

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0060874
(43) 공개일자 2024년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) **A61K 31/436** (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01) **A61P 37/06** (2006.01)
 (52) CPC특허분류
A61K 9/0024 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2024-7014208
 (22) 출원일자(국제) 2022년09월27일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2024년04월26일
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2022/025445
 (87) 국제공개번호 WO 2023/046321
 국제공개일자 2023년03월30일
 (30) 우선권주장
 20210100639 2021년09월27일 그리스(GR)
 2116138.5 2021년11월10일 영국(GB)

(71) 출원인
파마텐 에스.에이.
 그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 테베나키온
 에스티알. 6
 (72) 발명자
카라바스, 에반겔로스
 그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 테베나키온
 에스티알. 6
코우트리스, 에프티미오스
 그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 테베나키온
 에스티알. 6
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
오중한, 문용호

전체 청구항 수 : 총 27 항

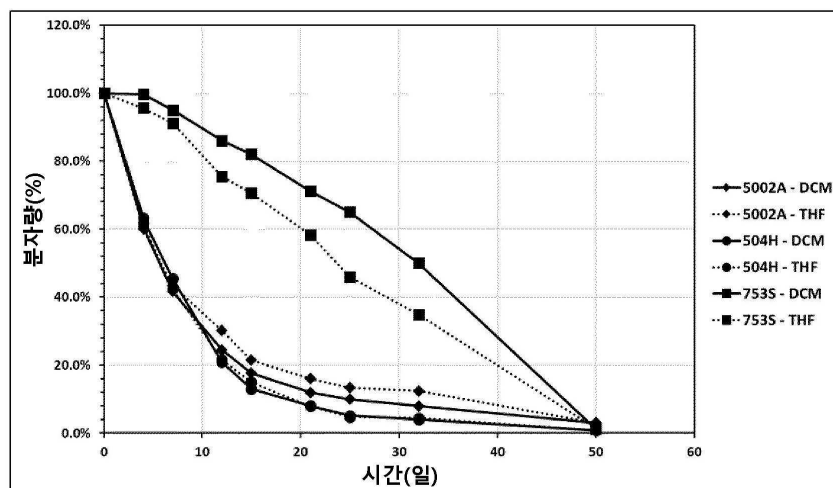
(54) 발명의 명칭 타크롤리무스를 포함하는 약제학적 제형, 이의 제조 방법 및 용도

(57) 요약

본 발명은 상이한 PLGA 폴리머와 타크롤리무스를 포함하는 생분해성 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 마이크로입자의 조합을 기반으로 하는 지효성 주사용 제형에 관한 것이다. 이는 또한 마이크로입자의 제조 방법 및 이의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1

필름의 분해에 대한 MW 및 락타이드 대 글리콜라이드(L:G) 비율의 효과



(52) CPC특허분류

A61K 9/1647 (2013.01)

A61K 9/1694 (2013.01)

A61P 37/06 (2018.01)

(72) 발명자

칼란치, 리다

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

차이티두, 소티리아

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

레모나키스, 니코스

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

파파다키, 안나

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

브리유데즈, 빈센트

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

칼레지, 아르테미스

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

카세니스, 아타나시오스

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

코티, 카테리나

그리스 지알-153 51 팔리니 아티키스 데베나키온
에스티알. 6

명세서

청구범위

청구항 1

마이크로입자를 포함하는 약제학적 제형으로서, 마이크로입자는 2개의 상이한 폴리머 및 타크롤리무스를 포함하고, 각각의 폴리머는 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머를 포함하고 각각의 폴리머는 동일한 락타이드 대 글리콜라이드 비율을 갖고, 그리고 각각의 폴리머는 상이한 분자량을 갖는, 약제학적 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 각각의 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머는 50:50의 락타이드 대 글리콜라이드의 비율을 갖는, 약제학적 제형.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머 각각은 15,000 내지 80,000 Da 범위의 상이한 중량 평균 분자량을 갖는, 약제학적 제형.

청구항 4

제3항에 있어서, 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머 각각은 15,000 내지 58,000 Da 범위의 상이한 중량 평균 분자량을 갖는, 약제학적 제형.

청구항 5

제3항에 있어서, 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머 각각은 17,000 내지 50,000 Da 범위의 상이한 중량 평균 분자량을 갖는, 약제학적 제형.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머의 분자량은 15,000 내지 30,000 Da이고, 제2 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머의 분자량은 30,000 내지 80,000 Da인, 약제학적 제형.

청구항 7

제6항에 있어서, 2개의 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머의 분자량은 각각 17,000 Da 및 50,000 Da인, 약제학적 제형.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머는 대략 17000 Da의 분자량을 갖고, 제2 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드) 폴리머는 대략 50000 Da의 분자량을 갖는, 약제학적 제형.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 2개의 상이한 마이크로입자 유형을 70:30 내지 30:70의 비율로 포함하는, 약제학적 제형.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 2개의 상이한 마이크로입자는 레이저광 회절로 측정 시 10 내지 200 마이크론의 입자 크기를 갖는, 약제학적 제형.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 마이크로입자의 폴리머 농도는 5 내지 13% w/w인, 약제학적 제형.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 근육내 또는 피하 투여 전에 희석제로 재구성되는, 약제학적 제형.

청구항 13

제8항에 있어서, 희석제는 카르복시메틸셀룰로오스나트륨, 만니톨, 염화나트륨, 수산화나트륨, 폴리소르베이트, 아세트산, 인산이수소나트륨 일수화물, 인산이나트륨 칠수화물 중 하나 이상을 포함하는, 약제학적 제형.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 근육내 또는 피하 주사에 의해 투여되는, 약제학적 제형.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 2개월마다 1회 투여되는, 약제학적 제형.

청구항 16

제1항에 있어서, 마이크로입자 내 타크롤리무스 약물 부하는 20% 내지 30% w/w인, 약제학적 제형.

청구항 17

제1항의 마이크로입자의 제조 공정으로서, 하기를 포함하는, 공정:

- 2개의 상이한 분자량의 PLGA 폴리머를 교반하면서 용매에 용해시키는 단계;
- 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
- 주사용수(WFI), 폴리(비닐 알코올)(PVA) 및 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계;
- 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 현탁액이 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;
- 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;
- 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계.

청구항 18

제1항의 마이크로입자의 제조 공정으로서,

- i) - 제1 PLGA 폴리머를 교반하면서 용매에 용해시키는 단계;
 - 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
 - 주사용수(WFI), 폴리(비닐 알코올)(PVA) 및 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계;
- 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- ii) 제1 폴리머와 상이한 분자량을 갖는 제2 PLGA 폴리머를 교반하면서 디클로로메탄(DCM)에 용해시키는 단계;
 - 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
 - 주사용수(WFI), 폴리(비닐 알코올)(PVA) 및 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계;

- 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- iii) 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 제1 PLGA 폴리머와 제2 PLGA 폴리머를 함유하는 현탁액이 함께 혼합되고 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;
- 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;
- 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계를 포함하는, 공정.

청구항 19

제1항의 마이크로입자의 제조 공정으로서,

- i) - 제1 PLGA 폴리머를 교반하면서 용매에 용해시키는 단계;
- 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
- 주사용수(WFI), 폴리(비닐 알코올)(PVA) 및 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계;
- 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 현탁액이 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;
- 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;
- 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계.
- ii) 제1 폴리머와 상이한 분자량을 갖는 제2 PLGA 폴리머를 교반하면서 용매에 용해시키는 단계;
- 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
- 주사용수(WFI), 폴리(비닐 알코올)(PVA) 및 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계;
- 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 현탁액이 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;
- 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;
- 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계.
- iii) 건조 후, 제1 PLGA 폴리머로부터 제조된 마이크로입자와 제2 PLGA 폴리머로부터 제조된 마이크로입자를 물리적으로 혼합하는 단계를 포함하는, 공정.

청구항 20

제17항, 제18항 및 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 PLGA 폴리머 대 제2 PLGA 폴리머의 비율은 70:30 내지 30:70인, 공정.

청구항 21

제17항, 제18항 및 제19항 중 어느 한 항에 있어서, PLGA 폴리머용 용매는 유기 용매인, 공정.

청구항 22

제17항, 제18항 및 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 용매는 에틸아세테이트, 테트라하이드로푸란, 아세토니트릴, 디클로로메탄(DCM), 클로로포름 및 아세톤으로부터 선택되는, 공정.

청구항 23

제17항, 제18항 및 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 용매는 디클로로메탄(DCM)인, 공정.

청구항 24

제17항, 제18항 및 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 연속상의 제어된 온도는 20℃ 미만인, 공정.

청구항 25

제17항, 제18항 및 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 연속상의 제어된 온도는 5 내지 10℃인, 공정.

청구항 26

이식 후 장기 거부, 골수 이식에 의한 이식편대숙주 질환, 자가면역 질환, 감염성 질환 등의 치료 및 예방을 위한, 성인 신장, 간 또는 심장 동종이식 수령인에서 이식 거부를 예방하기 위한 제1항에 따른 제형의 용도.

청구항 27

제1항에 있어서, 별도의 바이알에 존재하는 희석제와 마이크로입자가 사전 충전되는 주사기를 갖는 키트 또는 이중 챔버 주사기를 사용하여 근육내 또는 피하 투여되는, 약제학적 제형.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 치료적 유효량의 타크롤리무스를 함유하는 안정한 서방성 주사용 약제학적 제형, 이의 제조 방법, 및 이식 후 장기 거부, 골수 이식에 의한 이식편대숙주 질환, 자가면역 질환, 감염성 질환 등의 치료 및 예방을 위한 제형의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 이식 거부는 이식 수령인의 면역계가 이식된 장기나 조직을 공격하는 과정이다. 공여자와 수령인 사이의 항원이 유사할수록 장기가 거부될 가능성이 줄어든다. 조직 유형 지정을 통해 장기나 조직이 수령인의 조직과 최대한 유사하다는 것을 보장한다. 일치는 일반적으로 완벽하지 않다. 일관성 쌍생아를 제외하고는 어떤 두 사람도 동일한 조직 항원을 가지고 있지 않다.

[0003] 다음 이식 의약은 수령인 면역계를 억제하는 데 사용된다. 목표는 면역계가 새로 이식된 장기를 공격하는 것을 방지하는 것이다. 이러한 의약을 사용하지 않으면 신체는 거의 항상 면역 반응을 일으키고 외부 조직을 거부한다.

[0004] 면역억제제나 거부반응 약물은 이식된 장기를 거부하는 신체의 능력을 저하시킨다. 두 가지 유형의 면역억제제가 있다: 유도 약물은 이식 시 사용되는 강력한 거부반응 의약이고, 유지 약물은 일반적으로 이식 직후 및 장기 간 사용되는 거부반응 약물치료(medication)이다. 일반적으로 사용되는 유지 약물은 칼시뉴린 억제제(CNI)이다. 타크롤리무스는 SRTR(Systematic Registry of Transplant Recipients)의 보고서에 따르면 대다수의 이식 환자가 사용하는 CNI 면역억제제이다.

[0005] 타크롤리무스의 면역억제 활성은 T 세포의 세포질에서 발견되는 단백질 포스파타제인 칼시뉴린의 억제와 그에 따른 인터루킨-2 생산의 차단을 통해 매개되며 이는 T 세포 증식을 감소시킨다.

[0006] 타크롤리무스 일수화물의 분자식은 $C_{44}H_{69}NO_{12} \cdot H_2O$ 이며, 이는 분자량 822에 해당한다. 백색 또는 거의 백색의 결정성 분말이다. 에탄올에는 잘 녹고 헵탄과 물에는 거의 녹지 않는다.

[0007] 수용액 중 타크롤리무스는 중간체 타크롤리무스 화합물-I로 에피머화되고, 이는 타크롤리무스 화합물-II로 전환되어 세 가지 형태를 함유하는 평형 상태에 도달한다. 이는 분자의 고유한 특성이다.

[0008] 타크롤리무스는 현재 브랜드명 PROGRAFTM으로 경구용 정제, 캡슐 및 현탁액으로 그리고 입원 환자만의 주입을 위한 용액 농축액으로 입수 가능하다. 주입용 용액은 가용화제로 폴리옥실 60 경화 피마자유 또는 폴리소르베이트 80을 포함하며, 이 물질의 존재는 과민성 쇼크(즉, 심각한 알레르기 반응)와 환자의 사망을 초래할 수 있다. 정

맥내 주입 사용 지침은 환자가 개별 상황에서 과민성 반응을 피하게 할 수 있는 그 즉시 정맥내 주사에서 경구 약물치료로 전환해야 한다는 것을 추천하고, 정맥내 요법은 7일을 초과하여 지속해서는 안 된다. 경구 약물치료는 적어도 1일 1회 투여된다.

[0009] WO 2006/002365 A2는 마이크로입자를 포함하는 제형을 개시하고 있으며, 여기서 마이크로입자는 폴리머 및 타크롤리무스와 같은 약물을 포함하고, 약물은 50% 초과, 바람직하게는 75% 초과 농도(약물 중량/마이크로입자 중량)로 마이크로입자에 존재하며, 이는 높은 부하 제형이 덜 빈번한 투약을 용이하게 할 수 있음을 시사한다. 불행하게도, 개시된 제형은 약물의 적어도 15%가 거의 즉시 방출되고 약물 방출이 최대 약 3주 동안만 지속된다는 단점을 가지고 있다.

[0010] EP 1868576 A2는 과민증 문제를 피하기 위한 방법으로, 수소화된 피마자유가 없는 주사 가능한 나노미립자 제형을 개시하고, 제형은 하기를 포함한다: (a) 유효 평균 입자 크기가 약 2000 nm 미만인 타크롤리무스 입자; 및 (b) 적어도 하나의 표면 안정화제. 불행하게도, 개시된 입자 크기의 사용은 그러한 입자가 면역 세포에 의해 식균될 것이라는 단점을 갖는다(Dawes G.J.S. 등 Mater Sci: Mater Med (2009) 20: 1089-1094).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 상기의 각 특허는 기존 치료 레지멘과 연관된 문제를 극복하려는 시도를 나타내지만, 적절한 제어 방출 제품을 제공하지 않으며, 플라즈마 변동을 피하고, 높은 초기 약물 방출을 피하고, 만족스러운 수준의 방출을 제공하고, 과민증과 같은 관련 부작용의 위험을 줄이고, 경구용 제품을 1일 용량을 취하는 것을 기억하지 않아도 되므로 환자의 순응도를 개선하는 제어 방출 주사용 제형에 대한 필요성이 여전히 존재한다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 마이크로입자를 포함하는 약제학적 제형을 제공하고, 마이크로입자는 2개의 상이한 폴리머 및 타크롤리무스를 포함하고, 각각의 폴리머는 폴리(D,L-락티드-코-글리콜라이드) 폴리머를 포함하고 각각의 폴리머는 동일한 락티드 대 글리콜라이드 비율을 갖고, 그리고 각각의 폴리머는 상이한 분자량을 갖는다.

[0013] 본 발명에 따른 타크롤리무스는 임의의 결정성 또는 비정질 형태의 타크롤리무스의 염기 또는 임의의 염, 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다. 타크롤리무스의 2종의 형태적 이중성이 보고되었다:

[0014] 1) 피페콜산 모이어티에서 아마이드 결합의 제한된 회전을 포함하는 시스-트랜스 형태 이성질체화.

[0015] 2) 시스 이성질체와 타크롤리무스는 고체 상태에서 시스 형태로 존재한다.

[0016] 본 발명은 이식 후 장기 거부를 예방 또는 치료하기 위해 사용되는 비경구 투여용 타크롤리무스의 제어 방출을 위한, 더욱 특히, 선택적으로 다른 면역억제제와 병용하여 동종이계 간, 신장 또는 심장 이식을 받은 성인 및 소아 환자의 장기 거부의 예방을 위한 주사용 약제학적 제형에 관한 것이다.

[0017] 본 발명의 목적은 약물의 방출을 제어하고 투여 빈도를 감소시키기 위해 폴리머 마이크로입자로 캡슐화된 타크롤리무스를 제공하는 것이다. 이러한 제형은 더 나은 약물치료 순응도(medication adherence)를 보장하고, 치료 약물 모니터링의 필요성을 감소시키며, 현재 주입된 타크롤리무스 제형의 과민증 문제 가능성을 줄이고 경구 제품을 매일 투약할 필요성을 피한다.

[0018] 본 발명의 추가 장점은 임의의 방출 지연 단계 또는 버스트(burst)를 나타내지 않고 최대 2개월의 기간 동안 실질적으로 선형 방출 프로파일을 갖는 타크롤리무스 주사용 제형을 제공한다는 점이다. 이는 상이한 PLGA 폴리머로 만들어진 2개의 마이크로입자 유형을 조합하여 달성된다.

[0019] 본 발명의 추가 목적은 약물의 장기간 제어 방출을 제공하는 데포를 형성하기 위해 피하 또는 근육내 투여될 수 있는 주사용 제형을 제공하는 것이다.

[0020] 본 발명의 추가 목적은 타크롤리무스를 활성 성분으로 포함하는 주사용 제어 방출 제형을 제공하고, 이 제형은 이는 우수한 주사성, 주입성, 주사기 바늘이 막히거나 막히지 않음, 우수한 배수성, 멸균성 및 현탁 시 재현탁성을 보여준다.

[0021] 본 발명의 또 다른 목적은 타크롤리무스를 포함하는 분말 형태의 주사성 폴리머 마이크로입자의 제조 방법을 제공하는 것이다. 이 방법은 유화(o/w)(단일 또는 이중), 그 다음 용매 추출/증발을 포함한다. 투여 전 분말 재구

성을 위해 수성 비히클도 제공된다.

[0022] 희석제를 갖는 마이크로입자는 별도의 바이알에 존재하는 희석제와 마이크로입자가 사전 충전되는 주사기를 갖는 키트로서 또는 이중 챔버 주사기에 존재할 수 있다.

[0023] 본 발명의 다른 목적 및 장점은 다음의 상세한 설명을 통해 당업자에게 명백해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 본 발명의 목적을 위해, 활성 성분을 포함하는 약제학적 제형은 활성 성분이 그 자체로 및/또는 공지된 약제학적 제형에서 분해되는 것보다 덜 또는 더 느리게 분해되는 경우 안정한 것으로 간주된다. 제어형, 확장형, 지속형 및 장기 작용형 방출이라는 단어는 달리 언급되지 않는 한 상호 교환적으로 사용된다.

[0025] 이미 언급한 바와 같이, 본 발명의 주요 목적은 타크롤리무스의 약동학적 최적화 및 약물치료 순응도의 개선에 기여하는 약물 부하 마이크로입자 형태의 타크롤리무스의 제어 방출 주사용 제형을 제공하는 것이다.

[0026] 이식편 생존을 보장하는 데 성공했음에도 불구하고, 타크롤리무스의 치료 용도는 좁은 치료 지수(5 내지 15ng/ml)로 인해 복잡하다. 타크롤리무스는 약동학 프로파일에서 환자 간/환자 내 가변성이 크고 용해도가 불량하고 이는 경구 생체이용률이 불량하기 때문이다. 적정치료 이하 수준의 타크롤리무스는 이종이식편의 급성 거부를 초래할 수 있다. 또한, 전신 전달되는 타크롤리무스는 약물의 비선택적 분포로 인해 신독성 및 전반적인 면역억제를 비롯한 심각한 부작용을 일으킬 수 있다. 실제로, 약물 유도 신독성은 TAC의 주요 용량 제한 부작용으로 전체 발생률이 44%로 높게 보고되었다. 불행하게도 신독성은 이식 생존율과 환자의 기대 수명에 부정적인 영향과 같은 심각한 합병증을 유발할 수 있다. 실제로, 신독성 효과는 이들 약물을 사용한 치료 레지멘 동안 문제를 제시한다(Randhawa, P. S., Starzl, T. E. & Demetris, A. J. Tacrolimus (FK506)-Associated Renal Pathology. Adv Anat Pathol 4, 265-276 (1997)).

[0027] 타크롤리무스는 현재 즉시 방출 캡슐, 연장 방출 캡슐 및 연장 방출 정제를 포함한 경구 투약 형태로 이용 가능하다. 낮은 수용해도, 부위 의존적 투과성, 소화관 및 간에서의 광범위한 초회통과 대사, P-gp 매개 약물 유출 및 식품의 영향은 타크롤리무스의 경구 생체이용률이 낮고 가변적인 가장 중요한 이유이다. 타크롤리무스는 주입용 농축액으로도 이용 가능하지만, 정맥내 투여는 경구 투여가 가능하지 않고 대상체가 아직 병원 치료를 받고 있는 장기 이식의 초기 단계에만 제한되고, 환자가 경구 투여를 견딜 수 있게 되는 즉시 정맥내 주입을 중단하는 것이 권장된다(Prograf® injection USA 처방 정보).

[0028] 본 발명은 활성 성분이 폴리머 내 체류 시간 이후 지속 방출을 가능하게 하는 마이크로입자로서 생분해성 폴리머 내 타크롤리무스를 비경구 투여하기 위한 제어 방출 약물 전달 시스템을 제공하고, 상기 폴리머는 타크롤리무스의 면역억제 활성을 유지하면서 약물 방출을 제어하고 관련 독성을 감소시키며 위에서 설명한 불량한 경구 생체이용률 문제를 피한다.

[0029] 치료 순응도(adherence to treatment)는 광범위한 임상 설정에서 환자에 대한 임상 결과의 중요한 결정인자이다. 환자가 수개월 또는 수년 동안 치료를 받아야 하는 경우가 많고 치료를 조기에 중단하면 환자의 건강과 삶의 질에 심각한 결과를 초래할 수 있는 중증 질환의 경우 순응도가 특히 중요하다.

[0030] 치료 불순응의 구체적인 이유와 관계없이, 처방대로 환자가 약을 계속 약물치료를 받지 않으면 재발, 입원 비용이 높아지고, 일부 환자에서는 사망 위험이 증가한다.

[0031] 최근 약물 전달 기술의 발전으로 인해 치료 결과를 개선하도록 설계된 획기적인 전달 시스템이 개발되었다. 약물요법에 대한 순응도가 불량한 문제에 대한 한 가지 가능한 해결책은 단일 적용으로 며칠 또는 몇 주에 걸쳐 점차적으로 약물치료를 방출하는 새로운 장기 작용 약물 전달 시스템을 개발하는 것이다. 장기 작용 주사 기술은 지속 시간 연장을 통해 안전성과 효능을 개선하고, 순응도 문제와 부작용을 줄여 종래 제품에 비해 우월성을 제공할 수 있다. 환자가 약물치료를 덜 자주 받을 수 있게 함으로써, 이러한 기술은 약물치료 순응도가 개선된 결과와 밀접하게 연관되어 있는 심각한 질환을 치료하는 데 특히 도움이 될 수 있는 약품을 만든다.

[0032] 본 발명의 제형은 강화된 용해도 특성을 가지며, 이는 환자에게 투여 시 강화된 생체이용률뿐만 아니라 감소된 흡수 가변성을 제공한다. 이러한 요구를 충족함으로써, 본 발명은 폴리옥실 60 수소화 피마자유(HCO-60) 및/또는 폴리소르베이트 80을 가용화제로서 사용할 필요성을 제거한다. 이는 종래의 주사용 타크롤리무스 제형이 가용화제로서 폴리옥실 60 수소화 피마자유 또는 폴리소르베이트 80을 포함하기 때문에 유익하다. 이러한 가용화제의 존재는 과민성 쇼크(즉, 심각한 알레르기 반응)와 환자의 사망을 초래할 수 있다.

- [0033] 본 발명은 성인 신장, 간 또는 심장 동종이식 수령인에서 이식 거부를 예방하는 데 사용된다. 본 발명의 주사용 제형의 치료적 유효량은 환자 내에 피하 또는 근육내 데포를 형성하기 위해 대상체에게 투여된다. 데포는 시간 경과에 따라 천천히 타크롤리무스를 방출하여 동종이식 장기 수령인에게 장기간 치료를 제공한다.
- [0034] 생분해성 물질은 원래 천연 또는 합성이며 생체 내에서 효소적 또는 비효소적 또는 두 가지 모두로 분해되어 생체 적합하고 독물학적으로 안전한 부산물을 생성하며 정상적인 대사 경로에 의해 추가로 제거된다. 제어된 약물 전달에 사용되는 이러한 물질의 수는 지난 10년 동안 극적으로 증가하였다. 약물 전달에 사용되는 생체 재료의 기본 범주는 광범위하게 다음과 같이 분류될 수 있다: (1) α-하이드록시산(폴리락트산-코-글리콜산, PLGA를 포함하는 계열), 폴리무수물 등과 같은 상대적 소수성 물질을 포함하는 합성 생분해성 폴리머, 및 (2) 복합 당(히알루로난, 키토산) 및 무기물(수산화인회석)과 같은 자연 발생 폴리머.
- [0035] 폴리에스테르 PLGA는 폴리락트산(PLA)과 폴리글리콜산(PGA)의 코폴리머이다. 이는 디자인과 성능 측면에서 약물 전달에 사용할 수 있는 가장 잘 정의된 생체재료이다. 폴리락트산은 비대칭 α-탄소를 함유하고 있으며 이는 전형적으로 고전적인 입체화합 용어로 D 또는 L 형태로 기재되고 때로는 각각 R 및 S 형태로 기재된다. 폴리머 PLA의 거울상이성질체 형태는 폴리 D-락트산(PDLA)과 폴리 L-락트산(PLLA)이다. PLGA는 일반적으로 D- 및 L-락트산 형태가 동일한 비율인 폴리 D,L-락트산-코-글리콜산의 머리글자이다.
- [0036] 주사용 생분해성 및 생체적합성 PLGA 입자(마이크로입자, 마이크로캡슐, 나노캡슐, 나노스피어)가 제어 방출 투약 형태에 사용될 수 있다. 이러한 폴리머 장치에 제형화된 약물은 폴리머 장벽을 통한 확산, 폴리머 물질의 침식, 또는 확산과 침식 메커니즘의 조합에 의해 방출된다. 생체적합성, 약물 상용성, 적절한 생분해 동역학 및 기계적 특성 외에도, PLGA는 다양한 형태와 크기로 쉽게 가공되고 제작될 수 있다.
- [0037] 폴리머 제형은 분해 속도에 영향을 미치는 전달 매트릭스의 친수성과 분해 속도를 결정하는 가장 중요한 인자이다. 올리고머의 글리콜산 백분율이 증가하면 일반적으로 폴리머의 중량 손실이 가속화된다. PLGA 50:50은 더 높은 친수성에 의해 할당된 글리콜산 비율의 우선적인 분해로 인해 PLGA 65:35보다 더 빠른 분해를 나타낸다. 이후에 PLGA 65:35는 PLGA 75:25보다, PLGA 75:25는 PLGA 85:15보다 더 빠른 분해를 나타낸다. 따라서 분해 속도의 절대값은 글리콜산 비율에 따라 증가한다. 글리콜산의 양은 매트릭스의 친수성을 조정하여 분해 및 약물 방출 속도를 조정하는 데 중요한 매개변수이다. 분자량이 높은 폴리머는 일반적으로 분해 속도가 더 낮다. 분자량은 폴리머 사슬 크기와 직접적인 관계가 있다. 분자량이 높은 폴리머는 폴리머 사슬이 길어서 작은 폴리머 사슬보다 분해하는 데 더 많은 시간이 필요하다.
- [0038] 폴리머 유형, 폴리머 분자량, 미소구체의 크기와 형태를 조정함으로써 약물 방출 속도와 방출 시간을 조절할 수 있으므로, 치료적 필요에 따라 약물 부하 마이크로입자를 제작하는 것이 가능하다. 타크롤리무스에 PLGA 미소구체 기술을 적용하면 두 가지 예상 효과가 있다. 하나는 약동학 프로파일의 변화와 관련된 역효과의 감소이다. 다른 하나는 약물치료 순응도가 개선되는 것이다.
- [0039] 본 발명에 따른 PLGA 마이크로입자의 제조에 사용하기 위한 적합한 상업적으로 입수 가능한 폴리머는 RESOMER[®] 및 LAKESHORE BIOMATERIALS(Evonik Industries AG), Expansorb[®](PC AS.), PURASORB[®](PURAC Biochem BV)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0040] 본 발명의 목적은 특히 50:50의 락타이드 대 글리콜라이드 비율을 갖는 PLGA 폴리머의 사용에 의해 지원된다. 이러한 폴리머, 바람직하게는 15,000 Da 내지 80,000 Da의 분자량을 갖는 폴리머, 보다 바람직하게는 15,000 Da 내지 58,000 Da, 특히 대략 17,000 Da 내지 50,000 Da의 분자량을 갖는 폴리머는 적어도 2개월 동안 선형 방출 프로파일을 달성하는 데 특히 관련이 있다.
- [0041] 본 발명의 바람직한 구현예에서, 제1 폴리머의 분자량은 15,000 내지 30,000 Da이고, 제2 폴리머의 분자량은 30,000 내지 80,000 Da이다. 본 발명의 추가 바람직한 구현예에서, 2개의 폴리머의 분자량은 각각 17,000 Da 및 50,000 Da이다.
- [0042] 단일 PLGA 폴리머를 사용하면 원하는 방출 프로파일을 얻을 수 없었지만, 이제 놀랍게도 본 발명자들은 2개의 상이한 PLGA 마이크로입자 유형이 조합될 때 타크롤리무스의 낮은 초기 버스트 방출을 제공하도록 제어되고 적어도 2개월의 기간 동안 제어되는 타크롤리무스 방출의 선형 프로파일이 달성된다는 사실을 발견하였다. 두 가지 유형의 PLGA 폴리머는 50:50의 락타이드 대 글리콜라이드 비율을 갖지만 각 마이크로입자 유형은 상이한 분자량의 폴리머로 제조된다. 두 가지 마이크로입자 유형을 70:30내지30:70의 비율로 조합하면 필요한 방출 속도가 달성된다.

- [0043] 그럼에도 불구하고, 유사한 방식으로 기능할 수 있는지 여부에 따라 폴리머의 적절한 선택 및 조합은 아직 확인되지 않았다. 동일하거나 다른 성질, 상이한 분자량 및/또는 락타이드 대 글리콜라이드 비율의 2개 초과 상이한 폴리머로 제조된 마이크로입자의 조합이 본 발명에 필적하는 거동을 나타낼 수 있다는 것이 입증될 수 있다. 또한, 본 발명은 타크롤리무스와 같이 용해도가 낮고 막 투과성이 높은 다른 약제학적 활성 성분에 대한 적용을 찾을 수 있다. 이러한 약제학적 활성 성분은 플루르바이프로펜, 나프록센, 사이클로스포린, 케토프로펜, 리팜피신, 카르바마제핀, 글리벤클라미드, 바이칼루타마이드, 에제티미브, 아세클로페낙 및 기타일 수 있다.
- [0044] 약물 전달 매트릭스의 폴리머 농도와 약물 부하 양은 약물 방출의 속도와 지속 시간에 중요한 역할을 한다. 더 높은 약물 함량을 갖는 매트릭스는 더 작은 폴리머 대 약물 비율로 인해 더 낮은 함량을 갖는 매트릭스보다 더 큰 초기 버스트 방출을 갖는다. 그러나 이러한 약물 함량 효과는 약물 유형에 따라 약물 함량이 일정 수준에 도달하면 약화된다. 본 발명에서는 30%w/w 미만, 특히 20% 내지 30% w/w의 타크롤리무스의 마이크로입자 내 약물 부하가 바람직하다. 5% 내지 13%w/w의 폴리머 농도도 본 발명에서 바람직하다.
- [0045] PLGA 마이크로입자를 제조하는 다수의 공정이 알려져 있다. 바람직하게는 본 발명의 마이크로입자는 단일 에멀전 용매 증발 공정에 의해 제조된다. 이는 가장 쉽고 빠르며 비용 효율적인 공정이다. 적합한 공정은 아래에서 더 자세히 기재된다:
- [0046] a) 마이크로입자의 제조 공정은 다음 단계를 포함한다:
- [0047] - 2개의 상이한 분자량의 PLGA 폴리머를 교반하면서 적합한 용매에 용해시키는 단계;
- [0048] - 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
- [0049] - 주사용수(WFI), 하나 이상의 계면활성제 및 하나 이상의 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계로서, 연속상은 20℃ 미만, 더욱 바람직하게는 5 내지 10℃의 온도에서 온도 조절되는 단계;
- [0050] - 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- [0051] - 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 현탁액이 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;
- [0052] - 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;
- [0053] - 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계.
- [0054] b) 마이크로입자의 제조 공정은 다음 단계를 포함한다:
- [0055] i) - 제1 PLGA 폴리머를 교반하면서 적합한 용매에 용해시키는 단계;
- [0056] - 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
- [0057] - 주사용수(WFI), 하나 이상의 계면활성제 및 하나 이상의 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계로서, 연속상은 20℃ 미만, 더욱 바람직하게는 5 내지 10℃의 온도에서 온도 조절되는 단계;
- [0058] 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- [0059] ii) 제1 폴리머와 상이한 분자량을 갖는 제2 PLGA 폴리머를 교반하면서 적합한 용매에 용해시키는 단계;
- [0060] - 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;
- [0061] - 주사용수(WFI), 하나 이상의 계면활성제 및 하나 이상의 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계로서, 연속상은 20℃ 미만, 더욱 바람직하게는 5 내지 10℃의 온도에서 온도 조절되는 단계;
- [0062] - 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;
- [0063] iii) 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 제1 PLGA 폴리머와 제2 PLGA 폴리머를 함유하는 현탁액이 함께

혼합되고 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;

[0064] - 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;

[0065] - 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계.

[0066] c) 제1항의 마이크로입자의 제조 공정으로서, 하기를 포함하는, 공정:

[0067] i) - 제1 PLGA 폴리머를 교반하면서 적합한 용매에 용해시키는 단계;

[0068] - 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;

[0069] - 주사용수(WFI), 하나 이상의 계면활성제 및 하나 이상의 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계로서, 연속상은 20℃ 미만, 더욱 바람직하게는 5 내지 10℃의 온도에서 온도 조절되는 단계;

[0070] 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;

[0071] - 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 현탁액이 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;

[0072] - 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;

[0073] - 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계.

[0074] ii) 제1 폴리머와 상이한 분자량을 갖는 제2 PLGA 폴리머를 교반하면서 적합한 용매에 용해시키는 단계;

[0075] - 타크롤리무스를 교반하면서 폴리머 용액에 첨가하여 분산된 오일상(DP)을 형성하는 단계;

[0076] - 주사용수(WFI), 하나 이상의 계면활성제 및 하나 이상의 완충제를 포함하는 연속상(CP)을 제조하고 제어된 온도에서 유지하는 단계로서, 연속상은 20℃ 미만, 더욱 바람직하게는 5 내지 10℃의 온도에서 온도 조절되는 단계;

[0077] - 분산상과 연속상을 고전단 회전자-고정자 연속 흐름 분산기(즉, 인라인 균질기) 또는 오버헤드 교반기를 사용하여 혼합하고 유화시켜 현탁액을 형성하는 단계;

[0078] - 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 현탁액이 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 만족스러운 제거 및 마이크로입자 고화를 보장하는 단계;

[0079] - 형성된 마이크로입자를 체에 수집하고 물로 세척하는 단계;

[0080] - 마이크로입자를 진공 하에 건조시키는 단계.

[0081] iii) 건조 후, 제1 PLGA 폴리머로부터 제조된 마이크로입자와 제2 PLGA 폴리머로부터 제조된 마이크로입자를 물리적으로 혼합하는 단계.

[0082] PLGA 폴리머의 몰비는 70:30 내지 30:70, 바람직하게는 50:50의 몰비이다.

[0083] 상기 공정에 사용될 수 있는 PLGA에 적합한 용매는 에틸아세테이트, 테트라하이드로푸란, 아세토니트릴, 디클로로메탄(DCM) 및 클로로포름과 같은 유기 용매를 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 바람직한 용매는 디클로로메탄이다.

[0084] 연속상은 독립적으로 또는 조합하여 사용되는 음이온성 계면활성제(예컨대 스테아르산나트륨, 나트륨 라우릴 설페이트), 비이온성 계면활성제(예컨대 tweens), 폴리비닐피롤리돈, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨 및 젤라틴으로부터 선택되는 하나 이상의 계면활성제를 갖는 수용액으로 구성된다. 하나의 계면활성제를 사용하는 것이 바람직하다. 바람직한 계면활성제는 폴리비닐 알코올(PVA)이다.

[0085] 적합한 완충제는 탄산나트륨, 중탄산나트륨, 탄산칼륨, 중탄산칼륨, 인산수소나트륨, 인산이수소나트륨, 인산칼륨 일염기성, 및 인산칼륨 이염기성 및 이들의 조합을 포함하며, 바람직한 완충제는 탄산나트륨 및 중탄산나트륨 및 이들의 조합이다.

[0086] 본 발명에 의해 기재된 공정은 레이저광 회절에 의해 측정된 입자 크기 분포가 10 내지 200 마이크론인 마이크로입자를 형성하는 결과를 가져온다.

[0087] 제형은 적합한 희석제로 재구성한 후 피하 또는 근육내 주사로 투여하는 것이 바람직하다. 보다 구체적으로 희석제는 사전 충전형 주사기에 포장될 수 있고 마이크로입자를 함유하는 분말은 바이알에 포장될 수 있다. 사용 직전에 사전 충전형 주사기 (용매) 및 바이알 (분말)의 내용물을 혼합하여 환자에게 주사할 현탁액을 제조한다. 대안으로, 이중 챔버 펜을 사용할 수도 있고; 한 챔버의 분말을 사용 전에 사전 충전된 펜의 다른 챔버 내의 용매와 혼합하고, 얻은 현탁액을 환자에게 주입한다. 제형은 바람직하게는 2개월마다 1회 투여된다.

[0088] 적합한 희석제는 현탁화제/점도 강화제, 완충제 및/또는 pH 조절제, 계면활성제 및 등장성 조절제로 이루어진 군으로부터 선택된 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다. 적합한 점도 강화제는 만니톨, 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 에컨대 PLASDONE 및 하이드록시프로필메틸셀룰로오스(HPMC), 에컨대 Methocel, 바람직하게는 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스 및 만니톨을 포함한다. 통상적으로 사용되는 완충 부형제는 시트르산 일수화물, 글리신, 말레산 산, 메티오닌, 아세트산나트륨, 나트륨 시트레이트 탈수화물, 인산 이수소나트륨 일수화물 및 인산이나트륨 칠수화물 바람직하게는 인산이수소나트륨 일수화물 및 인산이나트륨 칠수화물 및/또는 시트르산 일수화물을 포함한다. 등장성 조절제 에컨대 텍스트로스, 만니톨, 염화칼륨, 염화나트륨을 사용할 수 있고 바람직하게는 염화나트륨을 사용할 수 있다. 계면활성제도 사용될 수 있고, 그 예는 폴리소르베이트 20 및 80, D-a-토페릴 폴리에틸렌 글리콜 1000 석시네이트, 폴리옥시에틸화 피마자유 바람직하게는 폴리소르베이트 20 및 80이다. pH 조절제는 아세트산, 수산화나트륨, 염화나트륨, 바람직하게는 수산화나트륨 및/또는 염화나트륨으로부터 선택된다. 수성 희석제는 특히 pH 범위가 6 내지 7.5이고 점도가 3 내지 90cP 범위인 수성 희석제가 바람직하다.

[0089] 실시예

[0090] 실시예 1

[0091] 폴리머를 다양한 용매(즉, DCM, THF)에 용해시키고 생산된 용액에 API 물질을 천천히 첨가하여 물질의 상용성을 검사하였다. 표 1에 제시된 바와 같이 다양한 폴리머를 사용하였다. 최대 30%w/w의 타크롤리무스 농도를 갖는 모든 경우에 투명한 용액을 얻었다.

[0092] 분해 연구를 위해, 30% w/w 타크롤리무스를 함유한 각 폴리머의 필름을 합성하고 위약 필름(타크롤리무스가 없는)과 비교하였다. 용매를 증발시킨 후 DCM 용매에 적절한 양의 폴리머와 타크롤리무스를 함유한 용액으로부터 필름을 제조하였다. 단리된 필름을 인산염 완충 식염수(PBS, pH = 7.4) 용액에 침지시키고 거의 1개월 동안 37 °C에서 유지하였다. 일정한 시간 간격으로, 필름 샘플을 채취하고 GPC로 Mw를 측정하여 질량 손실을 조사하였다.

표 1: 상용성 및 분해 연구에 사용되는 폴리머

명칭	L:G 비율	말단기	분자량 (Da)
PURASORB PDLG 5002A	50:50	산	≈17,000
RESOMER RG 504H	50:50	산	≈50,000
RESOMER RG 753S	75:25	에스테르	≈40,000

[0093]

[0094] 필름은 균질하였고, 상 분리는 관찰되지 않았다. 시간에 따른 폴리머 MW 손실을 측정하였고 그 결과는 도 1에 제시된다.

[0095] 50:50의 락타이드:글리콜라이드 비율을 갖는 폴리머가 본 발명의 목적에 가장 적합하다. 더욱이, 모든 필름은 타크롤리무스와의 상용성에 대해 연구되었으며 API 유도 분해가 없음을 나타내는 매우 유사한 분해 프로파일을 나타내었다.

[0096] 실시예 2

[0097] 동일한 락타이드 대 글리콜라이드 비율의 두 폴리머의 마이크로입자는 다음과 같이 단일 에멀전 용매 증발 공정을 사용하여 제조되었다.

[0098] 50:50의 물비($M_w = 17,000$ 또는 $M_w = 50,000$)를 갖는 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드)를 교반하면서 디클로로메탄에 용해시켰다. 이어서 타크롤리무스를 폴리머 용액에 용해시켜 분산상(DP)을 형성하였다. 폴리(비닐 알코올)을 80℃에서 주사용수에 용해시킨 다음, 탄산수소나트륨과 탄산나트륨을 첨가하였다. 용액을 25℃로 냉각하여 연속상(CP)을 형성하였다. CP와 DP를 인라인 분산기에 전달하여 원하는 입자 크기 분포의 마이크로입자를 제조하였다. 20℃에서 제어된 온도와 공기 흐름 하에서 교반하여 현탁액이 용매 추출 및 증발을 거쳐 유기 용매의 제거 및 입자 고화를 보장하였다. 3 내지 4시간 후, 마이크로입자를 유리 필터 건조기로 옮기고 실온에서 과잉의 물로 세척하고, 진공하에 24시간 동안 방치하여 건조시켰다.

[0099] 생산된 마이크로입자의 품질 속성(즉, 입자 크기 및 방출 프로파일)에 대한 사용된 폴리머의 M_w 의 효과는 표 2에 나타낸다.

표 2: 제형화된 마이크로입자의 약물 부하, PSD 및 방출 속도

PLGA MW	기한 약물 부하 (%)	입자 크기 분포 (μm)			% 방출/일		
		*Dv(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
5002A (17,000 Da)	29.37	49.22	73.68	108.21	1.80	16.09	23.46
504H (50,000 Da)	28.43	77.36	112.00	158.22	25.00	34.64	≥ 50

[0100] * 레이저광 회절로 측정된 누적 부피 분포의 Dv(x) 백분위수.

[0101] 결과는 고분자량 폴리머가 동일한 공정 매개변수 세트에 대해 더 큰 마이크로입자를 생성한다는 것을 보여준다. 이는 유화 중 분산상의 점도가 높아지기 때문일 수 있다. 더 작은 마이크로입자에 의해 얻어지는 초기 방출 프로파일은 단위 부피에 대한 표면적 비율이 더 높기 때문일 수 있다.

[0102] 실시예 3

[0103] 저분자량 PLGA 폴리머에 대해 마이크로입자 제형 동안 분산(오일) 상의 폴리머 농도 효과도 검사되었다. 마이크로입자의 품질 속성에 대한 PLGA 농도의 영향을 평가하기 위해 제형을 테스트하였다.

[0104] 생산된 마이크로입자의 품질 속성(즉, 입자 크기 및 방출 프로파일)에 대한 분산(유상)의 폴리머 농도 효과가 표 3에 나타낸다.

표 3: 제형화된 마이크로입자의 약물 부하, PSD 및 방출 속도

PLGA Conc. (% w/w)	기한 약물 부하 (%)	입자 크기 분포 (μm)			% 방출/일		
		Dv(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
13	29.37	49.22	73.68	108.21	1.80	16.09	23.46
5	28.84	15.39	25.80	39.88	0.72	15.32	23.55

[0105] 위의 표 3에 제시된 바와 같이, 분산상의 폴리머 농도를 증가시키면 유화 과정에서 점도가 높아져 입자 크기도 증가하게 된다. 두 제형의 용해 프로파일은 더 낮은 PLGA 농도로 얻은 마이크로입자에 대해 약간 더 높은 선행성을 가지며 거의 유사하였다. 따라서, 5% 내지 13% w/w의 PLGA 농도는 허용 가능한 크기의 마이크로입자를 생성하고 본 발명의 목적에 적합한 것으로 보인다.

[0107] 실시예 4

[0108] 이전 제형에서 볼 수 있듯이, 입자 크기는 용해 프로파일에 중요한 역할을 한다. 입자 크기 외에도, 마이크로입자에 다공성을 생성하여 단위 부피당 표면적을 증가시킬 수 있다. 용매 추출/증발 방법을 사용하여 다공성 마이크로입자를 생성하기 위한 가장 일반적인 실시는 이중 유화 공정을 적용하는 것이다. 방출 속도에 대한 다공도의 영향을 평가하기 위해, 이중 에멀전 용매 추출 및 증발 공정을 적용하였고, 생산된 제형을 단일 에멀전 공정을 사용하여 수행된 제형과 비교하였다.

[0109] 생산된 마이크로입자의 품질 속성(즉, 입자 크기 및 방출 프로파일)에 대한 에멀전 유형의 효과는 표 4에 나타난다.

표 4: 제형화된 마이크로입자의 약물 부하, PSD 및 방출 속도

에멀전 유형	기한 약물 부하 (%)	입자 크기 분포 (μm)			% 방출/일		
		Dv(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
단일	30.61	15.1	25.1	38.7	4.63	14.58	20.60
이중	29.67	31.4	43.1	58.6	3.51	11.51	17.78

[0110]

[0111] 이중 에멀전 공정은 동일한 공정 매개변수 세트를 사용하는 단일 에멀전에 비해 더 큰 마이크로입자를 생성한다. 크기를 기준으로 얻은 결과로부터, 더 작은 입자의 경우 더 높은 방출 속도를 볼 수 있을 것으로 예상된다. 결과는 이중 에멀전 공정으로 얻은 더 큰 마이크로입자에 대한 초기 방출 프로파일을 보여준다. 이는 다공성의 존재가 크기 효과보다 우세하며 더 큰 다공성 마이크로입자가 더 높은 비표면적으로 인해 더 높은 방출 속도를 나타냄을 나타낸다.

[0112] 다공성이 방출 속도에 미치는 영향을 보다 결정적으로 평가하기 위해, 거의 동일한 크기를 나타내는 마이크로입자를 테스트해야 한다. 동일한 크기의 마이크로입자를 분리하기 위해, 인-라인 균질기를 활용하였다.

[0113] 생산된 마이크로입자의 품질 속성(즉, 입자 크기 및 방출 프로파일)에 대한 에멀전 유형의 효과는 표 5에 나타난다.

표 5: 제형화된 마이크로입자의 약물 부하, PSD 및 방출 속도

에멀전 유형	기한 약물 부하 (%)	입자 크기 분포 (μm)			% 방출/일		
		Dv(10)	Dv(50)	Dv(90)	10%	50%	80%
단일	27.16	4.54	10.45	20.78	1.51	9.24	16.06
이중	27.49	4.84	10.72	22.37	0.84	4.31	9.04

[0114]

[0115] 제시된 결과로부터 동일한 크기의 마이크로입자의 경우 이중 에멀전 공정에 의해 얻은 마이크로입자의 경우 용해 프로파일이 훨씬 더 빠르다는 것이 명백하다. 이는 마이크로입자의 다공성과 다공성으로 인한 더 높은 비표면적의 명확한 효과에 기인한다.

[0116] 실시예 5

[0117] 본 발명에 따라 2개월의 기간 동안 선형 프로파일을 달성하기 위해, MW는 상이하지만 동일한(50:50) 락타이드 대 글리콜라이드 비율의 두 PLGA를 사용하여 마이크로입자를 제조하였다. 실시예 2에 기재된 단일 유화 공정을 사용하였다. PLGA의 농도는 5% 내지 13% w/w의 최적 비율이었고, 타크롤리무스의 농도는 30% w/w 미만이었으며 생성된 마이크로입자의 입자 크기는 10 내지 200 마이크론이었다.

[0118] 생성된 개별 마이크로입자를 70:30 내지 30:70의 상이한 질량비로 물리적으로 혼합하고, 이들의 용출 프로파일

을 측정하여 아래 표 6에 나타내었다.

표 6: 상이한 질량비의 상이한 마이크로입자 물리적 혼합물의 방출 프로파일

혼합물 (50:50) (5002A:504H)		혼합물 (70:30) (5002A:504H)		혼합물 (30:70) (5002A:504H)	
시간 (일수)	방출 (%)	시간 (일수)	방출 (%)	시간 (일수)	방출 (%)
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1	1.3	0.1	1.3	0.1	1.2
1.0	2.5	1.0	3.1	1.0	1.9
4.0	6.0	4.0	8.0	4.0	4.1
8.0	12.7	8.0	17.4	8.0	8.1
12.0	19.5	12.0	26.9	12.0	12.1
16.0	28.3	16.0	39.1	16.0	17.4
20.0	37.1	20.0	50.8	20.0	23.4
24.0	45.1	24.0	59.7	24.0	30.5
28.0	55.7	28.0	68.2	28.0	43.2
32.0	66.7	32.0	76.5	32.0	56.9
36.0	73.9	36.0	81.2	36.0	66.5
40.0	80.2	40.0	85.1	40.0	75.2
44.0	83.6	44.0	87.2	44.0	80.0
48.0	85.3	48.0	88.2	48.0	82.4
52.0	86.8	52.0	89.1	52.0	84.5
56.0	87.3	56.0	89.4	56.0	85.2
60.0	89.7	60	91.2	60	88.3

본 발명에 따르면 방출 프로파일은 적어도 2개월 동안 거의 선형적인 방출을 나타낸다.

폴리머가 현장에서 혼합된 PLGA 혼합물의 효과도 평가되었다. 이는 유화(하나의 분산상) 전에 2개의 폴리머를 DCM에 용해시키거나 폴리머 중 하나를 함유하는 하나의 분산상의 유화에 이어 동일한 연속상에 제2 폴리머를 함유하는 제2 분산상(2개의 상이한 분산상)의 유화를 통해 수행될 수 있다.

이들 제형의 용해 프로파일은 표 6에 제시된 프로파일과 마찬가지로 유사하다.

도면

도면1

필름의 분해에 대한 MW 및 락타이드 대 글리콜라이드(L:G) 비율의 효과

