



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년10월12일
(11) 등록번호 10-2310697
(24) 등록일자 2021년10월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2006.01) A61K 31/475 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/1272 (2013.01)
A61K 31/475 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7034162(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년11월20일
심사청구일자 2020년12월23일
- (85) 번역문제출일자 2020년11월26일
- (65) 공개번호 10-2020-0136060
- (43) 공개일자 2020년12월04일
- (62) 원출원 특허 10-2015-7014525
원출원일자(국제) 2013년11월20일
심사청구일자 2018년10월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/071096
- (87) 국제공개번호 WO 2014/081887
국제공개일자 2014년05월30일
- (30) 우선권주장
61/728,378 2012년11월20일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
W02000059473 A1

- (73) 특허권자
스펙트럼 파마슈티컬즈 인크
미국 캘리포니아 92618 어바인 테크놀로지 드라이브 157
아뷰티스 바이오파마 코포레이션
캐나다 브리티시컬럼비아 브이5제이 5제이8 글렌 라이언 파크웨이 버나비 200-8900
- (72) 발명자
몬트, 윌리엄, 디.
미국 60069 일리노이 링컨셔 패러딩 씨클 4
바보사, 크리스토퍼, 제임스
캐나다 브리티시컬럼비아 브이3제이 4제트8 코퀴틀람 자비스 스트리트 925
웨버, 토마스, 필립
캐나다 브리티시컬럼비아 브이4에이 9엑스4 서리 138에이 스트리트 2128
- (74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 34 항

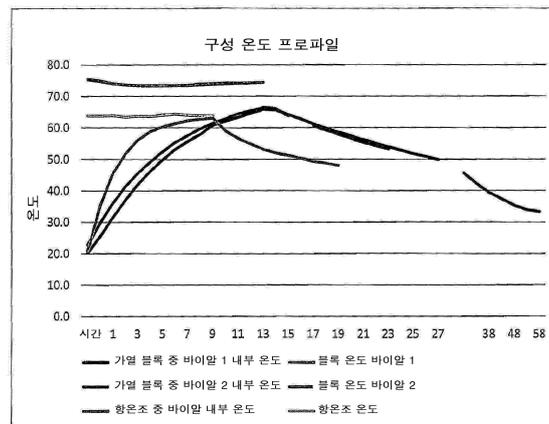
심사관 : 한정희

(54) 발명의 명칭 치료적 사용을 위한 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 제조하기 위한 개선된 방법

(57) 요약

작업 오차 및 오염 위험이 감소된 정맥내 주사(VSLI)용 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 효율적으로 구성하기 위한 개선된 방법이 개시된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/1278 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

실질적인 분해 생성물을 함유하지 않는 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는, 암을 치료하기 위한 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물로서, 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 다음의 단계:

(a) 단일 바이알에서, (i) 빈크리스틴 설페이트를 1mg/ml 내지 5mg/ml의 농도로 포함하고, pH 3.5 내지 5.5를 갖는 제1 용액; 및 (ii) pH가 4인 스팅고미엘린 및 콜레스테롤 리포솜을 포함하는 제2 용액을 구성하는 단계;

(b) 상기 단일 바이알 중의 상기 용액의 pH를 pH 7.0 내지 7.5로 상승시키는 단계;

(c) 상기 용액을 포함하는 상기 단일 바이알을 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 평형화된 건조 가열 블록에서 적어도 13 내지 18분 동안 가열하는 단계로서, 상기 가열 블록은 구성된 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 용액을 생성하기 위해 상기 단일 바이알의 평균 길이 또는 직경보다 1 내지 5% 더 큰 하나 이상의 구멍을 포함하는 단계;

(d) 구성된 용액을 실온으로 평형화시키는 단계; 및

(e) 환자에 대해 1.5 내지 $2.4\text{mg}/\text{m}^2$ 의 용량의 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 구성된 용액의 용적을 정맥내 투여에 적합한 약제학적 희석제로 희석하여 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물을 생성하는 단계를 포함하는 방법에 의해 제조되고,

리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 구성된 용액은 다음의 분해 생성물을 포함하는 것인 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물:

(i) 2.5 부피% 미만의 유리 빈크리스틴; 및

(ii) 1.5 부피% 미만의 N-데스포르밀빈크리스틴.

청구항 2

제1항에 있어서, 빈크리스틴 설페이트를 포함하는 상기 제1 용액이 4.5 내지 4.7의 pH를 갖는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제1 용액이 추가로 만니톨을 100 내지 200mg/ml의 농도로 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제2 용액이 추가로 시트레이트 완충제를 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액의 pH를 pH 9.0의 완충제를 포함하는 제3 용액을 첨가하여 상승시키는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 제3 용액이 인산나트륨 완충제를 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액이 빈크리스틴 설페이트 대 지질을 0.1/1.0 내지 0.2/2.0의 농도비로 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액 중의 빈크리스틴 설페이트의 농도가 0.1mg/mL 내지 0.5mg/mL인 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액 중의 빈크리스틴 설페이트의 농도가 0.15mg/mL 내지 0.2mg/mL인 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액 중의 빈크리스틴 설페이트의 농도가 0.16mg/mL인, 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 11

제6항에 있어서, 상기 제1 용액이 4.5mg/5mL의 빈크리스틴 유리 염기와 등가인 빈크리스틴 설페이트 USP(5mg/5mL) 및 500mg/5mL의 만니톨을 포함하고, 상기 제2 용액이 73.5mg/mL의 스펡고미엘린, 29.5mg/mL의 콜레스테롤, 33.6mg/mL의 시트르산, 35.4mg/mL의 나트륨 시트레이트로 구성되는 스펡고미엘린 및 콜레스테롤 리포솜을 포함하고, 또한 상기 제3 용액이 355mg/25mL의 이염기성 인산나트륨 및 225mg/25mL의 염화나트륨을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포솜 중의 스펡고미엘린 대 콜레스테롤의 비가 75/25 mol%/mol% 스펡고미엘린 대 콜레스테롤 내지 30/50 mol%/mol% 스펡고미엘린 대 콜레스테롤인 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포솜이 70/30 mol%/mol% 스펡고미엘린 대 콜레스테롤 내지 40/45 mol%/mol% 스펡고미엘린 대 콜레스테롤을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포솜이 55/45 mol%/mol% 스펡고미엘린 대 콜레스테롤을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 리포솜이 60/40 mol%/mol% 스펡고미엘린 대 콜레스테롤을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포솜이 0.05 내지 0.5미크론의 크기 범위를 갖는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 17

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포솜이 50 내지 200nm의 평균 직경을 갖는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 리포솜이 90 내지 125nm의 평균 직경을 갖는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 19

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액이 20 내지 50mL의 용적을 갖는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 용액이 30 내지 35mL의 용적을 갖는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 21

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 가열 블록이 15분 동안 $75\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 평형화되는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 22

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액을 $75\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 평형화된 드라이-블록의 구경 구멍 내에서 13 내지 15분 동안 가열시키는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 23

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액을 $75\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 평형화된 드라이-블록의 구경 구멍 내에서 14분 \pm 30초 동안 가열시키는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 24

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 가열 블록 중의 구멍이 상기 용액을 함유하는 상기 단일 바이알의 평균 길이 또는 직경보다 3% 미만 더 큰 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 25

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 용액을 함유하는 상기 단일 바이알이 35.8 내지 37.3mm의 직경을 갖는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 가열 블록 중의 구경 구멍이 직경 37.2 내지 37.8mm의 직경을 갖는 원통형인 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 27

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 구성된 용액이 적어도 30분 동안 실온으로 평형화되는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 28

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 환자에게 투여되며, 상기 환자에 대해 리포솜 캡슐화 빈크리스틴의 용량 1.5 내지 $2.4\text{mg}/\text{m}^2$ 를 포함하는 상기 구성된 용액의 용적을 정맥내 투여에 적합한 표준 약제학적 희석제로 희석하여 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물을 생성하는, 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서, 환자 계산된 용량의 용적을 주입 용기로부터 제거하고, 빈크리스틴 설페이트 리포솜 주사제 (VSLI) 용액의 계산된 용적으로 치환하는, 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물이 단계 (c) 후 24시간 이내에 상기 환자에게 투여되는, 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 31

제29항에 있어서, 암이 림프종, 백혈병, 골수종, 뇌암 및 신경아세포종으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물이 30 내지 60분의 기간 동안 정맥내 주입으로 투여되는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 33

제32항에 있어서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물이 7 내지 28일마다 한번 정맥내 주입으로 투여되는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 34

제32항에 있어서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물이 7일 마다 한번 정맥내 주입으로 투여되는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물.

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본원은 전문이 본원에 참조로 인용된, 2012년 11월 20일자로 출원된 "치료적 사용을 위한 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 제조하기 위한 개선된 방법"이란 표제의 미국 임시출원 제61/728378호에 대해 우선권을 주장한다.

배경 기술

[0003] 리포솜은 비캡슐화 형태에 비해 약물의 혈장 분포 및 약물동태를 개선시킴으로써 치료학적 활성 약물의 효능을 향상시킬 수 있는 익히 확립된 나노입자이다(참조: 예를 들면, Weinstein, Liposomes: From Biophysics to Therapeutics, (Ostro, M. J., ed.), Marcel Dekker, Inc., N.Y., pp. 277-338, (1987)). 예를 들면, 빈크리스틴 설페이트 리포솜 주사제(VSLI)는 표준 빈크리스틴 설페이트 주사제 USP(VSI)보다 큰 효능을 제공하는 스펡고미엘린-콜레스테롤 리포솜에 캡슐화된 항암 치료 빈크리스틴 설페이트의 리포솜 제형이다. 임상 시험은 또한 VSLI가 비캡슐화된 빈크리스틴에 비해 빈크리스틴 순환 반감기를 상당히 연장시킴으로써 용량 증대를 촉진시킨다는 것을 나타내고 있다. 리포솜은 지연된 약물 방출을 위한 메카니즘을 제공하고, 리포솜 크기는 약물이 분출에 의해 암 조직에 축적되도록 한다(참조: Webb et al., Cancer Chemother. Pharmacol 42:461-470, 1998; Shan et al, Cancer Chemother. Pharmacol 58:245-255, 2006). 이러한 특성은 표준 VSI에 대한 개선된 임상적 이점으로 해석된다.

[0004] 빈크리스틴 설페이트의 스펡고미엘린-콜레스테롤 리포솜으로의 캡슐화는 산성 리포솜내 pH(예: pH 4) 및 중성 pH(예: pH 7)에서 외부 매체를 사용함으로써 전형적으로 달성된다. 이 pH 구배는 약 염기성 빈크리스틴이 고효율로 리포솜 내부로 확산하는 것을 가능하게 한다(참조: Cullis et al., Trends in Biotech 9: 268-272, 1991; Boman et al, Bioch Biophys Acta, 1152:253-258, 1993). 빈크리스틴이 막관통 pH 구배로 리포솜 내부에 축적되도록 하기 위해, 리포솜 막은 빈크리스틴의 입체적 벌크에 일시적으로 투과성으로 되어야 한다. 따라서, 흔히 리포솜에 수동적으로 캡슐화될 수 있는 중성 또는 음이온성 약물과 달리, 스펡고미엘린-콜레스테롤 리포솜의 온도는 막관통 pH 구배가 빈크리스틴으로 기능하도록 하기 위해 증가시켜야 한다. 스펡고미엘린 및 콜레스테롤 분자의 연동 배향인 리포솜 이중층은 열방성 무질서 전이 상태를 생성하기 위해 독특한 일시적 가열 패턴을 필

으로 한다. 이러한 전이 상태는 본질적으로 막 지질 사이의 약한 분자간 결합을 완화시켜 연동 지질에 갭을 생성하고, 리포솜 이중층이 일시적으로 투과성이 되도록 한다. 캡슐화 공정은 막의 완전성을 복원하는 주위 온도로 되돌아가는 냉각시 발생하는 스핑고미엘린-콜레스테롤 지질의 자발적 자기 재조립을 이용한다.

[0005] 이러한 약물 캡슐화용 가열 프로파일은 열 노출에 대한 빈크리스틴의 화학적 불안정성으로 균형을 잡아야 한다 (참조: Vendrig et al., Internatl. J. of Pharmaceutics 50: 189-196, 1989; Sethi et al, Cancer Res. 45:5386-5389, 1985). 빈크리스틴은 열적으로 불안정하고, 승온의 존재하에 용이하게 N-테스포르밀빈크리스틴으로 분해한다. 이러한 빈크리스틴의 포름아미드 가수분해는 익히 공지된 분해 경로이고, 빈크리스틴 설페이트 주사제(VLSI)의 안정성 자체 수명에 영향을 미친다. 예를 들면, VLSI 용액은 이러한 열 불안정성에 기인하여 가열 멸균화될 수 없고, 확장된 안정성을 실현하기 위해 냉장 온도에서 저장하고 선적해야 한다.

[0006] 따라서, 현시점에서 빈크리스틴 설페이트 리포솜 주사제(VLSI)는 FDA 승인된 라벨 상에 제공된 지시에 따라 약학에서 개별 성분으로부터 제조된다(www.accessdata.fda.gov; Reference ID: 3172211, 2012). 이러한 지시는 스핑고미엘린-콜레스테롤 리포솜에 빈크리스틴의 효율적 캡슐화를 달성하고 빈크리스틴의 화학적 순도를 유지시키기 위해 항온조(water bath)의 사용을 필요로 하는 가열 절차를 포함한다. 물의 우수한 열 전달 특성은 약물의 분명한 화학적 분해 없이 빈크리스틴의 95% 초과 캡슐화를 가능하게 한다.

[0007] VLSI는 주사가능한 약물이기 때문에, 성분 및 약학 제제의 제조는 멸균성을 유지시키기 위해 엄격하게 통제된다. 따라서, VLSI의 제조 동안 개방 항온조의 사용은 무균 환경을 유지시키기 위해 추가의 자원, 계획, 및 무균 후드 또는 "청정"실을 포함하는 장비(예: 유동 링)를 필요로 한다. 일부 약학에서, VLSI의 구성은 무균 환경을 유지시키는 데에 대한 제한 때문에 수행할 수 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서, 현재 필요한 추가의 자원 및 장비 없이 효율적이고 재현가능하게 수행될 수 있는 VLSI를 제조하기 위한 개선된 방법의 필요성이 존재한다.

과제의 해결 수단

[0009] 발명의 요약

[0010] 본 발명은, 적어도 부분적으로, 캡슐화 공정 동안 가열된 항온조 사용의 필요성을 회피하는 VLSI의 제조방법의 개발에 기초한다. 따라서, 본 발명은 기대치 않은 용이함과 감소된 오염 위험성으로 널리 사용될 수 있는 효율적인 재현가능한 VLSI의 제조방법을 제공한다.

[0011] 하나의 양상에서, 본 발명은 실질적인 분해 생성물을 함유하지 않는 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물의 제조방법으로서, 당해 방법은 (a) 단일 바이알에서, (i) 빈크리스틴 설페이트를 약 1mg/ml 내지 약 5mg/ml의 농도로 포함하고, pH 약 3.5 내지 약 5.5를 갖는 제1 용액; 및 (ii) 낮은 pH의 스핑고미엘린/콜레스테롤 리포솜을 포함하는 제2 용액을 구성하는 단계; (b) 단일 바이알 중의 구성 용액의 pH를 pH 약 7.0 내지 7.5로 상승시키는 단계; (c) 구성 용액을 포함하는 단일 바이알을 약 75°C에서 평형화된 건조 가열 블록에서 적어도 약 13 내지 약 18분 동안 가열하는 단계로서, 상기 가열 블록은 구성된 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 용액을 생성하기 위해 단일 바이알의 평균 길이 또는 직경보다 약 1 내지 5% 더 큰 하나 이상의 구멍을 포함하는 단계; (d) 구성 용액을 실온으로 평형화시키는 단계; (e) 환자를 위한 리포솜 캡슐화 빈크리스틴의 용량 약 1.5 내지 약 2.4mg/m²를 포함하는 구성 용액의 용적을 정맥내 투여에 적합한 약제학적 희석제로 희석하여 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물을 생성하는 단계; (f) 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하고, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 구성 용액은 (i) 약 2.5% 미만의 유리 빈크리스틴 및 (ii) 약 1.5% 미만의 N-테스포르밀빈크리스틴을 포함한다.

[0012] 일부 구현예에서, 빈크리스틴 설페이트를 포함하는 제1 용액은 약 4.5 내지 약 4.7의 pH를 갖는다. 하나의 구현예에서, 제1 용액은 추가로 만니톨을 약 100 내지 200mg/ml의 농도로 포함한다.

[0013] 일부 구현예에서, 리포솜을 포함하는 제2 용액의 pH는 약 4.0이다. 하나의 구현예에서, 제2 용액은 추가로 시트레이트 완충제를 포함한다.

[0014] 일부 구현예에서, 구성 용액의 pH는 pH 약 9.0의 완충제를 포함하는 제3 용액을 첨가하여 상승시킨다. 하나의

구현예에서, 제3 용액은 인산나트륨 완충제를 포함한다.

- [0015] 일부 구현예에서, 구성 용액은 빈크리스틴 설페이트 대 지질을 약 0.1/1.0 내지 약 0.2/2.0의 농도비로 포함한다.
- [0016] 일부 구현예에서, 구성 용액 중의 빈크리스틴 설페이트의 농도는 약 0.1mg/mL 내지 약 0.5mg/mL이다. 일부 구현예에서, 구성 용액 중의 빈크리스틴 설페이트의 농도는 약 0.15mg/mL 내지 약 0.2mg/mL이다. 하나의 구현예에서, 구성 용액 중의 빈크리스틴 설페이트의 농도는 약 0.16mg/mL이다.
- [0017] 하나의 구현예에서, 제1 용액은 4.5mg/5mL 빈크리스틴 유리 염기와 등가인 빈크리스틴 설페이트 USP(5mg/5mL), 및 500mg/5mL 만니톨을 포함하고, 제2 용액은 73.5mg/mL 스펅고미엘린, 29.5mg/mL 콜레스테롤, 33.6mg/mL 시트르산, 35.4mg/mL 나트륨 시트레이트로 구성되는 스펅고미엘린/콜레스테롤 리포솜을 포함하고, 제3 용액은 355mg/25mL 이염기성 인산나트륨 및 225mg/25mL 염화나트륨을 포함한다.
- [0018] 일부 구현예에서, 리포솜 중의 스펅고미엘린 대 콜레스테롤의 비는 약 75/25 mol%/mol 스펅고미엘린/콜레스테롤 내지 30/50 mol%/mol 스펅고미엘린/콜레스테롤이다. 일부 구현예에서, 리포솜은 약 70/30 mol%/mol 스펅고미엘린/콜레스테롤 내지 40/45 mol%/mol 스펅고미엘린/콜레스테롤을 포함한다. 하나의 구현예에서, 리포솜은 약 55/45 mol%/mol 스펅고미엘린/콜레스테롤을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 리포솜은 약 60/40 mol%/mol 스펅고미엘린/콜레스테롤을 포함한다.
- [0019] 일부 구현예에서, 리포솜은 약 0.05 내지 0.5미크론의 크기 범위를 갖는다. 일부 구현예에서, 리포솜은 약 50 내지 200nm의 평균 직경을 갖는다. 하나의 구현예에서, 리포솜은 약 90 내지 125nm의 평균 직경을 갖는다.
- [0020] 일부 구현예에서, 구성 용액은 약 20 내지 50mL의 용적을 갖는다. 일부 구현예에서, 구성 용액은 약 30 내지 35mL의 용적을 갖는다.
- [0021] 일부 구현예에서, 가열 블록은 구성 용액을 함유하는 바이알의 삽입 이전에 약 15분 동안 75±2°C로 평형화된다. 일부 구현예에서, 구성 용액은 75±2°C에서 평형화된 드라이-블록의 구경 구멍 내에서 약 13 내지 15분 동안 가열한다. 하나의 구현예에서, 구성 용액은 75±2°C에서 평형화된 드라이-블록의 구경 구멍 내에서 약 14분 ± 30초 동안 가열한다.
- [0022] 일부 구현예에서, 가열 블록 중의 구멍은 구성 용액을 함유하는 단일 바이알의 평균 길이 또는 직경보다 약 3% 미만 더 크다. 일부 구현예에서, 구성 용액을 함유하는 단일 바이알의 직경은 약 35.8 내지 약 37.3mm이고, 가열 블록 중의 구경 구멍은 직경 37.2 내지 37.8mm의 직경을 갖는 원통형이다.
- [0023] 일부 구현예에서, 구성 용액은 적어도 약 30분 동안 실온으로 평형화된다.
- [0024] 일부 구현예에서, 환자를 위한 리포솜 캡슐화 빈크리스틴의 용량 약 1.5 내지 약 2.4mg/m²를 포함하는 구성 용액의 용적을 정맥내 투여에 적합한 표준 약제학적 희석제로 희석하여 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물을 생성한다. 일부 구현예에서, 환자 계산된 용량의 용적을 주입 용기로부터 제거하고, 구성된 VSLI 용액의 계산된 용적으로 환산한다.
- [0025] 일부 구현예에서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 구성 후 24시간 이하 이내에 환자에게 투여한다.
- [0026] 본 발명의 방법에 따라 생성된 VSLI는 전형적으로 암 환자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 암은 림프종, 백혈병, 골수종, 뇌암 또는 신경아세포종이다.
- [0027] 일부 구현예에서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 약 30 내지 60분의 기간 동안 정맥내 주입으로 투여된다. 일부 구현예에서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 7 내지 28일마다 한번 정맥내 주입으로 투여된다. 하나의 구현예에서, 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 7일 마다 한번 정맥내 주입으로 투여된다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은 건조 블록 및 항온조를 사용하여 빈크리스틴 설페이트 및 스펅고미엘린/콜레스테롤 리포솜을 함유하는 구성 용액의 내부 가열 프로파일을 묘사하는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 상세한 설명
- [0030] 본 발명은 현재 사용된 VLSI의 제조방법 동안 항온조의 사용과 관련된 결점을 극복한다. 놀랍게도, VLSI를 구성하기 위해 사용된 용기에 적합하도록 설계된 주문 설계된 삽입물(insert)을 구비한 가열 블록의 사용이 상당한 분해 없이 빈크리스틴의 균일한 캡슐화를 달성하기 위해 필요한 가열 프로파일을 제공한다는 것이 발견되었다.
- [0031] 또한, 본원에 기재된 VLSI의 제조방법이 매개변수기반 출하(parametric release)를 입증하는 능력을 상당히 개선한다. VLSI의 안정성은 "적시생산 방식(just in time)" 제조를 보증하기 때문에, 구성 공정은 약제사에 의해 매우 효율적이고 재현가능해야 한다. 약제사는, "약품이 구성 공정 동안 수집된 정보의 검토 및 매개변수기반 출하에 관련된 특정 GMP 요건의 준수에 기초하는 의도된 품질의 것이라는 보증을 제공하는 출하 시스템"(부록 17 EU 지침)을 제공하기 때문에, 캡슐화가 열 유도된 공정에 의해 달성되었음을 (즉, 매개변수적으로) 알아야 할 필요가 있다.
- [0032] 본 발명의 가열 블록 절차는 95% 초과 캡슐화 효율로 VLSI의 구성을 달성하는 편리하고 호환적인 공정을 제공한다. 이는 보다 적은 단계를 포함하기 때문에, 작업 오차의 확률은 감소한다. 공정은 전반적으로 보다 직접적이고, 보다 적은 시간이 소요되고, 보다 적은 자원을 사용하고, 일상적인 약학 작업에 편리하다. 추가로, VLSI를 제조하는 개인은 항온조 또는 가열된 항온조로부터의 수증기에서 성장하는 미생물로부터 잠재적인 미생물 오염을 처리할 필요는 없다.
- [0034] 정의
- [0035] 구체적으로 다르게 지시되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 치료 및 의약 과학 분야의 숙련가에 의해 일반적으로 이해되는 표준 정의를 갖는다.
- [0036] 단수 형태 "단일" 또는 "하나"("a" "an" 및 "the")는 문맥이 명백하게 다르게 지시하지 않는 한, 복수의 지시내 용을 포함한다.
- [0037] 용어 "포함한다" 및 "포함하는"은 추가의 요소가 포함될 수 있음을 의미하는 포괄적인 개방 의미로 사용된다.
- [0038] 용어 "약"은 특히 지시된 양 또는 수와 관련하여, $\pm 5\%$ 의 편차를 포함하는 것을 의미한다.
- [0039] 본원에 사용된 "무균" 조성물 또는 용기는 USP 무균 시험을 사용하여 측정된 바와 같이 생균을 함유하지 않는다 (참조: "The United States Pharmacopeial Convention: 2008).
- [0040] "리포솜", "소포" 및 "리포솜 소포"는 수성 내부를 봉입하는 지질 함유 막을 갖는 구조물을 나타내는 것으로 이해된다. 구조물은, 일반적으로 리포솜이 단지 하나의 막을 갖지만, 다르게 기술되지 않는 한 하나 이상의 지질 막을 가질 수 있다. 이러한 단일층 리포솜은 본원에서 "단층"으로서 지칭된다. 다층 리포솜은 본원에서 "다중층"으로서 지칭된다.
- [0041] "표준" 치료제, 또는 "유리" 치료제는 리포솜 캡슐화되지 않은 치료제를 의미한다. 일반적으로, 약물은 다르게 구체화되지 않는 한 "표준" 또는 "유리"인 것으로 추정된다. 그러나, 유리 형태의 표준 빈카 알칼로이드는 다른 시약, 예를 들면, 기타 화학요법 화합물, 약제학적 담체 또는 착화제와 함께 조합하여 여전히 존재할 수 있고, 즉 본원에 사용된 바와 같은 용어는 단지 구체적으로 빈카 알칼로이드의 지질 제형을 제외한다.
- [0042] "적시생산 방식"이란 어구는 약품의 품질을 유지시키기 위해(예: 분해를 최소화하기 위해) 환자에게 투여 직전(예: 24시간 이하 내)에 약품(예: VLSI)의 개별 성분을 배합함을 의미한다.
- [0043] 본원에 사용된 "전신 전달"은 유기체 내에 화합물의 광범위한 생체분포를 유도하는 전달을 의미한다. 전신 전달은 화합물의 유효한, 바람직하게는 치료학적 양이 신체의 대부분에 노출된다는 것을 의미한다. 광범위한 생체분포를 획득하기 위해, 일반적으로 질환 부위에 도달하기 전에 화합물이 신속하게 분해되거나 제거되지 않도록(예를 들면, 최초 통과 기관(간, 폐 등)에 의해 또는 신속한 비특이적 세포 결합에 의해) 하는 도입 경로를 필요로 한다. 리포솜 캡슐화 빈카 알칼로이드의 전신 전달은 정맥내 전달로 바람직하게는 획득된다.
- [0044] "치료학적 유효량"이란 어구는 포유동물에서 질환 또는 장애(예: 암)를 치료하기에 유효한, 예를 들면, 안정한 질환, 암 상태의 부분적 관해 또는 완전 관해를 유도하는 약물(예: VLSI)의 양을 의미한다.
- [0045] 본원에 사용된 "안정한 질환"은, 암의 크기 또는 유병률의 관해 또는 감소가 존재하지 않지만, 약물(예: VLSI)

의 투여가 표준 임상적, 방사선학 및/또는 생화학적 수단에 의해 측정된 종양 또는 암의 증식 또는 유병률의 정지를 유발하는 상태를 의미한다.

[0046] "부분적 반응" 또는 "부분적 관해"는 치료에 반응하여 표준 임상적, 방사선학 및/또는 생화학적 수단에 의해 측정된 암 상태의 경감을 의미한다. 전형적으로, "부분적 반응"은 종양의 크기 또는 암 표시 혈액 마커의 수준이 치료에 반응하여 기준선 수준(예: 20%, 30%, 40% 또는 50%)으로부터 감소됨을 의미한다. 예를 들면, 혈액암의 치료를 위해, 반응은 국제 노동 그룹 기준(International Working Group (IWS) criteria; BD Cheson et al, J Clin Oncol 15:4642-4649)에 기초하여 평가한다.

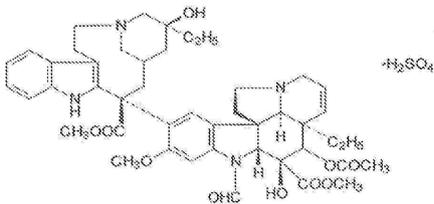
[0047] "완전한 반응" 또는 "완전한 관해"는, 예를 들면, 종양 크기 및/또는 암 마커 수준에 의해 측정된 바와 같이, 암 상태가 치료 후 검출불가능하다는 것을 의미한다.

[0048] "신경학적 독성"은 치료 전 및 치료 동안 모두 신경병증의 증후, 예를 들면, 지각감퇴, 지각과민, 감각 이상, 반사 감퇴, 무반사증, 신경통, 턱 통증, 감소된 진동 감각, 두개골 신경병증, 장폐색증, 작열감, 관절통, 근육통, 근육 경련, 허약함 및/또는 기립성 저혈압을 포함한다. 기립성 저혈압이 발생할 수 있다. 신경학적 독성은 유해사상(CTCAE) 버전 4.03 (<http://ctep.cancer.gov/reporting/etc.html>)에 대한 국립 암 연구소(NCI) 공통 용어 기준에 기초하여 등급 1 내지 등급 3인 것으로 평가된다.

[0050] 빈크리스틴 설페이트

[0051] 빈크리스틴 설페이트는 원래 식용고등 식물(카타란투스 로세우스(*Catharanthus roseus*))로부터 단리된 빈카 알칼로이드 부류의 일원이다. 빈크리스틴 설페이트는 세포 주기 특이적인 항암 활성을 갖는다. 빈카 알칼로이드는 튜블린에 결합하여 세포 증식 정지, 세포 유사분열의 억제 및 세포사를 유도하는 튜블린 중합을 변경한다. 세포 주기 특이적 제제로서, 이의 치료 반응은 확장된 약물 수준을 유지시키는 리포솜 캡슐화에 의해 촉진된다. 세포의 빈크리스틴 (및 기타 세포 주기 특이적 약물)에의 연장 노출은 약물의 시험관내 세포독성을 향상시키는 것으로 나타나고 있다(참조: Bfurriss et al, JNCI 84; 1816-1826, 1992; Georgiadis et al, Clin Cancer Res 3:449-454, 1997; Jackson and Bender, Cancer Res 39:4346-4349, 1979).

[0052] 빈크리스틴 설페이트는 일반적으로 1:1 설페이트 염으로서 단리된다. 이는 물에 가용성인 흡습성의 백색 내지 담황색 결정성 분말이다. 이는 분자량 923.04(염 형태)/824.98(염기 형태) 및 분자식 $C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$ 를 갖는다. 빈크리스틴 설페이트의 화학명은 22-옥소빈카리코블라스틴이고, 이는 다음 화학 구조식을 갖는다:



[0053]

[0054] 빈크리스틴 설페이트는 빈크리스틴 설페이트 주사제 USP로서(예: 1mg/mL 용액으로서) 규정되고, 또한 류코크리스틴 설페이트, 큐크리스틴, 빈코시드, 빈크렉스, 온코빈, 빈카사르 PPS^R로서 공지되고, 임의의 다수 공급원으로부터 시판되고 있다.

[0056] 리포솜

[0057] 본 발명의 리포솜 담체 성분은 스펡고미엘린 및 콜레스테롤 리포솜 주사제(SCLI)로 구성되어 있다. 리포솜 중에 존재하는 스펡고미엘린 대 콜레스테롤의 비율은 가변적일 수 있지만, 일반적으로 75/25 mol%/mol 스펡고미엘린/콜레스테롤 내지 30/50 mol% mol% 스펡고미엘린/콜레스테롤의 범위이다. 하나의 구현예에서, 리포솜 조성물은 약 70/30 mol% mol% 스펡고미엘린/콜레스테롤 내지 40/45 mol% mol% 스펡고미엘린/콜레스테롤을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 리포솜 조성물은 약 55/45 mol% mol% 스펡고미엘린/콜레스테롤을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 리포솜 조성물은 약 60/40 mol% mol% 스펡고미엘린/콜레스테롤을 포함한다.

[0058] 특정 구현예에서, 추가의 지질이, 예를 들면, 지질 산화를 억제하거나 리간드를 리포솜 표면에 부착시키기 위해, 제형에 존재할 수 있다. 일반적으로, 기타 지질의 포함은 스펡고미엘린/콜레스테롤 비의 감소를 유도한다.

[0059] 본 발명에 사용된 스펡고미엘린/콜레스테롤 리포솜은 다중층 또는 단층일 수 있다. 리포솜을 제조하기에 적합

한 방법은 초음파 처리, 압출, 고압/균질화, 미세유동화, 세제 투석, 작은 리포솜 소포의 칼슘 유도 융합, 박막 증발 및 에테르 주입 방법을 포함하지만, 이에 국한되지 않고, 이들 모두가 당해 기술 분야에 익히 공지되어 있다. 예를 들면, 모두 본원에 참조로 인용된, 문헌[참조: Szoka, et al, Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9:467 (1980), 미국 특허 제4,186,183호, 제4,217,344호, 제4,235,871호, 제4,261,975호, 제4,485,054호, 제4,501,728호, 제4,774,085호, 제4,837,028호, 제4,946,787호, 제5,543,152호, 제6,723,338호, WO 제91/17424호, Deamer and Bangham, Biochim. Biophys. Acta, 443:629 634 (1976); Fraley, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:3348 3352 (1979); Hope, et al, Biochim. Biophys. Acta, 812:55 65 (1985); Mayer, et al, Biochim. Biophys. Acta, 858: 161 168 (1986); Williams, et al, Proc. Natl. Acad. Sci., 85:242 246 (1988), the text Liposomes, Marc J. Ostro, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1983, Chapter 1, and Hope, et al, Chem. Phys. Lip., 40:89 (1986)]에 기재된 각종 방법이 리포솜을 제조하기 위해 이용가능하다.

[0060] 리포솜 제조에 이어서, 리포솜을 당해 기술 분야(예: US 제6,723,338호 참조)에 익히 공지된 표준 방법을 사용하여 목적하는 입자 크기 범위를 달성하기 위해 치수화할 수 있다. 전형적으로, 본원에 기재된 VSLI 제제에 사용될 수 있는 리포솜은 약 0.05 내지 0.5미크론(50 내지 500nm), 0.2 내지 0.4미크론(200 내지 400nm), 약 0.1 내지 0.4미크론(100 내지 400nm), 약 0.05 내지 0.2(50 내지 200nm) 또는 약 0.5(500nm) 내지 약 0.15미크론(150nm)의 크기 범위를 갖는다. 특정 구현예에서, 리포솜은 약 50nm, 약 60nm, 약 70nm, 약 80nm, 약 90nm, 약 100nm, 약 105nm, 약 110nm, 약 115nm, 약 120nm, 약 130nm, 약 140nm, 약 150nm, 약 160nm, 170nm, 약 180nm, 약 190nm 또는 약 200nm의 평균 입자 직경을 갖는 입자 크기를 갖는다. 하나의 구현예에서, 평균 입자 크기는 90 내지 125nm이고, 바람직한 평균 입자 크기는 약 107.5nm이고, 이 때, 25%의 입자 크기 분포가 70nm 이상이고, 90%의 분포가 170nm 이하의 입자 크기를 갖는다.

[0061] 스펅고미엘린/콜레스테롤 리포솜은 본원에 기재된 VSLI 제제에 사용된 리포솜 성분으로서 기능하고, 리포솜 내부가 낮은 pH를 갖도록 제조된다. 구성 공정 동안, 낮은 pH를 갖는 VSI 및 낮은 pH를 갖는 SPLI는 높은 pH의 완충제로 희석시키고, 이에 의해 외부 VSLI 용액의 최종 pH는 거의 생리학적으로 중성이다. 그 결과, pH가 외부 주위 용액보다 리포솜의 내부 코어에서 더 낮은 지질 막을 교차하여 pH 구배가 생성된다. 이러한 구배는 공지된 방법(예: US 제6,723,338호)에 따라서 달성된다. 예를 들면, 구배는 pH 약 2 내지 약 6, pH 약 3 내지 약 5의 완충제의 존재하에 제형화한 다음, 후속적으로 리포솜을 더 높은 pH, 예를 들면, 약 7.0 내지 약 7.5로 이동시킴으로써 달성될 수 있다. 하나의 구현예에서, 리포솜은 약 4.0의 내부 pH를 갖는다. 많은 수의 희석 완충제가, 예를 들면, 인산나트륨이 사용될 수 있다. 하나의 구현예에서, 완충제는, VSI 및 SPLI와 혼합될 때 최종 희석된 외부 리포솜 용액이 생리학적 중성 pH를 가질 수 있도록 pH 8 내지 10, 바람직하게는 9.0을 갖는다.

[0062] 본원에 기재된 방법에 따라서 VSLI의 제조에 사용하기 전에, SPLI 리포솜은 환자에게 투여하기 위한 VSLI의 약물 캡슐화 및 구성 전에 상당한 시간 동안 냉장 상태로 저장할 수 있다. 또는, 리포솜은 탈수하고, 저장한 다음, 익히 공지된 방법(참조: 예를 들면, US 특허 제5,077,056호 또는 제5,736,155호)에 따라서 사용 전에 재수화시킬 수 있다.

[0064] VSLI 제조

[0065] VSLI는, 예를 들면, 무균 주사가 가능한 제형 및 위험한 약물을 제조하기 위한 확립된 약학 안전성 절차에 의해 또는 생물학적 안전성 캐비닛에서 엄격한 무균 기술을 사용하여 제조한다. 항암 약물의 취급 및 처분 절차는 엄격하게 준수되어야 한다(참조: NIOSH Alert: Preventing occupational exposure to antineoplastic and other hazardous drugs in healthcare settings. 2004. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH) Publication No. 2004-16; OSHA Technical Manual, TED 1-0.15 A, Section VI: Chapter 2. Controlling Occupational Exposure to Hazardous Drugs. OSHA, 1999; American Society of Health-System Pharmacists. ASHP guidelines on handling hazardous drugs. Am J Health-Syst Pharm. (2006) 63: 1172-1193; Polovich M, White JM, Kelleher LO (eds.) 2005. Chemotherapy and biotherapy guidelines and recommendations for practice (2nd. ed.) Pittsburgh, PA: Oncology Nursing Society).

[0066] 구성된 VSLI를 제조하는 공정은 다음 일반적 단계를 포함한다:

[0067] · 구성 용액은 무균 용기에서 약 100 내지 약 200mg/mL 만니톨(빈크리스틴 설페이트가 안정하게 잔류하는 기타 약제학적으로 허용가능한 부형제가 또한 사용될 수 있다)을 함유하는 완충제에 약 1mg/mL, 약 2mg/mL 또는 약

5mg/mL를 함유하는 빈크리스틴 설페이트의 제1 용액을 pH 약 3.5 내지 약 5.5 또는 약 4.5 내지 약 4.7에서, 낮은 pH(예: 약 4.0)의 완충제에 현탁된 리포솜의 제2 용액과 적합한 농도비로, 예를 들면, 0.1/1.0 내지 0.2/1.0(빈크리스틴 설페이트 중량 대 지질 중량)으로 혼합함으로써 제조된다.

- [0068] · 이어서, 빈크리스틴 설페이트 및 리포솜을 함유하는 구성 용액의 pH를 약 7.0 내지 약 7.5로 상승시켜 pH 구배를 생성한다. 이는, 예를 들면, 보다 높은 pH(예: 약 9.0)의 완충제(예: 인산나트륨)를 첨가함으로써 달성될 수 있다.
- [0069] · 이어서, 구성 용액을 함유하는 용기의 평균 길이 또는 직경보다 약 5% 미만 더 큰 구경 웰을 함유하는, 약 75°C로 평형화된 건조 가열 블록에서, 구성 용액을 적어도 약 13 내지 약 18분 동안 가열하여 구성된 생성물, VSLI를 생성한다.
- [0070] · 이어서, 구성된 생성물을 포함하는 가열된 구성 용액을 적어도 약 30분, 적어도 약 45분 또는 적어도 약 60분 동안 실온(15°C 내지 30°C)으로 평형화시킨다.
- [0071] · 이어서, 환자에게 투여될 구성된 VSLI의 투여량에 상응하는 구성 용액의 용적을 정맥내 투여에 적합한 용액과 최종 용적 약 100mL로 혼합한다.
- [0072] 일부 구현예에서, 빈크리스틴 설페이트, 리포솜 및 높은 pH 완충제의 용액이 3개의 개별 용기에 제공된다. 특정 구현예에서, 3개의 용액은 용액의 배합 용적, 예를 들면, 약 20 내지 50mL, 약 25 내지 40mL 또는 약 30 내지 35mL를 함유하는 용량을 갖는 하나의 무균 용기로 구성된다.
- [0073] 하나의 구현예에서, 개별 성분은 3개 이상의 바이알을 포함하는 키트로서 제공된다. 바이알 중의 적어도 하나는, 예를 들면, 100 또는 200mg/mL 만니톨(약제학적으로 허용되고, 빈크리스틴이 연장된 기간 동안 안정하게 잔류하는 기타 부형제가 또한 사용될 수 있다)을 함유하고, pH 3.5 내지 5.5, 또는 바람직하게는 pH 4.5 내지 pH 4.7로 조정된 완충제에, 예를 들면, 1mg/mL, 2mg/mL 또는 5mg/mL 빈크리스틴 설페이트를 함유하는 빈크리스틴 용액을 함유한다. 바이알 중의 하나는, 예를 들면, pH 4.0의 300mM 시트레이트 완충제에 현탁된 스펅고미엘린 및 콜레스테롤 리포솜을 포함하는 용액을 함유한다. 또 하나의 바이알 또는 바이알들은 알칼리성 인산염 완충제(예: pH 9.0), 예를 들면, 이염기성 인산나트륨 14.2mg/ml(20ml/바이알)를 함유한다.
- [0074] 하나의 구현예에서, VSLI의 구성 성분은 (i) 4.5mg/5mL 빈크리스틴 유리 염기와 동가인 빈크리스틴 설페이트 USP(5mg/5mL), 및 500mg/5mL 만니톨; (ii) 73.5mg/mL 스펅고미엘린, 29.5mg/mL 콜레스테롤, 33.6mg/mL 시트르산, 35.4mg/mL 나트륨 시트레이트 및 0.1% 이하의 에탄올로 구성된 스펅고미엘린/콜레스테롤 리포솜 주사제 (SPLI); 및 (iii) 모두 주입용수로 제조된 355mg/25mL 이염기성 인산나트륨 및 225mg/25mL 염화나트륨을 함유하는 인산나트륨 주사제(SPI)를 함유하는 3개의 바이알에 별도로 제공한다.
- [0075] 본 발명의 방법에 사용된 용기는 무균이고, 임의의 약제학적으로 허용가능한 물질(예: 유리 또는 플라스틱)로 구성된다. 다수의 다른 제조업자(예: 위톤 프로덕츠(Wheaton Products), 토마스 사이언티픽(Thomas Scientific))에 의해 시판되는 다수의 상이한 바이알 형태가 존재하고 치수화된다. 하나의 구현예에서, 성분은 평균 직경 약 36.5mm 및 평균 범위 약 35.8 내지 약 37.3mm를 갖는 무균 바이알에 구성된다.
- [0076] 안전하고 무수의 일정한 온도 공급원을 제공하는 적합한 건조 블록 히터는 다수의 공급원(예: 비비 사이언티픽 리미티드(Bibby Scientific Ltd), 브이앤피 사이언티픽, 인코포레이티드(V&P Scientific, Inc.), 피셔 사이언티픽 인코포레이티드(Fisher Scientific Inc.), 브이더블유알 사이언티픽(VWR Scientific), 써몰린 인코포레이티드(Thermolyne Inc.))으로부터 구입가능하다. 구성 용액의 용기를 수용하기에 적합한 하나 이상의 교정된 구멍을 갖는 열 전도성 삽입물은 금속(예: 어노드화된 알루미늄, 구리) 또는 기타 적합한 열 전도성 재료일 수 있다. 적합한 크기의 개구부의 구멍을 함유하는 삽입물은 쉽게 수득할 수 있거나(예: 브이앤피 사이언티픽, 인코포레이티드), 표준 방법을 사용하여 제조할 수 있다. 특정 구현예에서, 가열 블록은 구성 용액을 함유하는 용기의 평균 길이 또는 직경보다 약 1 내지 5% 또는 약 4.5%, 4.2%, 4.0%, 3.8%, 3.5%, 3.3%, 3.0%, 2.8%, 2.5%, 2.2%, 2.0%, 1.8%, 1.5%, 1.2% 또는 1.0% 더 큰 개구부를 함유한다. 일부 구현예에서, 가열 블록은 원통형 개구부를 함유한다. 하나의 구현예에서, 개구부는 직경 37.2 내지 37.8mm이거나, 직경 약 37.4 내지 37.6mm이다.
- [0077] 일부 구현예에서, 구성 용액을 약 75°C에서 약 13분, 약 14분, 약 15분, 약 16분, 약 17분 동안 가열한다. 하나의 구현예에서, 구성 용액은 75°C에서 평형화된 가열 블록에서 약 14분 동안 가열한다.
- [0078] 구성된 VSLI를, 예를 들면, 예비충전된 무균 용기(유리병, 플라스틱 병 또는 플라스틱 백)에 제공될 수 있는 환자에게 정맥내 투여하기에 적합한 약제학적으로 허용가능한 희석제(예: 텍스트로즈, 염화나트륨)와 혼합할 수

있다. 일부 구현예에서, 환자의 계산된 용량의 용적을 주입 백으로부터 제거하고, 예를 들면, 주입 용기의 최종 용적이 100mL인 주입 백에서 구성된 VSLI 용액의 계산된 용적으로 환산한다. 하나의 구현예에서, 약제학적으로 허용가능한 희석제는 5% 텍스트로즈 주사제 또는 0.9% 염화나트륨 주사제이다.

[0080] VSLI

[0081] 본원에 기재된 방법에 따라 생성된 VSLI는 본질적으로 가시 이물질 및 응집물을 함유하지 않는 백색 내지 회색 반투명 현탁액으로서 나타난다. 전형적으로, 약 95% 초과, 약 96%, 약 97%, 약 98% 이상의 빈크리스틴 설페이트가 리포솜에 캡슐화된다.

[0082] 본원에 기재된 방법에 따라서 생성된 VSLI는 약 4.0%, 3.5%, 3.4%, 3.2%, 3.1% 또는 3.0% 미만의 총 불순물을 함유한다. 일부 구현예에서, VSLI는 약 2.0%, 1.8%, 1.7%, 1.6%, 1.5%, 1.4% 또는 1.3% N-데스포르밀빈크리스틴을 함유한다.

[0083] 본원에 기재된 방법에 따라서 생성된 VSLI는 72시간 이내에 적어도 약 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84% 또는 약 85%의 평균 시험관내 방출률(IVR) 또는 생체내 방출률을 갖는다.

[0084] 빈크리스틴 캡슐화 수준, 불순물의 수준 및 리포솜으로부터 빈크리스틴의 방출률을 측정하기 위한 검정은 당해 기술 분야에 공지되어 있다(참조: 예를 들면, US 특허 제5543152호 및 제5837282호; Zhigalstev et al. J. Controlled Release 104: 103-111, 2005); Puscalau et al. Am. J. Health-Syst. Pharm. 62: 1606-1612, 2005).

[0085] 일반적으로, 본원에 기재된 방법에 따라서 생성된 VSLI는 빈크리스틴 설페이트를 약 0.1mg/mL 내지 약 0.5mg/mL를 함유한다. 특정 구현예에서, 빈크리스틴 설페이트는 약 0.15mg/mL 내지 약 0.2mg/mL로 존재한다. 하나의 구현예에서, 빈크리스틴 설페이트는 약 0.16mg/mL로 존재한다. 하나의 구현예에서, VSLI는 5mg 빈크리스틴 설페이트, 500mg 만니톨, 73.5mg 스펅고미엘린, 29.5mg 콜레스테롤, 36mg 나트륨 시트레이트, 38mg 시트르산, 355mg 인산나트륨 및 225mg 염화나트륨을 함유한다.

[0087] 용량 및 투여

[0088] 본원에 기재된 방법에 따라서 제조된 VSLI는 원발성, 재발성 및 난치성 암을 포함하는 임의의 종류의 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다. VLSI로 치료된 환자 또는 대상체는 인간, 비인간 영장류, 조류, 말 종, 개 종, 고양이 종, 소(bovine) 종, 돼지, 토끼목, 설치류 등을 포함하는 여러 동물일 수 있다. 특정 구현예에서, VSLI는 림프종, 백혈병 및 골수종을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 혈액 및 림프계 암을 치료하기 위해 사용한다. 특정 구현예에서, VSLI는 신경아세포종 및 뇌암을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 종양을 치료하기 위해 사용한다.

[0089] VSLI는 단일 제제로서 또는 다른 화학요법제, 예를 들면, 사이클로포스파미드, 독소루비신 및/또는 프레드니손과 함께 사용될 수 있다. 하나의 구현예에서, VSLI는 리포솜 CHOP 제형("리포-CHOP")으로서 사이클로포스파미드, 독소루비신 및 프레드니손과 함께 투여된다. 또 하나의 구현예에서, VSLI는 적어도 하나의 추가의 항종양제와 함께 공투여된다. 또 하나의 구현예에서, 추가의 항종양제는 항종양 모노클로날 항체, 예를 들면, 온콜리(Oncoly™), 리투산(Rituxan™) 또는 벅사르(Bexxar™)이다. 또 하나의 구현예에서, 추가의 항종양제는 안티센스 약물 또는 항종양 백신이다. 또 하나의 구현예에서, VSLI는 신경독성을 위한 예방학적 또는 치료학적 치료제, 예를 들면, 가바펜틴(뉴로틴(Neurotin™))과 공투여된다.

[0090] 전형적으로, VSLI는 환자에게 투여 약 24시간 이내에 제조하고, 실온(15°C 내지 30°C)에서 저장하거나 냉장시킨다(2 내지 8°C).

[0091] VSLI는 정맥내 전달로 환자에게 전신 투여된다. 하나의 구현예에서, VSLI는, 예를 들면, 약 30분, 약 45분, 약 60분, 약 90분 이상의 기간 동안 정맥내 주입으로 투여된다.

[0092] 전형적으로, VSLI는 주기적으로, 예를 들면, 7 내지 28일마다 한번 투여된다. 특정 구현예에서, VSLI는 3, 5, 7, 10, 14, 21 또는 28일 마다 한번 투여된다. 하나의 구현예에서, VSLI는 14일마다 정맥내 주입으로 투여된다. 또 하나의 구현예에서, VSLI는 7일마다 정맥내 주입으로 투여된다. 본원에 사용된 바와 같이, VSLI의 각 투여는 치료의 한 "과정"으로서 간주된다.

[0093] 용량당 투여되는 VSLI의 양은 다수의 인자, 예를 들면, 환자의 병력, 기타 요법의 사용, 및 질환(예: 1차(first line), 재발성 또는 난치성 암)의 성질에 의존한다. 전형적으로, 본원에 기재된 방법에 따라서 제조된 VSLI는

약 1.4 내지 약 2.4mg/m²의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, VSLI는 약 1.5mg/m², 약 1.8mg/m², 약 2.0mg/m², 2.1mg/m², 2.2mg/m², 2.3mg/m² 또는 2.4mg/m²(즉, mg 빈크리스틴/체표면적 m²)의 용량으로 투여된다. 하나의 구현예에서, VSLI는 7일 마다 한번 약 60분 동안 정맥내 주입에 의해 2.25mg/m²의 용량으로 투여된다.

[0094] 기타 구현예에서, VSLI의 용량은 치료 동안 일시적으로 중단되고/되거나 감소될 수 있다. 예를 들면, 하나의 구현예에서, 등급 3 말초 신경병증 또는 영속적 등급 2 말초 신경병증을 표현하는 환자에게 투여되는 VSLI 투여량은 약 7일 이하 동안 중단된 다음, 등급 1 또는 2로 회복시 약 2mg/m²의 용량으로 감소시킬 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 영속적 등급 2 말초 신경병증을 표현하는 환자에게 투여된 투여량은, 감소된 용량을 수용한 후에도, 7일 이하 동안 중단한 다음, 1.825mg/m², 또는 1.5mg/m²의 용량으로 감소시킬 수 있다.

[0095] VSLI의 투여량은 익히 공지된 방법에 따라서 대상체의 체표면적(BSA)을 계산함으로써 결정된다. 예를 들면, BSA가 대상체의 체중(kg) x 신장(cm)을 3600으로 나눈 생성물의 제곱근과 같은 모스텔러 식(Mosteller's formula)에 따른다. 인간의 "정상" BSA는 일반적으로 1.7m²인 것으로 간주될 뿐만 아니라 개인의 연령 및 성별을 포함하는 기타 인자에 의존한다. 예를 들면:

[0096] · 성인 남자의 평균 BSA: 1.9m²

[0097] · 성인 여성의 평균 BSA: 1.6m²

[0098] · 어린이(9세)의 평균 BSA: 1.07m²

[0099] · 어린이(10세)의 평균 BSA: 1.14m²

[0100] · 어린이(12-13세)의 평균 BSA: 1.33m²

[0101] (참조: Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. N Engl J Med 1987;317: 1098)

[0103] 실시예

[0104] 실시예 1

[0105] VSLI 바이알 용액의 온도 프로파일은 건조 블록 공정으로 가열 동안 조사하고, 마르퀴보(Marqibo[®])에 대한 승인된 라벨 지침(FDA/cder Reference ID: 3172211, August 2012)에 따라 항온조로 가열시 관찰된 온도 프로파일과 비교했다.

[0107] 장치 및 재료

[0108] · 마르퀴보(Marqibo[®]) 키트 구성 VSLI, lot NT 268035(하나의 바이알에 배합된 부분 사용 바이알의 내용물)

[0109] · 1.480" 직경 웰 및 온도계 포켓이 장착된 테크네 드라이-블록(Techne Dri-block[®]) DB-3 히타(비비 사이언티픽 리미티드(Bibby Scientific Limited)).

[0110] · 디지털 온도계: 0 내지 100°C 범위에서 ±1°C까지 정확

[0111] · 아이소템프 202 #00947 항온조(피셔 사이언티픽((Fisher Scientific))

[0112] · 플루크 726 #914002 열전쌍 온도 교정기(플루크 코퍼레이션(Fluke Corporation))

[0114] 절차

[0115] 온도 프로파일 측정치는 가열 장치(즉, 건조 블록 또는 항온조)에 배치한 후 바이알 내부의 용액 온도를 기록함으로써 생성되었다. 시간 제로는 바이알이 가열 장치에 배치된 시점이었다. 다음 절차가 사용되었다:

[0116] 1. 성분 VSI 및 SCLI를 단일 SPI 바이알(스위스 프레스즌 인스트루먼트, 인코퍼레이티드(Swiss Precision Instruments, Inc.))에서 배합하였다. 디지털 열전쌍을 바이알의 격막을 통해 삽입하고, 바이알의 기저부 표면으로부터 약 5mm를 유지하고 액체 용액의 중앙에 배치하였다.

[0117] 2. 1.480in 바이알 용기 홀을 함유하는 블록이 장착된 건조 블록 히터를 사용하였다. 블록 온도는 온도계를 바

이알 용기 홀에 근접하게 위치된 블록 온도계 홀에 배치하여 모니터링하였다. 블록 히터를 75℃의 온도로 설정하고, 블록 온도계가 75 ± 2℃를 관독할 때까지 가온시켰다. 가열된 블록을 75 ± 2℃에서 최소 15분 동안 평형화하였다. 이어서, 바이알을 14분 ± 15초 동안 75 ± 2℃ 평형화된 블록의 웰에 삽입한 다음, 제거하였다. 구성된 바이알을 약 60분 동안 주위 조건에 위치시킴으로써 주위 온도가 되도록 하였다. 동일한 바이알을 사용하여 절차를 2회 반복하였다.

[0118] 3. 바이알 내부 액체 온도 및 블록 온도를 1분 간격(또는 주시된 바와 같이) 기록하고, 표 1에서 표로 작성하였다.

[0119] 4. 비교를 위해, 항온조를 수온이 65 ± 5℃일 때까지 가열하였다. 항온조를 최소 15분 동안 평형화하였다. 이어서, 구성된 VSLI를 함유하는 바이알을 10분 ± 1분 동안 항온조에 삽입한 다음, 제거하였다. 구성된 바이알을 주위 온도가 되게 하였다.

[0120] 5. 바이알 내부 액체 온도, 시간 및 수온을 기록하고, 표 1에서 표로 작성하였다.

[0122] **결과 및 검토**

[0123] 75 ± 2℃에서 평형화된 건조 블록이 장착된 구성 VSLI 바이알의 액체 내용물을 가열하는 온도 프로파일은 65 ± 5℃까지 균일하고 점차적인 가열 속도를 입증한다. 표 1에서 표로 작성된 결과 및 도 1은 건조 블록이 액체 바이알 내용물을, 바이알 내용물을 평균 속도 4.21℃/분으로 가열하는 항온조와 비교하여 3.26℃/분의 평균 속도로 가열함을 나타낸다. 목적하는 온도 65 ± 5℃는 10분을 소요하는 항온조와 비교하여 건조 블록에서 14분 이내에 달성되었다. 두 가열 장치로, 바이알이 가열원으로부터 제거되면, 점차적 냉각이 일어났다. 온도는 건조 블록으로부터 제거 후 3 내지 4분 동안 및 항온조로부터 제거 후 1 내지 2분 동안 59 내지 65℃로 유지시켰다. 두 장치로, 바이알을 건조 블록으로 적어도 20분 동안, 항온조로 15분 동안 50 내지 65℃에 노출시켰다. 어느 하나의 장치에서 가열 후, 용액을 시각적으로 동일한, 가시 이물질 및 응집물을 본질적으로 함유하지 않는 백색 내지 회백색 반투명 현탁액으로 잔류시켰다.

[0124] [표 1] 구성 온도 프로파일*

표 1

| 시간 | 내부 온도 | HB | 블록 온도 | 내부 온도 | HB | 블록 온도 | 2 | 내부 온도 | WB | 항온조 |
|----|-------|----|-------|-------|----|-------|---|-------|----|------|
| 0 | 20.3 | | 75.3 | 22.8 | | 75.4 | | 20.9 | | 63.8 |
| 1 | 25.6 | | 74.7 | 29.9 | | 74.8 | | 35.4 | | 63.8 |
| 2 | 31.6 | | 74.0 | 36.1 | | 74.0 | | 45.6 | | 63.9 |
| 3 | 37.0 | | 73.5 | 41.3 | | 73.6 | | 51.7 | | 63.4 |
| 4 | 41.9 | | 73.3 | 45.5 | | 73.4 | | 56.1 | | 63.7 |
| 5 | 46.2 | | 73.2 | 49.1 | | 73.4 | | 58.8 | | 63.6 |
| 6 | 49.8 | | 73.2 | 52.4 | | 73.4 | | 60.3 | | 64.0 |
| 7 | 53.0 | | 73.3 | 55.2 | | 73.4 | | 61.3 | | 64.4 |
| 8 | 55.6 | | 73.4 | 57.5 | | 73.5 | | 62.2 | | 64.0 |
| 9 | 57.9 | | 73.6 | 59.7 | | 73.8 | | 62.7 | | 63.8 |
| 10 | 60.8 | | 73.8 | 61.4 | | 73.9 | | 63.0 | | 63.8 |
| 11 | 62.1 | | 73.9 | 62.8 | | 74.1 | | 59.0 | | NR |
| 12 | 63.3 | | 74.1 | 64.4 | | 74.2 | | 56.6 | | NR |
| 13 | 64.6 | | 74.1 | 65.4 | | 74.3 | | 54.8 | | NR |
| 14 | 65.8 | | 74.3 | 66.4 | | 74.4 | | 53.1 | | NR |
| 15 | 65.6 | | NR | 66.1 | | NR | | 52.0 | | NR |
| 16 | 64.1 | | NR | 63.7 | | NR | | 51.2 | | NR |
| 17 | 62.7 | | NR | NR | | NR | | 50.3 | | NR |
| 18 | 61.2 | | NR | 60.6 | | NR | | 49.3 | | NR |
| 19 | 59.8 | | NR | 59.3 | | NR | | 48.7 | | NR |
| 20 | 58.6 | | NR | 58.0 | | NR | | 48.0 | | NR |
| 21 | 57.4 | | NR | 56.5 | | NR | | NR | | NR |
| 22 | 56.1 | | NR | 55.3 | | NR | | NR | | NR |
| 23 | 55.0 | | NR | 54.2 | | NR | | NR | | NR |
| 24 | 53.9 | | NR | 53.2 | | NR | | NR | | NR |
| 25 | 52.8 | | NR | NR | | NR | | 44.4 | | NR |
| 26 | 51.7 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 27 | 50.8 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 28 | 49.8 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| | NR | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 33 | 45.6 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 38 | 42.3 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 43 | 39.4 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 48 | 37.3 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 53 | 35.3 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 58 | 33.9 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |
| 60 | 33.3 | | NR | NR | | NR | | NR | | NR |

* 내부 온도 HB= 건조 블록에서 가열된 바이알 내용물의 내부 온도
 내부 온도 WB= 항온조에서 가열된 바이알 내용물의 내부 온도
 NR= 기록되지 않음

[0125]

[0126] **결론**

- [0127] 이 연구는 건조 블록이 VSLI 바이알 내부 액체 온도가 14분 이내에 $65 \pm 5^\circ\text{C}$ 를 달성하도록 하는 적합한 온도 가열 프로파일을 증명하고, 20분의 50 내지 65°C 범위에서 가열 노출을 제공함을 입증하였다. 이는 10분 이내에 내부 액체 온도 $65 \pm 5^\circ\text{C}$ 및 15분의 50 내지 65°C 범위에서 전체 가열 노출을 달성하는 항온조에서 바이알을 가열함과 비교한다. 두 방법의 가열 속도는 점차적이고 균일했다. $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 설정된 건조 블록은 $3.26^\circ\text{C}/\text{분}$ 의 가열 속도를 생성하였고, $65 \pm 5^\circ\text{C}$ 로 설정된 항온조는 $4.21^\circ\text{C}/\text{분}$ 의 속도를 생성했다. 항온조에 의한 가열은 안정되었지만, 건조 블록에서 가열 속도는 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 설정점을 향해 일정한 속도로 지속되었다. 바이알이 어느 하나의 가열 장치로부터 제거되면 주위 온도로의 냉각은 약 60분이 소요되었다. 이러한 가열 프로파일은, 빈크리스틴의 거의 정량적인 캡슐화가 이러한 상태를 달성하는 동역학보다 막 캡슐화를 촉진하는 온도로의 전체 노출에 의존하는 열역학적 과정이라는 것을 시사한다.
- [0128] 요약하면, 건조 블록 및 항온조는 VSLI의 효율적 제조를 위한 빈크리스틴의 스펅고미엘린 콜레스테롤 리포솜으로의 캡슐화를 허용하는 열역학적 프로파일을 제공할 수 있다.
- [0130] 실시예 2
- [0131] 건조 가열 블록을 사용하여 구성된 VSLI의 빈크리스틴 분해 생성물의 수준을 조사하였다.
- [0132] 장치 및 재료:
- [0133] · 1.480" 직경 웰 및 온도계 포켓이 장착된 테크네 DB-3 드라이-블록^R.
 - [0134] · 7mm 이하의 직경을 갖고, 0 내지 100°C 범위에서 $\pm 1^\circ\text{C}$ 까지 정확한 온도계.
 - [0135] · 교정 스태프위치 또는 타이머
 - [0136] · 마이크로미터(0-2") 또는 등가물.
 - [0137] · 30 마рки보^R 키트, Lot # TTX0611 (탈론 테라페틱스, 인코포레이티드(Talon Therapeutics, Inc.))
- [0139] 절차
- [0140] 최대 및 최소 외부 직경을 갖는 SPI 바이알을 갖는 30 마рки보^R 키트로부터의 바이알을 연구에 사용하였다. SPI 바이알의 직경을 측정하고, 가장 가까운 0.001"까지 기록하였다. 결과는 표 2에 나타난다.
- [0141] [표 2] 바이알 동정 및 SPI 바이알 직경

표 2

| 바이알 동경 | SPI 바이알 직경 (±0.0001 in.) | 연구 배당 |
|--------|-----------------------------|-------|
| 1 | 1.4350 | |
| 2 | 1.4360 | |
| 3 | 1.4340 | |
| 4 | 1.4350 | |
| 5 | 1.4490 | |
| 6 | 1.4455 | |
| 7 | 1.4330 | |
| 8 | 1.4370 | |
| 9 | 1.4350 | |
| 10 | 1.4315 | |
| 11 | 1.4405 | |
| 12 | 1.4545 | 키트 2 |
| 13 | 1.4335 | |
| 14 | 1.4370 | |
| 15 | 1.4430 | |
| 16 | 1.4380 | |
| 17 | 1.4345 | |
| 18 | 1.4305 | 키트 1 |
| 19 | 1.4330 | |
| 20 | 1.4455 | |
| 21 | 1.4360 | |
| 22 | 1.4325 | |
| 23 | 1.4425 | |
| 24 | 1.4465 | |
| 25 | 1.4475 | |
| 26 | 1.4325 | |
| 27 | 1.4420 | |
| 28 | 1.4440 | |
| 29 | 1.4315 | |
| 30 | 1.4330 | |

[0142]

[0143]

2개의 바이알을 구성용으로 선택하였다. 허용된 SPI 바이알 직경의 하부 말단 1.41in에 가장 근접하거나 이와 동일한 직경을 갖는 바이알("바이알 1")은 1.4305in의 측정 직경을 가졌다. 허용된 SPI 바이알 직경의 상부 말단 1.47in에 가장 근접하거나 이와 동일한 직경을 갖는 바이알("바이알 2")은 1.4545in의 직경을 갖는 것으로 측정되었다.

[0144]

선택된 키트는 상기한 바와 같이 구성하였고, 빈크리스틴 설페이트, 관련 화합물 및 채택된 빈크리스틴 설페이트 주사 USP 방법에 따른 입자 크기 및 분포에 대해 시험하였다.

[0145]

두 연구 키트는 항온조 대신, 1.480in 바이알 용기 홀을 함유하는 블록이 장착된 드라이-블록 히터를 사용하는 것 이외에는 상기 지침을 사용하여 구성하였다. 블록 온도는 온도계를 바이알 용기 홀에 근접하게 위치한 블록 온도계 홀에 배치하여 모니터링하였다. 블록 히터는 75°C의 온도로 설정하였고, 블록 온도계가 75 ± 2°C를 판독할 때까지 가열시켰다. 이어서, 가열된 블록을 최소 15분 동안(시간 기록함) 평형화하였다. 조건은 표 3에서 표시된다. 이어서, 각 바이알을 14분 ± 15초 동안(시간 기록함) 75 ± 2°C 가열된 블록으로 삽입한 다음, 제거하고, 바이알을 약 60분 동안 주위 조건하에 배치하여 주위 온도가 되게 하였다.

[0146]

시간 및 블록 온도를 구성 동안 표 4에 나타낸 바와 같이 기록하였다. 분석 결과는 표 5, 6 및 7에 기록하였다.

[0147]

[표 3] 건조 블록 온도 평형

표 3

[0148]

| | 시간 | 연속 판독치 사이의 시간 |
|-------------------------|---------|---------------|
| 75°C로 건조 블록설정 | 8:35 AM | |
| 제1 사례 온도계는 75±2°C를 판독한다 | 8:46 AM | 73.0°C |
| 15분 평형 | 9:01 AM | 75.2°C |

[0149] [표 4] 건조 블록 구성 파라미터

표 4

| 바이알 ID | SPI 바이알 직경 | 온도 | 온도 | 온도 | 온도 | 제거 시간 |
|--------|------------|-------|-------|-------|-------|---------|
| | | T=0분 | T=1분 | T=5분 | T=14분 | |
| | | 75±1℃ | 참조용 | 참조용 | 75±1℃ | 14분±15초 |
| 12 | 1.4545 | 75.2℃ | 74.5℃ | 73.2℃ | 74.2℃ | 9:24AM |
| 18 | 1.4305 | 75.2℃ | 74.6℃ | 73.2℃ | 74.3℃ | 10:02AM |

[0151] [표 5] 전체 & 유리 빈크리스틴 결과

표 5

| 키트 ID | 총 빈크리스틴 |
|-------|---------|
| | 키트 1 |
| 키트 2 | 102.14% |

[0153] [표 6] 관련 화합물 결과

표 6

| 키트 ID | N-데스포르밀빈크리스틴 | 임의의 기타 화합물 |
|-------|--------------|------------|
| 키트 1 | 1.314 | 0.572 |
| 키트 2 | 1.345 | 0.574 |

[0155] [표 7] 입자 크기 분포

표 7

| 키트 ID | 평균 직경 | D ₂₅ | D ₉₀ |
|-------|-------|-----------------|-----------------|
| 키트 1 | 108nm | 90nm | 139nm |
| 키트 2 | 107nm | 91nm | 138nm |

[0157] 결과 및 검토

[0158] VSLI의 구성은 드라이-블록 히터를 사용하여 1.4305 및 1.4545in의 직경을 갖는 구성 바이알을 사용하여 달성하였다. 이들은 바이알 직경에 허용된 1.41in 하한치 및 1.47in 상한치에 가장 근접하는 바이알을 나타냈다. 가열 블록에서 VSLI 바이알의 14분 배양 동안, 블록 온도는 블록 웰 직경과 바이알의 어느 하나의 직경 사이의 공간 간극 사이의 온도 평형에 기인하여 1° 이하 강하하였다. 이러한 열 전달의 동역학은 VSLI의 제조에 영향을 미치지 않았다. 75℃에서 평형화된 드라이-블록 열에 14분 노출 후, 두 바이알로부터 생성되는 구성 VSLI는 97% 초과 빈크리스틴 캡슐화를 달성하였다. 드라이-블록을 사용하는 배양은 평균 2.175% 유리 빈크리스틴의 캡슐화 효율을 유도했다. 드라이-블록 가열 프로파일로는 새롭거나 증가된 불순물이 관찰되지 않았다. 주요 분해물 N-데스포르밀빈크리스틴은 0.574% 초과와 기타 불순물 및 3.10% 이하의 총 불순물 없이 평균 1.33%에서 관찰되었다. 입자 크기 분포는 평균 직경 107.5nm 직경 및 평균 D₂₅ 90.5nm 및 D₉₀ 138.5nm로 VSLI 사양과 일치하였고, 드라이-블록 가열로 제조된 VSLI는 IVR 분석에 의해 72시간까지 빈크리스틴 약 84%를 방출시켰다.

[0159] 결론적으로, VSLI는 스펙고미엘린-콜레스테롤 리포솜에 99% 초과와 빈크리스틴을 캡슐화하는 14분 ± 15초의 배양 시간으로 75 ± 2℃에서 평형화된 건조 블록 히터를 사용하여 구성하였고, 이 실험 동안 변칙성이 전혀 기록되지 않았다. 데이터는 빈크리스틴을 효율적으로 캡슐화하는 생성물을 유도하는 건조 블록 구성 온도 프로파일을 확립하고, 건조 블록 히터가 VSLI의 구성에서 항온조를 대체할 수 있음을 입증한다.

- [0161] 실시예 3
- [0162] 이 연구에서, 건조 블록 절차를 사용하는 구성 시간의 범위를 제공하기 위해 빈크리스틴 분해 생성물의 수준을 측정하였다.
- [0164] 장치 및 재료
 - [0165] · 1.476"(± 0.004) 직경 웰 및 온도계 포켓이 장착된 드라이-블록^R
 - [0166] · 7mm 이하의 직경을 갖고, 0 내지 100°C 범위에서 $\pm 1^\circ\text{C}$ 까지 정확한 온도계.
 - [0167] · 교정 스태프위치 또는 타이머
 - [0168] · 마르키보^R 키트, Lot # TTX0611 (탈론 테라페틱스, 인코포레이티드)
- [0170] 절차
 - [0171] 3개의 마르키보^R 키트를 무작위로 선택하였고, 75°C에서 3개의 상이한 시간(각각, 13, 14 및 15분)에 건조 블록에서 가열하여 구성하였다. 구성된 바이알을 채택된 빈크리스틴 설페이트 주사제 USP 방법을 사용하여 전체 및 유리 빈크리스틴 설페이트, 관련 화합물, 입자 크기 및 분포에 대해 시험하였다.
 - [0172] 연구 키트는 항온조 대신, 1.476in(± 0.004 ") 바이알 용기 홀을 함유하는 블록이 장착된 드라이-블록^R 히터를 사용하는 것 이외에는 상기한 바와 같은 지침을 사용하여 구성하였다. 블록 온도는 바이알 용기 홀에 근접하게 위치한 블록 온도계 홀에 온도계를 배치하여 모니터링하였다. 블록은 75°C의 온도로 설정하고, 블록 중의 온도계가 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 관독할 때까지 가열하였다. 이어서, 가열된 블록은 최소 15분 동안 평형화하였다. 조건은 표 9에 기록하였다. 이어서, 각 바이알을 각각 13분 ± 15 초, 14분 ± 15 초 및 15분 ± 15 초 동안 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 가열된 블록에 삽입하였다. 이어서, 바이알을 제거하고, 주위 온도에 배치하였다. 구성된 바이알을 시험 전에 적어도 60분 동안 주위 온도에서 냉각시켰다.
 - [0173] 시간 및 블록 온도를 구성 동안 표 9 및 10에 나타난 바와 같이 기록하였다. 분석 결과는 표 11, 12 및 13에 기록하였다.

표 9

[표 9a] 건조 블록 온도 평형(바이알 1)

| | 시간 | 연속 관독치 사이의 시간 |
|--|---------|---------------|
| 75°C로 건조 블록 설정 | 8:20 AM | |
| 제1 사례 온도계는 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 관독한다 | 8:48 AM | NA |
| 15분 평형* | 9:03 AM | 15분 |
| *15분 평형 기간 말기의 온도: 75.2°C | | |

[표 9b] 건조 블록 온도 평형(바이알 2)

| | 시간 | 연속 관독치 사이의 시간 |
|--|---------|---------------|
| 75°C로 건조 블록 설정 | 9:17 AM | |
| 제1 사례 온도계는 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 관독한다 | 9:17 AM | NA |
| 15분 평형* | 9:32 AM | 15분 |
| *15분 평형 기간 말기의 온도: 75.2°C | | |

[표 9c] 건조 블록 온도 평형(바이알 2)

| | 시간 | 연속 관독치 사이의 시간 |
|--|----------|---------------|
| 75°C로 건조 블록 설정 | 9:47 AM | |
| 제1 사례 온도계는 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 관독한다 | 9:47 AM | NA |
| 15분 평형* | 10:02 AM | 15분 |
| *15분 평형 기간 말기의 온도: 75.1°C | | |

- [0174]
- [0175] [표 10] 건조 블록 구성 파라미터

표 10

| 바이알 | SPI 직경 | 바이알 | | 온도 | 온도 | 온도 | 온도 | 온도 | 온도 |
|-----|-----------|-----|----|--------------------------|------|------|------------|------------|------------|
| | | 온도 | 온도 | T=0분 | T=1분 | T=5분 | T=13분 | T=14분 | T=15분 |
| | | | | $75 \pm 1^\circ\text{C}$ | 참조용 | 참조용 | ± 15 초 | ± 15 초 | ± 15 초 |

| | | | | | | | |
|---|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1.4490 | 75.2℃ | 74.6℃ | 73.2℃ | 74.2℃ | | |
| 2 | 1.4360 | 75.2℃ | 74.5℃ | 73.2℃ | | 74.1℃ | |
| 3 | 1.4355 | 75.2℃ | 74.6℃ | 73.3℃ | | | 74.2℃ |

[0177] [표 11] 전체 & 유리 빈크리스틴 결과

표 11

| 키트 ID | 전체 빈크리스틴 |
|-------|----------|
| 키트 1 | 100.91 |
| 키트 2 | 100.59 |
| 키트 3 | 100.43 |

[0179] [표 12] 관련 화합물 결과

표 12

| 키트 ID | N-데스포르밀빈크리스틴 | 임의의 기타 화합물 |
|-------|--------------|------------|
| 키트 1 | 1.498 | 0.590 |
| 키트 2 | 1.506 | 0.587 |
| 키트 3 | 1.464 | 0.593 |

[0181] [표 13] 입자 크기 분포

표 13

| 키트 ID | 평균 직경 | D ₂₅ | D ₉₀ |
|-------|-------|-----------------|-----------------|
| 키트 1 | 107nm | 91nm | 137nm |
| 키트 2 | 106nm | 90nm | 137nm |
| 키트 3 | 107nm | 90nm | 138nm |

[0183] 결과 및 검토

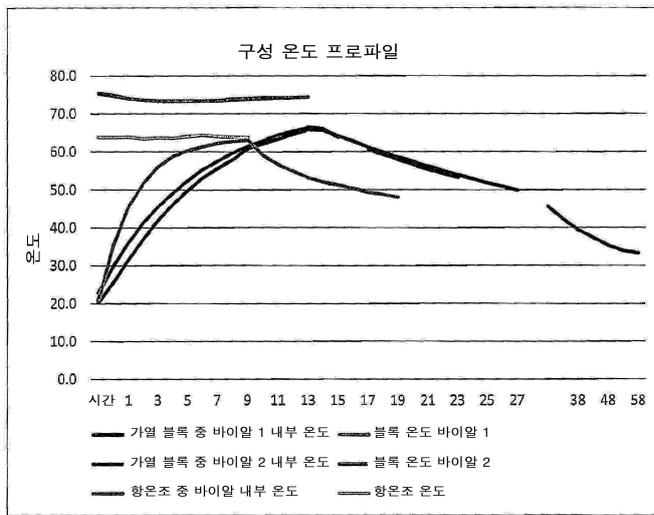
[0184] 하나의 구성된 키트 각각을 75℃에서 각각 13분, 14분 및 15분 동안 평형화된 가열 블록에 배치하였다. 모든 샘플 시간은 캡슐화된 빈크리스틴을 생성하고, 3개의 바이알 사이에 주어진 시험 결과에서 유의차는 존재하지 않았다. 97% 초과인 빈크리스틴 캡슐화는 최대 2.3% 유리 빈크리스틴으로 캡슐화 효율을 유도하는 드라이-블록을 사용하여 3개의 바이알 모두에서 관찰되었다. 드라이-블록 가열 프로파일로는 새롭거나 증가된 불순물이 관찰되지 않았다. 주요 분해물 N-데스포르밀빈크리스틴은 0.59% 초과인 기타 불순물 및 3.3% 이하의 총 불순물 없이 최대 1.51%에서 관찰되었다. 입자 크기 분포는 평균 직경 107nm 직경 및 평균 D₂₅ 90nm 및 D₉₀ 137nm로 VSLI 사양과 일치하였다.

[0185] 결론적으로, VSLI는 빈크리스틴을 효율적으로 캡슐화하는 13 내지 15분(± 15초)의 배양 시간으로 75 ± 2℃에서 평형화된 드라이 블록으로 항온조를 대체하여 구성하였고, 실험의 수행 동안 변칙성은 기록되지 않았다. 데이터는 효율적인 VSLI 구성을 유도하는 드라이-블록 구성 온도 프로파일을 확립하고, 드라이-블록 히터가 VSLI의 구성에서 항온조를 대체할 수 있음을 보여준다.

[0186] 본원에 기재된 실시예 및 구현예는 단지 예시 목적이므로, 이의 관점에서 각종 변형 또는 변화가 당업자에게 시사되고, 본 출원의 취지 및 범위 및 첨부된 특허청구범위의 범위에 포함되어야 한다고 이해된다. 본원에 인용된 모든 공보, 특허 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

도면

도면1



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 1

【변경전】

실질적인 분해 생성물을 함유하지 않는 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는, 암을 치료하기 위한 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물로서, 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 다음의 단계:

(a) 단일 바이알에서, (i) 빈크리스틴 설페이트를 1mg/ml 내지 5mg/ml의 농도로 포함하고, pH 3.5 내지 5.5를 갖는 제1 용액; 및 (ii) pH가 약 4인 스펅고미엘린 및 콜레스테롤 리포솜을 포함하는 제2 용액을 구성하는 단계;

(b) 상기 단일 바이알 중의 상기 용액의 pH를 pH 7.0 내지 7.5로 상승시키는 단계;

(c) 상기 용액을 포함하는 상기 단일 바이알을 75±2℃로 평형화된 건조 가열 블록에서 적어도 13 내지 18분 동안 가열하는 단계로서, 상기 가열 블록은 구성된 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 용액을 생성하기 위해 상기 단일 바이알의 평균 길이 또는 직경보다 1 내지 5% 더 큰 하나 이상의 구멍을 포함하는 단계;

(d) 구성된 용액을 실온으로 평형화시키는 단계; 및

(e) 환자에 대해 1.5 내지 2.4mg/m²의 용량의 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 구성된 용액의 용적을 정맥내 투여에 적합한 약제학적 희석제로 희석하여 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물을 생성하는 단계

를 포함하는 방법에 의해 제조되고,

리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 구성된 용액은 다음의 분해 생성물을 포함하는 것인 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물:

(i) 2.5 부피% 미만의 유리 빈크리스틴; 및

(ii) 1.5 부피% 미만의 N-테스포르밀빈크리스틴.

【변경후】

실질적인 분해 생성물을 함유하지 않는 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는, 암을 치료하기 위한 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물로서, 상기 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물은 다음의 단계:

(a) 단일 바이알에서, (i) 빈크리스틴 설페이트를 1mg/ml 내지 5mg/ml의 농도로 포함하고, pH 3.5 내지 5.5를 갖는 제1 용액; 및 (ii) pH가 4인 스프링고미엘린 및 콜레스테롤 리포솜을 포함하는 제2 용액을 구성하는 단계;

(b) 상기 단일 바이알 중의 상기 용액의 pH를 pH 7.0 내지 7.5로 상승시키는 단계;

(c) 상기 용액을 포함하는 상기 단일 바이알을 $75 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 평형화된 건조 가열 블록에서 적어도 13 내지 18분 동안 가열하는 단계로서, 상기 가열 블록은 구성된 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 용액을 생성하기 위해 상기 단일 바이알의 평균 길이 또는 직경보다 1 내지 5% 더 큰 하나 이상의 구멍을 포함하는 단계;

(d) 구성된 용액을 실온으로 평형화시키는 단계; 및

(e) 환자에 대해 1.5 내지 $2.4\text{mg}/\text{m}^2$ 의 용량의 리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 구성된 용액의 용적을 정맥내 투여에 적합한 약제학적 희석제로 희석하여 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물을 생성하는 단계

를 포함하는 방법에 의해 제조되고,

리포솜 캡슐화 빈크리스틴을 포함하는 상기 구성된 용액은 다음의 분해 생성물을 포함하는 것인 약제학적으로 허용가능한 액체 조성물:

(i) 2.5 부피% 미만의 유리 빈크리스틴; 및

(ii) 1.5 부피% 미만의 N-테스포르밀빈크리스틴.