) 및 CMF(시클로포스파미드, 메토포렉세이트, 5-플루오로우라실)가 있다. 추가의 처방은 하기 표 A에 나타내었다.

[0091] [표 A]

[0092] 암 치료 처방

약어	사용된 약물	질환
AC	독소루비신 & 시클로포스파미드	유방암
CFM(CF, FNC)	시클로포스파미드, 플루오로우라실, 미톡산트론	유방암
CMF	시클로포스파미드, 메토트렉세이트, 플루오로우라실	유방암
NFL	미톡산트론, 플루오로우라실, 류코보린	유방암
순차 Dox-CMF	독소루비신	유방암
VATH	빈블라스틴, 독소루비신, 티오테파, 플루옥시메스테론	유방암
EMA-86	에토포시드, 미톡산트론, 시타라빈	AML(유도)
7+3	시타라빈+ 다우노루비신 또는 이다로비신 또는 미톡산트론	AML(유도)
5+2	시타라빈+ 다우노루비신 또는 미톡산트론	AML(유도)
HiDAC	시타라빈	AML(후-완 화)
ABVD	독소루비신, 블레오마이신, 빈블라스틴, 다카르바진	호지킨병
ChIVPP	클로람부실, 빈블라스틴, 프로카르바진, 프레드니손	호지킨병
EVA	에토포시드, 빈블라스틴, 독소루비신	호지킨병
MOPP	메칼로레타민, 빈크리스틴, 프로카르바진, 프레드니손	호지킨병
MOPP/ABV 혼성물	메칼로레타민, 빈크리스틴, 프로카르바진, 프레드니손, 독소루비신, 블레오마이신, 빈블라스틴	호지킨병
MOPP/ABVD	메칼로레타민, 독소루비신, 빈블라스틴, 블레오마이신, 에토포시드, 프레드니손	호지킨병
CNOP	시클로포스파미드, 미톡산트론, 빈크리스틴, 프레드니손	비호지킨병
COMLA	시클로포스파미드, 빈크리스틴, 메토트렉세이트, 류코보 린, 시타라빈	비호지킨병
DHAP	덱사메타손, 시스플라틴, 시타라빈	비호지킨병
ESHAP	에토포시드, 메틸프레드니솔론, 시스플라틴, 시타라빈	비호지킨병
MACOP-B	메토트렉세이트, 류코보린, 독소루비신, 시클로포스파미 드, 빈크리스틴, 프레드니손, 블레오마이신, 설프라, 케 토코나졸	비호지킨병
m-BACOD	메토트렉세이트, 류코보린, 블레오마이신, 독소루비신, 시클로포스파미드, 빈크리스틴, 덱사메타손	비호지킨병
MINE-ESHAP	메스나, 이포스파미드, 미톡산트론, 에토포시드	비호지킨병
NOVP	미톡산트론, 빈블라스틴, 프레드니손, 빈크리스틴	비호지킨병
ProMACE/cytaBOM	프레드니손, 독소루비신, 시클로포스파미드, 에토포시 드, 시타라빈, 블레오마이신, 빈크리스틴, 메토트렉세이 트, 류코보린, 설프라	비호지킨병
M2	빈크리스틴, 카르무스틴, 시클로포스파미드, 멜팔란, 프 레드니손	다발 골수종
MP	멜팔란, 프레드니손	다발 골수종
VAD	빈크리스틴, 독소루비신, 덱사메타손	다발 골수종
VBMCP	빈크리스틴, 카르무스틴, 멜팔란, 시클로포스파미드, 프 레드니손	다발 골수종

[0093]

[0094] 본원에 기술된 바와 같이, 벤다무스틴의 동결건조 배합물은 물내 유기 용매를 제거한 후에 얻어진다. 이러한 배합물을 제조하는데 사용되는 용매의 가장 전형적인 예는 3급 부탄올(TBA)이다. 에탄올, n-프로판올, n-부탄올, 이소프로판올, 에틸 아세테이트, 디메틸 카르보네이트, 아세트니트릴, 디클로로메탄, 메틸 에틸 케톤, 메틸 이소부틸 케톤, 아세톤, 1-펜탄올, 메틸 아세테이트, 메탄올, 사염화 탄소, 디메틸 술폰사이드, 헥사플루오로아세톤, 클로로부탄올, 디메틸 술폰, 아세트산, 시클로헥산을 포함한 기타 유기 용매가 사용될 수 있다. 이들 용매는 개별적으로 사용되거나 병용될 수 있다. 유용한 용매는 벤다무스틴과 안정한 용액을 형성하여야 하고, API를 상당히 분해하거나 불활성화시켜서는 안된다. 선택된 용매에서의 벤다무스틴의 용해도는 용매내에서 약물의 상업적으로 유용한 농도를 형성할 정도로 높아야 한다. 또한, 용매는 약물 제품의 수성 분산액 또는 수용액으로부터, 예컨대 동결건조 또는 진공건조에 의해, 쉽게 제거될 수 있어야 한다. 바람직하게는, 벤다무스틴 약 2 내지 80 mg/ml, 바람직하게는 약 5 내지 40 mg/ml, 더 바람직하게는 5 내지 20 mg/ml, 더욱 더 바람직하게는 12 내지 17 mg/ml의 농도를 갖는 용액이 사용된다.

[0095] 약학적으로 허용가능한 동결건조 부형제는 수성상에 용해될 수 있다. 본 발명에 유용한 부형제의 비제한적인 예로는 나트륨 또는 칼륨 포스페이트, 시트르산, 타르타르산, 젤라틴, 글리신, 및 탄수화물(예: 락토즈, 슈크로즈, 말토즈, 글리세린, 텍스트로즈, 텍스트란, 트리할로즈 및 헤타전분)이 있다. 만니톨이 바람직한 부형제이

다. 경우에 따라 사용될 수 있는 기타 부형제로는, 비제한적으로 아스코르브산, 아세틸시스테인, 시스테인, 나트륨 수소 술파이트, 부틸-히드록시아니솔, 부틸-히드록시톨루엔 또는 알파-토코페롤 아세테이트와 같은 산화방지제, 또는 킬레이트화제가 있다.

[0096] 본 발명에 따라 유용한 전형적인 배합 및 동결건조 주기를 아래에 제공한다. 동결건조는 동결건조 또는 진공건조에 사용된 표준의 설비를 사용하여 수행될 수 있다. 주기는 충전/마무리에 사용되는 설비 및 시설에 따라 변할 수 있다.

[0097] 본 발명의 전형적인 실시양태에 따라, 먼저 전-동결건조 수용액 또는 수성 분산액을 약학적으로 허용가능한 배합 용기에서 배합한다. 이 용액을 멸균 용기내로 무균 여과하고, 적당한 크기의 바이알에 충전하고, 부분적으로 마개를 하고, 동결건조기에 로딩한다. 본원에 기술된 동결건조 기술을 사용하여, 약 0.1 내지 약 8.0 %의 수분 함량이 얻어질 때까지 용액을 동결건조한다. 생성된 동결건조 분말은 약 5 내지 약 25 °C에서 약 6 개월 내지 약 2 년보다 더 길게, 바람직하게는 약 3 년 보다 더 길게 동결건조 분말로서 안정하고, 주사용 멸균수 또는 다른 적합한 담체로 쉽게 재구성되어, 예컨대 비경구 주사에 의한 내부 투여에 적합한 벤다무스틴의 액상 배합물을 제공할 수 있다. 정맥 투여의 경우, 재구성된 액상 배합물, 즉 약학 조성물은 바람직하게는 용액이다.

[0098] 전-동결건조 용액 또는 분산액은 일반적으로, 먼저 1) 주위 온도에서 부형제(예: 만니톨)(약 0 내지 약 50 mg/mL)를 혼합하면서(총 체적의 약 65 %) 물에 첨가하고, 2) 이 수용액에 유기 용매(예: TBA)(0.5 내지 99.9 %v/v)를 약 20 내지 35 °C에서 혼합하면서 첨가하고, 3) 벤다무스틴 HCl을 혼합하면서 바람직한 농도로 첨가하고, 4) 물을 첨가하여 최종 체적을 얻고, 5) 용액을 약 1 내지 약 30 °C, 바람직하게는 약 5 °C로 냉각함으로써 약학적으로 허용가능한 용기에서 배합한다. 상기 단계들을 임의의 순서로 나타내었지만, 당업자라면 필요에 따라 단계의 순서 및 양을 바꿀 수 있음은 물론이다. 양은 역시 중량 기준으로 준비될 수 있다.

[0099] 전-동결건조 용액 또는 분산액은 동결건조 전에 멸균될 수 있고, 멸균은 일반적으로, 예컨대 0.22 μm 이하의 필터를 통하여, 무균 여과에 의해 수행된다. 다수의 멸균 필터가 사용될 수 있다. 용액 또는 분산액의 멸균은 당업계에 공지된 다른 방법, 예컨대 방사선에 의해 달성될 수 있다.

[0100] 이러한 경우에서, 멸균 후, 용액 또는 분산액은 바로 동결건조할 수 있다. 일반적으로, 여과된 용액은 멸균 수용 용기에 도입된 다음, 배합물을 효과적으로 동결건조할 수 있는 임의의 적합한 용기 또는 용기들로 옮겨질 것이다. 일반적으로, 배합물은 제품이 판매될 용기(비제한적인 예: 본원에 기술된 바와 같이 또한 당업계에 공지된 바와 같이, 바이알)에서 효과적으로 또한 효율적으로 동결건조된다.

[0101] 전-동결건조 용액 또는 분산액을 동결건조하는데 사용하기에 전형적인 과정을 이하에 기술한다. 그러나, 당업자라면 전-동결건조 용액 또는 분산액 및 동결건조 설비와 같은 것(비제한적임)에 따라 과정 또는 공정에 대한 변형이 이루어질 수 있음을 알 것이다.

[0102] 처음에, 생성물을 일정 범위의 온도하의 동결건조 챔버에 넣은 다음, 일반적으로 수 시간동안 생성물의 어는 점보다 훨씬 아래의 온도에 적용시킨다. 바람직하게는, 온도는 2 시간 이상동안 약 -40 °C 미만일 것이다. 동결이 끝나면, 챔버 및 응축기를 진공 펌프를 통해 배기시키고, 응축기 표면은 냉매를 순환시켜 미리 냉동시켰다. 바람직하게는, 응축기는 용액의 어는 점 아래 약 -40 °C로, 더 바람직하게는 약 -50 °C 이하로, 더욱 더 바람직하게는 약 -60 °C 이하로 냉동될 것이다. 또한, 챔버의 배기는 약 10 내지 약 600 μm, 바람직하게는 약 50 내지 약 150 μm의 압력이 얻어질 때까지 계속되어야 한다.

[0103] 그 다음, 생성물 조성물을 챔버 및 응축기내에서 진공하에 가온시킨다. 이는 일반적으로 동결기내의 선반을 가온시킴으로써 수행될 것이고, 생성물은 동결건조 과정동안 약 10 내지 약 600 μm의 압력에서 위치한다. 가온 과정은 최적으로는 수 시간에 걸쳐 매우 서서히 일어날 것이다. 예를 들어, 생성물 온도는 처음에 약 -30 °C로부터 약 -10 °C로 증가되고 약 10 내지 70 시간동안 유지되어야 한다. 또한, 생성물 온도는 30 내지 192 시간에 걸쳐 어는 점으로부터 약 25 내지 40 °C로 상승될 수 있다. 바이알로부터 동결건조물이 분말 배출되는 것을 방지하기 위하여, 초기 건조기 동안 유기 용매 및 물의 완전 제거가 이루어져야 한다. 완전 건조는 진공, 응축기 온도 및 생성물 선반 온도의 안정화에 의해 확인될 수 있다. 초기 건조 후, 제품 온도는 약 25 내지 40 °C로 증가되어 약 5 내지 40 시간동안 유지되어야 한다.

[0104] 건조 주기가 끝나면, 챔버내의 압력은 멸균된 건조-질소 기체(또는 균등한 기체)로 대기압(또는 약간 대기압 미만)으로 서서히 해제될 수 있다. 생성물 조성물을 용기(예: 바이알)에서 동결건조하는 경우, 바이알을 마개로 덮고, 제거하고, 밀봉할 수 있다. 몇몇 대표적인 샘플을 제품의 품질을 분석하기 위한 다양한 물리적, 화학적, 미생물적 시험을 수행할 목적으로 꺼낼 수 있다.

[0105] 동결건조된 벤다무스틴 배합물은 전형적으로 약학 투여형으로 판매된다. 본 발명의 약학 투여형은, 전형적으로는 바이알의 형태이지만, 멸균 환경을 유지할 수 있는 임의의 적합한 용기, 예를 들어 앰플, 주사기, 코-바이알(co-vial)일 수 있다. 이러한 용기는 유리 또는 플라스틱일 수 있으며, 단 벤다무스틴 배합물과 상호반응하지 않는다. 폐쇄물은 전형적으로 마개이고, 가장 전형적으로는 기밀을 제공하는 멸균 고무 마개, 바람직하게는 브로모부틸 고무 마개이다.

[0106] 동결건조 후, 벤다무스틴 동결건조 분말을 용기(예: 바이알)에 충전시킬 수 있거나, 또 다르게는 전-동결건조 용액을 바이알에 충전시키고 그 안에서 동결건조시켜, 동결건조된 벤다무스틴 배합물을 직접 함유하는 바이알을 생성한다. 이러한 바이알은, 그 안의 용액을 충전하거나 동결건조한 후에, 마개로 밀봉하여, 밀봉된 멸균 약학 투여형을 제공한다. 전형적으로, 바이알은 벤다무스틴 약 10 내지 500 mg/바이알, 바람직하게는 약 100 mg/바이알, 및 만니톨 약 5 mg-2 g/바이알, 바람직하게는 약 170 mg/바이알을 포함하는 동결건조된 분말을 함유할 것이다.

[0107] 본 발명의 동결건조 배합물은 물, 바람직하게는 주사용 멸균수, 또는 기타 멸균 유체(예: 공용매)로 재구성되어, 적당한 정맥 혼합물 용기, 예를 들어 정상 식염수에 추가 희석한 후 비경구 주사에 의해 투여에 적당한 벤다무스틴 용액을 제공할 수 있다.

[0108] B. 용해도

[0109] 물(단독)내 벤다무스틴 HCl(벤다무스틴), 및 물과 동결건조에 일반적으로 사용되는 다양한 양의 알콜(예컨대, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 및 3급 부틸 알콜(TBA))내 벤다무스틴 HCl의 용해도를 시각 검사에 의해 결정하였다. 25.5 mg/ml의 만니톨과 조합된 벤다무스틴 15 mg/ml의 양을 실온에서 지시된 알콜 용액 10 ml내에 제조하였다(하기 표 1 참조). 그 다음, 샘플을 5 °C에서 냉장시키고, 0, 3, 6 및 24 시간 후에 미립자 및/또는 침전물에 대하여 검사하였다.

[0110] 하기 표 1에 나타난 결과는 벤다무스틴 용해도가 온도 및 수용액내 알콜의 양에 의존함을 나타낸다. 시험된 알콜의 경우, 벤다무스틴의 용해도는 알콜의 농도가 증가함에 따라 증가하였다. 침전물의 형성도 또한 온도 및 시간에 의존하였다. 벤다무스틴은 임의의 알콜에 의해 즉시 침전하지 않았지만, 5 °C에서 보관하면 결정화되었다. 알콜은 용해도에 대한 효과가 다양하였다. 임의의 특정 이론에 결부시키려는 것이 아니라, 메탄올 및 에탄올과 같은 저급 알콜은 더 고급 알콜(3급 부탄올 및 n-부탄올)에 비하여 용해도에 대한 영향이 덜하다. 그러나, 알콜의 모양도 또한 중요하다. 예를 들어, n-프로판올은 이 시스템에서 침전을 방지하는데 있어서 이소-프로판올보다 효과가 좋은 것으로 나타났다. 용해도에 대한 효과가 가장 큰 두 알콜은 n-프로판올 및 3급 부탄올이었다.

표 1

[0111] 5 °C에서 보관하였을 때 다양한 알콜내에서 24 시간에 걸친 벤다무스틴 용해도

	0 시간	3 시간	6 시간	24 시간
메탄올(v/v)				
0 %(물만)	CCS	CCS	침전물	침전물
5 %	CCS	CCS	침전물	침전물
10 %	CCS	CCS	CCS	침전물
20 %	CCS	CCS	CCS	침전물
30 %	CCS	CCS	CCS	CCS
에탄올(v/v)				
1.9 %	CCS	CCS	침전물	침전물
5 %	CCS	CCS	침전물	침전물
10 %	CCS	CCS	CCS	침전물
20 %	CCS	CCS	CCS	CCS
30 %	CCS	CCS	CCS	CCS
n-프로판올(v/v)				
5 %	CCS	CCS	CCS	침전물
10 %	CCS	CCS	CCS	CCS
20 %	CCS	CCS	CCS	CCS
30 %	CCS	CCS	CCS	CCS
이소-프로판올(v/v)				
5 %	CCS	침전물	침전물	침전물

10 %	CCS	CCS	CCS	CCS
20 %	CCS	CCS	CCS	CCS
30 %	CCS	CCS	CCS	CCS
n-부탄올(v/v)				
5 %	CCS	CCS	CCS	CCS
10 %	CCS	CCS	CCS	CCS
20 %	2층	2층	2층	2층
30 %	2층	2층	2층	2층
3급 부탄올(v/v)				
5 %	CCS	CCS	CCS	침전물
10 %	CCS	CCS	CCS	침전물
20 %	CCS	CCS	CCS	CCS
30 %	CCS	CCS	CCS	CCS
CCS는 투명한 무색 용액을 가리킨다.				

[0112] 3 가지의 상이한 용액에 있어서 다양한 온도에서의 벤다무스틴의 용해도를 정량적으로 결정하기 위한 실험은 도 1 및 표 2에 요약되어 있다. 실험에 사용된 TBA의 양, 20 %(v/v) 및 30 %(v/v)는 안정성 실험에 근거하였다(이하 기술되는 결과). 시험된 두 용액에 있어서, 벤다무스틴의 용해도는 25 ℃로부터 0 ℃까지 선형 감소하였다. 이 실험은 표 1에 나타낸 데이터를 확인하며 20 % 및 30 % TBA 용액의 벤다무스틴 용해도의 차이를 강조한다.

표 2

[0113] TBA내 벤다무스틴의 용해도

	-8 ℃	0 ℃	5 ℃	25 ℃
20 %(v/v) TBA 25.5 mg/ml 만니톨 물, 원하는 체적이 되게 하는 적정량	14 mg/ml	11 mg/ml	17 mg/ml	47 mg/ml
30 %(v/v) TBA 25.5 mg/ml 만니톨 물, 원하는 체적이 되게 하는 적정량	20 mg/ml	18 mg/ml	27 mg/ml	65 mg/ml

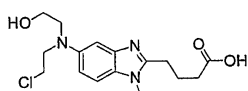
[0114] C. 안정성

[0115] 물에 의한 가수분해로 인한 수용액내에서의 불안정성 때문에, 벤다무스틴은 약학적으로 사용하기에 적합한 제품을 만들기 위하여 동결건조가 필요하다. 그러나, 동결건조된 약물 제품을 제조하는 동안, 수용액은 동결건조에 앞서 일반적으로 충전을 필요로 한다. 따라서, 벤다무스틴 및 기타 질소 머스터드의 배합 및 충전 과정에서 수용액을 사용하면 약물 제품이 분해될 수 있다. 따라서, 더 긴 충전-마무리 시간을 허용하고, 통용되는 리보무스틴 배합물보다 더 빨리 재구성될 수 있고/있거나, 임의의 불순물(예: HP1, 및 리보무스틴보다 BM1 이량체)에 비하여 더 우수한 불순물 프로필을 갖는 벤다무스틴의 동결건조 제제를 제공하는 배합물이 발견될지를 결정하기 위하여, 벤다무스틴의 분해에 대한 다양한 알콜의 영향을 평가하였다.

[0116] 바람직하게는, 본 발명의 동결건조 제제는 HP1에 대하여 안정하다. 즉, HP1의 양은, 약 2 내지 약 30 ℃, 바람직하게는 5 ℃에서 보관하였을 때, 6 개월, 더 바람직하게는 12 개월, 더욱 더 바람직하게는 24 개월보다 길게, 예컨대 36 개월동안 거의 증가하지 않는다(저장 수명 명세를 초과하지 않는다).

[0117] 하기 표 3은 5 ℃에서 24 시간에 걸친, 알콜을 첨가하지 않은 물에서의 벤다무스틴의 안정성 결과를 나타낸다. 벤다무스틴은 물 단독의 경우에는 급속히 분해하여, 주로 가수분해 생성물 HP1(모노히드록시 벤다무스틴)을 형성한다.

[0118] <화학적 II>



[0119] 모노히드록시 벤다무스틴(HP1)

[0120]

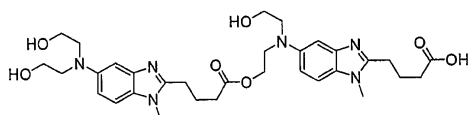
표 3

물내 벤다무스틴의 안정성

	유지 시간	순도(면적 %)	HP1(%)	이량체(%)
0% 알콜, 즉 물 단 독	0 시간	99.11	0.60	0.11
	3 시간	98.83	0.86	0.13
	6 시간	98.44	1.22	0.17
	24 시간	95.67	3.81	0.29

이 실험 및 다른 장기간의 안정성 실험동안 관찰된 다른 주요 분해물은 벤다무스틴의 이량체였다.

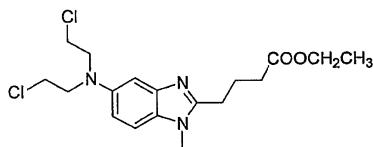
<화학식 III>



벤다무스틴 이량체(BM1 이량체)

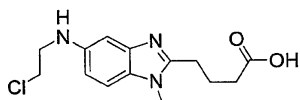
리보무스틴 동결건조 제품에 함유된 다른 분해물은 벤다무스틴 에틸에스테르(BM1EE)(화학식 IV) 및 BM1DCE(화학식 V)이다. BM1EE는 벤다무스틴이 에틸 알콜과 반응할 때 형성된다.

<화학식 IV>



벤다무스틴 에틸에스테르(BM1EE)

[화학식 V]



BM1DCE

도 2는 5 °C에서 24 시간동안 다양한 알콜내에서 벤다무스틴을 배양한 후 HPLC 분석의 순도 결과를 요약한다. 결과는 전체 피크 면적의 면적 비율로서 제시된다. 도 2의 수치는 표 3 내지 표 9에 제공되어 있다. 순도는 알콜에 상관없이 더 많은 농도의 알콜을 함유하는 용액에서 최고였다. 평가된 알콜중에서, 벤다무스틴은 약 30 %(v/v) TBA를 함유하는 용액에서 가장 덜 분해되었다. 약 10 % 및 약 20 % 알콜 용액에서, n-부탄올은 벤다무스틴의 분해를 방지하는데 있어서 우수하였다. 20 % 및 30 %(v/v)에서, 물내 n-부탄올은 이들 농도에서의 물내 n-부탄올의 불용성으로 인해 2상 시스템이 되었다.

도 3 및 도 4는 HPLC에 의해 정량화된 HP1 및 이량체 형성에 의해 측정된 벤다무스틴의 분해 정도를 나타낸다 (전술된 바와 같음). HP1 및 이량체 형성은 알콜과 상관없이 알콜 농도 정도가 감소함에 따라 증가하였다. 불순물의 이러한 증가는 예상된 시간 의존성을 가지고 일어난다(표 3 내지 표 9 참조). 3급 부탄올 및 n-부탄올은 제품의 분해를 방지하는데 있어서 다른 알콜보다 우수하였다. 하기 표 10에 나타난 바와 같이, 만니톨은 TBA에 의한 벤다무스틴의 안정화에 영향을 주지 않았다.

표 4

24시간에 걸친 다양한 에틸 알콜 농도에서의 벤다무스틴의 안정성에 대한 HPLC 안정성 결과. HP1 및 이량체는 이 실험에서 증가한 불순물이었다.

v/v 알콜	유지 시간	순도(면적 %)	HP1(%)	이량체(%)
1.9 % 에탄올	0 시간	99.11	0.64	0.12
	3 시간	98.83	0.90	0.14
	6 시간	98.60	1.12	0.15
	24 시간	96.16	3.41	0.27
5 % 에탄올	0 시간	99.31	0.44	0.12
	3 시간	99.10	0.64	0.13
	6 시간	98.87	0.86	0.14
	24 시간	96.89	2.68	0.25
10 % 에탄올	0 시간	99.44	0.33	0.11
	3 시간	99.28	0.48	0.12
	6 시간	99.10	0.65	0.12
	24 시간	98.03	1.57	0.18
20 % 에탄올	0 시간	99.54	0.22	0.10
	3 시간	99.45	0.30	0.11
	6 시간	99.36	0.39	0.11
	24 시간	98.61	0.96	0.15
30 % 에탄올	0 시간	99.62	0.15	0.10
	3 시간	99.56	0.21	0.11
	6 시간	99.52	0.24	0.12
	24 시간	99.21	0.45	0.12

표 5

[0136] 24시간에 걸친 다양한 3급 부탄올 농도에서의 벤다무스틴에 대한 HPLC 안정성 결과. HP1 및 이량체는 이 실험에서 증가한 불순물이었다.

알콜 농도(v/v)	유지 시간	순도(면적 %)	HP1(%)	이량체(%)
5 % 3급 부탄올	0 시간	99.34	0.41	0.12
	3 시간	99.10	0.64	0.14
	6 시간	98.85	0.88	0.13
	24 시간	97.58	2.09	0.20
10 % 3급 부탄올	0 시간	99.46	0.30	0.11
	3 시간	99.26	0.48	0.12
	6 시간	99.05	0.69	0.13
	24 시간	98.04	1.64	0.19
20 % 3급 부탄올	0 시간	99.59	0.17	0.11
	3 시간	99.48	0.29	0.11
	6 시간	99.35	0.40	0.12
	24 시간	98.35	1.27	0.20
30 % 3급 부탄올	0 시간	99.63	0.13	0.10
	3 시간	99.60	0.16	0.10
	6 시간	99.58	0.18	0.11
	24 시간	99.42	0.34	0.12

표 6

[0137] 24시간에 걸친 다양한 n-프로필 알콜 농도에 대한 HPLC 안정성 결과. HP1 및 이량체는 이 실험에서 증가한 불순물이었다.

알콜 농도(v/v)	유지 시간	순도(면적 %)	HP1(%)	이량체(%)
5 % n-프로판올	0 시간	99.25	0.43	0.13
	3 시간	99.00	0.66	0.15
	6 시간	98.72	0.94	0.16
	24 시간	97.24	2.33	0.26
10 % n-프로판올	0 시간	99.34	0.33	0.15
	3 시간	99.17	0.48	0.14

	6 시간	98.92	0.70	0.16
	24 시간	97.67	1.83	0.28
20 % n-프로판올	0 시간	99.45	0.33	0.13
	3 시간	99.42	0.26	0.13
	6 시간	99.29	0.39	0.14
	24 시간	98.60	0.97	0.24
30 % n-프로판올	0 시간	99.53	0.15	0.13
	3 시간	99.51	0.15	0.15
	6 시간	99.44	0.20	0.11
	24 시간	99.27	0.36	0.17

표 7

[0138] 24시간에 걸친 다양한 이소-프로필 알콜 농도에서의 벤다무스틴에 대한 HPLC 안정성 결과. HP1 및 이량체는 이 실험에서 증가한 불순물이었다.

알콜 농도(v/v)	유지 시간	순도(면적 %)	HP1(%)	이량체(%)
5 % 이소-프로판올	0 시간	99.21	0.48	0.13
	3 시간	98.65	0.72	0.14
	6 시간	98.56	1.02	0.14
	24 시간	96.14	3.35	0.26
10 % 이소-프로판올	0 시간	99.32	0.37	0.12
	3 시간	99.11	0.55	0.14
	6 시간	98.85	0.75	0.16
	24 시간	97.68	1.92	0.21
20 % 이소-프로판올	0 시간	99.49	0.21	0.11
	3 시간	99.39	0.31	0.12
	6 시간	99.22	0.42	0.13
	24 시간	98.61	1.04	0.17
30 % 이소-프로판올	0 시간	99.56	0.15	0.10
	3 시간	99.47	0.20	0.12
	6 시간	99.40	0.24	0.11
	24 시간	99.15	0.52	0.14

표 8

[0139] 24시간에 걸친 다양한 메틸 알콜 농도에서의 벤다무스틴에 대한 HPLC 안정성 결과. HP1 및 이량체는 이 실험에서 증가한 불순물이었다.

알콜 농도(v/v)	유지 시간	순도(면적 %)	HP1(%)	이량체(%)
5 % 메탄올	0 시간	99.35	0.40	0.12
	3 시간	98.97	0.70	0.14
	6 시간	98.66	0.95	0.14
	24 시간	96.65	2.83	0.23
10 % 메탄올	0 시간	99.42	0.34	0.11
	3 시간	99.01	0.59	0.12
	6 시간	98.86	0.80	0.12
	24 시간	97.65	1.85	0.18
20 % 메탄올	0 시간	99.56	0.22	0.11
	3 시간	99.31	0.38	0.11
	6 시간	98.99	0.50	0.12
	24 시간	98.31	1.15	0.16
30 % 메탄올	0 시간	99.59	0.18	0.10
	3 시간	99.43	0.27	0.11
	6 시간	99.25	0.34	0.11
	24 시간	98.65	0.76	0.13

표 9

[0140] 24시간에 걸친 다양한 n-부틸 알콜 농도에서의 벤다무스틴에 대한 HPLC 안정성 결과. HP1 및 이량체는 이 실험에서 증가한 불순물이었다.

알콜 농도(v/v)	유지 시간	순도(면적 %)	HP1(%)	이량체(%)
5 % 부탄올	0 시간	99.25	0.49	0.13
	3 시간	98.94	0.73	0.14
	6 시간	98.76	0.91	0.14
	24 시간	97.46	2.20	0.21
10 % 부탄올	0 시간	99.44	0.30	0.11
	3 시간	99.18	0.49	0.12
	6 시간	99.03	0.64	0.12
	24 시간	98.13	1.55	0.17
20 % 부탄올 ^a	0 시간	99.54	0.23	0.10
	3 시간	99.45	0.31	0.11
	6 시간	99.30	0.40	0.11
	24 시간	98.81	0.91	0.14
30 % 부탄올 ^a	0 시간	99.55	0.24	0.10
	3 시간	99.40	0.29	0.10
	6 시간	99.40	0.37	0.11
	24 시간	99.00	0.74	0.12
a-이들 두 용액은 바이알내에서 2층/상의 액체였다. 샘플을 제조하기 전에 용액을 세게 교반하였다.				

[0141] 상기 표 1 내지 표 9의 결과는 HP1 및 이량체에 비하여 벤다무스틴 HCl의 안정성이 알콜 농도가 증가함에 따라 개선함을 나타낸다.

표 10

[0142] 24시간에 걸친 만니톨의 존재하 및 부재하의 TBA내 벤다무스틴의 HPLC 안정성 결과

샘플	순도(면적 %)	HP1(%)
만니톨의 존재하의 TBA 20 %(v/v)		
0 시간	99.59	0.17
24 시간 @ 5 °C	99.35	1.27
만니톨의 부재하의 TBA 20 %(v/v)		
0 시간	100.0	0.00
24 시간 @ 5 °C	98.90	1.21
주: 만니톨의 부재하에 분석된 샘플은 정상적 상 방법을 사용하여 HPLC에 의해 분석하였지만, 만니톨의 존재하에 분석된 샘플은 역상 HPLC 방법을 사용하였다. 두 방법간에 분석된 다른 샘플들에서 약간의 변이를 볼 수 있었다.		

[0143] D. 동결건조 주기 개발

[0144] 다양한 농도의 벤다무스틴, 만니톨, 및 물내 알콜에서 상이한 전-동결건조 배합물을 제조하였다. 본원에 기술된 동결건조(고속 대 저속), 1차 건조(온도 및 압력), 및 2차 건조의 각 단계에서 주기 개발을 변화시키고 최적화하였다.

[0145] 용해도, 안정성 및 동결건조 용이성에 대하여 상기 상술된 모든 정보에 근거하여, 바람직한 배합물은 다음을 포함한다:

성분	농도
벤다무스틴	약 2-40 mg/ml
만니톨	약 0-50 mg/ml
알콜	약 0.5-40 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
알콜은 메탄올, n-프로판올 또는 이소프로판올 중에서 선택됨	
성분	농도
벤다무스틴	약 5-20 mg/ml
만니톨	약 10-30 mg/ml
알콜	약 1-20 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
알콜은 메탄올, n-프로판올 또는 이소프로판올 중에서 선택됨	
성분	농도
벤다무스틴	약 5-20 mg/ml
만니톨	약 10-30 mg/ml
알콜	약 5-40 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 12-17 mg/ml
만니톨	약 20-30 mg/ml
알콜	약 5-15 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 15 mg/ml
만니톨	약 25.5 mg/ml
알콜	약 10 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 2-40 mg/ml
만니톨	약 0-50 mg/ml
부탄올	약 0.5-20 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 5-20 mg/ml
만니톨	약 10-30 mg/ml
부탄올	약 1-10 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 12-17 mg/ml
만니톨	약 20-30 mg/ml
부탄올	약 1-10 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 15 mg/ml
만니톨	약 25.5 mg/ml
부탄올	약 10 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 2-50 mg/ml
만니톨	약 0-50 mg/ml
3급 부탄올	약 0.5-100 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 2-50 mg/ml
만니톨	약 0-50 mg/ml

[0146]

3급 부탄올	약 0.5-99.9 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 2-50 mg/ml
만니톨	약 0-50 mg/ml
3급 부탄올	약 0.5-99 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 2-50 mg/ml
만니톨	약 0-50 mg/ml
3급 부탄올	약 90-99 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 5-20 mg/ml
만니톨	약 10-30 mg/ml
3급 부탄올	약 5-80 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 12-17 mg/ml
만니톨	약 20-30 mg/ml
3급 부탄올	약 10-50 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 12.5-15 mg/ml
만니톨	약 0-30 mg/ml
에탄올	약 20-30 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량
성분	농도
벤다무스틴 HCl	약 15 mg/ml
만니톨	약 25.5 mg/ml
3급 부탄올	약 30 %(v/v)
물	원하는 체적이 될 때까지 적정량

[0147]

[0148]

[실시예]

[0149]

하기 실시예는 본 발명의 임의의 양상을 설명하고 본 발명을 실시할 때 당업자를 돕기 위하여 제공된다. 이들 실시예는 어떤 식으로든 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 여겨져서는 안된다.

[0150]

물질:

[0151]

벤다무스틴 HCl(테구사, 로트# 0206005 및 0206007)

[0152]

만니톨, NF 또는 균등물(말린크로트(Mallinckrodt))

[0153]

탈수 에틸 알콜(200 표준강도), USP 또는 균등물(스펙트럼(Spectrum))

[0154]

3급 부틸 알콜, ACS(EM 사이언스(EM Science))

[0155]

메탄올(스펙트럼 및 EMD)

[0156]

프로판올(스펙트럼)

[0157]

이소-프로판올(스펙트럼)

[0158]

부탄올(스펙트럼)

[0159]

물, HPLC급 또는 균등물(EMD)

[0160]

아세트니트릴, HPLC급 또는 균등물(EMD)

[0161]

트리플루오로아세트산, 제이 티 베이커(J. T. Baker)

[0162]

메탄올, HPLC급 또는 균등물(EM 사이언스, Cat # MX0488P-1)

[0163]

트리플루오로아세트산, HPLC급 또는 균등물(제이 티 베이커, Cat# JT9470-01)

[0164]

설비:

- [0165] 포토다이오드 어레이(photodiode array) 검출기가 달린 워터스(Waters) 2695 알리안스(Alliance) HPLC 시스템
- [0166] 이중 파장 검출기가 달린 워터스 2795 알리안스 HPLC 시스템
- [0167] 분석 저울(메틀러(Mettler) AG285, ID #1028) 및 (메틀러 XS205)
- [0168] 버티스(VirTis) 동결건조기 어드밴티지(AdVantage)
- [0169] 에이질런트 조박스(Agilent Zorbax) SB-C18 5 μm 80 Å 4.6×250 mm 칼럼, Cat# 880975-902
- [0170] 실시예 1-HPLC 과정
- [0171] 방법 1
- [0172] 이동상 A: 0.1 % TFA; H₂O
- [0173] 이동상 B: 0.1 % TFA; 50 % ACN:50 % H₂O
- [0174] UV: 230 nm
- [0175] 유량: 1.0 ml/min
- [0176] 칼럼 온도: 30 °C
- [0177] 칼럼: 조박스 SB-C18 5 μm 80 Å 4.6×250 mm
- [0178] 샘플 온도: 5 °C
- [0179] 주사 체적: 10 μl
- [0180] 샘플 농도: MeOH내 0.25 mg/ml
- [0181] 구배: 1 분동안 20 % B; 23 분에 걸쳐 20 내지 90 % B; 6 분동안 90 % B; 1 분 이내에 20 % B로 되돌림; 4 분 동안 20 % B에서 유지
- [0182] 실행 시간: 30 분
- [0183] 후-실행 시간: 5 분
- [0184] 방법 2
- [0185] 이동상 A: 0.1 % TFA; H₂O:ACN(9:1)
- [0186] 이동상 B: 0.1 % TFA; H₂O:ACN(5:5)
- [0187] UV: 230 nm
- [0188] 유량: 1.0 ml/min
- [0189] 칼럼: 조박스 SB-C18 5 μm 80 Å 4.6×250 mm
- [0190] 칼럼 온도: 30 °C
- [0191] 샘플 온도: 5 °C
- [0192] 주사 체적: 10 μl
- [0193] 샘플 농도: MeOH내 0.25 mg/ml
- [0194] 구배: 3 분동안 0 % B; 13 분에 걸쳐 0 내지 50 % B; 17 분에 걸쳐 50 내지 70 % B; 2 분에 걸쳐 70 내지 90 % B; 5 분동안 90 % B; 1 분에 걸쳐 0 % B로 되돌림; 4 분동안 0 % B에서 유지
- [0195] 실행 시간: 40 분
- [0196] 후-실행 시간: 5 분
- [0197] 방법 3

- [0198] 상 A: 0.1 % TFA(v/v)를 갖는 HPLC급 물
- [0199] 상 B: 0.1 % TFA(v/v)를 갖는 HPLC급 ACN/물(1:1, v/v)
- [0200] UV: 254 nm
- [0201] 유량: 1.0 mL/min
- [0202] 칼럼: 조박스 SB-C18 5 μ m 80 Å 4.6×250 mm
- [0203] 칼럼 온도: 30 °C
- [0204] 샘플 온도: 5 °C
- [0205] 주사 체적: 5 μ L
- [0206] 획득 시간: 30 min
- [0207] 후-시간: 9 min
- [0208] 희석제: 메탄올
- [0209] 구매:

시간(min)	% 상 A	% 상 B
0.0	82	18
7.0	60	40
11.0	60	40
15.0	20	80
30.0	20	80
31.0	82	18

- [0210]
- [0211] 샘플 제조-약물 제품을 MeOH 200 mL로 용해시켰다. 6 분간 초음파 처리하였다. 이 용액을 HPLC에 직접 주사할 수 있었다(약 0.5 mg/mL).

[0212] 방법 4

- [0213] 상 A: 0.1 % TFA(v/v)를 갖는 HPLC급 물
- [0214] 상 B: 0.1 % TFA(v/v)를 갖는 HPLC급 ACN/물
- [0215] UV: 254 nm
- [0216] 유량: 1.0 mL/min
- [0217] 칼럼: 조박스 보너스(Zorbax Bonus) RP-C14 5 μ m 80 Å 4.6×250 mm
- [0218] 칼럼 온도: 30 °C
- [0219] 샘플 온도: 5 °C
- [0220] 주사 체적: 2 μ L
- [0221] 획득 시간: 31 min
- [0222] 후-시간: 5 min
- [0223] 희석제: 물내 NMP/0.1 % TFA(50:50 v/v)
- [0224] 구매:

시간(min)	% 상 A	% 상 B
0.0	93	7
5	93	7
13	73	27
16	73	27
25	10	90
31	10	90

- [0225]

[0226] 방법 4의 샘플 제조-약물 제품을 공지량의 희석제로 용해시켜 HPLC에 직접 주사하기 위한 4.2 mg/ml를 제조하였다. 4.2 mg/ml의 샘플 농도를 얻기 위하여 2번째 희석(100 mg/바이알 투여형)을 수행하는 것이 필요할 수 있다.

[0227] 결과

[0228] 전술된 HPLC 방법 1을 사용한, 몇몇 벤다무스틴 불순물의 체류 시간을 하기 표 11에 나타내었다. 본원에 기술된 HPLC 과정을 사용한, 리보무스틴의 HPLC 크로마토그램은 도 6에 나타나 있다.

표 11

[0229] HPLC 방법 1을 사용한, 벤다무스틴 및 그의 몇몇 불순물의 체류 시간

샘플 이름	체류 시간(min)
HP1	14.110
벤다무스틴	22.182
BM1 이량체	24.824
BM1EE	26.968

[0230] HPLC 방법 1은 벤다무스틴에서 발견된 불순물을 해결할 수 있었지만, 분석중에 형성된 가능한 불순물인 벤다무스틴의 메틸 에스테르(BM1ME)를 분리할 수 없었다. BM1ME와 BM1 이량체 사이의 체류 시간 차이는 겨우 0.3 분이었다. BM1 이량체를 해결하기 위하여, 다른 HPLC 방법(#2)을 개발하였다. HPLC 방법 #2는 모든 불순물을 분리할 수 있었지만, 45 분의 더 긴 실행 시간을 필요로 하였다(표 12).

표 12

[0231] HPLC 방법 2를 사용한, 벤다무스틴 및 불순물의 체류 시간

샘플 이름	체류 시간(min)
HP1	15.694
BM1	25.420
BM1EE	31.065
BM1 이량체	32.467
BM1EE	36.038

[0232] HPLC 방법 3을 사용한, 다양한 로트의 리보무스틴의 불순물 프로필을 하기 표 13에 나타내었다.

표 13

[0233] HPLC 방법 3을 사용한, 리보무스틴 불순물 프로필

면적 %					
배치	벤다무스틴(HC1)	HP1	BM1EE	BM1 이량체	BM1DCE
03H08	98.14	1.07	0.21	0.34	0.03
03H07	97.67	1.5	0.2	0.33	0.04
02K27	96.93	0.93	0.29	1.18	0.08
03C08	97.61	1.24	0.19	0.46	0.02

[0234] 실시예 2-용해도

[0235] 물(단독)내 벤다무스틴 HC1(벤다무스틴), 및 다양한 양의 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올 및 3급 부틸 알콜(TBA)을 갖는 물내 벤다무스틴 HC1(벤다무스틴)의 용해도를 시각 검사에 의해 결정하였다. 15 mg/ml의 벤다무스틴 및 25.5 mg/ml의 만니톨을 실온의 지시된 알콜 용액(표 1) 10 ml내에 제조하였다. 그 다음, 샘플을 5 °C에서 냉장하고, 0, 3, 6 및 24 시간 후에 미립자 및/또는 침전물에 대하여 검사하였다.

[0236] 표 1에 요약된 결과는 벤다무스틴 용해도가 온도 및 수용액내 알콜의 양에 의존함을 나타낸다. 모든 알콜에 있어서, 벤다무스틴의 용해도는 알콜의 농도가 증가함에 따라 증가하였다. 침전물의 형성도 또한 온도 및 시간에

의존하였다.

- [0237] 벤다무스틴의 용해도는 또한 물내 만니톨 25.5 mg/ml를 함유하는 20 %(v/v) TBA, 및 물내 만니톨 25.5 mg/ml를 함유하는 30 %(v/v) TBA에서 결정되었다(도 1). 벤다무스틴을 각각의 용액 4 ml에 첨가하고, 더 이상 용해되지 않을 때까지 혼합하였다. 포화된 용액을 -8 °C, 0 °C, 5 °C 또는 25 °C에서 1 시간동안 혼합하였다. 샘플을 원심분리하고, 원래 온도에서 최소 30 분동안 놓아 두었다. -8 °C 샘플을 얼음욕의 온도를 저하시키는 염화 나트륨을 함유하는 얼음욕에 넣고, 분석을 위하여 샘플을 꺼냈을 때 온도를 측정하였다. 분취량의 각 샘플을 취하여 HPLC 분석을 위하여 제조하였다.
- [0238] 이들 실험의 결과는 도 1 및 도 2에 나타나 있다. 실험(도 1)에 사용된 TBA의 양, 20 %(v/v) 및 30 %(v/v)는 본원에 기술된 안정성 실험에 근거하였다.
- [0239] 도 1에 나타난 바와 같이, 벤다무스틴의 용해도는 온도에 대하여(25 °C로부터 0 °C) 선형적으로 감소하였다. 벤다무스틴의 용해도는, 벤다무스틴이 물 단독에 용해되든지 또는 물과 알콜에 용해되든지, 온도 의존성이었다. 20 %(v/v) TBA는 벤다무스틴의 안정성 및 용해도로 인해 효율적이고 건전한 약학 제조에 필요한 하한일 가능성이 있다. 15 mg/ml 벤다무스틴의 충전 용액은 5 °C에서의 벤다무스틴 17.2 mg/ml의 포화 한도에 가깝지만 0 °C에서의 한도보다 더 높다. 30 %(v/v) TBA는 최종 배합물에 권장되는 TBA의 농도이고, 온도에 상관없이 용해도 한도 훨씬 이내이다.
- [0240] 실시예 3-안정성
- [0241] A. 물내 안정성
- [0242] 벤다무스틴(15 mg/ml) 및 만니톨(25.5 mg/ml)의 용액을 실온의 물에서 제조하고, 즉시 얼음욕(온도를 재빨리 약 5 °C로 낮추기 위하여)에 넣은 다음, 5 °C에서 냉장하였다. 각 배합물의 샘플을 5 °C에서 보관한 지 0, 3, 6 및 24 시간 후에 본원에 기술된 방법을 사용하여 HPLC에 의해 분석하였다.
- [0243] B. 알콜내 안정성
- [0244] 벤다무스틴 15 mg/ml, 만니톨 25.5 mg/ml, 및 물내 1.9 %, 5 %, 10 %, 20 % 또는 30 %(v/v) 에틸 알콜 또는 물내 5 %, 10 %, 20 % 또는 30 %(v/v) TBA, 메탄올, 프로판올, 이소-프로판올 또는 부탄올을 함유하는 용액을 실온에서 제조하고, 얼음욕에 10 분동안 넣은 다음, 5 °C에서 냉장하였다. 각 배합물의 샘플을 5 °C에서 보관한 지 0, 3, 6 및 24 시간 후에 HPLC에 의해 분석하였다.
- [0245] C. 안정성 결과
- [0246] 표 3은 5 °C에서 24 시간에 걸쳐 알콜이 첨가되지 않은 물내 벤다무스틴의 안정성 결과를 나타낸다. 벤다무스틴은 물에서 재빨리 분해되지만, 벤다무스틴의 안정성은 알콜 농도의 증가에 따라 증가하였다(도 2, 도 3 및 도 4). 알콜은 용해도 문제를 돕기 위하여 동결건조에서 빈번히 사용되지만, 벤다무스틴 안정성에 대한 알콜의 영향은 독특하고, 예상외이며, 벤다무스틴의 안정성을 유지하면서 수용액을 사용할 수 있기 때문에 불순물이 더 적은 벤다무스틴의 제조에 유용하다. TBA는 시험된 6 가지 알콜의 최상의 안정화제인 것으로 나타났다(도 2, 도 3 및 도 4). 30 %(v/v)의 모든 알콜은 불순물 HP1 및 이량체의 형성을 5 °C에서 24 시간까지 감소시켰다. TBA에 대하여, HP1은 5 °C에서 24 시간까지 보관하였을 때 겨우 약 0.4 %였다. 더 낮은 농도의 알콜은, 벤다무스틴 15 mg/ml로 배합하고 5 °C에서 보관하였을 때, 벤다무스틴 침전 및 불순물 형성으로 인해 효율적이지 않을 수 있다.
- [0247] 실시예 4-배합 최적화
- [0248] 벤다무스틴의 용해도 및 안정성을 결정한 후, 배합물을 동결건조를 위해 최적화하였다. 벤다무스틴의 농도는 다른 알콜 용액에 비하여 30 % TBA/물 포화 용액에서 더 높기 때문에, 벤다무스틴 100 mg을 채우는데 필요한 바이알 크기는 통용되는 리보무스틴의 크기에서 감소될 수 있다. 벤다무스틴의 포화 용액은 0 °C에서 18 mg/ml를 함유하지만, 배치 차이의 결과로서 총 API 순도의 차이로 인한 API 용해도의 약간의 차이를 보상하기 위하여 배합물에 15 mg/ml의 농도가 선택되었다. 15 mg/ml 벤다무스틴의 농도는 바이알당 벤다무스틴 HCl 100 mg을 충전하기 위하여 6.67 ml를 필요로 한다.
- [0249] 표면적(승화) 대 체적 비는 빨리 동결건조하는 우수한 외관을 갖는 동결건조 제품을 생성하는데 중요하다. 일반적으로, 동결건조 제품은 바이알 체적의 30 % 내지 50 %를 차지한다. 6.67 ml를 갖는 20 ml 바이알은 그의 용량의 약 30 %를 함유하고 0.796 cm²/ml의 표면적 비를 갖는다.

- [0250] 만니톨은 리보무스틴에 유사한 배합물을 유지하기 위하여 증량제로서 선택되었다. 벤다무스틴 용해도 및 제품의 외관에 대한 만니톨의 영향을 평가하기 위하여 실험을 수행하였다. 만니톨은 에탄올 및 TBA 수용액에서 벤다무스틴(15 mg/ml)의 용해도를 감소시켰다. 예를 들어, 만니톨의 부재하에 5 % 및 10 % 에탄올 및 TBA를 함유하는 용액은 24 시간에 걸쳐 침전하지 않았다. 그러나, 만니톨을 갖는 샘플(표 1)의 경우에는 24 시간 이내에 침전물이 관찰되었다. 30 %(v/v) TBA, 벤다무스틴 15 mg/ml 및 만니톨 25.5 mg/ml를 함유하는 수용액의 경우에는 침전물이 없었다. 취급하는 동안 파손에 저항성인 잘 형성된 케이크를 유지하기 위하여, 최소 134 mg/바이알의 만니톨이 필요하였고, 만니톨 200 mg/바이알까지 바이알에서 차이가 관찰되지 않았다.
- [0251] 시험된 모든 알콜은 벤다무스틴의 안정성 및 용해도를 증가시켰다. 그러나, 용액 충전의 안정성 및 제조 용이성에 영향을 주기 위하여 상당한 물분율이 필요하였다. 더 작은 알콜은 벌크상 용액의 어는 점을 낮추는 원치않은 효과가 있으므로 더 낮은 온도에서 긴 동결건조 주기를 필요로 한다. 더 큰 농도의 메탄올 및 에탄올은 재구성하기 어려운 원치않는 케이크를 생성하였다. 벤다무스틴(15 mg/ml), 만니톨(25.5 mg/ml)을 함유하는 10 % 에탄올, 20 % 에탄올, 10 % 이소-프로판올, 20 % 이소-프로판올, 또는 30 % TBA 수용액을 제조하여 동결건조하였다. 10 % 에탄올, 20 % 에탄올, 10 % 이소-프로판올, 20 % 이소-프로판올의 용액으로 충전된 동결건조된 바이알은 붕괴된 케이크 또는 필름 잔사를 생성하였다. 허용가능한 케이크를 생성하는 유일한 용매 시스템은 30 % TBA였다. 또한, 10 % 에탄올, 20 % 에탄올, 10 % 이소-프로판올, 20 % 이소-프로판올 동결건조된 바이알의 재구성은 어려웠고 45 분이 지날 때까지 완전히 용해되지 않았다.
- [0252] 더 작은 바이알을 사용하는 능력은 수성/유기 용액내 벤다무스틴의 농도 또는 용해도에 의해 제한된다. 허용가능한 케이크 외관을 생성한 더 낮은 농도의 에탄올, 메탄올, 이소프로판올 및 n-프로판올에서, 용해도 한계로 인하여 벤다무스틴의 더 묽은 용액이 필요하다. 바이알당 벤다무스틴 100 mg의 제공을 유지하기 위하여, 50 ml 보다 큰 바이알이 필요할 수 있다. 또한, 본원의 안정성 실험은 더 낮은 알콜 농도에서 화학적 안정성이 허용가능한 충전 시간을 고려하기에 충분하지 않았음을 나타냈다.
- [0253] 재구성의 용이함에 영향을 주는 하나의 인자는 동결건조물의 다공성이다. 일반적으로, 표면적이 거의 없는 비공질의 침전된 고체는 가용화하기가 더 어렵다. 만니톨을 함유하는 대부분의 동결건조물은 동결건조중에 침전물이 형성되지 않는 한 3 내지 5분 이내에 재구성될 것이고, 이는 빈번하게는 액체의 증발(재용융)에 의해 일어난다. 몇 가지 동결건조 용매 시스템에 대한 경험에 근거하여, 임의의 특정 이론에 결부시키려는 것이 아니라, 리보무스틴 재구성에 관련된 문제는 동결건조중의 재용융에 의해 일어난 침전과 관련있을 수 있다. 대부분은 유기 용매는 그의 낮은 융점으로 인하여 효율적으로 동결건조하지 않고 재용융이 일어난다. TBA(3급 부틸 알콜)는 융점이 높고 물에 비하여 유사한 증기압을 갖는다. TBA는 증발이 아니라, 승화에 의해 물과 거의 같은 속도로 제거된다. 본 발명에 따라 30 %(v/v) TBA를 가지고 생성된 동결건조물은 30 내지 45 분 걸릴 수 있는, 상업적으로 이용가능한 리보무스틴에 비하여 3 내지 10 분 이내에 재구성된다.
- [0254] 용해도, 안정성, 재구성의 용이함 및 제조 고려사항에 근거하여, 다음과 같은 본 발명의 전-동결건조 배합물이 바람직하다: 벤다무스틴 HCl 약 15 mg/ml, 만니톨 약 25.5 mg/ml, 약 30 %(v/v) 3급 부틸 알콜, 및 주사용 물 적정량. 그 다음, 배합물을 5 °C에서 20 ml, 20 mm 바이알에 6.67 ml를 사용하여 충전하고, 브로모부틸 마개로 부분적으로 마개를 하고, 전-냉각시킨 동결건조기로 로딩하였다.
- [0255] 실시예 5-불순물 평가
- [0256] HPLC 분석(도 6)에 의해 결정된, 리보무스틴 제조, 배합, 충전 및 동결건조 과정에서 도입된 대부분의 불순물은 가수분해 생성물 HP1, 이량체, 및 벤다무스틴의 에틸 에스테르 BM1EE이다. BM1EE는 약물 물질을 제조하는 동안, 예컨대 재구성 및/또는 정제 공정중에 형성될 수 있다. BM1EE는 벤다무스틴보다 더 강력한 세포독성 약물인 것으로 알려져 있다. 30 % TBA 수성 충전 용액의 사용이 벤다무스틴 t-부틸 에스테르의 형성을 일으킬 것 인지를 결정하기 위하여 실험을 행하였다.
- [0257] 벤다무스틴의 t-부틸 에스테르의 형성에 필요한 전통적인 피셔(Fisher) 에스테르화 반응 조건을 사용하여 실험을 수행하였다. HCl을 함유한 60 °C TBA내에서 벤다무스틴을 20 시간동안 가열하였다. 반응은 관찰되지 않았다. 이 결과는 충전/마무리 공정동안 벤다무스틴의 3급 부틸 에스테르를 형성하는 것이 매우 어려울 수 있음을 나타내었다. 지금까지의 안정성 실험에서 TBA로부터 제조된 약물 제품내에는 새로운 불순물이 관찰되지 않았다.
- [0258] 약물 제품의 시험을 돕기 위하여, t-부틸 잔기의 더 반응성인 공급원을 사용하는 합성 경로를 개발하였다. 3급 부틸 에스테르를 제조하기 위한 다른 시도는 벤다무스틴의 아실 클로라이드의 형성에 의해 수행되었다. 염화

메틸렌내 벤다무스틴의 현탁액을 옥살릴 클로라이드 및 N,N-디메틸포름아미드로 처리하였다. 아실 클로라이드가 형성된 후, 용매를 농축하였다. 잔사를 염화 메틸렌, 3급 부탄올, 트리에틸아민 및 4-디메틸아미노피리딘에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 모든 용매를 첨가하고 정제한 후, 미지의 화합물이 제공되었다. LC-MS는 벤다무스틴 3급 부틸 에스테르의 분자량과 일치하지 않았고, 양성자 NMR은 3급 부틸의 피크를 나타내지 않았다. 따라서, 이 시도도 또한 벤다무스틴 3급-부틸 에스테르를 생성하는데 실패하였다. 따라서, 공용매로서 TBA를 사용하는 것은 알콜로부터 에스테르를 형성하지 않는 추가의 이점을 갖는다.

[0259] 실시예 6-동결건조 주기 개발

[0260] 동결건조의 중요 단계를 평가하고 가장 효율적인 건조 주기를 얻기 위하여 다수의 동결건조 주기를 수행하였다. 생성물에 대한 동결 속도, 1차 건조 온도, 시간 및 압력의 영향을 평가하기 위하여 실험을 수행하였다.

[0261] A. 동결 속도

[0262] 문헌의 보고에 의하면, TBA는 동결 속도에 의존하여 상이한 결정 형태를 취한다고 한다. 일부 TBA 용액에서, 제품이 느리게 동결될수록, 더 빨리 건조된다. 저속 동결중에 형성된 결정이 클수록 기공이 더 커서 더 효율적인 승화가 일어난다. 그러나, 벤다무스틴으로 실험하는 동안, 2 시간 및 8 시간에서 평가하였을 때 동결 속도는 중요한 가공 변수가 아닌 것으로 나타났다.

[0263] B. 1차 및 2차 건조

[0264] 30 % TBA 용액으로부터 동결건조하기 위한 1차 시도중에, 동결건조된 케이크가 파쇄되어 바이알로부터 분말이 배출되었다. 이러한 케이크는 동결건조물내에 비정질 입자를 함유하는 것으로 보였고, 이는 재용융을 나타낸다. 이러한 현상은 재현성 있고 생성물이 가온 속도에 상관없이 약 -10 °C에 달할 때 일어났다(도 5 참조). 분말 배출 문제의 원인 및 해결방법을 결정하기 위하여 몇가지 변수를 시험하였다. 1차 건조동안 압력을 50 μ m로부터 150 μ m로 상승시켰지만, 분말 배출은 여전히 관찰되었지만 정도가 줄었다. 그 다음, 동결 속도를 2 시간에서 8 시간으로 늘린 것으로 제외하고는 상기 실험을 반복하였다. 이 변화는 영향을 주지 않았다.

[0265] 다음으로, 1차 건조의 길이를 평가하였다. 예를 들어, 다음과 같은 매우 느린 건조 주기를 평가하였다: 8 시간에 걸쳐 +25 °C로부터 -50 °C로 동결함; 5 시간동안 -50 °C에서 유지하고, 7시간에 걸쳐 -50 °C로부터 -25 °C로 가온하고 건조함; 20 시간동안 -25 °C에서 유지하고, 2시간에 걸쳐 -25 °C로부터 -15 °C로 가온하고 건조하고 -15 °C에서 20 시간동안 유지하고, 6 시간에 걸쳐 -15 °C로부터 -40 °C로 가온하고 건조하고 20 시간동안 40 °C에서 유지하고; 그 동안 챔버 압력은 건조하는 내내 150 μ m로 유지하였다. 분말 배출이 관찰되지 않았다(도 5). 이러한 주기는 쉽게 재구성된, 파쇄없이 잘 형성된 케이크를 생성하였다. 특정 이론에 결부시키려는 것이 아니라, 분말 배출과 관련된 문제 및 재구성의 어려움은 동결건조물이 너무 빨리 건조하여서 케이크의 강한 증기 유출 및 재용융이 일어난 결과일 수 있다. 덜 공격적인 건조 주기를 사용하면, 심미적이고, 안정하고, 재구성하기 쉬운 케이크가 재현성있게 형성되었다. 따라서, 2차 건조 이전에 모든 결함되지 않은 물 및 3급 부틸 알콜을 제거하여 재용융 및 분말 배출을 방지할 수 있다. 이러한 온화한 조건하에 동결건조 주기를 추가로 최적화하였다(도 5). 40 °C에서 20 시간 이하로 건조한 결과로서 즉각적인 분해 생성물이 생성되지 않았다.

[0266] 실시예 7-동결건조 주기

단계	설명	시간(h)	온도(°C)	압력(μ m)
1	유지	0.25	5 °C	-
2	가온	8	-50 °C	-
3	유지	4	-50 °C	-
4	가온	3	-20 °C	150
5	유지	6	-20 °C	150
6	가온	1	-15 °C	150
7	유지	20	-15 °C	150
8	가온	0.5	-12 °C	150
9	유지	15.5	-12 °C	150
10	가온	15	35 °C	50
11	유지	10	35 °C	50
12	가온	1	40 °C	50
	유지	5	40 °C	50
총		89.25	-	-

[0267]

[0268] 본원에 개시되고 청구된 모든 조성물 및 방법은 본 개시내용에 비추어 과도한 실험 없이 제조되고 실행될 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법을 바람직한 실시양태에 의해 기술하였지만, 당업자라면 본 발명의 요지 및 범주

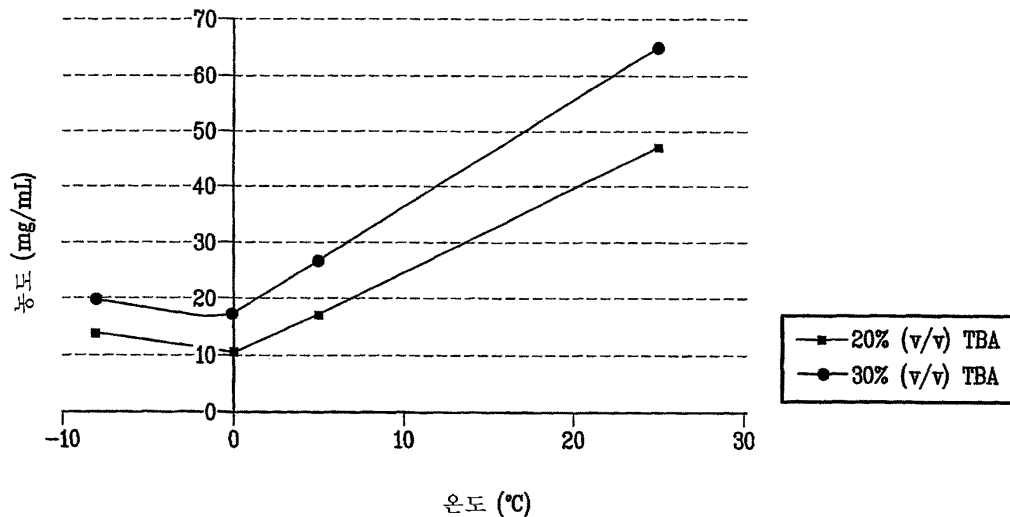
로부터 벗어남이 없이 본원에 기술된 조성물 및 방법에 본원에 기술된 단계 또는 본원에 기술된 방법의 단계 순서로 적용될 수 있음을 알 것이다. 더 구체적으로, 본원에 개시된 용매에 화학적 및 생리학적으로 관련된 임의의 용매로 본원에 기술된 용매를 대체할 수 있고, 동일하거나 유사한 결과를 얻을 수 있음이 분명할 것이다. 당업자에게 분명한 이러한 유사 치환체 및 변형물은 첨부된 청구의 범위에 의해 한정된 본 발명의 요지 및 범주에 속하는 것으로 생각된다.

[0269] 본 명세서에 언급된 모든 특허, 특허출원 및 공개문헌은 본 발명이 관계된 분야의 당업자의 수준을 나타낸다. 모든 특허, 특허출원 및 공개문헌은 각각의 개별 공개문헌이 특히 개별적으로 참조로 인용된 것으로 나타난 것과 같은 정도로 참조로 인용된다.

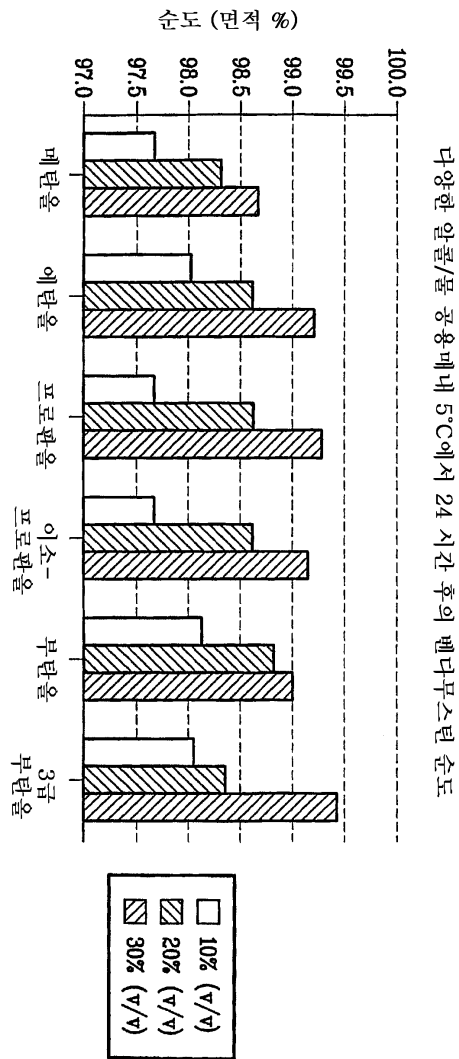
[0270] 본원에 적합하게 예시적으로 기술된 본 발명은 본원에 특히 개시되지 않은 임의의 요소(들)의 부재하에 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들어 본원의 각각의 경우에서, 용어 "포함하는", "본질적으로 이루어지는" 및 "이루어지는" 중 임의의 용어는 다른 두 용어로 대체될 수 있다. 사용된 용어 및 표현은 설명의 용어로서 사용되고 제한의 용어로서 사용되지 않으며, 이러한 용어 및 표현의 사용에서, 제시되고 기술된 특징의 임의의 균등물 또는 그의 일부를 제외할 의도가 없지만, 청구된 본 발명의 범주내에서 다양한 변형이 가능한 것으로 인지된다. 따라서, 본 발명을 바람직한 실시양태 및 최적의 특징에 의해 특히 개시하였지만, 본원에 개시된 개념의 변형 및 변화는 당업자에 의해 사용될 수 있고, 이러한 변경 및 변화는 첨부된 청구의 범위에 의해 한정된 본 발명의 범주에 속하는 것으로 간주됨은 물론이다.

도면

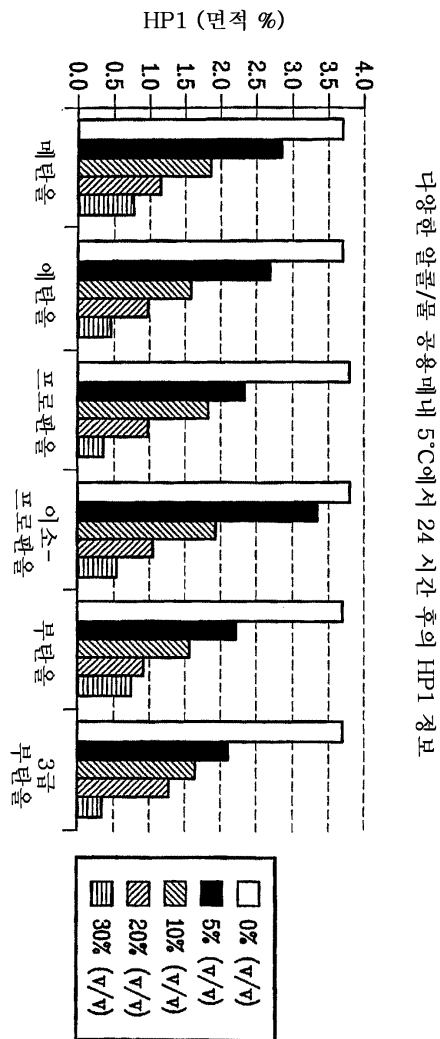
도면1



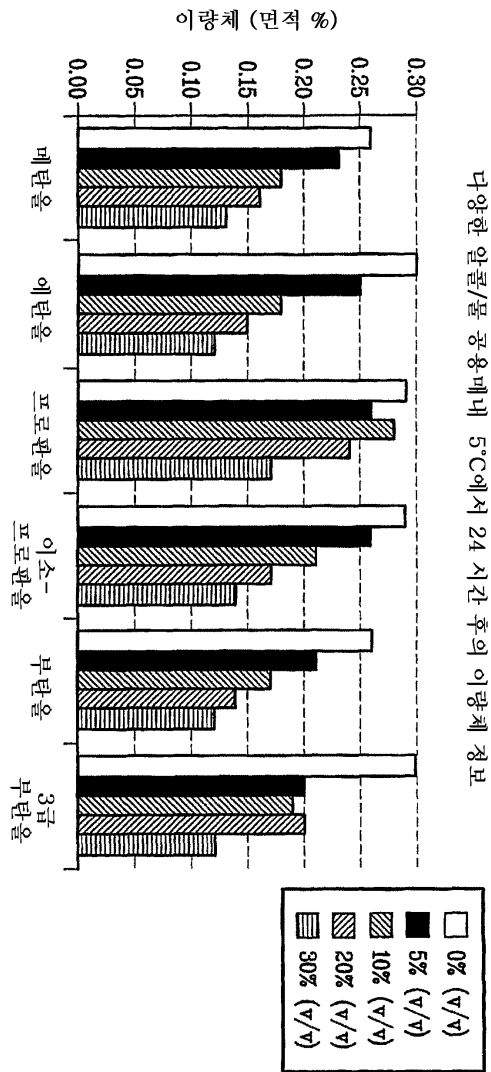
도면2



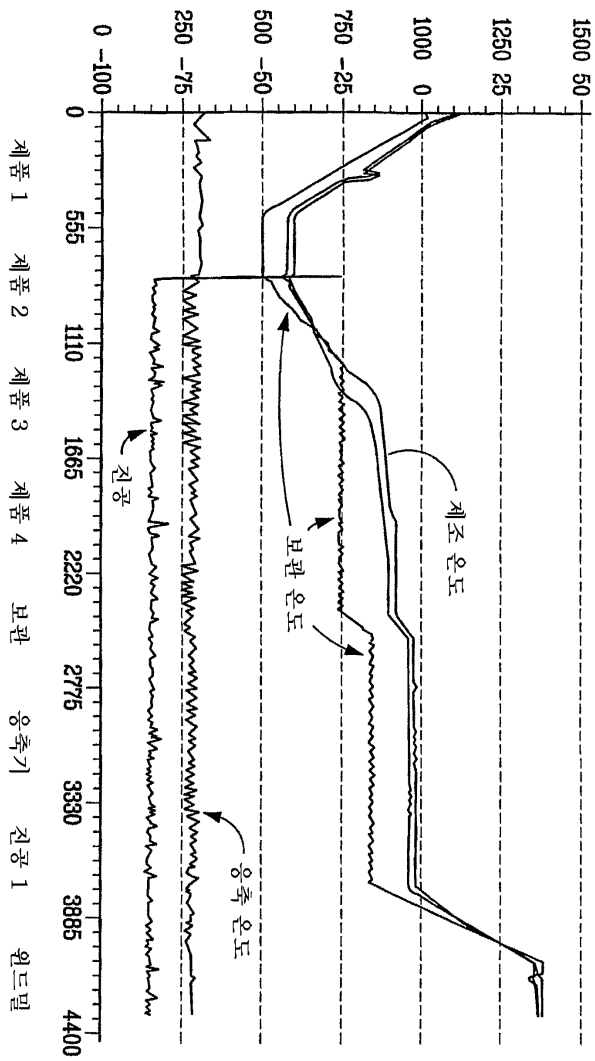
도면3



도면4



도면5



도면6

