

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017년 6월 22일 (22.06.2017)



(10) 국제공개번호
WO 2017/105139 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 31/635 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01) A61K 47/34 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/014822
- (22) 국제출원일: 2016년 12월 16일 (16.12.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0182260 2015년 12월 18일 (18.12.2015) KR
- (71) 출원인: (주)한국비엠아이 (BMI KOREA CO., LTD)
[KR/KR]; 63309 제주도 제주시 첨단로 7길 11, Jeju-do (KR).
- (72) 발명자: 김수환 (KIM, Suhwan); 15491 경기도 안산시 상록구 안산천남 1로 70, 203 동 702 호, Gyeonggi-do (KR). 민경우 (MIN, Kyeong Woo); 31471 충청남도 아산시 배방읍 광장로 210, 105 동 302 호, Chungcheongnam-do (KR). 백영준 (BAIK, Yeong Jun); 06339 서울시 강남구 일원로 3길 59, Seoul (KR). 이성희 (LEE, Sung Hee); 13603 경기도 성남시 분당구 불정로 141, 104 동

2202 호, Gyeonggi-do (KR). 우구 (WOO, Koo); 63093 제주도 제주시 월산남 2길 52 제 3 동, Jeju-do (KR). 김민경 (KIM, Min-Kyoung); 63227 제주도 제주시 신설로 2길 1-2, 101 호, Jeju-do (KR).

(74) 대리인: 유미특허법인 (YOU ME PATENT & LAW FIRM); 06134 서울시 강남구 테헤란로 115, 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, DJ, 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, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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.

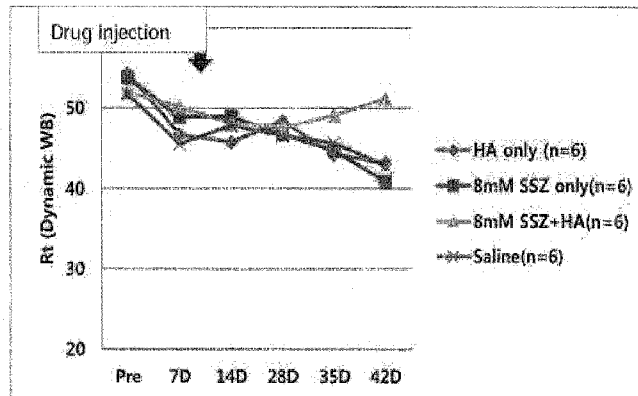
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION, FOR OSTEOARTHRITIS TREATMENT, COMPRISING HYDROPHILIZED SULFASALAZINE AND HYALURONIC ACID AND METHOD FOR PREPARING SAME

(54) 발명의 명칭 : 골관절염 치료를 위한 친수화된 설파살라진 및 히알루론산을 포함하는 조성물 및 이의 제조방법

[Fig. 5]



(57) Abstract: The present invention relates to a composition for an osteoarthritis treatment and a method for preparing same and, more specifically, to a composition comprising as active ingredients hydrophilized sulfasalazine and further comprising hyaluronic acid so as to enable an effective treatment of osteoarthritis such as degenerative osteoarthritis by means of preventing attrition of the joint as well as alleviating pain by means of an intraarticular injection and a local administration. When a composition for an osteoarthritis treatment is prepared by means of a preparation method according to the present invention, precipitation due to salting out of sulfasalazine occurring after neutralization is prevented by means of having a dissolved state maintained even after a neutralizing step after dissolution. Therefore, a composition comprising sulfasalazine in a high concentration can be prepared. Such prepared composition comprises sulfasalazine, which had been comprised in a low concentration due to the existing insolubility, in a high concentration and thus is highly useful for a treatment of osteoarthritis, especially degenerative osteoarthritis, by means of an intraarticular injection or a local administration.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2017/105139 A1



KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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))

본 발명은 골관절염의 치료를 위한 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 관절강 주입 및 국소 투여를 통해 통증 완화와 더불어 관절 마모를 방지하여, 퇴행성 골관절염과 같은 골관절염의 효과적인 치료가 가능하도록, 유효성분으로서 친수화된 설파살라진, 및 추가적으로 히알루론산을 포함하는 조성물, 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 제조방법에 의해 이러한 골관절염 치료용 조성물을 제조하는 경우, 용해 후 중화 단계를 거처도 용해상태가 유지되어, 중화 이후 발생하는 설파살라진의 염석현상에 의한 침전을 방지하기 때문에, 고농도로 설파살라진을 포함하는 조성물을 제조할 수 있고, 이에 따라 제조된 조성물은 종래 난용성에 의해 저농도로만 포함되던 설파살라진을 고농도로 포함함으로써 인해 관절강 주입이나 국소투여를 통한 골관절염, 특히 퇴행성 골관절염의 치료에 매우 유용하다.

【명세서】

【발명의 명칭】

골관절염 치료를 위한 친수화된 설파살라진 및 히알루론산을 포함하는 조성물 및 이의 제조방법

【기술분야】

본 발명은 골관절염의 치료를 위한 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 관절강 주입 및 국소 투여를 통해 통증 완화와 더불어 관절 마모를 방지하여, 퇴행성 골관절염과 같은 골관절염의 효과적인 치료가 가능하도록, 유효성분으로서 친수화된 설파살라진 및 히알루론산을 포함하는 조성물, 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

【배경기술】

골관절염은 관절 부위의 물리적 자극을 통하여 콘드로사이트(chondrocyte)와 관절막(synovial fluid)에서 발현되는 사이토카인과 연골분해 효소에 의해 관절 내 연골이 지속적으로 분해, 손상되어 관절면의 운동기능이 소실되고 불안정성이 유발되는 상태를 칭한다.

현재 골관절염의 치료에는 외과적 수술 외에 약물 치료와 히알루론산의 관절강 투여 등이 활용되고 있으나, 이들은 통증 완화가 주목적이며, 연골손상 감소 기능은 미약하여, 실질적으로 골관절염을 치료할 수 있는 의약품이 요구되고 있다.

한편, 설파살라진은 현재 류마티스 관절염 및 염증성 장질환의 경구치료제로 활용되고 있으며, 최근 골관절염의 발병원인인 콘드로사이트의 변화를 보호하고, 관절막에서 연골 파괴에 관련된 인자들의 발현을 억제하여 골관절염의 치료에 활용 가능성이 있다는 결과가 발표된 바 있다(Nose M. et al. J Rheumatol 1997;24:550-4, Lakey et al. Rheumatology 2009;48:1208-1212, Endo W. et al Mod Rheumatol 2014;24(5):844-50).

설파살라진을 경구 복용하는 경우, 일일 최대투여량인 4g을 섭취해도 혈중 농도가 12ug/ml로 그 흡수율이 매우 낮고, 물질의 난용성으로 인해 소화기 장애를 일으키는 것으로 알려져 있으며, 설파살라진의 분해 산물인 설파피리딘의 혈중 농도가 높을 경우, 다양한 부작용을 일으키는 것으로 보고되고 있다(Hoult JRS. Drugs 1986;32:18-26). 이에 따라 설파살라진을 경구로 투여하는 것이 아닌 관절강

내로 직접 투여할 경우, 경구투여에서 발생하는 부작용들을 피할 수 있을 것으로 예상된다. 그러나, 설파살라진은 그 난용성으로 인해 효과를 보기위한 고농도의 액상 의약품을 만들기 어렵다. 또한, 관절액(synovial fluid)의 turn-over시간은 2시간으로 알려져 있어(Levick JR et al. Ann Rheuma 1995;54:417-423) 관절강 내에 직접 투여된다 하더라도 충분한 약효를 보이기 어려울 것으로 예상된다.

한편 히알루론산은 체내 관절액의 주요 구성 성분으로 관절 내 연골 사이에 존재하여 윤활제 역할을 하고 있다. 골관절염 환자들의 경우, 관절 내 히알루론산의 농도가 감소하는 것으로 알려져, 이를 체외에서 합성된 히알루론산을 보충하는 골관절염 치료 물질로 널리 활용되고 있다. 히알루론산은 다른 관절액의 성분들과는 달리 그 반감기가 13시간 이상으로 알려져 있어(Brown TJ et al. ExpPhysiol 1991;76:125-134), 설파살라진과 히알루론산을 혼합할 경우, 관절강 내 유지시간도 24시간 이상 유지시킬 수 있을 것으로 예상되었다.

이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 난용성인 설파살라진을 이용하여 효과적인 골관절염의 치료방법을 개발하고자 예의 연구한 결과, 특정 농도의 염기성 첨가제를 사용하여 설파살라진을 용해하는 방법에 의해 설파살라진과 히알루론산의 조성물을 제조하는 경우, 기존과는 달리 고농도의 설파살라진이 유효성분으로 포함된 치료용 조성물을 제조할 수 있음을 확인하였다. 나아가, 이러한 고농도의 설파살라진과 히알루론산을 포함하는 조성물을 동물 모델에 적용한 결과, 상기 조성물이 특정한 고농도의 설파살라진 수준을 유지하는 것에 의해 골관절염의 진행을 억제할 뿐만 아니라, 진통효과를 동시에 나타낸다는 점을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

상기와 같은 문제점을 해결하기 위해, 본 발명은 유효성분으로서 친수화된 설파살라진 및 추가적으로 히알루론산, 이의 염 또는 유도체를 포함하는, 관절강 및 국소투여가능한 골관절염 치료용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

나아가, 본 발명은 상기 관절강 및 국소투여 가능한 골관절염 치료용 조성물의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

【발명의 효과】

본 발명에 따른 제조방법에 의해 친수화된설파살라진 및 추가적으로 히알루론산을 포함하는 골관절염 치료용 조성물을 제조하는 경우, 용해 후 중화 단계를 거처도 용해상태가 유지되어, 중화 이후 발생하는 설파살라진의염석현상에 의한 침전을 방지하기 때문에, 고농도로 설파살라진을 포함하는 조성물을 제조할 수 있고, 이에 따라 제조된 조성물은 종래 난용성에 의해 저농도로만 포함되던 설파살라진을 고농도로 포함함으로 인해 관절강 주입이나 국소투여를 통한 골관절염, 특히 퇴행성 골관절염의 치료에 매우 유용하다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명에 따른 1, 2, 4, 8mM의 친수화된설파살라진 및 히알루론산을 포함하는 골관절염 조성물의 사진이다.

도 2는 IL-1b로 염증이 유도된 인간 지방세포 유래 줄기세포를 이용하여 본 발명에 따른 조성물의 염증 및 연골과괴 인자 발현억제에 대한 in vitro 시험결과를 나타낸 그래프이다.

도 3은 친수화된 설파살라진과 히알루론산의 혼합물이 생리식염수에 담겨있을 때, 생리식염수로 용출되는 설파살라진 양의 누적용출량을 측정한 그래프이다..

도 4은 1mg MIA를 관절강에 처리하여 유도한 골관절염 동물모델(rat)에 0 내지 8mM의본 발명에 따른 친수화된설파살라진 및 히알루론산을 포함하는 골관절염조성물을 투여하고 8주 후 X-ray 촬영한 사진이다.

도 5는 1mg MIA를 관절강에 처리하여 유도한 골관절염 동물모델(rat)에 0 내지 8mM의 본 발명에 따른 친수화된 설파살라진 및 히알루론산을 포함하는 골관절염조성물을 투여하고 동물모델의 통증을 측정할 수 있는 장비를 이용하여 6주간 통증의 감소 여부를 관찰한 결과이다.

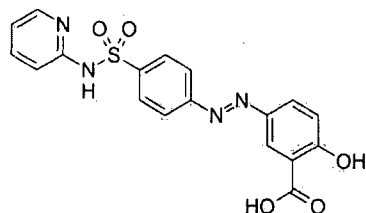
【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

이러한 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 유효성분으로서 2 내지 10mM의 친수화된 설파살라진 및 1 내지 2(w/v)%의 히알루론산, 이의 염 또는 유도체를 포함하는, 관절강 및 국소투여가능한 골관절염 치료용 조성물 및 이를 투여하여 골관절염을 개선 또는 치료하는 방법에 관한 것이다.

상기 설파살라진(Sulfasalazine, 이하 "SSZ"라고도 지칭함)은, 설파피리딘(Sulfapyridine)과 5-아미노살리실산(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)이 아조 결합(azo

bond)하여 형성된 화합물로, 하기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물을 말한다.

[화학식 1]



본 발명에서, 상기 조성물에는 골관절염 치료를 위한 유효성분으로서 친수화된 설파살라진을 2 내지 10mM 포함하는 것을 특징으로 한다.

본 명세서에서 용어 “친수화된 설파살라진”은 수난용성인 설파살라진의 수성 매질내에서 용해도 또는 분산 균일성을 증가시킨 것을 의미하며, 이러한 친수화된 설파살라진은 i) 설파살라진의 수용성 염, 또는 ii) 수성매질중에서 친수화 용매와 설파살라진을 혼합하여 균일하게 분산된 혼합물을 포함하며, 상기 친수화 용매는 폴리에틸렌글라이콜일 수 있다.

상기 i) 설파살라진의 수용성 염형태는, 설파살라진에 염산, 염화나트륨, 염화칼슘 또는 염화칼륨 등을 첨가하여 산 부가염 또는 알칼리 부가염의 형태로 얻어 질 수 있고, 설파살라진을 폴리에틸렌글라이콜과 혼합하여 얻어질 수 있다.

보다 바람직하게, 본 발명의 설파살라진은 ii) 폴리에틸렌글라이콜과 혼합된 상태를 포함할 수 있다. 상기 폴리에틸렌글라이콜과 혼합된 설파살라진은 염을 이용하여 pH를 조절한 수용성 매질에, 폴리에틸렌글라이콜을 부가하고, 설파살라진을 상기과 같은 폴리에틸렌글라이콜을 포함하는 수용성 매질에 첨가하여 얻어질 수 있다.

이러한 균형염용액은 다양한 분자량 및 농도의 폴리에틸렌글라이콜을 포함할 수 있는데, 예를 들어, 200 내지 500, 바람직하게는 380 내지 420의 중량평균분자량을 갖는 폴리에틸렌글라이콜을 1% 내지 40 % (w/v)의 농도로 포함할 수 있다.

이와 관련하여, 본 발명자는 설파살라진의 골관절염 치료 효과는 상기 범위 미만의 농도, 예를 들어 1mM 에서는 전혀 나타나지 않고, 본 발명과 같이

더욱 고농도가 되어야 골관절염 치료 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 설파살라진이 2mM(0.08 w/v%) 미만으로 포함되는 경우, 골관절염의 치료를 위한 유효한 효과를 나타낼 수 없고, 10mM(0.4 w/v%)를 초과하는 경우, 설파살라진 자체의 난용성으로 인해 액상제제 또는 주사제제에 적합하지 않게 된다.

한편, 친수화된 설파살라진과 함께 본 발명에 따른 조성물에는 히알루론산, 이의 염 또는 이의 유도체가 추가적으로 포함된다.

본 발명에서 히알루론산(hyaluronic acid)은 결합조직 내의 세포 간질에 널리 분포되어 생리 조건 하에서 점착성 및 탄력성 용액을 형성함으로써, 홍채, 망막 등의 조직, 혈관 내피세포, 상피세포 등을 기계적으로 보호하며 완충역할을 제공하는 것으로 알려진, 세포의 매트릭스의 주요 성분이다. 본 발명에서 상기 히알루론산은 물성, 형태, 크기 등에 제한이 없으며, 무균 처리된 것이 바람직하나, 보다 바람직하게는, 1.0×10^6 내지 6.0×10^6 g/몰의 중량평균분자량을 갖는 히알루론산을 사용할 수 있다. 또한, 상기 히알루론산은 약제학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용될 수 있는데, 상기 약제학적으로 허용가능한 염은 나트륨염, 칼륨염, 칼슘염 등을 포함하며, 바람직하게는 나트륨염을 포함한다. 또한, 히알루론산의 유도체 또한 사용될 수 있는데 이러한 유도체는 구체적으로 교차결합, 황화, 에스터화 또는 아미노산 결합에 의해 화학적으로 변형된 히알루론산일 수 있다. 상기와 같이, 본 발명에서는, 상기 히알루론산의 농도는 전체 조성물에 대해 1 내지 2%(wt/vol)인 것이 바람직하다. 상기 범위 미만으로 사용될 경우 점탄성이 너무 낮아 골관절염의 환부에 적절한 시간 동안 유지되지 않는 문제가 발생할 수 있고, 상기 범위를 초과하는 경우 과도한 고점탄성으로 인해 액상제제로서 적합한 유동성을 확보하기 어려운 문제가 있다.

구체적인 하나의 양태로서, 본 발명에 따른 골관절염 치료용 조성물은 관절강내 투여하거나 국소투여를 하는 것을 특징으로 한다. 본 발명자들의 실험에 따르면, 설파살라진은 예를 들어 1mM 과 같은 저농도에서는 유효한 수준의 골관절염 치료효과를 나타내지 못하므로 2mM 이상의 높은 농도로 사용될 것이 요구되나, 이와 같은 고농도의 설파살라진 혈중농도를 유지하기 위해 경구 투여를 하는 경우 심각한 부작용이 발생할 우려가 높다. 따라서, 본 발명에 따른 골관절염 치료용 조성물은 바람직하게는 관절강내 및 환부에 국소투여하기 위해

설파살라진을 친수화시켜 액상제제, 더욱 바람직하게는 주사제제로 제형화될 수 있다. 상기 제형화를 위해서, 본 발명에 따른 골관절염 치료용 조성물은 상기 특정 농도의 설파살라진과 히알루론산 외에 약학적으로 허용가능한 첨가제를 더욱 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용가능한 첨가제란, 생물체를 상당히 자극하지 않고 투여 유효성분의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 말한다. 상기 약학적으로 허용가능한 첨가제의 예로는 등장화제, 완충제, 안정제, pH 조절제 등이 있다. 나아가, 본 발명에 따른 조성물은 액상의 제형인 것이 바람직하므로, 이를 위해 수용액을 포함하는 담체를 더욱 포함할 수 있다. 상기 수용액을 포함하는 담체는 증류수, 인산완충액(Phosphate Buffered Saline), 균형염용액(Balanced Salt Solution) 및 생리식염수(Saline)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 이 때 사용되는 담체의 함량은 제조하고자 하는 액상제제 또는 주사제제의 총 용량에 필요한 양에 맞추어 사용량을 조절할 수 있다. 상기 균형 염용액은 생리적 pH 및 염농도(삼투압)를 제공하는 염용액을 의미하는 것으로서 또는 평형 염용액이라고 하며, 통상의 균형 염용액은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 이들의 염화물로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함한다. 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 성분을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 투여 경로는 관절강에 국소적으로 투여하는 것이다. 본 명세서에서 "치료"란 발병 증상을 보이는 객체에 사용될 때 질병의 진행을 중단, 지연 또는 개선시키는 것을 의미한다. 본 발명의 치료방법은 상기 친수화된 설파살라진 및 히알루론산을 치료학적 유효량으로 투여하는 것을 포함한다. 특정 환자에 대한 구체적인 치료학적 유효량은, 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 치료 기간, 함께 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의학 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용할 수 있다.

또 하나의 양태로서, 본 발명은 친수화된 설파살라진과 히알루론산을 포함하는 관절강 및 국소투여 가능한 골관절염 치료용 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. 바람직한 양태로서, 본 발명에 따른 골관절염 치료용 조성물의 제조방법은 a) 염기성 첨가물 및 PEG를 물에 용해시켜 pH 11 이상 14 이하의 PEG 수용액을 제조하여 이에 설파살라진을 용해시키는 단계; b) 단계 a)의

반응물에 히알루론산, 이의 염 또는 유도체를 용해시키는 단계; 및 c) 단계 b)에서 제조된 반응물을 산성 첨가물로 중화시키는 단계를 포함한다.

상기 (a) 단계는 난용성인 설파살라진을 친수화시키는 단계로서, 염기성 첨가물과 폴리에틸렌글리콜(PEG)와 설파살라진을 반응시키는 단계이다. 구체적으로, 상기 염기성 첨가물은 0.01 내지 1(w/v)%의 NaOH, KOH 또는 암모니아를 사용할 수 있고, 이에 의해 PEG 수용액의 pH가 11 이상 14이하가 되어 유용하게 설파살라진을 용해시킬 수 있다. 염기성 첨가물의 농도가 상기 범위를 벗어나는 경우에는 이후 중화 단계에서 중화 시 설파살라진이 염석(salting out)에 의해 침전되어 액상제제로서의 사용이 불가능하게 된다. 상기 설파살라진의 함량 등은 상기 본 발명에 따른 조성물에 관한 사항을 그대로 적용할 수 있다. 한편, 상기 폴리에틸렌글리콜은 친수성 혹은 소수성 성분을 모두 용해하는 성질에 의해 설파살라진을 가용화를 안정시키며, 바람직하게 400 내지 20000의 중량평균분자량을 갖는 폴리에틸렌글리콜, 더욱 바람직하게는 PEG400, 1500, 4000, 6000, 20000을 사용할 수 있고, 전체 조성물에 대해 1 내지 40(w/v)%을 사용할 수 있다.

나아가, 상기 (b) 단계는 상기 용해된 설파살라진에 히알루론산을 첨가 및 혼합하는 단계로, 상기 히알루론산의 물성, 형태, 크기, 함량은 상기 본 발명에 따른 조성물에서 정의한 바와 동일하며, 무균 처리된 것이 바람직하다. 상기 첨가되는 히알루론산은 분말형태 또는 액상용액일 수 있으며, 예를 들면 분말일 수 있다. 또한, 설파살라진에 히알루론산을 혼합하는 단계는, 상기 친수화된 설파살라진 및 히알루론산을 10 내지 40에서 3시간 내지 6시간 혼합하는 것이 바람직하다. 상기 혼합시의 온도 범위 미만인 경우에는, 조성물의 성분들이 균질하게 혼합되지 않을 수 있고, 상기 온도 범위 초과인 경우는 제제의 안정적인 조제가 쉽지 않기 때문에 바람직하지 않다. 또한, 상기 혼합 시간 범위 미만인 경우에는, 조성물의 구성성분들이 균질하게 혼합되지 않을 수 있고, 상기 시간을 초과하는 경우에는 히알루론산의 점도에 변화가 생길 수 있다.

또한, 상기 단계 c)에서는 단계 b)에서 제조된 반응물이 인체 내 투여가 가능한 수준의 pH를 갖추도록 산성 첨가물로 중화 반응을 시키는 단계이다. 상기 산성 첨가물로는 적정 수준의 pH로 조절할 수 있는 것으로 인체 내에 무해한 것이면 제한없이 사용가능하나, 예를 들어, 초산, 염산, 인산, 황산, 구연산,

니트르산, 주석산이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

한편, 상기 골관절염 치료용 조성물의 제조 방법에서는, 약학적으로 허용되는 첨가제, 담체 또는 염을 첨가하는 단계, 또는 무균제제의 제조를 위해 멸균하는 단계를 더 포함할 수 있다.

상기와 같은 방법에 의해, 종래 골관절염 치료를 위해 고농도의 설파살라진을 포함하는 제제가 요구되었음에도 불구하고 그 설파살라진 특유의 난용성의 문제 때문에 고농도로 설파살라진 제제를 제조할 수 없었던 문제를 해소할 수 있다. 구체적으로, 본 발명에 따른 제조방법에서는, 염기성 첨가제를 특정 농도 범위로 사용함으로써, 용해 후 중화 단계를 거처도 용해상태가 유지되어, 중화 이후 발생하는 설파살라진의 염석 현상에 의한 침전을 방지하기 때문에, 고농도로 설파살라진을 포함하는 제제를 제조할 수 있다.

【발명의 실시를 위한 형태】

이하, 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

실시예 1: 1 내지 8mM 친수화된 설파살라진과 1 내지 2(w/v)%

히알루론산 혼합 조성물의 제조

하기와 같은 방법에 의해 1, 2, 4 및 8mM의 친수화된 설파살라진 및 1 내지 2(w/v)% 히알루론산을 포함하는 조성물을 제조하였다.

우선, 1% KOH를 이용하여 pH 10 이상의 용액을 제조하였다. 이후, 상기 제조된 용액에 1의 용액에 PEG6000를 4 (w/v)%으로 첨가하고 최종농도 1, 2, 4, 8mM의 설파살라진을 첨가하여 3시간 동안 교반하였다. 이후, 교반하여 제조된 용액을 0.22um filter (Millipore 사 Millex-GP)로 제균여과하고, 최종농도 1% w/vol(10 mg/ml)의 히알루론산(일동히알루론산 일동원료)을 첨가하여 교반하여 혼합하였다. 4시간 혼합 후 1% 염산 용액을 첨가하여 pH를 7.5로 조정하여 친수화된 설파살라진과 히알루론산의 혼합 조성물을 제조하였다(도 1 참조).

실시예 2: 1 내지 6mM 친수화된 설파살라진과 1 내지 2(w/v)%

히알루론산의 서방 용출 확인 시험

실시예 1에서 제조한 복합제를 생리식염수에 담그고, 설파살라진-히알루론산 복합체로부터 생리식염수로 용출되는 설파살라진에 대한 누적용출량(cumulative release profile)을 확인하였다. 그 결과 히알루론산과 혼합된 설파살라진의 용출이 최소 60일 이상 지속되어 설파살라진이 서방 용출되는 것을 확인하였다(도 2 참조).

실시예 3: 1 내지 8mM 친수화된 설파살라진-히알루론산 복합제의

골관절염억제에 대한 in vitro 효력시험

인간 지방세포 유래 줄기세포(Human Adipose Derived stem cell; ATCC PCS-500-011)에 IL-1 β 를 처리하여 염증을 유도한 후 실시예 1에서 제조한 복합제를 처리하여 염증 및 연골파괴인자(MMP-3, MMP-13, ADMT-5, COX-2)의 발현에 미치는 영향을 RealTime-PCR로 확인하였다. 그 결과 친수화된 설파살라진의 농도에 따라 염증 및 연골파괴인자의 발현이 농도의존적으로 억제 되는 것을 확인하였다.

실시예 4: 1 내지 8mM 친수화된 설파살라진-히알루론산 복합제의

골관절염 연골파괴 억제에 대한 동물모델 효력시험

8주령 쥐(rat, Sprague Dawley)의 관절강에 1mg MIA(Monosodium IodoAcetate)를 처리하여 골관절염 동물모델을 유도한 후, 1주일 후에 실시예 1에서 제조한 복합제를 관절강에 투여하였다. 투여 후 8주 차에 실험 동물의 관절부위를 x-ray로 관찰하였다. 관찰 결과 히알루론산 단독제제는 연골의 보호 효과가 없는 반면, 1 내지 4mM 설파살라진-히알루론산복합제는 관절염의 진행이 대조군에 비해 늦춰졌으며, 6 내지 8mM 친수화된 설파살라진-히알루론산복합체에 의해 골관절염의 진행이 완전히 억제되었음을 확인하였다.

실시예 5: 2 내지 8mM 친수화된 설파살라진-히알루론산 복합제의

골관절염 통증 억제에 대한 동물모델 효력시험

실시예 3에서와 같은 방법으로 동물모델을 유도한 후, 1주일 후에

생리식염수(saline), 히알루론산 단독제제(HA only), 8mM 친수화된 설파살라진 용액(8mM SSZ only) 또는 실시예 1에서 제조한 8mM 친수화된 설파살라진-히알루론산(8mM SSZ-HA) 복합제를 관절강에 투여하였다. 투여 후 4주까지 매주 Incapacitance tester(Linton instrument Co., UK, Ser No. 01/45/25) 또는 이와 동등한 측정장치를 이용하여 오른쪽, 왼쪽 발무게를 각각 측정한다. MIA에 의해 골관절염이 유발되면 Rat은 MIA를 투여하지 않은 발에 의지하여 tester의 holder안에 서게된다. Rat의 배가 기기의 센서에 닿지 않은 상태에서 왼쪽, 오른쪽 각각의 발무게(g)를 측정하여 나타낸다. 실험결과는 양쪽 발의 무게에 대한 오른쪽 발의 무게 비율을 계산하여 평균($\%$) $\pm$ 표준오차로 표시한다.

시험 결과 설파살라진 단독은 초기 통증억제 효과가 없었고, 히알루론산 단독제제는 초기에만 효과를 보인 반면, 8mM 설파살라진-히알루론산복합제는 초기에서 후반부까지 고른 통증억제 효과를 보였다.

【청구의 범위】**【청구항 1】**

유효성분으로서 2 내지 10mM의 친수화된 설파살라진을 포함하는 관절강 및 국소투여가능한 골관절염 치료용 조성물.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 친수화된 설파살라진과 함께, 전체 조성물 대비 1 내지 2(w/v)%의 히알루론산, 이의 염 또는 유도체를 더 포함하는 관절강 및 국소투여가능한 골관절염 치료용 조성물.

【청구항 3】

제2항에 있어서, 상기 히알루론산의 유도체는 교차결합, 황화, 에스터화 또는 아미노산 결합에 의해 화학적으로 변형된 히알루론산인 것을 특징으로 하는, 골관절염 치료용 조성물.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 조성물이 액상제제인 것인, 골관절염 치료용 조성물.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 조성물이 주사제인 것인, 골관절염 치료용 조성물.

【청구항 6】

a) 염기성 첨가물을 물에 용해시켜 pH 11 이상 14이하의 수용액을 제조하여 이에 설파살라진을 용해시키는 단계; 및
b) 단계 a)의 반응물에 히알루론산, 이의 염 또는 유도체를 용해시키는 단계;
c) 단계 b)에서 제조된 반응물을 산성 첨가물로 중화시키는 단계
를 포함하는, 관절강 및 국소투여가능한 골관절염 치료용 조성물의 제조방법.

【청구항 7】

제6항에 있어서, 상기 염기성 첨가물은 0.01 내지 1(w/v)%의 수산화나트륨, 수산화칼륨 및 암모니아로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 것인, 제조방법.

【청구항 8】

제6항에 있어서, 상기 수용액은 PEG를 더 포함하는 것인, 제조방법.

【청구항 9】

제8항에 있어서, 상기 PEG는 400 내지 20000의 중량평균분자량을 갖는 것인,

제조방법.

【청구항 10】

제8항에 있어서, 상기 PEG는 전체 조성물에 대해, 1 내지 40(w/v)%인 것인 제조방법.

【청구항 11】

제6항 내지 제10항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조된, 관절강 및 국소투여가능한 골관절염 치료용 조성물.

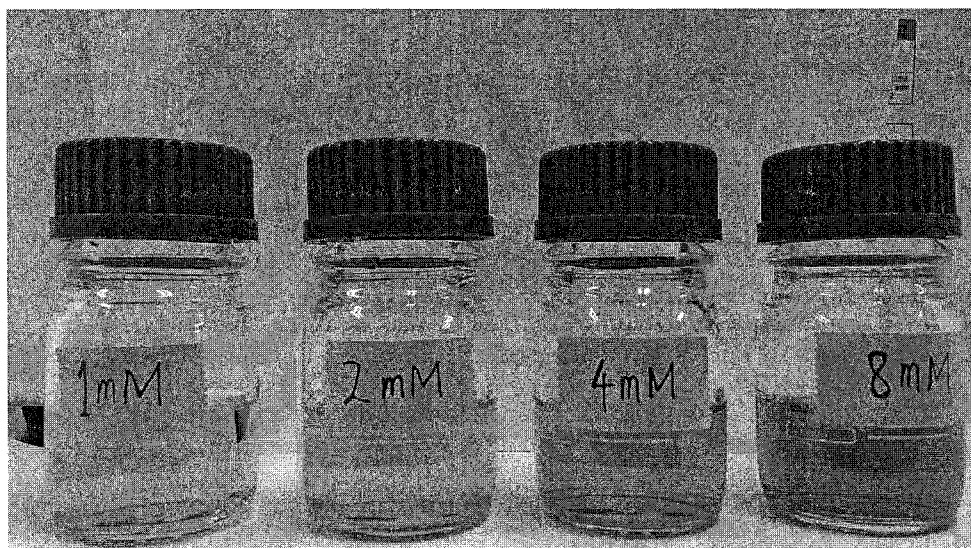
【청구항 12】

유효성분으로서 2 내지 10mM의 친수화된 설파살라진을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 골관절염의 개선 또는 치료 방법.

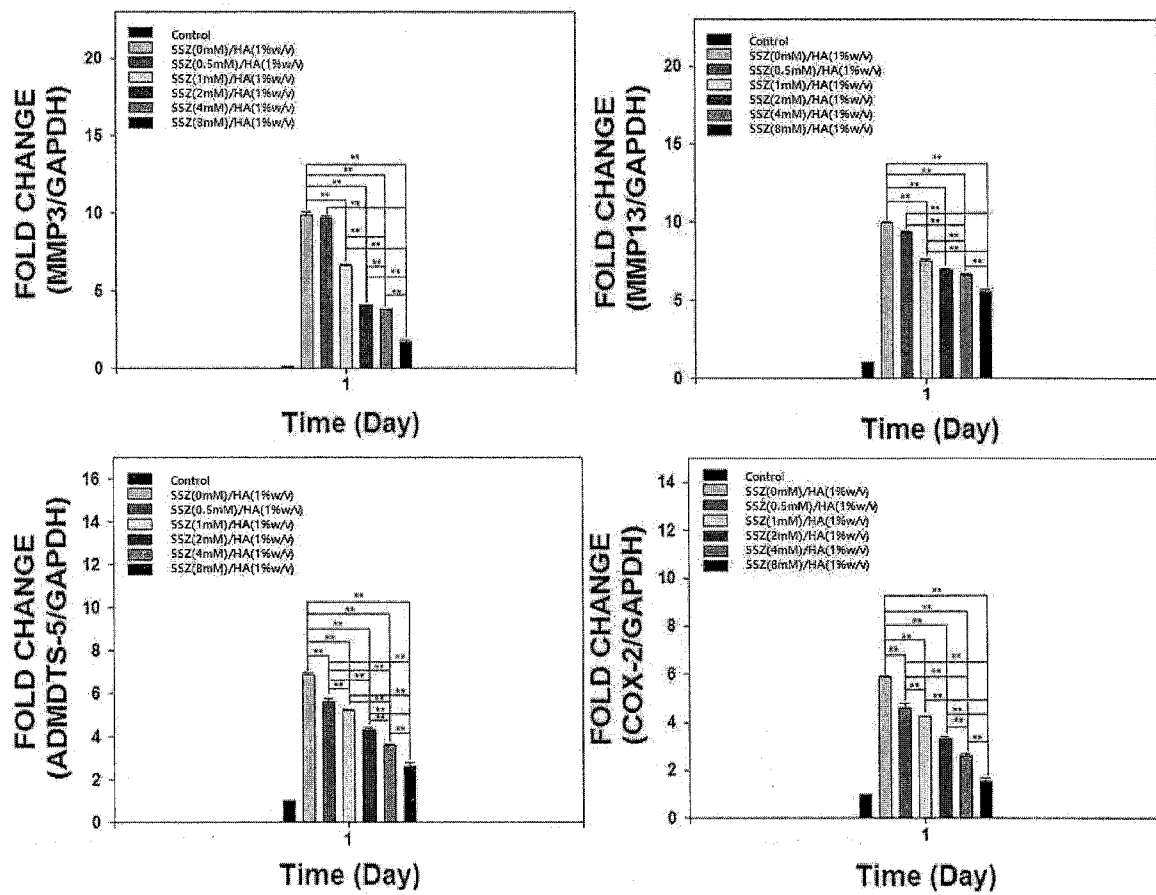
【청구항 13】

제12항에 있어서, 상기 관절강 또는 국소투여하는 것을 특징으로 하는, 골관절염의 개선 또는 치료 방법.

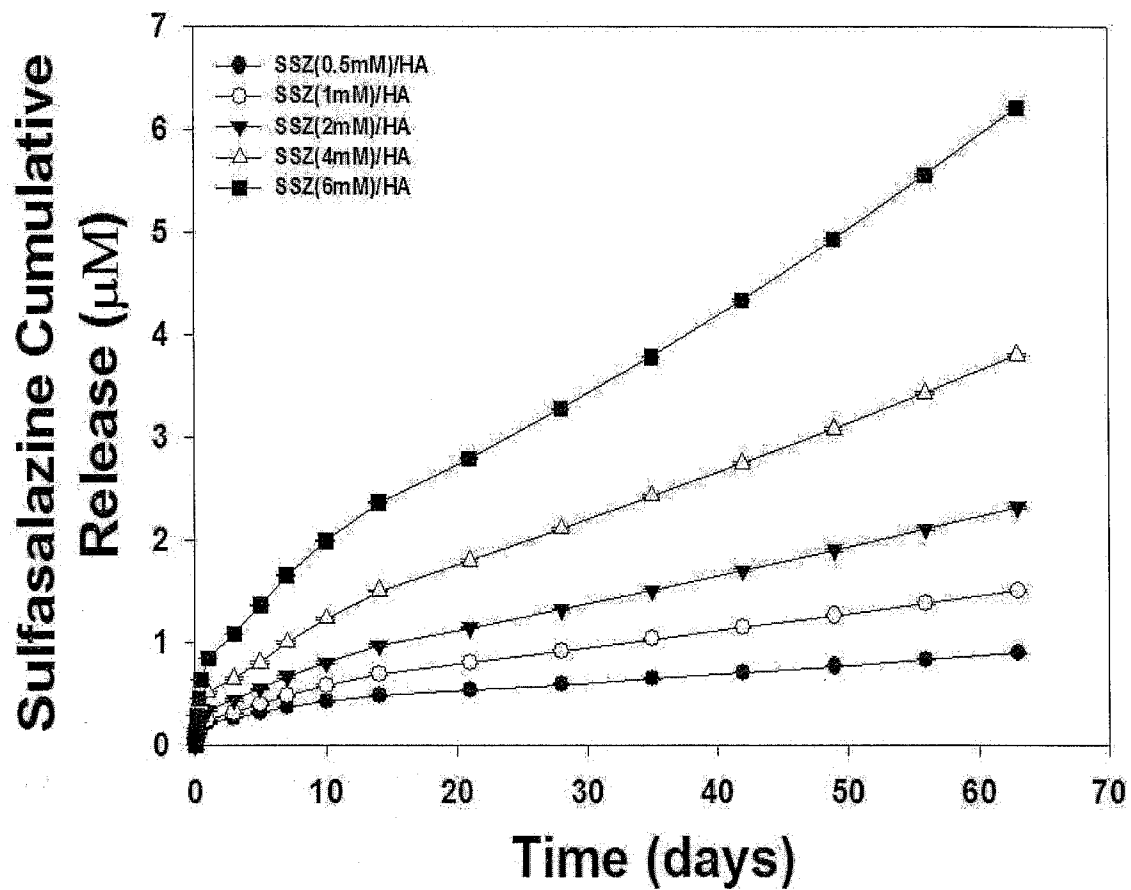
[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]



대조군 (MIA 무처리군)
골관절염 grade 0

골관절염 grade 평가 기준

Grade 0 : 정상

Grade 1 : osteophyte 미량 생성

Grade 2 : osteophyte 대량 생성

Grade 3 : osteophyte 대량 생성
및 joint space narrowed

Grade 4 : osteophyte 대량 생성
및 no joint space



대조군 (HA 단독제)
골관절염 grade 4



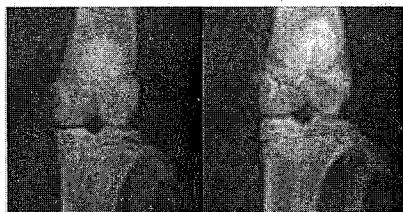
1mM SSZ-HA 복합제
골관절염 grade 4



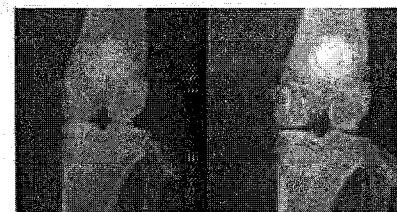
2mM SSZ-HA 복합제
골관절염 grade 3



4mM SSZ-HA 복합제
골관절염 grade 1

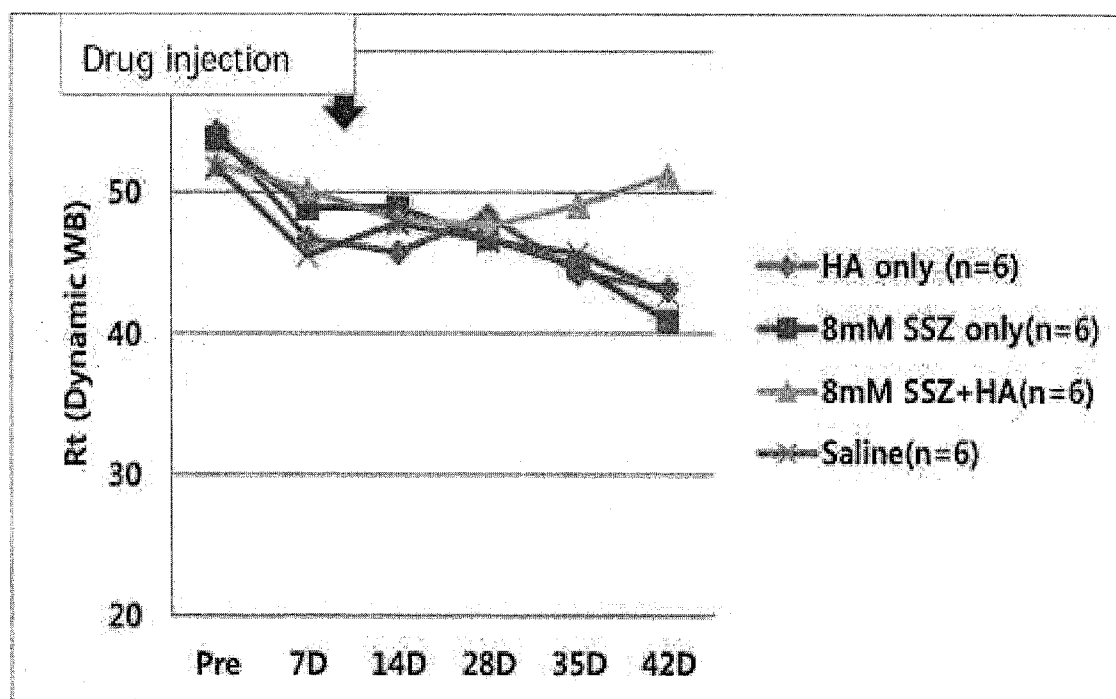


6mM SSZ-HA 복합제
골관절염 grade 0



8mM SSZ-HA 복합제
골관절염 grade 0

[Fig. 5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/014822

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/635(2006.01)i, A61K 9/08(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61K 47/34(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 31/635; A61K 39/395; A61K 31/42; A61K 31/728; A61K 31/4402; A61K 9/08; A61K 9/00; A61K 47/34

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) & Keywords: sulfasalazine, hydrophilization, polyethylene glycol, base additive, hyaluronic acid, intraarticular injection, osteoarthritis

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LAKEY, R. L. et al., "Sulfasalazine Blocks the Release of Proteoglycan and Collagen from Cytokine Stimulated Cartilage and Down-regulates Metalloproteinases", Rheumatology, 2009, vol. 48, no. 10, pages 1208-1212 See abstract and page 1212.	1-11
A	KR 10-2008-0092631 A (THE CATHOLIC UNIVERSITY OF KOREA INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 16 October 2008 See abstract and claims 1-7.	1-11
A	HANNONEN, P. et al., "Sulfasalazine in Early Rheumatoid Arthritis. A 48-week Double-blind, Prospective, Placebo-controlled Study", Arthritis & Rheumatism, 1993, vol. 36, no. 11, pages 1501-1509 See the entire document.	1-11
A	KR 10-2003-0023098 A (NEUROTECH CO., LTD.) 19 March 2003 See the entire document.	1-11
A	KR 10-2014-0123474 A (SANOFI BIOTECHNOLOGY et al.) 22 October 2014 See the entire document.	1-11



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

27 FEBRUARY 2017 (27.02.2017)

Date of mailing of the international search report

27 FEBRUARY 2017 (27.02.2017)

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

International application No.

PCT/KR2016/014822

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **12, 13**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 12 and 13 pertain to a method for treatment of the human body by therapy, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/014822

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2008-0092631 A	16/10/2008	KR 10-0894042 B1	20/04/2009
KR 10-2003-0023098 A	19/03/2003	KR 10-0490286 B1	17/05/2005
KR 10-2014-0123474 A	22/10/2014	AR 088289 A1	21/05/2014
		AU 2012-323062 A1	18/04/2013
		CA 2851751 A1	18/04/2013
		CN 104105505 A	15/10/2014
		EP 2766039 A1	20/08/2014
		JP 2014-530226 A	17/11/2014
		RU 2014-118741 A	20/11/2015
		SG 10201607215S A	28/10/2016
		SG 11201401373R A	29/05/2014
		US 2014-0302053 A1	09/10/2014
		UY 34387 A	31/05/2013
		WO 2013-053751 A1	18/04/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/635(2006.01)i, A61K 9/08(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61K 47/34(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/635; A61K 39/395; A61K 31/42; A61K 31/728; A61K 31/4402; A61K 9/08; A61K 9/00; A61K 47/34

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) & 키워드: 설파살라진, 친수화, 폴리에틸렌글리콜, 염기성 첨가물, 히알루론산, 관절강내주사, 골관절염

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	LAKEY, R. L. 등, "Sulfasalazine blocks the release of proteoglycan and collagen from cytokine stimulated cartilage and down-regulates metalloproteinases", Rheumatology, 2009년, 48권, 10호, 페이지 1208-1212 초록 및 페이지 1212 참조.	1-11
A	KR 10-2008-0092631 A (가톨릭대학교 산학협력단) 2008.10.16 요약 및 청구항 1-7 참조.	1-11
A	HANNONEN, P. 등, "Sulfasalazine in early rheumatoid arthritis. A 48-week double-blind, prospective, placebo-controlled study", Arthritis & Rheumatism, 1993년, 36권, 11호, 페이지 1501-1509 전체 문헌 참조.	1-11
A	KR 10-2003-0023098 A (주식회사 뉴로테크) 2003.03.19 전체 문헌 참조.	1-11
A	KR 10-2014-0123474 A (사노피 등) 2014.10.22 전체 문헌 참조.	1-11

☐ 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

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

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

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

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

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

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

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 02월 27일 (27.02.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 02월 27일 (27.02.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이기철

전화번호 +82-42-481-3353



제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 12, 13
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제12항 및 제13항은 치료에 의한 사람의 처치방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2008-0092631 A	2008/10/16	KR 10-0894042 B1	2009/04/20
KR 10-2003-0023098 A	2003/03/19	KR 10-0490286 B1	2005/05/17
KR 10-2014-0123474 A	2014/10/22	AR 088289 A1	2014/05/21
		AU 2012-323062 A1	2013/04/18
		CA 2851751 A1	2013/04/18
		CN 104105505 A	2014/10/15
		EP 2766039 A1	2014/08/20
		JP 2014-530226 A	2014/11/17
		RU 2014-118741 A	2015/11/20
		SG 10201607215S A	2016/10/28
		SG 11201401373R A	2014/05/29
		US 2014-0302053 A1	2014/10/09
		UY 34387 A	2013/05/31
		WO 2013-053751 A1	2013/04/18