(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014 년 7 월 3 일 (03.07.2014)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2014/104822 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 9/16 (2006.01) *A61K 47/30* (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2013/012322

(22) 국제출원일: 2013 년 12 월 27 일 (27.12.2013)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2012-0155012 2012 년 12 월 27 일 (27.12.2012) KR

(71) 출원인: **이화여자대학교 산학협력단 (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 120-750 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR).

(72) 발명자: **사홍기 (SAH, Hong-kee)**; 120-090 서울시 서대문구 홍제동 현대그린아파트 201-102, Seoul (KR). **강주경 (KANG, Ju-kyung)**; 134-796 서울시 강동구 상일동 주공 6 단지아파트 623 동 503 호, Seoul (KR).

(74) 대리인: **유미특허법인 (YOU ME PATENT AND LAW FIRM)**; 135-912 서울시 강남구 테헤란로 115 서림빌딩, Seoul (KR).

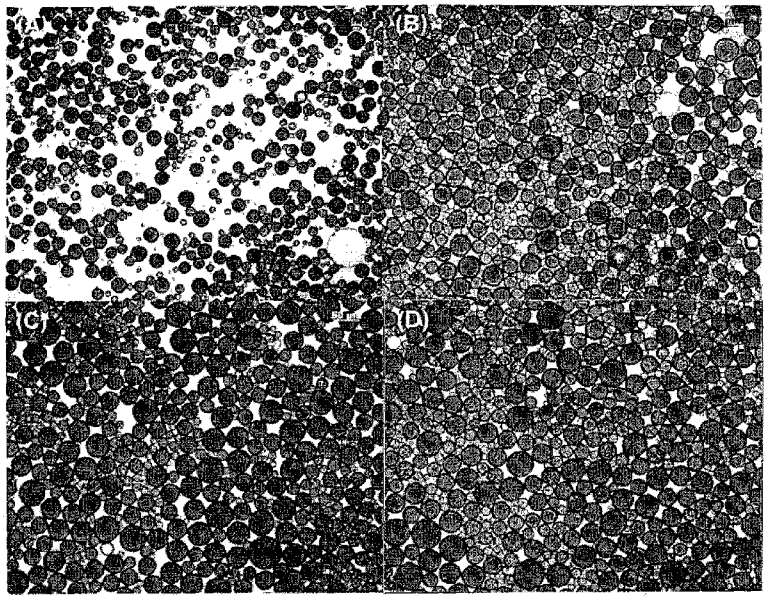
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) **Title**: METHOD FOR PRODUCING MICROSPHERES USING METHYL PROPIONATE

(54) **발명의 명칭** : 메틸 프로피오네이트를 이용한 미립자의 제조방법



(57) **Abstract**: The present invention relates to a method for producing biodegradable microspheres using methyl propionate as a dispersion solvent. The methyl propionate used in the present invention is a non-halogenated organic solvent, and is classified as a flavoring additive for food, and therefore can be used in the production of microspheres that are safe to the human body in a pharmaceutical industry or the like. The methyl propionate used in the present invention exhibits effects that are at least the same as or higher than those of ethyl acetate in terms of microsphere particle size, particle size distribution, shape, drug content, and residual organic solvent. Accordingly, the method of the present invention is anticipated to replace conventional methods for producing microspheres using methylene chloride or ethyl acetate.

(57) **요약서**: 본 발명은 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하는 생분해성 미립자의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 사용되는 메틸 프로피오네이트는 비할로겐 유기용매이며, 식품에 사용되는 착향제 첨가물로 분류되어 있어 제약산업계 등에서 인체에 안전한 미립자 제조에 사용될 수 있고, 미립자 입자 크기, 입도분포, 형상, 약물함유율 및 잔류유기용매 측면에서 에틸 아세테이트와 최소한 상응하거나 높은 효과를 보이고 있고, 따라서, 메틸 종래의 메틸렌 클로라이드 또는 에틸 아세테이트를 사용한 미립자 제조방법을 대체할 것으로 기대된다.

WO 2014/104822 A1

【명세서】

【발명의 명칭】

메틸 프로피오네이트를 이용한 미립자의 제조방법

【기술분야】

본 발명은 고분자 미립자의 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하는 고분자 미립자를 제조하는 방법에 관한 것이다.

【배경기술】

체내에서 분해되거나 분해되지 않는 고분자로 만들어진 미립자(microspheres)는 다양한 용도로 활용되어 왔다. 예를 들면 제약산업계에서는 약물방출 서방화, 약물방출 양상의 조절, 특정 부위로의 타게팅(표적지향), 약물생체이용률 증가, 또는 환자 순응성 향상 등을 달성하는데 미립자를 사용하여 왔다. 그 예로 황체 형성 호르몬 방출호르몬(루프로라이드 또는 LHRH)을 함유하는 생분해성 마이크로스피어인 루프론 데포(Lupron Depot)가 있다. 루프로라이드는 호르몬 의존성 암, 특히 전립선암 및 성조숙증 치료에 사용된다.

미립자들은 직경이 대략 1 내지 1000 마이크론인 입자이다. 주입을 위해서는 미립자들은 125 마이크론 이하인 것이 바람직하다. 이 크기의 미립자들은 외과적으로 이식되는 대신에 표준 피하주사 바늘로 주입될 수 있다.

미립자의 일 유형은, 약물을 포착하는 생분해성 고분자 네트워크로 구성된다. 상기 고분자가 체내에서 생분해됨에 따라 약물이 방출된다. 가장 흔히 사용되는 생분해성 고분자는 폴리락트산, 락트산 및 글리콜산의 공중합체이며, 특히 세계 각국의 식품의약품안전청과 같은 의약품 규제행정기관은 폴리에스테르에 속하는 폴리락트산(PLA), 폴리(락트산-중합-글리콜산)(PLGA)는 인체에 사용할 수 있는 안전한 고분자 소재로 허가해주고 있다. 예를 들면, 현재 시판되고 있는 리스페달콘스타(Risperdal Consta), 비비트롤(Vivitrol),

산도스타린라르(Sandostatin LAR) 및 루프론 데포(Lupron Depot) 등은 모두 PLGA로 제조한 미립자 제품들이다.

생분해성 미립자 제조방법은 상 분리법(phase separation), 분무건조법(spray drying), 용매 증발법(solvent evaporation), 용매추출법(solvent extraction) 등이 있으며, 주로 용매 증발법(solvent evaporation) 또는 용매추출법(solvent extraction)이 사용되며, 유제방울에 존재하는 유기용매를 수상으로 제거하는 원동력이 증발인지 추출인지에 따라 용매증발법 또는 용매추출법을 명명된다.

하기 표 1에서는 미립자 제조를 위해 사용한 분산용매를 기술하고 있는 미국 특허들의 예시이다.

【표 1】

US Patent No.	유기 용매
5,019,400; 5,407,609	methylene chloride
5,622,657	methylene chloride, acetone, acetonitrile, chloroform
5,648,905	methylene chloride, perfluorohexane, perfluoromethylcyclohexane, perfluorodimethylcyclohexane
5,648,096	ethyl acetate, ethyl formate, isopropyl acetate
5,650,173	benzyl alcohol, ethyl acetate
5,723,269	methylene chloride, acetonitrile, ethanol
5,792,477; 5,916,598	benzyl alcohol, ethyl acetate
6,020,004	chloroform, ethyl acetate, methylene chloride, acetonitrile, tetrahydrofuran, acetone
6,270,700	methylene chloride, chloroform, ethyl acetate
6,308,434	chloroform, dichloromethane, dimethylformamide, ethanol
6,440,493	ethyl acetate, dichloromethane, ethyl formate, acetone, chloroform, methanol, ethanol
6,534,092	ethyl acetate, benzyl alcohol
6,572,894	methylene chloride, ethyl acetate, isopropyl acetate,

	propyl formate
6,596,316	ethyl acetate, benzyl alcohol
6,599,627	acetic acid, ethyl acetate, methyl acetate and ethyl formate
6,663,899	methylene chloride, ethyl acetate
6,720,008	ethyl acetate, benzyl alcohol, propylene carbonate
6,767,637	acetic acid, ethyl acetate, methyl acetate, ethyl formate
6,777,002; 6,884,372	ethyl acetate, benzyl alcohol
6,899,898	ethanol, acetone, methylene chloride, ethyl acetate, propyl acetate, isopropyl acetate, butyl acetate, methyl formate, ethyl formate, propyl formate, isopropyl formate, butyl formate, triacetin, triethyl citrate, methyl lactate, ethyl lactate
7,011,776; 7,875,310	methylene chloride, chloroform, ethyl acetate
7,247,319	benzyl alcohol, ethyl acetate
7,252,842; 7,510,842	ethyl acetate
7,758,778	methanol, ethanol, methylene chloride, chloroform, ethyl acetate, acetone
7,838,037	ethyl acetate
7,923,034	methylene chloride, benzyl alcohol, phenylethyl alcohol

상기 표 1에서는 다양한 종류의 유기용매가 분산상 제조를 위한 용매로 사용되고 있음을 보여준다. 그 중에서 가장 빈번하게 사용되고 있는 것은 메틸렌 클로라이드와 에틸 아세테이트이다.

메틸렌 클로라이드가 주로 이용되는 이유는 미립자를 형성하는 소수성 고분자 소재를 녹이는 능력이 탁월하고, 물과 섞이지 않아 유제를 쉽게 만들 수 있으며, 또한 낮은 융점(약 40℃)를 지녀 미립자 제조 도중 및 제조 후 용매 제거가 쉽기 때문이다. 하지만 할로겐 유기용매인 메틸렌

클로라이드는 인체 암 유발 물질(carcinogen)로 알려져 있으며, 대기 중의 오존층을 파괴하는 환경 위해물질에 속한다. 또한 메틸렌 클로라이드는 2007년 Agency for Toxic Substances and Disease Registry에서 명시한 CERCLA Priority List of Hazardous Substances에 해당하는 총 275종의 위해물질 중 80번째로 명시되어 있다. 그러므로 산업체 및 환경규제 행정기관에서는 메틸렌 클로라이드 사용을 엄격히 통제하고 있으며, 의약품 제품에 잔류하는 메틸렌 클로라이드에 대해 엄격히 규제하며 이로 인해 제약산업체에서는 미립자와 같은 인체 투여 주사제형 개발 시 메틸렌 클로라이드 사용을 극도로 피하는 편이다.

메틸렌 클로라이드를 대체할 수 있는 비할로겐 유기용매에 대해 지속적인 개발연구가 진행되었고, 이러한 노력 끝에 에틸 아세테이트가 유기용매로 각광받게 되었다. 실제로 리스페달콘스타(Risperdal Consta)와 같은 미립자 제품은 에틸 아세테이트를 분산용매로 사용한 방법에 따라 제조된다. 하지만 미립자 제조방법 측면에서 고려할 때 에틸 아세테이트는 완벽한 유기용매가 아니다. 예를 들면, 아래와 같은 여러 가지 단점들을 지니고 있다.

1) 모든 PLGA 고분자를 녹이지 못한다. 특히 lactide:glycolide 몰비가 50:50인 PLGA는 에틸 아세테이트에 잘 녹지 않는다.

2) 소수성 약물의 에틸 아세테이트에 대한 용해성이 낮은 경우가 많다. 예를 들면 리스페리돈(risperidone)은 에틸 아세테이트에 대한 용해성이 낮기 때문에, 용해성을 높이기 위하여 벤질 알코올과 같은 공용매를 사용하여 미립자를 제조한다.

3) 메틸렌 클로라이드의 물 용해성은 1.32%인 반면, 에틸 아세테이트의 물 용해성은 8%이다. 따라서 비교적 높은 물 용해성으로 인하여 초기 유제 형성 시점에서 여러 가지 문제점들이 수반된다. 예를 들면, 에틸 아세테이트와 미립자 형성 고분자 소재로 구성된 분산상을 수상에 유화시킬 때, 분산상 일부는 유제방울이 아닌 고분자 침전물로 변하여 미립자 수득률이 떨어지곤 한다. 이러한 현상은 분산상을 수상에 유화시킬 때 높은 물 용해성을 지닌 에틸 아세테이트가 바로 수상으로 확산되어짐에 따라 발생하는 것이다. 이러한 문제를 해결하기 위해 분산상과 수상의 용적

비(ratio)를 최적화하거나, 적절한 유화기의 선택, 또는 유화 과정 이전에 에틸 아세테이트로 수상을 미리 포화시키는 과정이 필요하다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

따라서 에틸 아세테이트를 사용하는 미립자 제조방법이 지니는 단점이나 한계점을 극복할 수 있는 새로운 미립자 제조방법의 필요성이 대두되어 왔다.

【기술적 해결방법】

본 발명의 목적은 미립자 입자크기, 입도분포, 형상, 약물함유율 및 잔류유기용매 측면에서 에틸 아세테이트와 최소한 상응하거나 높은 효과를 보이면서 인체에 투여할 수 있는 안전한 미립자를 제공하기 위하여 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하는 미립자의 제조방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 다른 목적은 상기 방법에 의해 제조된 미립자를 제공하는 것이다.

그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 국한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

【유리한 효과】

본 발명인 미립자 제조방법에서의 메틸 프로피오네이트는 메틸렌 클로라이드와 달리 비할로겐 유기용매에 속할 뿐만 아니라 현재 미국 식품의약품안전청, 유럽의 규제행정기관, 및 세계보건기구 등에서 식품에 사용할 수 있는 안전한 착향제 첨가물로 분류되어 있어 제약산업계 등에서 인체에 투여할 수 있는 미립자 제조에 안전하게 사용할 수 있는 장점이 있다.

또한 현재 미립자 제조에 주로 사용되는 에틸 아세테이트와 비교하였을 때 메틸 프로피오네이트는 미립자 입자 크기, 입도분포, 형상,

약물함유율 및 잔류유기용매 측면에서 에틸 아세테이트와 최소한 상응하거나 높은 효과를 보이고 있어, 메틸 프로피오네이트를 사용한 미립자 제조방법은 종래의 메틸렌 클로라이드 또는 에틸 아세테이트를 사용한 미립자 제조방법을 대체할 것이다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 일실시예에 따라 용매증발법(A) 및 용매추출법(B)으로 제조된 미립자 현탁액의 광학현미경 사진을 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일실시예에 따라 용매증발법(A) 및 용매추출법(B)으로 제조된 미립자 현탁액의 입도분포 측정 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따라 용매증발법(A) 및 용매추출법(B)으로 제조된 미립자의 SEM 사진을 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따라 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하여 용매증발-추출 혼성법으로 제조된 미립자의 입도분포를 나타낸 것이다.

도 5는 종래에 사용된 에틸 아세테이트로 사용하여 용매증발-추출 혼성법으로 제조된 미립자의 입도분포를 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따라 메틸 프로피오네이트를 사용하여 제조된 미립자의 SEM 사진을 나타낸 것이다(교반 시간 A: 2시간, B: 5시간).

도 7은 종래에 사용된 에틸 아세테이트로 제조된 미립자의 SEM 사진을 나타낸 것이다(교반 시간 A: 2시간, B: 5시간).

도 8은 본 발명의 일실시예에 따라 메틸 프로피오네이트를 사용하여 제조된 에틸 셀룰로스 미립자의 광학현미경 사진을 나타낸 것이다.

도 9는 종래에 사용된 에틸 아세테이트로 용매증발-추출 혼성법법에 따라 제조한 미립자 현탁액의 광학현미경 사진을 나타낸 것이다(폴리비닐 알코올 수용액 A: 20ml, B: 40ml, C: 60ml, D: 80ml).

도 10은 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 하여 용매증발-추출 혼성법에 따라 제조한 미립자 현탁액의 광학현미경 사진을 나타낸

것이다(폴리비닐 알코올 수용액 A: 20ml, B: 40ml, C: 60ml, D: 80ml).

도 11은 용매증발-추출 혼성법으로 제조한 프로게스테론 함유 미립자의 SEM 사진을 나타낸 것이다(A: 에틸 아세테이트, B: 메틸 프로피오네이트).

도 12은 용매증발-추출 혼성법으로 제조한 프로게스테론 함유 미립자의 약물함유율(%)을 나타낸 것이다.

도 13은 염기촉매 가수분해에 따른 메틸 프로피오네이트 수상 농도의 경시적 변화를 보여주는 크로마토그램을 나타낸 것이다.

도 14은 열질량분석기를 사용한 용매증발-추출 혼성법으로 제조한 프로게스테론 함유 미립자의 잔류용매 결과를 나타낸 것이다(a,b: 에틸 아세테이트, c,d:메틸 프로피오네이트/ a,c: 교반(재분산)시간 2시간, b,d: 교반(재분산)시간 5시간)

도 15은 검화반응법을 사용한 용매증발-추출 혼성법으로 제조한 프로게스테론 함유 미립자의 잔류용매 결과를 나타낸 것이다(a,b: 에틸 아세테이트, c,d:메틸 프로피오네이트/ a,c: 교반(재분산)시간 2시간, b,d: 교반(재분산)시간 5시간).

도 16은 본 발명의 일실시예에 따라 메틸 프로피오네이트를 사용하여 제조된 에치닐 에스트라다이올을 함유한 미립자의 전자현미경 사진을 나타낸 것이다.

도 17은 본 발명의 일실시예에 따라 메틸 프로피오네이트를 사용하여 제조된 메스트라놀을 함유한 미립자의 전자현미경 사진을 나타낸 것이다.

도 18은 본 발명의 일실시예에 따라 염기촉매 가수분해 반응(검화반응법)으로 제조한 메스트라놀 함유 미립자의 전자현미경 사진을 나타낸 것이다.

【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

상기의 목적을 해결하고자, 본 발명은 고분자 화합물과 용매로서 메틸 프로피오네이트(methyl propionate)를 이용하여 고분자 미립자를 제조하는 방법을 제공한다.

바람직하게는, 상기 미립자 제조방법은 고분자 화합물을 메틸

프로피오네이트(methyl propionate)에 용해 또는 분산시켜 분산상을 형성하는 단계; 상기 분산상에 수상을 첨가하여 유제를 형성하는 단계; 및 상기 유제를 미립자로 전환시키는 단계를 포함할 수 있다.

또한 상기 메틸 프로피오네이트(methyl propionate) 용매를 이용한 미립자 제조방법으로 제조된 미립자를 제공한다.

본 발명자들은 미립자 입자크기, 입도분포, 형상, 약물함유율 및 잔류유기용매 측면에서 에틸 아세테이트와 최소한 상응하거나 높은 효과를 보이면서 인체에 투여할 수 있는 안전한 미립자를 제공하기 위하여 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하는 미립자의 제조방법을 완성하게 되었다.

본 발명에 따른 고분자 미립자의 제조방법은 비할로겐 유기용매인 메틸 프로피오네이트를 사용하므로 할로겐 유기용매인 메틸렌 클로라이드에 비해 훨씬 뛰어난 안전성을 가지고 있다. 현재 메틸 프로피오네이트는 유럽 규제당국과 미국 식품의약품안전청에서 공식적으로 식품에 사용 가능한 안전한 착향제(flavoring agent)로 분류되어 있고, 식품첨가물의 안전성을 다루는 FAO/WHO 전문위원회(the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) 역시 메틸 프로피오네이트를 착향제로 인정하고 있어 산업체에서의 안전성과 규제당국의 제품허가 측면에서 메틸 프로피오네이트 사용이 훨씬 바람직한 장점이 있다.

메틸 프로피오네이트는 인체 내에서 가수분해되어 메탄올과 프로피온산으로 변화된다. 극소량의 메탄올은 인체에 무해하며, 프로피온산은 인체에 존재하는 내인성의 화합물이며 시트르산 회로(citric acid cycle)를 통해 대사된다. 즉 메틸 프로피오네이트의 체내 분해산물은 안전성 문제를 야기하지 않는다. 그러므로 메틸 프로피오네이트는 심각한 인체 및 환경독성 문제를 일으키는 메틸렌 클로라이드를 대체할 수 있는 안전한 유기용매로서의 효용 가능성을 지니는 장점이 있다.

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명에서의 '미립자'는 입경이 1μm 내지 1000 μm의 크기를 갖는 입자를 의미한다.

현재 제약산업체에서 생산하는 미립자는 주로 아세테이트(초산 에틸, 에틸 아세테이트)를 분산용매로 사용하고 있으며, 현재 시판 중인 의약품용 미립자는 20 내지 22 G 크기 (내부 직경 = 413 내지 603 ㎛)의 주사기 바늘을 통해 근육주사 또는 피하주사 경로로 환자에게 투여된다. 따라서 약물 함유 미립자의 입자 크기 및 입도 분포가 중요성을 가지는데, 본 발명의 제조방법으로 제조된 미립자의 입자 크기 및 입도 분포는 종래 에틸 아세테이트를 분산 용매로 사용한 미립자와 유사하다(도 4 및 도 5 참조).

본 발명에 따라 메틸 프로피오네이트를 용매로 사용하여 제조된 미립자는, 약물 함유율 또한 에틸 아세테이트를 분산 용매로 사용한 미립자와 유사하며(도 12), 잔류 용매 또한 매우 유사한 면을 보인다(도 14 및 도 15).

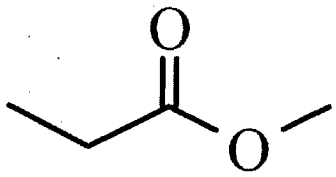
본 발명의 일 구현예는 고분자 화합물을 메틸 프로피오네이트(methyl propionate)에 용해 또는 분산시켜 분산상을 형성하는 단계; 상기 분산상에 유화제를 첨가하여 유제를 형성하는 단계; 및 상기 유제를 미립자로 전환시키는 단계를 포함하는 미립자 제조방법에 관한 것이다.

하기 표 2에 나타난 바와 같이 메틸 프로피오네이트는 미립자 제조에 흔히 사용되는 비할로겐 유기용매인 에틸 아세테이트와 유사한 융점(휘발성)을 지니고 있으며, 하기 화학식 1에 나타난 바와 같이 에틸 아세테이트와 동일한 분자량을 가지는 에스테르 골격을 지닌 유기용매이다.

【표 2】

주요 성상	메틸 프로피오네이트	에틸 아세테이트	메틸렌 클로라이드
융점(℃)	79.8	77.1	40
Log P (octanol-water)	0.84	0.73	1.25
물용해도 (g/100 ml)	6.24	8.0	1.3

【화학식 1】



메틸 프로피오네이트는 상기 표 2에 나타난 바와 같이 에틸 아세테이트에 비하여 상대적으로 높은 logP 수치를 지니고 있으므로 소수성 고분자 화합물들을 녹이는 용매화력(solvation powder)가 좋은 특징이 있다.

유제는 서로 섞이지 않는 2 종류 이상의 액체를 사용하여 제조하므로, 서로에 대한 용해성(miscibility/solubility)이 낮으면 낮을수록 용이하게 조제할 수 있다. 에틸 아세테이트는 상기 표 2에 나타난 바와 같이 약 8% 정도로 상대적으로 높은 물 용해성도 가지므로 여러 가지 문제점이 있지만, 메틸 프로피오네이트의 물 용해도는 에틸 아세테이트에 비해 상대적으로 낮기 때문에 보다 용이하게 유제를 제조할 수 있다(도 10 참조).

본 발명에 있어서 메틸 피오네이트를 용매로 사용하여 O/W 유제를 만들기 위해서는 분산상(O):수상(W) 혼합 용적비가 최소 1:1 이상이며, 바람직하게는 1:1 내지 1: 100일 수 있고, 예를 들면 1:5, 1:10, 1:15, 그리고 1:20 등으로 사용할 수 있다.

본 발명에 적용 가능한 고분자는 메틸 프로피오네이트와 미립자를 형성가능한 고분자 화합물이면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들면 생분해성 고분자 화합물, 비-생분해성 고분자 화합물 등을 포함한다. 상기 고분자의 예로는 폴리락트산(PLA), 폴리(락트산-코-글리콜산)(PLGA), 폴리락타이드, 폴리글리콜산, 폴리포스파진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르, 폴리언하이드라이드 (polyanhydride), 폴리오르소에스테르(polyorthoester), 락트산/글리콜산과 카프로락톤의 공중합체, 폴리카프로락톤, 폴리하이드록시발레이트, 폴리하이드록시부티레이트, 폴리아미노산, 락트산과 아미노산의 공중합체 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 제조방법은 PLGA 뿐만 아니라 미립자를 형성하는 다른 소수성 고분자 화합물에도 적용될 수 있다(도 6, 도 7, 도 8 참조).

상기 유제를 형성하는 단계에 적용 가능한 유화제는

폴리비닐알코올(PVA), 폴리소베이트 20, 폴리소베이트 60, 폴리소베이트 65, 폴리소베이트 80, 폴리소베이트 85, 레시틴(lecithin), 소르비탄스테아레이트(sorbitan stearate), 모노- 및 디글리세라이드, 아세틸레이티드 모노글리세라이드, 숙시닐레이트모노글리세라이드, 에톡시레이티드 모노- 및 디글리세라이드, 모노- 및 디글리세라이드의 디아세틸타르타르산 에스테르, 모노- 및 디글리세라이드의 모노소디움 포스페이트 유도체(예: 글리세릴모노올리에이트, 글리세릴모노스테아레이트, 글리세릴베헤네이트, 글리세릴카프레이트), 세틸 알코올, 스테아릴 알코올, 라놀린, 라놀린 알코올, 폴리글리세릴 에스테르(예: 폴리글리세릴 올리에이트, 폴리글리세릴 스테아레이트, 폴리글리세릴 팔미테이트, 아라비아 검, 마그네슘 스테아레이트, 알루미늄 트리스테아레이트 또는 이들의 수용액 일 수 있다.

유제를 형성하기 위해 유화제와 수상이 첨가되며, 일례로 폴리비닐알코올 수용액이 첨가될 수 있으며, 바람직하게 0.01% 내지 10% (w/v) 농도의 폴리비닐알코올 수용액일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.1% 내지 1% (w/v) 농도의 폴리비닐알코올 수용액일 수 있다. 메틸 프로피오네이트와 고분자 분산상에 첨가되는 폴리비닐알코올(PVA) 수용액의 온도는 공정에 따라, 그리고 목적에 따라 조절할 수 있다. 예를 들어, 용매증발법을 사용 시 고분자 화합물의 종류에 따라 폴리비닐알코올 수용액의 온도는 4 내지 45℃일 수 있으며, 단백질 약품을 봉입하는 경우 최대 온도는 37 내지 39℃일 수도 있다.

상기 유제를 형성하는 단계에서 유화기를 사용할 수 있으며, 구체적인 예는 균질기(homogenizer), 스태틱 믹서(static mixer), 소니케이터(sonicator), 막 유화기(Shrasu porous glass membrane emulsifier) 또는 마이크로플루다이저(microfluidizer)일 수 있다.

종래에 미립자 제조용 용매로 사용하던 에틸 아세테이트는 물에 대한 용해도가 상대적으로 높기 때문에, 유제 형성시 유화기 또는 분산상 대 수상의 부피비를 신중하게 고려하는 것과 달리, 본 발명에서는 상기 분산상과 수상의 비율을 보다 자유롭게 정할 수 있다.

상기 유제를 미립자로 전환시키는 단계는 통상적으로 알려진

용매증발; 용매추출; 분무건조(spray drying); 또는 용매증발 및 용매추출 혼합(hybrid) 방법 등을 이용할 수 있다. 또한 다양한 온도 및 교반시간 조건하에서 교반하여 수행할 수 있으며, 예를 들면, 교반시간은 0.5 시간 내지 5시간 동안 수행할 수 있다.

상기 용매증발의 예시적인 방법은 미국 특허 제6,471,996호, 제5,985,309호 및 제5,271,945호에 기재되어 있으며, 구체적으로 고분자 화합물을 녹인 분산상을 물과 같은 수상에 유화시켜 수중유형(O/W, oil-in-water) 유제를 제조한 다음, 교반을 통해 유제에 있는 유기용매를 수상으로 확산시켜 공기/물 계면을 통하여 유기용매를 증발시킴으로써 미립자를 형성할 수 있다.

상기 용매추출의 예시적인 방법은 유제방울에 있는 유기용매를 대량의 가용화 용매를 사용하여 효과적으로 추출하는 방법이다. 유기용매인 메틸 프로피오네이트가 가용화 용매로 추출되면, 녹아있던 고분자 화합물이 경화되어 유제방울이 미립구로 전환된다. 일반적으로 사용되는 가용화 용매는 물인데, 유기용매의 물 용해도 정도가 필요로 되는 물의 양에 큰 영향을 미친다. 본 발명의 유기용매인 메틸 프로피오네이트이고 가용화 용매가 물인 경우, 유기용매의 물 용해도 6.24 g/100ml 고려하면, 첨가되는 물의 양은 유제 제조에 사용된 메틸 프로피오네이트 6.24g에 대하여 100ml 내지 2000ml의 물을 사용할 수 있다.

상기 용매증발 및 용매추출 혼합(hybrid)법은, 용매증발법과 용매추출법을 동시에 활용하는 기술로서 미국 특허 제4,389,840호, 제4,530,840호, 제6,544,559호, 제6,368,632호 및 제6,572,894호에 기새되어 있다. 혼합법의 구체적인 예는, 분산상과 수상을 혼합하여 유제를 만든 후 일부 유기용매는 증발과정을 통하여 제거하고 잔존하는 유기용매는 용매추출법을 사용하여 제거한다. 예를 들면, 미국 특허 제4,389,840호의 경우, 약물과 PLGA 고분자 화합물을 메틸렌 클로라이드에 녹인 후 물에 유화시켜 수중유형 유제(O/W)를 제조한 다음, 40 내지 60 중량%의 메틸렌 클로라이드를 증발과정을 통해 제거하고 잔존하는 메틸렌 클로라이드를 다량의 물로 추출함으로써 미립자를 제조하는 방법을 개시하고 있다.

또한, 상기 전환단계에서 분산용매는 물일 수 있으나, 바람직하게는

유화제가 첨가된 물일 수 있고 예를 들면 폴리비닐알코올 수용액일 수 있다. 상기 폴리비닐알코올 수용액은 분산용매로서 물을 포함하여 메틸프로피오네이트를 추출하는 기능을 수행하고, 또한 폴리비닐알코올 수용액을 첨가하여 희석시킴으로써 유제방울/반고형 상태의 미립자가 서로 응집되는 현상을 감소시킬 수 있다.

미립자의 잔류 용매를 줄이기 위하여 상기 방법은 고분자 화합물을 메틸 프로피오네이트에 용해 또는 분산시켜 분산상을 형성하는 단계; 상기 분산상에 수상을 첨가하여 유제를 형성하는 단계; 및 상기 유제에 염기나 산을 첨가하여 유제에서 메틸 프로피오네이트를 분해 제거하여 미립자로 전환시키는 단계를 포함하는 방법일 수 있다.

상기 염기는 수산화나트륨(NaOH), 수산화칼륨(KOH), 암모니아수(NH4OH), 수산화리튬(LiOH), 수산화칼슘(Ca(OH)2), 수산화마그네슘(Mg(OH)2), 탄산수소나트륨(NaHCO3), 탄산나트륨(Na3CO3) 또는 수소화나트륨(NaH)이 사용될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

상기 산으로는 염산(HCl), 질산(HNO3), 인산(H3PO4), 황산(H2SO4), 붕산(B2O), 불산(HF), 브롬산(HBr) 또는 과염소산(HClO4)이 사용될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

본 발명에 따른 미립자의 제조방법에서, 약물 추가하여 약물이 함유된 미립자를 제조할 수 있다. 일례로 상기 메틸 프로피오네이트 용매에 약물을 용해하거나, 약물을 극성용매에 용해한 후에 메틸 프로피오네이트와 고분자 화합물의 분산상에 혼합하여 미립자에 약물을 함유시킬 수 있다.

상기 미립자는 수용성 및 난용성 약물을 함유할 수 있어, 약물 전달체로 사용될 수 있다. 본 발명의 미립자 제조방법은 소수성 약물과 친수성 약물 모두에 적용가능하다. 일례로 소수성 약물은 고분자 화합물과 함께 메틸 프로피오네이트에 용해될 수 있으며, 친수성 약물은 유기 극성 용매에 용해된 다음, 그보다 극성이 낮은 메틸 프로피오네이트에 용해된 고분자 화합물과 혼합될 수 있다.

현재 약물의 주사제형에 사용되는 미립자는 모두 구형이며, 막대(Rod)형인 경우에는 유동성 문제와, 일정한 표면적을 지니지 않기 때문에 선호되지 않는다. 따라서, 상기 미립자의 모양은 인체 주사용으로

바람직한 구형일 수 있다.

【발명의 실시를 위한 형태】

이하 본 발명을 다음의 실시예에 의하여 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 그러나 이들은 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[실시예]

실시예 1. 용매증발법에 따른 미립자 제조

PLGA(SurModics Pharmaceuticals, 제조 로트번호 254)(lactide:glycolide 몰비 = 75:25, 클로로포름에 녹여 30℃에서 측정한 인히런트 점도 = 0.52 dL/g) 0.25g을 메틸 프로피오네이트 4 ml에 완전히 녹여 만든 분산상을 0.5% 폴리비닐알코올(PVA, polyvinyl alcohol) 수용액 20 ml에 500 rpm 속도로 유화시켜 o/w형의 유제를 제조하였다.

상기 유제를 500 rpm으로 교반시간 5분이 경과한 후 0.5% 폴리비닐알코올(PVA) 수용액 20 ml을 더 첨가하였고, 5시간 동안 실온에서 교반시켰다. 이후 미립자를 여과를 통해 수거하여 진공 건조하여 미립자를 제조하였다.

상기 과정에서 4ml의 메틸 프로피오네이트를 20 ml의 PVA 수용액에 교반하면 PVA 수용액에 메틸 프로피오네이트가 다 녹을 수가 없으므로, 교반을 계속하면 자연스럽게 수상에 녹아있는 메틸 프로피오네이트가 증발하고 이에 따라 유제방울에 있는 메틸 프로피오네이트가 다시 수상으로 확산, 전이되어 증발이 반복되게 된다. 이에 따라 긴 시간이 지난 후 유제방울(액체)이 미립자(고체)로 전환이 된다.

미립자의 상태 확인을 위해서, 상기 제조된 미립자 현탁액의 상태를 Carl Zeiss사의 Axiovert 20(광학현미경)을 사용하여 관측하였고, 그 결과를 Axiovision Release 4.8.1 버전 소프트웨어 프로그램으로 저장하여 도 1에 나타내었다.

미립자의 입도 분포 확인을 위해서, 상기 제조된 미립자 현탁액을 Galai Production사의 CIS-100(입도 분석기)를 사용하여 미립자 크기 및

분포를 측정하였다. 보다 구체적으로 상기 미립자 현탁액을 425 ㎛ 체에 거른 후 연동 펌프(peristaltic pump)를 사용하여 입도분포기의 GCM-104A cell에 주입하여 입자 크기를 측정하였고, 그 결과를 WCIS-100 1.46 버전 소프트웨어 프로그램을 사용하여 도 2에 나타내었다.

미립자의 표면 확인을 위해서, 상기 제조된 미립자의 표면 형상은 SEM을 사용하여 관찰하였다. 보다 구체적으로 상기 미립자를 VG Microtech사의 모델 SC7620 sputter coater를 사용하여 코팅한 후, SEM(Jeol사의 JSM 5200 모델)을 사용하여 관측하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

도 1에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용한 두 가지 미립자 제조방법 모두 미립자를 성공적으로 제조할 수 있음을 확인하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용한 미립자 제조방법에서 용매추출법이 용매증발법에 비해 상대적으로 미립자의 크기가 크며 좁은 입도분포를 지닌 미립자를 제조하는 경향을 보인다는 것을 확인하였다. 도 3에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하여 제조한 미립자들은 모두 구형의 형상을 띄고 있음을 확인하였다.

실시예 2. 용매추출법에 따른 미립자 제조

PLGA(SurModics Pharmaceuticals, 제조 로트번호 254)(lactide:glycolide 몰비 = 75:25, 클로로포름에 녹여 30℃에서 측정한 인히런트 점도 = 0.52 dL/g) 0.25g을 메틸 프로피오네이트 4 ml에 완전히 녹여 만든 분산상을 30℃ 온도를 지닌 0.5% 폴리비닐알코올 수용액 20 ml에 500 rpm 교반속도로 유화시켜 o/w형의 유제를 형성하였다.

상기 유제를 500 rpm으로 5분간 교반 시킨 후, 메틸 프로피오네이트의 용매 추출을 위해서 30℃의 0.5% 폴리비닐알코올 수용액 100 ml에 넣었다. 이때 교반속도는 500 rpm으로 유지시켜 1시간 동안 교반하여, 용매추출 과정을 2시간 동안 진행하였다. 미립자를 여과를 통해 수거한 후 다시 동일한 수상 100 ml에 재분산시켜 2시간 더 교반하였다. 이 후 미립자를 여과를 통해 분리하여 진공 건조하여 미립자를 제조하였다.

실시예 1의 분석방법과 동일한 방법으로, 상기 제조된 미립자의 광학 현미경을 이용하여 상태확인을 수행하여 그 결과를 도 1에 나타내었고, SEM으로 미립자의 표면 확인을 수행하여 그 결과를 도 2에 나타내었고, 미립자 크기 및 분포를 측정하여 도 3에 나타냈다.

도 1에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용한 두 가지 미립자 제조방법 모두 미립자를 성공적으로 제조할 수 있음을 확인하였다.

도 2에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용한 미립자 제조방법에서 용매추출법이 용매증발법에 비해 상대적으로 미립자의 크기가 크며 좁은 입도분포를 지닌 미립자를 제조하는 경향을 보인다는 것을 확인하였다.

도 3에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하여 제조한 미립자들은 모두 구형의 형상을 띄고 있음을 확인하였다.

실시예 3. 용매증발-추출 혼성법에 따른 미립자 제조

5.5E PLGA(Evonik Degussa, 제조 로트번호 LP-483)(lactide:glycolide 몰비 = 75:25, 클로로포름에 녹여 30℃에서 측정한 인히런트 점도 = 0.58 dL/g) 0.25g을 메틸 프로피오네이트 4ml에 완전히 녹인 분산상을 제조하였다. 37℃의 0.5% PVA 수용액 20ml에 400 rpm 교반속도로 유화시켜 o/w형의 유제를 형성하였다.

5분간 교반시킨 후 37℃의 0.5% 폴리비닐알코올 수용액 60 ml을 첨가하였고, 동일한 조건에서 5시간 교반한 후 미립자를 여과하여 수거하고 진공 건조하여 미립자를 제조하였다.

실시예 1과 같은 방법으로, 상기 얻어진 미립자의 입도를 측정하였고, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

비교예 1. 용매증발법에 따른 미립자 제조

현재 제약산업체에서 생산하는 미립자는 주로 에틸 아세테이트를 분산용매로 사용하고 있으므로, 분산용매로서 메틸 프로피오네이트 대신에 에틸 아세테이트를 사용한 것 외에는 실시예 1과 동일한 방법을 사용하여

미립자를 제조하였다. 실시예 1과 같은 방법으로, 상기 얻어진 미립자의 입도를 측정하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

비교예 2. 용매추출법에 따른 미립자 제조

분산용매로서 메틸 프로피오네이트 대신에 에틸 아세테이트를 사용한 것 외에는 실시예 2와 동일한 방법을 사용하여 미립자를 제조하였다.

실시예 1과 같은 방법으로, 상기 얻어진 미립자의 입도를 측정하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

비교예 3. 용매증발-추출 혼성법에 따른 미립자 제조

분산용매로서 메틸 프로피오네이트 대신에 에틸 아세테이트를 사용한 것 이외에는 실시예 3과 동일한 방법으로 미립자를 제조하였다.

실시예 1과 같은 방법으로 상기 얻어진 미립자의 입도를 측정하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

또한, 입도 분포에 대한 정보를 얻기 위해 계산한 Spain index를 하기 표 3에 요약하여 나타내었으며, 제조배치는 미립자가 재현성있게 제조되는지를 관찰하기 위해 3 세트의 미립자를 제조한 것을 나타낸 것이다.

【표 3】

유기용매	제조배치	미립자 크기(um)			Spain index
		d10%	d50%	d90%	
에틸 아세테이트	#1	41.1	62.2	112.4	1.14
	#2	45.7	68.7	139.1	1.36
	#3	43.5	63.5	113.3	1.10
메틸 프로피오네이트	#1	46.7	69.4	110.3	0.92
	#2	44.5	69.1	115.8	1.03
	#3	45.7	66.4	97.4	0.78

도 4, 도 5 및 표 3에 나타난 바와 같이, 분산용매 종류에 따라 Spain index는 통계적으로 유의한 영향을 받지 않고, 두 가지 용매를 사용하여 제조한 미립자의 입도분포는 유사한 양상을 보인다는 것을 확인하였다.

보다 구체적으로 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하는 미립자의 제조방법을 통하여 인체에 주사 투여할 수 있는 크기의 미립자를 손쉽게 만들 수 있을 뿐만 아니라 배치별 미립자 크기 및 입도분포 결과 역시 재현성 있는 결과를 나타냄을 확인하였다. 그리고 미립자 입자 크기 및 입도 분포 결과는 기존의 에틸 아세테이트를 분산용매로 사용한 미립자 제조 결과와 유사하였고, 이는 곧 메틸 프로피오네이트가 에틸 아세테이트를 대체할 수 있는 유용한 분산용매임을 의미한다.

실시예 4. 용매증발-추출 혼성법에 따른 미립자 제조

PLGA뿐만 아니라 미립자를 형성하는 다른 소수성 고분자 화합물로 100 CL 6A(Evonik Degussa, 제조 로트번호 LX00414-143)(caprolactone copolymer with ter-polymers with lactide and/or glycolide)(클로로포름에 녹여 30℃에서 측정한 인히런트 점도 = 0.58 dL/g) 0.25g을 메틸 프로피오네이트 4 ml에 완전히 녹인 분산상을 제조하였다. 37℃의 0.5% 폴리비닐알코올 수용액 20 ml에 400 rpm 교반속도로 유화시켜 o/w형의 유제를 형성하였다.

교반시간 5분이 경과한 후 37℃의 0.5% 폴리비닐알코올 수용액 60 ml을 첨가하였다. 동일한 조건에서 각각 교반 시간을 2시간 및 5시간으로 2가지 교반조건으로 수행한 후에, 미립자를 여과하여 수거하고 진공 건조하여 미립자를 제조하였다.

상기 교반 시간을 달리하여 제조된 미립자를 실시예 1과 동일한 방법으로 SEM으로 관찰하였고, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

도 6에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산 용매로 사용한 경우 구형의 미립자를 제조할 수 있음을 확인하였다. 이는 PLGA뿐만 아니라 미립자를 형성하는 다른 소수성 고분자 화합물로 100 CL 6A를 사용하여도 구형의 미립자를 제조할 수 있음을 의미한다. 또한 SEM 확인실험을 통하여 미립자 경화시간을 2시간에서 5시간으로 연장하였을 때 미립자 응집현상은 감소되었으며 유동성이 증가됨을 규명하였다.

비교예 4. 용매증발-추출 혼성법에 따른 미립자 제조

메틸 프로피오네이트 대신에, 에틸 아세테이트를 용매로 사용한 것이외에 상기 실시예 4와 동일한 방법을 사용하여 미립자를 제조하였다.

상기 제조된 미립자를 실시예 1과 동일한 방법으로 SEM으로 관찰하였고, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

도 7에 나타난 바와 같이, 에틸 아세테이트를 분산 용매로 사용한 경우 구형의 미립자를 제조할 수 있음을 확인하였다. 이는 PLGA뿐만 아니라 미립자를 형성하는 다른 소수성 고분자 화합물로 100 CL 6A를 사용하여도 구형의 미립자를 제조할 수 있음을 의미한다. 또한 SEM 확인실험을 통하여 미립자 경화시간을 2시간에서 5시간으로 연장하였을 때 미립자 응집현상은 감소되었으며 유동성이 증가됨을 규명하였다.

실시예 5. 용매증발-추출 혼성법에 따른 미립자 제조

PLGA 뿐만 아니라 다른 종류의 소수성 고분자 화합물 역시 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하여 미립자를 제조할 수 있음을 증명하기 위해 생분해되지 않는 소수성 고분자 화합물인 에틸 셀룰로스(ethyl cellulose)를 사용하였다. 사용한 에틸 셀룰로스(제조로트번호 8AZQN-AT)는 Tokyo chemical industry사로부터 구입하였고 톨루엔과 에탄올의 비가 8:2인 5% 용액에 녹여 25 ℃에서 측정한 절대점도가 45-55mPa·s이었다.

미립자 제조는 다음과 같은 공정에 따라 실시하였다. 에틸 셀룰로스 0.1 g을 메틸 프로피오네이트 4 ml에 완전히 녹인 분산상을 제조하였다. 상기 분산상을 0.5% PVA 수용액 20 ml에 400 rpm 교반속도로 유화시켜 o/w형의 유제를 형성하였다. 5분간 교반시킨 후 여기에 37℃인 0.5% PVA 수용액 60 ml을 첨가하였고, 그 결과를 도 8에 나타내었다.

도 8에 나타난 바와 같이, PLGA와 성상이 완전히 다른 비분해성 고분자 화합물임에도 불구하고 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하여 구형의 미립자를 제조할 수 있음을 확인하였다.

실시예 6. 용적에 따른 미립자 형성 여부 시험

유제 형성 단계에서 분산상:수상의 용적(volume) 비가 유제 형성에

미치는 영향을 알아보기 위해, 실시예 3에서 유제 형성단계에서 폴리비닐알코올 수용액의 함량 20mL 대신에, 폴리비닐알코올 수용액을 40, 60 및 80 ml으로 하여 유제를 제조한 것을 제외하고는 실시예 3과 동일한 방법으로 미립자를 제조하였다.

실시예 3 및 실시예 6에서 제조된 미립자들을 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 광학현미경으로 관찰하였고, 그 결과를 도 9에 나타내었다.

비교예 5. 용적에 따른 미립자 형성 여부 시험

유제 형성 단계에서 분산상:수상의 용적(volume) 비가 유제 형성에 미치는 영향을 알아보기 위해, 비교예 3에서 유제 형성단계에서 폴리비닐알코올 수용액의 함량 20mL 대신에, 폴리비닐알코올 수용액을 40, 60 및 80 ml으로 한 것 이외에는 비교예 3과 동일한 방법으로 미립자를 제조하였다.

비교예 3 및 비교예 5에서 제조된 미립자들을 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 광학현미경으로 관찰하였고, 그 결과를 도 10에 나타내었다.

도 8 및 도 10에 나타난 바와 같이, 용적이 20 ml이었을 때에는 유제가 잘 만들어져 유제방울들이 미립자로 잘 전환됨을 확인하였다(도 6A). 하지만 수상의 용적을 40, 60, 그리고 80 ml로 증가시켰을 때에는 미립자뿐만 아니라 비규칙적인 섬유(fiber)나 풍선(ballon) 형태의 PLGA 침전물이 형성됨을 확인하였다(도 10B 내지 D).

이러한 현상은 에틸 아세테이트가 가지는 현저한 물용해도에 기인되는 것을 사료된다. 표 2에 나타난 바와 같이 에틸 아세테이트는 8% 정도의 상대적으로 높은 물용해도를 지니고 있다. 그러므로 분산용매로 사용한 에틸 아세테이트의 용량을 4 ml로 고정하였을 때, 수상 용적을 점점 증가시킬수록 유제 제조 시 에틸 아세테이트는 쉽게 수상으로 확산된다. 즉 에틸 아세테이트가 물로 재빨리 확산되어 섞이는 도중 일부는 유제방울이 아닌 비규칙적인 형상을 가진 침전물로 변화되는 것이다. 에틸 아세테이트가 가지는 이러한 본질적인 단점 때문에 유제를 형성하고자 하는 경우 유화기나 분산상 : 수상 용적 비 등을 신중하게 고려하여 최적화시켜야

하거나 여분의 에틸 아세테이트를 사용하여 수상을 미리 포화시킨 후 유제를 만드는 전략적인 방법이 요구된다.

그러나 상기 에틸 아세테이트가 가지는 단점을 메틸 프로피오네이트를 분산 유기용매로 사용하여 극복할 수 있었다. 메틸 프로피오네이트를 분산 유기용매로 사용하였을 때에는 유제방울이 수월하게 만들어지고 미립자로 전환되어짐을 확인할 수 있었고, 또한 미립자가 아닌 비규칙적 PLGA 침전물이 생성되지 않음을 확인하였다(도 9).

이러한 수월성 및 장점은 메틸 프로피오네이트가 에틸 아세테이트보다 소수성이 크고 상대적으로 낮은 물 용해도를 지니므로 물과 서로 잘 섞이지 않아 유제를 잘 형성할 수 있는 성상에서 기인하는 것으로 판단된다.

실시예 7. 프로게스테론이 함유된 미립자 제조

7-1: 약물 함유 미립자 제조

미립자가 약물을 함유할 수 있는지를 알아보기 위해 모델 약물로 프로게스테론(progesterone)을 선정하여 미립자 제조 실험을 진행하였다. 이때 분산상 제조를 위하여 메틸 프로피오네이트 4 ml에 5.5E PLGA 0.25 g 및 프로게스테론 25 mg을 함께 녹인 것 외에는 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

상기 제조된 프로게스테론이 함유된 미립자를 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 전자현미경으로 관찰하였고, 그 결과를 도 11에 나타내었다.

7-2: 수상 온도에 따른 프로게스테론 함유율 확인 시험

폴리비닐알코올 수용액의 온도가 미립자 제조 및 성상에 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위하여, 실시예 7-1에서 교반시 첨가되는 37℃의 폴리비닐알코올 수용액을 대신하여, 실온의 폴리비닐알코올 수용액을 첨가하는 것을 제외하고 상기 실시예 7-1과 동일한 방법으로 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

상기 제조된 미립자를 4 ml의

테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran)에 녹인 후 HPLC 이동상으로 7배 내지 10배 희석하였다. 이때 생성되는 PLGA 침전물을 0.45 ㎛ 공극 크기를 지닌 나일론 필터로 제거한 후에 남은 용액 20 ㎕를 HPLC에 주입하여 프로게스테론의 농도를 측정하였다.

분석용 칼럼으로서는 Phenomenex사의 Luna C18 5 ㎛(150 × 4.6 mm)을 사용하였고, 이동상으로서는 물:메탄올(2:8) 혼합액을 사용하였다. 이동상의 유속속도는 0.8 ml/min이었고 칼럼으로부터 유출되는 프로게스테론은 파장 254 nm에서 검출하였다. 기지의 프로게스테론 용량을 메탄올에 녹여 희석시켜 제조한 표준용액을 사용하여 검체에 존재하는 프로게스테론을 정량하였고, 하기 수학식 1을 이용하여 약물함유율을 산출하였고, 그 결과를 도 12에 나타내었다.

[수학식 1]

약물함유율(%) = 100 × (실제로 HPLC로 측정한 단위 미립자에 존재하는 약물량/이론적으로 단위 미립자에 존재해야 하는 약물량)

7-3: PLGA 소재의 분자량에 따른 약물 함유율 확인

7E PLGA(Evonik Degussa, 제조 로트번호 LP-592)는 5.5E LGA와 동일한 lactide:glycolide 몰비를 지녔지만 인히런트 점도가 0.71 dL/g으로 상대적으로 높은 분자량을 가지는 것이 특징이며, 7E PLGA를 사용한 것 이외에는 실시예 7-1과 동일한 방법을 사용하여 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

실시예 7-2와 동일한 방법으로 약물 함유율을 산출하였고, 그 결과 메틸 프로피오네이트를 분산 유기용매로 사용하여 제조된 프로게스테론이 함유된 미립자의 프로게스테론 함유율은 56.7 ± 3.0%로 증가됨을 확인하였다. 이러한 결과로부터 미립자 제조를 사용하는 PLGA 소재의 분자량이 함유율에 영향을 끼침을 알 수 있었다.

7-4: 메틸 프로피오네이트의 염기촉매 가수분해 반응(검화반응법) 확인

메틸 프로피오네이트로 포화된 0.5% PVA 수용액 30 ml에 10N-NaOH 3 ml 가한 후 180 rpm 속도로 5분간 교반하였다. 10N-NaOH 넣기 바로 직전, 그리고 넣은 후 10, 30, 70, 180초 경과하였을 때 각각 200ul를 취하여 부탄올 10 ml로 희석하였다. 이렇게 제조된 샘플 용액 200ul에 내부 표준물질 용액(이소프로필 포르메이트를 부탄올에 1000배 희석시킨 용액) 200ul을 넣어 혼화시킨 후 가스크로마토그래피법으로 피크들을 관찰하였다. 도 13은 각 시점에 취한 시료들의 크로마토그램을 나타내고 있다. 10N-NaOH를 가하기 전에는 수용액에서는 메틸 프로피오네이트와 내부 표준물질인 이소프로필 포르메이트가 관측되었다. 하지만 10N-NaOH를 넣어 주었을 때 염기촉매 가수분해반응에 의해 분해산물인 메탄올이 나타났으며, 시간이 지날수록 메틸 프로피오네이트 피크 크기는 줄어들었다. 반응시간이 180초 경과하였을 때에는 수상에서는 더 이상 메틸 프로피오네이트가 관측되지 않았다.

본 실험결과를 통하여 산이나 염기 촉매반응을 통해 수상에 존재하는 메틸 프로피오네이트를 매우 효율적으로 제거할 수 있음을 증명하였다. 메틸 프로피오네이트를 분산상으로 하여 o/w형 유제를 만들었을 때, 사용한 메틸 프로피오네이트 일부가 수상으로 전이하여 수상을 포화시켜주는데, 이때 수상에 녹아 있는 메틸 프로피오네이트를 화학 반응을 활용하여 물과 섞이는 분해산물로 제거시켜주면 분산상의 메틸 프로피오네이트를 계속/전부 수상으로 추출할 수 있음을 확인하여, 이러한 용매제거 원리를 미립자 제조공정에 응용할 수 있음을 입증하였다. 이러한 주장을 뒷받침하기 위하여 아래의 실험을 4℃에서 실시하였다.

7-5: 염기촉매 가수분해 반응에 따른 미립자 제조

염기촉매 가수분해 반응(검화반응법)에 따른 미립자를 제조하고자, 5.5E PLGA 0.25g과 프로게스테론 25mg을 메틸 프로피오네이트 4 ml에 완전히 녹인 후 0.5% PVA 수용액 40 ml에 400 rpm 속도로 교반 시켜 o/w 유제를 형성하였다.

교반 시간 5분이 경과한 후 10N-NaOH 수용액 4.8ml을 넣어 30분간 반응시켜 유제 방울들을 미립자로 전환시켜주었다.

여과를 통해 미립자를 수거한 후 다시 37℃의 0.5% PVA 수용액에

재분산시켜 5시간 동안 교반하였다. 미립자를 여과하여 수거한 후 진공 건조하여 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

상기 교반 조건을 5시간으로 하여 제조된 프로게스테론이 함유된 미립자를 상기 실시예 7-2과 동일한 방법으로 약물함유율을 산출하였고, 그 결과 프로게스테론의 함유율은 95.7 ± 4.7% 이었다.

교반시간이 2시간인 것 외에는 상기 방법과 동일하게 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

비교예 6. 프로게스테론이 함유된 미립자 제조

6-1: 약물 함유 미립자 제조

에틸 아세테이트 4 ml에 5.5E PLGA 0.25 g 및 프로게스테론 25 mg을 함께 녹인 것 외에는 상기 비교예 3과 동일한 방법으로 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

상기 제조된 프로게스테론이 함유된 미립자를 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 전자현미경으로 관찰하였고, 그 결과를 도 11에 나타내었다.

도 11에 나타난 바와 같이, 에틸 아세테이트와 메틸 프로피오네이트를 사용하여 제조한 프로게스테론이 함유된 미립자는 완전한 구형 형태를 띄었으며, 또한 미립자 표면에 약물은 보이지 않음을 확인하였다.

6-2: 수상 온도에 따른 프로게스테론 함유율 확인 시험

수상 온도를 실온으로 한 것 이외에는 상기 실시예 7-1과 동일한 방법으로 약물이 함유된 미립자를 제조하였다.

상기 실시예 7-2와 동일한 방법을 이용하여 미립자를 HPLC에 주입하여 프로게스테론의 농도를 측정하였고, 그 결과를 도 12에 나타내었다.

도 12에 나타난 바와 같이, 분산용매 종류 및 온도는 약물 함유율에 통계적 유의성이 있는 영향을 미치지 않는다는 것을 확인하였다.

6-3: PLGA 소재의 분자량에 따른 약물 함유율 확인

7E PLGA(Evonik Degussa, 제조 로트번호 LP-592)는 5.5E PLGA와 동일한 lactide:glycolide 몰비를 지녔지만 인히런트 점도가 0.71 dL/g으로 상대적으로 높은 분자량을 가지는 것이 특징이며, 7E PLGA를 사용한 것 이외에는 실시예 7-1과 동일한 방법을 사용하여 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

실시예 7-2과 동일한 방법으로 약물 함유율을 산출하였고, 그 결과 에틸 아세테이트를 분산 유기용매로 사용하여 제조된 프로게스테론이 함유된 미립자의 프로게스테론 함유율은 51.3 ± 5.2%임을 확인하였다.

6-4: 염기촉매 가수분해 반응에 따른 미립자 제조

염기촉매 가수분해 반응(검화반응법)에 따른 미립자를 제조하고자, 용매가 에틸 아세테이트인 것을 제외하고 상기 실시예 7-4와 동일한 방법(각각 교반 조건을 2시간 및 5시간하여)을 사용하여 프로게스테론이 함유된 미립자를 제조하였다.

상기 교반 조건을 5시간으로 하여 제조된 프로게스테론이 함유된 미립자를 상기 실시예 7-2와 동일한 방법으로 약물함유율을 산출하였고, 그 결과 프로게스테론의 함유율은 91.4 ± 5.5% 이었다.

따라서, 실시예 7-4와 비교예 6-4에서 산출한 함유율은 비슷하였고, 이러한 결과로부터 검화반응에 의한 미립자 제조방법을 통해서 약물이 대부분 미립자에 효과적으로 함유될 수 있음을 알 수 있었다.

실시예 8. 프로게스테론이 함유된 미립자 잔류 용매 측정

미립자에 잔존하는 유기용매의 용량은 미립자 의약품 개발 허가 측면에서 매우 중요한 이슈이다. 따라서 메틸 프로피오네이트를 사용하는 약물 함유 미립자 제조방법이 메틸 프로피오네이트를 효과적으로 제거할 수 있는지를 알아보기 위해 열질량분석기 실험을 실시하였다.

교반(재분산) 시간이 2시간인 것 외에 상기 실시예 7-1 및 비교예 6-1과 동일한 방법을 사용하여 제조한 미립자들과 상기 실시예 7-1, 비교예 6-1, 실시예 7-4 및 비교예 6-4에서 제조된 미립자들을 10 내지 21 mg 범위

내에서 정밀하게 달아 platinum pan에 넣은 후 열질량분석기(thermogravimetric analyzer; TA사의 Q50 모델)를 사용하여 미립자에 잔류하는 용매 용량을 측정하였다. 이를 위해 온도를 30℃에서 550℃까지 분당 20℃ 속도로 승온하였다. 실험 시 balance chamber와 sample chamber에는 질소가스를 40 내지 60 ml/min으로 일정하게 공급하였으며, 온도 상승에 따라 발생하는 미립자 시료의 무게 변화는 Universal Analysis 2000 4.4A 버전 소프트웨어 프로그램에 자동적으로 기록하였다. 본 결과를 바탕으로 미립자에 존재하는 잔류 용매의 총량을 산출하였고, 그 결과를 도 14, 도 15 및 표 4에 나타내었다.

【표 4】

제조방법	분산용매	교반(재분산)시간	잔류 용매량
용매증발-추출 혼성법	에틸 아세테이트	2시간	3.401%
	에틸 아세테이트	5시간	2.132%
	메틸 프로피오네이트	2시간	3.543%
	메틸 프로피오네이트	5시간	1.995%
염기촉매 가수분해 반응-검화반응법	에틸 아세테이트	2시간	2.175%
	에틸 아세테이트	5시간	1.494%
	메틸 프로피오네이트	2시간	2.229%
	메틸 프로피오네이트	5시간	1.549%

도 14, 도 15 및 표 4에 나타난 바와 같이, 약물 함유 미립자 제조방법(용매증발-추출 혼성법 vs. 검화반응법)은 잔류 유기용매 용량에 현저한 영향을 미치는 것을 확인하였다. 메틸 프로피오네이트를 사용한 용매증발-추출 혼성법의 교반 시간을 2시간 보다는 5시간으로 설정하였을 때 상대적으로 적은 용량의 잔류용매(1.995%)가 확인되었다. 유기용매를 에틸 아세테이트로 치환한 후 동일한 조건에서 미립자를 제조하였을 때

잔류하는 에틸 아세테이트의 용량은 2.132%이었다(표 4). 검화반응법에 따라 미립자를 제조하였을 때(교반 시간 5시간) 잔류용매의 정도는 1.494 및 1.549%이었다.

이러한 결과들은 분산 유기용매로 사용한 메틸 프로피오네이트가 에틸 아세테이트보다 상대적으로 조금 높은 융점을 가지고 있음에도 불구하고, 약물 함유 미립자 제조방법 중에 유기용매를 효과적으로 제거할 수 있음을 뒷받침하고 있다.

실시예 9. 에치닐 에스트라다이올이 함유된 미립자 제조

9-1: 약물 함유 미립자 제조

메틸 프로피오네트를 사용하여 에치닐 에스트라다이올(ethynyl estradiol)을 봉입한 미립자를 제조하였다. 분산상은 메틸 프로피오네이트 4 ml에 5.5E PLGA 0.25 g 및 에치닐 에스트라다이올 25 mg을 함께 녹여 만들었다. 본 분산상을 500 rpm으로 교반되고 있는 40 ml 0.5% PVA에 넣어 5분 경과 후 40 ml 0.5% PVA를 추가로 넣어주었다. 30분간 교반을 지속한 후에 온도를 37도로 올려 2시간 동안 교반하였다. 미립자를 여과하여 수거하고 진공 건조하였다.

도 16에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하여 에치닐 에스트라다이올을 함유한 미립자들은 모두 구형의 형상을 띄고 있음을 확인하였다.

9-2: 에치닐 에스트라다이올의 함유율 확인

에치닐 에스트라다이올의 봉입률 시험은 다음과 같이 실시하였다. 상기 제조된 미립자를 4 ml의 테트라하이드로퓨란에 녹인 후 아세토니트릴을 사용해 10배 희석하였다. 이때 생성되는 PLGA 침전물을 0.45㎛ 공극을 지닌 나일론 필터로 제거한 후 여과액 용액 20㎕를 HPLC에 주입하여 에치닐 에스트라다이올의 농도를 측정하였다. 분석용 칼럼은 Phenomenex사의 Luna c18 5㎛(150 x 4.6 ㎜)을 사용하였고, 이동상으로는 물:아세토니트릴(45:55) 혼합액을 사용하였다. 이동상의 유속은 1 ml/min이었고 칼럼으로 유출되는 에치닐 에스트라다이올은 파장 228 ㎚에서 검출하였다.

그 결과, 에치닐 에스트라다이올의 함유율은 65.77 ± 1.18%이었다. 본 실험 결과를 통하여 메틸 프로피오네이트를 사용하여 구형의 PLGA 미립자를 제조할 수 있으며, 또한 에치닐 에스트라다이올을 성공적으로 미립자에 봉입할 수 있음을 확인할 수 있었다.

실시예 10. 메스트라놀이 함유된 미립자 제조

10-1: 약물 함유 미립자 제조

메틸 프로피오네트를 사용하여 메스트라놀(mestranol)을 봉입한 미립자를 제조하였다. 분산상은 메틸 프로피오네이트 4 ml에 5.5E PLGA 0.25 g 및 메스트라놀 25 mg을 함께 녹여 제조하였다. 이러한 분산상을 500 rpm으로 교반되고 있는 40 ml 0.5% PVA에 넣어 5분 경과 후 40 ml 0.5% PVA를 추가로 넣어주었다. 30분간 교반을 지속한 후에 온도를 37도로 올려 2시간 동안 교반하였다. 미립자를 여과하여 수거하고 진공 건조하였다.

도 17에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하여 메스트라놀을 함유한 미립자들은 모두 구형의 형상을 띄고 있음을 확인하였다.

10-2: 메스트라놀의 함유율 확인

메스트라놀 봉입률 측정은 다음과 같이 실시하였다. 앞서 제조된 미립자를 4 ml의 테트라하이드로퓨란에 녹인 후 아세토니트릴을 사용해 10배 희석하였다. 이때 생성되는 PLGA 침전물을 0.45㎛ 공극을 지닌 나일론 필터로 제거한 후 여과액 용액 20㎕를 HPLC에 주입하여 메스트라놀 농도를 측정하였다. 분석용 칼럼은 Phenomenex사의 Luna c18 5㎛(150 x 4.6 ㎜)을 사용하였고, 이동상으로는 물:아세토니트릴(3:7) 혼합액을 사용하였다. 이동상의 유속은 1 ml/min이었고 칼럼으로 유출되는 메스트라놀은 파장 280 ㎚에서 검출하였다.

그 결과, 측정한 메스트라놀 약물 함유율은 90.53 ± 5.36%이었다. 본 실험 결과를 통하여 메틸 프로피오네이트를 사용하여 메스트라놀을 함유한 구형의 PLGA 미립자를 제조할 수 있으며, 또한 높은 약물 봉입률을 확보할 수 있음을 알 수 있었다.

실시예 11. 염기촉매 가수분해 반응에 따른 메스트라놀이 함유된 미립자 제조

5.5E PLGA 0.25g과 메스트라놀 25mg을 메틸 프로피오네이트 4 ml에 완전히 녹인 후 500 rpm의 속도로 교반하는 0.5% PVA 수용액 40 ml에 넣고 o/w 유제를 형성하였다. 교반 시간 5분이 경과한 후 10N-NaOH 4.1 ml을 넣어 30분간 반응 시켜 유제 방울을 미립자로 경화시켜 주었다. 그 후 37℃를 유지하여 2시간 동안 교반을 지속한 후 여과를 통해 미립자를 수거하고, 진공 건조를 해주었다. 본 제조공정을 따랐을 때 메스트라놀 함유율은 92.20 ± 1.58% 이었다.

그 결과, 도 18에 나타난 바와 같이, 메틸 프로피오네이트를 분산용매로 사용하고 염기촉매 가수분해 반응을 이용하여 제조한 메스트라놀을 함유한 미립자들은 모두 구형의 형상을 띄고 있음을 확인하였다.

전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

고분자 화합물과 용매로서 메틸 프로피오네이트(methyl propionate)를 이용하여 고분자 미립자를 제조하는 방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서,

상기 방법은 고분자 화합물을 메틸 프로피오네이트에 용해 또는 분산시켜 분산상을 형성하는 단계;

상기 분산상에 수상을 첨가하여 유제를 형성하는 단계; 및

상기 유제를 미립자로 전환시키는 단계를 포함하는 방법.

【청구항 3】

제2항에 있어서,

상기 유제를 형성하는 단계에서 유화제를 첨가하는 방법.

【청구항 4】

제2항에 있어서,

상기 고분자는 폴리락트산(PLA), 폴리(락트산-코-글리콜산)(PLGA), 폴리락타이드, 폴리글리콜산, 폴리포스파진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르, 폴리언하이드라이드(polyanhydride), 폴리오르소에스테르(polyorthoester), 락트산/글리콜산과 카프로락톤의 공중합체, 폴리카프로락톤, 폴리하이드록시발레이트, 폴리하이드록시부티레이트, 폴리아미노산, 락트산과 아미노산의 공중합체 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

【청구항 5】

제3항에 있어서,

상기 유화제는 폴리비닐알코올, 폴리소베이트 20, 폴리소베이트 60, 폴리소베이트 65, 폴리소베이트 80, 폴리소베이트 85, 레시틴(lecithin),

소르비탄스테아레이트(sorbitan stearate), 모노- 및 디글리세라이드, 아세틸레이티드 모노글리세라이드, 숙시닐레이트모노글리세라이드, 에톡시레이티드 모노- 및 디글리세라이드, 글리세릴모노올리에이트, 글리세릴모노스테아레이트, 글리세릴베헤네이트, 글리세릴카프레이트, 세틸 알코올, 스테아릴 알코올, 라놀린, 라놀린 알코올, 폴리글리세릴 올리에이트, 폴리글리세릴 스테아레이트, 폴리글리세릴 팔미테이트, 아라비아 검, 마그네슘 스테아레이트, 알루미늄 트리스테아레이트 또는 이들의 수용액인 방법.

【청구항 6】

제2항에 있어서,

상기 미립자로 전환시키는 단계에서 0.5 시간 내지 5 시간 동안 교반하여 수행하는 것인 방법.

【청구항 7】

제2항에 있어서,

상기 미립자로 전환시키는 단계에서 용매증발; 용매추출; 분무건조(spray drying); 또는 용매증발 및 용매추출 혼합(hybrid) 방법으로 수행하는 것인 방법.

【청구항 8】

제7항에 있어서,

상기 미립자로 전환시키는 단계는 폴리비닐알코올 수용액을 첨가하여 수행하는 것인 방법.

【청구항 9】

제2항에 있어서,

상기 유제를 미립자로 전환시키는 단계에서, 상기 유제에 염기 또는 산 수용액을 첨가하여 수행하는 것인 방법.

【청구항 10】

제9항에 있어서,

상기 염기는 수산화나트륨(NaOH), 수산화칼륨(KOH), 암모니아수(NH4OH), 수산화리튬(LiOH), 수산화칼슘(Ca(OH)2), 수산화마그네슘(Mg(OH)2), 탄산수소나트륨(NaHCO3), 탄산나트륨(Na3CO3) 및 수소화나트륨(NaH)으로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

【청구항 11】

제9항에 있어서,

상기 산은 염산(HCl), 질산(HNO3), 인산(H3PO4), 황산(H2SO4), 붕산(B2O), 불산(HF), 브롬산(HBr) 및 과염소산(HClO4)으로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

【청구항 12】

제2항에 있어서,

상기 미립자는 구형인 방법.

【청구항 13】

제2항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

약물을 메틸 프로피오네이트와 고분자 화합물의 분산상에 혼합하여 상기 미립자에 약물을 함유시키는 방법.

【청구항 14】

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항의 제조방법으로 제조된 미립자.

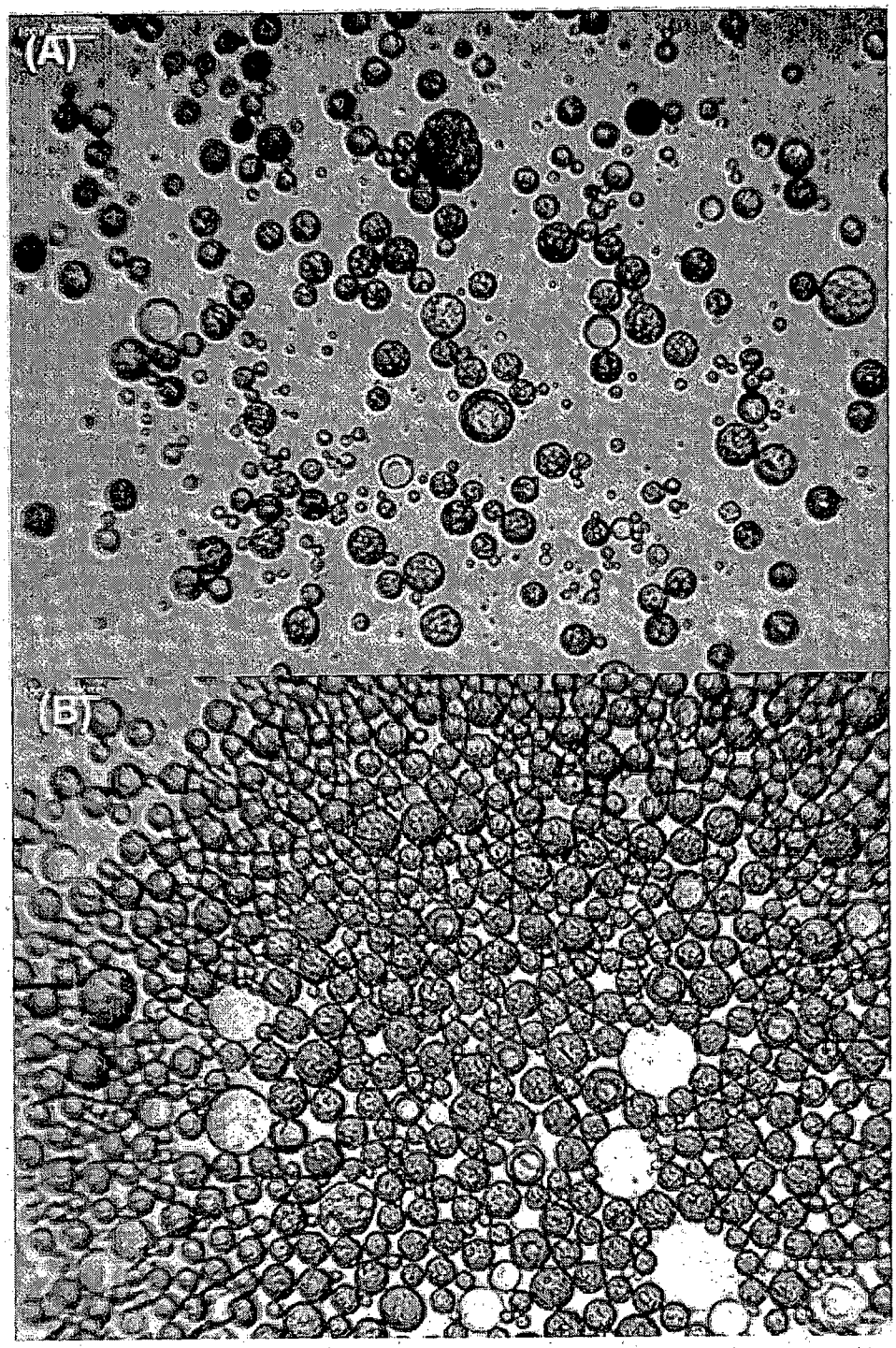
【청구항 15】

제14항에 있어서,

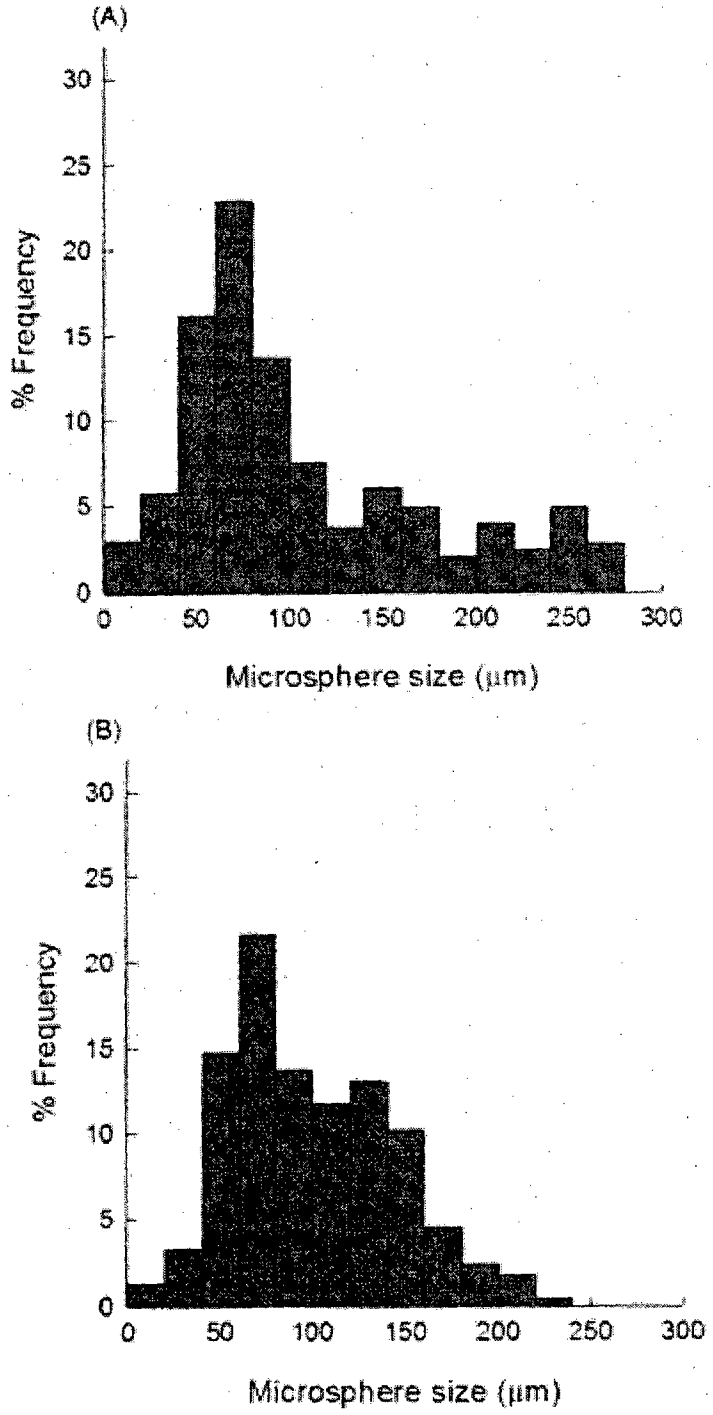
상기 미립자는 약물을 추가로 포함하는 미립자.

【도면】

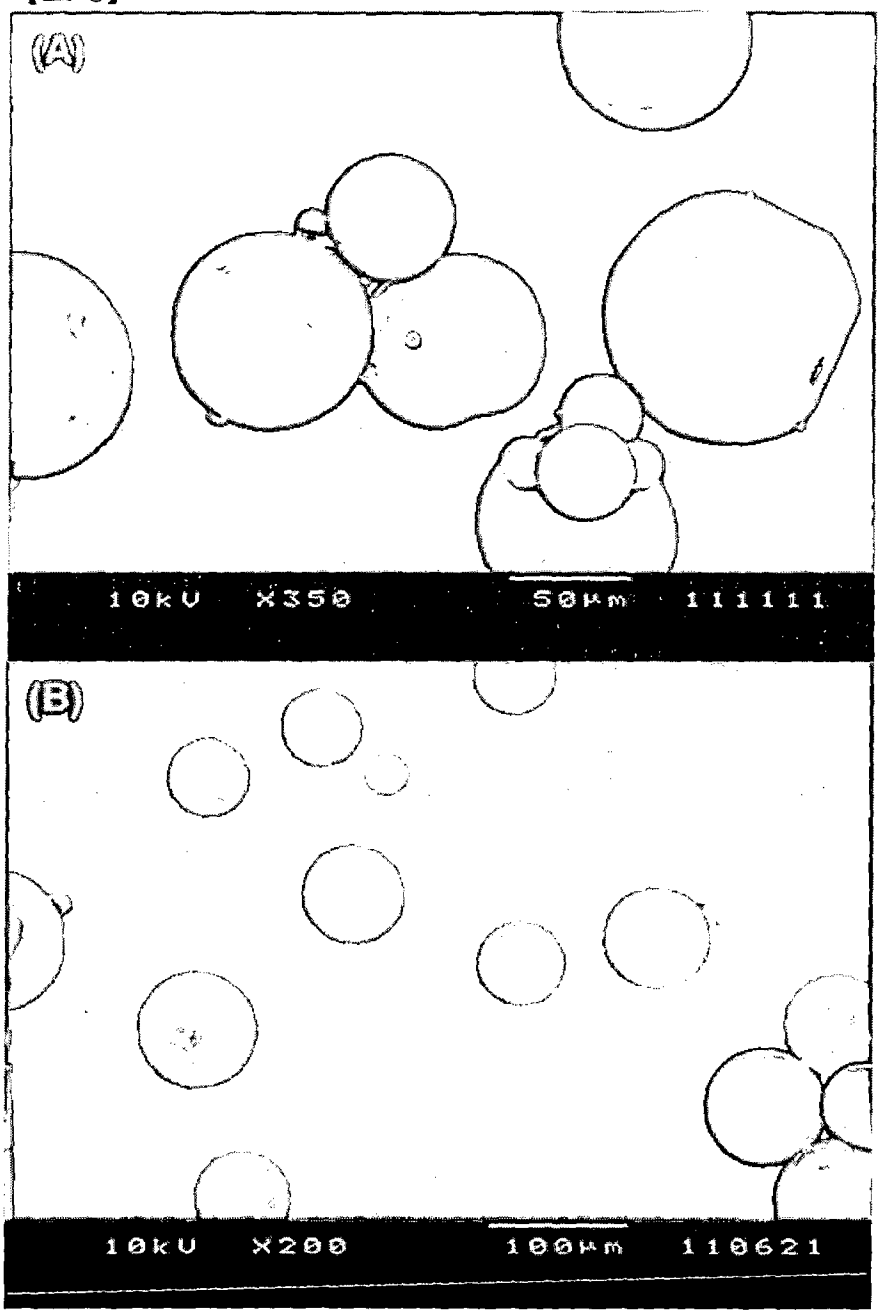
【도 1】



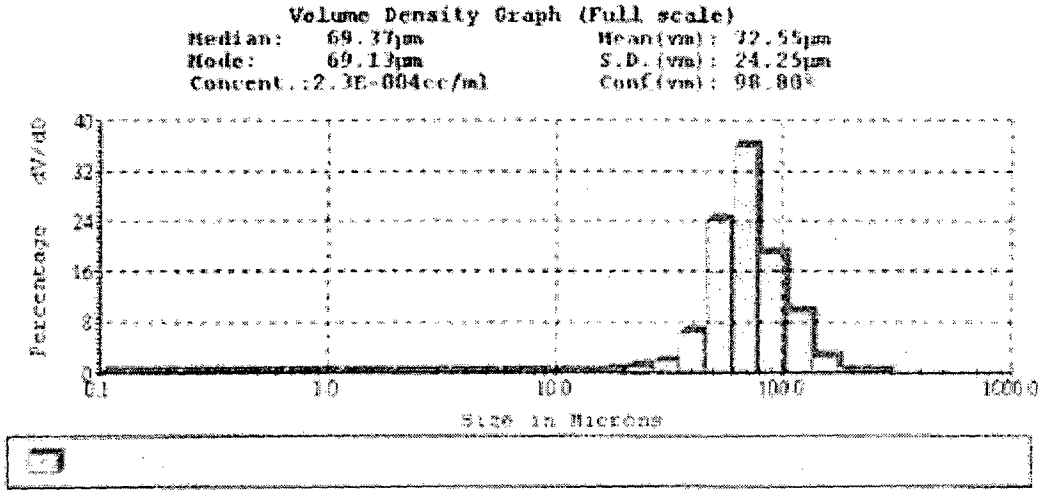
【도 2】

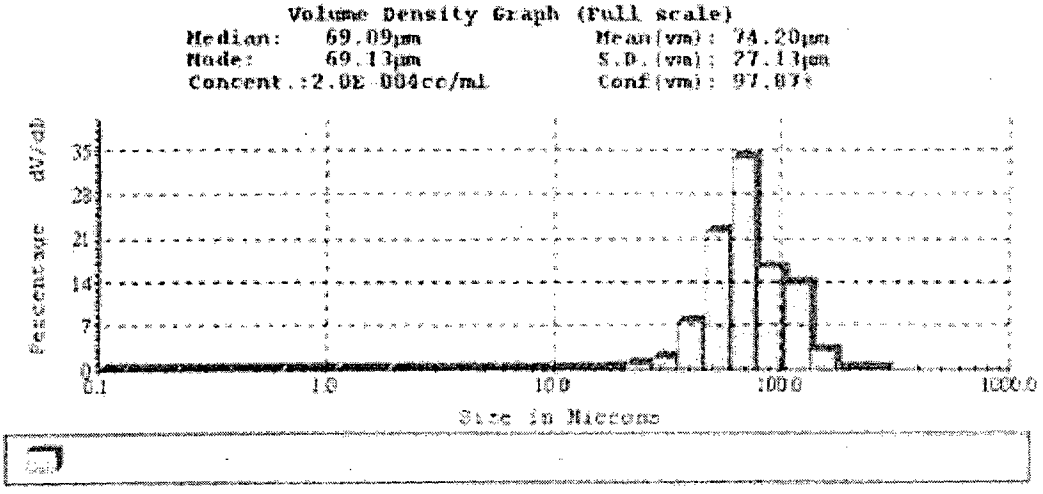

(A)
% Frequency
0
5
10
15
20
25
30
0
50
100
150
200
250
300
Microsphere size (μm)
(B)
% Frequency
0
5
10
15
20
25
30
0
50
100
150
200
250
300
Microsphere size (μm)

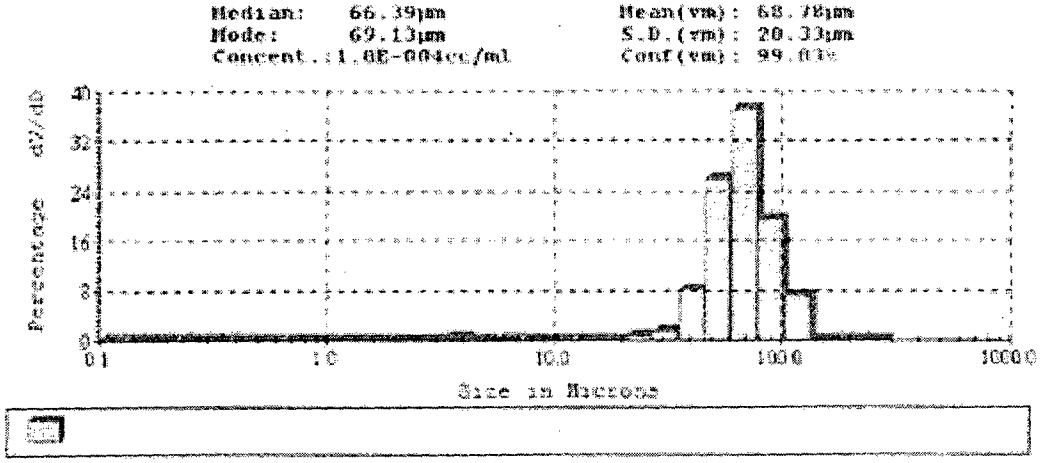
【도 3】



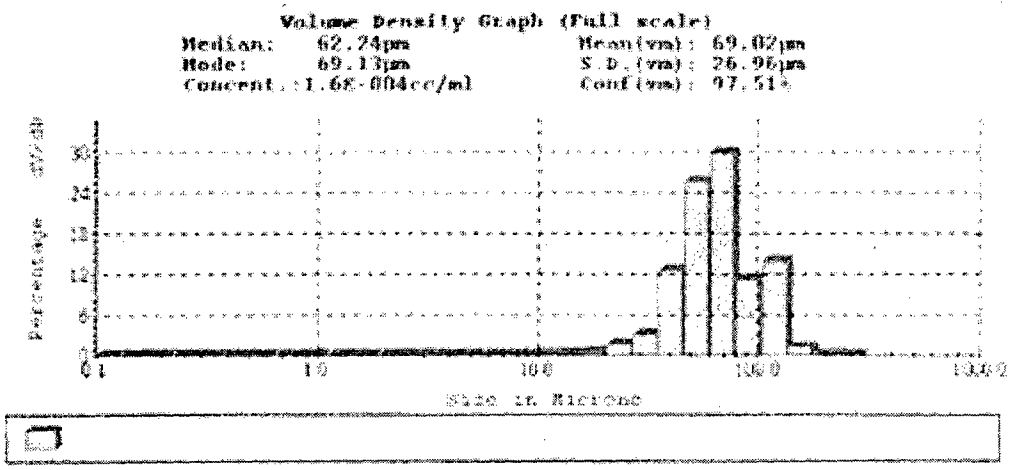
【도 4】

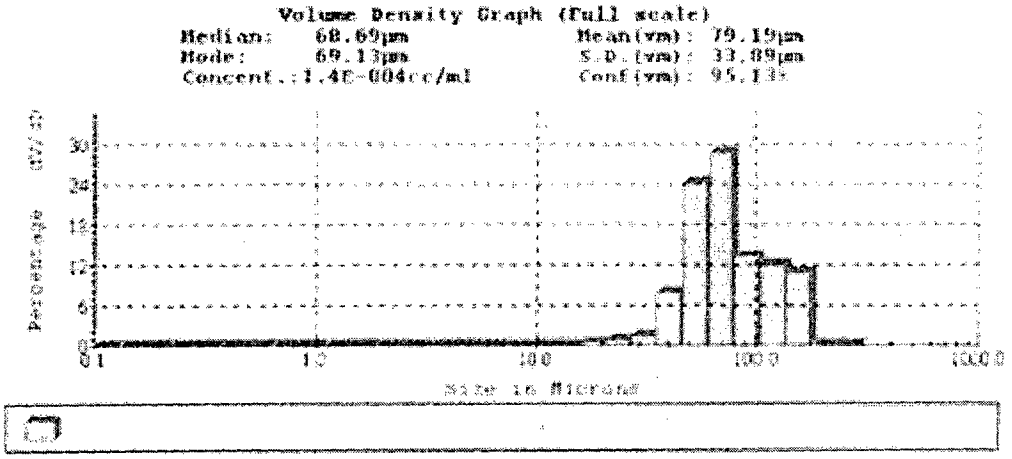

Volume Density Graph (Full scale)
Median: 69.37μm
Mode: 69.13μm
Concent.:2.3E-004cc/ml
Mean(vm): 72.55μm
S.D.(vm): 24.25μm
Conf(vm): 98.80%
Percentage dV/dD
Size in Microns

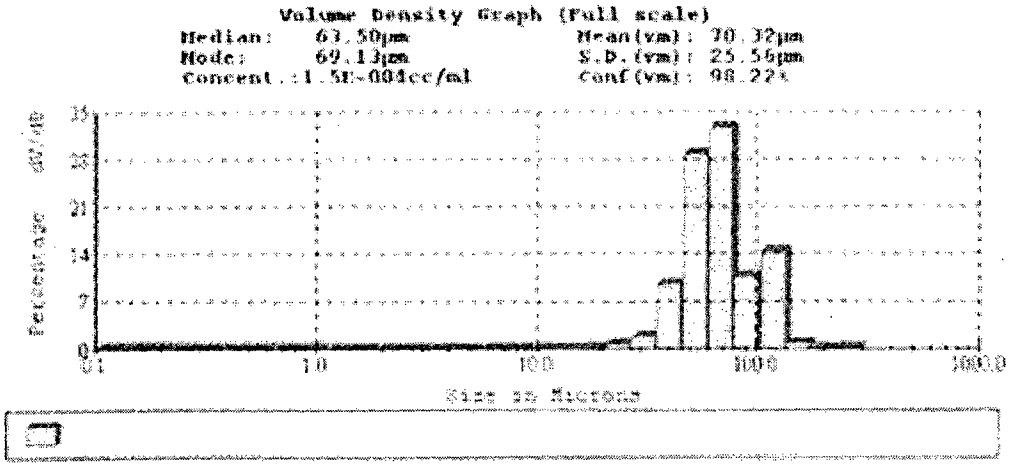

Volume Density Graph (Full scale)
Median: 69.09μm
Mode: 69.13μm
Concent.:2.0E-004cc/ml
Mean(vm): 74.20μm
S.D.(vm): 27.13μm
Conf(vm): 97.87%
Percentage dV/dD
Size in Microns


Median: 66.39μm
Mode: 69.13μm
Concent.:1.8E-004cc/ml
Mean(vm): 68.78μm
S.D.(vm): 20.33μm
Conf(vm): 99.01%
Percentage dV/dD
Size in Microns

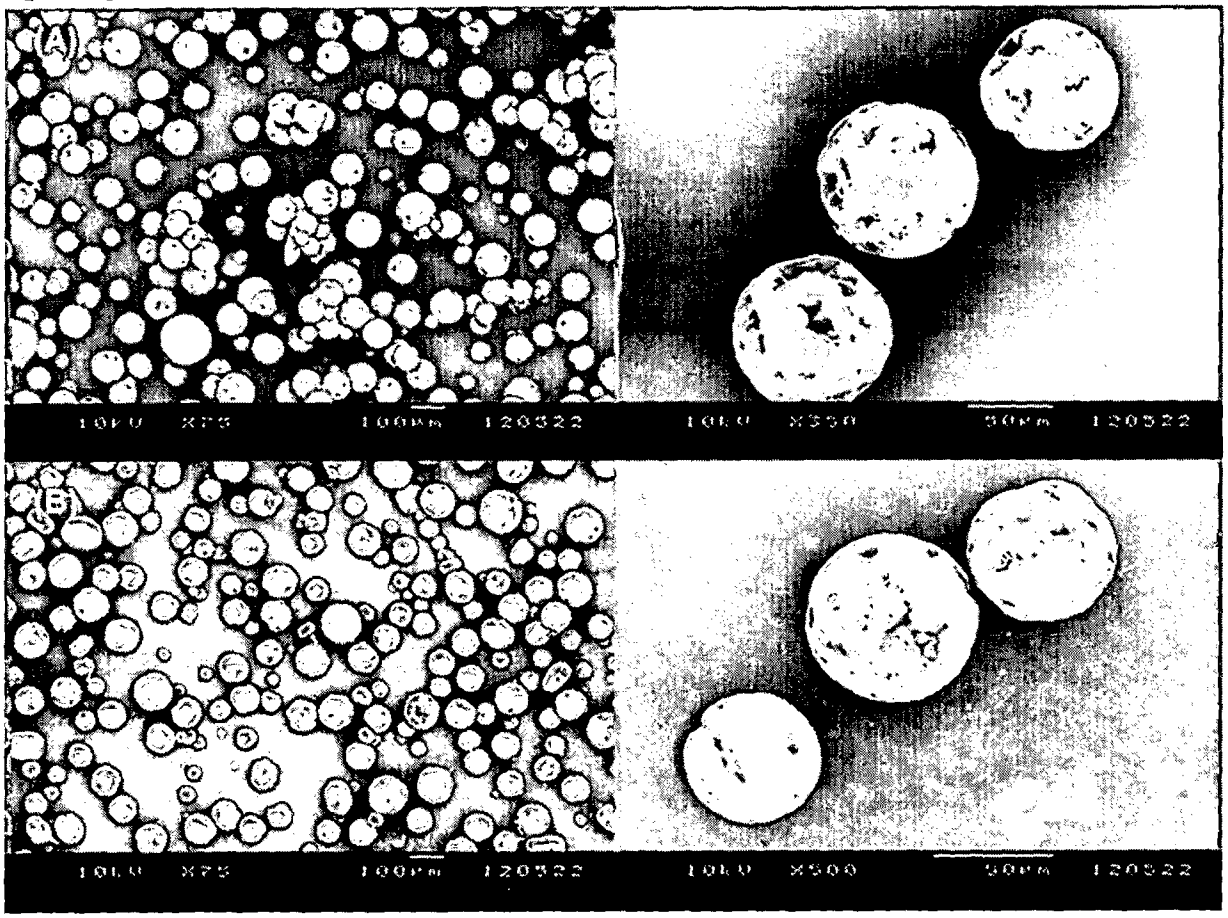
【도 5】


Volume Density Graph (Full scale)
Median: 62.24μm
Mode: 69.13μm
Concent.: 1.6E-004cc/ml
Mean(vm): 69.02μm
S.D.(vm): 26.96μm
Conf(vm): 97.51%
Percentage dV/dD
Size in Microns

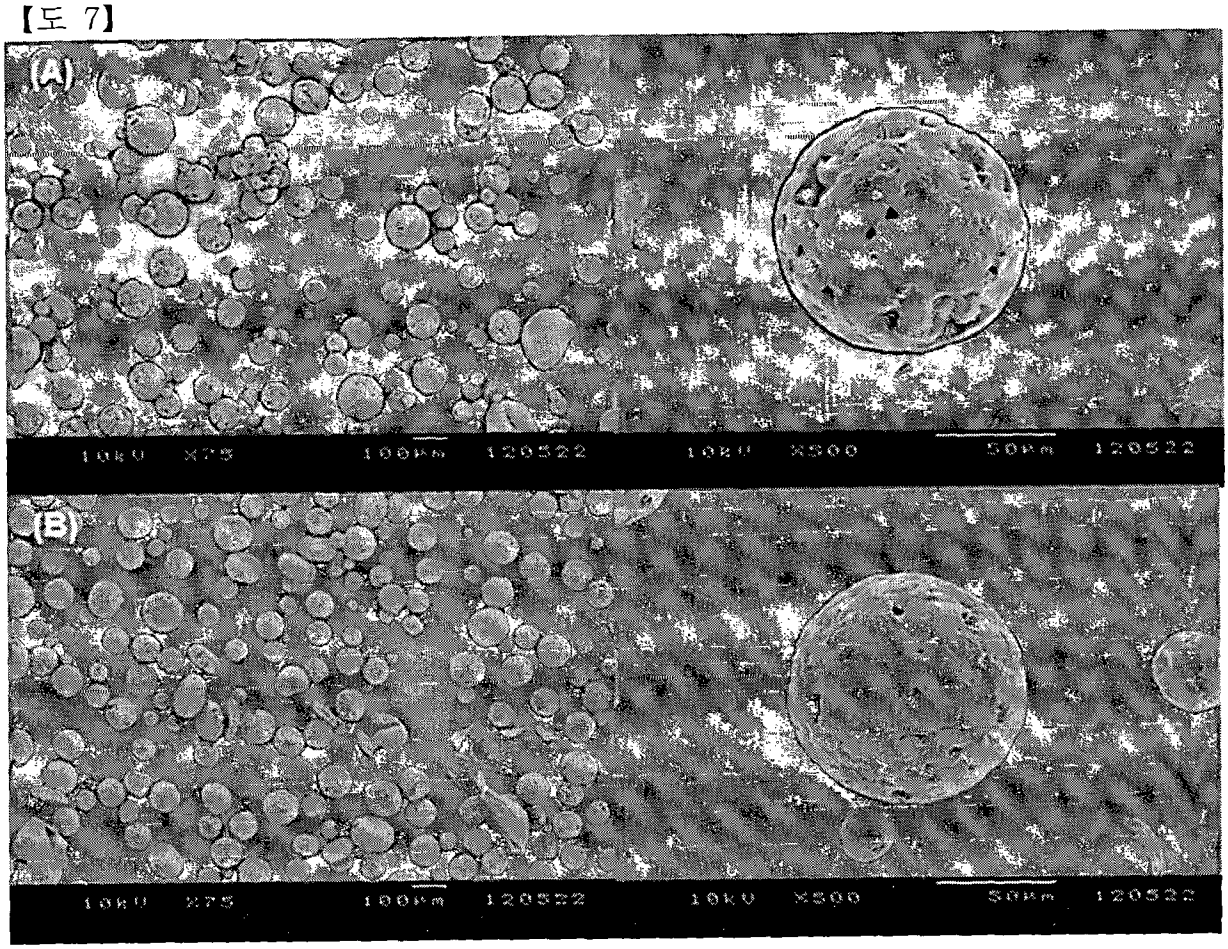

Volume Density Graph (Full scale)
Median: 68.69μm
Mode: 69.13μm
Concent.: 1.4E-004cc/ml
Mean(vm): 79.19μm
S.D.(vm): 33.89μm
Percentage dV/dD
Size in Microns


Volume Density Graph (Full scale)
Median: 63.50μm
Mode: 69.13μm
Concent.: 1.5E-004cc/ml
Mean(vm): 70.32μm
S.D.(vm): 25.56μm
Conf(vm): 98.22%
Percentage dV/dD
Size in Microns

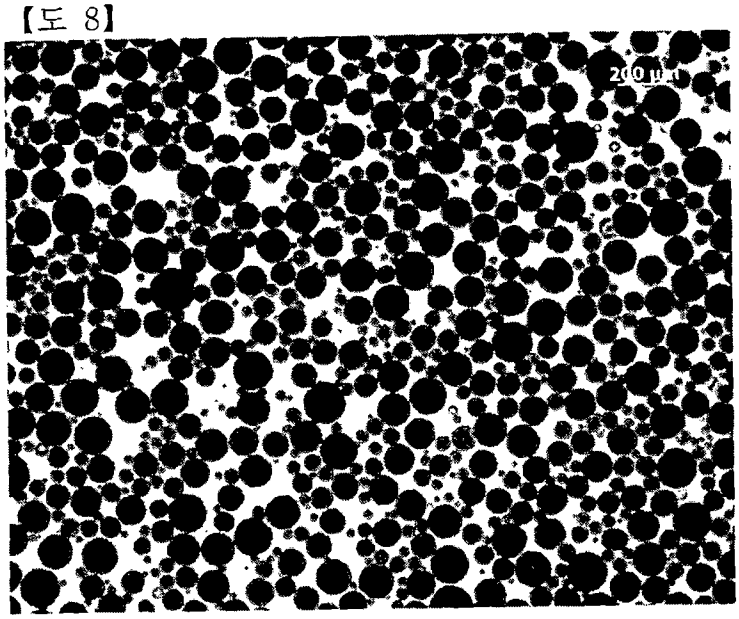
【도 6】


(A)
10kV X75 100μm 120322
10kV X500 50μm 120322
(B)
10kV X75 100μm 120322
10kV X500 50μm 120322

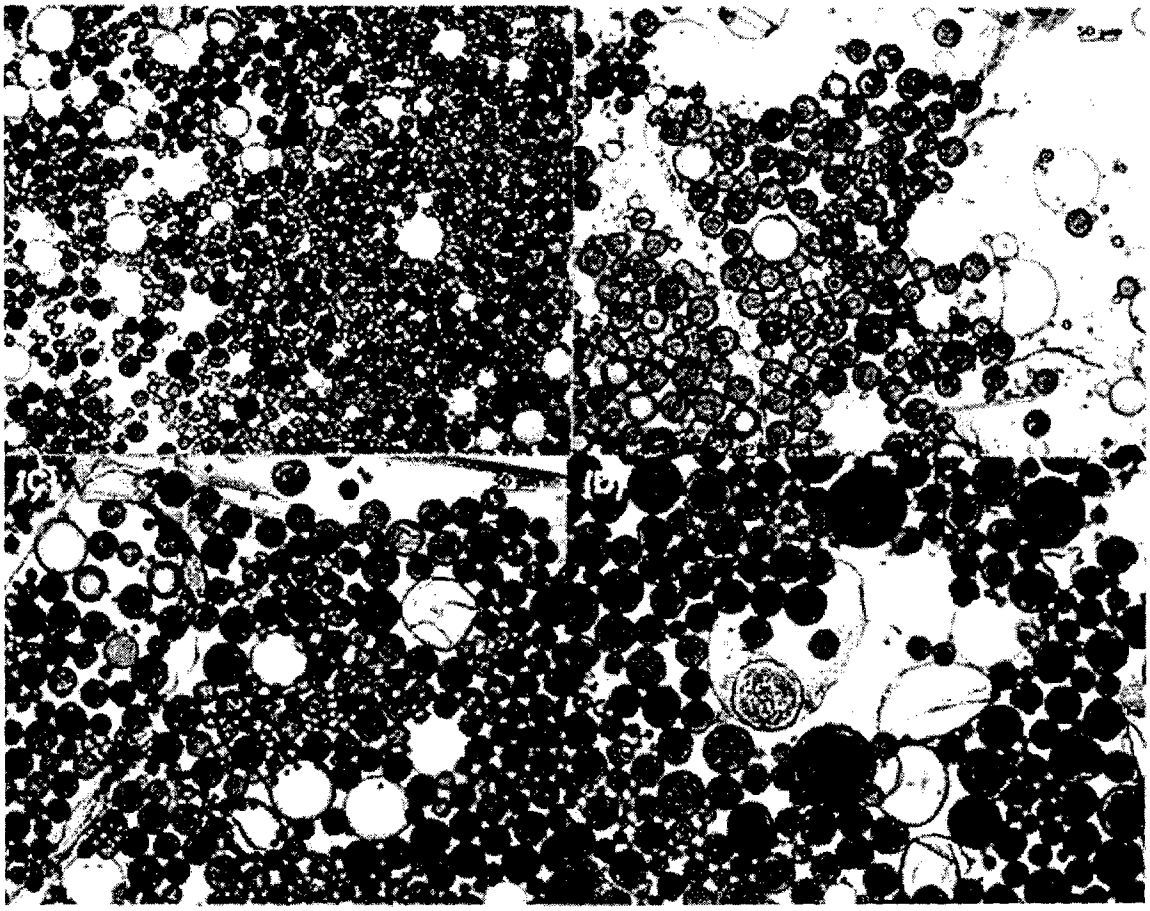
【도 7】


(A)
10kU X75 100μm 120522
10kU X500 50μm 120522
(B)
10kU X75 100μm 120522
10kU X500 50μm 120522

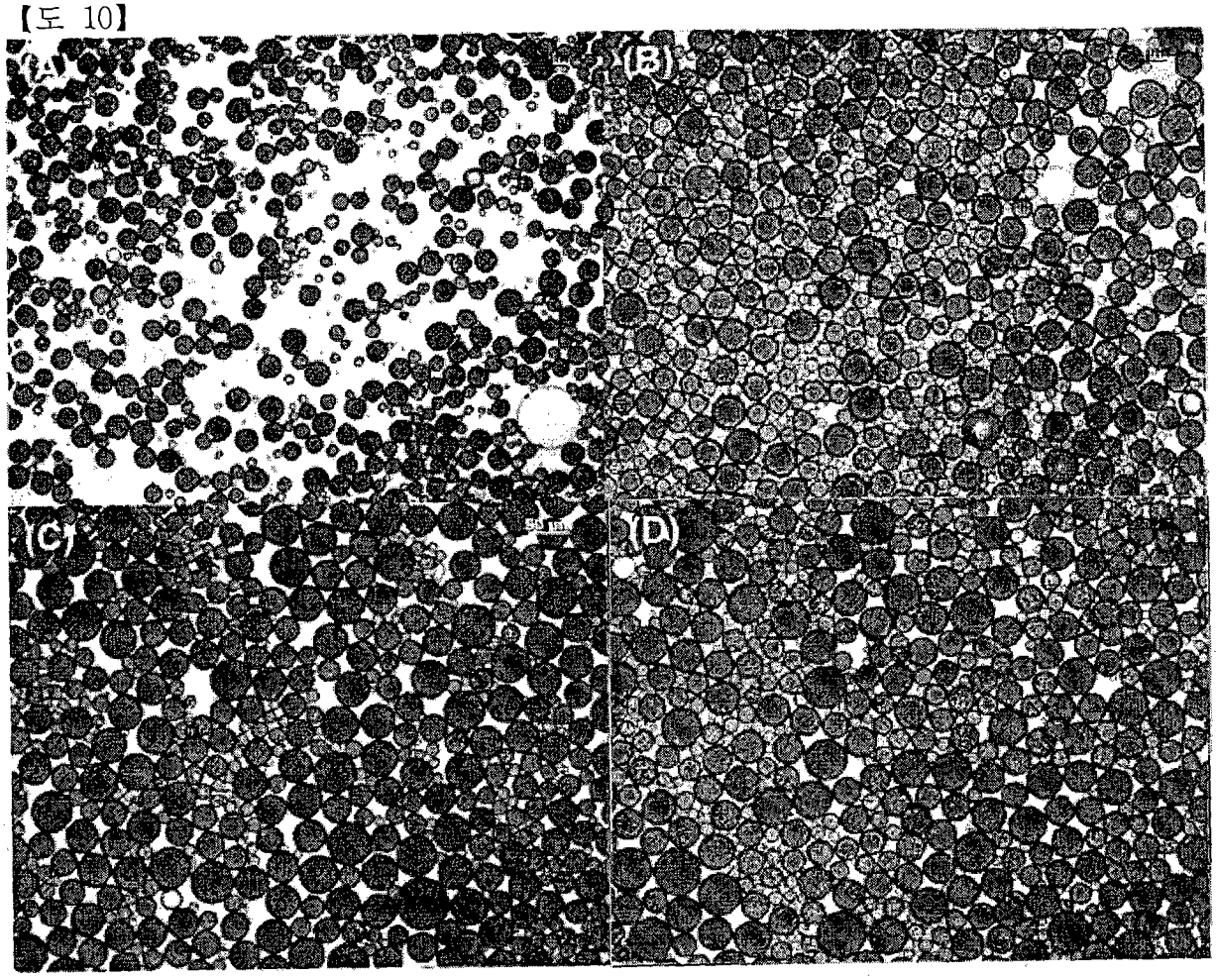
【도 8】



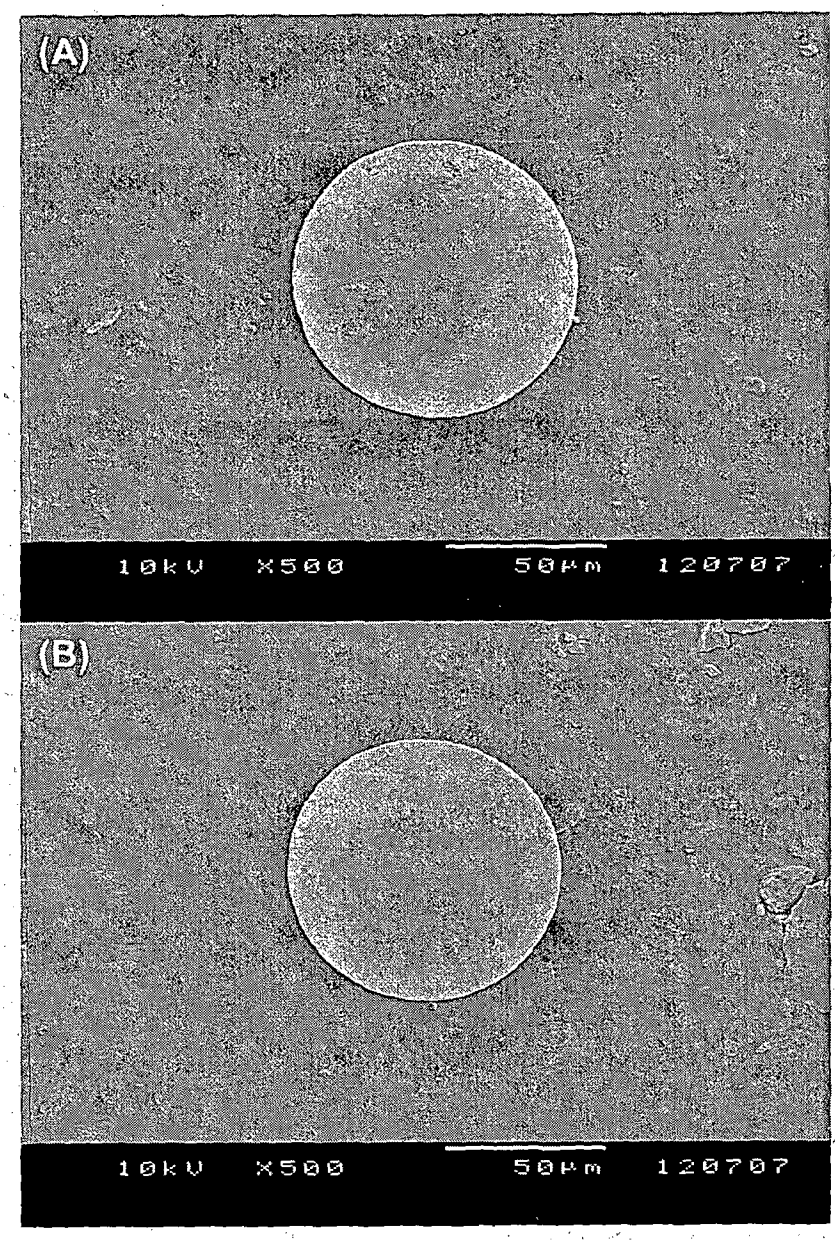
【도 9】



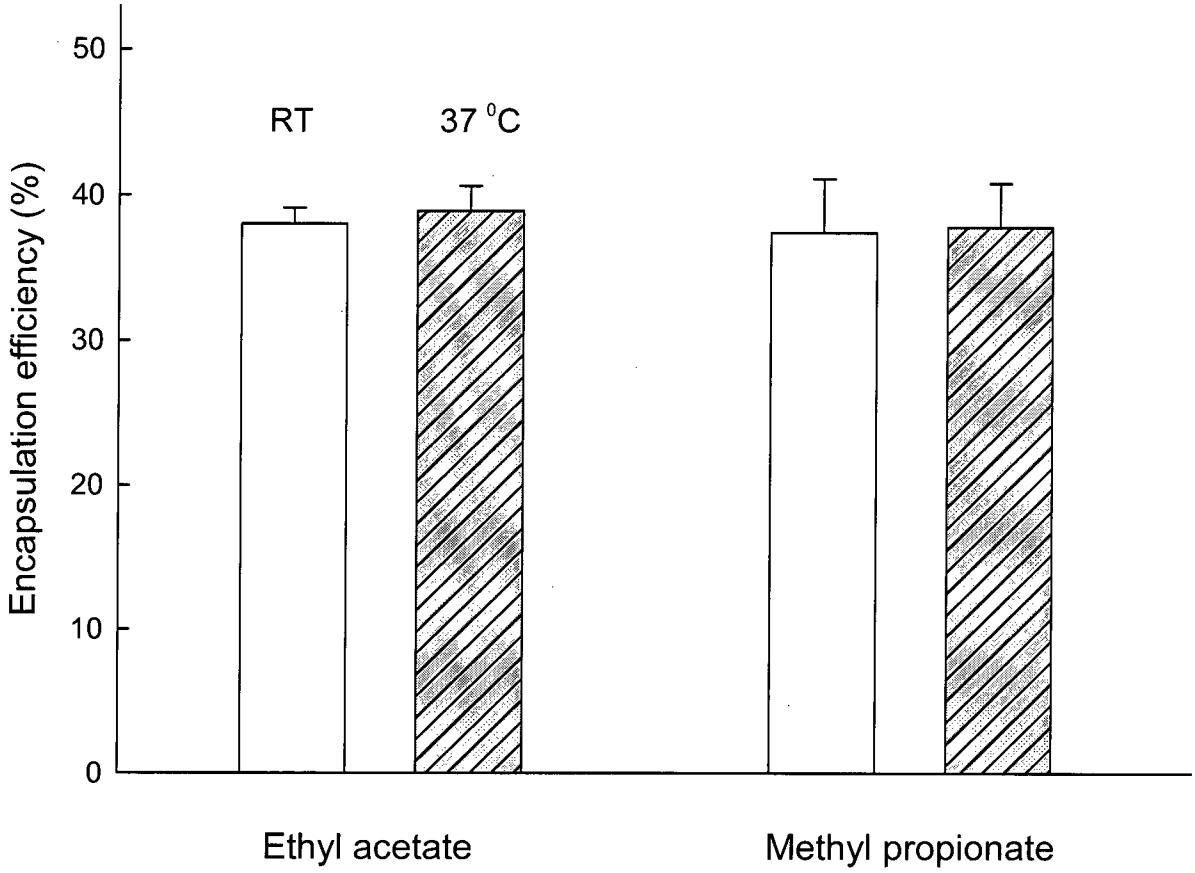
【도 10】



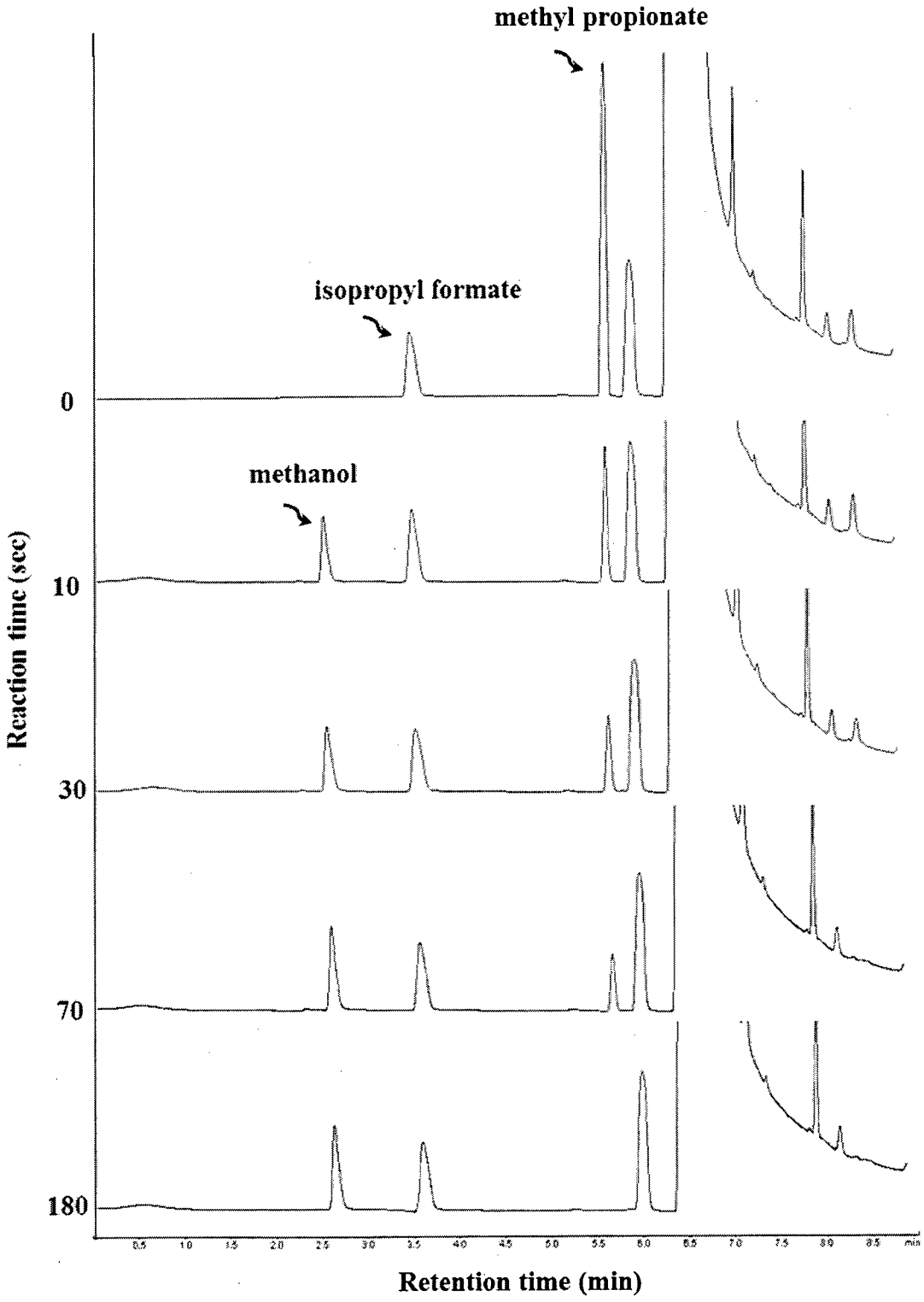
【도 11】



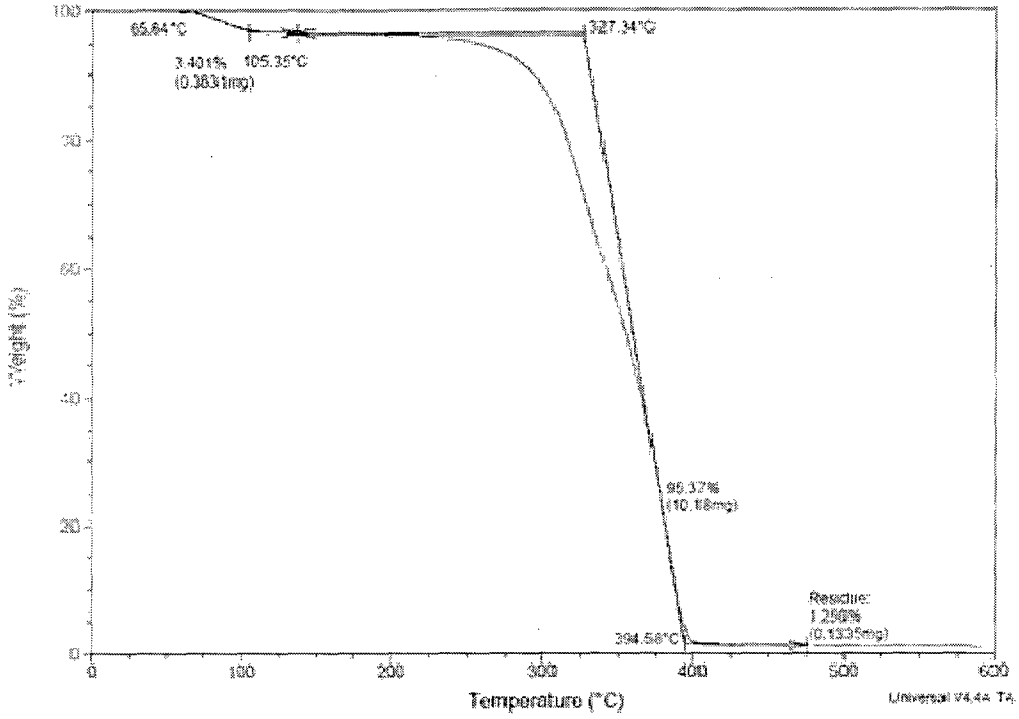
【도 12】


50
40
30
20
10
0
Encapsulation efficiency (%)
RT
37 °C
Ethyl acetate
Methyl propionate

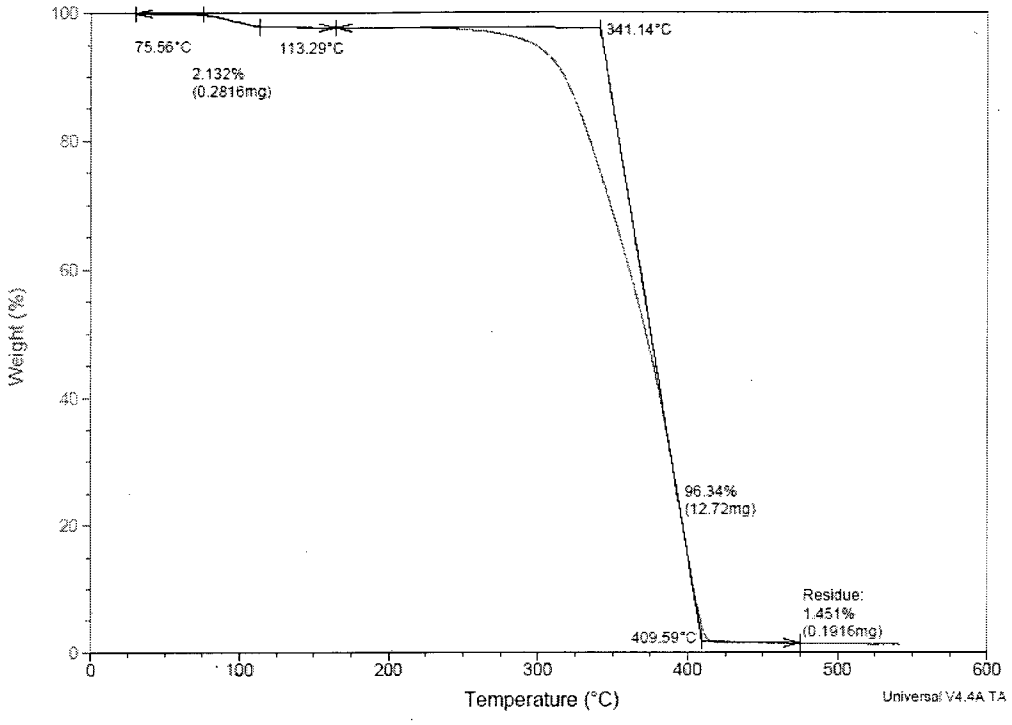
【도 13】


methyl propionate
isopropyl formate
methanol
0
10
30
70
180
Reaction time (sec)
Retention time (min)

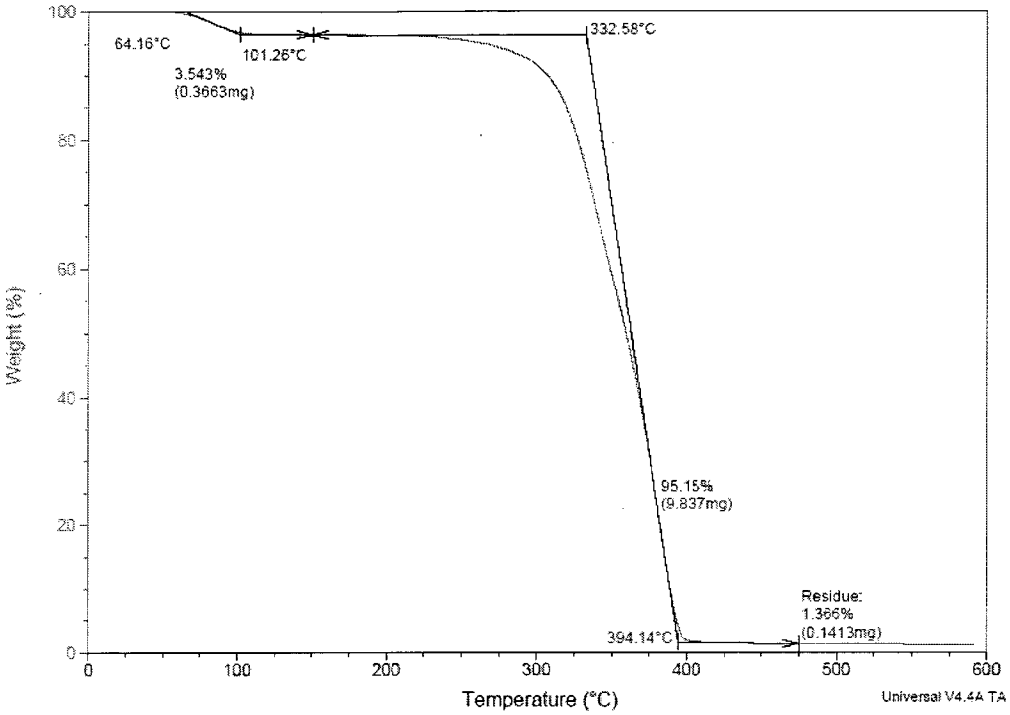
【도 14a】


95.84°C
3.401% 105.35°C
(0.3831mg)
327.34°C
96.37%
(10.86mg)
394.56°C
Residue:
1.250%
(0.1335mg)
Temperature (°C)
Universal V4.4A TA

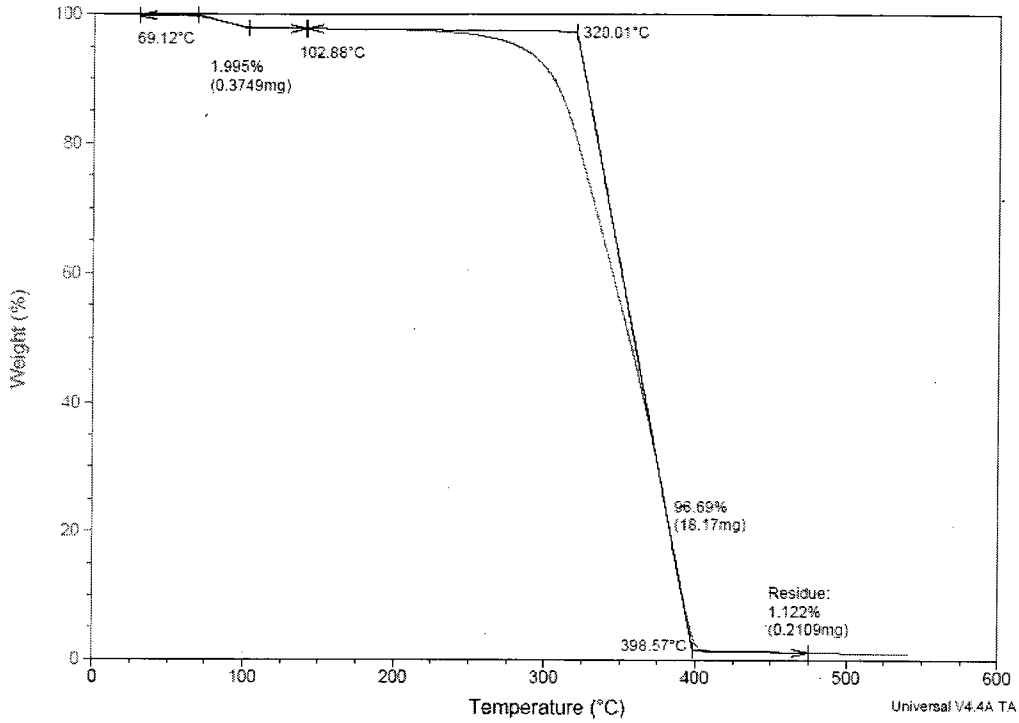
【도 14b】


100
80
60
40
20
0
Weight (%)
75.56°C
113.29°C
341.14°C
2.132%
(0.2816mg)
96.34%
(12.72mg)
Residue:
1.451%
(0.1916mg)
409.59°C
0
100
200
300
400
500
600
Temperature (°C)
Universal V4.4A TA

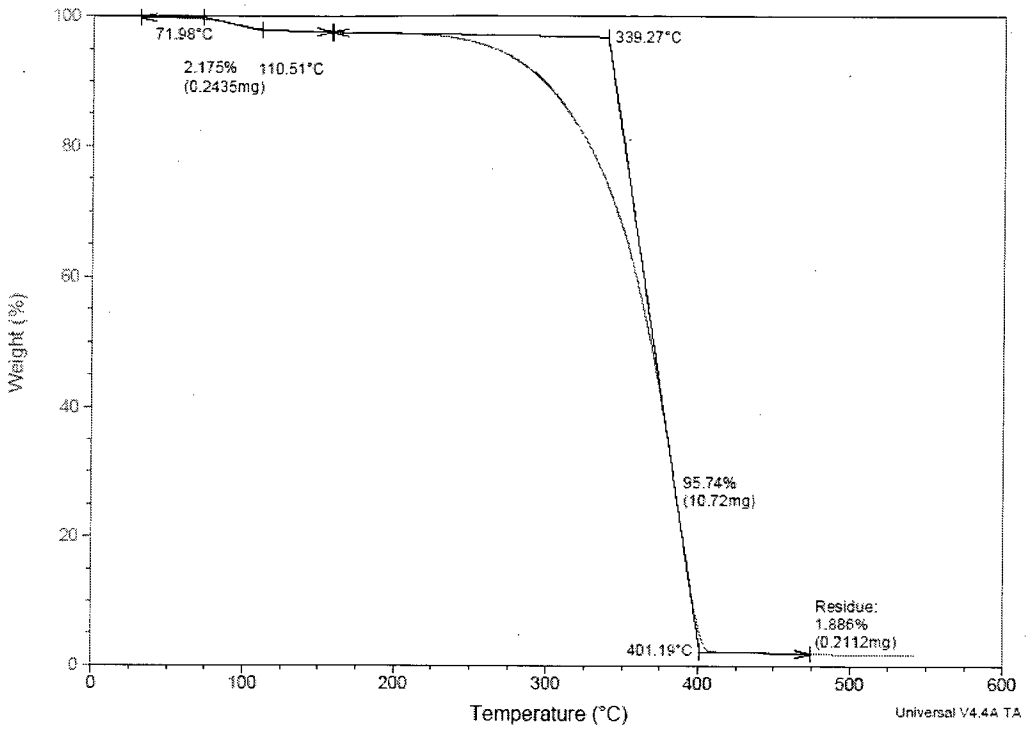
【도 14c】


64.16°C
101.26°C
3.543%
(0.3663mg)
332.58°C
95.15%
(9.837mg)
394.14°C
Residue:
1.366%
(0.1413mg)
Weight (%)
Temperature (°C)
Universal V4.4A TA

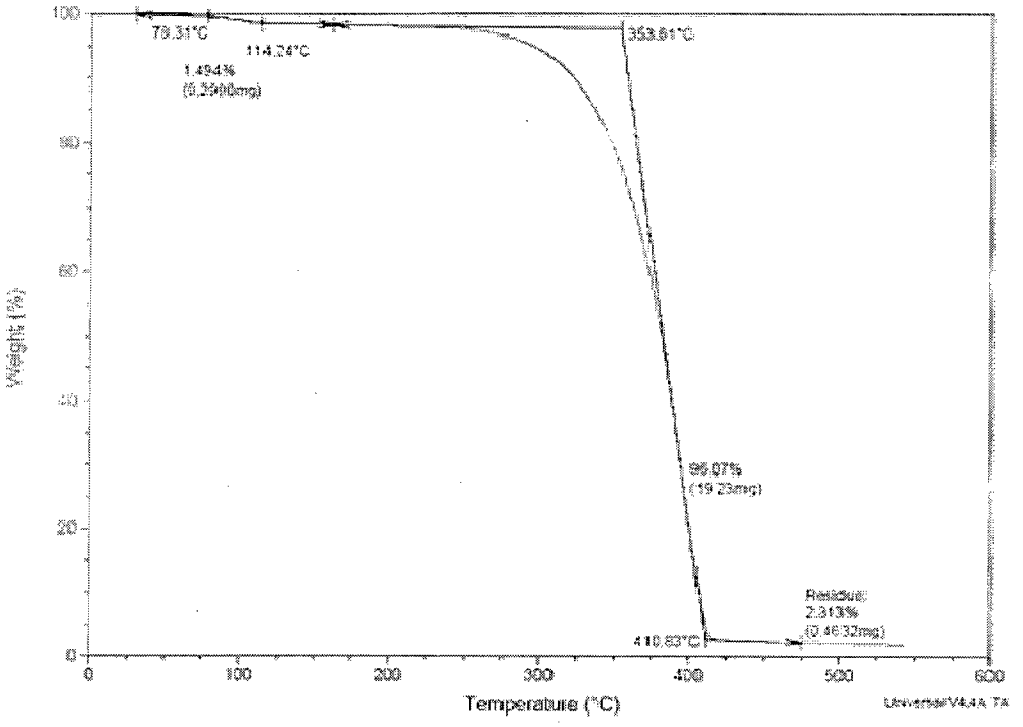
【도 14d】


69.12°C
1.995%
(0.3749mg)
102.88°C
320.01°C
96.69%
(18.17mg)
Residue:
1.122%
(0.2109mg)
398.57°C
Weight (%)
Temperature (°C)
Universal V4.4A TA

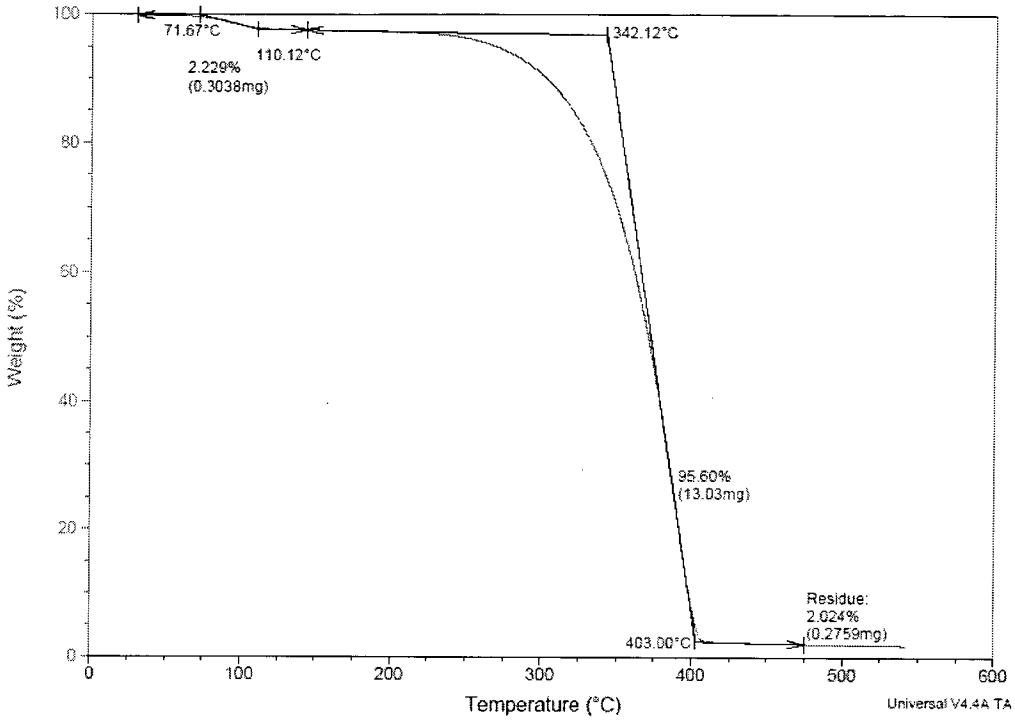
【도 15a】


71.98°C
339.27°C
2.175%
(0.2435mg)
110.51°C
95.74%
(10.72mg)
Residue:
1.886%
(0.2112mg)
401.19°C
Weight (%)
Temperature (°C)
Universal V4.4A TA

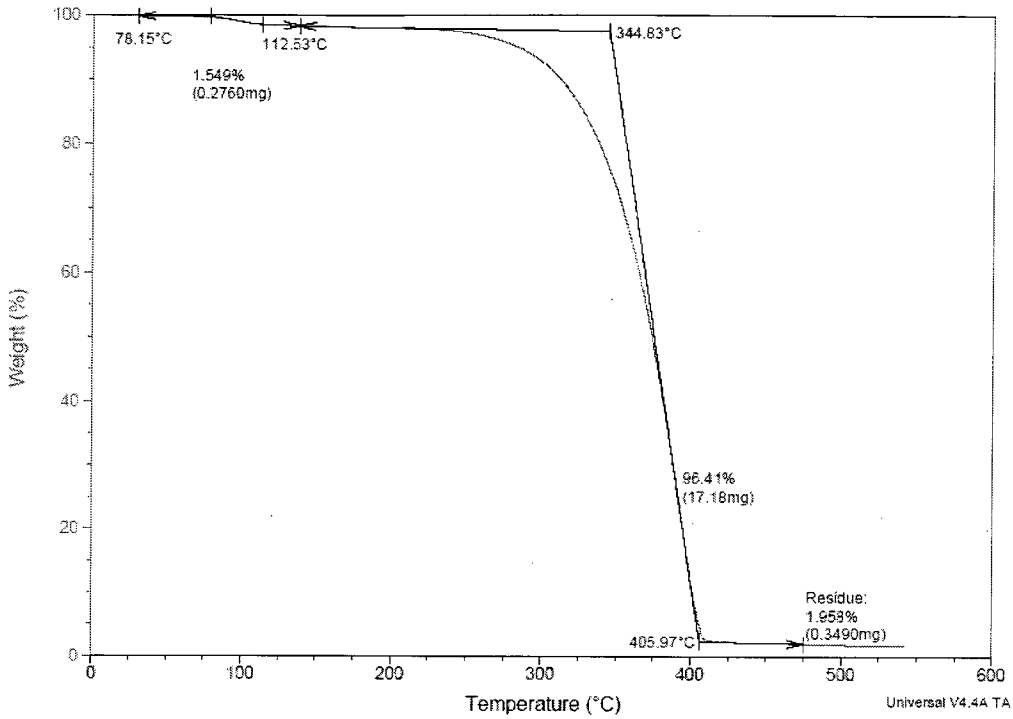
【도 15b】


79.31°C
114.24°C
1.494%
353.81°C
96.07%
Residue
2.313%
410.83°C
Weight (%)
Temperature (°C)
0
100
200
300
400
500
600

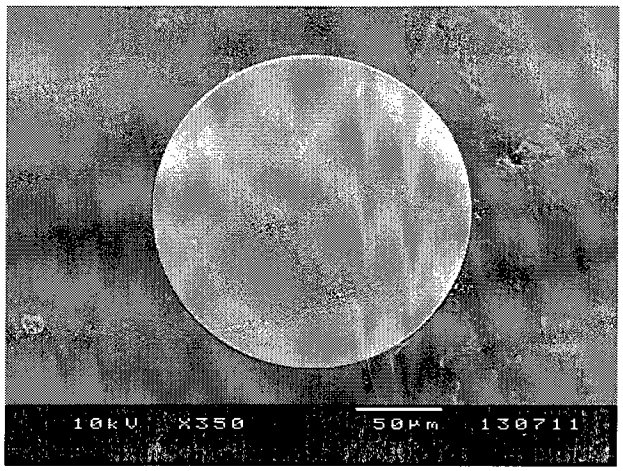
【도 15c】


71.67°C
110.12°C
2.229%
(0.3038mg)
342.12°C
95.60%
(13.03mg)
Residue:
2.024%
(0.2759mg)
403.00°C
Weight (%)
Temperature (°C)
Universal V4.4A TA

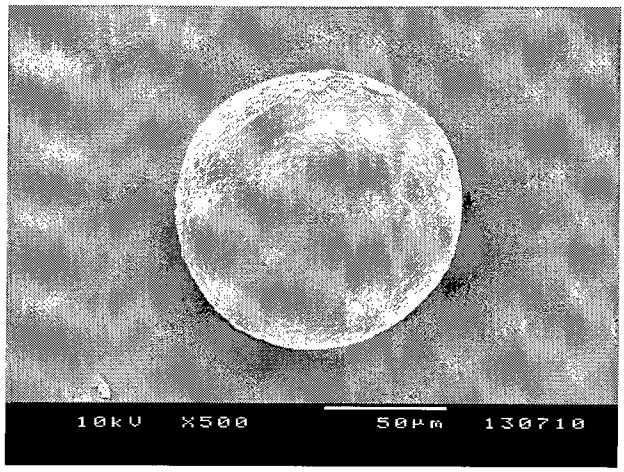
【도 15d】


78.15°C
112.53°C
344.83°C
1.549%
(0.2760mg)
96.41%
(17.18mg)
Residue:
1.958%
(0.3490mg)
405.97°C
Weight (%)
Temperature (°C)
Universal V4.4A TA

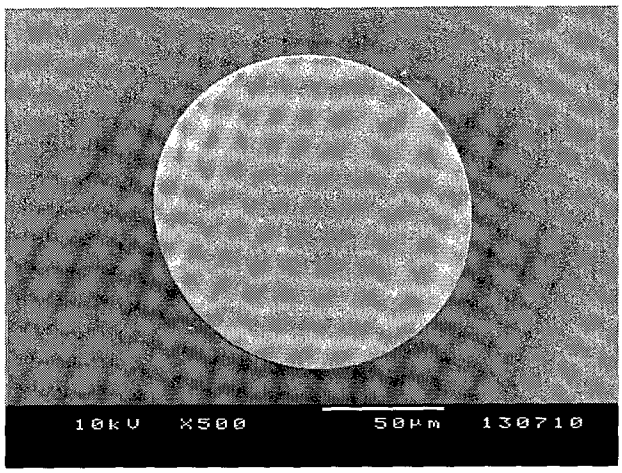
【도 16】



【도 17】



【도 18】



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2013/012322

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/16(2006.01)i, A61K 9/14(2006.01)i, A61K 47/30(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 9/16; A61K 9/14; A61K 31/74; A61K 9/58; A61K 47/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), GOOGLE & Keywords: polymer, methyl propionate, polylactic acid, polyvinylalcohols, sodium hydroxide, hydrochloric acid, microsphere, methyl propionate, PLA, PLGA, PVA, NaOH, HCl, microsphere

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2010-0054750 A (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION et al.) 25 May 2010 See abstract, claims 1-10, examples 1-11, [0026], [0028], [0031], [0033], [0038]-[0042].	1-15
Y	US 2010-0015240 A1 (BIGGS, Danielle) 21 January 2010 See abstract, [0030]-[0041], [0049]-[0061], [0123], claims 1-40.	1-15
A	Jeeyoung Jang and Hongkee Sah, "Nonhalogenated solvent-based solvent evaporation process useful in preparation of PLGA microspheres", Journal of Microencapsulation, 2011, vol. 28, no. 6, pp. 490-498. See the entire document.	1-15
A	Shashank Tiwari and Prerana Verma, "Microencapsulation technique by solvent evaporation method (Study of effect of process variables)", Int. J. of Pharm. & Life Sci. (IJPLS), 2011, vol. 2, no. 8, pp. 998-1005. See the entire document.	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 MARCH 2014 (26.03.2014)	**26 MARCH 2014 (26.03.2014)**

Name and mailing address of the ISA/KR
Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea
Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2013/012322

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2010-0054750 A	25/05/2010	AU 2009-314787 A1	20/05/2010
		CA 2743600 A1	20/05/2010
		CN 102209531 A	05/10/2011
		EP 2376071 A2	19/10/2011
		JP 2012-508731 A	12/04/2012
		US 2011-0217341 A1	08/09/2011
		WO 2010-056065 A2	20/05/2010
		WO 2010-056065 A3	21/10/2010
		WO 2010-056065 A9	20/05/2010
US 2010-0015240 A1	21/01/2010	CA 2730760 A1	21/01/2010
		EP 2315571 A1	04/05/2011
		EP 2315571 A4	01/05/2013
		JP 2011-528373 A	17/11/2011
		WO 2010-009291 A1	21/01/2010

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2013/012322

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 9/16(2006.01)i, A61K 9/14(2006.01)i, A61K 47/30(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 9/16; A61K 9/14; A61K 31/74; A61K 9/58; A61K 47/30

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), GOOGLE & 키워드: 고분자, 메틸 프로피오네이드, 폴리락트산, 폴리비닐 알콜, 수산화나트륨, 염산, 미립구, methyl propionate, PLA, PLGA, PVA, NaOH, HCl, microsphere

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2010-0054750 A (이화여자대학교 산학협력단 외 1명) 2010.05.25. 요약, 청구항 1-10, 실시예 1-11, [0026], [0028], [0031], [0033], [0038]-[0042] 참조.	1-15
Y	US 2010-0015240 A1 (DANIELLE BIGGS) 2010.01.21. 초록, [0030]-[0041], [0049]-[0061], [0123], 청구항 1-40 참조.	1-15
A	Jeeyoung Jang and Hongkee Sah, "Nonhalogenated solvent-based solvent evaporation process useful in preparation of PLGA microspheres", Journal of Microencapsulation, 2011, vol. 28, no. 6, pp.490-498. 전체 문헌 참조	1-15
A	Shashank Tiwari and Prerana Verma, "Microencapsulation technique by solvent evaporation method (Study of effect of process variables)", Int. J. of Pharm. & Life Sci. (IJPLS), 2011, Vol. 2, no. 8, pp.998-1005. 전체 문헌 참조.	1-15

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2014년 03월 26일 (26.03.2014)	2014년 03월 26일 (26.03.2014)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관
한정희
전화번호 +82-42-481-5604

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2013/012322

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2010-0054750 A	2010/05/25	AU 2009-314787 A1	2010/05/20
		CA 2743600 A1	2010/05/20
		CN 102209531 A	2011/10/05
		EP 2376071 A2	2011/10/19
		JP 2012-508731 A	2012/04/12
		US 2011-0217341 A1	2011/09/08
		WO 2010-056065 A2	2010/05/20
		WO 2010-056065 A3	2010/10/21
		WO 2010-056065 A9	2010/05/20
US 2010-0015240 A1	2010/01/21	CA 2730760 A1	2010/01/21
		EP 2315571 A1	2011/05/04
		EP 2315571 A4	2013/05/01
		JP 2011-528373 A	2011/11/17
		WO 2010-009291 A1	2010/01/21