



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0051916  
(43) 공개일자 2020년05월14일

<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 9/06 (2006.01) A61K 38/09 (2019.01) A61K 9/00 (2006.01) A61K 9/14 (2006.01) A61K 9/16 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 A61K 9/06 (2013.01) A61K 38/09 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-0134719 (22) 출원일자 2018년11월05일 심사청구일자 2020년02월26일</p>	<p>(71) 출원인 주식회사 메디포럼제약 경기도 남양주시 경강로 27 (일패동)</p> <p>(72) 발명자 이상휘 경기도 수원시 장안구 대평로51번길 22, 신안아파트 242동 1604호 임수아 서울특별시 성북구 성북로4길 57-6, 남경빌라 10 2동 202호 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인 조영신</p>
--	---

전체 청구항 수 : 총 15 항

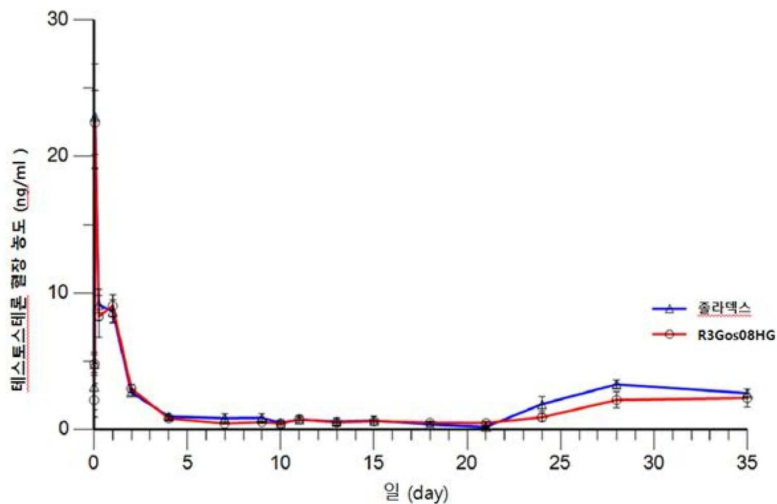
(54) 발명의 명칭 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물

(57) 요약

본 발명에서는 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물에 관한 것으로서, 더 상세하게는 주사용수 없이 25G 주사바늘로 주사 가능하여 투약 편리성이 개선되고, 초기 버스트 방출이 억제되어 1회 주사로 장기간 약효를 유지할 수 있는 서방성과 지효성을 갖춘, 고세렐린의 실리카 하이드로겔 조성물이 개시된다.

본 발명에 따른 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 초기 버스트 방출이 (종래 고분자 미립자의 제어용출 시스템과 비교하여) 현저하게 감소되어 장기간 동안 안정한 약물 방출성(서방성)을 가져 4주 이상 혈액 내에 고세렐린을 유효 농도로 유지(지효성)할 수 있다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

*A61K 9/0019* (2013.01)

*A61K 9/145* (2013.01)

*A61K 9/1611* (2013.01)

*A61P 35/00* (2018.01)

(72) 발명자

**정두용**

경기도 수원시 영통구 영통로290번길 25, 신나무실  
주공5단지아파트 507동 1603호

**김미정**

부산광역시 금정구 서동로92번길 11-20

**주소경**

경기도 성남시 분당구 성남대로 151, 1147호

**김미정**

경기도 용인시 기흥구 기흥단지로 378

**김완주**

서울특별시 중구 소공로 46, 쌍용남산플래티늄 A동  
1103호

**폴스백, 아리-페카**

핀란드, 터쿠 (우편번호: 20540), 허타쿠자 9

**노빠리, 파누**

핀란드, 헬싱키(우편번호: 00180), 루오호라덴카투  
4 B 57

**조키넨, 미카**

핀란드, 터쿠(우편번호: 20100), 카시토라이스카투  
13 C 4

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

i) 고세렐린 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 ii) 실리카의 iii) 복합 미립자 및 iv) 실리카 졸을 혼합하여 제조되고 전단유동성을 갖는 실리카 하이드로겔 조성물.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 ii) 실리카는 무정형  $\text{SiO}_2$ 이며, 무정형  $\text{SiO}_2$ 는 알콕시드, 알킬알콕시드, 아미노알콕시드 및 무기 실리케이트로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 실리카 전구체의 용액의 가수분해로 제조되는 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

#### 청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 전구체 용액은 물 : 실리카 전구체의 몰비가 2 : 1 ~ 5 : 1인 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

#### 청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 몰비가 2 : 1 ~ 3 : 1인 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

#### 청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 iii) 복합 미립자는 ii) 실리카와 i) 고세렐린 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 희석제로 희석제 : 실리카 전구체의 몰비가 92 : 1 ~ 150 : 1이 되도록 희석하고 pH를 3.6 ~ 6.4로 조절한 후 분말화하여 제조되는 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

#### 청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 복합 미립자의 크기(D50)는 1 ~ 100  $\mu\text{m}$ 인 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

#### 청구항 7

제 1항에 있어서, 복합 미립자 중 고세렐린 약물의 함량은 1 ~ 30 중량%인 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

#### 청구항 8

제 1항에서, 상기 iv) 실리카 졸은 물 : 실리카 전구체의 몰비가 400 : 1로 혼합되고 가수분해되어 제조되고, 상기 실리카 전구체는 알콕시드, 알킬알콕시드, 아미노알콕시드 및 무기 실리케이트로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

**청구항 9**

제 1항에 있어서, 상기 iii) 복합 미립자와 iv) 실리카 졸은 0.1 : 1 ~ 1 : 1 (w : vol)의 혼합비로 혼합하여 제조되는 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

**청구항 10**

제 1항에 있어서, 실리카 하이드로겔 조성물에서 상기 복합 미립자는 5 ~ 60 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 실리카 하이드로겔 조성물.

**청구항 11**

제 1항에 따른 실리카 하이드로겔 조성물을 포함하는 투약 편리성이 개선되고 서방성과 지효성을 갖춘 주사 제형.

**청구항 12**

제 11항에 있어서, 상기 주사 제형은 손실 계수가 < 1인 것을 특징으로 하는 주사 제형.

**청구항 13**

제 11항에 있어서, 상기 주사 제형은 25G의 얇은 주사바늘로 피하 주사 가능한 것을 특징으로 하는 주사 제형.

**청구항 14**

제 11항에 있어서, 상기 주사 제형은 4주 이상 서방성을 갖는 것을 특징으로 하는 주사 제형.

**청구항 15**

제 11항에 있어서, 상기 주사 제형은 암 치료용인 것을 특징으로 하는 주사 제형.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물에 관한 것으로서, 더 상세하게는 주사용수 없이 25G 주사바늘로 주사 가능하여 투약 편리성이 개선되고, 초기 버스트 방출이 억제되어 1회 주사로 장기간 약효를 유지할 수 있는 서방성과 지효성을 갖춘, 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 호르몬 의존성 질환에는 호르몬 유사체인 펩타이드 약물이 질환 치료에 사용되고 있다. 그 일례로 성선 자극 호르몬 방출 호르몬(GnRH)의 유사체인 고세렐린은 전립선암, 자궁근종, 유선암, 자궁내막증 및 성조숙증 등의 같은 질환 치료에 임상으로 이용되고 있다. 이와 같은 호르몬 유사체는 임상 적응증의 투여 특징에 따라 환자에게 장기간 투여가 필요한 만성질환에 사용 일이 많기 때문에 환자의 순응성을 향상시키기 위해, 지효성과 서방성을 구비한 제형이 개발되어 오고 있다.

[0004] 수액제, 현탁제 및 유제와 같은 종래 주사 제형은 근육이나 피하 투여 후 체내에서 신속히 제거되기 때문에 호르몬 의존성 질환과 같은 만성질환 치료시에는 빈번한 주사 투여가 필수적이었다. 이러한 문제점을 해결하고자 고분자로 구성된 미립구(microsphere) 제형에 약물을 봉입시키는 마이크로캡슐화가 개발되었는데, 미립구는 보통  $\mu\text{m}$  단위의 크기를 지니므로 인체나 동물에 근육 또는 피하주사로 투여 가능하며, 약물 방출속도를 지니도록 제조할 수 있어 약물 전달기간을 제어할 수 있어서, 한 번의 투여만으로도 장시간 동안 유효한 치료약물농도를 유지할 수 있고 치료에 필요한 약물 총 투여량을 극소화시킬 수 있으며, 환자의 약물치료 순응도를 향상시킬 수 있어, 전 세계 제약회사에서 약물 함유 고분자 미립자 개발에 관심을 보이고 있다. 그런데 이와 같은 고분자 미립구는 표면 및 내부에 존재하는 물이 채워진 공극과 이들을 연결하는 수 채널(물 channel)을 통해 약물이 빠르게 확산하는 현상인 높은 초기 약물 방출 (high initial drug release), 즉 초기 버스트 (initial burst)가 일어난다. 이와 같은 고분자 미립구 제형의 초기 버스트는 독성 반응을 비롯한 부작용을 일으킬 수 있기 때문에, 펩타이드 약물의 전달 시스템에는 최적화되어 있지 않은 실정이다 (등록특허 10-1481859호).

[0005] 한편 고세렐린은 호르몬 제제로 “LHRH 효현제”로 분류된다. 일부 종양은 종양 증식에 필요한 특정 호르몬에 대한 수용체가 있는 것이 확인되어서 호르몬 치료가 종양 치료제로 이용된다. LHRH(황체호르몬 분비 호르몬)는 뇌에 있는 뇌하수체가 황체 호르몬을 생성하게 하고, 이는 다시 남성에서는 테스토스테론 분비를 자극하고, 여성에서는 에스트로겐 분비를 자극한다. 이 약물은 테스토스테론 또는 에스트로겐 의존적인 암세포에서 이들 호르몬을 부족하게 만들어 종양의 크기를 줄이거나 위축시키는 작용을 나타낸다. 주로 유방암, 호르몬에 반응하는 전립선암, 자궁내막암, 자궁근종 치료에 사용되지만 다른 질환 치료 목적으로도 사용될 수 있다. 고세렐린 임플란트 제형은 1987년에 영국에서의 시판이 허가되었고 1989년 12월 29일에 FDA의 시판 승인을 얻어서 상품명을 「졸라텍스」로 하여 시판되고 있다. 이 임플란트 제형은 고세렐린으로써 3.6mg과 10.8mg이 포함된 각각의 2가지 제형으로 시판되고 있으며, 3.6mg일 경우 28일 간격으로, 10.8mg일 경우 12주 간격으로 투여하도록 되어있다. 고세렐린으로써 3.6mg이 포함된 제형은 16G 주사바늘 (외부 직경 1.65mm)을 사용하며, 고세렐린으로써 10.8mg이 포함된 제형은 14G 주사바늘 (외부 직경 2.11mm)을 사용하는데, 각각 주사바늘의 길이는  $36 \pm 0.5\text{mm}$ 에 해당하며, 두 경우 모두에서 주사바늘의 외부직경이 넓기 때문에 주사 시에 야기되는 통증이 커서 주입 전 국소마취를 해야 하며, 주사 후에 피하 출혈을 빈번히 일으키는 문제가 있다.

[0006] 따라서 임플란트 제형에 비하여 얇은 주사바늘을 사용하여 주사할 수 있어 환자의 통증과 출혈 상황을 방지하는 개선된 투약 편리성을 구비하면서도 초기 버스트 방출이 억제되어 장기간 약효를 유지할 수 있는 서방성과 지효성을 갖춘 새로운 펩타이드 약물의 전달 시스템의 개발이 여전히 요구되고 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0008] 따라서 본 발명의 목적은 주사용수 없이 25G 주사바늘로 주사 가능하여 투약 편리성이 개선되고, 초기 버스트 방출이 억제되어 1회 주사로 장기간 약효를 유지할 수 있는 서방성과 지효성을 갖춘, 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 고세렐린과 실리카 복합 미립자 및 실리카 졸을 혼합하여 제조되고 전단유동성(shear-thinning)을 갖는 실리카 하이드로겔 조성물을 제공한다.

#### i) 고세렐린

[0012] 본 발명에서 '고세렐린'은 질환치료 또는 예방용의 생리활성을 갖으며 고세렐린 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 의미한다.

#### ii) 실리카

[0014] 본 발명에서는 고세렐린과 복합 미립자를 형성하기 위하여 사용되는 '실리카'는 무정형(amorphous)  $\text{SiO}_2$ 를 의미한다. 무정형  $\text{SiO}_2$ 는 알콕시드, 알킬알콕시드, 아미노알콕시드 또는 무기 실리케이트 용액과 같은 액체상 실리카

전구체로부터 가수분해 및 축합반응으로 제조되는데, 졸(sol)을 형성하며, 조건에 따라서 겔(gel)화될 수 있다.

- [0015] 상기 액체상 전구체인 알콕시드, 알킬알콕시드, 아미노알콕시드 또는 무기 실리케이트 용액은 물 : 실리카 전구체(알콕시드, 알킬알콕시드, 아미노알콕시드 또는 무기 실리케이트의 몰비가 2 : 1 ~ 5 : 1, 바람직하게는 2 : 1 ~ 3 : 1로 혼합된다(도 8a).
- [0016] 28일 제형의 용출속도는 물 : 실리카 전구체의 몰 비에 따라 달라진다. 2 : 1 미만일 경우 실리카 분해 및 약물 용출속도는 너무 빠르고 5 : 1를 초과하면 실리카 분해 및 약물 용출속도는 너무 느려지게 된다.
- [0017] 실리케이트 용액을 가수분해시 촉매로서 pH 2를 유지하기 위하여 HCl 또는 무기산이 첨가될 수 있다.
- [0018] 본 발명에서 '졸'은 콜로이드성 분산액으로서 유동성을 갖고 액체상이다. 예를 들어 물과 같은 액체상에 고체 입자인 가수분해 된 실리카의 입자들이 균질하게 분산되어 있는 상태를 말한다. 본 발명의 졸에서 고체 입자는 < 50 nm이다.
- [0019] iii) 고세렐린과 실리카의 복합 미립자
- [0020] 상기 i)에서 설명된 고세렐린과 ii)에서 설명된 실리카(무정형 SiO<sub>2</sub>; 가수분해된 실리카 입자들이 균일하게 분산되어 있는 졸)를 혼합하고 분말화하여 고세렐린과 실리카의 복합 미립자를 형성한다.
- [0021] 고세렐린은 물, 에탄올, 50% (v/v) 에탄올 또는 SiO<sub>2</sub> 포화 수용액 등의 희석제로 희석하여 사용할 수 있으며, 바람직하게는 물을 희석제로 사용한다(도 8b).
- [0022] 28일 제형의 용출속도는 에탄올, 50% (v/v) 에탄올 또는 SiO<sub>2</sub> 포화 수용액을 희석제로 사용할 경우 실리카 분해 및 약물 용출속도는 너무 빠르게 된다.
- [0023] 희석제의 양은 희석제 : 실리카 전구체의 몰비(H<sub>2</sub>O/TEOS)가 92 : 1 ~ 150 : 1이 되도록, 바람직하게는 100 : 1이 되도록 첨가한다(도 8c).
- [0024] 28일 제형의 용출속도는 물 : 실리카 전구체의 몰 비에 따라 달라진다. 100:1 미만일 경우 실리카 분해 및 약물 용출속도는 너무 빠르고 150 : 1을 초과하면 실리카 분해 및 약물 용출속도는 너무 느려지게 된다.
- [0025] 희석된 고세렐린과 1차 실리카 졸을 혼합하고 상기 혼합물은 분말화 전에, NaOH 수용액 염기로 pH를 3.6 ~ 6.4로 조절할 수 있으며, 바람직하게는 pH가 5.4 ~ 6.4가 되도록 한다(도 8d).
- [0026] 28일 제형의 용출속도는 pH 5.4 미만에서는 실리카 분해 및 약물 용출률이 너무 빠르고 pH 6.4 이상에서는 실리카 분해 및 약물 용출속도는 너무 느리다.
- [0027] 분말화는 분무 건조를 통하여 가능하다. 분무 건조 온도는 분무 건조기의 입구 온도가 80 ~ 180 °C, 바람직하게는 80 ~ 120 °C이다(도 8e).
- [0028] 입구 온도는 실리카 분해 및 약물 용출속도에 영향을 미치며 120 °C 이상에서 용출속도는 매우 빠르다.
- [0029] 상기와 같이 제조된 본 발명의 '고세렐린과 실리카의 복합 미립자'는 그 크기(D50)는 1 ~ 200 μm, 바람직하게는 1 ~ 100 μm이다. 입자크기가 1 미만이면 약물 봉입률이 낮거나 약물 용출속도는 너무 빠르며 200 μm를 초과하면 25G 주사바늘을 사용 시에 주사 주입성에 문제가 있다.
- [0030] 복합 미립자 중 고세렐린의 함량은 1 ~ 30 중량%, 바람직하게는 2 ~ 7 중량% 이다.
- [0031] 28일 제형의 용출속도는 고세렐린의 함량이 2 중량% 미만에서는 실리카 분해 및 약물 용출속도가 너무 느리고 고세렐린의 함량이 30 중량% 이상에서는 실리카 분해 및 약물 용출속도는 너무 빠르다.
- [0032] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물에는 고세렐린과 실리카의 복합 미립자가 10 내지 50 중량%, 바람직하게는 20 내지 45 중량%로 포함될 수 있다. 복합 미립자가 10 중량% 미만이거나 50 중량%를 초과하면 겔화가 되지 않아 유동학적 성질에 나쁜 영향을 미치며 겔 형성에 문제가 발생한다.
- [0033] iv) 복합 미립자와 실리카 졸의 혼합 (하이드로겔 조성물)
- [0034] 본 발명에서 '실리카 졸'은, 상기에서 설명된 바와 같이, 가수분해된 실리카 균질하게 분산되어 있는 액체상을 의미하는 것으로, 본 단계에서 사용되는 '실리카 졸'은 물 : 실리카 전구체(알콕시드, 알킬알콕시드, 아미노알콕시드 또는 무기 실리케이트의 몰비가 150 : 1 ~ 500 : 1, 가장 바람직하게는 400 : 1로 혼합된다.

- [0035] 물 : 실리카 전구체의 물비가 150 : 1 ~ 500 : 1일 경우 탄성 모듈러스는 겔 점 후에도 낮은 수준으로 유지되어 탄성 모듈러스의 증가는 빠르지 않으며 얇은 주사바늘로 주사 가능하게 하는 겔 구조이다. 물비가 300 : 1 미만에서는 미립자의 습윤성(Wettability)이 매우 낮기 때문에 주입성이 불량한 경우에만 사용한다. 고세렐린 복합 미립자는 물비가 400 : 1에서 주입성이 적당하다.
- [0036] 상기 복합 미립자와 실리카 졸은 0.1 : 1 ~ 1 : 1의 혼합비(w : vol)로, 가장 바람직하게는 0.2 : 1 ~ 0.8 : 1의 혼합비(w : vol)로 혼합하여 조성물을 제조한다. 혼합은 필요에 따라서 교반 하에 5 ~ 10분 내에 수행한다.
- [0037] 제조된 혼합 조성물은 수직 로울러 믹서에서 3일 동안 실온에서 겔화시켜 하이드로겔(hydrogel) 조성물로 변한다.
- [0038] 본 발명에서 '하이드로겔'은 액체상이 물이거나 물을 50 중량% 이상 함유하는 수계인 겔을 의미한다. 하이드로겔의 액체상은 물을 > 65 중량%, 더 바람직하게는 > 90 중량% 및 가장 바람직하게는 > 95 중량% 포함한다. 액체상은 추가로 유기 용매, 예를 들어, 에탄올을 포함할 수 있다. 유기 용매의 농도는 < 10 중량%, 더 바람직하게는 < 3 중량% 및 가장 바람직하게는 < 1 중량%이다. 본 발명의 하이드로겔 조성물은 하이드로겔의 기본 기준을 충족시키기 때문에 하이드로겔로 간주된다. 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 물을 바람직하게는 20 내지 80 중량%, 더욱 바람직하게는 30 내지 70 중량%, 및 가장 바람직하게는 40 내지 60 중량% 포함한다.
- [0039] 본 발명의 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 전단유동성(shear-thinning)의 특성을 갖는다.
- [0040] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 정치 상태로 저장될 때 안정하여 비유동성으로 유지되나, 전단 응력이 적용될 때 유동성이 된다.
- [0041] 전단유동성을 갖는 본 발명의 조성물은 선형 점탄성 영역에서 0.01~10 Hz에 해당하는 각 진동 주파수하에서 측정된 손실 계수, 즉, 손실탄성계수/저장탄성계수는 전형적으로 < 1, 바람직하게는 < 0.8 및 가장 바람직하게는 < 0.6이다. 실시예에 예시된 바와 같이, 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 실온에서 또는 냉장 온도에서 (3 ~ 6 °C에서) 주사기 등에 정치 상태로 저장될 때 조성물은 겔(비유동성)인데, 주사기로부터 25G 주사바늘을 통해 실리카 하이드로겔 조성물에 주사되는 상태로 전단 응력이 가해질 때는 유동성 형태로 변한다.
- [0042] 비유동성 구조는 고세렐린과 실리카의 복합 미립자의 상 분리를 방지함으로써 하이드로겔 조성물 구조의 안정성을 보장한다. 고세렐린과 실리카의 복합 미립자들은 실리카 하이드로겔에 매립되어 있으며 예를 들어 ≤ 25 °C의 온도에서 저장되는 용기(주사기와 같은)의 바닥에서 침전되거나 분리되지 않는다. 실리카 하이드로겔 구조가, 예를 들어, 사전 충전된 즉시 사용가능한 주사기에서 정치 상태로 저장될 때 비유동성이지만, 전단 응력이 주입에 의해 실리카 하이드로겔 조성물에 적용될 때 전단유동성으로 되어 얇은 주사바늘을 통해 주사 가능하다.
- [0043] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물의 점도는 주사 후에 조성물이 더 이상 전단 응력에 노출되지 않으면 겔 원래의 점성으로 회복된다.
- [0044] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 유사 가소성(Pseudoplastic)의 특성을 갖는다. 본 발명의 실리카 하이드로겔은 0.01 내지 10 Hz의 진동 주파수 영역에서 낮은 주파수의 전단응력이 가해졌을 때, 높은 점도로 인하여 낮은 유동성을 가지나, 높은 주파수의 전단응력이 가해지면, 하이드로겔 조성물의 점도가 낮아져 유동성이 높아진다. 이러한 특성으로 인하여 본 발명의 실리카 하이드로겔은 25G 주사바늘로 주입 가능하게 된다.
- [0045] 본 발명 조성물의 안정한 비유동성 하이드로겔 구조는 하이드로겔 내에 하나의 3차원 실체에서 실리카 미립자들을 단단히 함께 유지하는 구조로 인해 초기 버스트 방출 (초기의 신속한 방출)를 감소시키는 효과를 제공한다.
- [0046] 본 발명의 하이드로겔 조성물의 초기 버스트 방출 억제는 체내 피하 주사 후 1일 이내에 전체 용출량의 10% 이하로 일어나는 것을 것으로 간주된다.
- [0047] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물에서 무정형 실리카는 실온 및 중성 수에서 약 130 ~ 150 ppm의 용해도를 가지며 실리카 하이드로겔 수상에서 국소적인 실리카 미립자의 포화도가 빨리 일어나 실리카의 용해가 중단된다. 이것은 고세렐린이 주사기내에서 저장되는 동안에 실리카 미립자로부터 실리카 하이드로겔의 수상으로 방출되지 않고 잘 봉입되어 있음을 의미한다.
- [0048] 일반적으로 주사 후 미립자는 생체내에서 이물질로 인지되어서 백혈구에 의해서 조직에서 제거되지만 실리카 미립자는 백혈구에 의해서 인지도가 어렵다. 따라서 실리카 미립자와 실리카 졸로부터 제조된 하이드로겔 조성물은 피하 조직에 국소적으로 주사될 때 실리카 데포 제형의 관용성 및 안전성에 긍정적인 효과를 갖는다.

- [0049] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 약 50~90%의 높은 실리카 농도를 가지고 실리카 및 유기 중합체 기반 하이드로겔에서 실리카 미립자의 형태로 존재한다. 실리카 하이드로겔 조성물은 높은 실리카 농도를 가지므로 실리카 하이드로겔 수상에서 용해되지 않고 실리카 미립자의 형태로 존재한다.
- [0050] 국소 실리카 포화가 발생되면, 용출액 확산에 의해 서서히 퍼지면서 고세렐린이 포함된 실리카 미립자는 천천히 생체 내에서 생분해되어 고세렐린의 매우 느린 용출이 일어난다.
- [0051] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 생분해성이다.
- [0052] 본 발명에서 '생분해성'은 침식, 즉 매트릭스 물질, 예를 들어 체내에서 실리카 하이드로겔이 점진적으로 분해되는 것을 언급한다. 분해는 바람직하게 체액에 의해 미립자 표면으로 부터 서서히 침식되면서 용해되고 고세렐린의 방출은 복합 미립자의 생분해 속도에 의해 조절된다.
- [0053] 본 발명에서 실리카 하이드로겔 조성물의 고세렐린 용출은 연속상의 하이드로겔(실리카 매트릭스)에 매립된 실리카 미립자의 생분해 속도에 의해 제어되고 초기 버스트 방출이 제어된다.
- [0054] 본 발명의 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 서방성과 지효성을 가져서 1주일에 1회 내지 1년에 1회, 바람직하게는 4주에 1회 내지 6개월에 1회, 가장 바람직하게는 4주에 1회 투여할 수 있다. 예를 들어 본 발명에서 예시된 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 1회 투여로 고세렐린 용출이 4주 동안 지속될 수 있다.
- [0055] 본 발명의 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 0.1 ~ 5 ml, 바람직하게는 0.1 ~ 2 ml, 가장 바람직하게는 0.1 ~ 1 ml의 주사 용량으로 투여된다.
- [0056] 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 피하, 근육내, 복막 주사로 주사될 수 있으며, 바람직하게는 25G (0.50 mm X 25 mm 이하) 주사바늘을 통해 주사가 가능하다.
- [0057] 본 발명에 따른 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 주사용수 없이 주사 가능한 하이드로겔 주사제형을 제공할 수 있다.

**발명의 효과**

- [0059] 본 발명에 따른 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 초기 버스트 방출이 (종래 고분자 미립자의 제어용출 시스템과 비교하여) 현저하게 감소되어 장기간 동안 안정한 약물 방출성(서방성)을 가져 4주 이상 혈액 내에 펩타이드 약물을 유효 농도로 유지(지효성)할 수 있다.
- [0060] 또한 본 발명에 따른 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 25G와 같은 가는 바늘의 주사기로 투여할 수 있고 주사용수 추가 없이 피하주사도 가능하며 주사시 통증을 방지할 수 있어서 환자의 투약 편의성(patient compliance)을 현저히 개선된다.
- [0061] 또한 본 발명에 따른 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물은 액상이 아닌 연속상의 하이드로겔에 복합 미립자들이 매립되어 있어서 장기간 안정성, 주사 가능성 및 정확한 용량을 보장하며, 다루기 쉽고, 균질하여 주사용 제형으로 유용하다.

**도면의 간단한 설명**

- [0063] 도 1은 본 발명의 복합 미립자의 일례의 인비트로 누적 실리카 용해 농도 및 고세렐린 가속용출 분석결과를 나타내는 그래프이다.
- 도 2는 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물의 인비트로 일일 고세렐린 용출속도 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물의 일례의 인비트로 누적 실리카 용해 농도 및 고세렐린 가속용출 분석결과를 나타내는 그래프이다.
- 도 4는 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물의 전단 속도 변화에 따른 점도 변화 양상을 보여주는 그래프이다.

도 5는 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물의 손실계수(tan δ)를 보여주는 그래프이다.

도 6는 본 발명의 고세렐린 아세테이트를 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물과 대조물질인 졸라텍스 임플란트의 랫트 투여후 고세렐린의 혈장 농도 대 시간 프로파일을 나타내는 그래프이다.

도 7은 본 발명의 고세렐린 아세테이트를 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물과 대조물질인 졸라텍스 임플란트의 랫트 투여후 테스토스테론의 혈장 농도 대 시간 프로파일을 나타내는 그래프이다.

도 8a ~ 8f는 조건에 따른 누적 실리카 분해속도 및 누적 약물 용출속도를 나타내는 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0064] 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 제조예 및 시험예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0066] 제조예 1: 고세렐린과 실리카의 복합 미립자의 제조

[0067] 고세렐린의 약제학적으로 허용 가능한 염인 고세렐린 아세테이트를 사용하였다. 실리카 전구체로 테트라에틸오르소실리케이트(TEOS)를 사용하였다.

[0068] 표 1과 같이 1차 실리카 졸은 H<sub>2</sub>O/TEOS 몰비가 2, 3, 또는 5이 되도록 물과 TEOS를 혼합하고 0.1N-HCl로 가수분해하여 무정형 실리카(졸 상)를 제조하였다.

[0069] 일례(R3Gos08)로는 1차 실리카 졸 (H<sub>2</sub>O/TEOS 몰비가 3)은 0.9 ml의 물 (정제수)과 7.4 ml의 테트라에틸오르소실리케이트(TEOS, Sigma-Aldrich)을 교반하여 완전히 용해한 후, 0.9 ml의 0.1N-HCl (Merck)을 촉매로 첨가하여 실온에서 25 ~ 30분 동안 가수분해시켜 무정형 실리카(1차 실리카 졸, R3)를 형성시켰다.

[0070] 표 1과 같이, 고세렐린 아세테이트는 희석제로 물, 에탄올, 50% (v/v) 에탄올 또는 SiO<sub>2</sub> 포화 수용액을 용매로 2, 3, 5 또는 7 중량%로 로딩되고, 최종 2차 실리카 졸은 H<sub>2</sub>O/TEOS 몰비가 92, 100, 또는 150이 되도록 희석하여 준비하였다. 구체적으로는 약물 로딩이 5중량%인 경우 362 mg의 고세렐린 아세테이트 (Shenzhen JYMed technology Co. Ltd.)를 57.7 ml의 물 (정제수)에 용해시켰다. 여기서 희석제로 에탄올, 50% (v/v) 에탄올 또는 SiO<sub>2</sub> 포화 수용액은 물의 몰비를 기준으로 용해시킨다.

[0071] 상기와 같이 제조되고 준비된 각각의 1차 실리카 졸과 희석된 고세렐린 아세테이트를 ice-bath (0-5 °C)에서 혼합하여 2차 실리카 졸(R100)을 형성하고, 상온에서 0.1N-NaOH을 첨가하여 pH 5.9으로 조절하고 분무 건조기 (Buchi B-290)를 사용하여 분무 건조하여(분무 건조기 입구 온도 80-180 °C; 출구 온도 35-113 °C; Aspirator 35m<sup>3</sup>/h; Pump 6.5-9.9ml/min; Atomization air flow 670 l/h), 표 1에 나타난 바와 같은, 고세렐린 아세테이트가 포함된 실리카 복합 미립자들을 제조하였다.

**표 1**

[0072]

code참조	1차 실리카 졸 (H <sub>2</sub> O/TEOS 몰비)	2차 실리카 졸		고세렐린 아세테이트 로딩 중량%	pH	분무건조기 (입구 온도)
		(희석제 /TEOS 몰비)	희석제			
R2Gos01	3	92	물	5 %	5,9	120 °C
R3Gos01	3	100	물	5 %	5,9	120 °C
R3Gos02	3	100	물	5 %	5,1	120 °C
R3Gos03	3	100	물	3 %	3,7	120 °C
R3Gos04	3	100	물	3 %	3,7	130 °C
R3Gos05	3	150	물	2 %	5,2	130 °C
R3Gos06	3	150	물	2 %	3,6	120 °C
R3Gos07	3	150	물	2 %	3,6	100 °C
R3Gos08	3	100	물	5 %	5,9	90 °C
R3Gos09	3	100	물	5 %	5,9	80 °C

R3Gos10	3	100	물	7 %	5,9	120 °C
R3Gos11	3	100	물	5 %	5,4	120 °C
R3Gos12	3	150	물	5 %	5,9	120 °C
R3Gos13	3	100	물	2 %	5,9	120 °C
R3Gos14	3	100	물	5 %	5,4	80 °C
R3Gos15	3	100	SiO <sub>2</sub> 포화 수용액	5 %	5,9	120 °C
R3Gos16	3	100	50% 에탄올	5 %	5,9	120 °C
R3Gos17	3	100	에탄올	5 %	5,9	120 °C
R3Gos18	3	100	물	5 %	6,4	120 °C
R5Gos01	5	100	물	5 %	5,9	120 °C
R5Gos02	5	100	물	5 %	5,8	180 °C

[0074] 제조예 2: 고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물의 제조

[0075] <실리카 졸 제조>

[0076] 물 (정제수)/TEOS 몰비가 400인 실리카 졸을 제조하였다.

[0077] 구체적으로는 17.3 ml의 물 (정제수)과 1.1 ml의 테트라에틸오르소실리케이트(TEOS, Aldrich)을 교반해서 완전히 용해한 후, 17.3 ml의 0.1N-HCl 수용액 (Merck)을 촉매로 첨가하여 pH 2에서 25~30분 동안 가수분해시키고 실온에서 0.1N-NaOH 수용액 (Merck)을 첨가하여 pH 6.5을 조절하여 실리카 졸(R400)을 제조하였다.

[0078] <고세렐린을 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물 제조>

[0079] 제조예 1에서 제조한 고세렐린 아세테이트가 포함된 실리카 복합 미립자들과 상기에서 제조한 H<sub>2</sub>O/TEOS 몰비가 400인 실리카 졸을 0.75 : 1의 비율 (w : vol)로 혼합하여 유동 형태의 조성물을 제조하였다. 복합 미립자의 농도는 0.75 g/ml였다. 그리고 나서 플라스틱 주사기 (주사바늘이 없는 1 ml TERUMO 주사기)에 직접 흡인하여 300~500 μl를 옮기고 가능한 모든 기포는 주사기를 두드려서 제거하였다. 실리카 하이드로겔 조성물을 수직 로울러 믹서에서 3일 동안 실온에서 겔화시키면서 안정하게 유지시켰다. 제조된 실리카 하이드로겔 조성물의 조성은 표 2에 나타냈다.

**표 2**

[0080]

code참조	1차 실리카 졸 (H <sub>2</sub> O/TEOS 몰비)	2차 실리카 졸		고세렐린 아세테이트 로딩 중량%	pH	분무건조기 (입구 온도)	복합미립자의 농도 (g/ml)
		(희석제 /TEOS 몰비)	희석제				
R2Gos01HG	2	92	물	5 %	5,9	120 °C	0.75
R3Gos01HG	3	100	물	5 %	5,9	120 °C	0.75
R3Gos03HG	3	100	물	3 %	3,7	120 °C	0.75
R3Gos08HG	3	100	물	5 %	5,9	90 °C	0.75
R3Gos11HG	3	100	물	5 %	5,4	120 °C	0.75
R3Gos14HG	3	100	물	5 %	5,4	80 °C	0.75

[0082] 시험예 1: 고세렐린과 실리카의 복합 미립자의 입자 크기 분포 분석

[0083] 제조예 1에서 제조된 복합 미립자 2종 (R2Gos01, R3Gos08)에 대하여 입자 크기 분포를 분석하였다.

[0084] 입자 크기 분포는 CUVETTE 분산기가 장착된 Sympatec HELOS H2370 레이저 회절기를 사용하여 결정하였다. 에탄올을 용매로 사용하는 PIL (Particles In Liquid) 방법을 사용하였다. 수 밀리그램의 샘플을 샘플 바이알에서 꺼내어 약 10 ~ 20 ml의 에탄올의 농축된 스톱 현탁액에 분산시켰다. CUVETTE 분산기 챔버를 에탄올로 채우고 자기 교반기 (1000 rpm)를 큐벳의 바닥에 두었다. 참조 기준 측정은 에탄올으로만 수행되었다. 측정 시 적합한

샘플을 스탁 현탁액으로부터 체적 피펫으로 취하고 CUVETTE 분산기로 피펫팅하여 15 ~ 25 %의 광학 농도를 수득하였다. 측정이 시작되면 샘플을 30초 동안 자동으로 초음파처리하고 측정이 시작될 때 중단한다. 20초 동안 측정이 지속되고 입자 크기 분포가 생성되었다. 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

[0085]

복합미립자	D10( $\mu\text{m}$ )	D50( $\mu\text{m}$ )	D90( $\mu\text{m}$ )
R2Gos01	3.71 $\pm$ 0.26	21.91 $\pm$ 1.86	144.39 $\pm$ 3.15
R3Gos08	1.97 $\pm$ 0.08	7.60 $\pm$ 0.82	150.77 $\pm$ 2.43

[0086]

상기 표 3에 나타난 바에 의하면, 서방형 주사용 제제로서의 유용성 측면에서, 상기 복합 미립자들의 입자 크기는 D50이 1 ~ 50  $\mu\text{m}$ 으로 25G 주사가가능성에는 바람직하다.

[0088]

시험예 2: 고세렐린 아세테이트와 실리카의 복합 미립자들의 인비트로 용출시험

[0089]

제조예 1에서 제조된 복합 미립자들의 인비트로에서 실리카 분해 시간, 초기 버스트 방출(1 시간 이내) 및 고세렐린의 용출속도를 분석하였다.

[0090]

구체적으로는 0.01% (v/v) TWEEN 80(Sigma)을 함유하는 50 mM TRIS 완충액 (pH 7.4)에 37 $^{\circ}\text{C}$  항온진탕수조 (shaking water bath)에서 60 strokes/min으로 4일 동안 진행되었다. 실리카와 고세렐린 아세테이트 농도는 in sink 조건 용출액에서 진행하였다. 용출액은 1, 12, 24, 48 및 72시간 마다 새로운 용출액으로 교체하여 실리카 농도를 30ppm 이하 (in sink 조건)으로 유지하였다. 전체 용액은 2% (w/w) NaOH에서 수행되었다. 총 실리카 함량은 2% NaOH 용액으로부터 측정하였다.

[0091]

실리카 농도는 UV / VIS 분광광도계 (spectrophotometer)로  $\lambda = 820 \text{ nm}$ 에서 몰리브덴 블루 조성물(molybdenum blue complex) 흡광도를 분석하였다.

[0092]

고세렐린의 농도는 다중파장검출기 ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )가 부착된 액체 크로마토그래피 (HPLC)으로 분석하였다. 크로마토그램은 Waters XBridge Protein BEH C4 3.5  $\mu\text{m}$ , 4.6  $\times$  20 mm HPLC 컬럼을 사용하여 분석하였다. 그 결과를 표 4 (복합 미립자들의 고세렐린 가속용출 및 실리카 분해 결과)에 나타냈다.

표 4

[0093]

복합 미립자	인비트로 실리카 분해시간	1시간이내 고세렐린 용출양 (초기버스트 방출)	인비트로 고세렐린 용출시간	인비트 고세렐린의 예상 일일 용출속도
R2Gos01	4 일	6.8 %	3 일	0.1-258 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos01	6 일	2.3 %	5 일	0.3-178 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos02	5 일	2.2 %	3 일	0.03-230 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos03	4 일	5.2 %	3 일	0.04-248 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos04	4 일	6.1 %	3 일	0.03-243 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos05	6 일	1.9 %	5 일	0.3-159 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos06	4 일	1.4 %	3 일	0.1-459 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos07	4 일	0.0 %	3 일	0.1-373 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos08	7 일	1.3 %	5 일	0.5-217 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos09	7 일	2.3 %	5 일	0.5-150 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos10	3 일	2.8 %	2 일	0.1-309 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos11	3 일	6.9 %	2 일	0.3-487 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos12	8 일	2.7 %	6 일	0.4-143 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos13	15 일	5.6 %	10 일	0.2-0.6 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos14	5 일	2.0 %	4 일	0.2-364 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos15	3 일	3.9 %	2 일	0.3-500 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos16	7 일	10.7 %	4 일	0.1-436 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos17	3 일	5.1 %	2 일	0.2-505 $\mu\text{g}/\text{d}$
R3Gos18	9 일	5.9 %	7 일	0.3-0.9 $\mu\text{g}/\text{d}$
R5Gos01	16 일	10.1 %	17 일	0.1-0.3 $\mu\text{g}/\text{d}$
R5Gos02	32 일	15.3 %	30 일	0.03 - 0.1 $\mu\text{g}/\text{d}$

- [0094] 상기 표 4에 나타난 바에 의하면, 인비트로 실리카 분해 시간은 복합 미립자의 제형에 따라 3일에서 32일까지 다양하였다.
- [0095] 초기 버스트 방출은 복합 실리카 미립자 제형에 따라 0 % ~ 15.3 %까지 다양하였다.
- [0096] 고세렐린 아세테이트와 실리카의 복합 미립자 제형에서는 1차 실리카 졸에서 물과 TEOS 몰비가 실리카 분해 및 고세렐린의 용출속도에 명확하게 영향을 주었다. 용출속도는 즉 1차 실리카 졸에서 물과 TEOS 몰비 5는 물과 TEOS 몰비 2~3 보다 더 느린데, 그 이유는 물과 TEOS 몰비가 5인 복합 미립자의 표면에 히드록시기를 더 많이 가지고 있기 때문으로 보인다. 이 결과에 따르면, 28일 제형으로는 1 차 실리카 졸에서 물과 TEOS 몰비가 3으로 기반된 고세렐린 아세테이트와 실리카의 복합 미립자 제형이 가장 바람직할 것으로 평가된다.
- [0097] 2 차 실리카 졸에서 물과 TEOS 몰비가 150인 복합 미립자는 물과 TEOS 몰비가 100인 복합 미립자와 비교하여 고세렐린의 용출속도가 감소되었다. pH의 영향은 pH가 높을수록 SiOH가 -Si-O-Si으로 축합 정도가 증가하여 실리카의 분해 속도가 느려져서 고세렐린의 용출속도가 늦어졌다. 반대로 pH가 낮을수록 용출속도가 빠른 결과가 나왔다.
- [0098] 고세렐린 아세테이트의 로딩 %는 약물 로딩 %가 높을수록 실리카 구조가 더 불균일해져서 고세렐린의 용출속도가 빠르다.
- [0099] 2차 실리카 졸을 생성하는데 사용된 희석제는 에탄올, 50% (v/v) 에탄올 또는 SiO<sub>2</sub> 포화 수용액으로 희석한 것은 물로 희석된 최종 졸보다 더 빨리 약물이 용출되었다. 물을 사용한 희석제는 졸에서 SiOH 축합 반응을 지연시켰고 약물 미립자의 수는 더 많아져 실리카 분해 및 약물 용출속도가 증가하였다.
- [0100] 분무 건조기의 입구 온도는 고세렐린의 용출속도에 영향을 미치고 있다. 증가된 온도 (120 °C)에서는 졸에서 빠르게 축합반응이 일어난다. 최적의 입구온도는 80~90°C 이다.

[0102] 시험예 3: 고세렐린 아세테이트를 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물의 인비트로 용출(용해/용출) 시험

- [0103] 제조예 2에서 제조된 실리카 하이드로겔 조성물의 인비트로 용출(용해/용출) 시험을 하였다.
- [0104] 상기 시험예 2에서와 동일한 방식으로, 0.01 % TWEEN 80이 함유된 TRIS-완충액에서 실리카 하이드로겔 조성물의 실리카 분해 시간, 초기 버스트 방출, 및 고세렐린의 용출속도를 분석하였다,
- [0105] 구체적으로는 0.01 % (v/v) TWEEN 80(Sigma)을 함유하는 50 mM TRIS 완충액 (pH 7.4)에 37 °C로 항온진탕수조 (shaking water bath)에서 60 strokes/min으로 4일 동안 진행되었다. 용출액은 일정 시간 (1, 12, 24, 48 및 72시간)마다 새로운 용출액으로 교체하여 실리카 농도를 30ppm 이하 (in sink 조건)으로 유지하였다. 전체 용액은 2% (w/w) NaOH에서 수행되었다. 총 실리카 함량은 2% NaOH 용액으로부터 측정되었다.
- [0106] 실리카 농도는 UV / VIS 분광광도계 (spectrophotometer)로 λ = 820 nm에서 몰리브덴 블루 조성물(molybdenum blue complex) 흡광도를 분석하였다.
- [0107] 고세렐린 농도는 다중과장검출기 (λ = 220 nm)가 부착된 액체 크로마토그래피 (HPLC)으로 분석하였다. 크로마토그램은 Waters XBridge Protein BEH C4 3.5 μm, 4.6 × 20 mm HPLC 컬럼을 사용하여 분석하였고, 그 결과를 표 5(고세렐린 아세테이트가 포함된 하이드로겔 조성물들의 가속용출 결과)에 나타내었다. 인비보 고세렐린의 일일 용출속도는 누적용출로부터 계산되어 추정되었다.

**표 5**

제형 code	인비트로 실리카 매트릭스 분해시간	1시간이내 고세렐린 용출양 (초기 버스트 방출)	인비트로 고세렐린 용출시간	인비보 고세렐린의 예상 일일 용출속도
R2Gos01HG	3 일	4.9 %	2 일	0.01-458 μg/d
R3Gos01HG	6 일	6.6 %	3 일	0.1 - 248 μg/d
R3Gos03HG	4 일	0.0 %	4 일	0.09 - 312 μg/d
R3Gos08HG	6 일	1.1 %	5 일	0.5-155 μg/d
R3Gos11HG	4 일	1.2 %	3 일	0.1-403 μg/d

R3Gos14HG	6 일	0.9 %	4 일	0.4-286 $\mu\text{g}/\text{d}$
-----------	-----	-------	-----	--------------------------------

- [0109] 표 5에서 실리카 분해시간과 고세렐린 용출시간은 실리카로부터의 방출에 대한 통상의 인비트로-인비보 상관 계수가 피하, 근육내 및 복강내 투여에서 약 10인 것으로 관찰되었기 때문에(Kortesuo P, Ahola M, Karlsson S, Kangasniemi I, Yli-Urpo A 및 Kiesvaara J, Biomaterials, 21, 2000, pp. 193-198) 생체내에서는 X10 (10 배)으로 예측된다.
- [0110] 실리카 하이드로겔 조성물의 인비트로 고세렐린 용출 시간은 2 ~ 5일로 인비보에서는 20 ~ 50일로 예측된다.
- [0111] 실리카 하이드로겔 조성물의 인비트로 실리카 분해는 in sink 조건에서 3 일에서 6일 사이로 나타났다. 실리카 하이드로겔 조성물의 제형 중에서 R2Gos01HG 및 R3Gos01HG를 제외하고 모든 제형에서 초기 버스트 방출이 방지 되어 용출은 1시간의 시점에서 고세렐린 용출량은 0.0 ~ 1.2 % 범위였다.
- [0112] 상기 표 5에 나타난 6종의 실리카 하이드로겔 조성물의 제형에 대하여 인비트로 용출률(속도)를 3.6 mg 고세렐린 주입 기준으로 계산하여 선형 추세선 그래프를 산출하여 도 2에 나타났다. 그래프에서 최대 4일로 나타내어 그 시간에 완전히 분해되지 않은 제형들은 1 ~ 5일간의 선형 추세선을 사용하여 용출 데이터로부터 외삽 처리하였다.
- [0113] 도 2에 의하면 R3Gos08HG 제형의 경우 인비트로 가속용출시험에서 약 5 일 이내에 100%에 도달하며 이것은 인비트로-인비보 상관 계수를 감안하여 인비보 고세렐린의 예상 일일 용출속도는 0.5 ~ 155  $\mu\text{g}/\text{d}$  으로 가장 좋은 결과를 보인다.
- [0115] 시험예 4: 실리카 하이드로겔 조성물 제형(R3Gos08HG)의 인비트로 용출시험
- [0116] 본 발명에 따른 실리카 하이드로겔 조성물의 일례인 R3Gos08HG 제형의 7일간 인비트로 실리카 분해 및 고세렐린 아세테이트의 용출 시험을 수행하여 그 결과를 도 3에 나타났다.
- [0117] 용출 시험을 in sink 조건에서 7일 동안 실시하여 제형이 완전히 분해되도록 하였다. 그 외 조건은 상기 시험예 3과 동일하게 수행하였다.
- [0118] 도 3에 나타난 바와 같이, 완전히 분해시간은 약 5일이었다. 고세렐린 아세테이트의 용출은 실리카 하이드로겔의 매트릭스 분해에 의해 완전히 제어되었고 초기 버스트 방출(initial burst)는 관찰되지 않았다.
- [0119] 고세렐린의 용출은 3 ~ 4일 동안 0.129 mg/day 이상으로 유지되었는데, 이는 인비보에서 30 ~ 40일 (피하 조직의 졸-겔 유도 실리카에 대한 인비트로-인비보 상관 계수 10으로부터 추정됨)에 상응하는 일일 용출율로 추정된다. 따라서 28일에 1회 투여되는 서방형 제형으로서 충분히 적합함을 알 수 있다.
- [0121] 시험예 5: 실리카 하이드로겔 조성물의 유동성(Rheology) 및 주입성(Injectability) 시험
- [0122] <유동성>
- [0123] 실리카 하이드로겔 조성물의 점성은 플레이트의 갭을 0.2mm로 고정하고 25 °C로 설정한 후 전단 속도(전단율)을 1000 내지 7000 1/s 범위의 조건에서 측정하였으며, 이를 도 4에 나타내었다.
- [0124] 또한, 실리카 하이드로겔 조성물의 저장탄성계수와 손실탄성계수의 비로부터 얻어지는 손실 계수는 플레이트의 갭을 0.4mm로 고정하고 0.01 내지 10 Hz의 진동 주파수 범위 내에서 측정하였으며, 이를 도 5에 나타내었다.
- [0125] 도 4에 나타난 바와 같이, 1000 내지 7000 1/s 범위의 전단 속도에서 점성 측정 결과 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물 제형은 유사가소성의 특성을 가져 일정 수준의 전단 응력이 주어졌을 때 점도가 급격히 낮아져 높은 유동성을 가지는 액체와 같은 형상을 가지게 되므로 주사기에 충전 되었을 경우 주입 가능한 특성을 가질 수 있으며, 도 5에 나타난 바와 같이 tan  $\delta$  값이 0.01 내지 1의 범위의 진동 주파수 조건에서 손실탄성계수와 저장탄성계수의 비가 1보다 낮은 값을 가져 저장탄성계수가 높은 겔의 특성을 갖는 것을 확인할 수 있다. 따라서, 두 결과를 종합하였을 때, 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 주입 가능한 겔의 특성을 가질 수 있다.
- [0126] <주입성>
- [0127] 주입성(주사가능성)은 제조예 2에서 제조된 실리카 하이드로겔 조성물 3종 제형 (R2Gos01HG, R3Gos08HG,

R3Gos11HG)에 대하여 수행하였다.

[0128] 구체적으로는 각각의 실리카 하이드로겔 조성물을 플라스틱 1 ml 루어 잠금 주사기 (주사바늘이 없는 1ml TERUMO SYRINGE)에 옮긴 후, 25G 주사바늘에서 300 ~ 450  $\mu$ l씩 주입하여 주사가능성을 시험하였고, 그 결과는 표 6에 나타냈다.

표 6

참조 코드	주입성 (주사바늘 25 G)
R2Gos01HG	주입가능
R3Gos08HG	주입가능
R3Gos11HG	주입가능

[0130] 상기 표에 나타난 바와 같이, 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 모두 25G의 얇은 바늘로 주사 가능하였다.

[0132] 시험예 6: 고세렐린 아세테이트를 포함하는 실리카 하이드로겔 조성물의 생체내 용출 분석

[0133] 본 발명에 따른 실리카 하이드로겔 조성물 제형의 일례인 R3Gos08HG를 사용하여 생체내(in vivo) 용출 시험을 수행하였다. 비교를 위하여 시판중인 졸라텍스 (Zoladex) 임플란트 (고세렐린 아세테이트 3.78mg)를 대조물질로 동일한 시험을 수행하였다.

[0134] 구체적으로는 Sprague Dawlery 랫트(체중 250g의 수컷)을 시험 동물로 사용 하여 5마리씩 2 그룹으로 나누었다. 그룹 1의 랫트에는 본 발명에 따른 실리카 하이드로겔 조성물 (0.945 mg 고세렐린 아세테이트 함유) 0.126ml을 등 하부에 25G 주사바늘을 사용하여 주사하였다. 그룹 2의 랫트에는 졸라텍스 (Zoladex) 임플란트를 등 하부에 무균 금속 트로카 (0.945 mg 고세렐린 아세테이트 함유)을 사용하여 투여하였고 주사 부위는 봉합사로 봉합 처리하였다.

[0135] 랫트에서 혈액 샘플링 (수집 부위는 쇄골하정맥) 시점은 0, 0.02, 0.04, 0.25, 1, 2, 4, 7, 9, 10, 11, 13, 15, 18, 21, 24, 28 및 35일(18 points)이었으며, 혈장 양은 0.050 ml였고 샘플 준비 방법은 고체상 추출법 (SPE, Solid-phase extraction)을 이용하였다.

[0136] 약동학 (Pharmacokinetic) 및 약물역학 (Pharmacodynamic)적 분석을 위해 각 샘플링 시점에서의 고세렐린 및 테스토스테론 분석은 UPLC (waters acquity)와 Triple Quad 5500 LC/MS/MS (AB/SCIEX)를 이용하여 랫트 혈장에서 다중반응모니터링(MRM) 모드로 분석하였고 주요 LC/MS/MS 분석 조건은 표 7 에 나타내었다. 분석 시 시험물질의 최소정량한계 (LLOQ)는 0.1 ng/ml 이었다.

표 7

LC method	
LC model	Waters Acquity UPLC
Column	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm
Buffer A	0.1% Formic acid
Buffer B	Acetonitrile/0.1% Formic acid
Weak Wash Solvent	50% MeOH
Strong Wash Solvent	MeOH
Column Temp	40 °C
Injection Vol.	10 μL
Autosampler Temp.	7 °C

LC Gradient				
Time (min)	Flow rate (μL/min)	%A	%B	Curve
0.0	400	90	10	
0.5	400	90	10	6
3.0	400	0	100	6
3.5	400	0	100	6
3.5	400	90	10	6
5.0	400	90	0	6

Analyst	Goserelin	Alarelin	Testosterone	Testosterone-d3
<b>Mass-spectrometry</b>				
MS Type	Triple Quadrupole			
Model	Triple Quad 5500			
Manufacturer	AB/Sciex			
<b>MS Method</b>				
Ion source	ESI			
Source type	Turbo Spray			
Curtain Gas (CUR)	40			
Collision Gas (CAD)	9			
Ion Spray Volt (IS)	5500 V			
Temperature (TEM)	600 °C			
Ion Source Gas 1 (GS1)	50			
Ion Source Gas 2 (GS2)	60			
<b>MRM parameters</b>	635.4 > 607.5	584.5 > 249.1	289.3 > 97.0	292.3 > 97.0
Dwell time (msec)	50	50	50	50
DP	40	40	87	81
CE	30	30	26	19
EP	10	10	10	10
CXP	11	11	11	11

[0137]

[0138]

테스토스테론 데이터 분석은 테스토스테론-d3를 검량 (calibration)에 사용하여 테스토스테론 대비 테스토스테론-d3의 피크비를 반응계수 (response factor, RF)로 사용하였는데 참조문헌(Zhang et al. Journal of Chromatography B, 2014, 965, pp.183-189)상 수치인 RF = 1를 사용하였고 약동학 파라미터를 구하기 위해 Phoenix WinNonlin Software (Pharsight, ver. 7.0)을 사용하여 비-분할분석 (non-compartmental analysis)으로 계산하였다. 그 결과 (혈장 농도 대 시간 프로파일)를 각각 도 6 및 도 7에 나타내었다.

[0139]

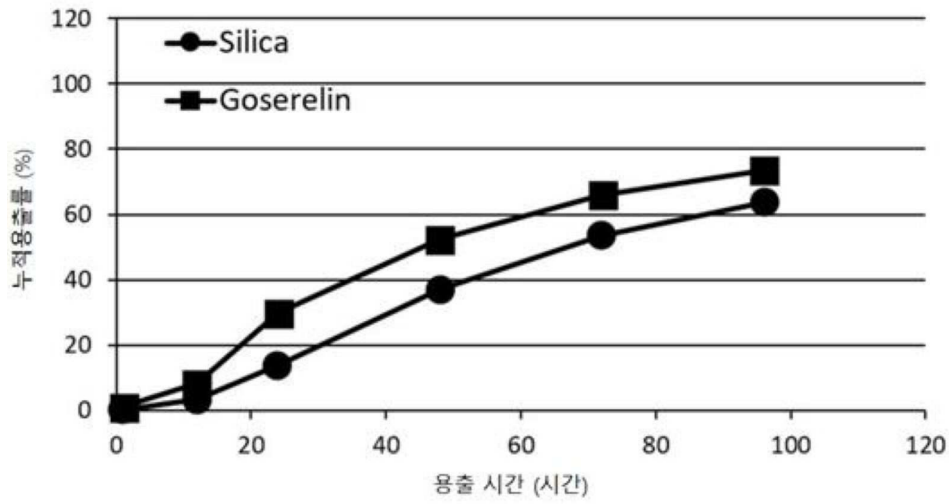
도 6에 나타낸 바에 의하면, 본 발명에 따른 실리카 하이드로겔 조성물 제형 R3Gos08HG은 대조물질인 졸라텍스 임플란트에 대응하게 35일 동안 고세렐린 혈장 농도를 유지하였다. 다만 혈장 내 고세렐린 농도의 변화(Cmax 및 Tmax)는 달랐는데, 본 발명의 R3Gos08HG 제형은 고세렐린 아세테이트 농도 대 시간 프로파일은 6 시간에 (Tmax)에서 발생하여 높은 피크 농도 38.6 ng/ml를 나타내었고, 대조물질인 졸라텍스 임플란트는 240 시간 때(Tmax)에서 두 번째 피크를 보여 19.1 ng/ml의 높은 피크 농도를 나타냈다. 이는 제형이 서로 다르기 때문이다.

[0140]

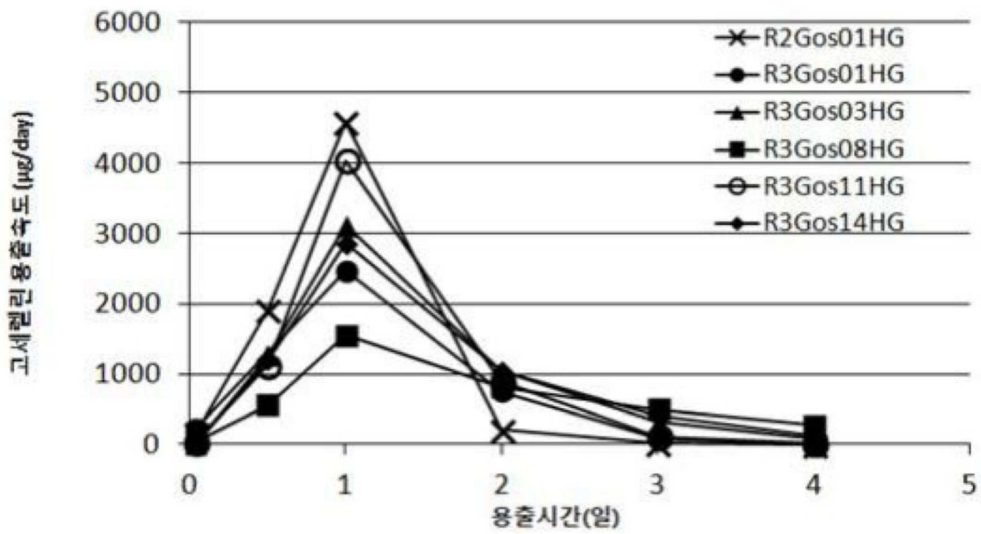
도 7에 나타낸 바에 의하면, 본 발명에 따른 실리카 하이드로겔 조성물 제형 R3Gos08HG은 대조물질인 졸라텍스 임플란트에 대응하게 35일 동안 혈장내 테스토스테론 수치가 명백하게 감소되어 유지되었음이 확인된다. 따라서 본 발명의 실리카 하이드로겔 조성물은 환자의 투약 편리성이 개선되면서도 혈중에서 장기간 고세렐린 을 유효 농도를 유지하여 전립선암의 치료에서 유효한 지효성과 서방성을 갖춘 제형임을 알 수 있다.

도면

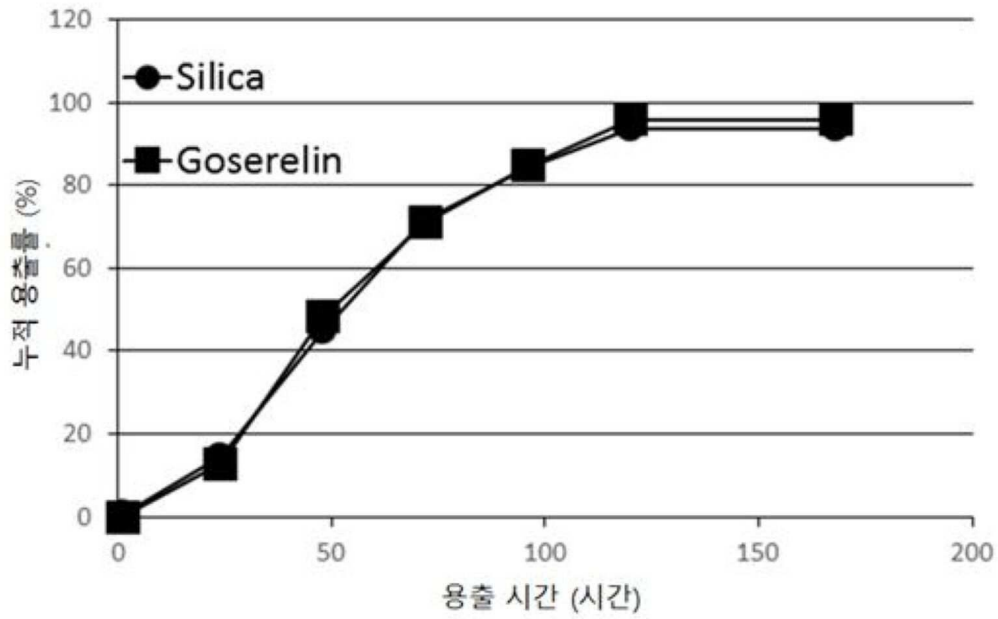
도면1



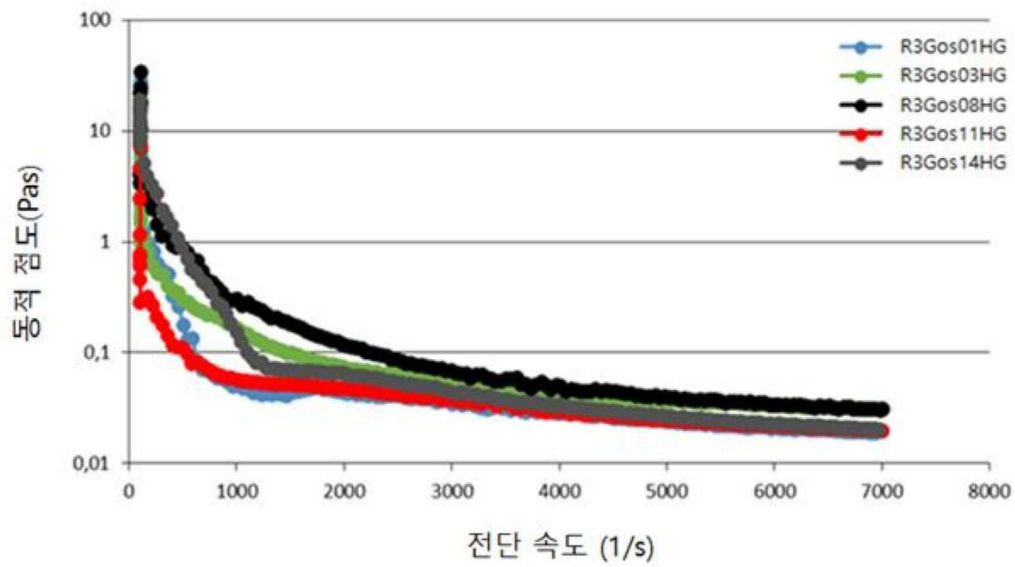
도면2



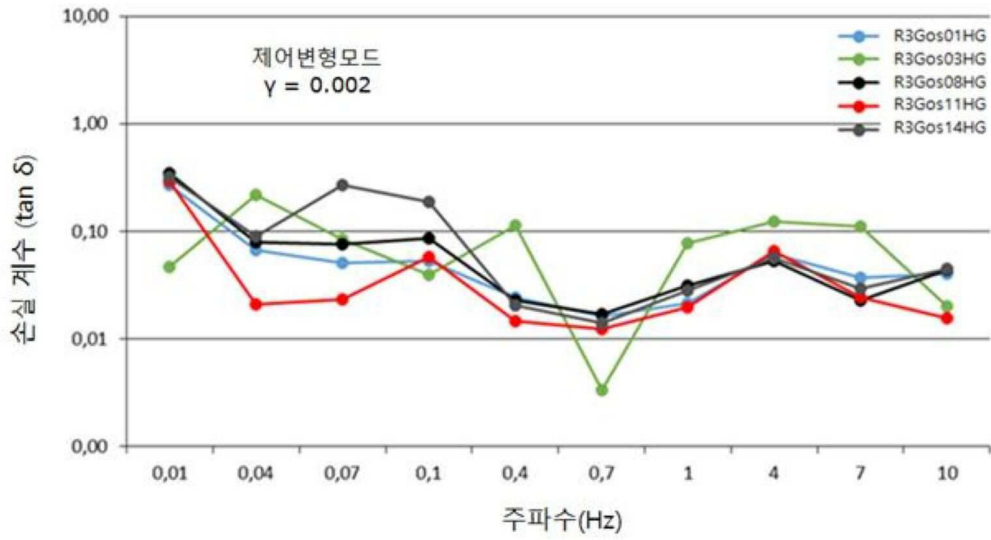
도면3



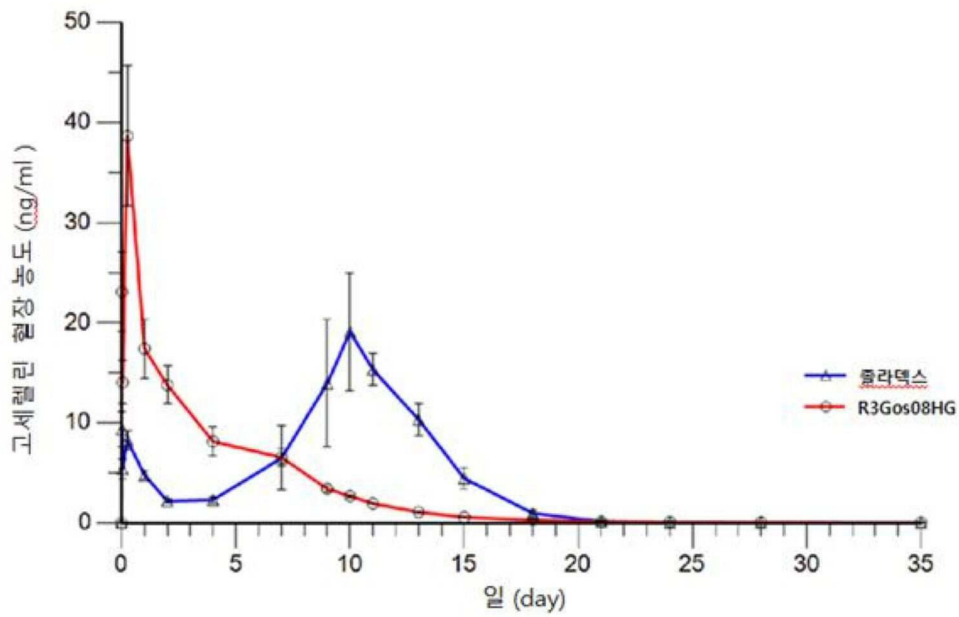
도면4



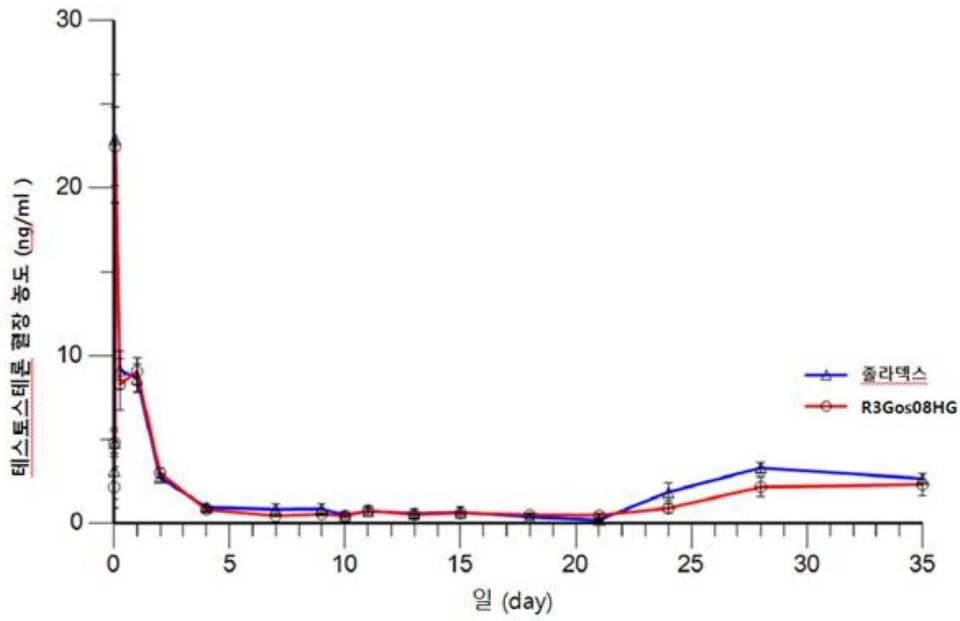
도면5



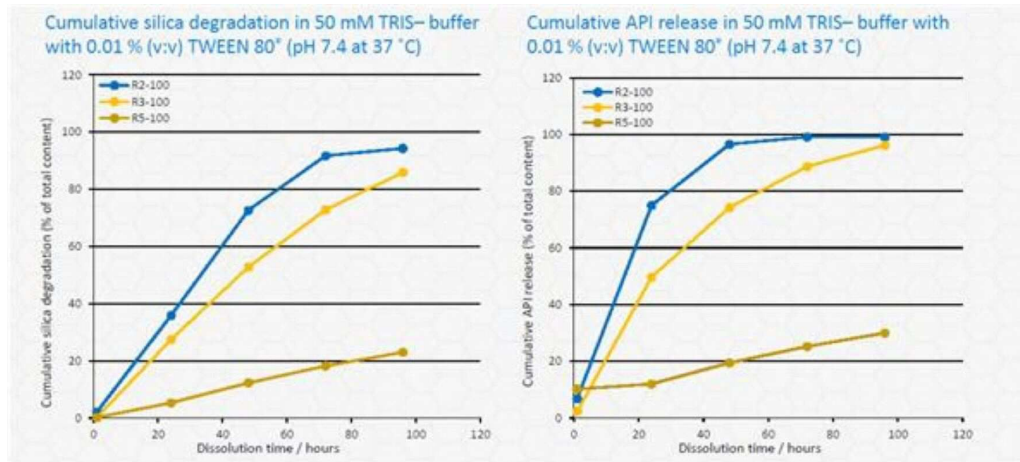
도면6



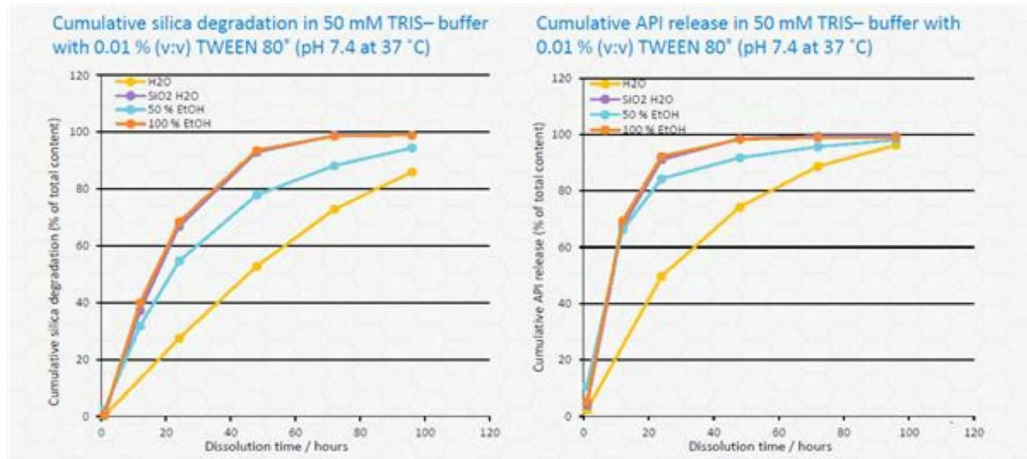
도면7



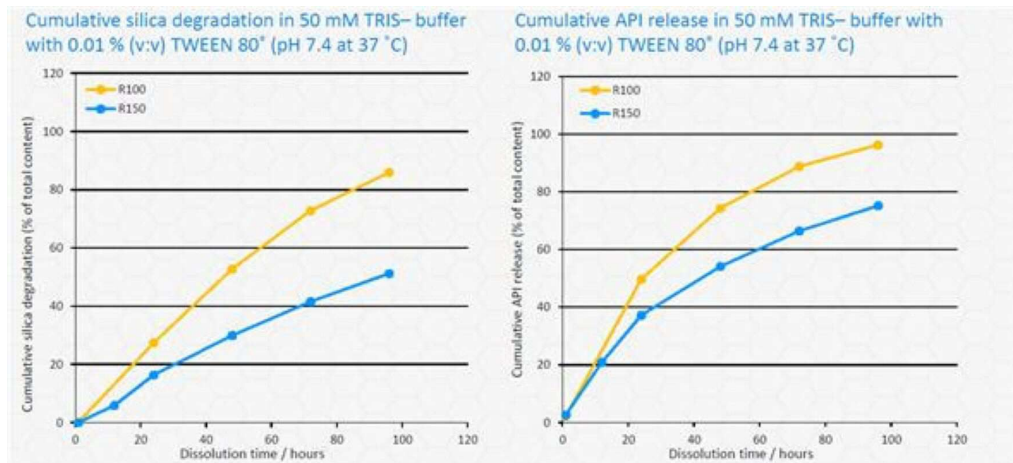
도면8a



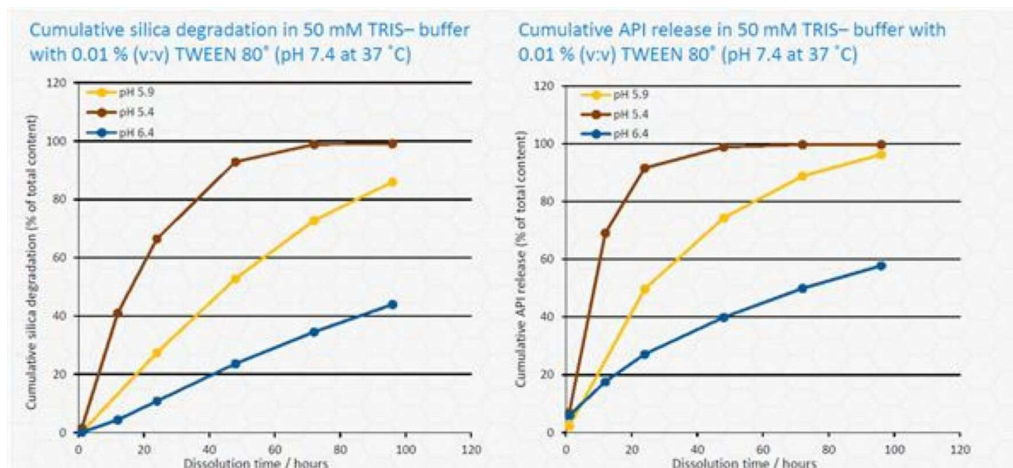
도면8b



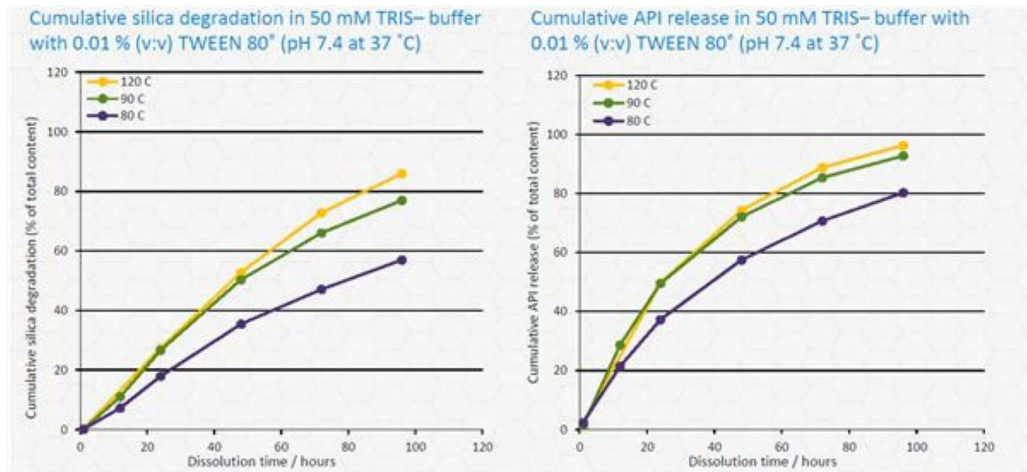
도면8c



도면8d



도면8e



도면8f

