

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5021318号
(P5021318)

(45) 発行日 平成24年9月5日(2012.9.5)

(24) 登録日 平成24年6月22日(2012.6.22)

(51) Int. Cl.		F I
A 6 1 K	47/40 (2006.01)	A 6 1 K 47/40
A 6 1 K	31/439 (2006.01)	A 6 1 K 31/439
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04
A 6 1 P	29/02 (2006.01)	A 6 1 P 29/02
A 6 1 K	47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/10

請求項の数 4 (全 35 頁) 最終頁に続く

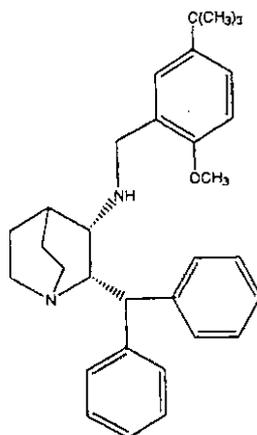
(21) 出願番号	特願2006-550330 (P2006-550330)	(73) 特許権者	397067152 ファイザー・プロダクツ・インク アメリカ合衆国コネチカット州グロトン市 イースタン・ポイント・ロード
(86) (22) 出願日	平成17年1月17日 (2005.1.17)	(74) 代理人	100096666 弁理士 室伏 良信
(65) 公表番号	特表2007-519703 (P2007-519703A)	(72) 発明者	アダミ, ロジャー クリストファー アメリカ合衆国, コネチカット 06340, グロトン, イースタン ポイント ロード, ファイザー グローバル リサーチ アンド ディベロップメント
(43) 公表日	平成19年7月19日 (2007.7.19)		
(86) 国際出願番号	PCT/IB2005/000100		
(87) 国際公開番号	W02005/082416		
(87) 国際公開日	平成17年9月9日 (2005.9.9)		
審査請求日	平成19年10月11日 (2007.10.11)		
(31) 優先権主張番号	60/540,897		
(32) 優先日	平成16年1月30日 (2004.1.30)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
前置審査			
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 β-シクロデキストリンを液体投薬形態に用いて多用量製剤を達成するための抗菌性防腐剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

9.0 ~ 11.0 mg A / ml の濃度の式 I a の活性医薬成分、
【化1】



Ia

10

又はその医薬として許容される塩、

60 ~ 80 mg / ml の濃度のスルホブチル・エーテル-β-シクロデキストリン、及び

20

2.5 ~ 4.75 mg/ml の濃度のメタ-クレゾール、
を含む注射用医薬水溶液。

【請求項 2】

前記活性医薬成分が (2S, 3S) - 2 - ベンズヒドリル - N - (5 - tert - ブチル - 2 - メトキシベンジル) キヌクリジン - 3 - アミンのクエン酸塩である、
請求項 1 に記載の注射用医薬水溶液。

【請求項 3】

10 mg A/ml の (2S, 3S) - 2 - ベンズヒドリル - N - (5 - tert - ブチル - 2 - メトキシベンジル) キヌクリジン - 3 - アミンのクエン酸塩、
61 ~ 72 mg/ml のスルホブチル・エーテル- -シクロデキストリン、及び、
3.2 ~ 4.2 mg/ml のメタ-クレゾール
を含む請求項 1 または 2 に記載の注射用医薬水溶液。

10

【請求項 4】

10 mg A/ml の (2S, 3S) - 2 - ベンズヒドリル - N - (5 - tert - ブチル - 2 - メトキシベンジル) キヌクリジン - 3 - アミンのクエン酸塩、
63 mg/ml のスルホブチル・エーテル- -シクロデキストリン、及び、
3.3 mg/ml のメタ-クレゾール
を含む請求項 1 - 3 のいずれかひとつに記載の注射用医薬水溶液。

【発明の詳細な説明】

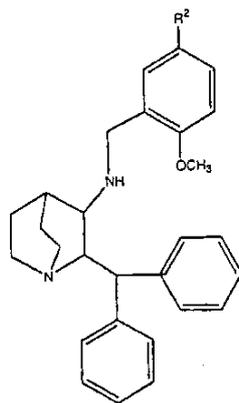
【技術分野】

20

【0001】

本発明は、治療有効量の活性医薬成分(API)、医薬として許容されるシクロデキストリン、及び医薬として許容される防腐剤を含む医薬組成物に関する。本発明は、以下の式 I :

【化 1】



I

30

[式中、R²は、メチル、エチル、イソプロピル、sec-ブチル、及びtert-ブチル
からなる群から選ばれる]

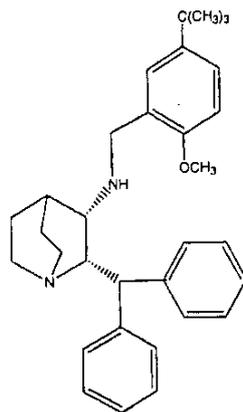
40

で表される化合物、並びに医薬として許容されるシクロデキストリン及び防腐剤の医薬
組成物にも関する。

【0002】

特に、本発明は、以下の式 I a :

【化2】



Ia

10

で表される化合物、並びに医薬として許容されるシクロデキストリン及び防腐剤の医薬組成物に関する。

【0003】

本発明は、さらに式Iの化合物、又はその医薬として許容される塩、 β -シクロデキストリン及び防腐剤を含む注射用水溶液の注射部位寛容性を改良することにさらに関する。

20

本発明はまた、貯蔵性API組成物を開発する方法に関する。

【背景技術】

【0004】

式I及びIaの化合物を含むニューロキニン受容体アンタゴニストを投与することは、注射部位寛容性に関して種々の問題(例えば、対象の刺激性、炎症、腫れ、及び/又は注射部位の発赤)を提示する。種々の物質の使用を介して、注射部位寛容性の改良に関する多くの研究がなされてきたが、それらの研究のどれも、ニューロキニン受容体アンタゴニストの投与に注目しなかった。

【0005】

式I又はIaの化合物は、米国特許第5,807,867号、米国特許第6,222,038号、及び米国特許第6,255,320号の主題である。式I及びIaの化合物の調製は、当該文献に記載されている。式Iaの化合物は、一般的にPfizer, Inc.に譲受され、そして所有される同時係属米国仮特許出願第60/541,323号において記載されるように調製されてもよい。米国特許第5,393,762号はまた、NK-1受容体アンタゴニストを使用した嘔吐の医薬組成物及び治療を記載する。一般的にPfizer, Inc.に譲受され、所有される同時係属米国仮出願第60/540,697号は、式I又はIaの化合物を投与することによる患者の麻酔状態からの回復を改善する方法を記載する。前述の出願、特許、及び本明細書内で引用される他の全ての参考文献のテキストは、その全てを本明細書中に援用される。

30

【0006】

式Iaの化合物は、二個のアミン官能基(4.42のpKaを有する二級アミン及び9.31のpKaを有する三級アミン)を有する塩基性薬剤である。式Iaの化合物の塩酸塩は、0.02Mリン酸/0.02M酢酸緩衝溶液、pH4.2において、2.7mg/mlの溶解度を有する。所望される10mg/mlの溶解度は、塩(例えば、NaCl、CaCl₂、又は酢酸ナトリウム)を加え、ある程度水溶性の、脂肪性の、又はミセル性のビヒクルを使用し、又は改変された非経口的に許容されるシクロデキストリンを加えることにより獲得される。しかしながら、一般的に、シクロデキストリンを含む製剤は、溶解度を増加させる他のアプローチに対して、改良された注射部位寛容性を提供することが観測された。

40

【0007】

非経口製剤中の医薬の適切な溶解度を確保することは、特に薬剤が低い水溶性を有する

50

場合重要である。溶液、薬剤塩形態の選別、及び共溶媒の使用は、適切な溶解度を達成するために使用される一般的なアプローチである。一般的でないアプローチは、錯化剤などの賦形剤を含む。

【0008】

シクロデキストリンは、薬剤分子との包接錯体を形成することにより溶解度を高めることもあり、これにより、不溶性/疎水性の薬剤は、シクロデキストリンの疎水性の空洞内に挿入される。シクロデキストリン分子の外側の親水性の殻は、複合体全体の溶解度を高める。シクロデキストリン錯化についての標準的な専門用語は、シクロデキストリンを「ホスト」分子とし、そして薬剤を「ゲスト」分子とする。残念なことに、包接錯体を形成するために使用されるシクロデキストリンは、防腐剤にも結合して、多くの水溶性の低い防腐剤を不活性化することもある。

10

【0009】

スルホブチルエーテル-シクロデキストリン(以後、「SBE-CD」とする)は、式I aの化合物の溶解度の増大と注射部位の反応の改善の両方に有効であると分かった。残念なことに、SBE-CDが、抗菌性防腐剤(例えば、メタ-クレゾール)及び式I aの化合物の両方と複合体を形成し、競合的な結合相互作用をもたらし、そして一般的に抗菌性の効果を無くしてしまうことが調査により決定された。

【0010】

結果として、十分な濃度のシクロデキストリン(例えば、SBE-CD)と抗菌性防腐剤(例えば、メタ-クレゾール)との間の最適なバランスを得ることは必要であった。低い濃度のSBE-CDが、抗菌性防腐効果を増加させる一方で、しかしながらこの利点は、許容される注射部位寛容性(IST)の低下により相殺されよう。これらの競合パフォーマンス特性は、当該製品について抗菌性防腐効果(基準A)と許容できる注射部位寛容性とのバランスをとることが必要とされる。

20

【0011】

本出願と同時に出願され、そしてPfizer, Inc.に譲受され、そして所有される同時係属米国仮特許出願第60/540,644号は、式Iの化合物及びシクロデキストリンを含む組成物の非経口投与の際の注射部位寛容性を改良する方法を記載する。シクロデキストリンに適合する防腐剤が同定され、望ましい多目的投薬選択を提供した。好ましくは、メタ-クレゾールが、提案された使用期間の間、製剤中で細菌及び真菌の成長を妨げるように製剤中に使用される。

30

【発明の開示】

【0012】

発明の要約

一の態様では、本発明は、活性医薬成分(API)の治療有効量、-シクロデキストリン、医薬として許容される防腐剤、及び任意の医薬として許容される賦形剤を含む医薬組成物であって、当該防腐剤が、医薬として許容される抗菌防腐効果を示す医薬組成物に関する。

【0013】

好ましい実施態様において、-シクロデキストリンは、2-ヒドロキシプロピル-シクロデキストリン又はスルホブチル・エーテル-シクロデキストリン、好ましくはスルホブチル・エーテル-シクロデキストリンである。

40

【0014】

別の実施態様では、医薬として許容される防腐剤が、チメロサル、プロピレン・グリコール、フェノール、又はメタ-クレゾールから選ばれるか、又はそれらの組合せから選ばれる。好ましくは、防腐剤は、メタ-クレゾールである。好ましくは、防腐剤濃度は、約0.1mg/ml~約600mg/mlである。好ましくは、防腐剤はメタ-クレゾールであり、そして約0.1mg/ml~約20mg/mlの濃度である。

【0015】

好ましい実施態様では、医薬組成物は、約3~約6の範囲のpHを有する。

50

【0016】

好ましい実施態様では、防腐剤は、APIのシクロデキストリンに対する結合値未満のシクロデキストリンに対する結合値を有する。好ましくは、シクロデキストリンに対するAPIの結合値は、 $500\text{M}^{-1} \sim 10,000\text{M}^{-1}$ である。好ましくは、シクロデキストリンに対するAPIの結合値は、 $800\text{M}^{-1} \sim 3,000\text{M}^{-1}$ である。

【0017】

別の実施態様では、活性医薬成分は、防腐剤のシクロデキストリンとの結合定数に比べて、シクロデキストリンと2倍以上の結合定数を有する。好ましい実施態様において、結合定数は5倍以上大きい。より好ましい実施態様では、結合定数は10倍以上大きい。

【0018】

好ましい実施態様では、約 $1\text{mg/ml} \sim 5\text{mg/ml}$ の防腐剤、好ましくはメタ-クレゾールは、シクロデキストリン中に隔離されることはない。好ましくは、約 2.5mg/ml の防腐剤、好ましくはメタ-クレゾールは、シクロデキストリン中に隔離されることはない。

【0019】

好ましい実施態様では、医薬組成物は、細菌濃度が6時間後に2以上の対数減少で減少し、24時間後に3以上の対数減少で減少し、そして28日後で細菌の回収できないように減少するように細菌に対して抗菌効果を有する。好ましくは、細菌は、エシェリキア・コリ(*Escherichia coli*)(グラム陰性細菌)(ATCC 8739)、シュードモナス・アエルギノーサ(*Pseudomonas aeruginosa*)(グラム陰性細菌)(ATCC 9027)、又はスタフィロコッカス・アウエルス(*Staphylococcus aureus*)(ATCC 6538)から選ばれる。

【0020】

好ましい実施態様では、医薬組成物は、真菌又はカビの濃度が、7日後に2以上の対数減少で減少し、14日後に1対数減少で減少し、そして約14日~28日後に真菌又はカビの増加がないように減少するように真菌又はカビに対して抗菌効果を有する。好ましくは真菌は、カンジダ・アラビカンス(*Candida albicans*)(真菌)(ATCC 10231)であり、そしてカビはアスペルギルス・ニガー(*Aspergillus niger*)(カビ)(ATCC 16404)である。

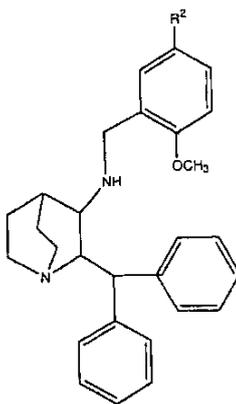
【0021】

好ましい実施態様では、医薬組成物は、欧州薬局方基準A及びB(Pharmaceopia Europa Criteria A and B)、並びに米国薬局方(USP)のAET基準を満たす抗菌効果を有する。

【0022】

別の態様では、本発明は、以下の式I:

【化3】



I

R²は、メチル、エチル、イソプロピル、sec-ブチル、及びtert-ブチルからなる群から選ばれ、好ましくはtert-ブチルである]

で表される化合物を活性医薬成分、又はその医薬として許容される塩、医薬として許容される β -シクロデキストリン、医薬として許容される防腐剤、医薬として許容されるビヒクル、及び任意の医薬として許容される賦形剤を含む医薬組成物に関する。

【0023】

好ましくは、 β -シクロデキストリンは、2-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン又はスルホブチル・エーテル- β -シクロデキストリンであり、好ましくはスルホブチル・エーテル- β -シクロデキストリンである。

【0024】

好ましくは医薬として許容される防腐剤は、チメロサル、プロピレン・グリコール、フェノール、又はメタ-クレゾールから選ばれるか、又はそれらの組合せから選ばれる。好ましくは、防腐剤はメタ-クレゾールである。

【0025】

好ましくは、医薬組成物は、約4～約5のpH範囲を有する。

好ましい実施態様では、約1mg/ml～約5mg/mlの防腐剤、例えばメタ-クレゾールは、シクロデキストリン中に隔離されない。

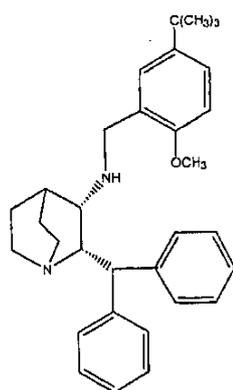
【0026】

好ましい実施態様では、式Iの化合物、又は医薬として許容されるその塩は、約0.1mg/ml～約100mg/mlの量であり、 β -シクロデキストリンは、約20mg/ml～約200mg/mlの量であり、そして防腐剤はメタ-クレゾールである。好ましくは、 β -シクロデキストリンは55mg/ml～100mg/mlの量であり、そしてメタ-クレゾールは、約2.5mg/ml～3.5mg/mlの量である。

【0027】

好ましい実施態様では、式Iの化合物は、以下の式Ia：

【化4】



Ia

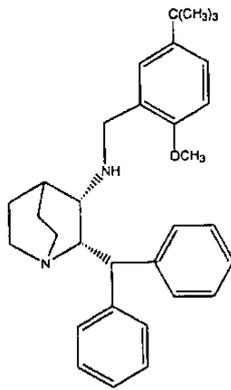
で表される化合物、又はその医薬として許容される塩である。

【0028】

好ましくは、式Iaの化合物、又はその医薬として許容される塩は、約0.1mg/ml～約100mg/mlの量であり、そして β -シクロデキストリンは、約20mg/ml～約200mg/mlであり、そして防腐剤は、メタ-クレゾールであり、そして約1mg/ml～約5mg/mlの量である。好ましくは、 β -シクロデキストリンは、約55mg/ml～約100mg/mlの量であり、そして防腐剤は、メタ-クレゾールであり、そして約2.5mg/ml～約3.5mg/mlの量である。好ましくは、 β -シクロデキストリンは、スルホブチル・エーテル- β -シクロデキストリンである。

【0029】

第三の態様では、本発明は、以下の式 I a :
【化 5】



Ia

10

で表される化合物又は医薬として許容される塩、医薬として許容されるピヒクル、及び任意の医薬として許容される賦形剤を含む医薬組成物であって、ここで当該式 I a の化合物は 10 mg A/ml であり、スルホブチル・エーテル-β-シクロデキストリンは約 63 mg/ml の量であり、そしてメタ-クレゾールは約 3.3 mg/ml の量である、医薬組成物に関する。

20

【0030】

第四の態様では、本発明は、哺乳動物における嘔吐の治療方法又は麻酔からの回復の改善方法であって、当該哺乳動物に、式 I 又は I a の化合物の医薬組成物、注射部位における改善された注射寛容性のために十分な量で存在するシクロデキストリンを含む水性医薬組成物を、非経口注射することを含む方法に関する。好ましくは、医薬として許容される塩は、クエン酸塩である。好ましくは、当該組成物は、皮下注射される。

【0031】

第五の態様では、本発明は、哺乳動物において嘔吐の治療又は麻酔状態からの回復を改善する治療の際に注射部位寛容性を改善する方法であって、式 I 又は I a の化合物の上記医薬組成物の医薬として許容される溶液を、哺乳動物に非経口注射することを含む。好ましくは、医薬として許容される塩はクエン酸塩である。好ましくは、当該組成物は、皮下投与される。

30

【0032】

第六の態様では、本発明は、治療有効量の API、β-シクロデキストリン、及び医薬として許容される防腐剤を含む貯蔵性 API 組成物を開発する方法に関する。

【0033】

好ましい実施態様では、防腐剤は、API のシクロデキストリンへの結合値よりも少ないシクロデキストリンへの結合値を有する。好ましくは、チメロサル、プロピレン、グリセロール、フェノール、又はメタ-クレゾールから選ばれるか、又はそれらの組合せから選ばれる。

40

【0034】

好ましい実施態様では、API とシクロデキストリンとの結合値は、 $50 M^{-1}$ を超える。好ましくは、API とシクロデキストリンとの結合値は、 $500 \sim 10,000 M^{-1}$ である。好ましくは、API とシクロデキストリンとの結合値は、 $800 \sim 3,000 M^{-1}$ である。

【0035】

好ましい実施態様では、抗菌性効力試験 (AET) の要件は、欧州薬局方基準 A 及び B、並びに USP AET 基準に適合する。

【0036】

50

さらなる態様では、本発明は、本明細書に定義される医薬組成物であって、当該医薬組成物が式 I 又は式 I a を含む場合、特に NK-1 受容体アンタゴニストなどのニューロキニン受容体アンタゴニストを適応する疾患の治療において医薬として使用することを目的とする医薬組成物に関する。

【0037】

さらなる態様では、本発明は、NK-1 受容体アンタゴニストなどのニューロキニン受容体アンタゴニストを適応する疾患の治療用の医薬の製造における、式 I 又は式 I a の化合物を含む本明細書中に定義される医薬組成物の使用に関する。

【0038】

さらなる態様では、本発明は、NK-1 受容体アンタゴニストなどのニューロキニン受容体アンタゴニストを適応する疾患の哺乳動物における治療方法であって、当該哺乳動物に、式 I 又は I a の化合物を含む本明細書中に定義される医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、前記方法に関する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0039】

定義

本明細書中に使用される「式 I の化合物」及び「式 I a の化合物」という用語は、式 I 又は I a の化合物、そのプロドラッグ、及び当該化合物又はプロドラッグの医薬として許容される塩を意味する。本発明において使用される化合物は、それぞれその医薬として許容される塩、溶媒和物、及び/又は水和物の形態で単離され、そして使用されてもよい。

【0040】

「医薬として許容される塩」は、本発明の化合物の無機及び有機塩を指す。これらの塩は、化合物の最終単離及び精製の際に、又は化合物若しくはプロドラッグを適切な有機又は無機酸と別々に反応させ、こうして形成された塩を単離する事により、*in situ*で調製されうる。代表的な塩は、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、硝酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、シュウ酸塩、ベシル酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、マロン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、ホウ酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、六フッ化リン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トシル酸塩、ギ酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチル酸塩、メシル酸塩、グルコヘプトン酸塩、ラクチオン酸塩、及びラウリル硫酸塩などを含む。例えば、Bergeら、*J. Pharm. Sci.*, 66, 1-19(1977)を参照のこと。

【0041】

好ましくは、医薬として許容される塩は、クエン酸塩である。本明細書中で使用される「クエン酸塩」という用語は、式 I a の化合物のクエン酸一水和塩を指し、660.82の分子量を有し、そして709 mg/gの活性成分に基づく理論上の有効性を有する。

【0042】

本明細書中で使用される「活性医薬成分」又は「API」という用語は、治療効力を有し、そしてシクロデキストリンに結合するか又は「隔離」される能力を有する医薬物質を指す。好ましくは、APIは、シクロデキストリンに対して $50 M^{-1}$ を超える結合値を有する。より好ましくは、APIは、約 $800 M^{-1}$ ～約 $3,000 M^{-1}$ のシクロデキストリンへの結合値を有する。さらにより好ましくは、APIは、約 $500 M^{-1}$ ～約 $10,000 M^{-1}$ のシクロデキストリンへの結合値を有する。さらに好ましくはAPIは、防腐剤に対して二倍を超えるシクロデキストリンとの結合定数を有する。より好ましくは、APIは、5倍を超えるシクロデキストリンとの結合定数を有する。さらにより好ましくは、APIは、10倍以上のシクロデキストリンとの結合定数を有する。

【0043】

「活性成分」又は「mg A/ml」という用語は、本明細書中に使用されるとき、式 I a の化合物の遊離塩基を指し、468.69の分子量を有する。

【0044】

「シクロデキストリン」という用語は、環状の (1-4) 結合 D-グルコピラノース・

10

20

30

40

50

ユニットを含む化合物を指す。 -シクロデキストリンは、6個の環状に結合されたD-グルコピラノース・ユニットを有するシクロデキストリンを指し、 -シクロデキストリンは7個の環状に結合されたD-グルコピラノース・ユニットを有し、そして -シクロデキストリンは、8個の環状に結合されたD-グルコースユニットを有する。これらの環状に結合されたD-グルコピラノース・ユニットは、疎水性の空洞を規定し、そしてシクロデキストリンは、他の有機分子、塩、及びハロゲンと、固体状態又は水溶液中で包摂化合物を形成することが知られている。

【0045】

シクロデキストリンは、構造及び性質の点で様々である。例えば、疎水性の空洞の大きさ(例えば直径、及び奥行き)及び官能性(例えば、疎水性、電荷、反応性、及び水素結合能)は、置換及び非置換 -、 -、及び -シクロデキストリンの間で変化する。一般的に、製剤について選ばれたシクロデキストリンは、標的成分、製剤の他の成分と結合する大きさ及び官能性を有する。本発明の製剤及び方法については、置換されたシクロデキストリン、例えばヒドロキシアルキル・デキストリン及びスルホアルキルエーテル・シクロデキストリンは、当該製剤の他の成分と相補する大きさ及び官能性を有する。好ましいシクロデキストリンは、ヒドロキシプロピル- -シクロデキストリン及びスルホブチルエーテル- -シクロデキストリンを含む。より好ましくは、シクロデキストリンは、スルホブチルエーテル- -シクロデキストリン(S B E - C D)である。

10

【0046】

「治療有効量」という用語は、(i)特定の疾患、病気、又は障害を治療又は予防するか、(ii)特定の疾患、病気、又は障害の1以上の症状を低減、改善、又は除去するか、又は(iii)本明細書に記載される特定の疾患、病気、又は障害の1以上の症状の開始を予防又は遅延する本発明の化合物の量を意味する。

20

【0047】

「哺乳動物」又は「動物」という用語は、本明細書で使用されるとき、ヒト、ペット動物、例えば非限定的にイヌ、ネコ、ウマ、食用動物(例えば、ウシ、ブタ、及びヤギ)、動物園動物、及び他の類似の動物種を指す。

【0048】

「医薬として許容される」という用語は、物質又は組成物が、製剤を構成する他の成分と、及び/又は製剤で治療される動物と、化学的に及び/又は毒物学的に適合しなければならないということを指す。

30

【0049】

「治療する」、「治療」、「又は「処置」という用語は、予防的処置、つまり予防処置及び苦痛緩和処置の両方を含む。

【0050】

本明細書で使用される「改善された注射部位寛容性」という用語は、本明細書の表IVに定義される2以下の点数を意味する。

【0051】

本明細書中で使用される「医薬として許容される防腐剤」という用語は、防腐剤を意味する。特に、防腐剤を含む製剤は、非経口製剤について、Ph. Eur. 第四版、2003(5.1.3)、及び医薬品のカテゴリー1についてUSP 26 NF 21 S 2, <51>に記載される標準規格に従って有効性を維持する。好ましくは、防腐剤は、APIに比べて、シクロデキストリンに対する低い結合値を有し、その結果、十分な防腐剤はシクロデキストリン中に「隔離」されることがなく、有効な抗菌効力を提供する。

40

【0052】

発明の詳細

可溶化又は他の目的のため、シクロデキストリンを利用する非経口製剤の開発は、薬剤とシクロデキストリンとの間の相互作用を理解することを必要とする。シクロデキストリンにより可溶化された医薬品は、固有の結合定数に関する化学量論の関係に束縛される。この関係は、薬剤の構造、シクロデキストリン、及び溶液性質(例えば、pH、イオン強

50

度、及び共溶媒性)などのいくつかの因子に基づいて変化する。

【 0 0 5 3 】

複数の賦形剤を有する製剤は、この相互作用をさらに複雑にする。例えば、防腐剤を含む非経口多目的製剤において、防腐剤は、シクロデキストリンへの結合について薬剤と競合しうる。2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンが、薬剤分子とのみ相互作用するのではなく、抗菌性防腐剤と複合体を形成しうるということが以前に報告された。Loftsson, T.ら.Durg Development and Industrial Pharmacy 1992, 18(13), 1477-1484.

【 0 0 5 4 】

しかしながら、防腐剤は溶液内で未結合状態であることを必要とするので、防腐剤とシクロデキストリンの結合は、防腐剤の抗菌効果を減少させてしまう。非経口製品についての防腐剤の効力についての最小必要量は、欧州薬局方(基準Aが適用可能である)に記載され、そして米国薬局方において記載される。提案された製剤についての抗菌性防腐剤は、抗菌性効力試験(AET)基準に準じて評価された。

【 0 0 5 5 】

pH 4.4で10mg/mlの式Iaの化合物及び10%(w/v)シクロデキストリンを含む式Iaの化合物の多用量製剤は、シクロデキストリンと有意に相互作用しない有効な抗菌性防腐剤を同定するために利用された。予備実験から、2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンの存在下で式Iの化合物の溶解度は、SBE-CDの存在下での溶解度に類似した。さらに、その両方が、許容される注射部位寛容性(「IST」)を有する製剤をもたらした。シクロデキストリン、例えばSBE-CDとの適合性に加えて、製剤に許容される抗菌性防腐剤を限定するさらなる基準が存在した。これらの基準は、式Iaの化合物との物理的及び化学的適合性;約4.4のpHにおいて細菌、カビ、及び酵母に対する防腐効力、並びに許容される注射部位寛容性であった。

【 0 0 5 6 】

実施例の項においてさらに十分に記載されるように、式Ia化合物の多用量製剤の抗菌性防腐剤についての最初のスクリーニングは、クロロクレゾール、フェニルエタノール、ベンジルアルコール、エタノール、プロノポール、スクロース、クロロヘキシジン・グルコネート、チメロサル、塩化ベンゼトニウム、ベンズアルコニウム・クロリド、クロロブタノール、安息香酸、メタ-クレゾール、フェノール、及び25%プロピレン・グリコールで行った。最初の結果により、チメロサル、クロロブタノール/フェニルエタノール、エタノール、及びプロピレン・グリコール(50%)が、USP/欧州薬局方の要件を満たすことが示された(表VII)。

【 0 0 5 7 】

注射部位寛容性の問題を考慮すると、クロロブタノール/フェニルエタノール、エタノール及びプロピレン・グリコールは、低い注射部位寛容性を示した(表VIIII)。逆に、チメロサル及びメタ-クレゾールは、良好な注射部位寛容性を提供した。

【 0 0 5 8 】

塩化ベンゼトニウム及び安息香酸は、両方とも7日後における微生物の低減に有効ではない。プロピレン・グリコール(25%)は、SBE-CDの存在下で細菌に対してのみ活性であったが、真菌に対しては無効であった。他方、フェノール性化合物、フェノール及びメタ-クレゾールは、微生物の低減の点で有効であったが、細菌に対するその活性は、SBE-CDが製剤内に存在する場合かなり減少した。

【 0 0 5 9 】

所望の製剤を保存するために直面する難しさは、抗菌性防腐剤(例えば、メタ-クレゾール)とSBE-CDとの間の相互作用のため生じることが、発明者により予想され、そして決定された。特に、防腐剤、例えばメタ-クレゾールは、SBE-CDにより隔離されやすく、細菌及び真菌に対してメタ-クレゾールを不活性なものにしてしまった。この説を明らかにするために、式Iaの化合物のSBE-CDへの結合定数及びメタ-クレゾールのSBE-CDへの結合定数を測定した(K_p)。これらの定数を使用して、抗菌性効力について試験された製剤内で隔離されていないメタ-クレゾールの濃度を計算した。計算に

10

20

30

40

50

使用された平均値は、薬剤についての結合定数(「 K_D 」= 1000)及び防腐剤について結合的数(「 K_P 」= 28)である。

【0060】

一の成分の好ましい結合が所望される場合、平衡状態における各成分の結合割合を定量することは望ましい。溶液中において、一の成分の結合対別の成分の結合は、分光法、又は熱量測定などの技術を使用して計測することができる(Gadre, A.,及びConnors, K. A. "Binding of Substituted Acetic Acids to α -Cyclodextrin in Aqueous Solution" J. Pharm. Sci. 1997 86(11):1210-1214)。第三の製剤の起こりうる可溶化効果、例えばスタッキング(stacking)又はヒドロトロピーから包接結合を区別するために、他の競合結合物質の存在下においてシクロデキストリンに結合する一の成分の結合定数を測定する方法が必要とされる。結合と他の相互作用様式とを区別する能力は、最適製剤を理解し、そして設計するために重要である。

10

【0061】

本発明において、結合定数を測定する方法は、SBE-CD及び防腐剤を含有する多目的非経口製剤の開発において平衡透析を利用する。特に、当該方法は、式Iaの化合物、シクロデキストリン(SBE-CD)、及び防腐剤(メタ-クレゾール)を含む非経口製剤を開発する際に適用された。当該アプローチは、非経口製剤の開発において、式Iaの化合物以外の化合物にも適用可能であり、そして本発明の範囲内である。このアプローチを使用した製剤の開発は、シクロデキストリンが結合する薬剤と結合しない防腐剤の最適化をもたらした。本手法の重要性は、シクロデキストリンとの結合に競合する複数の化合物の結合定数を計測する能力である。実験透析データはまた、透析後に達成された平衡により、相互作用の程度を可視化することによって、製剤内の結合を容易に解釈して提示する。

20

【0062】

平衡透析は、平衡終点において半透膜を通した拡散速度をモデリングすることにより結合定数の計算を可能にする。平衡透析は、平衡透析装置(セル)のドナーコンパートメント内の結合基質とリガンドを含む溶液中の基質を、時間をかけてアクセプター・コンパートメントで平衡化することを許容することにより行われるOno, N., Hirayama, F., Arima, H., Uekama, K. "Determination of Stability Constant of α -Cyclodextrin Complexes Using the Membrane Permeation Technique and the Permeation Behavior of Drug Competing Agent- α -Cyclodextrin Ternary Systems" Eur. J. Pharm. Sci. 1999 9:133-139。アクセプターセルは、リガンドを含まない。膜は、通常、低分子量基質が自由に拡散することを許容する一方で、シクロデキストリン(MW = 2163)がドナーコンパートメント中にとどまることを許容する半透膜である。時間にわたり両方のコンパートメントからサンプリングすることにより、透析セルのドナーコンパートメント及びアクセプター・コンパートメントの両方において、基質の時間-濃度プロファイルがもたらされる。

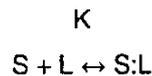
30

【0063】

膜を介した薬剤の拡散速度を記載する数学的モデルは、2以上の成分を溶液内に含むシステムについて得ることができる。基質についての透析速度及び結合定数は、非線形曲線近似ソフトウェアを使用して平衡を解析することにより得られる。成分間の相互作用に依存して、溶液内で生じる競合結合を記載することができる。平衡結合定数は、以下の化学平衡式に従って、SBE-CDに結合するメタ-クレゾールの相対濃度の計測値である。

40

【数 1】



$$K = \frac{[S:L]}{[S][L]}$$

10

S = メタ-クレゾール、L = SBE-CD であり、S:L は、メタ-クレゾールと SBE-CD との間で形成された複合体を指す。

【0064】

溶解度分析

式 I a の化合物のクエン酸塩は、0.02 M リン酸 / 0.02 M 酢酸緩衝溶液、pH 4.2 にて 2.7 mg/ml の溶解度を有する。従来の溶解度法は、最初に式 I a の化合物及び防腐剤の溶解度並びに SBE-CD との結合定数を測定して行われた。これらの研究は、式 I a の化合物と SBE-CD とのモル溶解度関係において、直線勾配により見られるように、SBE-CD と式 I a の化合物との化学量論を測定を可能にした(図 1)。

20

【0065】

結合を、溶解度分析を使用して、メタ-クレゾールについて計算した。実験を、式 I a の化合物の異なる濃度で行って、メタ-クレゾール結合定数に与える溶液中の薬剤の存在による影響が存在するかを測定するために行われた。メタ-クレゾール溶解度は、過剰量(飽和)メタ-クレゾールで測定され、そして平衡定数は、以下の式：

【数 2】

$$S_t = s_0 + \frac{K_{11}s_0L_t}{1 + K_{11}s_0}$$

30

[式中、 S_t は、メタ-クレゾールの総溶解度であり、 s_0 は、メタ-クレゾールの固有の溶解度であり、 L_t は、SBE-CD (リガンド) の総濃度であり、そして K_{11} は、1:1 結合化学量論を仮定したメタ-クレゾールの平衡結合定数である]

を使用して計算した。

【0066】

溶解度方法を適用すると、メタ-クレゾールの平衡結合定数は、研究に渡って 27.6 M^{-1} に平均化された。表 1 に示されるように、式 I a の化合物の存在は、結合についての極微の影響しか与えなかった。このデータを使用して、本実験で行った平衡透析方法と結果を比較した。式 I a の化合物は、pH 4.4 で 1040 M^{-1} の結合定数を有した。

40

【0067】

【表1】

表I

式I aの化合物 [mM]	勾配	y-インター セプト [mM]	R ²	K ₁₁ (平衡)
00.00	0.46	34.06	0.88	24.53
10.67	0.46	33.15	0.95	25.78
21.34	0.53	32.15	0.92	35.46
42.67	0.43	31.15	0.97	24.59
平均結合定数 [M ⁻¹]				27.59

表I：SBE-CD及び薬剤（式I aの化合物）を変化させたメタ-クレゾール飽和溶解度実験から計算された結合定数。メタ-クレゾールの溶解度対SBE-CD濃度の勾配を使用して結合性を評価した。式I aの化合物の添加は、メタ-クレゾール濃度を有意に変化させることはない。

【0068】

平衡透析法

最初の実験は、500 MWCO透析膜をとおした式I aの化合物とメタ-クレゾールの平衡透析フラックス速度を確立した。式I aの化合物の3の異なる濃度を、透析ウェルのドナー側に加えた。サンプルを様々な時間間隔でとり、そして遊離成分の濃度を、HPLCを使用して計測した。およそ4日後において、それぞれの試験条件について平衡が達成された。滑らかな線は、考察において提示されるユニタリ系についてのモデルを使用したデータの近似であった。これらの対照実験の全てについての平衡点は、全薬剤の50%が、当該ウェルのドナー側及びアクセプター側を通して均一に分配された後に達成された。平衡への当該漸近的アプローチは、モデル化され、そして透析速度が計算された(表2)

【0069】

【表2】

表II

およその 比率	式I aの 化合物	メタ-クレゾ ール [mM]	SBE-CD [mM]	k (hr ⁻¹)	K _{eq} [M ⁻¹]
1:1	1.0		1.0	0.015	740
1:2	0.5		1.0	0.013	1092
1:4	0.25		1.0	0.012	1444
1:1		1.1	1.0	1.984	88
1:2		0.6	1.0	2.182	75
1:4		0.3	1.0	2.761	85
1:1	1.0	1.0	1.0	0.018	690
1:2	0.5	0.5	1.0	0.013	720
1:4	0.25	0.25	1.0	0.011	520

表II. 平衡透析法から計算された結合定数。数値線形近似ソフトウェアを使用して漸近的拡散速度を方程式11にあてはめて結合定数を求めた。

【0070】

データを分析する最初の方法は、以下に記載するように、平衡透析データから、計

算を行うことである。特に、膜を通した拡散速度は、以下の方程式を使用して計算された。

【 0 0 7 1 】

ドナー相からの拡散速度は、以下の関係：

$$[D]_t - [D]_{eq} = ([D]_0 - [D]_{eq}) E^{-2kt} \quad (1)$$

により定義される。

アクセプター相中への拡散速度は、以下のとおりである：

$$[D]_{eq} - [D]_t = [D]_{eq} e^{-2kt} \quad (2)$$

ここで、

k = 浸透速度定数、 min^{-1}

$[D]_0$ = 時間 0 におけるドナー又はアクセプターの濃度

$[D]_t$ = 時間 t におけるドナー又はアクセプターの濃度

$[D]_{eq}$ = 平衡状態におけるドナー又はアクセプターの濃度

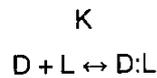
t = 時間(分)

である。

【 0 0 7 2 】

SBE-CD の存在下での計算の基礎は、錯化が、以下の標準錯化反応：

【数 3】



$$K = \frac{[D:L]}{[D][L]}$$

に従って、ドナー相においてのみ生じると仮定することである。

【 0 0 7 3 】

薬剤のアクセプター相への拡散を支配する微分方程式は以下の：

【数 4】

$$\frac{d[D]_A}{dt} = k[D]_F - k[D]_A \quad (3)$$

で与えられる。

当該システムにおける薬剤についての物質収支は、以下の式：

$$[D]_{tot} = [D]_F + [D]_A + [D:CyD] \quad (4)$$

で与えられる。

ここで、 $[D]_F$ 及び $[D]_A$ は、それぞれドナー・ウェル中の遊離薬剤及びアクセプター・ウェル中の遊離薬剤である。ドナー相内に維持されるシステム内のシクロデキストリンについての物質収支は、以下の式：

$$[CyD]_{tot} = [CyD]_F + [D:CyD] \quad (5)$$

で与えられる。

【 0 0 7 4 】

物質収支の方程式の錯化剤を、平衡関係に代入すると、以下の式：

10

20

30

40

【数 5】

$$K = \frac{([D]_{tot} - [D]_F - [D]_A)}{[D]_F [CyD]_F} \quad (6)$$

を与える。

【0075】

遊離薬剤について解き、そして方程式 3 へ代入すると以下の式：

10

【数 6】

$$\frac{dD_A}{dt} = k \left[\left(\frac{D_{tot} - D_A}{1 + K \cdot CyD_F} \right) - D_A \right] \quad (7)$$

が得られる。

【0076】

単純化すると以下の式：

20

【数 7】

$$\frac{dD_A}{dt} = k \left[\frac{D_{tot} - (K \cdot CyD_F + 2)D_A}{1 + K \cdot CyD_F} \right] \quad (8)$$

が得られる。

【0077】

シクロデキストリンの物質収支を使用し、そして既知の値の点で遊離シクロデキストリンについて解くと以下の式：

30

【数 8】

$$CyD_F = CyD_{tot} - D_{tot} + D_F + D_A \quad (9)$$

が与えられる。

【0078】

遊離薬剤 D_F を、その平衡関係により置換すると以下の式：

40

【数 9】

$$CyD_F = CyD_{tot} - D_{tot} + D_A + \frac{D_0 - D_A}{1 + K \cdot CyD_F} \quad (10)$$

が導かれる。

【0079】

50

二次方程式を遊離のシクロデキストリンについて解くと、 CyD_F は以下の：
【数 10】

$$CyD_F = \frac{-1 + K \cdot D_A - K \cdot D_0 + K \cdot CyD_{tot} \pm \sqrt{4K \cdot CyD_{tot} + (1 - K \cdot D_A + K \cdot D_0 - K \cdot CyD_{tot})^2}}{2 \cdot K} \quad (11)$$

を提供する。

【0080】

CyD_F の値は、方程式8へ代入されてもよい。方程式8及び11を使用した陰的解法により、時間、濃度データ、及び初期条件を使用することにより平衡結合定数K及びアクセプター相内への拡散速度kの両方を決定することが可能になる。

【0081】

サンプリングは、透析チャンバーのドナー側の高濃度の薬剤(例えば、式Iaの化合物)(高濃度の薬剤は、50%未満に歪められた中点で平衡に達する濃度を表す生データをもたらず)を除いた。このサンプリング・バイアスは補正され、そしてグラフは、50%の中点を表すように標準化された。この標準化は、当該モデルへと曲線を近似する前に行われた。

【0082】

使用された方法は、薬剤及びSBE-CDについての計測された結合定数を提供した。平衡透析法から得られた値は、 $1092 M^{-1} (\pm 352 M^{-1}, n=3)$ であり、溶解度法についての値 $1040 M^{-1} (n=1)$ と比較される。防腐剤とSBE-CDとの間の結合定数は、溶解度法を使用して、 $28 M^{-1} (n=1)$ であり、平衡透析法を使用した値 $83 M^{-1} (\pm 7 M^{-1})$ と比較される。当該データにより、2因子のシステムにおいて、薬剤(例えば、式Iaの化合物)及び防腐剤の両方は、SBE-CD中の空洞に結合するが、この場合、薬剤の結合定数が、防腐剤の結合定数よりも13倍大きかったことが示される。当該データにより、SBE-CD、薬剤(例えば式Iaの化合物)、及び防腐剤で構成される3因子のシステムにおいて、試験された比率では、平衡プロファイルにより、防腐剤が、薬剤との競合結合のため、シクロデキストリンに結合しないことが示された。

【0083】

隔離されたメタ-クレゾール及び式Iaの化合物の量を得る上記計算に基づいて、提案された製剤は、抗菌性効力について開発されそして評価された。図3は、既知の量のスタフィロコッカス・アウレウス(*Staphylococcus Aureus*)をスパイクした6又は24時間後に、製剤中に含まれる総メタ-クレゾール濃度と、細菌数の対数減少との間の明らかな関係を示さなかった(つまり、約 $3 mg/ml$ のメタ-クレゾールを含む製剤は、等しく0という低い対数減少を有するか、又は最大4.6超の対数減少を有する)。同じデータ・セットが、製剤中において計算された未隔離のメタクレゾール濃度に対してプロットすると、関係が見られた。このデータセットは、 $9.0 \sim 11.0 mg/ml$ の式Iaの化合物、 $2.5 \sim 4.75 mg/ml$ のメタ-クレゾール、及び $60 \sim 100 mg/ml$ のSBE-CDを含む多くの製剤で与えられた。高濃度でのプラトーの出現は、殺菌効果計測方法における限界からのみ生じる。当該方法が、防腐剤により殺菌されない集合の評価にあるので、全ての集合が死んだ(つまり、どれも検出されない、 $\sim 100\%$)場合、見積もられる数字は、通常3~5超の値の対数減少の形式である。

【0084】

高濃度は注射の際に痛みをもたらすので、別の因子は、隔離されていない式Iaの化合物の濃度である。さらに、約4.4の所望の製剤pHにおける式Iaの化合物の水溶性の限界に濃度が達する場合、沈殿する危険性がある。従って、隔離されていない式Iaの化合物のレベルを最小にして、 $2 mg/ml$ 以下の濃度に維持しようとした。

【0085】

10

20

30

40

50

2の更なるパラメーターは：(1) 総メタ-クレゾールのレベル；及び(2) シクロデキストリン(例えばSBE-CD)のレベルであり、シクロデキストリンレベルは、メタ-クレゾールへ結合し、そして不活性化することを予防するために、可能な限り低く維持すべきであり、特に80 mg/ml以下であった(図4を参照のこと)。従って、製剤は、9.0 ~ 11.0 mg/mlの式Iの化合物、2.5 ~ 4.75 mg/mlのメタ-クレゾール、及び60 ~ 100 mg/mlのSBE-CDを含む製剤は、未隔離の式Iの化合物の既知の計算量及び隔離されていないメタ-クレゾールの既知の計算量を含むように設計された。製剤を、防腐効果について分析した。これらの結果を図4で報告する。これらの結果から、強い防腐効果の信頼限界が、図4において定義され、そして報告された。

【0086】

これらの結果に基づいて、図4の黒色菱形点に相当する、隔離されていない式Iの化合物(1.4 mg/ml)及びメタ-クレゾール(2.8 mg/ml)の計算された濃度を含む好ましい製剤が選択された。当該製剤は、pH4.4における10 mg/mlの式Iの化合物、63 mg/ml・SBE-CD、及び3.3 mg/mlのメタ-クレゾールの実際の総濃度に対応する。

【0087】

式Iaの化合物のクエン酸塩の医薬組成物の開発のための上記原理は、医薬、シクロデキストリン、及び防腐剤を含む他の非経口製剤の開発においても適用できる。特に、薬剤、シクロデキストリン、及び防腐剤の濃度は、隔離されていない防腐剤の最低限度の濃度を有するように調節されるべきである(メタ-クレゾールを使用するとき、2.1 mg/ml

【0088】

製剤

一般的に、製剤は、式Iaの化合物の治療有効量を、医薬として許容される水性の希釈剤に溶解することにより保存される。式Iの化合物の医薬として許容される塩、例えばクエン酸塩又はリンゴ酸塩が使用されてもよい。シクロデキストリンは、約2%~約40%の濃度範囲で溶液に加えられる。好ましくは、シクロデキストリンは、医薬組成物の約5%~約20%及びより好ましくは約5%~約10%を構成する。好ましくは、シクロデキストリンは、 β -シクロデキストリン：ヒドロキシプロピル β -シクロデキストリン、スルホブチルエーテル β -シクロデキストリン、又は他の医薬として許容される置換 β -シクロデキストリンである。防腐剤を、重量ベースで製剤に加えた。

【0089】

本明細書中に使用されるとき、投与ユニットについての「治療有効量」は、通常、約0.5 mg~約500 mgの活性成分であってもよい。しかしながら、投与量は、治療される動物の種、多様性、重篤度、及び動物の体重に依存する。従って、体重にもとづいて、活性成分の典型的な用量範囲は、動物の体重1 kgあたり約0.01~約100 mgであってもよい。好ましくは、当該範囲は、体重1 kgあたり約0.10 mg~約10 mgであり、そしてより好ましくは体重1 kgあたり約0.2 gから約2 mgである。

【0090】

例えば、10 mg/mlの式Iaの化合物製剤は、多くの患者をカバーする5~30 kgの動物を治療するために、1 mg/kg用量で0.5~3.0 mlの好ましい注射体積を許容する。より大きい哺乳動物において当該製品を使用することは、より大きいシリンジを使用すること又は複数回注射により適用することができる。小さいイヌ及びネコにおいて当該製品の使用は、より小さい注射体積しか必要としないであろう。

【0091】

獣医師又は当業者は、個々の患者について適した用量であって、特定の患者の種、年齢、体重、及び特定の患者の応答により変わりうる用量を決定することができよう。上記用量は、平均の場合における例である。従って、高い又は低い用量範囲が、上記因子に左右されて保証されることもあり、そして当該範囲も本発明の範囲内である。

【0092】

10

20

30

40

50

治療有効量の式 I a の化合物は、許容される注射部位寛容性で患者に投与されるように、式 I a の化合物の医薬組成物が開発された。注射部位寛容性は、紅斑(大きさ)、皮膚肥厚化(大きさ)、触診の際の痛み、及び浮腫を含む反応の兆候について患者を検査することにより計測される。表 V I は、スコアリングシステムの詳細な説明を提供する：0 (反応なし) ~ 4 (重篤な反応) のスコアを、各特徴及び各注射部位について毎日与えた。

【 0 0 9 3 】

式 I a の化合物のクエン酸塩の製剤は、クエン酸対イオン (2 1 . 3 m M) により、自然 p H 約 4 . 4 にて自己緩衝化される。しかしながら、他の医薬として許容される塩が使用される場合、医薬として許容される緩衝液が必要とされてもよい。好ましい製剤は、クエン酸一水和物塩としての 1 0 m g A / m l の式 I a の化合物、約 6 3 m g / m l の S B E - C D、及び約 3 . 3 m g / m l のメタ-クレゾール、p H 4 . 4 である。

10

【 0 0 9 4 】

一般的な実験方法

A . 結合定数を測定するための平衡透析方法

材料：メタ-クレゾール(分子量 1 0 8 . 1 4) を Aldrich, St. Louis, MO から入手した。2 m l の Teflon セル及び 5 0 0 M W C O セルロース・エステル非対称膜を備える 2 0 セル平衡透析器を使用した (Spectrum, Rancho Dominguez, CA)。式 I a の化合物(遊離塩基 = 4 6 8 . 6 9) は、実験方法の B 項に記載されるように調製しうる。

【 0 0 9 5 】

製剤の調製：3 の異なる試験製剤を調製した。それらは、それぞれ、単一の構成要素対照；薬剤又は m-クレゾールのどちらかと S B E - C D とを含む 2 因子のシステム；又は薬剤、m-クレゾール、及び S B E - C D を含む 3 因子システムから構成される。製剤を室温で異なる割合及び濃度で、平衡結合を保証するため試験の 2 4 時間前に調製した。最初に適切な濃度で S B E - C D を溶解し、次に薬剤又は m-クレゾールを加え、そしてそれをシクロデキストリン溶液中に溶解させることにより、製剤を調製した。

20

【 0 0 9 6 】

透析方法：1 m l の錯化製剤又は対照製剤を、膜のドナー側に加えた。アクセプターの側に 1 m l のクエン酸ナトリウム (p H 4 . 4) を加えて、チャンパーを通してイオン平衡を維持した。様々な時間点において、5 0 μ l の量を平衡透析チャンパーのドナー及びアクセプターの両方からとり、そして H P L C を用いて分析した。各側における時間プロファイルに渡るリガンドの濃度 (m M) を、それぞれの速度を得るためにプロットした。

30

【 0 0 9 7 】

H P L C 法：Agilent Eclipse X D B - C 8 カラムを備える H P 1 1 0 0 H P L C 上にサンプルを正確にロードした。全体の実行時間は、1 0 分であった。移動相は、2 5 % の 2 5 m M 酢酸アンモニウム及び 7 5 % メタノールからなった。2 7 1 n m での吸光又は蛍光検出を使用して、検出を行った。ピークを Turbochrome ソフトウェア [Perkin Elmer / San Jose, CA] を使用して行った。

【 0 0 9 8 】

対照実験：式 I a の化合物及びメタ-クレゾールの透析速度は、単独で 5 0 0 M W C O 膜をとおして計測した。異なる濃度のメタ-クレゾール及び式 I a の化合物を、平衡透析器のドナー側に配置した。対応する錯化実験の濃度は、1 の成分システムにおける薬剤又は防腐剤の濃度に適合するように選ばれた。

40

【 0 0 9 9 】

2 因子システム：これらの実験は、薬剤又は m-クレゾールのいずれかと、S B E - C D との結合を定量するために行った。式 I a の化合物と S B E - C D、メタ-クレゾールと S B E - C D、及び薬剤とメタ-クレゾールからなる 3 の異なる混合物を試験した。S B E - C D：薬剤若しくは防腐剤のモル比は、1：1、2：1、及び 4：1 であった。

【 0 1 0 0 】

3 因子システム：薬剤及び防腐剤の透析速度について 3 個全ての製剤成分の効果を試験するために、いくつかの実験を行った。ここで、S B E - C D 濃度を固定し、一方式 I

50

a 及びメタ-クレゾールの化合物の量/速度を変化させた。

【0101】

データ解析： 生データを、ドナー・ウェル側及びアクセプター・ウェル側において、濃度変化を補正するように標準化した。全体の補正割合は、理論上の mM 濃度に変換された。これらのデータを次に、Micromath Scientist Software を使用して、考察の項に示される方程式に同時に適合させた。

【0102】

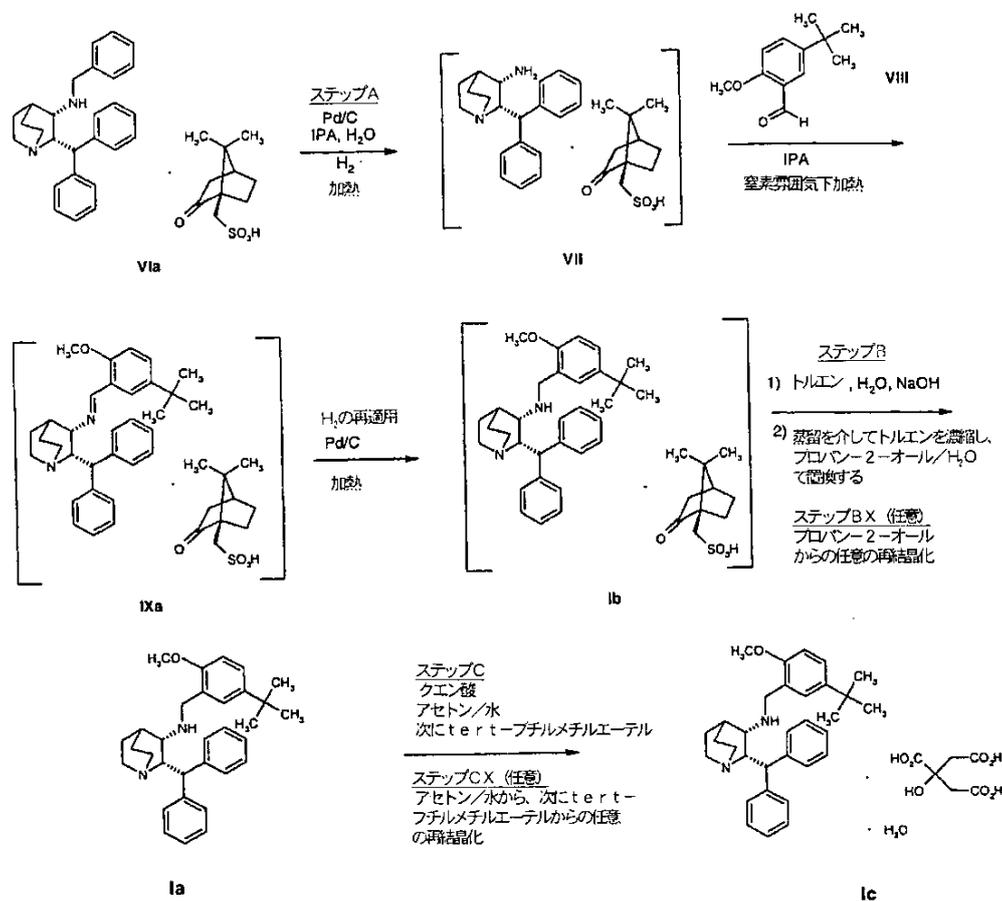
B. 式 I 及び I a の化合物の調製

一般的に、式 I 及び I a の化合物は、科学技術分野において知られている、特に本明細書中に含まれる記載及び米国特許第 6,222,038 号、及び米国特許第 6,255,320 号に開示される記載の範囲において知られている方法により製造されうる。式 I 及び I a の化合物は、種々の異なる合成経路により製造されうる。特に、式 I a の化合物は、Pfizer, Inc に譲受され、そして所有される同時係属米国仮特許出願第 60/541,323 号に記載されるとおりに調製することができる。上記同時係属仮出願においてより十分に記載されているが、式 I a の化合物のある合成方法は、以下の反応スキームにより記載される。

以下の反応スキームは、式 I a の化合物、式 I c の化合物のクエン酸一水和物の 1 の可能な製法を記載する。

【化 6】

スキーム I



【0103】

スキーム I のステップ A において、アルコール性溶媒、例えばメタノール、エタノール、又は n-プロパノール、好ましくはプロパン-2-オール中、場合により水の存在下で式

10

20

30

40

50

V I aの化合物の混合物を、パラジウム炭素触媒で、高温(通常、75 ~ 80)及び圧力(通常、50 p s i g水素)下にて水素付加した。当業者は、他の触媒、パラジウム炭素、水酸化パラジウム炭素、白金炭素、パラジウム炭酸カルシウム、又はパラジウムアルミナ(A l₂O₃)などが適切であることを認める。

【0104】

ひとたび中間体、化合物V I Iの形成が完了すると(通常、1時間)、通常、式V I Iの化合物を単離することなく、個別のアルコール溶媒(好ましくはプロパン-2-オール(イソプロパノール(I P A))中の溶液として式V I I Iの化合物を反応液に加え、そして混合液を場合により温度を上げて(30 ~ 120)窒素雰囲気下で攪拌する。中間体化合物I X aの十分量が形成すると、窒素雰囲気を水素で置換する。反応液を場合により温度を上げ(約30 ~ 120)、かつ圧力を上げて(通常、50 p s i g)、化合物I bの形成が、完了したことが分かるまで(通常、18時間)、反応液を攪拌する。反応混合液を次に冷却し(約20 ~ 25)、そして水素ガスを排出する。パラジウム炭素触媒をろ過により取り除き、そして得られた化合物I bの溶液を直接ステップBにかける。

10

【0105】

反応スキームIのステップBにおいて、化合物I bの溶液(通常、プロパン-2-オールと水の混合液)を、トルエンを加えた後に蒸留することにより濃縮する。混合液を次に、十分なイソプロパノールが混合液から取り除かれ、そして適切な溶液体積が得られる(通常、化合物I b 1 k gあたり2 ~ 4体積)まで、蒸留の間必要に応じてトルエン及び水をさらに加えて、混合液を蒸留することにより濃縮する。水及びトルエンを必要に応じて加える(通常、水約3.5体積及びトルエン約5体積)。当業者により、トルエン以外の他の溶媒、例えば塩化メチレン、酢酸エチル、イソプロピルアセテート、又はt e r t-ブチルメチルエーテルが利用できることが認められよう。p Hを、水酸化ナトリウム水溶液、及び必要があれば塩酸溶液を加えることにより、適切な点(約11.5 ~ 13.5)に調節する。

20

【0106】

適切なp Hが得られると、水相を分離することにより取り除く。生成物含有有機相をつぎに蒸留により濃縮する。プロパン-2-オールと水との混合物を次に加え、そして混合液を蒸留により再び濃縮する。水及びプロパン-2-オールを加え、そして続いて蒸留による濃縮が、十分なトルエン(通常、G C分析による3 % w / w未満のトルエン)が混合液から取り除かれ、そして適切な溶液体積が得られた(化合物I bに関して約4体積)まで必要に応じて繰り返されて、通常80 % w / wを超えるプロパン-2-オール、20 % w / w未満の水、及び3 % w / w未満のトルエンの最終造粒スラリー中の溶媒組成物をもたらす。

30

【0107】

十分なトルエンが取り除かれると、混合物を結晶が生じるまで冷却する(通常、70 ~ 75)。得られた懸濁液を次にさらに冷却し(通常、20 ~ 25)、そして次にある時間粒状にし、その後場合によりさらに約0 ~ 5 に冷却し、そしてある時間のあいだ攪拌する。固体を次にろ過により回収し、そしてろ過ケーキをプロパン-2-オールで洗浄し、そして温度を上げて(通常、45 ~ 55)減圧下で乾燥して、式I aの化合物を結晶固体として提供する。プロパン-2-オール以外の溶媒、例えばメタノール、エタノール、n-プロパノール、アセトニトリル、酢酸イソプロピル、第三級アミル・アルコール、及び4-メチル-2-ペンタノンが利用できるということが当業者により認められよう。

40

【0108】

反応スキームにおける任意のステップB Xにおいて概説されるように(当該ステップは通常必要とされない)、化合物I bは、さらに精製されてもよい。化合物I bは、プロパン-2-オール中で懸濁され、そして混合液は、還流温度に熱されて、溶液を与える。混合液を次に還流温度以下の高温(約70 ~ 75)で約1時間熱し、その間に通常結晶が生じる。得られた懸濁液をこの温度で1 ~ 2時間維持し、そして次に(約20 ~ 25 に)冷却する。室温である時間攪拌した後(通常、1 ~ 18時間)、固体をろ過により回収する。ろ過ケーキをプロパン-2-オールで洗浄し、次に温度を上げて(約45 ~ 55)、吸引下

50

で乾燥させて、化合物 I b を結晶固体として提供する。プロパン-2-オール以外の他の溶媒、例えばメタノール、エタノール、n-プロパノール、アセトニトリル、酢酸イソプロピル、第三級アミル・アルコール、及び4-メチル-2-ペンタノンが利用できることが当業者により認められる。

【0109】

反応スキームのステップCにおいて、化合物 I b (1モル当量)及び無水クエン酸(通常、1.1モル当量)は、アセトン(通常、約8~10体積)及び水(通常、約0.4体積)の混合液中で混合され、そして得られた溶液をろ過する。多くのアセトン(通常、約2体積)を、移動装置を洗浄するために加える。ろ液に、ろ過されたエーテル溶媒、例えばメチル第三級ブチル-エーテル(tert-ブチルメチルエーテル「MTBE」)又はイソプロピル・エーテル(IPE)(通常、約10体積)を、場合により温度を上げて(30~45℃)加える。結晶化が生じると(結晶化は場合により幾つかの種結晶を加えることにより開始される)、混合液は、数時間(通常、18時間)、通常20~25℃で、一部の時間について場合により温度を上げて(30~45℃)造粒される。固体を次にろ過により回収する。ろ過ケーキを、個別にろ過されたエーテル溶媒で洗浄し、60℃未満の温度(イソプロピル・エーテルを使用する場合、室温)にて、減圧下で、場合により空気なし又は窒素流下で、化合物 I c クエン酸一水和物を結晶固体として提供する。生成物は、場合により粉末にし、又は篩過してもよい。

10

【0110】

任意のステップCXにおいて、化合物 I c の純度は、I c を、アセトン(通常、7体積)及び水(通常、0.3体積)の混合液中で、温度を上げて(約35~50℃)で溶解することにより改善してもよい。混合液を次に(約20~35℃)に冷却し、そして場合によりろ過する。得られた混合液に、ろ過されたエーテル溶媒、例えばtert-ブチルメチルエーテル又はイソプロピル・エーテルを、場合により温度を上げて(約30~40℃)加える。ひとたび結晶化が生じると(結晶化は、場合により同じ種結晶を加えることにより開始される)、混合液を数時間(通常、18時間)、通常20~25℃で、場合により一部の時間温度を上げて(30~45℃)造粒される。固体を次にろ過により回収する。ろ過ケーキを、個別にろ過されたエーテル溶媒で洗浄し、次に60℃未満の温度(イソプロピル・エーテルの場合、室温)にて、減圧下、場合により空気なし又は窒素流下で乾燥して、化合物 I c (クエン酸一水和物)を、結晶固体として提供する。生成物を次に場合により粉末状にし、又は篩過してもよい。

20

30

【0111】

他の医薬として許容される塩、クエン酸塩以外の塩が使用されてもよい。例えば、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、メシル酸塩、乳酸塩、及び塩酸塩、又はそれらのin situの同等物は、化合物 I a (遊離塩基溶液)に等量の適切な酸を加えることにより調製される。

【0112】

C. 医薬組成物について評価される抗菌性防腐剤

表IIIは、製剤中に使用するために評価された抗菌性防腐剤をまとめている。各抗菌性防腐剤は、市販の製品において現在使用されている最も高い濃度で試験された。抗菌性防腐剤は、一般的な化学薬品販売元から購入した。

40

【0113】

【表3】

表III：抗菌性防腐剤の選択

抗菌性防腐剤	割合 (%) (w/v)	pH
フェノール	0.5%	4.4
メタクレゾール	0.3%	4.4
メタクレゾール+EDTA	0.5%メタクレゾール+0.15% edta	4.4
クロロクレゾール	0.1%	4.4
クロロクレゾール+EDTA	0.1%+0.15% edta	4.4
クロロブタノール	0.5%	3.5
クロロブタノール&フェニルエタノール	それぞれ0.5%	3.5
クロロブタノール&フェニルエタノール	0.5%クロロブタノール w/ フェニルエタノールの滴定**	3.5
フェニルエタノール	0.5%	3.5
チメロサル	0.01%	4.4
安息香酸	0.2%	3.5
塩化ベンゼトニウム	0.02%	4.4
塩基ベンズアルコニウム	0.01%	4.4
ベンジルアルコール	2.0%	4.4
プロピレン・グリコール	25%	4.4
エタノール	15%	4.4
プロノポール	0.1%	5.0
スクロース	50%	4.4
グルコン酸クロルヘキシジン	0.5%	5.0

**0.1%ずつ増加させる0.5~0.1%からのフェニルエタノールの滴定

【0114】

防腐性製剤の調製

製剤を5%及び10%(重量/体積)SBE-CDで調製し、ここで溶解度が許容された。抗菌性防腐剤は、公称製剤値(pH4.4)を外れるpHで最適な活性を有する抗菌性防腐剤を、1N・HCl又は1N・NaOHを使用して、3.5~5.0に滴定した。10mg A/mlの式Iaの化合物のクエン酸塩を含有する10%又は5%(重量/体積)のいずれかのストック溶液を調製した。防腐剤を、重量ベースで個々の製剤に加えた。

【0115】

抗菌性効力試験

USP<24>/Ph. Eur. 2000の抗菌性効力試験(AET)の組合せを以下のように行った：USP/Ph. Eur.簡易検査要件ごとに、20mlの薬剤製品を、個別に0.1~0.2mlの細菌又は真菌カルチャーで植菌する。試験サンプル中の最終生物濃度は、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ cfu/mlであった。最初の6時間、24時間、7日間、14日間、及び28日間の間隔で、1mlの植菌された製品を、9mlの回収希釈液に移し、抗菌性防腐剤の無効化を確認した。1mlの希釈サンプルを次に滅菌ペトリ皿に移し、そして15~20mlの寒天プロスと混合して、生物を培養する。プレートを次に3~5日間インキュベーションし、コロニーを計数した。最初の生物汚染を、次に最初のサンプルの希釈度に基づいて計算した。値を「対数減少」として報告する。AET試験で使用する生物を、表IVにあげる。

【0116】

【表4】

表IV：ハイブリッド（USP/Ph. Eur.）抗菌性効力試験において試験された生物

試験生物	USP 要件	Ph. Eur. 要件
エシェリキア・コリ (グラム陰性細菌) (ATCC 8739)	有り	経口液体についてのみ有り
シュードモナス・アエルギノーサ (グラム陰性細菌) (ATCC 9027)	有り	有り
スタフィロコッカス・アウレウス (グラム陽性細菌) (ATCC 6538)	有り	有り
カンジダ・アルビカンス (真菌) (ATCC 10231)	有り	有り
アスペルギルス・ニガー (カビ) (ATCC 16404)	有り	有り

10

【0117】

一般的に、USP試験要件は、通常即効性の抗菌活性要件を有するPh. Eur.の要件より厳格ではない。表IIIに示されるPh. Eur.の要件は、微生物減少の割合によって、「基準A」又は「基準B」の規格のいずれかを有する。基準Aは、殺菌速度の増加を必要とする。ハイブリッド・アッセイに適合するために、最初における微生物の接種数が、表Vに記載される量だけ低減されることが必要とされる。

20

【0118】

【表5】

表V：AET（非経口水溶液）についてのUSP/Ph. Eur. 要件
(それぞれUSP 24及びPh. Eur. 2000)

	必要とされる生物数の対数減少			
	細菌		真菌（酵母／カビ）	
	USP	Ph. Eur.	USP	Ph. Eur.
6時間	--	2 (基準A)	--	--
24時間		3 (基準A) 1 (基準B)		
7日	1.0	-- (基準A) 3 (基準B)	初期状態からの増加なし	2 (基準A)
14日	3.0	--	初期状態からの増加なし	1 (基準B)
28日	14日目からの増加なし	回収不可 (基準A) 増加なし (基準B)	初期状態からの増加なし	増加なし

30

40

【0119】

【表 6】

USP/Ph. Eur. の組み合わせた要件		
必要とされる生物数の対数減少		
	細菌	真菌 (酵母/カビ)
6時間	2	--
24時間	3 (Ph. Eur. 基準Bにおいて1が適用される)	
7日	3	2
14日	3.0	1
28日	回収不可	増加なし

10

【0120】

安定性計測

式 I a の化合物の効力及び純度、防腐剤量、及び S B E - C D 量を評価するために、潜在的なリード製剤を、様々な促進された安定性条件下で評価した。例えば、一の促進安定性試験において、潜在的なリード製剤を安定性オープンに置いて、短い時間の熱安定性を計測する。サンプル・バイアル(20 ml)を 70、50、30、及び 5 の温度のチャンパー中に配置し、そして式 I a の化合物の効力及び純度、抗菌性防腐剤及び S B E - C D 量を、1、3、6、及び 12 週の間隔で分析した。式 I a の化合物、並びに抗菌性防腐剤及び S B E - C D 含量を計測するために純度及び効力アッセイを、有効 H P L C 方法論を使用して行った。S B E - C D を G T P 5 9 8 4 を使用してアッセイした。

20

【0121】

D. 注射部位寛容性

式 I a の化合物の製剤を、注射部位寛容性(以後「I S T」とする)について評価した。一般的に、S B E - C D を含有しない製剤は、寛容性が低かった。10 mg A / ml の式 I a の化合物、10% 過剰量のメタ-クレゾール(0.33% w / v)及び約 6.8% ~ 7.6% の S B E - C D からなる製剤を I S T について試験した。特に、10 mg A / ml の式 I a 化合物、6.1 ~ 7.2 mg / ml · S B E - C D、及び 3.2 ~ 4.2 mg / ml メタ-クレゾールを、注射部位寛容性について試験し、そしてその全てが良好に寛容された。

30

【0122】

製剤を、ビーグル及び雑種犬から構成される 4 匹のイヌの群において試験した。連続四日間のそれぞれの日において、イヌは、2 回の皮下注射であって、対照として左肩にビヒクル単独を 0.1 ml / kg で与える注射と、右肩に活性製剤(10 mg A / ml の式 I a の化合物)を 1 mg / kg で与える注射を受けた。イヌは、注射部位において反応の兆候について毎日観察され、そして 0 ~ 4 のスコアを以下のパラメーター：注射の疼痛、紅斑、組織肥厚化、触診の際の疼痛、及び浮腫の各々について与えた(表 V I を参照のこと)。5 日目まで(最後の投与後 24 時間まで)イヌを毎日観測した。

【0123】

40

【表 7】

表VI：注射部位寛容性の採点

注射時の疼痛	紅斑	組織肥厚化	触診の際の疼痛	浮腫
0=反応なし	0=紅斑なし	0=肥厚なし	0=疼痛なし	0=浮腫なし
1=かなりかすかな反応 体を丸め、注射部位を見る	1=ほとんど認知できないほどのかなりかすかな紅斑	1=ほとんど認知できないほどのかなりかすかな反応	1=強く触診したときに少しの疼痛	1=ほとんど認知できないほどのかなり小さい浮腫
2=少しの反応 少し声を出す 注射部位をなめ/ひっかく	2=明らかな少しの紅斑	2=明らかな少しの反応 1cm以下	2=触診時に少しの疼痛	2=明らかな小さい浮腫
3=中程度の反応 大きい声を出す 注射部位にかみつく自発運動をする	3=中程度の紅斑反応 1~2cm	3=中程度の反応 触診の際に明らか	3=中程度の疼痛	3=中程度の明らかに病的な浮腫
4=重篤な反応 3と同様であり、5分より長く続く	4=瘡蓋の形成を伴う重篤な真っ赤の紅斑	4=重篤な反応 2cm超	4=触診時に重篤な疼痛	4=重篤な拡散した浮腫

10

20

【実施例】

【0124】

実験

実験1：式I aの化合物の注射のための抗菌性防腐剤の選択

研究A(大規模の抗菌性防腐剤のスクリーニング)

式I aの化合物とS B E - C Dとを組み合わせた幾つかの異なる抗菌性防腐剤の効力を調査した。U S P並びにP h . E u r .基準A又はBのいずれかの両方の要件に適合する抗菌性防腐剤は、エタノール、プロピレン・グリコール、安息香酸、チメロサル、メタクレゾール(Lucchini, J. J.; Corre, J.; and Cremieux, A. "Antibacterial activity of phenolic compounds and aromatic alcohols" Res. Microbiol. 141, 499-510, (1990))及びクロロブタノール/フェニルエタノールの組合せであった。

30

【0125】

表V I Iは、様々な抗菌性防腐剤又はその組合せのスクリーニングについての結果を記載する。

【0126】

【表 8】

表VII. 抗菌性効力試験：抗菌性防腐システムの選択

抗菌性防腐剤	製剤の説明	許容される安定性	簡潔なAETの結果		
			USP	Ph. Eur. 基準A	Ph. Eur. 基準B
塩化ベンズアルコニウム (0.01%)	pH4.4 10% SBE-CD	未試験			
塩化ベンズアルコニウム (0.01%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験	✓		
塩化ベンズアルコニウム (0.02%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験			
塩化ベンズアルコニウム (0.02%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験			
塩化ベンズアルコニウム (0.02%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験	✓		
塩化ベンズアルコニウム (0.04%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験			
安息香酸 (0.2%)	pH4.2 5% SBE-CD	未試験	✓		✓
安息香酸 (0.2%)	pH4.2 10% SBE-CD	✓	✓		
プロノポール (0.1%)	pH5.0 10% SBE-CD	未試験	✓		
プロノポール (0.1%)	pH5.0 5% SBE-CD	未試験	✓		✓
プロノポール (0.2%)	pH5.0 5% SBE-CD	未試験	✓		✓
クロロブタノール (0.5%)	pH3.5 5% SBE-CD	未試験	✓		
クロロブタノール&フェニルエタノール (0.5%/0.5%)	pH3.5 5% SBE-CD	未試験	✓	✓	✓
クロロブタノール&フェニルエタノール (0.5%/0.5%)	pH3.5 10% SBE-CD	✓			
クロロブタノール&フェニルエタノール (0.5%/0.4%)	pH3.5 10% SBE-CD	未試験			
クロロブタノール&フェニルエタノール (0.5%/0.3%)	pH3.5 10% SBE-CD	未試験			
クロロブタノール&フェニルエタノール (0.5%/0.2%)	pH3.5 10% SBE-CD	未試験			
クロロブタノール&フェニルエタノール (0.5%/0.1%)	pH3.5 10% SBE-CD	未試験			
グルコン酸クロルヘキシジン (0.5%)	pH5.0 5% SBE-CD	未試験	✓		
エタノール (15%)	pH4.4 10% SBE-CD	未試験	✓		✓
エタノール (15%)	pH4.4 5% SBE-CD	✓	✓		✓
エタノール (30%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験	✓	✓	✓

10

20

30

40

【表 9】

抗菌性防腐剤	製剤の説明	許容される安定性	簡潔なAETの結果		
			USP	Ph. Eur. 基準A	Ph. Eur. 基準B
メタクレゾール (0.3%)	pH4.4 10% SBE-CD	✓	✓		
メタクレゾール (0.3%)	pH4.4 8% SBE-CD	未試験	✓		✓
メタクレゾール (0.3%)	pH4.4 9% SBE-CD	未試験	✓		✓
フェノール (0.5%)	pH4.4 10% SBE-CD	✓	✓		✓
フェニルエタノール (0.5%)	pH3.5 10% SBE-CD	未試験			
プロピレングリコール (25%)	pH4.4 10% SBE-CD	未試験	✓		
プロピレングリコール (25%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験	✓		
プロピレングリコール (50%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験	✓	✓	✓
スクロース (50%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験			
チメロサル (0.02%)	pH4.4 10% SBE-CD	未試験	✓	✓	✓
チメロサル (0.01%)	pH4.4 10% SBE-CD	低い安定性	✓	✓	✓
チメロサル (0.01%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験	✓	✓	✓
チメロサル (0.02%)	pH4.4 5% SBE-CD	未試験	✓	✓	✓

✓はUSP及び/又はPh. Eur. 基準を満たすことを指す

【0127】

これらの抗菌性防腐剤を含む製剤は、さらに物理及び化学的安定性及び注射部位許容性について評価された(表VIIIIを参照のこと)。共溶媒抗菌性防腐剤の取り組み(エタノール及びプロピレン・グリコール)は、許容されるISTを満たさなかった。さらに、安息香酸製剤はまた、低いIST結果を提供した。

【0128】

10

20

30

【表 10】

表VIII：研究Aの結果

抗菌性防腐性製剤*	抗菌性防腐剤含量 (実際/先行)	IST	安定性	AET結果		
				USP	Ph. Eur. 基準A	Ph. Eur. 基準B
安息香酸 pH: 4.2 SBE-CD: 10%	0.2%/0.2%	低い	OK 12w/70C	✓	s. aur (6, 24hr) c. alb (7d)	✓
クロロブタノール& フェニルエタノール pH: 3.5 SBE-CD: 5%	0.5%/0.5% クロロ・/フェニル	低い	NT	✓	✓	✓
エタノール pH: 4.4 SBE-CD: 10%	15%/70%	低い	NT	✓	s. aur (6hr)	✓
エタノール pH: 4.4 SBE-CD: 5%	15%/70%	低い	OK 1w/70	✓	a. niger (7d)	✓
メタ・クレゾール pH: 4.4 SBE-CD: 10%	0.3%/0.3%	良好	OK 12w/70C	✓	s. aur (6, 24hr) c. alb (7d)	✓
プロピレングリコール pH: 4.4 SBE-CD: 10%	50%/40%	低い	NT	✓	✓	✓
チメロサル pH: 4.4 SBE-CD: 10%	0.01%/0.01%	良好	1wk/70	✓	✓	✓

* 全ての製剤は式 I a の化合物を、10mgA/ml で含んだ。

✓は、USP及び/又はPh. Eur. 基準を満たすことを指す。

10

20

30

【0129】

研究 B (欧州薬局方基準 B は、抗菌性防腐剤スクリーニングに適合する)

欧州薬局方基準 B に適合した全ての抗菌性防腐剤を、さらに注射部位寛容性及び安定性についてさらにスクリーニングした。基準 B に適合した表 V I I 及び表 I X において同定されるリードは、チメロサル、メタ-クレゾール、及び安息香酸であった。これらの製剤は、安定性及び I S T について評価された(表 V I I)。

【0130】

研究からの結果により、チメロサルの安定性が、製剤について商業上不所望であることが示された。70 で1週間の貯蔵後、チメロサルのたった30%のみが製剤中に残っており、そして6週間後では完全な消失が観測された(Tan, M., Perkin, L.E. "Route of decomposition of thiomerosal" Int. J. Pharm. 195 No. 1-2, 23-34, 2000)。

40

【0131】

安息香酸は、70 で12週間の貯蔵後に、検出できる消失が見られず、安息香酸は製剤用に十分安定であった。安息香酸の安定性が許容されるが、注射の際の中程度~重度の痛みにより、安息香酸はさらに検討されることはない。

【0132】

他方、メタ-クレゾールを含有する製剤は、優れた安定性と注射部位寛容性を示した。従って、メタ-クレゾールは、優れた注射部位寛容性のため並びに防腐効力についての欧州薬局方基準 A に適合するため、好ましい抗菌性防腐剤と同定される。これらの好ましい性能特性のため、製剤は、S B E - C D 濃度に関して最適化され、高い限界溶解度、強い

50

抗菌防腐効力、及び許容される注射部位寛容性を有する製剤をもたらす。

【 0 1 3 3 】

3 mg / ml メタ-クレゾール、100 mg / ml の S B E - C D、及び 10 mg A / ml の式 I a の化合物を含む製剤中のメタ-クレゾール及び式 I a の化合物の安定性は、表 I X において示される。式 I a の化合物及びメタ-クレゾールの化合物の両者についての高い安定性が示された。式 I a の化合物は、70 で 12 週後において 3 % が消失し、一方メタ-クレゾール効力は 2 % だけ減少した。

【 0 1 3 4 】

【表 1 1】

表IX：メタクレゾール及び式 I a の化合物の安定性

貯蔵条件	時間点	式 I a の化合物の含量 (% INTENT)		メタクレゾール含量 (% INTENT)	
		アンバー処理 (Amber treated)	アンバー未処理 (Amber Untreated)	アンバー処理 (Amber treated)	アンバー未処理 (Amber Untreated)
70°C	1週	94	94	100	100
	2週	94	94	103	103
	3週	92	94	100	102
	6週	92	93	101	101
	12週	93	93	100	100
50°C	1週	95	96	99	100
	3週	95	93	103	101
	6週	96	94	104	102
	12週	95	未試験	100	未試験
5°C	1週	97	96	102	102
	3週	96	95	104	103
	6週	95	94	104	102
	12週	94	94	98	98
ICH 光安定性	1X ICH UV/FI	92	93	102	102

【 0 1 3 5 】

好ましい実施態様

A. 治療有効量の活性医薬成分、 β -シクロデキストリン、医薬として許容される防腐剤、医薬として許容されるピヒクル、及び任意の医薬として許容される賦形剤を含む医薬組成物であって、当該防腐剤が、医薬として許容される抗菌性防腐効果を示す、前記医薬組成物。

B. 前記 β -シクロデキストリンが、2-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン又はスルホブチル・エーテル- β -シクロデキストリンである、好ましい実施態様 A に記載の医薬組成物。

C. 前記防腐剤が、チメロサル、プロピレン・グリコール、フェノール、又はメタ-クレゾールから選ばれるか、或いはそれらの組合せから選ばれる、好ましい実施態様 B に記載の医薬組成物。

D. 前記防腐剤が、活性医薬成分のシクロデキストリンへの結合値未満であるシクロデキストリンへの結合値を有する、好ましい実施態様 B 又は C に記載の医薬組成物。

E. 前記防腐剤の濃度が、約 0.1 mg / ml ~ 約 600 mg / ml である、好ましい実施態様 D に記載の医薬組成物。

F. 前記防腐剤が、メタ-クレゾールであり、そして当該防腐剤の濃度が約 0.1 mg/ml ~ 約 20 mg/ml である、好ましい実施態様 E に記載の医薬組成物。

G. 約 1 mg/ml ~ 約 5 mg/ml のメタ-クレゾールが、シクロデキストリン内に隔離されない、好ましい実施態様 F に記載の医薬組成物。

H. 約 2.5 mg/ml の前記防腐剤が、シクロデキストリン中に隔離されない、好ましい実施態様 G に記載の医薬組成物。

I. 前記活性医薬成分のシクロデキストリンへの結合値が、 500 M^{-1} ~ $10,000 \text{ M}^{-1}$ である、好ましい実施態様 D に記載の医薬組成物。

J. 前記活性医薬成分のシクロデキストリンへの結合値が、 800 M^{-1} ~ $3,000 \text{ M}^{-1}$ である、好ましい実施態様 I に記載の医薬組成物。

K. 前記活性医薬成分が、防腐剤のシクロデキストリンとの結合定数に比べて、2 倍以上のシクロデキストリンとの結合定数を有する、好ましい実施態様 D に記載の医薬組成物。

L. 前記結合定数が 5 倍以上である、好ましい実施態様 K に記載の医薬組成物。

M. 前記結合定数が 10 倍以上である、好ましい実施態様 L に記載の医薬組成物。

N. 細菌濃度が、6 時間後で 2 以上の対数減少で減少し、24 時間後に 3 以上の対数減少で減少し、そして 28 日後に細菌の回収できなくなるよう減少するように、細菌に対する抗菌効力を有する、好ましい実施態様 D に記載の医薬組成物。

O. 前記細菌がエシェリキア・コリ (*Escherichia coli*) (グラム陰性細菌) (ATCC8739)、シュードモナス・アエルギノーサ (*Pseudomonas aeruginosa*) (グラム陰性細菌) (ATCC9027)、及びスタフィロコッカス・アウエレウス (*Staphylococcus aureus*) (グラム陽性細菌) (ATCC6538) である、好ましい実施態様 N に記載の医薬組成物。

P. 真菌又はカビに対して抗菌効果を有し、その結果真菌又はカビ濃度が、7 日後において 2 以上の対数減少で減少し、14 日後において 1 の対数減少で減少し、そして 14 ~ 約 28 日後で真菌又はカビの増加が見られないように減少する、好ましい実施態様 O に記載の医薬組成物。

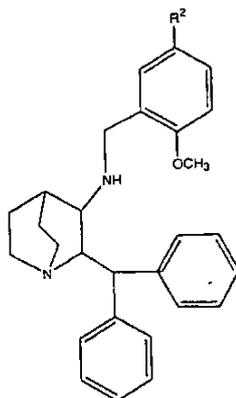
Q. 前記真菌が、カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) (真菌) (ATCC10231) である、好ましい実施態様 P に記載の医薬組成物。

R. 前記カビが、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) (カビ) (ATCC16404) である、好ましい実施態様 P に記載の医薬組成物。

S. 前記抗菌効果が、欧州薬局方基準 A 及び B、並びに USP AET 基準を満たす、好ましい実施態様 D に記載の医薬組成物。

T. 以下の式 I :

【化 7】



[式中、 R^2 は、メチル、エチル、イソプロピル、*sec*-ブチル、及び *tert*-ブチルである]

で表される化合物、医薬として許容される β -シクロデキストリン、医薬として許容される防腐剤、医薬として許容されるピヒクル、及び任意の医薬として許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

U. 前記 β -シクロデキストリンが、2-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン又はスルホブチル・エーテル- β -シクロデキストリンである、好ましい実施態様 T に記載の医薬組成物。

V. 前記医薬として許容される防腐剤が、チメロサル、プロピレン・グリコール、フェノール若しくはメタ-クレゾール、又はそれらの組合せから選ばれる、好ましい実施態様 U に記載の医薬組成物。

W. 前記防腐剤がメタ-クレゾールである、好ましい実施態様 V に記載の医薬組成物。

X. 約 4 ~ 約 5 の範囲の pH を有する、好ましい実施態様 W に記載の医薬組成物。

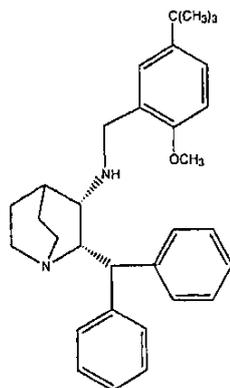
Y. 約 1 mg/ml ~ 約 5 mg/ml の防腐剤が、シクロデキストリン内に隔離されない、好ましい実施態様 W 又は X に記載の医薬組成物。

Z. 式 I の化合物、又はその医薬として許容される塩が、約 0.1 mg/ml ~ 約 100 mg/ml の量であり、そして β -シクロデキストリンが、約 20 mg/ml ~ 約 200 mg/ml の量であり、そして防腐剤がメタ-クレゾールである、好ましい実施態様 Y に記載の医薬組成物。

A 1. 前記 β -シクロデキストリンが、55 mg/ml ~ 100 mg/ml の量であり、そしてメタ-クレゾールが、約 2.5 mg/ml ~ 3.5 mg/ml の量である、好ましい実施態様 Z に記載の医薬組成物。

B 1. 式 I の化合物が、以下の式 I a :

【化 8】



I a

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩である、好ましい実施態様 T、U、W、又は X に記載の医薬組成物。

C 1. 式 I a の化合物、又はその医薬として許容される塩が、約 0.1 mg/ml ~ 約 100 mg/ml の量であり、そして β -シクロデキストリンが、約 20 mg/ml ~ 約 200 mg/ml の量であり、そして防腐剤がメタ-クレゾールであり、そして約 1 mg/ml ~ 約 5 mg/ml である、好ましい実施態様 B 1 に記載の医薬組成物。

D 1. 前記 β -シクロデキストリンが、約 55 mg/ml ~ 約 100 mg/ml の量であり、そして防腐剤がメタ-クレゾールであり、そして約 2.5 mg/ml ~ 約 3.5 mg/ml の量である、好ましい実施態様 C 1 に記載の医薬組成物。

E 1. 前記 β -シクロデキストリンが、スルホブチル・エーテル- β -シクロデキストリンである、好ましい実施態様 D 1 に記載の医薬組成物。

F 1. 以下の式 I a :

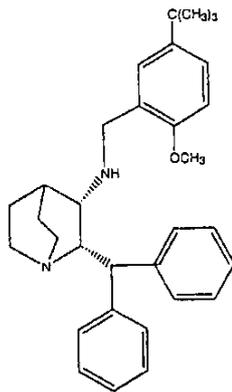
10

20

30

40

【化9】



Ia

10

で表される化合物、又はその医薬として許容される塩、医薬として許容されるピヒクル、及び任意の医薬として許容される賦形剤を含む医薬組成物であって、式Iaの化合物が、10mg A/mlであり、スルホブチル・エーテル-β-シクロデキストリンが、約63mg/mlの量であり、そしてメタ-クレゾールが、約3.3mg/mlの量である、前記医薬組成物。

20

G1. 式Iaの化合物の医薬として許容される塩が、クエン酸塩である、好ましい実施態様F1に記載の医薬組成物。

H1. 哺乳動物において嘔吐を治療するか又は麻酔からの回復を改善する方法であって、哺乳動物に、好ましい実施態様T、U、V、W、X、F1、又はG1に記載の医薬組成物、注射部位において改善された注射寛容性に十分である量で存在するβ-シクロデキストリンを含む水性医薬組成物を非経口的に注射することを含む、前記方法。

I1. 哺乳動物において嘔吐を治療又は麻酔からの回復を改善する方法であって、哺乳動物に、好ましい実施態様F1に記載の医薬組成物を含む水性医薬組成物を非経口注射することを含む、前記方法。

J1. 前記医薬として許容される塩がクエン酸塩である、好ましい実施態様I1に記載の方法。

30

K1. 投与が皮下注射である、好ましい実施態様I1又はJ1に記載の方法。

L1. 哺乳動物における嘔吐の治療又は麻酔からの回復を改善する治療の際、注射部位寛容性を改善する方法であって、当該哺乳動物に、好ましい実施態様T、U、V、W、X、F1、又はG1に記載の医薬組成物の医薬として許容される溶液を非経口注射することを含む、前記方法。

M1. 哺乳動物において嘔吐の治療又は麻酔からの回復を改善する治療の際、注射部位寛容性を改善する方法であって、当該哺乳動物に、好ましい実施態様F1に記載の医薬組成物の医薬として許容される溶液を非経口注射することを含む、前記方法。

N1. 前記医薬として許容される塩が、クエン酸塩である、好ましい実施態様M1に記載の方法。

40

O1. 治療有効量のAPI、β-シクロデキストリン、及び医薬として許容される防腐剤を含む、防腐性API組成物の開発方法。

P1. 前記防腐剤が、APIのシクロデキストリンへの結合値より小さい、シクロデキストリンへの結合値を有する、好ましい実施態様O1に記載の方法。

Q1. 前記防腐剤が、チメロサル、グリコール、フェノール若しくはメタ-クレゾールから選ばれるか、又はそれらの組合せから選ばれる、好ましい実施態様P1に記載の方法。

R1. 前記APIとシクロデキストリンとの結合値が、 $50M^{-1}$ より大きい、好ましい実施態様P1又はQ1に記載の方法。

50

S 1. 前記APIとシクロデキストリンとの結合値が、500～10,000 M⁻¹である、好ましい実施態様R 1に記載の方法。

T 1. 前記APIとシクロデキストリンとの結合値が、800～3,000 M⁻¹である、好ましい実施態様S 1に記載の方法。

U 1. 抗菌性効力試験(AET)要件が、欧州薬局方基準A及びB、並びにUSPのAET基準に適合する、好ましい実施態様T 1に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0136】

【図1】図1は、SBE-CD及び式I aの化合物の飽和メタ-クレゾール溶液を記載する。メタ-クレゾール濃度は、SBE-CDが増加するにつれて線形増加を示した。薬剤の濃度は、SBE-CD中のm-クレゾールの溶解度を有意に変化させなかった。

10

【図2】図2は、式I aの化合物1、0.5、及び0.25 mMにおいて式11に適合させた式I aの化合物濃度対時間を記載する。

【図3】図3は、6時間及び24時間の時点において、メタ-クレゾールの総量の関数としての細菌効力と、S.アウレウス(S.aureus)について計算された未隔離のメタ-クレゾールの関数としての細菌効力との間の比較を記載する。

【図4】図4は、欧州薬疼痛局方基準A、注射の際の疼痛なし、3.5 mg/ml未満のメタ-クレゾール、及び80 mg/ml未満のSBE-CDに従った防腐効果を保証する製剤の範囲枠を記載する。

【図1】

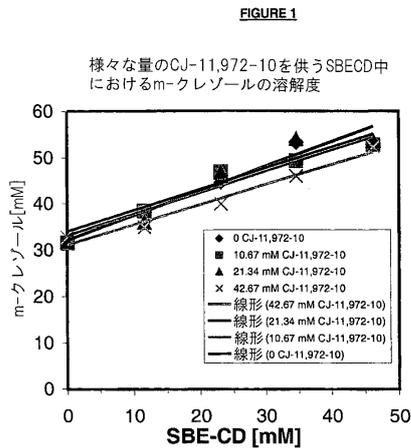


図1：飽和メタ-クレゾール溶液を、SBE-CD及び薬剤の量を変えて調製した。サンプルをろ過し、そして溶液中の防腐剤の濃度を計測した。メタ-クレゾール濃度は、SBE-CDが増加するにつれて線形増加した。薬剤の濃度は、SBE-CD中のm-クレゾールの溶解度を有意に変えることはない。

【図2】

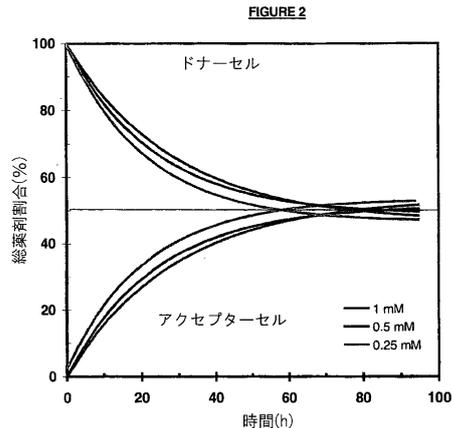
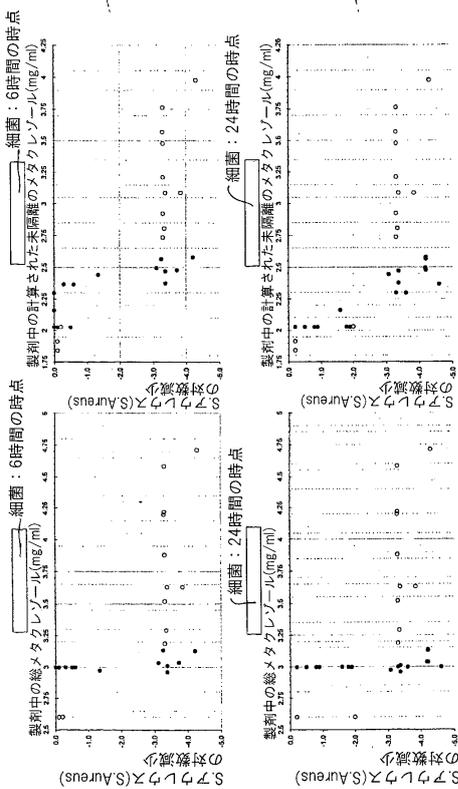


図2：1、0.5、及び0.25mMの式I aの化合物において、Scientistソフトウェアを使用して、式11に適合させた式I aの化合物濃度対時間。式I aの化合物が、透析セルのドナー側にロードされた。ドナー及びアクセプター側の薬剤濃度を時間に対して示す。薬剤は約48時間で平衡に達する。

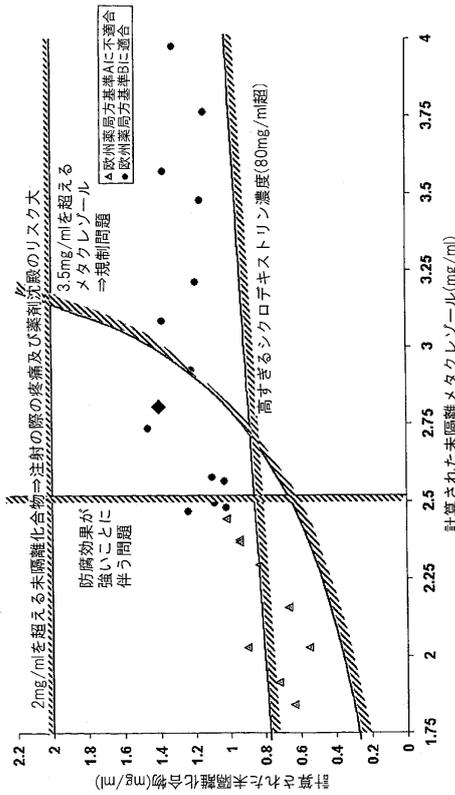
【 図 3 】



錠剤中のメタクロゾールの総量の関数として 錠剤中の計算された未隔離のメタクロゾールの関数として示されるS.アウレウス(S.Aureus)の対数減少

図3：6時間及び24時間の時点においてS.アウレウス(S.Aureus)に対するメタクロゾールの総量の関数としての細菌効力と計算された未隔離のメタクロゾールの関数としての細菌効力の比較。黒丸は、総量で2.95~3.15mg/mlのメタクロゾールを含む製剤に対応するデータである。

【 図 4 】



計算された未隔離メタクロゾール(mg/ml)

図4：欧州薬局方基準A、注射の際の疼痛なし、3.5mg/ml未満のメタクロゾール、及び80mg/ml未満のSBE-CDiに従った防衛効果を確認する製剤の範囲枠

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 9/08 (2006.01) A 6 1 K 9/08

(72)発明者 ダビド, フレデリク
イギリス国, ケント シーティー 1 3 9 エヌジェイ, サンドウィッチ, ラムスゲート ロード,
シー/オー ファイザー グローバル リサーチ アンド ディベロップメント

(72)発明者 ウッド, ジュリア アン
アメリカ合衆国, コネチカット 0 6 3 4 0, グロトン, イースタン ポイント ロード, ファイ
ザー グローバル リサーチ アンド ディベロップメント

審査官 福井 悟

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 3 / 0 0 9 8 4 8 (W O , A 1)
特開昭 5 9 - 1 5 2 3 2 0 (J P , A)
特表平 0 9 - 5 0 2 1 8 5 (J P , A)
特開昭 5 9 - 0 1 0 5 1 0 (J P , A)
国際公開第 2 0 0 2 / 0 7 4 2 0 0 (W O , A 1)
Eur J Pharm Sci , 1999, Vol.8, No.2 , pages 133-139

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
A61K 47/00-47/48
A61K 9/00-9/72