



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0083841
(43) 공개일자 2015년07월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/50 (2006.01) **A61K 31/433** (2006.01)
A61K 31/542 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/5078 (2013.01)
A61K 31/433 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7010170
- (22) 출원일자(국제) 2013년09월20일
 심사청구일자 空
- (85) 번역문제출일자 2015년04월20일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/060987
- (87) 국제공개번호 WO 2014/047477
 국제공개일자 2014년03월27일
- (30) 우선권주장
 61/703,743 2012년09월20일 미국(US)
- (71) 출원인
오에이치알 파마, 엘엘씨.
 미국 뉴욕 10022 뉴욕 11층 써드 애비뉴 800
- (72) 발명자
로데스, 크리스
 미국, 뉴욕 11020, 그레이트 넥, 미도우 우즈 로드 57
말라비아, 니키타
 미국, 뉴욕 11020, 그레이트 넥, 미도우 우즈 로드 57
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
강명구

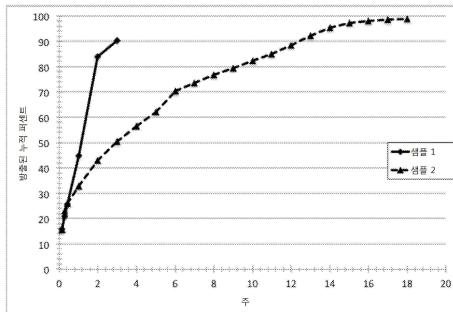
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 치료제의 서방을 위한 다층 생분해성 미세입자

(57) 요 약

미세입자는 다음 단계를 포함하는 방법으로 제조된다: (a) 고체 표면에 제1 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제1 조성물은 제1 중합체와 제1 용매를 포함함, 그리고 제1 조성물에서 제1 용매를 증발시킴으로써 고체 표면에 제1 중합체를 포함한 층을 형성하는 단계; (b) 단계 (a)에서 형성된 층 모두 또는 일부에 제2 조성물을 침착시킴으로써, 여기서 제2 조성물은 제2 중합체, 치료제, 및 제2 용매를 포함함; 그리고 제2 조성물에서 제2 용매를 증발시킴으로써 제2 중합체와 치료제를 포함한 층을 형성하는 단계; 및 (c) 이전에 형성된 층에 제3 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제3 조성물은 제3 중합체 및 제3 용매를 포함함; 그리고 제3 조성물에서 제3 용매를 증발시킴으로써 제3 중합체를 포함한 추가적인 층을 형성하는 단계.

대 표 도 - 도1



샘플 번호	샘플 설명	액물 부여 (% w/w)	내층 중합체	외층 중합체
샘플 1	디글로로에탄내 브란콜아미드 혼탁액	11.9	115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E)	없음
샘플 2	디글로로에탄내 브란콜아미드 혼탁액	10.2	115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E)	5% 178 kDa PLGA (Akina 8520)의 2회 코팅

(52) CPC특허분류

A61K 31/542 (2013.01)

A61K 9/5031 (2013.01)

A61K 9/5089 (2013.01)

(72) 발명자

제닝스, 로버트

미국, 뉴욕 11020, 그레이트 넥, 미도우 우즈 로드

57

렉스마, 레디

미국, 뉴욕 11020, 그레이트 넥, 미도우 우즈 로드

57

노르만, 베티

미국, 뉴욕 11020, 그레이트 넥, 미도우 우즈 로드

57

명세서

청구범위

청구항 1

다중 미세입자를 제조하기 위한 방법에 있어서, 방법은 다음을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

(a) 고체 표면에 제1 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제1 조성물은 제1 중합체와 제1 용매를 포함함, 그리고 침착된 제1 조성물에서 제1 용매를 증발시킴으로써 고체 표면에 제1 중합체를 포함한 층을 형성하는 단계;

(b) 단계 (a)에서 형성된 층 모두 또는 일부에 제2 조성물을 침착시킴으로써, 여기서 제2 조성물은 제2 중합체, 치료제, 및 제2 용매를 포함함; 그리고 침착된 제2 조성물에서 제2 용매를 증발시킴으로써 제2 중합체와 치료제를 포함한 층을 형성하는 단계; 및

(c) 이전에 형성된 층에 제3 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제3 조성물은 제3 중합체 및 제3 용매를 포함함; 그리고 침착된 제3 조성물에서 제3 용매를 증발시킴으로써 제3 중합체를 포함한 추가적인 층을 형성하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 및 제3 조성물은 치료제를 함유하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 제1 및 제3 중합체는 제2 용매에서 낮은 용해도를 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 제2 중합체는 제1 중합체 및 제3 중합체와는 상이한 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 40 킬로달톤만큼 더 큰 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 50 킬로달톤만큼 더 큰 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 제1 및 제3 중합체는 100-350 킬로달톤의 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, 제2 중합체는 15-150 킬로달톤의 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 제1 및 제3 중합체는 동일한 중합체인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 제1 및 제3 용매는 동일한 용매인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 제2 용매는 제1 및 제3 용매와는 다르다는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 제1, 제2, 및 제3 중합체는 폴리(락틱-코-글리콜산) (PLGA), 폴리(락트산) (PLA), 폴리(L-락트산) (PLLA), 폴리(글리콜산) (PGA), 및 폴리(ϵ -카프로락톤), 및 폴리(오르토 에스테르)로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 치료제는 소분자 약물, 웨티드 약물, 단백질 약물, 폴리사카라이드 약물, 올리고뉴클레오티드, 및 항체로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 단계 (a)는 제1 조성물을 1회보다 많이 침착시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 단계 (a)는 제1 조성물을 2회 침착시키는 단계 및 제1 조성물에서 제1 용매를 2회 증발시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 단계 (c)는 제3 조성물을 1회보다 많이 침착시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 단계 (c)는 제3 조성물을 디스펜싱(dispensing)하는 단계 및 제3 조성물에서 제3 용매를 2회 증발시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제1항에 있어서, 고체 표면은 실질적으로 평면인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 고체 표면은 실질적으로 평면이고 코팅된 것임을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제1항에 있어서, 고체 표면은 웰(well)의 기부인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 웰을 완전히 채우는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

제20항에 있어서, 웰을 부분적으로 채우는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23

제20항에 있어서, 웰을 과하게 채우는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

제1항에 있어서, 침착시키는 단계는 60 마이크론 미만의 평균 지름을 갖는 액체를 발생시키는 장치를 이용하여 뿐만 아니라 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 장치는 마이크로프린터(microprinter)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

하나 이상의 다층 미세입자를 포함하는 조성물에 있어서, 하나 이상의 다층 미세입자는 다음을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물:

제1 중합체를 포함하는 하나 이상의 하부 층; 및

치료제와 제2 중합체를 포함하는 하나 이상의 내층, 및 제3 중합체를 포함하는 하나 이상의 상부 층,

여기서 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 더 큼.

청구항 27

제26항에 있어서, 상부 및 하부 층은 치료제를 함유하지 않는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 28

제26항에 있어서, 제1 중합체 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 20 킬로달톤만큼 더 큰 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 29

제26항에 있어서, 제1 및 제2 중합체는 100-350 킬로달톤의 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 30

제26항에 있어서, 제2 중합체는 15-150 킬로달톤의 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 31

제26항에 있어서, 중합체는 폴리(락티-코-글리콜산) (PLGA), 폴리(락트산) (PLA), 폴리(L-락트산) (PLLA), 폴리(글리콜산) (PGA), 폴리(ϵ -카프로락톤), 및 폴리(오르토 에스테르)로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 32

제26항에 있어서, 치료제는 소분자 약물, 웨티드 약물, 단백질 약물, 폴리사카라이드 약물, 올리고뉴클레오티드, 및 항체로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 33

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 3차원에서 본질적으로 대칭이고 어떠한 1차원도 80 마이크론보다 크지 않다는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 34

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 2차원에서 대칭이고 여기서 더 긴 대칭 축을 따르는 치수는 100 마이크론 미만이고, 그리고 더 짧은 대칭축을 따르는 치수는 60 마이크론 미만인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 35

제26항에 있어서, 조성물은 10 mm 미만인 최대 선형 치수를 가진 주입물(implant)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 36

제26항에 있어서, 조성물은 2 mm 미만인 최대 선형 치수를 가진 주입물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 37

제26항에 있어서, 조성물은 500 마이크론 미만인 최대 선형 치수를 가진 주입물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 38

제26항에 있어서, 부형체를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 39

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 3개 이상의 층을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 40

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 5개 이상의 층을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 41

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 균일한 두께의 층을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 42

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 상이한 두께의 층을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 43

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 인접한 층과 일치하지 않는 하나 이상의 층을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 44

제26항에 있어서, 다층 미세입자는 구멍이 있는 하나 이상의 층을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 45

제44항에 있어서, 구멍은 고리-모양인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 46

제26항에 있어서, 입자는 2개의 대립하는, 실질적으로 평행인 표면을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 47

제26항에 있어서, 입자는 실질적으로 원통형인 것을 특징으로 하는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 치료제의 서방을 위한 다층 미세입자를 형성하기 위한 방법 및 다층 미세입자를 포함한 조성물과 관련된다.

배경 기술

[0002] 생분해성 중합체로 구성된 미세입자는 치료제의 제어 방출에 유용하다. 미세입자는 템플레이트(template)를 이용하여 형성될 수 있다 (US 2009/0136583).

발명의 내용

요약

[0003] 본 개시는 치료제의 서방을 위한 다층 미세입자를 형성하는 방법의 특징을 이룬다. 이들 방법은 (a) 고체 표면에 제1 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제1 조성물은 제1 중합체와 제1 용매를 포함함, 그리고 제1 조성물에서 제1 용매를 증발시킴으로써 고체 표면에 제1 중합체를 포함한 층을 형성하는 단계; (b) 단계 (a)에서 형성된 층 모두 또는 일부에 제2 조성물을 침착시킴으로써, 여기서 제2 조성물은 제2 중합체, 치료제, 및 제

2 용매를 포함함; 그리고 제2 조성물에서 제2 용매를 증발시킴으로써 제2 중합체와 치료제를 포함한 층을 형성하는 단계; 및 (c) 이전에 형성된 층에 제3 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제3 조성물은 제3 중합체 및 제3 용매를 포함함; 그리고 제3 조성물에서 제3 용매를 증발시킴으로써 제3 중합체를 포함한 추가적인 층을 형성하는 단계를 포함한다. 몇몇 경우에, 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 더 크다. 몇몇 경우에, 제1 및 제3 중합체는 동일한 분자량을 갖고 몇몇 경우에는 그들은 분자량이 다르다. 몇몇 경우에, 2개 이상의 내층이 있다. 예를 들어, 하나의 내층은 제1 치료제를 함유할 수 있고 제2 내층은 제2 치료제를 함유할 수 있다. 추가로, 2개 이상의 내층이 있을 때, 그들은 중합체 유형 또는 분자량이 다르다. 추가로, 2개 이상의 내층이 있을 때, 그들은 용매가 다른 조성물을 이용하여 형성될 수 있다. 아래에서 더 상세히 설명되는 바와 같이, 인접한 층이 용매 및/또는 중합체에 관해 다른 조성물을 이용하여 형성될 때, 2개의 인접한 층으로부터의 물질이 층 형성 동안 섞이는 경향은 더 적다. 몇 가지 구체예에서, 제1 및 제3 조성물은 치료제를 함유하지 않으며, 따라서 몇몇 경우에 제1 및 제3 조성물에 의해 형성된 층은 단지 중합체만 또는 단지 중합체와 비-치료 성분만을 함유한다. 중합체 외층은 치료제의 초기 격발 방출을 조절하는 것에서 장벽으로서 작용할 수 있고 그리고 미세입자의 내층으로부터 이의 차후 방출을 추가로 감소시킬 수 있다. 따라서, 본 명세서에 개시된 미세입자를 형성하는 방법은 감소된 또는 격발하지 않는 방출과 함께 치료제의 서방을 성취하는 데에 유용하다.

[0005] 다층 미세입자를 제조하기 위한 방법이 본 명세서에서 설명되고, 상기 방법은 다음을 포함한다:

[0006] (a) 고체 표면에 제1 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제1 조성물은 제1 중합체와 제1 용매를 포함함, 그리고 침착된 제1 조성물에서 제1 용매를 증발시킴으로써 고체 표면에 제1 중합체를 포함한 층을 형성하는 단계;

[0007] (b) 단계 (a)에서 형성된 층 모두 또는 일부에 제2 조성물을 침착시킴으로써, 여기서 제2 조성물은 제2 중합체, 치료제, 및 제2 용매를 포함함; 그리고 침착된 제2 조성물에서 제2 용매를 증발시킴으로써 제2 중합체와 치료제를 포함한 층을 형성하는 단계; 및

[0008] (c) 이전에 형성된 층에 제3 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써, 여기서 제3 조성물은 제3 중합체 및 제3 용매를 포함함; 그리고 침착된 제3 조성물에서 제3 용매를 증발시킴으로써 제3 중합체를 포함한 추가적인 층을 형성하는 단계.

[0009] 다양한 구체예에서: 제1 및 제3 조성물은 치료제를 함유하지 않고; 제1 및 제3 중합체는 제2 용매에서 낮은 용해도를 갖고; 제2 중합체는 제1 중합체 및 제3 중합체와는 다른 분자량을 갖고; 여기서 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 40 킬로달톤만큼 더 크고; 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 50 킬로달톤만큼 더 크고; 제1 및 제3 중합체는 100-350 킬로달톤의 분자량을 갖고; 제2 중합체는 15-150 킬로달톤의 분자량을 갖고; 제1 및 제3 중합체는 동일한 중합체이고; 제1 및 제3 용매는 동일한 용매이고; 제2 용매는 제1 및 제3 용매와는 다르고; 제1, 제2, 및 제3 중합체는 폴리(락틱-코-글리콜산) (PLGA), 폴리(락트산) (PLA), 폴리(L-락트산) (PLLA), 폴리(글리콜산) (PGA), 및 폴리(ϵ -카프로락톤), 및 폴리(오르토 에스테르)로 구성된 군에서 선택되고; 치료제는 소분자 약물, 웨პ티드 약물, 단백질 약물, 폴리사카라이드 약물, 올리고뉴클레오티드, 및 항체로 구성된 군에서 선택되고; 단계 (a)는 제1 조성물을 1회보다 많이 침착시키는 단계를 포함하고; 단계 (a)는 제1 조성물을 2회 침착시키는 단계 및 제1 조성물에서 제1 용매를 2회 증발시키는 단계를 포함하고; 단계 (c)는 제3 조성물을 1회보다 많이 침착시키는 단계를 포함하고; 단계 (c)는 제3 조성물을 디스펜싱(dispensing)하는 단계 및 제3 조성물에서 제3 용매를 2회 증발시키는 단계를 포함하고; 고체 표면은 실질적으로 평면이고; 고체 표면은 실질적으로 평면이고 코팅되고; 여기서 고체 표면은 웰(well)의 기부이고 그리고 웰은 부분적으로 채워지고, 완전히 채워지고 또는 과하게 채워질 수 있다.

[0010] 몇몇 경우에: 침착시키는 단계는 200, 150, 100 또는 60 마이크론 미만의 평균 지름을 갖는 액적을 발생시키는 장치 (가령, 마이크로프린터(microprinter) 또는 스프레이 제트 프린터(spray jet printer))를 이용하여 뿌리는 단계를 포함한다.

[0011] 하나 이상의 다층 미세입자를 포함하는 조성물이 또한 개시되고, 여기서 하나 이상의 다층 미세입자는 다음을 포함한다:

[0012] 제1 중합체를 포함하는 첫 번째 층; 및

[0013] 치료제와 제2 중합체를 포함하는 두 번째 층, 및 제3 중합체를 포함하는 세 번째 층,

[0014] 여기서 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 더 큼.

[0015]

여러 가지 구체예에서: 첫 번째 및 세 번째 (또한 상부 및 하부라고도 불림) 층은 치료제를 함유하지 않는다; 제1 중합체 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 20 킬로달톤만큼 더 크고; 제1 중합체 및 제2 중합체는 100-350 킬로달톤의 분자량을 갖고; 제2 중합체는 15-150 킬로달톤의 분자량을 갖고; 중합체는 폴리(락트-코-글리콜산) (PLGA), 폴리(락트산) (PLA), 폴리(L-락트산) (PLLA), 폴리(글리콜산) (PGA), 폴리(ϵ -카프로락톤), 및 폴리(오르토 에스테르)로 구성된 군에서 선택되고; 치료제는 소분자 약물, 웨티드 약물, 단백질 약물, 폴리사카라이드 약물, 올리고뉴클레오티드, 및 항체로 구성된 군에서 선택되고; 다층 미세입자는 3차원에서 본질적으로 대칭이고 어떠한 1차원도 80 마이크론보다 크지 않고; 다층 미세입자는 2차원에서 대칭이고 여기서 더 긴 대칭 축을 따르는 치수는 100 마이크론 미만이고, 그리고 더 짧은 대칭축을 따르는 치수는 60 마이크론 미만이고; 조성물은 10 mm 미만인 최대 선형 치수를 가진 주입물(implant)이고; 조성물은 2 mm 미만인 최대 선형 치수를 가진 주입물이고; 조성물은 500 마이크론 미만인 최대 선형 치수를 가진 주입물이고; 조성물은 제약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 추가로 포함하고; 다층 미세입자는 3개 이상의 층을 포함하고; 다층 미세입자는 5개 이상의 층을 포함하고; 다층 미세입자는 균일한 두께의 층을 포함하고; 다층 미세입자는 상이한 두께의 층을 포함하고; 다층 미세입자는 인접한 층과 일치하지 않는 하나 이상의 층을 포함하고; 다층 미세입자는 구멍 (가령, 고리-모양의 구멍)이 있는 하나 이상의 층을 포함하고; 그리고 미세입자는 2개의 대립하는, 실질적으로 평행인 표면을 갖고; 그리고 입자는 실질적으로 원통형이다.

[0016]

본 명세서에서 설명된 바와 같이, 입자는 다수의 층을 가질 수 있고 각각의 층은 주어진 조성물의 다중 적용에 의해 형성될 수 있다. 하지만, 2회 이상의 조성물의 침착이 층을 형성하는 데에 요구됨에도 불구하고, 층은 여전히 단일 층으로 고려되는데 그 이유는 동일한 조성물이 층을 형성하는 데에 이용된 각각의 침착을 위해 이용되었기 때문이다.

[0017]

모든 구체예에서, 여러 가지 층을 형성하는 데에 이용된 중합체는 생분해성 중합체, 예를 들어, 인간, 가령 인간의 눈에 적용하기 위해 제약학적으로 허용되는 생분해성 중합체이다.

[0018]

본 발명의 하나 이상의 구체예의 세부사항은 아래에 첨부한 도면과 설명에서 제시된다. 본 발명의 다른 특징, 목적, 및 장점은 설명 및 도면으로부터, 그리고 청구범위로부터 명확해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0019]

도 1은 시험관내 약물 방출 연구에서 178 킬로달톤 (kDa) PLGA의 외층이 브린졸아미드-함유 미세입자로부터 브린졸아미드의 초기 격발 방출 및 차후 방출 속도를 감소시켰다는 점을 보여주는 선 그래프이다.

도 2는 180 kDa PLLA-20의 외층이 브린졸아미드-함유 미세입자로부터 브린졸아미드의 초기 격발 방출 및 차후 방출 속도를 178 kDa PLGA의 외층이 그러한 것과 유사한 정도로 감소시켰다는 점을 보여주는 선 그래프이다.

도 3은 시험관내 약물 방출 연구에서 109 kDa PLGA의 외층이 아세타졸아미드로부터 아세타졸아미드의 초기 격발 방출을 감소시켰다는 점을 보여주는 선 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020]

상세한 설명

[0021]

본 개시는 치료제의 서방을 위한 다층 미세입자를 형성하는 방법의 특징을 이룬다. 다층 미세입자는 다음 단계를 이용하여 형성될 수 있다. 첫 번째로, 제1 중합체를 포함한 하부의 외층은 고체 표면에, 제1 중합체 및 제1 용매를 함유한, 제1 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써 그리고 제1 용매를 증발시킴으로써 형성될 수 있다. 그 다음, 1개 이상의 내층은 하부 층 모두 또는 일부에, 제2 중합체, 치료제, 및 제2 용매를 함유한 제2 조성물을 침착시킴으로써 그리고 제2 용매를 증발시킴으로써 형성될 수 있다. 마지막으로, 제3 중합체를 포함한 추가적인 상부 외층은 마지막에 형성된 층에, 제3 중합체 및 제3 용매를 포함한, 제3 조성물을 1회 이상 침착시킴으로써 그리고 제3 용매를 증발시킴으로써 형성될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 제1 및 제3 조성물은 동일한 조성물이다. 예를 들어, 제1 및 제3 중합체는 동일한 중합체일 수 있고; 제1 및 제3 용매는 동일한 용매일 수 있다. 다른 경우에, 제1 및 제3 중합체는 상이할 수 있다. 몇몇 경우에, 제1 및 제3 용매는 제2 용매와는 다르고 또는 제1 및 제3 중합체는 제2 중합체와는 다르며 따라서 제1 및 제3 중합체가 제2 중합체보다 제2 용매에서 덜 용해성이다.

[0022]

몇몇 구체예에서, 제1 및 제3 조성물은 치료제를 함유하지 않으며, 따라서 이들 구체예에서, 제1 및 제3 조성물에 의해 형성된 상부 및 하부 외층은 중합체 단독의 외층이거나 중합체 및 비-치료적 성분을 함유한다. 이러한 외층이 없는 약물-중합체 미세입자는 아마도 용매내 약물과 중합체의 상이한 용해도, 그리고 미세입자 표면 쪽

으로 증발하는 용매와 함께 약물의 이동 때문에, 용매 증발 단계 동안 약물과 중합체 사이에서 물리적인 분리가 야기되는 약물 포켓(drug pocket)을 가지는 경향이 있다. 투여 후, 특히 약물 포켓으로부터 미세입자 표면 상의 약물은 대형의 초기 격발로서 방출하는 경향이 있다. 더욱이, 약물 포켓의 용해는 더욱 다공성인 미세입자를 야기시키고 그리고 이것은 약물 방출 속도를 추가적으로 증진시킨다. 본 명세서에 개시된 미세입자는 내충 또는 내충들에 함유된 치료제의 초기 격발 방출을 조절하는 것에서 장벽으로서 작용할 수 있고 그리고 미세입자의 내충으로부터 차후 방출 속도를 더 낮출 수 있는 외충을 갖는다. 따라서, 본 명세서에 개시된 미세입자는 형성하는 방법은 장기간에 걸쳐 치료제의 서방을 성취하는 데에 유용하다.

[0023] 몇몇 구체예에서, 외충 (때로는 상부 및 하부 충으로서 언급됨)은 치료제를 함유할 수 있고 이 치료제는 내충 (또는 내충들)에서 존재하는 것과 동일한 치료제일 수 있고 또는 상이할 수 있다.

[0024] 차후 침착 단계에서 이전에 형성된 충의 부분적인 용해를 피하기 위해 그리고 인접한 충의 섞임을 피하기 위해, 몇몇 구체예에서, 이전에 형성된 충에서의 중합체는 차후 적용되는 조성물의 용매에서 낮은 용해도를 가질 수 있다. 예를 들어, 제1 중합체는 제2 용매에서 낮은 용해도를 가질 수 있고 따라서 제1 중합체를 포함한 건조된 하부 외충은 치료제-함유 내충 또는 내충들의 형성 동안 제2 용매에 의해 유의적으로 용해되지 않는다. 제3 중합체도 또한 제2 용매에서 낮은 용해도를 가질 수 있고, 따라서 제3 중합체를 포함한 추가적인 상부 외충은 마지막 치료제-함유 내충과 혼합되지 않는데, 그 이유는 제2 중합체 및 제3 중합체가 제2 용매에서 그들의 상이한 용해도 때문에 분리된 양상으로 남아있기 때문이다.

[0025] 몇몇 경우에, 인접한 충을 형성하는 데에 이용되는 조성물에서 이용된 용매는 동일하지만, 중합체 또는 중합체 분자량에서의 차이는 이전에 형성된 충을 용해시키거나 부분적으로 용해시키는, 차후 적용되는 용매 함유 조성물의 경향을 감소시켰다.

[0026] 주어진 용매내 중합체의 용해도는 Hilderbrand 용해도 파라미터 (δ)로 평가될 수 있다. Hilderbrand 용해도 파라미터 (δ)의 계산은 Miller-Chou, B.A. and Koenig, J.L.에 의해 저술된 검토 논문 (*A review of polymer dissolution*, Prog. Polym. Sci. 28:1223-1270, 2003)에서 설명되며, 이는 본 명세서에서 참조로서 완전히 편입된다. 간단하게, Hilderbrand 용해도 파라미터 (δ)는 응집 에너지 밀도 (CED)의 제곱근이다:

$$\delta = (CED)^{1/2} = (E/V)^{1/2} = [(\Delta H_{vap}-RT)/V]^{1/2}$$

[0028] 여기서 H_{vap} 는 증발 엔탈피이고, V 는 부피이고, 그리고 T 는 절대 온도이다. 용해도는 중합체와 용매 사이의 구조적 유사성에 의해 크게 영향을 받으며, 이는 "비슷한 것끼리 녹는다(like dissolves like)" 원리로서 공지된다. 따라서, $\delta 1$ 이 용매의 Hilderbrand 용해도 파라미터이고, 그리고 $\delta 2$ 가 중합체의 Hilderbrand 용해도 파라미터라면, 중합체는 $|\delta 1 - \delta 2|$ 가 작을 때, 가령 $|\delta 1 - \delta 2| < 4$ 일 때 용매에서 높은 용해도를 나타낸다. 대조적으로, $|\delta 1 - \delta 2|$ 가 클 때, 가령 $|\delta 1 - \delta 2| > 4$ 일 때, 중합체는 용매에서 낮은 용해도를 갖는다. 몇몇 구체예에서, 제2 용매는 제2 조성물내 치료제에 기반하여 선택된다. 제1 및 제3 중합체는 이의 Hilderbrand 용해도 파라미터와 제2 용매의 Hilderbrand 용해도 파라미터 사이의 큰 차이 (즉, 큰 $|\delta 1 - \delta 2|$ 값)에 기반하여 선택될 수 있다.

[0029] 중합체의 분자량은 주어진 용매에서 이의 용해도에 영향을 미친다: 중합체의 더 높은 분자량은 이의 용해도를 낮춘다 (Prog. Polym. Sci. 28:1223-1270, 2003). 몇몇 구체예에서, 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 더 크다. 예를 들어, 제1 및 제3 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 40 킬로달톤 (kDa)까지, 가령 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40kDa, 45 kDa, 50 kDa, 55 kDa, 60kDa, 65 kDa, 70kDa, 75 kDa, 80 kDa, 85 kDa, 90 kDa, 95 kDa, 100 kDa까지 더 클 수 있다. 예를 들어, 제1 및 제3 중합체는 100-350 kDa의 평균 분자량을 가질 수 있고; 그리고 제2 중합체는 15-150 kDa의 평균 분자량을 가질 수 있다. 몇몇 경우에, 내충과 동일한 분자량의 중합체로 형성된 외충을 갖는 것이 바람직할 수 있다. 심지어 내충 보다 더 적은 분자량의 중합체로 형성된 외충을 갖는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 내충(들)을 형성하는 데에 이용되는 중합체의 분자량은 외충을 형성하는 데에 이용되는 중합체의 분자량보다 적어도 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 킬로달톤 (kDa)까지, 가령 40kDa, 45 kDa, 50 kDa, 55 kDa, 60kDa, 65 kDa, 70kDa, 75 kDa, 80 kDa, 85 kDa, 90 kDa, 95 kDa, 100 kDa까지 더 클 수 있다.

[0030] 매우 다양한 중합체는 미세입자를 형성하는 데에 이용될 수 있고 중합체의 고유성 및 농도는 바람직한 약물 방출 특성을 가진 입자를 제공하기 위해 미세입자의 여러 가지 충에서 달라질 수 있다. 중합체의 비-제한 예시는 다음을 포함한다: 폴리(락틱-코-글리콜산) (PLGA), 폴리(락트산) (PLA), 폴리(L-락트산) (PLLA), 폴리(글리콜산) (PGA), 폴리(ϵ -카프로락톤) (PCL), 및 폴리(오르토 에스테르) (POE), 그리고 다른 천연 생분해

성 중합체, 가령 콜라겐, 키토산, 및 폴리(아미노산). 몇몇 구체예에서, 제1 및 제3 중합체는 PLGA, PLA, 및 PLLA에서 선택될 수 있다. 제2 중합체는 PLGA, PLA, PLLA, PGA, PCL, 및 POE에서 선택될 수 있다.

[0031] 다양한 치료제는 본 명세서에서 설명된 다층 미세입자를 이용하여 전달될 수 있다. 예를 들어, 치료제는 소분자 약물, 웨티드 약물, 단백질 약물, 폴리사카라이드 약물, 올리고뉴클레오티드, 또는 항체일 수 있다.

[0032] 여러 가지 용매는 치료제, 중합체, 및 제제의 유형에 기반하여 미세입자 제작에서 이용될 수 있다. 예를 들어, 제1, 제2, 및 제3 용매는 2012년에 식품 의약국(Food and Drug Administration)에 의해 발행된 *Industry Q3C Impurities: Residual Solvents*에 대한 ICH Guidance에 따라 클래스(Class) 3 또는 클래스 2 유기 용매로부터 선택될 수 있다. 클래스 3 용매는 덜 독성이고 인간 건강에 덜 위험하고 그리고 아세트산, 아세톤, 아니솔, 메틸 아세테이트, 에틸 아세테이트, 이소부틸 아세테이트, 프로필 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 부틸 아세테이트, 1-부탄올, 2-부탄올, 3-메틸-1-부탄올, 메틸에틸케톤, 삼차-부틸메틸 에테르, 메틸이소부틸케톤, 디메틸 설록시드 (DMSO), 2-메틸-1-프로판올, 에탄올, 에틸 에테르, 에틸 포르메이트, 포름산, 헵탄, 펜탄, 1-펜탄올, 1-프로판올, 및 2-프로판올을 포함한다. 클래스 2 용매는 독성이지만 그들의 잔여 농도가 FDA 명시된 수준에 제한된다면, 제약품에서 이용될 수 있다. 클래스 2 용매는 아세토니트릴, 클로로벤젠, 클로로폼, 큐멘, 사이클로헥산, 1,2-디클로로에텐, 디클로로메텐, 1,2-디메톡시에탄, N,N-디메틸아세트아미드, N,N-디메틸포름아미드, 1,4-디옥산, 2-에톡시에탄올, 에틸렌 글리콜, 포름아미드, 헥산, 메탄올, 2-메톡시에탄올, 메틸부틸케톤, 메틸사이클로헥산, N-메틸피롤리돈, 니트로메탄, 피리딘, 설포레인, 테트라하이드로푸란, 테트랄린, 툴루엔, 트리클로로에틸렌, 및 자일렌을 포함한다. 이들 용매는 여러 가지 유형의 치료제, 중합체, 및 제제에 대해 큰 유통성을 허용한다. 제2 용매는 제2 조성물의 치료제에 기반하여 선택될 수 있다. 제1 및 제3 용매는 각각, 제1 및 제3 중합체에 기반하여 선택될 수 있다.

[0033] 제1, 제2, 및 제3 조성물은 액체, 젤 또는 페이스트(paste)일 수 있다. 몇몇 경우에, 치료제는 제2 용매와 제2 중합체를 함유한 조성물에서 완전히 용해되기보다는 적어도 부분적으로 현탁된다. 때때로, 치료제의 일부분은 용해되고 일부분은 현탁된다. 몇몇 구체예에서, 조성물은 조절되는 방식으로 적은 양의 액체를 디스펜싱할 수 있는 장치, 가령 마이크로프린터를 이용하여 고체 표면 상에 침착될 수 있다. 예를 들어, 미세입자의 층은 고체 표면 또는 이전에 형성된 층에 60 마이크론 미만의 평균 지름을 갖는 액적을 뿌리는 마이크로프린터에 의해 형성될 수 있다. 많은 경우에, 각각의 층은 1회의 침착 단계 및 1회의 증발 단계를 이용하여 형성된다. 하지만, 몇몇 경우에는 선택된 조성물을 침착 및 증발 단계를 반복함으로써 더 두꺼운 층을 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 침착 단계 및 증발 단계는 1회, 2회, 또는 3회 반복될 수 있다. 용매는 실온에서, 가령 5 내지 20분 동안 침착된 조성물을 공기 건조시킴으로써 증발될 수 있다. 주어진 층이 완전해지기 때문에 증발은 각각의 침착 단계 후, 몇 회의 침착 단계 후 또는 모든 침착 단계 후 발생할 수 있다. 하지만, 주어진 층에서 실질적으로 모든 용매의 증발은 차후의 층을 형성하기 위해 물질의 침착에 앞서 일어난다는 점이 바람직하다.

[0034] 제제 및 용매 조성물 및 이용된 침착 과정에 따라서, 미세입자는 여러 가지 유형의 층을 포함할 수 있다: 1) 서로의 상부에 겹겹이 놓인 단순 평면 층, 2) 서로 일치하지 않는 층, 3) 바깥쪽 지름이 층의 중간 부분 보다 더 두꺼운 도넛 모양을 갖는 비-균일 층, 4) 바깥쪽 지름이 층의 중간 부분 보다 더 얇은, 반-구체 모양을 갖는 비-균일 층. 일반적으로, 주어진 층은 균일한 두께를 가질 필요가 없다.

[0035] 몇몇 구체예에서, 조성물은 실질적으로 평면 표면에 침착될 수 있고 따라서 표면에 형성된 미세입자는 아래 설명된 바와 같은 표면으로부터 차후에 방출될 수 있다. 실질적으로 평면 표면은 조성물의 침착 및/또는 형성된 미세입자의 방출을 촉진시키기 위해 코팅될 수 있다.

[0036] 몇몇 구체예에서, 다수의 웨를 가진 템플레이트는 미세입자를 제작하기 위해 이용될 수 있다. 하이드로겔 템플레이트를 이용하는 미세가공 기술은 Park (Journal of Controlled Release 141:314-319, 2010)에서 설명된다. 다른 유형의 템플레이트를 이용하는 다른 미세가공 기술은 Whitesides (Annual Review Biomed Engineering 3:335-73, 2001)에서 설명된다. 템플레이트를 이용할 때, 템플레이트에서 웨의 기부는 고체 표면으로서 역할을 하고, 그리고 다층 미세입자는 조성물로 웨를 완전히 채우거나, 부분적으로 채우거나, 또는 과하게 채움으로써 템플레이트의 하나 이상의 웨에서 형성될 수 있다. 이 방식으로 형성된 다층의 미세입자는 그들이 형성되는 웨의 모양을 취할 것이다 (가령, 원통, 정육면체, 직사각형 프리즘은 이 방식으로 형성될 수 있음). 추가로, 거의 구체인 입자는 반구체 템플레이트, 매우 낮은 프로필 템플레이트 또는 별도로 코팅된 유리 또는 다른 기질로 만든 본질적으로 평면인 템플레이트를 이용함으로써 침착된 조성물이 비조절 방식으로 기질을 가로질러 퍼지기보다는 특정한 모양을 유지시키도록 하는 방식으로 기질의 표면이 변화되도록 조립될 수 있다. 이 방식으로, 반구체 구조는 구조가 템플레이트 위로 돌출될 때까지 서로의 상부에 층을 쌓아 올림으로써 생성될 수 있고 그리고

건조된다. 몇몇 경우에, 조성물의 특성 (용매, 점도 등)은 입자의 모양을 조절한다.

[0037] 웨를 가진 템플레이트가 미세입자를 이용하는 데에 이용될 때, 미세입자는 템플레이트를 용해시킴으로써 템플레이트로부터 바람직하게 제거된다. 따라서, 템플레이트는 수용성, 가령 하이드로겔일 수 있다. 미세입자가 일단 완전해지면, 그들은 아래에서 설명된 바와 같이 템플레이트로부터 방출될 수 있다.

[0038] 템플레이트가 이용되는 경우, 템플레이트는 주형을 이용하여 형성될 수 있다. 주형은 포토레지스트 (photoresist)로 실리콘 웨이퍼(silicon wafer)를 코팅하고 템플레이트를 위해 바람직한 모양으로 에칭 (etching)함으로써 제조될 수 있고, 이후 상기 템플레이트는 주형 상에서 형성된다. 템플레이트에서 웨는 결과적 미세입자가 사각형, 직사각형, 원형 또는 몇 가지 다른 바람직한 모양인, 적어도 하나의 횡단면을 가질 수 있도록 임의의 바람직한 모양이 될 수 있다.

[0039] 미세입자는 임의의 적절한 수단을 이용하여, 가령 미세입자를 실질적으로 용해시키지 않는 용매에 담금으로써 그리고 여과시키거나 또는 원심분리함으로써 평면 표면 또는 템플레이트로부터 방출될 수 있다. 예를 들어, 수용성 하이드로겔 템플레이트가 이용될 때, 바람직한 온도의 물에서 템플레이트를 용해시킴으로써 미세입자가 방출될 수 있다. 체(sieve)를 통해 미세입자-함유 혼탁액 또는 용액을 여과시킴으로써, 그리고 체의 상부 표면에 미세입자를 수집함으로써 미세입자가 수확될 수 있다. 초과수(excess water)를 제거하기 위하여, 수집된 미세입자는 가령, 12시간 동안 동결 건조될 수 있고, 그리고 이후 1 내지 10일 동안, 가령 5일 동안 진공 건조될 수 있다. 지지 표면 또는 템플레이트는 액체 질소 또는 다른 냉각된 기류(gas stream)에 담그어질 수 있다. 미세입자는 공기로 또는 진공 하에 분출될 수 있다. 추가적으로, 템플레이트는 비용매에 담그어질 수 있고 초음파 처리되어 미세입자를 방출할 수 있다.

[0040] 다층 미세입자를 함유한 조성물이 또한 본 명세서에 개시된다. 조성물의 각각의 다층 미세입자는 제1 중합체를 포함한 하나 이상의 외층; 및 치료제와 제2 중합체를 포함한 하나 이상의 내층을 포함한다. 일반적으로, 하나 이상의 외층은 치료제를 함유하지 않는다. 제1 중합체의 분자량은 제2 중합체의 분자량보다 적어도 20 킬로달톤 만큼, 가령, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40kDa, 45 kDa, 50 kDa, 55 kDa, 60kDa, 65 kDa, 70kDa, 75 kDa, 80 kDa, 85 kDa, 90 kDa, 95 kDa, 100 kDa 만큼 더 크다. 예를 들어, 제1 중합체는 100-350 kDa의 평균 분자량을 가질 수 있고; 제2 중합체는 15-150 kDa의 평균 분자량을 가질 수 있다. 제1 및 제2 중합체는 다음에서 선택될 수 있다: 폴리(락틱-코-글리콜산) (PLGA), 폴리(락트산) (PLA), 폴리(L-락트산) (PLLA), 폴리(글리콜산) (PGA), 폴리(ε-카프로락ton) (PCL), 및 폴리(오르토 에스테르) (POE), 그리고 다른 천연 생분해성 중합체, 가령 콜라겐, 키토산, 및 폴리(아미노산).

[0041] 몇몇 구체예에서, 다층 미세입자는 3차원에서 본질적으로 대칭이고 어떠한 1차원도 80마이크론보다 더 크지 않다. 몇몇 구체예에서, 다층 미세입자는 2차원에서 대칭이고, 그리고 더 긴 대칭축을 따르는 치수는 100 마이크론 미만이고, 반면에 더 짧은 대칭축을 따르는 치수는 60 마이크론 미만이다.

[0042] 몇몇 구체예에서, 미세캡슐의 평균 (입자 부피 기준) D_v (동일한 부피의 구체 입자의 지름)는 100 μm 미만이고; 미세캡슐의 평균 D_v 는 다음에서 선택된다: 90, 80, 70, 60 또는 50 μm . 몇몇 구체예에서, 미세입자는 실질적으로 단순 분산이다. 몇몇 구체예에서, 조성물에서 미세캡슐의 적어도 70% (80%, 90%)는 조성물에서 미세캡슐의 평균 D_v 가 단지 50% (40%, 30%, 20% 또는 그 미만)까지만 달라진다. 몇몇 경우에, 미세캡슐의 평균 최대 선형 치수는 100, 90, 80, 70, 60, 50 또는 40 μm 에서 선택되고 30, 40 또는 50 μm 보다 더 크다. 몇몇 구체예에서, 미세입자는 가령, 2개의 외층과 1개의 내층을 포함하여, 3개 이상의 층을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세입자는 2개의 외층 (상부 외층 및 하부 외층)과 2개 이상의 (가령, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개)내층을 포함하여, 4개 이상의 층을 포함한다. 미세입자는 다양한 유형의 층을 포함할 수 있다. 예를 들어, 다층 미세입자는 균일한 두께의 층을 함유할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 미세입자는 서로의 상부에 겹겹이 놓인 균일한 평면 층으로 구성된다. 다층 미세입자는 또한 상이한 두께의 층을 함유할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 미세입자는 인접한 층, 가령 고리-모양의 구멍을 가진 도넛 모양의 층 또는 반구체 층과 일치하지 않는 하나 이상의 층을 함유한다. 일반적으로, 주어진 층은 균일한 두께를 가질 필요가 없다. 예를 들어, 미세입자는 바깥쪽 지름이 층의 중간 부분보다 더 두껍거나 더 얇은 경우 비-균일 층을 함유할 수 있다.

[0043] 본 명세서에서 설명된 조성물은 또한 치료제의 특정한 조제를 위해 적합한 부형제, 운반제, 또는 완충액을 포함할 수 있다.

[0044] 몇몇 구체예에서, 다층 미세입자를 함유한 조성물은 환자에게 주사될 때 주입물을 형성할 수 있다. 주입물은 0.5 내지 10 mm의 최대 선형 치수를 가질 수 있다, 가령 2 mm x 0.75 mm의 치수를 가진 원통형 주입물. 주입물

의 총 무게는 100 내지 5000 마이크로그램 (가령, 250-1000 마이크로그램)이 될 수 있다. 이러한 대형 주입물은 더 많은 양의 치료제를 함유할 수 있고 치료제는 더 긴 시간에 걸쳐 방출될 수 있다. 예를 들어, 미세입자는 적어도 3개월, 6개월, 9개월, 12개월, 18개월, 2년 또는 더 긴 기간에 걸쳐 치료제를 방출하도록 조제될 수 있다.

[0045] 조성물은 여러 가지 방식으로 템플레이트 또는 평면 표면에 침착될 수 있다. 예를 들어, 평면 표면에 침착을 위해 마이크로프린터가 이용될 때, 각각의 층의 면적은 초기에, 프린터 노즐(nozzle)의 지름, 층을 형성하기 위해 침착된 액상 조성물의 양 그리고 액상 조성물의 물리적 특성에 의존한다. 하지만, 프린트 머리부를 움직임으로써, 여러 가지 크기와 모양으로 층을 형성하는 것이 가능하다. 조절가능한 프린트 머리부를 이용함으로써, 상이한 층은 상이한 크기 및/또는 모양을 가질 수 있다. 예를 들어, 첫 번째 층은 50 마이크론 지름의 디스크(disk)일 수 있고 두 번째 층은 첫 번째 층 중심에 있는 20 마이크론 지름의 디스크일 수 있고 그리고 세 번째 층은 첫 번째 층 중심에 있는 50 마이크론 지름의 디스크일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 액상 조성물은 실질적으로 평면 표면보다는 템플레이트에 마이크로프린터에 의해 침착될 수 있다. 이 구체예에서, 마이크로프린터는 다수의 웨일을 가진 템플레이트의 하나 이상의 웨일에 액상 조성물을 침착시킨다.

[0046] 마이크로프린터를 이용할 때, 프린팅 노즐 효율을 개선시키기 위해, 노즐 막힘을 방지하기 위해, 침착된 액상 조성물에서 용매의 증발을 조절하기 위해, 그렇지 않으면 바람직한 상태를 제공하기 위해 액상 조성물의 침착이 일어나는 봉입 환경이 조절될 수 있다. 중합체, 용매, 치료제, 부형제, 및 제제에 따라서, 온도, 습도, 및 대기 압력을 증가시키거나 감소시키는 것이 유용할 수 있다. 불활성 기체 환경 (가령, 질소 또는 아르곤)을 이용하거나 또는 용매로 적어도 부분적으로 포화된 환경을 이용하는 것이 또한 유용할 수 있다. 더욱이, 노즐의 온도 및/또는 침착 표면은 냉각 또는 가열에 의해 조절될 수 있다.

[0047] 실시예

[0048] 본 발명은 다음 실시예에서 추가로 설명되며, 이는 청구범위에서 설명되는 발명의 범위를 제한하지 않는다.

[0049] 재료

[0050] 상업적으로 이용가능한 재료: 폴리비닐 알코올 (PVA, Sigma); 폴리(락틱-코-글리콜릭) (PLGA): 54 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 6535DLG4A), 109 또는 118 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E), 115 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E), 및 178 kDa PLGA (Akina 8520); 폴리(L-락트산) (PLLA): 180 kDa PLLA-20 (Akina); 브린졸아미드 (BRZ, Chemvon Biotechnology), 아세타졸아미드 (ACZ, Spectrum Chemical), 테트라하이드로푸란 (THF, EMD Millipore), 디클로로메탄 (DCM, EMD Millipore), 디메틸포름아미드 (DMF, EMD Millipore) 및 인산 완충 식염수 pH 7.4 (PBS, VWR International)를 이용하여 실험을 수행하였다.

[0051] 사진평판술에 의한 실리콘 웨이퍼 마스터 템플레이트(silicon wafer master template)의 제작

[0052] 바람직한 두께를 얻기 위해 30초 동안 3,500 rpm에서 SU8 2010 포토레지스트 (Microchem, MA)로 실리콘 웨이퍼를 스핀 코팅하였고 그 다음 3분 동안 95 °C에서 열처리하였다. 12초 동안 10 μm 지름 원형 패턴을 포함한 마스크를 통하여 포토레지스트 코팅된 실리콘 웨이퍼를 UV 복사에 노출시켰다. 노출 후, 실리콘 웨이퍼를 3분 동안 95 °C에서 후 열처리하였고 그 다음 2분 동안 SU-8 현상액에서 현상하였다. 실리콘 웨이퍼를 이소프로판올로 헹구고 질소 기체로 건조시켰다. 따라서 1.5 μm 내지 50 μm 이상의 범위에 있는 지름을 가진 웨일 포함된 웨이퍼를 제작하였다.

[0053] e-광선 평판술에 의한 실리콘 마스터 템플레이트의 제작

[0054] Auto CAD 2007 프로그램을 이용하여 500 nm 지름에 대한 원형 패턴을 설계하였다. 1 μm 두께 SiO₂ 층으로 덮인 3" 실리콘 웨이퍼 (100) (University Wafer)를 스핀 코팅 (SCS P6708 스핀 코팅 시스템, 3500 rpm, 30 초)을 이용하여 300 nm 두께 층의 폴리(메틸 메타크릴레이트) (PMMA, Microchem) 포토레지스트로 스핀 코팅하였다. 코팅된 PMMA 포토레지스트 층을 Leica VB6 High Resolution Ultrawide Field Photolithography Instrument (100 KV에서 작동시킴, 전달률 25 MHz 전류 5 nA)를 이용하여 미리 프로그래밍된 패턴에서 전자 광선 (e-광선)에 노출시켰다. e-광선 평판술 후에, 포토레지스트의 노출된 영역을 제거하기 위해 3:1 이소프로판올:메틸 이소부틸 케톤 용액에서 실리콘 웨이퍼를 현상하였다. 이 패턴 상에서 5 nm 크롬 층 및 20 nm 금 층이 침착되었고 그 다음 환류 아세톤에서 잔여 PMMA 필름을 떼어 내었다. SF6/02 플라즈마(plasma)로 심도 반응성 이온 엣칭함으로써 밑에 놓인 실리콘 옥사이드로 패턴을 읊겼다. 발생된 실리콘 마스터 템플레이트를 하이드로겔 템플레이트의 제작에서 이용하였다.

[0055] 용해가능한 PVA 템플레이트의 제작

미세캡슐을 생성하기 위한 임시 템플레이트를 수성 용액에서 또는 수성 및 유기 용액의 혼합물 (가령, 물 및 에탄올)에서 용해될 수 있는 중합체를 이용하여 형성시킬 수 있다. 임시 템플레이트를 용해시키기 위해 실온에서 증가되거나 감소되게끔, 템플레이트 용해를 위해 이용되는 용액의 pH 및 온도를 변경할 수 있다. 실시예에서 이용되는 템플레이트를 형성하기 위해, 맑은 폴리(비닐 알코올) (PVA) 용액 (물에서 15% w/v, 5 mL)을 실리콘 웨이퍼 마스터 템플레이트, 또는 원형 기둥 (가령, 50 μm 지름 및 70 μm 높이의 기둥)을 포함한 폴리(디메틸 실록산) (PDMS), (3" 지름)으로 만든 선택적인 중간 템플레이트 상으로 피펫을 이용하여 옮겼다. 마스터 또는 PDMS 템플레이트를 완전히 덮는 얇은 필름을 형성하기 위해 PVA 용액을 고르게 퍼트렸고 그리고 이를 30분 동안 70°C의 오븐에 보관하였다. 이 단계는 얇고 기계적으로 강한 PVA 템플레이트의 형성을 초래하였다. 마스터 템플레이트 또는 PDMS 중간 템플레이트로부터 PVA 템플레이트를 벗겨내었다. 얇은 PVA 템플레이트는 지름이 약 3"였으며, 원형 웨일 (가령, 50 μm 지름 및 70 μm 깊이의 웨일)을 포함하였다. 명시야 반사율 현미경으로 PVA 템플레이트를 검사하여 이의 구조적 완전성을 측정하였다.

[0057] 치료제-함유 미세입자의 제작

10-15% (w/v, 치료제 및 중합체를 합한 무게) 약물-중합체 혼탁액 또는 용액을 만들기 위해 적절한 용매에서 치료제 및 제제 중합체를 용해시켰다. 치료제는 약물-중합체 혼탁액/용액에서 전체 고체 중 1-30%를 구성하고; 제제 중합체는 고체의 나머지를 구성한다. 치료제에 기반하여 용매를 선택하였다. 코팅 중합체를 그 중합체에 적합한 용매에서 용해시킴으로써 코팅 중합체 용액을 제조하였다.

예를 들어, 브린졸아미드-함유 미세입자를 만들기 위해, 분쇄된 또는 미세 유통화된 브린졸아미드 및 PLGA (118 kDa 또는 115 kDa)를 디클로로메탄에서 용해시켜 15% (w/v) 약물-중합체 혼탁액을 얻었다. 약 5-7.5% (w/v) 농도에 도달하기 위해 디클로로메탄에서 178 kDa PLGA (Akina 8520) 또는 180 kDa PLLA-20 (Akina)을 용해시킴으로써 코팅 중합체 용액을 제조하였다.

아세타졸아미드-함유 미세입자를 만들기 위해, 아세타졸아미드를 우선, 디메틸포름아미드 (DMF)에서 용해시켜 300 mg/mL 스톡(stock)을 만들고, 그 다음 스톡을 디클로로메탄 항-용매 내로 균질화시켜 아세타졸아미드 미세 결정체를 형성하였다. 15% (w/v) 약물-중합체 혼탁액을 얻기 위해 아세타졸아미드 미세 결정체 및 PLGA (65kDa)를 디클로로메탄에서 용해시켰다. 약 2% (w/v) 농도에 도달하기 위해 디클로로메탄에서 109 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)를 용해시킴으로써 코팅 중합체 용액을 제조하였다.

50 μm 지름 및 70 μm 깊이의 원형 웨일을 포함한 수용성 PVA 하이드로겔 템플레이트를 이용하여 미세입자를 형성하였다. 우선, PVA 템플레이트에서 하나 이상의 웨일의 기부에서 150 μl의 코팅 중합체 용액을 디스펜싱함으로써 중합체 단독 하부 외층을 형성하였다. 코팅 중합체 용액을 템플레이트에 침착시킬 수 있고 웨일 내로 코팅 중합체 용액을 촉구하기 위해 그리고 웨일 사이의 템플레이트의 표면에서 초과 용액을 실질적으로 제거하기 위해 블레이드(blade)를 템플레이트의 표면을 가로질러 끌 수 있다. 대안으로, 마이크로 디스펜서(dispenser)를 이용하여 또는 뿌림으로써 웨일 내로 직접 코팅 중합체 용액을 침착시킬 수 있다. 코팅 중합체 용액을 침착시킨 후, 디클로로메탄이 실온에서 5분 동안 공기로 증발되도록 하였다. 더 두꺼운 외층을 위해 침착 단계를 반복할 수 있다. 따라서, 코팅 중합체 용액은 1, 2, 3회 이상 침착될 수 있다. 하지만, 웨일은 이 과정 동안에 오로지 부분적으로만 채워져야 한다. 하부 외층이 완전해졌기 때문에 용매의 증발은 각각의 침착 단계 후, 모든 침착 단계보다는 적은 횟수의 침착 단계 후 또는 모든 침착 단계 후에 일어날 수 있다. 하지만, 하부 외층에서 용매는 물질이 침착하여 내층을 형성하기 전에 증발되어야 한다.

그 다음, 이전에 형성된 하부 외층에 150 μl의 약물-중합체 혼탁액을 디스펜싱함으로써 약물 함유 내층을 형성하였다. 이전에 형성된 하부 외층에 약물-중합체 혼탁액을 침착시키고 그 다음 실온에서 5분 동안 공기 중에서 디클로로메탄을 증발시켰다. 미세입자내 약물-중합체 내층을 위해 이 단계를 3 내지 6회 반복하였다. 코팅 중합체 용액과 동일한 방식으로 또는 상이한 방식으로 약물-중합체 혼탁액을 웨일에서 침착시켰다 (가령, 이 둘 모두, 퍼트립으로써 침착시킬 수 있고 또는 하나는 퍼트립으로써 침착시키고 다른 하나는 디스펜싱함으로써 침착시킬 수 있음).

최종적으로, 내층에 150 μl의 코팅 중합체 용액의 침착으로 상부 외층을 형성하였다. 코팅 중합체 용액을 내층에 고르게 퍼트렸고 그 다음 실온에서 5분 동안 공기 중에서 디클로로메탄을 증발시켰다. 하부 외층의 형성과 마찬가지로, 더 두꺼운 외층을 위해 이 단계를 반복할 수 있다.

바람직한 모든 층을 형성한 후, 미세입자를 가진 PVA 템플레이트를 적어도 12시간 동안 실온에서 건조시켰다.

이후, 적어도 30분 동안 37°C의 물에서 템플레이트를 용해시킴으로써 미세입자를 수화하였다. 먼저 104 마이크론 체를 통해 미세입자-함유 혼탁액을 여과시켰다. 이후, 45 마이크론 체로 여과물을 여과시켰고, 그리고 45 마이크론 체의 상부 표면에서 미세입자를 수집하였다. 수집된 미세입자를 적어도 12시간 동안 동결 보존시키고, 이후 5일 동안 40°C에서 진공 건조시켰다.

[0065] 시험관내 약물 방출 연구

시험관내 브린졸아미드 방출 연구를 위하여, 적어도 5 mg의 브린졸아미드-함유 미세입자를 10 mL의 인산 완충 식염수 (PBS)에서 혼탁시키고, 그리고 시험관내 약물 방출 연구를 위한 37°C의 진탕 수조에 두었다. 지정된 검사점 (가령, 초기 인큐베이션 후 매주)에, 샘플을 원심분리하고 그리고 고-성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)로 브린졸아미드 분석을 위해 1 mL의 상청액을 제거하였다. 차후, 8 mL의 상청액을 제거하여 폐기하였고, 그리고 9 mL의 신선한 PBS를 샘플에 다시 첨가하였다. 다음 방출 기간에 걸쳐 수반되는 1 mL의 제거되지 않은 상청액내 약물을 설명하기 위해 적절한 보정이 이루어졌다. 종결점에 도달할 때까지 각각의 검사 시점 (가령, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주)에 동일한 절차가 뒤따랐다.

시험관내 브린졸아미드 방출 결과를 방출된 약물의 누적 퍼센트로서 도 1-2에서 제시하였다. 도 1-2에서 나타난 바와 같이, 178 kDa PLGA (Akina 8520)의 외층은 이러한 외층이 없는 미세입자와 비교하여 브린졸아미드의 초기 격발 방출을 크게 감소시켰다. 유의적으로, 2주에, 178 kDa PLGA (Akina 8520)의 중합체 단독 외층을 가진 미세입자로부터 브린졸아미드의 점증적인 방출은 약 40%이고, 반면에 외층이 없는 미세입자로부터 상기 방출은 80% 초과이다 (도 1). 도 2에서, 180 kDa PLLA-20 (Akina)의 외층을 가진 미세입자에서 초기 격발 방출에서의 유사한 감소를 관찰하였다. 더욱이, 178 kDa PLGA의 외층을 가진 미세입자는 18주에 걸쳐 약물 브린졸아미드의 연장된 방출을 성취하였고, 반면에 이러한 외층이 없는 유사한 미세입자는 첫 3주 동안에 약물의 90%를 방출하였다 (도 1). 180 kDa PLLA-20의 외층을 가진 미세입자에서 유사한 경향의 연장된 약물 방출을 관찰하였다 (도 2).

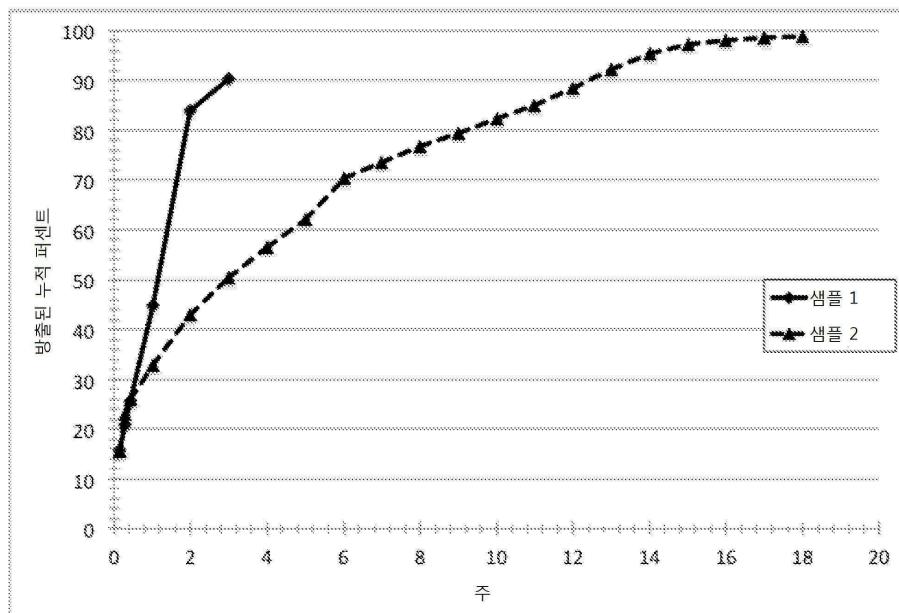
시험관내 아세타졸아미드 방출 연구를 위하여, 적어도 5 mg의 아세타졸아미드-함유 미세입자를 1 mL PBS에서 혼탁시키고, 그리고 시험관내 약물 방출 연구를 위한 37°C의 진탕 수조에 두었다. 지정된 검사점 (가령, 초기 인큐베이션 후 매주)에, 샘플을 원심분리하고 그리고 HPLC로 아세타졸아미드 분석을 위해 0.9 mL의 상청액을 제거하였다. 차후, 0.9 mL의 신선한 PBS를 샘플에 다시 첨가하였다. 다음 방출 기간에 걸쳐 수반되는 0.1 mL의 제거되지 않은 용액내 아세타졸아미드를 설명하기 위해 적절한 보정이 이루어졌다. 종결점에 도달할 때까지 각각의 검사 시점에 이 절차가 뒤따랐다. 시험관내 아세타졸아미드 방출 결과를 방출된 약물의 누적 퍼센트로서 도 3에서 제시하였다. 도 3에서 나타난 바와 같이, 그다지 많지 않은 2% 109kDa PLGA 외층은 또한 아세타졸아미드-함유 미세입자로부터 아세타졸아미드의 초기 격발 방출을 감소시켰다.

[0069] 다른 구체예

본 발명이 이의 상세한 설명과 함께 설명되지만, 전술한 설명은 예증하는 것으로 의도되고 그리고 첨부된 청구항의 범위로 정의된, 본 발명의 범위를 제한하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 다른 측면, 장점, 및 변형은 청구항의 범위 내에 있다.

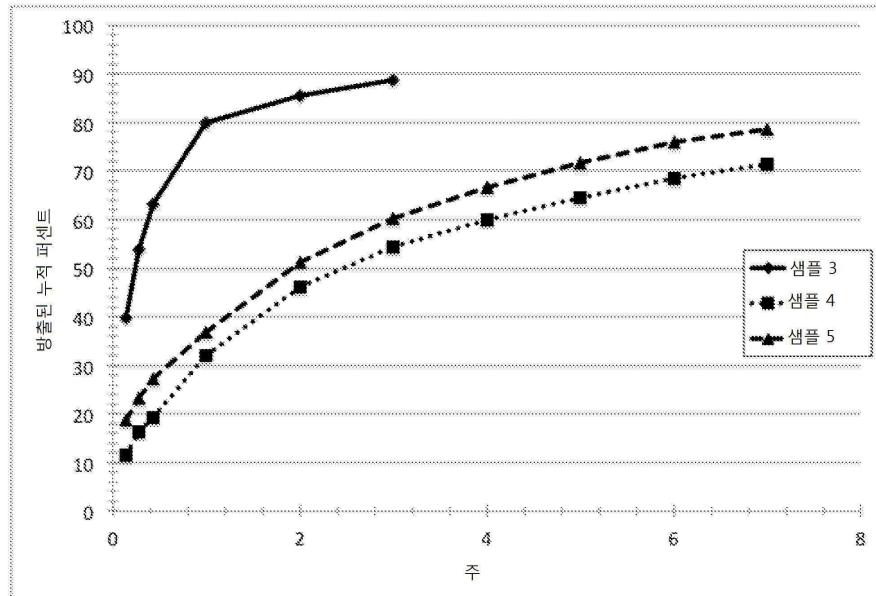
도면

도면1



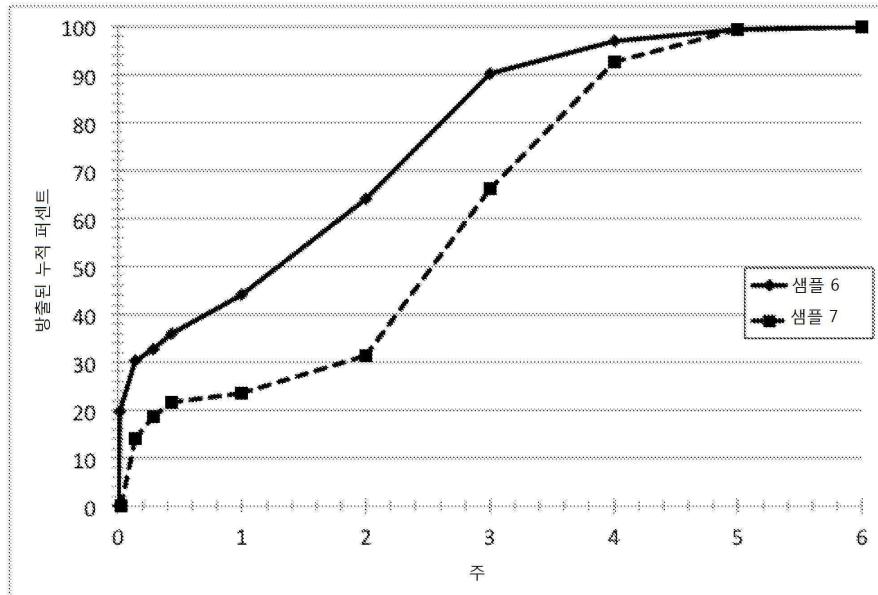
샘플 번호	샘플 설명	약물 부하 (% w/w)	내층 중합체	외층 중합체
샘플 1	디클로로메탄내 브린졸아미드 혼탁액	11.9	115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E)	없음
샘플 2	디클로로메탄내 브린졸아미드 혼탁액	10.2	115 kDa PLGA (Evonik Industries/ Lakeshore Biomaterials 7525 DLG 7E)	5% 178 kDa PLGA (Akina 8520)의 2회 코팅

도면2



샘플 번호	샘플 설명	약물 부하 (% w/w)	내층 중합체	외층 중합체
샘플 3	디클로로메탄내 브린졸아미드 혼탁액	18.9	118 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)	없음
샘플 4	디클로로메탄내 브린졸아미드 혼탁액	14.1	118 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)	7.5% 178 kDa PLGA (Akina 8520)의 1회 코팅
샘플 5	디클로로메탄내 브린졸아미드 혼탁액	14.4	118 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E)	7.5% 180 kDa PLLA-20 (Akina)의 1회 코팅

도면3



샘플 번호	샘플 설명	약물 부하 (% w/w)	내층 중합체	외층 중합체
샘플 6	디클로로메탄내 아세타졸아미드 미세 결정 혼탁액	6.1	54 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 6535 DLG 4A)	없음
샘플 7	디클로로메탄내 아세타졸아미드 미세 결정 혼탁액	2.8	54 kDa PLGA (Evonik Industries /Lakeshore Biomaterials 6535 DLG 4A)	2% 109 kDa PLGA (Evonik Industries/Lakeshore Biomaterials 8515 DLG 7E) 의 1회 코팅