



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0087594
(43) 공개일자 2020년07월21일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 9/16</i> (2006.01) <i>A61K 31/343</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/445</i> (2006.01) <i>A61K 47/12</i> (2006.01)
 <i>A61K 9/00</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 9/1617</i> (2013.01)
 <i>A61K 31/343</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2019-0004122
 (22) 출원일자 2019년01월11일
 심사청구일자 2019년01월11일</p> | <p>(71) 출원인
 한국화학연구원
 대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)
 주식회사한국파마
 경기도 화성시 향남읍 제약공단3길 87</p> <p>(72) 발명자
 신병철
 대전광역시 유성구 엑스포로123번길 46-15, 501동
 2204호 (도룡동, 스마트시티주상복합아파트)</p> <p>권혁일
 대전광역시 유성구 문화원로 111(봉명동)
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 특허법인필앤은지</p> |
|---|---|

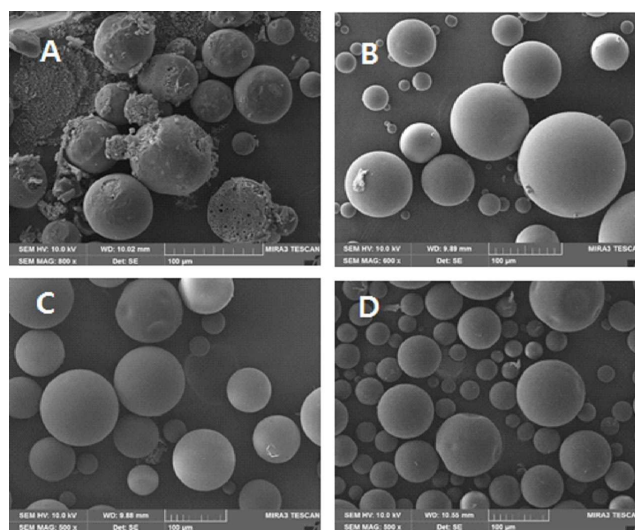
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **레티노익산을 포함하는 미립구형 서방출 제제 및 그의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 유효성분 및 레티노익산을 포함하는 생분해성 고분자 미립구 함유 서방형 제제 및 이의 제조방법에 대한 것이다. 상기 제제는 방출지연체로서 레티노익산을 포함함으로써 인하여, 유효성분의 붕입량 및 붕입 효율이 극대화되고, 초기 과다방출이 억제되며, 일정시간 동안 지속적인 약물 방출을 유도할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/445 (2013.01)

A61K 47/12 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/1647 (2013.01)

(72) 발명자

김보연

대전광역시 유성구 가정로 141, 606호(장동)

박은희

서울특별시 강남구 테헤란로4길 14, 미림타워 8층
(역삼동)

김영택

서울특별시 강남구 테헤란로4길 14, 미림타워 8층
(역삼동)

명세서

청구범위

청구항 1

유효성분 및 레티노익산을 포함하는 생분해성 고분자 미립구 함유 서방형 제제.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 미립구로부터 상기 유효성분이 서서히 방출되는 것을 특징으로 하는 서방형 제제.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 레티노익산은 상기 유효성분의 방출지연제로서 작용하는 것을 특징으로 하는 서방형 제제.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 유효성분은 에씨탈로프람 및 도네페질로부터 선택되는 1 이상인 것을 특징으로 하는 서방형 제제.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 생분해성 고분자는 폴리락타이드(PLA), 폴리글리콜라이드(PGA), 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(PLGA) 및 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)글루코스로 이루어진 군에서 선택된 1 이상인 것인 서방형 제제.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제제는 주사제인 것을 특징으로 하는 서방형 제제.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 미립구의 입경은 1 내지 500 μm 인 것을 특징으로 하는 서방형 제제.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 미립구 내 유효성분의 함유율 (유효성분 봉입량 / 미립구중량 $\times$ 100(%))은 10 내지 50 중량%인 것을 특징으로 하는 서방형 제제.

청구항 9

생분해성 고분자, 유효성분, 및 레티노익산을 포함하는 용액을 제조하는 단계; 및
상기 용액을 수용액에 첨가하면서 교반하여 O/W 유제를 형성하면서 미립구를 형성하는 단계를 포함하는 제1항에 따른 서방형 제제의 제조방법.

청구항 10

유효성분 및 방출지연제로서 레티노익산을 포함하고, 상기 유효성분을 서서히 방출하는 것을 특징으로 하는 생분해성 고분자 미립구.

청구항 11

서서히 방출하고자 하는 유효성분을 포함하는 생분해성 고분자 미립구에 레티노익산을 추가로 포함시켜, 상기 유효성분의 방출속도 및 상기 미립구의 분해속도를 조절함을 특징으로 하는, 레티노익산을 이용한 유효성분의 서방형 약물 방출 시스템.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 생분해성 고분자 미립구(microsphere)에 레티노익산을 함유한 서방출 제제 및 이의 제조방법에 대한 것이다. 더욱 상세하게는 상기 서방출 제제는 생분해성 고분자 미립구에 레티노익산이 일정 함량으로 담지된 약물 전달체로서, 약물의 봉입량 및 봉입 효율이 극대화되고, 초기 과다방출이 억제되며, 일정시간 동안 지속적인 약물 방출을 유도할 수 있는 서방출 제제 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 서방형 주사 제형이란 피하 또는 근육주사 시 체내에서 약물이 생물학적 활성을 유지하면서 지속적이고 균일하게 방출될 수 있도록 제제화된 주사 제형을 말한다. 종래에 이와 같은 서방형 주사제제들의 일반적인 제조방법은 코아세르베이션법, 용융 사출법, 분무 건조법, 용매 증발법 등이 알려져 있다. 이러한 방법 중 이중 유화 증발법(W/O/W emulsion)과 단일 유화 증발법(O/W emulsion)으로 분류되는 용매 증발법이 가장 많이 사용되고 있다. 그러나 이와 같은 다중 에멀전법을 이용한 미립구는 초기 방출률이 높다는 단점과 함께 활성성분인 약물을 유기용매 또는 물에 용해시킬 경우 미립구를 형성하면서 약물의 물성변화, 약효 소실, 낮은 봉입 효율 등의 문제점을 내포한다.
- [0003] 이러한 서방형 주사제제들의 약물 봉입률을 증가시키거나 제조공정이 쉽고 초기 과다 방출이 상대적으로 낮은 미립구를 제조하기 위한 다양한 시도가 이루어지고 있으나 아직까지 만족스럽지 못하다. 문헌 [Active self-healing encapsulation of vaccine antigens in PLGA microspheres, Journal of Controlled Release 165 (2013) 62-74]에서는 이중 유화 증발법으로 미립구를 제조한 후 미립구의 미세공을 통해서 활성성분인 백신 안티젠을 로딩한 후 생분해성 고분자의 유리전이온도(Tg)이상 가열하여 미세공을 막아서 초기방출을 억제하는 방법을 개시하고 있으나, 이러한 제조방법은 약물이 열에 의해 변성될 수 있다는 심각한 단점이 있다. 또한 단백질 트래핑 작용제를 첨가하여 약물봉입효율을 상당히 높였으나(~97%), 활성 물질의 전체적인 봉입량(1.4~1.8%)은 상당히 낮았다. 이러한 방법은 생리활성물질이 열에 의해서 변성될 수 있다는 단점이 있으며, 또한 투여 용량이 많은 약물을 고용량으로 봉입하는 데 있어서는 적용 불가능한 단점이 있다. 또한 복잡한 제조과정으로 생산화하기가 힘든 단점이 있다.
- [0004] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0005] (특허문헌 0001) 국제특허공보 WO 2015/085004

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 따라서 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 유효성분 및 레티노익산을 포함하는 고분자 미립구 함유 서방형 제제로서, 약물의 봉입량 및 봉입 효율이 극대화되며, 높은 로딩조건에서 미립구의 깨어짐이 개선되고, 미립구의 초기 방출 억제와 방출지연을 적절히 조절하는 것이 가능한 생분해성 고분자 미립구 및 이의 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0007] 본 발명의 하나의 관점은 유효성분 및 레티노익산을 포함하는 생분해성 고분자 미립구 함유 서방형 제제를 제공하는 것이다.
- [0008] 일반적으로 PLGA 등의 생분해성 고분자에 약물의 양이 고분자 대비 1 : 4 이상으로 많아지면 약물의 방출이 초

기에 급격히 증가하는 초기과다방출(initial busting) 현상이 일어나게 되며 약물의 양이 증가하면 할수록 이러한 현상은 심해지게 된다. 그리하여 고농도의 약물을 로딩해야 하는 경우 서방형 주사제로 개발하는데 결정적인 난관으로 여겨져 왔다. 즉, 초기과다방출은 약물이 급속히 방출되어 환자에게 부작용을 나타내거나 제제내의 약물이 고갈되어 원래 목적인 1주 - 4주이상의 서방화를 달성하는 것이 불가능하다. 이러한 초기방출과다 현상을 방지하고 서방화의 목적을 달성하기위해 시도되고 있는 방법 중 하나가 방출지연제를 첨가하는 것이다. 대표적인 예로서 대한민국 특허 출원10-2013-0036292 (2013.04.03.)에 제시한 바와 같이 하이드록시 나프토익산과 같은 방출지연제를 사용하여 4주 이상의 서방출 효과를 보이고 있다.

- [0009] 본 발명에 있어서, 방출지연제는 미립구가 수용액에 접촉되어 팽윤이 되는 것을 막아주고 미립자가 팽윤하여 입자 붕괴가 된 이후에도 고분자와 약물에 반데르발스력과 같은 분자간력에 의한 물리적인 결합이 작용하여 약물의 방출을 지연시키는 것으로 평가된다.
- [0010] 이와 같이, 본 발명은 서서히 방출하고자 하는 유효성분을 포함하는 생분해성 고분자 미립구에 레티노익산을 추가로 포함시키어, 상기 유효성분의 방출속도 및 상기 미립구의 분해속도를 조절함을 특징으로 하는, 레티노익산을 이용한 유효성분의 서방형 약물 방출 시스템을 제공한다.
- [0011] 상기 유효성분 및 방출지연제로서 레티노익산을 포함하는 미립구의 체내 투여 후, 생분해성 고분자는 시간에 따라 체내의 전해질을 흡수하여 수화가 이루어지고 팽창되어 내부의 유효성분이 서서히 방출되게 된다.
- [0012] 본 발명에 따른 미립구에 있어, 상기 유효성분은 에씨탈로프람 및 도네페질로부터 선택되는 1 이상일 수 있다.
- [0013] 일 구현예에서 유효성분과 동일한 몰비로 레티노익산을 사용하는 것이 가능하며, 제조과정에서 몽침이나 침전물이 생성되지 않도록 몰 비율을 적절히 조절하여, 예로 1 : 0.5 정도로 사용할 수도 있다.
- [0014] 다른 구현예에서 유효성분 대 레티노익산의 중량비는 1 : 0.5 내지 1.2 미만일 수 있고, 생분해성 고분자 대 레티노익산의 중량비는 1 : 0.33 내지 0.8 미만일 수 있다.
- [0015] 또 다른 구현예에서 유효성분 대 레티노익산의 중량비는 1 : 0.2 내지 0.8 미만일 수 있고, 생분해성 고분자 대 레티노익산의 중량비는 1 : 0.13 내지 0.53일 수 있다.
- [0016] 레티노익산의 첨가로 약물의 고형화를 효율적으로 달성하고, 입자 내부의 약물을 균일하고 단단하게 유지할 수 있으며, 높은 로딩의 미립구를 얻을 수 있다. 레티노익산이 사용될 경우 적절한 강도를 가진 미립구를 제조하는데 용이할 뿐만 아니라, 바람직한 용출 패턴을 가지도록 미립구를 제조할 수 있다.
- [0017] 이렇게 제조한 미립구의 입경은 1 내지 500 μm 일 수 있고, 바람직하게는 10 내지 400 μm , 20 내지 300 μm 또는 30 내지 200 μm 일 수도 있다. 또한, 상기 미립구 내 상기 유효성분의 함유율 (유효성분 봉입량 / 미립구중량 $\times$ 100(%))은 10 내지 50 중량%, 또는 20 내지 50 중량%, 바람직하게는 30 내지 40 중량%일 수도 있다.
- [0018] 본 발명에 따른 미립구에 있어, 상기 생분해성 고분자로는 바람직하게, 폴리락타이드(PLA), 폴리글리콜라이드(PGA), 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(PLGA), 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)글루코즈 중에서 선택된 하나 이상이 사용될 수 있다.
- [0019] 바람직한 구현예에서, 본 발명에 따른 미립구를 포함하는 상기 제제는 주사제로서 제조될 수 있다.
- [0020] 본 발명은 또한 O/W 용매 내 추출 증발법(Solid-in-oil-in-water; solvent intra extraction evaporation)을 이용해 생분해성 고분자 미립구형 서방출 제제의 제조 방법을 제공한다. 상기 방법은 미립구 내 약물의 봉입량 및 봉입 효율을 극대화하고 약물을 지속적이고 균일하게 방출을 유도하는 서방출 제제를 제조할 수 있게 한다.
- [0021] 즉, 본 발명은 생분해성 고분자, 유효성분 및 방출지연제를 포함하는 용액을 제조하는 단계, 및 상기 용액을 수용액에 첨가하면서 교반하여 O/W 유제를 형성하면서 미립구를 형성하는 단계를 포함하는, 생분해성 고분자 미립구 함유 서방형 제제의 제조 방법을 제공한다.
- [0022] 구체적으로, 본 발명은 용매와 생분해성 고분자, 유효성분, 방출지연제를 강하게 혼합 교반하여 용해시키는 단계(a), 상기 용액을 수용액(바람직하게는 폴리비닐알코올 수용액)에 적하하여 서서히 혼합 교반하여 O/W 유탁액을 제조하는 단계(b), 상기 O/W 유탁액에서 상기 공용매가 상기 수성매질로 확산 및 증발되면서 미립구가 생성되는 경화단계(c)를 포함하는 제조 방법을 제공한다. 또한, 본 발명에 따른 상기 제조방법은 상기 c) 단계에서 생성된 미립구를 건조, 바람직하게는 동결 건조하는 단계(d)를 더 포함할 수 있다.
- [0023] 예시적으로, 본 발명의 제조 방법은 다음과 같은 단계들을 통해 제조될 수 있다.

- [0024] (a 단계) 생분해성 고분자, 유효성분, 및 방출지연제를 강하게 혼합 교반하여 용해시키는 단계
- [0025] 상기 비수성 용매는 생분해성 고분자를 용해할 수 있는 것이라면 특별히 제한되지 않는다. 본 발명의 구체적인 일 실시 양태에 따르면 상기 비수성 용매로 비등점이 낮은, 예를 들어 비등점이 25℃ 내지 85℃인, 비수성 용매를 사용할 수 있다. 비수성 용매의 비등점이 상기 범위에 포함되는 경우, 미립구의 생성 후 이의 증발 및 건조의 측면에서 유리하다. 본 발명에 있어서, 상기 비수성 용매의 비제한적인 예로, 디클로로메테인, 클로로포름, 아세트나이트릴, 디메틸설폭시드, 디메틸포름아마이드, 에틸아세테이트 등을 들 수 있으나, 특별히 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0026] 상기 생분해성 고분자는 약물 전달체로 사용될 수 있는 미립구 제조시 이용되는 통상의 고분자인 것으로서, 생체내에서 스스로 분해되며, 생체적합성을 갖는 것이다. 본 발명에 있어서, 폴리락타이드(PLA), 폴리글리콜라이드(PGA), 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(PLGA), 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)글루코즈 등의 생분해성 합성 고분자를 하나 이상 사용할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 구체적인 일 실시양태에 있어서, 상기 생분해성 고분자는 중량 평균 분자량이 60,000 이하인 것이 사용될 수 있다. 예를 들면, 분자량 약 13,000인 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(50:50), 분자량 약 33,000인 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(50:50), 분자량 약 52,000인 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(50:50), 분자량 약 20,000인 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(75:25), 분자량 약 16,000인 폴리(락타이드)(100:0) 등을 사용할 수 있다. 이와 같은 생분해성 고분자는 예를 들면, 베링거인겔하임사의 Resomer RG502H, RG503H, RG504H, RG752H, R202H 등을 들 수 있다.
- [0028] 본 발명의 구체적인 일 실시양태에 있어서, 상기 생분해성 고분자는 0.16 내지 0.6 dL/g의 고유점도를 가질 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 생분해성 고분자의 점도가 0.1 dL/g 미만이면 약물 분말 입자를 봉입하는 미립구가 제대로 형성되지 않거나 약물 봉입률이 현저히 감소하게 되며, 0.6 dL/g 를 초과하는 경우에는 미립구의 크기가 과도하게 크게 형성될 수 있고, 약물방출량이 적어 소망하는 수준의 약효가 나타나지 않을 수 있다.
- [0029] 본 발명의 구체적인 일 실시양태에 따르면, 상기 단계에서 생분해성 고분자는 제1 혼합액 1ml 당 10mg 내지 150 mg의 농도, 바람직하게는 25mg 내지 125 mg의 농도, 더욱 바람직하게는 50mg내지 125mg의 농도로 용해된다. 생분해성 고분자의 농도가 적은 경우 고분자 용액의 점도가 낮아져서 균질기로 분산시 입자의 크기가 작아지는 경향이 있으나, 미립구 형성 전 미세 방울 내 고분자의 비율이 작아 입자형성 시 성긴 구조를 나타낼 수 있으며, 그에 따라 약물의 봉입량 및 봉입효율도 낮아지는 것으로 보인다. 반면 상기 농도가 150mg/ml를 초과하는 경우에는 고분자 용액의 점도가 높아짐에 따라서 미립구의 크기가 커지는 경향이 있다.
- [0030] 고형화제로는 앞서 언급된 물질들이 사용될 수 있다.
- [0031] (b 단계) 상기 용액을 수용액에 적하하여 서서히 혼합 교반하여 0/W 유탁액을 제조하는 단계
- [0032] 본 발명의 상기 수성 매질은 유화제를 포함할 수 있다. 상기 유화제의 함량은 수성 용매 1L 당 0.1g 내지 10g, 또는 3g 내지 7g의 범위, 즉, 0.1(w/v)% 내지 10(w/v)% 또는 3(w/v)% 내지 7(w/v)%인 것이 바람직하다. 상기 유화제로는 폴리소르베이트, 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐알콜, 폴록사머, 스팬80 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게, 본 발명에 있어 상기 유화제는 폴리비닐알콜이다.
- [0033] 본 발명의 구체적인 일 실시양태에 있어서, 상기 b) 단계에서 유탁액은 현탁액과 상기 수성 매질이 부피비를 기준으로 1:5 내지 1:50의 비율로 혼합되어 제조된다. 상기 혼합 비율은 바람직하게는 1:10 내지 1:20이다. 상기 현탁액과 상기 수성매질의 부피비가 1:5 미만일 경우에는 0/W 유탁액을 균질기로 균질화한 후 0/W 유탁액 중 미세 방울 간의 간격이 좁아 충돌할 가능성이 커져 공용매 및 비수성용매의 확산 및 증발 전에 미세 방울들이 뭉쳐져 크기가 균일한 미립구 형성이 어려워질 수 있다. 또한, 상기 비율이 1:50을 초과할 경우에는 첨가되는 유화제의 양이 많아져서 비용적 측면에서 불리하다.
- [0034] (c 단계) 상기 0/W 유탁액에서 상기 공용매가 상기 수성매질로 확산 및 증발되면서 미립구가 생성되는 경화단계
- [0035] 상기 b) 단계에서 공용매가 수성 매질로 확산 및 증발되면서 1차적인 고분자 경화가 유도되며 그에 따라서 약물 입자들이 미립구 내에 봉입된다. 즉, 상기 0/W 유탁액 중 분산된 미세 방울 내의 공용매가 수성용매 상으로 급격히 확산 및 추출되면서 생분해성 고분자가 빠르게 고형화되어 미립구를 형성한다. 본 발명의 구체적인 일 실시양태에 따르면 이 과정에서 미세방울들이 서로 뭉치지 않도록 자력식 교반기로 강하게 교반하는 것이 바람직하다. 미립구의 형성시간은 1 내지 10분으로 할 수 있다. 상기 미립구 형성시간이 1 분 미만일 경우에는 미립구의 생분해성 고분자가 덜 경화되어 입자간에 뭉침 현상이 나타날 수 있다. 반면, 10분을 초과하는 경우에는 약

물의 봉입 효율이 낮아질 수 있다.

[0036] 미립구 생성 후 상기 O/W 유탁액에서 수성 매질 및 용매를 제거하고 미립구를 수득한다.

[0037] (d 단계) c) 단계에서 생성된 미립구를 (동결) 건조하는 단계

[0038] 상기 (동결) 건조 과정을 통해 미립구의 구조가 견고해지며 약물이 생분해성 고분자에 완전히 봉입될 수 있다. 본 발명의 구체적인 일 실시양태에 따르면, 상기 건조는 미립구 내에 잔류하는 용매를 완전히 제거하기 위하여 동결 건조 단계가 더 포함될 수 있다. 상기 동결 단계는 -30°C 내지 -40°C 의 온도조건에서 수행될 수 있으며, 건조 시간은 12 내지 24 시간일 수 있다. 본 발명의 구체적인 일 실시양태에 따르면 상기 동결 건조 단계는 진공 조건에 하에서 수행될 수 있다. 상기 건조 시간이 12시간 미만의 온도 조건에서 수행되는 경우 잔류 용매가 완전히 제거되지 않을 수 있으며, 반면, 건조 시간이 24시간을 초과하게 되면, 생산성이 낮아질 수 있다.

[0039] 진술한 바와 같이 본 발명에 따른 O/W 용매 내 추출 증발법(Solid-in-oil-in-water; solvent intra extraction evaporation)을 이용해 서방출 제제인 생분해성 고분자 미립구를 제조할 수 있다. 상기 방법에 따라 수득된 미립구는 약물 봉입량 및 봉입 효율이 높고 서방출 효과가 우수하다.

[0040] 본 발명에 있어서, 상기 미립구는 생분해성 고분자가 미립구 100중량% 대비 30 내지 95 중량%, 바람직하게는 45 내지 75 중량%가 포함될 수 있다. 만일 생분해성 고분자가 40 중량% 미만으로 포함되는 경우에는 미립구의 표면 및 내부에 다공상의 특성을 나타내는 경향이 있어 약물이 초기에 과다 방출되거나 짧은 방출 시간을 나타내는 문제점이 있다. 반면, 95 중량%를 초과하는 경우에는 환자 또는 동물체에 투여되는 미립구의 양이 지나치게 많아져 투여가 힘들거나, 투여 자체가 불가능해질 수 있다.

발명의 효과

[0041] 본 발명은 유효성분을 담지한 생분해성 고분자 입자를 제조함에 있어서 O/W 용매 내 추출 증발법을 이용하여 최소한의 공정과 에너지를 사용해 높은 약물 봉입량 및 봉입효율, 장기간 동안 지속적인 약물 방출 거동을 나타낼 수 있는 고분자 미립구 서방형 제제 및 이의 제조방법을 제공한다. 특히, 미립구 내에 유효성분을 서방화를 시킬 수 있는 방출지연체를 포함시킴으로써 미립구의 봉입율과 로딩율을 증가시키고 미립구의 내부구조를 균일하게 하여 약물 방출을 효율적으로 제어할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1에서 A는 비교예 1, B는 실시예 1-3의 에씨탈로프람 함유 미립구 사진이고, C는 비교예 2 및 D는 실시예 2-3는 도네페질 함유 미립구의 전자현미경 사진이다. 좌측 사진은 고분자와 약물만으로 제조된 사진이고 우측 사진은 고분자, 약물과 레티노익산이 첨가된 미립구의 사진이다. 실시예 1-3과 실시예 2-3에서 제조된 미립구는 외부가 매끈한 형태를 보이고 건조 후 입자가 깨어지거나 변형된 형태가 관찰되지 않았다.

도 2는 도네페질과 고분자로 구성된 미립구인 비교예 1과 방출지연체인 레티노익산의 함량을 증가하여 제조한 미립구인 실시예 1-1, 실시예 1-2, 실시예 1-3, 실시예 1-4에 대한 PBS용액 속에서 시간에 따라 입자의 팽창과 붕침 현상을 관찰한 광학 현미경 사진이다. 시간이 지날수록 모든 미립구가 팽윤되고 미립구의 형체가 붕괴되는 것을 알 수 있으며 특히 레티노익산의 함량이 증가할수록 미립구의 붕침과 붕괴가 10일 정도 까지 지연됨을 알 수 있었다. 이 결과는 미립구에서 에씨탈로프람의 방출이 지연될 수 있다는 것을 의미한다.

도 3은 도네페질과 고분자로 구성된 미립구인 비교예 2와 방출지연체인 레티노익산의 함량을 증가하여 제조한 미립구인 실시예 2-1, 실시예 2-2, 실시예 2-3, 실시예 2-4에 대한 PBS용액 속에서 시간에 따라 입자의 팽창과 붕침 현상을 관찰한 광학 현미경 사진이다. 시간이 지날수록 모든 미립구가 팽윤되고 미립구의 형체가 붕괴되는 것을 알 수 있으며 특히 레티노익산의 함량이 증가할수록 미립구의 붕괴가 25일 까지 지연됨을 알 수 있었다. 이 결과는 미립구에서 도네페질의 방출이 지연될 수 있다는 것을 의미한다.

도 4는 에씨탈로프람과 고분자로 구성된 미립구인 비교예 1과 방출지연체인 레티노익산의 함량을 증가하여 제조한 미립구인 실시예 1-1, 실시예 1-2 및 실시예 1-3에 대한 PBS용액 속에서 시간에 따라 미립구에서 에씨탈로프람의 서방출 특성을 관찰한 그래프이다.

도 5는 도네페질과 고분자로 구성된 미립구인 비교예 2와 방출지연체인 레티노익산의 함량을 증가하여 제조한 미립구인 실시예 2-1, 실시예 2-2 및 실시예 2-3에 대한 PBS 용액 속에서 시간에 따라 미립구에서 도네페질의 서방출 특성을 관찰한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명 하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0044] 실시예

[0045] **실시예 1:** 생분해성 고분자인 PLGA, 에씨탈로프람 및 레티노익산을 사용한 O/W 형 미립구 제조

[0046] 생분해성 고분자 PLGA 1.5 g(제조원: EVONIK, 제품명: RESOMER RG753H) 및 에씨탈로프람 1g과 레티노익산(retinoic acid) 각각 0.5 g, 0.8 g, 1 g 및 1.2g을 디클로로메테인 20 ml에 첨가하고 강하게 교반하여 1시간 용해시켰다. 균일하게 용해된 용액을 5(w/v)% 폴리비닐알코올(제조원: 시그마알드리치, 87~90% hydrolyzed MW: 30,000~70,000) 200 ml 수용액상에 넣어 주면서 균질기(IKA, ULTRA-TURRAX T8)를 이용하여 1,000~2,000 rpm으로 분산시켜 2분에 걸쳐 O/W 유탁액을 얻었다. 그 후 상기 유탁액을 상온, 상압 하에 5시간 자력교반기(900 rpm)로 강하게 저어주면서 미립구를 형성시킨 후, 거름종이(Whatman)를 이용해 미립구를 채취하고 증류수로 2~3회 세척하였다. 세척한 미립구를 상온, 상압 하에 3시간 동안 1차 건조시킨 후, 12시간 동안 -35℃에서 동결 건조하여 미립구 내 용매를 완전히 제거하였다.

[0047] 레티노익산의 사용량을 변경해 가며 동일한 방법으로 실시예 1-1 내지 1-4를 제조하였다. 실시예 1의 대표적인 예는 실시예 1-2이다.

표 1

	실시예 1-1	실시예 1-2	실시예 1-3	실시예 1-4
에씨탈로프람	1g	1g	1g	1g
레티노익산	0.5g	0.8g	1g	1.2 g
PLGA(RG753H)	1.5g	1.5g	1.5g	1.5 g

[0050] **실시예 2:** 생분해성 고분자 PLGA, 도네페질 및 레티노익산을 사용한 O/W 형 미립구 제조

[0051] 생분해성 고분자 PLGA 1.5 g(제조원: EVONIK, 제품명: RESOMER RG753H) 및 도네페질 1g과 레티노익산 각각 0.2 g, 0.4 g, 0.6 g 및 0.8g을 디클로로메테인 20 ml에 첨가하고 강하게 교반하여 1시간 용해시켰다. 그 후, 실시예 1과 동일하게 진행하여 미립구를 제조하였다.

[0052] 레티노익산의 사용량을 변경해 가며 동일한 방법으로 실시예 2-1 내지 2-4를 제조하였다. 실시예 2의 대표적인 예는 실시예 2-3이다.

표 2

	실시예 2-1	실시예 2-2	실시예 2-3	실시예 2-4
도네페질	1g	1g	1g	1g
레티노익산	0.2g	0.4g	0.6g	0.8g
PLGA(RG753H)	1.5g	1.5g	1.5g	1.5g

[0055] **비교예 1:** 생분해성 고분자 PLGA와 에씨탈로프람을 사용한 미립구 제조

[0056] 생분해성 고분자 PLGA 1.5 g(제조원: EVONIK, 제품명: RESOMER RG753H) 및 에씨탈로프람 1g을 디클로로메테인 20ml 에 첨가하고 강하게 교반하여 1시간 용해시켰다. 그 후, 실시예 1과 동일하게 진행하여 미립구를 제조하였다.

[0058] **비교예 2:** 생분해성 고분자 PLGA와 도네페질을 사용한 미립구 제조

[0059] 생분해성 고분자 PLGA 1.5 g(제조원: EVONIK, 제품명: RESOMER RG753H) 및 도네페질 1g을 디클로로메테인 20ml 에 첨가하고 강하게 교반하여 1시간 용해시켰다. 그 후, 실시예 1과 동일하게 진행하여 미립구를 제조하였다.

[0061] **실험예 1: 미립구의 형태 측정**

[0062] 상기 실시예 및 비교예에서 얻어진 미립구 형태를 광학현미경을 사용하여 확인하였다.

[0063] 측정결과를 도 1 내지 3에 나타내었다. 상기 결과에 따르면 각 실시예 및 비교예에서 약 50~160 μm 크기의 미립구가 확인되었다.

[0064] 도 1에서 A는 비교예 1, B는 실시예 1-3의 에씨탈로프람 함유 미립구 사진이고, C는 비교예 2 및 D는 실시예 2-3 는 도네페질 함유 미립구의 전자현미경 사진이다. 실시예 1-3과 실시예 2-3에서 제조된 미립구는 외부가 매끈한 형태를 보이고 건조 후 입자가 깨어지거나 변형된 형태가 관찰되지 않았다. 반면에, 비교예 1은 액체 상태의 에씨탈로프람과 PLGA 고분자간의 상분리로 입자 내부에 스폰지 형태의 동공이 생긴 것을 관찰할 수 있었고 그로 인하여 입자의 강도가 현저히 낮아져 부서져 있는 입자가 많이 관찰되었다.

[0066] **실험예 2: 미립구의 에씨탈로프람 및 도네페질 봉입량 및 봉입률 측정**

[0067] 상기 실시예 및 비교예에서 제조된 미립구 약 30 mg을 각각 클로로포름(시그마알드리치) 3 ml에 넣어 완전히 용해시킨 후, 400배 희석하여 검액으로 사용하였다. HPLC 측정기를 이용해 흡광도를 측정하여 미립구 내에 봉입되어 있는 에씨탈로프람과 도네페질의 함량을 측정하였다. 봉입률은 약물의 투입량 대비 봉입량으로 계산하였다.

[0068] HPLC 분석 조건은 다음과 같았다.

[0069] - 이동상은 Acetonitrile 4 : Methanol 5 : Buffer 11 비율로 제조하였고, 검지기는 UV 240 nm, 분리용 컬럼은 4.6-mm X 25-cm; 5- μm packing L1이었으며, 유속은 1.5 mL/min, Injection size는 20 μL , 분석시간은 15 min, 분석 범위는 1000 $\mu\text{g/ml}$ ~ 7.8125 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도 범위에서 측정하였다.

[0070] 측정결과를 하기 표 3과 표 4에 나타내었다.

표 3

	에씨탈로프람 함유율(%) (약물봉입량/미립구중량) X 100(%)	에씨탈로프람 봉입 효율(%) (약물봉입량/약물투입량) X 100%
실시예 1-1	34.7 $\pm$ 0.5	77.5 $\pm$ 0.4
실시예 1-2	32.4 $\pm$ 0.3	76.3 $\pm$ 0.3
실시예 1-3	31.6 $\pm$ 0.4	86.2 $\pm$ 0.5
실시예 1-4	30.2 $\pm$ 0.7	52.4 $\pm$ 0.3
비교예 1	13.5 $\pm$ 0.3	43 $\pm$ 0.5

표 4

	도네페질 함유율(%) (약물봉입량/미립구중량) X 100(%)	도네페질 봉입 효율(%) (약물봉입량/약물투입량) X 100%
실시예 2-1	35.7 $\pm$ 0.5	73.5 $\pm$ 0.3
실시예 2-2	34.4 $\pm$ 0.3	75.3 $\pm$ 0.4
실시예 2-3	32.6 $\pm$ 0.7	82.2 $\pm$ 0.2
실시예 2-4	31.2 $\pm$ 0.6	44.4 $\pm$ 0.5
비교예 2	34.5 $\pm$ 0.4	73 $\pm$ 0.6

[0073] 실시예 1-1, 1-2, 1-3와 실시예 2-1, 2-2, 2-3에서의 에씨탈로프람과 도네페질의 봉입효율은 75~80% 수준으로 높게 나왔다. 실시예 1-4와 실시예 2-4는 레티노익산이 너무 많아 미립구 형성이 잘되지 않아 봉입효율이 40~50% 수준으로 낮았다. 그리고, 레티노익산이 없는 비교예 1은 약물이 액상으로 제조과정에서 손실율이 커져서

봉입율이 상대적으로 낮았다. 비교예 2는 로딩과 봉입율이 양호하게 나왔다.

[0075] 실험예 3: 미립구의 In vitro 약물 방출 거동 측정

[0076] 약물의 방출거동을 측정하기 위하여 상기 실시예 1과 실시예 2 및 상기 비교예 1과 비교예 2에서 제조된 각 미립구를 입자 내 약물의 양이 4.0 mg이 되도록 무게를 측정한 후 각각 100 ml의 PBS(phosphate buffer saline, pH 7.4)에 넣고 37℃ 등온기에 보관하였으며, 시간대별로 1 ml을 추출한 PBS를 40배 희석하여 HPLC 측정기를 사용하여 방출량을 측정하였다. 흡광도 값을 환산하여 방출된 약물의 농도를 구하였으며, 각 입자 샘플의 전체 약물 (4 mg) 대비 각 시간대별로 방출된 약물의 양을 누적 백분율로 계산하여 나타내었다. 에씨탈로프람과 도네페질 용액은 본 실험의 대조군으로 사용하였다. 상기 측정 결과를 도 4 및 5에 나타내었다.

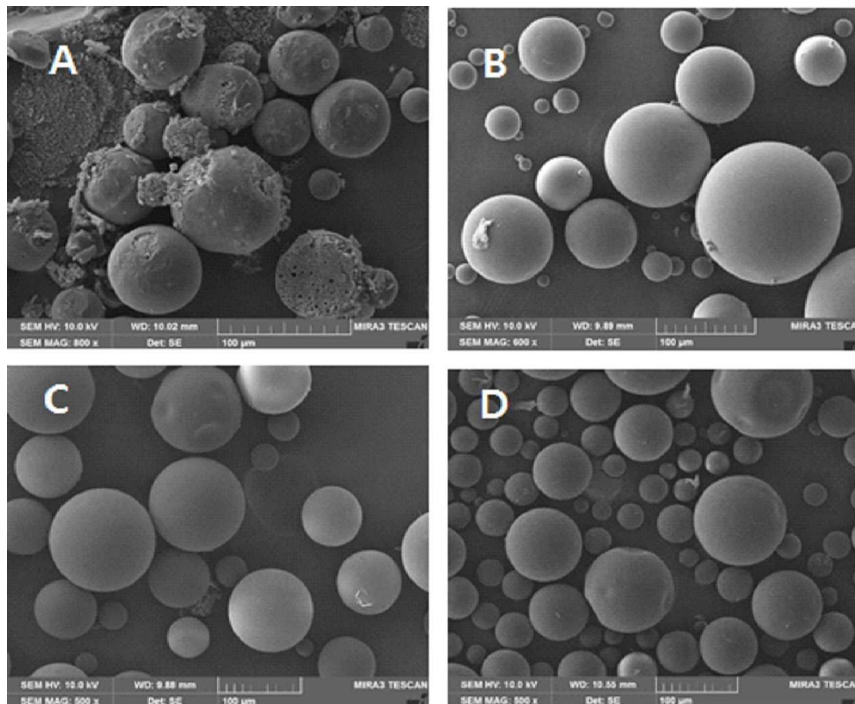
[0077] 도 4는 본 발명에 따른 에씨탈로프람 실시예 1 및 비교예 1에서 제조된 미립구를 실험예 1에 따라 실험한 in vitro 약물 방출 거동 측정 결과를 보여주는 그래프이다. 비교예 1과 비교하여 레티노익산을 함유한 경우 레티노익산의 함량이 증가할수록 초기방출 억제와 방출지연 효과가 양호하게 나타났다.

[0078] 도 5는 본 발명에 따른 도네페질 실시예 2 및 비교예 2에서 제조된 미립구를 실험예 1에 따라 실험한 in vitro 약물 방출 거동 측정 결과를 보여주는 그래프이다. 비교예 2과 비교하여 레티노익산을 함유한 경우 레티노익산의 함량이 증가할수록 초기방출 억제와 방출지연 효과가 양호하게 나타났다.

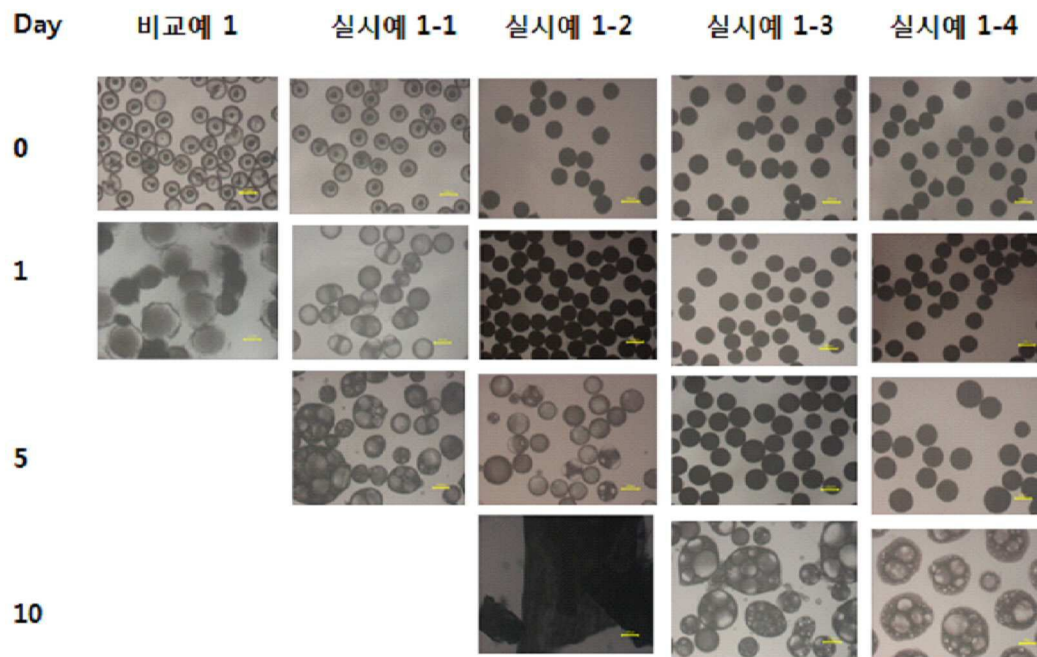
[0079] 이는 방출지연제의 첨가로 미립구 내부 구조가 고분자와 약물의 결합을 강하게 하는 반데르발스력이 작용하여 외부의 수용액의 흡수를 방해하고 분자간의 해리를 막아주는 역할을 하는 것에 의하여 방출을 지연시킨 결과로 평가된다.

도면

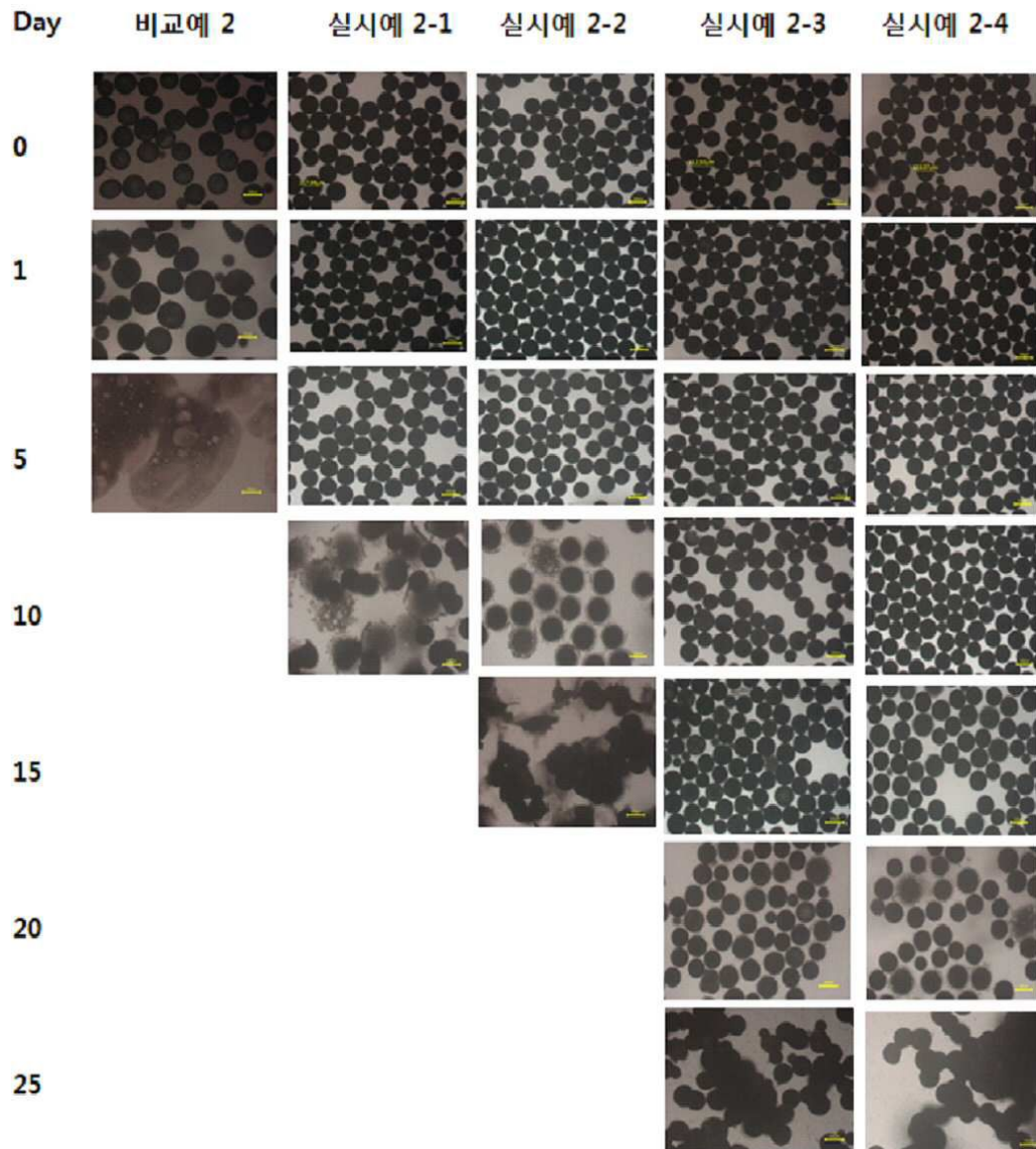
도면1



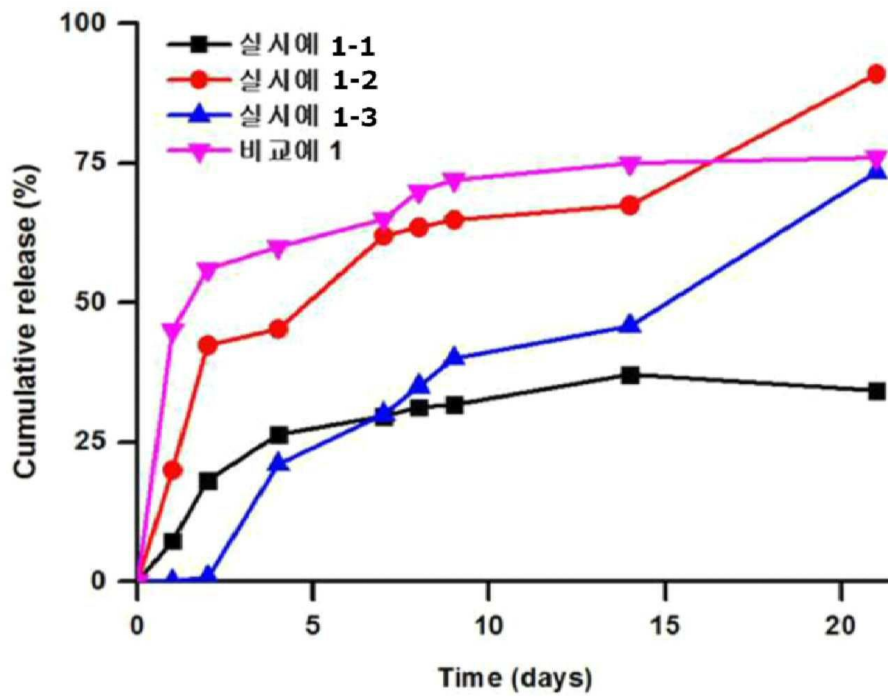
도면2



도면3



도면4



도면5

