

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A61K 9/14 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년04월24일 10-0572711 2006년04월13일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2000-7004276	(65) 공개번호	10-2001-0031289
(22) 출원일자	2000년04월20일	(43) 공개일자	2001년04월16일
번역문 제출일자	2000년04월20일		
(86) 국제출원번호	PCT/SE1998/001717	(87) 국제공개번호	WO 1999/20253
국제출원일자	1998년09월24일	국제공개일자	1999년04월29일

(81) 지정국 국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 감비아, 크로아티아, 시에라리온, 짐바브웨, 가나, 인도네시아, 세르비아, 몬테네그로, 미국, 그라나다,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 가나, 감비아, 짐바브웨,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장	9703874-9	1997년10월23일	스웨덴(SE)
------------	-----------	-------------	---------

(73) 특허권자	자고텍 아게 스위스, 체하-4132 뮌헨즈, 에피타인저스트라쎄 51
-----------	--

(72) 발명자	라아크소티모 스웨덴홀비켄38에스-236볼텐스텐스바그33디
----------	------------------------------------

레스로우마츠
스웨덴룬드38에스-227본데바겐45

(74) 대리인	특허법인세신
----------	--------

심사관 : 오세주

(54) 캡슐화 방법

요약

본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 생분해성 중합체 중의 활성 물질의 캡슐화 방법에 관한 것이다:

a) 유기 용매에 상기 생분해성 중합체를 용해시키는 단계;

b₁) 단계 a)에서 수득한 유기 용액에 상기 활성 물질을 분산시켜 내부 상으로서 활성 물질을 갖는 분산액을 제공하는 단계; 또는 다르게는

b₂) 물 또는 다른 수성 용매에 용해된 상기 활성 물질을 단계 a)에서 수득한 유기 용액에 유화시켜 내부 수상으로서 활성 물질을 갖는 에멀전을 제공하는 단계; 및

c) 단계 b₁)에서 수득한 분산액 또는 다르게는 단계 b₂)에서 수득한 에멀전을 연속상으로서 폴리에틸렌 글리콜 수용액으로 캡슐화 작업하여 그 안에 캡슐화된 활성 물질을 갖는 마이크로- 또는 나노입자를 얻는 단계.

상기에 따라 서방형 입자를 얻을 수 있다.

대표도

도 1

명세서

기술분야

본 발명은 생분해성 중합체 중의 활성 물질, 예컨대 약물을 캡슐화하는 분야에 관한 것이다. 더욱 상세하게는, 본 발명은 수용성 뿐만 아니라 수불용성 활성 물질에 적합하며, 마이크로 (micro) 뿐만 아니라 나노 (nano) 크기의 고효율 입자를 효율적으로 캡슐화하는 신규하고 유용한 캡슐화 방법에 관한 것이다.

배경기술

물질의 캡슐화는 유용한 물성을 제공할 수 있다. 예컨대, 캡슐화된 약물은 향상된 안정성, 약효 지속 연장 및 향상된 효과를 제공할 수 있다. 약물은 종종 편의를 위해 주사에 적당한 크기, 즉 일반적으로 200 μ m 이하의 입경을 갖는 고체 물질로 캡슐화되며, 이러한 방법은 마이크로캡슐화 (microencapsulation)라고 지칭한다.

마이크로캡슐화법은 마이크로캡슐, 마이크로스피어 및 마이크로입자를 제공할 수 있다. 마이크로캡슐은 코어와 코어를 싸는 외피로 구성되어 있다. 코어는 외피와 다른 중합체로 구성되거나 또는 모두가 다른 물질, 즉 활성 물질 그 자체로 구성될 수 있다. 활성 물질은 일반적으로 코어에 위치 하지만, 외피에 위치할 수도 있다. 마이크로스피어는 구형이며, 좀더 균질한 매트릭스를 갖는다. 마이크로입자는 구형에 국한되지 않기 때문에 마이크로스피어 보다 더 일반적인 용어이다. 때때로, 마이크로캡슐, 마이크로스피어 및 마이크로입자 사이의 구별이 어려울 수 있으며, 마이크로입자라는 용어는 세 가지 부류를 모두 지칭하는 것으로 본 발명에서 사용된다.

종래 기술 중 마이크로입자의 제조 방법은 특허 명세서 및 과학 문헌 모두에 광범위하게 기재되어 있다 [예컨대 Jalil R, Nixon JR. 생분해성 폴리(락트산) 및 폴리(락티드-코-글리콜리드) 마이크로캡슐: 제조 기술 및 방출 물성과 관련된 문제. *J Microencapsul* 1990;7;297-325 참조]. 이들은 일반적으로 폴리(락티드-코-글리콜리드) (PLGA)의 마이크로스피어 제조와 관련하여 하기에 예로 든 세 가지 형태로 분류될 수 있다. PLGA는 서방형 마이크로스피어를 제조하는데 매우 유용한 중합체이며, 인간에 비경구 투약하기 위한 생체 적합성 마이크로스피어 제조시 최우선적으로 선택된다. 상기 중합체는 수불용성이다.

1. 코아세르베이팅제나 또는 무기 오일 및 식물성 오일 등의 비용매를 이용한 상분리법

활성 물질, 예컨대 폴리펩타이드는 먼저 오일속물 (water-in-oil) 에멀전의 수상에 용해된다. 또한 폴리펩타이드는 미세 분말인 중합체상에 직접 분산될 수 있다. 중합체는 실리콘 오일과 같은 중합체용 비용매를 부가함으로써 수적 (水滴) 주위 또는 폴리펩타이드 분말 상에 석출된다. 이어, 경화제를 부가하여 마이크로스피어로부터 유기 용매를 추출한다. 상기 방법에 있어서 주요 단점은 추출 및 세척시 다량의 유기 용매가 필요하다는 것이다. 프레온, 헥산, 헵탄, 시클로헥산 및 다른 알칸 용매를 포함하는, 이미 사용된 경화제는 마이크로스피어에 상당량의 경화제 잔류물을 남기고 및/또는 용매를 제거하기 위해 광범위한 단계를 필요로 한다. 종종, 매우 많은 양의 제 2 유기 용매가 필요하며, 이는 종종 건강, 생태 및 환경적인 이유 때문에 바람직하지 못하다. 종래 기술의 예로는 헵탄 (EP 제0 052 510호), FREONS로 시판되는 지방족 플루오르화 및 플루오로할로젠화 탄화수소 (SE 제462 780호) 및 기타 (US 제5,000,886호)가 있다. 예컨대, 알칸 경화 용매 이용시 추가의 단점은 인화성에 있다. 다른 단점은 환경에 대한 영향이다.

2. 분무 건조 및 분무 피복

분무 건조시, 중합체 및 약물은 중합체용 용매에서 서로 혼합된다. 이어, 용액을 분무함으로써 용매를 증발시킨다. 이것은 약물을 함유하는 중합성 소적 (小滴)을 제공한다. 그러나, 단백질과 같은 민감한 물질은 증온 환경 및 유기 용매/공기 계면 노출로 인해 공정 중 불활성화될 수 있다. 추가의 단점으로는 유기 용매의 신속한 제거로 인해 고다공성이 발생한다는 것이다. 이러한 단점을 피하기 위해 도입된 변형 방법이 마이크로스피어 형성 도중 낮은 온도를 이용하는 것이다 (미국 특허 제5,019,400호, WO 90/13780호 및 미국 특허 제4,166,800호). PLGA 중합체로 약물 함유 마이크로입자를 분무 피복함으로써 마이크로캡슐이 제조된다 (미국 특허 제4,568,559호).

3. 용매 증발

용매 증발법은 분산된 활성 약물을 함유하는 유기 용매에 중합체를 용해시킨 후, 중합체와 혼화성이 없는 교반된 수성 외부상에 용액을 부가하는 것이다. 수성 외부상은 보통 물속오일 (oil-in-water) 에멀전을 안정화시키고, 응집을 방지하는 계면활성제를 함유한다. 사용되는 유화제는 전형적으로 폴리비닐알코올이다. 유화제는 물속오일 에멀전을 안정화시키는 수상에 포함된다. 이어, 유기 용매는 수시간 이상 동안 증발되어 중합체를 고화시켜 중합성 매트릭스를 형성한다. 또한 용매는 상술한 현탁액을 다량의 물에 부가함으로써 추출될 수 있다 (미국 특허 제5,407,609호).

약제학적 용도, 특히 비경구 투약용으로 사용되는 최종 제제물은 독성 또는 기타 다른 바람직하지 못한 물질을 함유하지 않으며, 이상적인 크기 분포를 갖는 분리되고 비응집된 마이크로스피어로 구성되어야 한다. 상술한 바와 같은 특성을 갖는 제제물을 얻기 위해서는 유화제를 사용해야 한다. 유화제는 다양한 효과를 제공할 수 있다:

- (1) 에멀전이 정확한 소적 크기 분포를 얻도록 도와줌;
- (2) 소적의 유착을 피하도록 물속오일 에멀전을 안정화시킴; 및
- (3) 고화된 마이크로스피어가 서로 응집되는 것을 방지함.

PLGA 마이크로스피어 제조시 가장 많이 사용되는 유화제는 폴리비닐 알코올이다. 그러나 폴리비닐 알코올은 Chemical Substances의 Register of Toxic Effects 1976에 기재되고, 또한 동물에 비경구적으로 도입될 때 발암성 물질에 포함되기 때문에 ("Carcinogenic studies on Water-Soluble and Insoluble Macromolecules", Archives of Pathology, 67, 589-617, 1959), 주사에 의해 투약되는 약제학적 제제물로 부적당하다고 여겨졌다. 이 문제는 인지되어 왔으며, 종래 기술에서 폴리비닐 알코올을 다른 유화제로 대체하려는 시도를 발견할 수 있다. 예를들어 미국 특허 제4,384,975호에서, 카르복시산염 계면활성제 예컨대, 올레산 나트륨이 물속오일 에멀전을 안정화시키기 위해 사용되었다. 그러나 그러한 단점에도 불구하고, 폴리비닐 알코올이 계면활성제로서 가장 넓게 사용되었다. 그러나 상술한 이유로 인해, 마이크로스피어 제제물에서 폴리비닐 알코올 및 다른 계면활성제의 사용을 피하는 것이 매우 바람직하다.

용매 증발은 많은 펩타이드 및 단백질과 같은 친수성 약물이 아닌 친유성 약물에 잘 작용하며, 유기 용매를 추출하는데 사용되는 수상에 대한 약물의 손실로 인해 혼합된 약물의 양이 낮아질 수 있다. 이러한 문제를 해결하려는 시도의 예로는 친수성 약물을 덜 가용성 형태로 개질하는 것 (WO 96/07399호), 오일속물 에멀전이 먼저 생성된 후, 유기 용매를 물로 추출하는 공정에서 활성 약물을 함유하는 내부 수용액의 점도를 증가시키는 것 (미국 특허 제4,652,441호) 및 확산하는데 필요한 시간을 감소시키는 것 (미국 특허 제5,407,609호)을 들 수 있다.

또한, 메틸렌 클로라이드 또는 에틸 아세테이트와 같이 보통 사용되는 유기 용매의 사용은 종종 민감성 약물의 생물학적 활성 손실을 초래한다. 따라서, 예컨대 생물학적 활성에 필요한 단백질 3차원 형태가 종종 손실된다. 이 문제를 해결하기 위한 시도의 예로는 활성 물질을 더욱 안정한 형태로 개질하는 것 (미국 특허 제5,654,010호 및 WO 96/40074호), 공정 중 가능한 한 온도를 낮게 유지하는 것 (WO 90/13780호) 및 다른 단백질 안정화제를 사용하는 것 (미국 특허 제5,589,167호, Cleland JL, Jones AJS, "생분해성 중합체의 마이크로캡슐화를 위한 안정한 단백질 제제물의 개발". Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials 1995;22:514-5)을 들 수 있다. 그러나 단백질은 일반적으로 유기 용매에 민감하며, 노출을 감소시키거나 제거하는 것이 매우 바람직하다.

용매 증발법에 대한 다른 단점은 작은 마이크로스피어 또는 나노스피어를 얻기 위해 고 전단 혼합을 이용해야 하는 것이다. 이것은 활성 물질, 특히 생물학적 활성이 3차원 형태에 의존하는 단백질의 분해 또는 형태 변화를 초래할 수 있다. 또한 고 전단 혼합의 이용은 에너지를 낭비하게 한다.

또한 종래 기술과 관련하여, 물에 가용성인 중합체로부터 마이크로스피어를 제조하는 방법이 미국 특허 제4,822,535호 및 제5,578,709호에 공지되어 있다는 것도 덧붙일 수 있다. 상기 방법에서는, 하나가 마이크로스피어 속으로 고화되는 서로 혼화성이 없는 두 개의 수성 액상이 사용된다. 그러나 상기와 같이, 이 방법은 물에 용해될 수 없는 중합체로부터 마이크로스피어를 제조하는데는 사용될 수 없다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 종래 기술의 단점을 제거하거나 또는 적어도 실질적으로 감소시킴으로써 생분해성 중합체 중의 활성 물질을 캡슐화하는 신규한 방법에 관한 것이다. 예컨대, 본 발명은 생분해성 중합체 중에 활성 물질을 매우 효과적으로 혼입하거나 및/또는 고활성 투여량의 활성 물질을 함유하는 더 작은 마이크로입자나 나노입자를 얻을 수 있도록 한다. 또한, 유기 용매의 양이 매우 감소된다. 또한 종래 사용된 방법에 비해 본 발명은 마이크로- 또는 나노입자를 얻는데 필요한 에너지 투입을 절감시킬 수 있다.

본 발명의 목적은 다량의 유기 용매를 사용하지 않고, 수용성 물질, 예컨대 민감성 약물을 많이 가둘 수 있는 서방형 입자의 제조방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 저에너지 혼합만이 사용되고, 또한 민감성 물질에 유용한 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 간단한 방법으로 마이크로 또는 나노 입경과 같은 작은 입경을 얻는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 PVA 및 다른 계면활성제를 사용해야 할 필요성을 제거하는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 기타 목적은 당업자가 상기 및 하기의 명세서를 읽었을 때 자명할 것이다.

발명의 요약

더욱 상세하게는, 본 발명은 하기의 단계를 포함하는 생분해성 중합체 중의 활성 물질 캡슐화 방법에 관한 것이다:

- a) 유기 용매에 상기 생분해성 중합체를 용해시키는 단계;
- b₁) 단계 a)에서 수득한 유기 용액에 상기 활성 물질을 분산시켜 내부 상으로서 활성 물질을 갖는 분산액을 제공하는 단계; 또는 다르게는
- b₂) 단계 a)에서 수득한 유기 용액에 물 또는 다른 수성 용매에 용해된 상기 활성 물질을 유화시켜 내부 수상으로서 활성 물질을 갖는 에멀전을 제공하는 단계; 및
- c) 단계 b₁)에서 수득한 분산액 또는 다르게는 단계 b₂)에서 수득한 에멀전을 연속상으로서 폴리에틸렌 글리콜 수용액으로 캡슐화 작업하여 그 안에 캡슐화된 활성 물질을 갖는 마이크로- 또는 나노입자를 얻는 단계.

따라서, 본 발명의 제 1 요지에 따라 소량의 유기 용매를 사용함에도 불구하고 민감한 생분해성 활성 물질, 예컨대 단백질을 함유하는 마이크로- 또는 나노 입자를 제조하는 간단한 방법이 제공된다. 연속상 또는 추출상으로서 보통 사용되는 유기 용매를, 연속상 및 추출 매질로서 비독성이고 약제학적으로 허용가능한 중합체 폴리에틸렌 글리콜 (폴리에틸렌 옥사이드) 수용액으로 대체할 수 있다는 것을 발견한 것은 놀랍다.

또한 외부 (외면) 상으로서 물 또는 다른 수성 용매 중의 상기 폴리에틸렌 글리콜을 사용함으로써 입자 속으로의 활성 성분 흡수가 매우 향상될 수 있다는 것도 발견하였다. 수성 외부 상을 갖는 용매 증발법의 사용은 종종 특히 작은 마이크로스피어가 얻어질 때, 수용성 폴리펩타이드가 외부상에 분포되는 것과 같이 불량한 캡슐화를 초래한다. 본 발명에 의해 폴리에틸렌 글리콜의 농도 및 다른 조건을 조절하여 활성 물질이 외부상에 분포하지 않도록 함으로써 작은 입경과 더불어 높은 로딩을 얻을 수 있다.

마이크로입자는 물로 쉽게 세척되고 린스될 수 있으며, 이는 다량의 유기 용매가 사용되는 상분리법에 비해 유익하다. 외부상으로서 폴리에틸렌 글리콜/수성 용매의 사용하는 것과 관련한 기타 놀라운 발견은 낮은 혼합력으로도 작은 크기의 입자를 얻을 수 있고, 계면활성제가 불필요하다는 것이다.

수득한 마이크로입자는 서방형 용도에 매우 적합하며, 특히 경구 또는 비 경구 투약에 적합하다. 10 μ m 미만, 바람직하게는 0.5 내지 3 μ m의 크기 또는 입경으로 제조되면, 국부 또는 전신 효과를 제공하도록 경비투여, 폐를 통한 투여 또는 경구 투여용으로 적합하다.

상술한 바와 같은 예상치 못한 발견 뿐만 아니라, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 그 자체가 각종 생명 공학 및 생물 의학 응용에 특이한 특성을 갖는다는 것과, 본 발명이 생명 공학 및 생물 의학 응용에 더욱 유용하다는 것을 주목해야 한다.

이러한 특이한 특성은 예컨대, Haris, J.M에 의해 폴리(에틸렌 글리콜) 화학: 생명 공학 및 생물 의학 응용. 1992. Plenum Press, New York에 요약되어 있다.

PEG는 각종 생명 공학 및 생물 의학 응용에 사용 시 중요한 특이 특성을 갖는다. 이 특성 중 하나는 수용액 중 차지하고 있는 부피로부터 다른 중합체를 배타하는 두드러진 효과에 있으며, PEG는 정맥 주사 후 긴 순환 시간을 갖고, 생물학적 물질에 대한 친화성을 가지며, 비면역원성 및 비항원성을 갖는, 예컨대 리포솜 및 소립자 중의 단백질을 제거하도록 사용된다. 다른 하나는 다른 중합체와 수성 2상 (two-phase)을 형성하는 것이다 (Per Ake Albetsson, Partition of cell particles and macromolecules. Separation and purification of biomolecules, cell organelles, membranes, and cells in aqueous polymer two-phase systems and their use in biochemical analysis and biotechnology. Third Edition, 1986, John Siley & Son). PEG는 비독성이며, 일반적으로 단백질 및 세포에 무해하다. PEG의 많은 용도는 하기를 예로 들 수 있다:

- (1) 주사용 임의 약물의 공용매;
- (2) 예컨대, 단백질 농도를 증가시켜 결정화를 일으키는 부피-배타제;
- (3) 예컨대, 온화한 조건하에서 생물학적 물질 정제용으로 사용되는 수성 2상계의 일부분;
- (4) 예컨대, 단일 세포 항체 제조에 사용되는 하이브리도마 (bridomas)를 얻기 위한 세포 용해 유도;
- (5) 예컨대, 순환시 잔류 시간을 증가시키기 위한 리포솜 및 나노입자 표면의 커버링;
- (6) 여전히 생물학적 활성이지만 더 이상 면역원성 및 항원성이 아닌 콘주게이트를 얻기 위한 단백질과 PEG의 공유결합; 그러한 PEG-단백질 부가 생성물은 인간에 비경구용으로 승인되었음.

또한 PEG는 때때로 폴리(에틸렌 옥사이드) PEO, 폴리(옥시에틸렌) 및 폴리옥시란으로 명명된다. 일반적인 사용시, 폴리(에틸렌 글리콜)은 20000 이하의 분자량을 갖는 것을 의미하고, 폴리(에틸렌)옥사이드는 고분자량 중합체를 의미한다. 또한 본 발명과 관련하여 사용되는 폴리에틸렌 글리콜이라는 용어는 폴리(옥시에틸렌) 및 폴리옥시란을 포함한다.

이러한 목적 뿐만 아니라 본 발명의 다른 목적 및 장점도 하기의 상세한 설명에 의해 당업자에게 자명할 것이다.

발명의 상세한 설명

본 발명이 방법에 사용되는 활성 물질은 생물학적 활성 물질, 예컨대 단백질, 펩타이드, 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 플라스미드 또는 DNA와 같은 약물이 바람직하다. 단백질 약물의 예로는 성장 호르몬, 에리트로포이에틴, 인터페론 (α , β , γ -형), 백신, 표피 성장 호르몬 및 팩터 VIII이다. 펩타이드 약물의 예로는 LHRH 유사체, 인슐린, 소마토스타틴, 칼시토닌, 바소프레신 및 그의 유도체가 있다.

또한 단백질의 경우, 이들은 각종 물질 예컨대 금속, 아미노산, 염, 산, 염기 및 아민과 합성되어 용해도를 감소시키고, 안정성을 증가시킬 수 있다. 또한 이들은 프로드럭 (pro-drug) 형태로 제조될 수 있거나 또는 PEG는 예컨대 단백질에 부착되어 용해도 또는 안정성을 증가시키고, 약력학을 개질하거나 면역원성을 감소시킬 수 있다.

본 발명의 방법에 사용되기에 적당한 비단백질 약물의 예로는 하기 군의 예에서 찾을 수 있다:

항-종양제, 항생물질, 항염증제, 항히스타민제, 진정제, 근육 이완제, 항간질작용제, 항우울제, 항알레르기제, 기관지 확장제, 강심제, 항부정맥제, 혈관확장제, 항당뇨제, 항응혈제, 지혈제, 마취제 및 스테로이드이다.

그러나, 특허 청구된 방법에 따라 캡슐화될 수 있는 활성 물질은 생물학적 활성 물질에 한정되지 않으며, 비생물학적 물질, 예컨대 살충제, 방향제, 향미제, 촉매 및 제조제도 캡슐화될 수 있다.

캡슐화되는 활성 물질의 적당량은 물질 형태, 지속 시간 및 목적하는 효과에 따라 상이하며, 물론 본 발명의 다른 방법에 의해 캡슐화되는 각각의 특정 경우의 양으로 조절된다. 일반적으로 상기 양은 최종 입자의 중량을 기준으로 중량%로 나타낼 때, 약 0.001% 내지 90%, 바람직하게는 약 0.01 내지 70%, 더욱 바람직하게는 약 0.1 내지 45% 및 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 40%의 범위내에서 선택된다.

약물의 경우는 그 자체 또는 약제학적 염 형태로 사용될 수 있다. 약물이 아미노기와 같은 염기성 기를 가질 때, 탄산, 염산, 황산, 아세트산, 시트르산, 메탄술폰산 등과 염을 형성할 수 있다. 약물이 카르복시기와 같은 산기를 갖는 경우, 금속 (예컨대, Ca^{2+} , Zn^{2+}), 유기 아민 (예컨대, 에탄올아민) 또는 염기성 아미노산 (예컨대, 아르기닌)과 염을 형성할 수 있다. 약물은 또한 다양한 방법을 이용하여 석출될 수 있으며, 경우에 따라 2가 금속 (예컨대, Ca^{2+} , Zn^{2+})과의 석출과 같이 크기 축소가 수반될 수 있다. 또한 약물은 결정화될 수 있다.

본 발명에 사용될 수 있는 생분해성 중합체는 유기 용매에 용해될 수 있고 외부상 예컨대, 폴리(에틸렌 글리콜)/수상에 약간 가용성 또는 불용성이며, 다르게는 서방형 마이크로- 또는 나노 입자의 제조에 적당한 임의의 특정 물질에 한정되는 것은 아니다.

특허 청구된 방법에 사용되는 생분해성 중합체는 바람직하게는 약 2000 내지 200000, 더욱 바람직하게는 약 2000 내지 110000 범위의 중량 평균 분자량을 갖는다.

생분해성 중합체의 예로는 폴리에스테르, 폴리- β -히드록시부티르산, 폴리히드록시발레산, 폴리카프로락톤, 폴리에스테르아미드, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리(아미노산), 폴리카르보네이트 및 폴리무수물이다.

바람직한 생분해성 중합체는 지방족 폴리에스테르, 예컨대 α -히드록시산, 바람직하게는 락트산 및 글리콜산으로부터 제조된 동중 중합체 또는 공중합체 및/또는 α -히드록시산의 시클릭 이합체, 바람직하게는 락티드 및 글리콜리드이다.

락트산/글리콜산이 상기 중합체로 사용될 때, (폴리)락트산/(폴리)글리콜산의 조성 또는 중량비는 바람직하게는 약 99/1 내지 35/65, 더욱 바람직하게는 95/5 내지 50/50이다. 이들은 공중합체 또는 2 이상의 중합체의 혼합물 형태로 사용될 수 있다. 중합체의 정확한 조성은 목적하는 방출 동력학, 특히 방출 지속에 따라 다르다.

단계 a에서 사용되는 유기 용매는 물/PEG 혼합물과 에멀전을 형성할 수 있고, 상기 물/PEG 혼합물을 통해 오일 소적으로부터 제거될 수 있으며, 생분해성 중합체를 용해시킬 수 있는 임의의 용매일 수 있다. 바꾸어 말하면, 용매는 비혼화성이거나 또는 반드시 비혼화성이어야 하지만, 약간 또는 매우 약간 상기 물/PEG 혼합물에 가용성이어야 한다. 적당한 용매의 예로는 에틸 아세테이트, 디클로로메탄, 메틸 에틸 케톤 및 메틸 이소부틸 케톤이다. 이러한 용매는 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있다.

내부 수상은 안정성 조절제, 필요하다면 생물학적 활성 물질의 용해도 조절제를 함유할 수 있다. 그러한 조절제는 pH 조절제 및 약물 또는 다른 활성 물질용 안정화제일 수 있다.

상술한 것으로부터 알 수 있는 바와 같이, 본 발명에 따른 상기 방법은 수용성 뿐만 아니라 수불용성인 활성 물질을 캡슐화하는데 사용될 수 있다.

이러한 두 경우의 구체적인 실시예를 하기에 기재한다.

캡타이드 또는 단백질 약물과 같은 수용성 약물에 의해 예로든 캡슐화 방법은 하기의 단계를 포함할 수 있다. 약물 용액은 선택적으로 pH 조절제 또는 약물 안정화제를 사용하여 종래의 방법으로 제조된다. 내부 수상을 형성하는 약물 수용액을 적당한 유기 용매에 용해시킨 생분해성 중합체를 함유하는 외부 (유기)상에 붓고, 이 혼합물을 유화시켜 W/O 에멀전을 얻는다. 유화는 종래의 유화 방법, 예컨대 프로펠러 혼합, 터빈 혼합, 초음파 또는 스태틱 혼합기 (static mixer)를 사용하여 실시될 수 있다.

활성 물질이 물에 용해됨이 없이 중합체 용액에 직접 분산되려면, 약물은 적당한 입경을 가져야 한다. 적당한 입경은 약 0.5 내지 20 μ m, 바람직하게는 0.5 내지 10 μ m, 즉 0.5 내지 3 μ m이다. 그 밖에 분산 단계는 유화 단계에서 기술한 바와 같이 실시될 수 있다.

이어, 수득한 W/O 에멀전/분산액을 캡슐화 작업한다. W/O 에멀전/분산액을 폴리에틸렌 글리콜을 함유하는 수용액에 부가한다. 폴리에틸렌 글리콜/수용액은 활성 물질/중합체 용액을 부가하는 동안 교반한다. 또한 W/O 에멀전/분산액은 정지믹서기를 사용하여 폴리에틸렌 글리콜 용액과 혼합될 수 있다.

전형적으로 폴리에틸렌 글리콜 분자량은 약 1000 내지 40000 Da, 바람직하게는 5000 내지 35000 Da 범위이다. 상기 분자량에 따라 캡슐화되는 물질의 물성, 즉 폴리에틸렌 글리콜의 농도가 20 내지 80% (w/w), 바람직하게는 20 내지 60% (w/w), 즉 30 내지 55% (w/w) 또는 30 내지 50% (w/w)의 범위내로 조절된다. 바꾸어 말하면, 안정한 에멀전을 얻고, 소적/입자로부터 활성 성분의 확산을 방지하기 위해 상대적으로 높은 PEG 농도가 외부상에 사용된다. 최적 농도 측정은 당업자에게는 비교적 수월한 실험으로 실시될 수 있다.

그렇게 형성된 입자는 일반적으로 원심 분리 또는 여과에 의해 모으고, 증류수 또는 적당한 수성 완충 용액으로 여러번 린스하여 표면으로부터 과량의 폴리에틸렌 글리콜을 제거한다. 세척 및 건조 과정을 거치는 동안 응집을 방지하기 위해 만니톨, 트윈 (Tween) 80 또는 다른 적당한 물질이 린스 수용액에 부가될 수 있다. 이어, 이렇게 수득한 입자는 예컨대 진공에서 건조 또는 질소 기체 기류를 흐르게 하거나 동결건조 또는 공기 현탁 건조와 같은 통상의 방법에 의해 건조될 수 있다.

본 발명에 의해 수득한 입자의 입경은 이 기술 분야에 잘 알려진 바와 같이 상기 입자의 사용 목적에 따라 다르다. 따라서, 예컨대 입자가 주사용도로 사용될 때 입경은 분산가능성 및 주사 통과 요건을 만족해야 한다. 또한 입자는 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 취급되거나 처리될 수 있다. 따라서 상기 입자의 방출 조절된 주사가능한 제제물은 예컨대 만니톨, 폴리소르베이트 80 또는 소듐 카르복시메틸셀룰로오스를 함유하는 현탁제로 분산될 수 있다.

본 발명에 따른 방법의 다른 구체예는 종속항 및 하기 실시예에 의해 정의된다.

또한 본 발명의 제 2 요지에 따르면, 생분해성 물질에 캡슐화된 활성 물질을 함유하는 서방형 마이크로 또는 나노입자 그 자체가 제공될 수 있으며, 상기 입자는 방법 청구 범위 중 어느 하나에 청구된 방법에 의해 얻을 수 있다.

따라서, 바람직한 구체예는 방법과 관련하여 기술한 구체예와 동일하다. 그러나 특히 바람직하게는 활성 물질을 경구, 비경구, 경비투여 또는 폐를 통한 투여용으로 적용한 입자이다.

또한 경구 투약용 약제학적 제제물의 제조에 있어서, 상술한 방법에 의해 제조된 마이크로스피어는 부형제 (예컨대, 락토오스, 수크로스 및 녹말 등), 봉해제 (예컨대, 녹말 및 칼슘 카르보네이트 등), 결합제 (예컨대, 녹말, 아라비아 고무, 카르복시메틸셀룰로오스 및 폴리비닐피롤리돈 등) 및/또는 윤활제 (예컨대, 활석, 마그네슘 스테아레이트 및 폴리에틸렌 글리콜 등)와 배합될 수 있으며, 수득한 조성물은 종래 방법으로 압축-성형 될 수 있다. 또한 입자는 젤라틴 캡슐 속으로 충전될 수 있다.

도면의 간단한 설명

본 발명의 방법에 의해 수득한 입자 및 종래 기술에 의해 수득한 입자의 시험관내 방출 시험 결과를 첨부된 도면에 나타낸다.

상기 입자의 제조 및 실험 방법은 실시예 1 내지 5에 기술하고, 그 결과를 시간 (일)에 대한 누적 방출 (%)로 나타내었다.

여기서, 예컨대, 활성 물질 캡슐화용으로 사용되는 중합체의 조성, 물질의 용해도, 활성 물질의 용해도 및/또는 중합체의 분해에 영향을 미치는 물질의 부가, 마이크로 입자 중의 활성 물질의 양 및 마이크로 입자의 크기와 같은 당업자에게 잘 알려진 인자에 의해 방출 프로필이 조절될 수 있다는 것도 덧붙여 말할 수 있다.

실시예

실시예 1

PLGA (폴리(DL-락티드-코-글리콜리드))에 소 혈청 알부민 (BSA)을 캡슐화하기 위해 하기의 방법을 사용하였다. 첫째, 시험 튜브에 3ml의 에틸 아세테이트 중의 0.47g의 PLGA (RG504H, 베링거 인겔하임)을 용해시켜 중합체 용액을 제조하였다. 이어, 44ml의 BSA (소 혈청 알부민; 시그마 A-0281)을 300 μ l의 10mM 인산나트륨 완충액 (pH 6.4)에 용해시켰다. BSA 용액을 중합체 용액에 부가하고, BSA를 중합체 용액에서 교반 혼합 (VF2, IKA-WERK)에 의해 1분 동안 균질하게 분산시켰다. 분산액을 18G 주사 바늘이 장착된 5ml의 주사기에 장입하였다.

300ml의 40%(w/w) 폴리에틸렌 글리콜 20000을 함유하는 500ml 비이커에 4-날개 프로펠러 교반기를 고정시켰다. BSA/중합체 분산액을 비이커에 옮기고, BSA/중합체 분산액을 PEG 용액속으로 서서히 주입하였다. 이어, 교반 속도를 감소시키고 혼합물을 밤새 방치하였다.

교반 속도를 다시 8로 고정된 후, 400ml의 탈염수를 부가하여 여과할 수 있도록 점도를 감소시켰다. 이어, 현탁액을 미공막 여과기 (형태 DV, 기공 크기 0.65 μ m)를 사용하여 여과하고, 물 (3 $\times$ 300ml)로 세척하며, 진공하에서 밤새 건조하였다.

수득한 마이크로입자를 10 내지 50 μ m의 입경을 갖는 구형이었으며, 6.3% (w/w)의 BSA를 함유하였다.

이어, 수득한 마이크로입자를 간헐적으로 교반시키면서 37 $^{\circ}$ C, 30mM 인산나트륨 (pH 7.4)에서 시험관내 방출 시험을 실시하였다. 1.5ml의 완충액에서 40mg의 마이크로스피어를 현탁시킴으로써 시험을 실시하였다. 특정 시간점에서 1ml의 완충액을 회수하고, 신선한 완충액으로 교체하였다. 결과를 도 1에 나타낸다. 도 1에 나타나 바와 같이, 28일 후 서방형 BSA의 서방성을 얻었다.

실시예 2

폴리에틸렌 글리콜 용액 대신에 물 중의 2% (w/w) 폴리비닐 알코올 (PVA, mw=22000, Fluka)를 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다.

수득한 마이크로스피어는 1 내지 2mm의 입경을 갖고, 7.0%의 BSA를 함유하였다. 시험관내 방출 시험을 실시예 1과 같이 실시하고, 그 결과를 도 1에 나타낸다. 이 제제물의 방출 억제가 약 2일 후에 얻어졌다. 입자가 크면 허용 가능한 주사 바늘을 이용한 주사를 실시할 수 없다.

실시예 3

BSA/중합체 분산액을 부가할 때, 상기 교반기 대신에 이스트랄 (Ystral) 균질화기를 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다. BSA/중합체 분산액을 부가한 후, 균질화기를 4-날개 프로펠러 교반기로 교체하였다.

수득한 마이크로스피어는 1 내지 5 μ m의 입경을 갖고, 5.5%의 BSA를 함유하였다. 시험관내 방출 시험을 실시예 1과 같이 실시하고, 그 결과를 도 1에 나타낸다.

실시예 4

BSA/중합체 분산액을 부가할 때, 상기 교반기 대신에 이스트랄 균질화기를 사용하는 것을 제외하고는 실시예 2와 동일하게 실시하였다.

수득한 마이크로스피어는 10 내지 40 μ m의 평균 입경을 갖고, 5.8%의 BSA를 함유하였다. 시험관내 방출 시험을 실시예 1과 같이 실시하고, 그 결과를 도 1에 나타내었다. 실시예 3에서 입경이 더 작았지만 실시예 3 및 4의 제제물에서 유사한 용해도가 얻어졌다.

실시예 5

최종 오일속물 에멀전을 얻기 위해 교반 혼합 후, 초음파 중탕 (Transsonic 470/H, Elam)을 이용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다.

수득한 마이크로스피어는 10 내지 50 μ m의 평균 입경을 갖고, 6.8%의 BSA를 함유하였다. 시험관내 시험을 실시예 1과 같이 실시하고, 그 결과를 도 1에 나타내었다. 28일동안의 서방되었다. 이것은 내부 수상의 유화가 효과적일수록 첫날 동안 신속한 초기 방출(파열)이 낮아진다는 것을 나타낸다.

실시예 6

BSA 장입된 마이크로스피어의 제조

PLGA 마이크로스피어에서 소 혈청 알부민 (BSA)를 캡슐화하기 위해 하기 방법을 사용하였다.

첫째, 시험 튜브에 0.734의 에틸 아세테이트로 0.126g의 중합체 (Resomer 5040H, 베링거 인겔하임)를 용해시켜 중합체 용액을 제조하였다. 이어, 15mg의 BSA (시그마 A-0281)을 100 μ l의 10mM 나트륨-포스페이트 (pH 6.4)에 용해시켰다.

BSA 용액을 교반 혼합 (VF2, IKA-WERK)에 의해 1분 동안 중합체 용액과 혼합하였다. 용액을 21G 주사 바늘이 장착된 2ml의 주사기에 장입하였다. 50ml의 40%(w/w) 폴리에틸렌 글리콜 20000을 함유하는 200ml 비이커에 4-날개 프로펠러 교반기를 고정시켰다. BSA/중합체 분산액을 240rpm에서 서서히 교반하면서 PEG 용액속으로 서서히 주입하였다. 교반 속도를 10초 동안 400rpm으로 증가시킨 후, 1분 동안 60rpm으로 하였다. 혼합물을 4시간 동안 교반함이 없이 방치하였다.

이어, 여과하기 전에 200ml의 물을 부가하였다. 마이크로스피어 현탁액을 미공 막 여과기 (형태 DV, 기공 크기 0.65 μ m)를 사용하여 여과하고, 물로 세척한 후 밤새 냉장건조하였다.

수득한 마이크로입자는 10 내지 50 μ m의 입경을 갖는 구형이었으며, 9.7%의 BSA를 함유하였다 (수율 92%).

실시예 7

락토글로블린 장입된 마이크로스피어의 제조

100 μ l 10mM 소듐 포스페이트 (pH 6.4) 중의 15mg의 락토글로블린 (시그마 L-0130)을 캡슐화하는데 사용하는 것을 제외하고는 실시예 6과 동일하게 하였다.

수득한 마이크로입자는 10 내지 100 μ m의 입경을 갖는 구형이고, 9.9%의 락토글로블린을 함유하였다 (수율 93%).

실시예 8

트립토텔린이 장입된 마이크로스피어의 제조

교반 혼합에 의해 1분 동안 15mg의 트립토텔린 파모에이트 (Bachem)을 중합체 용액에 직접 유화시키는 것을 제외하고는 실시예 6과 동일하게 실시하였다. 트립토텔린 입자의 입경은 약 2 내지 4 μ m였다.

수득한 마이크로입자는 20 내지 100 μ m의 입경을 갖고, 6.3%의 트립토텔린을 함유하였다 (수율 59%).

실시예 9

테스모프레신 장입된 마이크로스피어의 제조

100 μ l 10mM 인산 나트륨 (pH 6.4) 중의 15mg의 테스모프레신 아세테이트를 캡슐화하는데 사용하는 것을 제외하고는 실시예 6과 동일하게 실시하였다.

수득한 마이크로입자는 10 내지 50 μ m의 입경을 갖는 구형이고, 8.3%의 테스모프레신을 함유하였다 (수율 78%).

실시예 10

인슐린 장입된 마이크로스피어의 제조

교반 혼합에 의해 1분 동안 중합체 용액에 15mg의 인슐린 (시그마 I-5500)을 직접 유화시키는 것을 제외하고는 실시예 6과 동일하게 실시하였다. 인슐린 입자의 입경은 5 내지 10 μ m였다.

수득한 마이크로입자는 10 내지 50 μ m의 입경을 갖는 구형이고, 9.3%의 인슐린을 함유하였다 (수율 88%).

실시예 11

DNA 장입된 마이크로스피어의 제조

100 μ l의 청어 정액 DNA (Promega)(10mg/ml)를 캡슐화하는데 사용하는 것을 제외하고는 실시예 6과 동일하게 실시하였다.

수득한 마이크로입자는 10 내지 50 μ m의 입경을 갖는 구형이고, 0.07%의 DNA를 함유하였다 (수율 10%).

실시예 12

50% PEG 10k 중의 소 혈청 알부민 제조

외부상으로 50% PEG 10k를 사용하는 것을 제외하고는 실시예 6과 동일하게 실시하였다.

수득한 마이크로입자는 구형이고, 1.77%의 BSA를 함유하였다. 이것은 실시예 1의 6.3%에 필적하였다.

실시예 13

30% PEG 35k 중의 소 혈청 알부민 제조

외부상으로 30% PEG 35k를 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다.

수득한 마이크로입자는 구형이고, 5.42%의 BSA를 함유하였다. 이것은 실시예 1의 6.3% 코어 장입량에 필적하였다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기의 단계를 포함하는, 생분해성 중합체 중의 활성 물질의 캡슐화 방법:

a) 폴리에스테르, 지방족 폴리에스테르, 폴리- β -히드록시부티르산, 폴리히드록시발레산, 폴리카프로락톤, 폴리에스테르 아미드, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리(아미노산), 폴리카르보네이트, 폴리무수물, α -히드록시산으로부터 제조된 동종 중

합체, α -히드록시산으로부터 제조된 공중합체 및 α -히드록시산, 락트산, 글리콜산, 락티드 또는 글리콜리드로부터 제조된 시클릭 이합체로 구성된 군으로부터 선택된 생분해성 중합체를, (i) 물/폴리에틸렌글리콜(PEG) 혼합물과 에멀전을 형성할 수 있고; (ii) 상기 물/PEG 혼합물을 통해 오일 소적으로부터 제거될 수 있고; (iii) 생분해성 중합체를 용해할 수 있으며; 비혼화성이거나 또는 실질적으로 비혼화성이면서 약간 또는 매우 약간 상기 물/PEG 혼합물에 가용성인 성질을 갖는 유기 용매에 용해시키는 단계;

b₁) 단계 a)에서 수득한 유기 용액에 상기 활성 물질을 분산시켜 내부 상으로서 활성 물질을 갖는 분산액을 제공하는 단계; 또는 다르게는

b₂) 단계 a)에서 수득한 유기 용액에 물 또는 다른 수성 용매에 용해된 상기 활성 물질을 유화시켜 내부 수상으로서 활성 물질을 갖는 에멀전을 제공하는 단계; 및

c) 단계 b₁)에서 수득한 분산액 또는 다르게는 단계 b₂)에서 수득한 에멀전을 연속상으로서 폴리에틸렌글리콜 수용액으로 캡슐화 작업하여 그 안에 캡슐화된 활성 물질을 갖는 마이크로- 또는 나노입자를 얻는 단계.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 상기 유기 용매가 에틸 아세테이트, 디클로로메탄, 메틸 에틸 케톤, 메틸 이소부틸 케톤 또는 그들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 3.

삭제

청구항 4.

삭제

청구항 5.

삭제

청구항 6.

삭제

청구항 7.

제 1항에 있어서, 단계 b₁)에서 수득한 분산액 또는 다르게는 단계 b₂)에서 수득한 에멀전을 상기 폴리에틸렌 글리콜 수용액에 부가하는 동안, 최종 수용액을 교반 및/또는 균질화 작업함으로써 단계 c)에서의 캡슐화가 실시되는 방법.

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

제 1항에 있어서, 계면활성제 부재하에 상기 단계 c)에서의 캡슐화 작업이 실시되는 방법.

청구항 11.

제 1항에 있어서, 상기 생분해성 중합체가 단계 c)에서 사용되는 폴리에틸렌글리콜 수용액에서 불용성 또는 약간 가용성인 방법.

청구항 12.

삭제

청구항 13.

삭제

청구항 14.

삭제

청구항 15.

삭제

청구항 16.

삭제

청구항 17.

삭제

청구항 18.

제 1항, 제 2항, 제 7항, 제 10항 및 제 11항중 어느 한 항에 있어서, 상기 활성 물질이 단백질, 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드 및 DNA로 이루어진 군으로부터 선택된 생물학적 활성 물질인 방법.

청구항 19.

제 18항에 있어서, 상기 생물학적 활성 물질이 성장 호르몬, 에리트로포이에틴, 인터페론 (α , β , γ -형), 백신, 표피 성장 호르몬 및 팩터 VIII, LHRH 유사체, 인슐린, 마크로파지 콜로니 자극 인자, 과립구 콜로니 자극 인자 및 인터루킨으로 이루어진 군으로부터 선택된 활성 물질인 방법.

청구항 20.

제 1항, 제 2항, 제 7항, 제 10항 및 제 11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 활성 물질이 항-종양제, 항생물질, 항염증제, 항히스타민제, 진정제, 근육 이완제, 항간질작용제, 항우울제, 항알레르기제, 기관지 확장제, 강심제, 항부정맥제, 혈관확장제, 항당뇨제, 항응혈제, 지혈제, 마취제 및 스테로이드로 이루어진 군으로부터 선택된 비단백질 약물 형태의 생물학적 활성 성분인 방법.

청구항 21.

삭제

청구항 22.

삭제

청구항 23.

삭제

청구항 24.

제 1항에 있어서, 단계 c)에서 수득한 입자를 상기 연속상으로부터 분리하고, 수성 매질로 린스하여 건조하거나 또는 건조 되도록 하는 방법.

청구항 25.

삭제

청구항 26.

삭제

청구항 27.

삭제

청구항 28.

삭제

청구항 29.

삭제

청구항 30.

삭제

청구항 31.

삭제

도면

도면1

