I773641

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I773641 B**

(45)公告日： 中華民國 111 (2022) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：105114243 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 05 月 06 日

(51)Int. Cl.： *A61K31/573 (2006.01)* *A61K9/10 (2006.01)*
B82Y5/00 (2011.01)

(30)優先權：2015/05/08 日本 2015-095610

(71)申請人：日商活效製藥股份有限公司 (日本) ACTIVUS PHARMA CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：多田貴広 TADA, TAKAHIRO (JP) ；加賀美和宏 KAGAMI, KAZUHIRO (JP) ；横田志朗 YOKOTA, SHIRO (JP) ；菊池健太 KIKUCHI, KENTA (JP)

(74)代理人：陳長文

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：13 共 75 頁

(54)名稱

含有糖皮質類固醇（ＧＬＵＣＯＣＯＲＴＩＣＯＩＤＳ）之奈米微粒子之水性懸浮液劑

(57)摘要

本發明之目的在於提供一種含有糖皮質類固醇化合物作為有效成分之水性懸浮液。具體而言，本發明之目的在於提供一種含有能夠實用化之糖皮質類固醇化合物作為有效成分之醫藥組合物。

本發明提供一種水性懸浮液劑、含有該水性懸浮液之非經口投予用醫藥組合物、注射劑、點眼劑或滴耳劑，更具體而言，用於治療或預防眼之炎症性疾病之點眼劑或者用於治療或預防耳之炎症性疾病之滴耳劑，該水性懸浮液劑之特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子及分散穩定劑，且奈米微粒子之平均粒徑為 300nm 以下，D90 粒徑為 450nm 以下。

The present invention is aimed to provide an aqueous suspension containing nano particles of Glucocorticoids as an active ingredient. Specifically, the present invention is aimed to provide an pharmaceutical composition containing nano particles of Glucocorticoids as an active ingredient. The present invention is directed to an aqueous suspension characterized by containing nano particles of Glucocorticoids and dispersion stabilizer; the aqueous suspension wherein the nano particle has avarage diameter less than 300 nm and D90 diameer less than 450 nm; a pharmaceutical composition for parenteral administration, such as injections, eye drops or ear drops, comprising the aqueous suspension; more specifically, the eye drops for treatment or prevention of ocular inflamatory disease, or the ear drops for treatment or prevention of otic inflamatory disease.

公告本

I773641

發明摘要

※ 申請案號： 105114243

※ 申請日： 105年5月6日

※IPC 分類： *A61K 31/573* (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)

【發明名稱】

含有糖皮質類固醇(GLUCOCORTICOIDS)之奈米微粒子之水性懸浮液劑

AQUEOUS SUSPENSION CONTAINING NANO PARTICLES OF GLUCOCORTICOIDS

【中文】

本發明之目的在於提供一種含有糖皮質類固醇化合物作為有效成分之水性懸浮液。具體而言，本發明之目的在於提供一種含有能夠實用化之糖皮質類固醇化合物作為有效成分之醫藥組合物。

本發明提供一種水性懸浮液劑、含有該水性懸浮液之非經口投予用醫藥組合物、注射劑、點眼劑或滴耳劑，更具體而言，用於治療或預防眼之炎症性疾病之點眼劑或者用於治療或預防耳之炎症性疾病之滴耳劑，該水性懸浮液劑之特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子及分散穩定劑，且奈米微粒子之平均粒徑為300 nm以下，D90粒徑為450 nm以下。

【英文】

The present invention is aimed to provide an aqueous suspension containing nano particles of Glucocorticoids as an active ingredient. Specifically, the present invention is aimed to provide an pharmaceutical composition containing nano particles of Glucocorticoids as an active ingredient. The present invention is directed to an aqueous suspension characterized by containing nano particles of Glucocorticoids and dispersion stabilizer; the aqueous suspension wherein the nano particle has avarage diameter less than 300 nm and D90 diameer less than 450 nm; a pharmaceutical composition for parenteral administration, such as injections, eye drops or ear drops, comprising the aqueous suspension; more specifically, the eye drops for treatment or prevention of ocular inflamatory disease, or the ear drops for treatment or prevention of otic inflamatory disease.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

110年3月15日訂正本

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】

含有糖皮質類固醇(GLUCOCORTICOIDS)之奈米微粒子之水性懸浮液劑

AQUEOUS SUSPENSION CONTAINING NANO PARTICLES OF GLUCOCORTICOIDS

【技術領域】

本發明係關於一種含有糖皮質類固醇之奈米微粒子之水性懸浮液劑及其用途。

【先前技術】

糖皮質類固醇為疏水性，因此先前一直以水性懸浮液之形式提供。但是，糖皮質類固醇化合物之水性懸浮液所含有之類固醇粒子隨著時間之經過而沈澱，因此患者需要於使用時振動容器而使活性成分均一地分散於液相中。又，雖然患者需要於使用時振動容器，但懸浮液中之粒子容易凝集而形成塊，藥劑之粒徑增加，由此容易損害均一性。如此，分散變得不均一，因此存在未投予預定之投予量而炎症或疼痛之抑制變得不充分之問題。

因此，作為解決類固醇之上述問題之方法之一，提出有乳液製劑(專利文獻1、非專利文獻1、2)。例如確認二氟潑尼酯之水包油型(O/W型)乳液製劑(Durezol(註冊商標)：0.05%二氟潑尼酯製劑)無論其保存狀態及使用前有無振盪，均能夠對患部穩定地提供均一之藥劑。

但是，水包油型(O/W型)乳液製劑需要使用油性溶劑，因此存在出現異物感、充血等刺激作用之問題。因此，即便不使用油性溶劑，亦需要能夠保持均一性之糖皮質類固醇之水性製劑。

又，藉由如地塞米松磷酸酯鈉般將化合物之結構設為親水性而嘗試溶解於水中。但是，溶解於水中之製劑因溶解度之限制而存在能夠含有之有效成分的濃度有極限之問題。

另一方面，作為含有難溶性藥劑之水性液劑，提出有將水性懸浮液中之有效成分之粒子設為奈米尺寸之奈米懸浮液劑(Nanosuspensions)。關於奈米懸浮液劑，已知藉由粒徑較小直至奈米尺寸而實質上擴大比表面積，藉此因溶解度增大而能夠使血清水準更早地變得最大，能夠以各種投予形態提供，能夠提高所含有之有效成分量。迄今為止，作為糖皮質類固醇化合物之奈米懸浮液劑，揭示有含有藉由使用玻璃珠之濕磨(Wet mill)而製造之氟替卡松(D90 0.4 μm)及布地奈德(D90 0.4 μm)的水性懸浮液劑即便於4℃下5週後，亦可維持均一性、結晶結構、粒徑(非專利文獻3)。又，作為形成奈米粒子之自下而上方法，報告有藉由沈澱使糖皮質類固醇化合物之氫化可體松生成平均粒徑約300 nm之奈米粒子，而製成水性懸浮液之方法(非專利文獻4)。但是，該報告中揭示有於眼壓上升及穩定性方面自上而下法(milling)均優異。又，作為主要用於經鼻投予之皮質類固醇(具體而言，糠酸莫米松)之奈米懸浮液劑，揭示有包含D50為50～500 nm之皮質類固醇、親水性聚合物、濕潤劑及錯合劑之製劑(專利文獻2)。除此以外，報告有能夠進行高壓釜殺菌之糖皮質類固醇化合物之水性懸浮液劑(專利文獻3)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[專利文獻1]國際公開WO97/05882號公報

[專利文獻2]美國公開2011/0008453號公報

[專利文獻3]國際公開WO2007/089490號公報

[非專利文獻]

[非專利文獻1]Eric D Donnenfeld、Clinical Opthalmology(2011)5：811-816

[非專利文獻2]Hetal K. Patel等人、Colloids and Surfaces：Biointerfaces(2013)102：86-94

[非專利文獻3]Jerry Z. Yang等人、Journal of Pharmaceutical Sciences(2008)97(11)：4869-4878

[非專利文獻4]Hany S.M. Ali等人、Journal of Controlled Release(2011)149：175-181

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

雖然對含有上述難溶性藥物之水性液劑進行了各種研究，但含有丙酸倍氯松等糖皮質類固醇化合物之注射劑、點眼劑或滴耳劑等水性懸浮液劑之實用化仍較為困難，期待開發經時穩定性及分散穩定性優異之以糖皮質類固醇化合物作為有效成分之注射劑及局部投予用水性懸浮液劑、尤其是點眼劑及滴耳劑。

因此，一態樣中，本發明之目的在於提供一種經時穩定性及分散穩定性優異之含有糖皮質類固醇化合物作為有效成分之水性懸浮液。更具體而言，本發明之目的在於提供一種含有糖皮質類固醇化合物作為有效成分之清澈性、分散性、保存穩定性優異之注射劑、點眼劑、滴耳劑、滴鼻劑及/或吸入劑等水性醫藥組合物。進而，本發明之目的在於提供一種角膜滯留性及眼房液移動性優異之含有糖皮質類固醇化合物作為有效成分之點眼劑。又，本發明之目的在於提供一種含有作為糖皮質類固醇化合物之丙酸倍氯松作為有效成分之上述水性懸浮液或水性醫藥組合物。

[解決問題之手段]

本發明者等人進行了潛心研究，結果發現含有糖皮質類固醇化

合物之奈米微粒子及視需要之分散穩定劑、界面活性劑、抗凝集劑及/或黏度調整劑之水性懸浮液劑係清澈性、(長期)分散性、保存穩定性、角膜滯留性及眼房液移動性優異，作為水性醫藥組合物而較為優異。尤其是本發明者等人發現含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子及視需要之分散穩定劑、界面活性劑、抗凝集劑及/或黏度調整劑之水性懸浮液劑能夠於不包含具有異物感、充血等刺激作用的有機化合物之情況下達成優異之清澈性、(長期)分散性及保存穩定性，藉此，完成儘管刺激性較少，亦能夠對患部穩定地提供均一之藥劑，且抗炎症效果較高之糖皮質類固醇化合物之水性製劑。

更具體而言，本發明係關於以下：

(1)一種水性懸浮液劑，其特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子。

(2)如上述(1)之水性懸浮液劑，其中上述奈米微粒子之平均粒徑為300 nm以下而D90粒徑為450 nm以下。

(3)如上述(1)或(2)之水性懸浮液劑，其中上述奈米微粒子為藉由將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、生理學上容許之多元醇與表面修飾劑混合而製造之微粒子。

(4)如上述(1)至(3)中任一項之水性懸浮液劑，其中上述糖皮質類固醇化合物為選自丙酸倍氯松、乙酸雙氟拉松、丙酸地塞米松、二氟潑尼酯、糠酸莫米松、戊酸二氟米松、丁酸丙酸倍他米松、乙酸氟輕鬆、丁酸丙酸氫化可體松、貝克每松、丙酸地潑羅酮、戊酸倍他米松、戊酸地塞米松、戊酸乙酸潑尼松龍、氟輕鬆、丁酸氫化可體松、丁酸氯倍他松、丙酸阿氯米松、曲安奈德、氟米松特戊酸酯、潑尼松龍及氫化可體松中之1種以上之物質。

(5)如上述(1)至(4)中任一項之水性懸浮液劑，其進而含有分散穩定劑。

(6)如上述(5)之水性懸浮液劑，其中上述分散穩定劑為聚氧乙烯聚氧丙二醇及/或聚乙烯醇。

(7)如上述(1)至(6)中任一項之水性懸浮液劑，其進而含有黏度調整劑。

(8) 如上述(7)之水性懸浮液劑，其中上述黏度調整劑為選自甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素及聚乙烯醇中之1種以上之物質。

(9)如上述(7)或(8)之水性懸浮液劑，其含有上述黏度調整劑1～10 mg/mL。

(10)一種醫藥組合物，其含有如上述(1)至(9)中任一項之水性懸浮液劑。

(11)如上述(10)之醫藥組合物，其係非經口投予用途。

(12)如上述(11)之醫藥組合物，其係注射劑或局部應用製劑。

(13)如上述(12)之醫藥組合物，其係眼用局部應用製劑、耳用局部應用製劑、鼻用局部應用製劑或肺用局部應用製劑。

(14)如上述(13)之醫藥組合物，其係點眼劑、滴耳劑、滴鼻劑或吸入劑。

(15)如上述(10)至(14)中任一項之醫藥組合物，其係炎症性疾病或感染性疾病之治療藥或預防藥。

(16)如上述(15)之醫藥組合物，其中炎症性疾病或感染性疾病為全身性之炎症性疾病或感染性疾病。

(17)如上述(15)之醫藥組合物，其中炎症性疾病或感染性疾病為局部性之炎症性疾病或感染性疾病。

(18)如上述(17)之醫藥組合物，其中局部為選自眼、耳、鼻(上氣道)及肺(下氣道)中之1種以上之組織或臟器。

(19)一種用於製備如上述(10)至(18)中任一項之醫藥組合物之套組，其具備糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子。

(20)一種如上述(10)至(18)中任一項之醫藥組合物之製造方法，其包括將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、生理學上容許之多元醇及/或水、與分散穩定劑進行混合之步驟。

(21)如上述(20)之製造方法，其包括將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、甘油、無水檸檬酸、與氫化大豆卵磷脂進行混合之步驟。

尤其是，本發明者等人發現，藉由將糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子設為平均粒徑(以下，稱為「Dv」)為300 nm以下且90%徑(以下，稱為「D90」)為450 nm以下(較佳為Dv為250 nm以下且D90為300 nm以下，或Dv為200 nm以下且D90為250 nm以下)之微粒子，向眼房液中之移動性及抗炎症作用非常優異。又，藉由採用上述奈米粒子，能夠期待糖皮質類固醇化合物之溶解性之提昇，藉此能夠期待提高生物學利用性而減少投予量。平均粒徑能夠作為散射強度(Intensity Distribution)平均粒徑、體積(Volume Distribution)平均粒徑及個數(Number Distribution)平均粒徑而進行測定。較佳為於本說明書中，Dv表示散射強度平均粒徑。

因此，一態樣中，本發明係關於一種水性懸浮液劑，其特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子，較佳為關於一種奈米微粒子之Dv為300 nm以下而D90為450 nm以下之水性懸浮液劑。例如本發明之水性懸浮液劑含有藉由將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、生理學上容許之多元醇及/或水與分散穩定劑混合而製造的糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子。更佳為本發明之水性懸浮液劑含有藉由將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、甘油、無水檸檬酸、與氫化大豆卵磷脂進行混合而製造的糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子。

又，本發明者等人發現，特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之

奈米微粒子之水性懸浮液劑使用聚氧乙烯聚氧丙二醇(以下，稱為「POE•POP二醇」)及/或聚乙烯醇(以下，稱為「PVA」)作為分散穩定劑，且/或使用羥丙基甲基纖維素及/或甲基纖維素作為增黏劑，藉此長期優異之清澈性、分散性及保存穩定性優異。

因此，於一態樣中，本發明係關於一種水性懸浮液劑，其特徵在於含有Dv為300 nm以下且D90為450 nm以下(較佳為Dv為250 nm以下且D90為300 nm以下，或Dv為200 nm以下且D90為250 nm以下)之糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子。又，於另一態樣中，本發明係關於一種水性醫藥組合物，其特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子作為有效成分，含有分散穩定劑及/或黏度調整劑作為添加物。

本說明書中，所謂「水性醫藥組合物」，係指水性之液體狀或凝膠狀之醫藥組合物，具體而言，係指使糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子懸浮於水性液體或凝膠中之狀態之醫藥組合物。因此，只要無特別與其相反之記載，則本說明書中，醫藥組合物係指水性醫藥組合物。水性醫藥組合物包含注射劑及局部應用製劑。因此，只要無特別與其相反之記載，則本說明書中，局部應用製劑係用於局部投予之水性製劑。水性醫藥組合物只要不妨礙作為醫藥品之用途，則可具有黏性，除水狀製劑以外，亦包含凝膠狀製劑。

本說明書中，所謂「局部」，係指身體之一部分，例如患部、其周邊或存在患部之臟器等，較佳為眼、耳、鼻(上氣道)或肺(下氣道)。

具體而言，本發明之注射劑可為用於治療或預防全身性或局部之炎症性疾病或感染性疾病之注射劑，包含靜脈注射用、皮下注射用、肌肉注射用、點滴用等之注射劑。

本說明書中，所謂「局部應用製劑」，係指用於局部投予之醫藥組合物。較佳為局部應用製劑包含眼用局部應用製劑(例如點眼劑)、

耳用局部應用製劑(例如滴耳劑)、鼻用局部應用製劑(例如滴鼻劑)及肺用局部應用製劑(例如吸入劑)。上述局部應用製劑能夠製成用於治療或預防眼、耳、鼻或肺之炎症性疾病或感染性疾病之局部應用製劑。又，作為製劑形態，例如能夠製成點眼劑、滴耳劑、滴鼻劑及吸入劑。本發明之局部應用製劑較佳為用於治療或預防眼之炎症性疾病或感染性疾病之眼用局部應用製劑(包含點眼劑)、用於治療或預防耳之炎症性疾病或感染性疾病之耳用局部應用製劑(包含滴耳劑)、用於治療或預防鼻之炎症性疾病或感染性疾病之鼻用局部應用製劑(包含滴鼻劑)、或用於治療或預防肺之炎症性疾病或感染性疾病之肺用局部應用製劑(包含吸入劑)。

又，本發明之水性醫藥組合物藉由對需要其之患者之局部投予有效量，能夠用於治療或預防炎症性疾病或感染性疾病。即，於一態樣中，本發明係關於一種炎症性疾病或感染性疾病之治療方法或預防方法，其包括對需要其之患者投予有效量之水性懸浮液劑或含有該水性懸浮液劑之醫藥組合物的步驟，該水性懸浮液劑之特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子並隨意地含有分散穩定劑及/或黏度調整劑。例如本發明包含炎症性疾病或感染性疾病之治療方法或預防方法，其包括對需要其之患者投予有效量之局部應用製劑，該局部應用製劑之特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子並隨意地含有分散穩定劑。

或、本發明係關於一種用於製造水性醫藥組合物(例如注射劑及局部應用製劑)之糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子(及隨意之分散穩定劑及/或黏度調整劑)或含有該奈米微粒子之水性懸浮液劑之用途。

本說明書中，所謂「糖皮質類固醇化合物」，只要為糖皮質素及其衍生物化合物，則並無特別限定。作為糖皮質類固醇化合物，例如可列舉丙酸倍氯松、乙酸雙氟拉松、丙酸地塞米松、二氟潑尼酯、糠

酸莫米松、戊酸二氟米松、丁酸丙酸倍他米松、乙酸氟輕鬆、丁酸丙酸氫化可體松、貝克每松、丙酸地潑羅酮、戊酸倍他米松、戊酸地塞米松、戊酸乙酸潑尼松龍、氟輕鬆、丁酸氫化可體松、丁酸氯倍他松、丙酸阿氯米松、曲安奈德、氟米松特戊酸酯、潑尼松龍及氫化可體松，較佳為丙酸倍氯松。

本說明書中，所謂「水性懸浮液劑」，係指使糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子懸浮之水性液劑。本說明書中，關於水性懸浮液劑，其自身可構成能夠作為醫藥品投予之醫藥組合物，亦可為藉由適當添加其他成分或稀釋劑而構成醫藥組合物者(例如醫藥組合物之原料)，尤其是可為不用作醫藥品者。

本說明書中之水性懸浮液劑包含經分散穩定化之水性懸浮液劑。所謂經分散穩定化，係指藉由攪拌等而分散後，於室溫(25℃)下靜置24小時(較佳為2日、3日、4日、5日、6日、7日、1月、2月、3月、4月、5月、6月、1年或2年)後，具有(1)以目視無法確認沈澱、(2)清澈性較高、(3)以顯微鏡觀察未觀察到凝集物、結晶、(4)Dv之值實質上未變化(未增加50%以上)中之任一者、或2者以上之性質。較佳為本說明書中之含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子的水性懸浮液劑係自封入試管中開始7日後，以目視無法確認沈澱物，清澈性較高，且以顯微鏡觀察無法確認凝集物、結晶之水性懸浮液劑。

清澈性能夠依據日本藥典收錄之清澈性試驗法而進行判定。具體而言，能夠依據以下之工序而進行判定：於福爾馬肼標準乳濁液5 mL中添加水而成為100 mL，製成混濁之比較液。分別於內徑15 mm之無色透明之玻璃製平底試管中以液層成為深度30 mm或40 mm之方式提取受檢水性懸浮液劑及新製備的混濁之比較液，使用於散射光下為黑色之背景自上方觀察並進行比較。於受檢水性懸浮液劑之清澈性與水或所使用之溶劑相同，或其混濁程度為混濁之比較液以下時，能

夠判定清澈性較高。或者，對於受檢水性懸浮液劑及新製備之混濁之比較液，使用層長50 mm之單元，以水或所使用之溶劑作為對照，藉由紫外可視吸光度測定方法而進行試驗，測定660 nm下的透過率，於受檢水性懸浮液劑之透過率為混濁之比較液以上時，判定清澈性較高。

於另一態樣中，本發明之局部應用製劑為具有向眼房液之移動性之眼用局部應用製劑。此處，所謂「具有向眼房液之移動性」，係指自調整至0.05%(w/v)之糖皮質類固醇化合物之水性局部應用製劑的1次點眼投予開始60分鐘後，眼房液中之糖皮質類固醇化合物濃度(平均值)為45 ng/mL以上(較佳為50 ng/mL以上、55 ng/mL以上、60 ng/mL以上、65 ng/mL以上、70 ng/mL以上、75 ng/mL以上)。或者，所謂「具有向眼房液之移動性」，係指自調整至0.05%(w/v)之糖皮質類固醇化合物之水性局部應用製劑的1次點眼投予開始30分鐘後，眼房液中之糖皮質類固醇化合物濃度(平均值)為40 ng/mL以上(較佳為50 ng/mL以上、55 ng/mL以上、60 ng/mL以上、63 ng/mL以上、64 ng/mL以上、65 ng/mL以上、70 ng/mL以上、75 ng/mL以上)。

進而，於另一態樣中，本發明之局部應用製劑為具有向結膜之移動性之眼用局部應用製劑。此處，所謂「具有向結膜之移動性」，係指自調整至0.05%(w/v)之糖皮質類固醇化合物之水性局部應用製劑的1次點眼投予開始15分鐘後，結膜中之糖皮質類固醇化合物濃度(平均值)為500 ng/mL以上(較佳為659 ng/mL以上、900 ng/mL以上、972 ng/mL以上、1000 ng/mL以上、1200 ng/mL以上、1210 ng/mL以上、1400 ng/mL以上、1455 ng/mL以上、1500 ng/mL以上、或2000 ng/mL以上、2141 ng/mL以上)。

向眼房液之移動性及向結膜之移動性能夠使用適當之實驗動物並依據本案實施例中所記載之方法而進行，例如能夠依據以下之方法

而進行。將兔子之下眼瞼穩定地分離，使用移液管將被試驗物質滴(單次點眼投予)至左眼之結膜囊內，點眼後，緩緩地合上上下眼瞼並保持約2秒鐘。點眼15分鐘、30分鐘、60分鐘及90分鐘後進行麻醉，使其放血安樂死，使用注射用水對眼進行充分地洗淨後，提取眼房液或結膜。提取之眼房液中之糖皮質類固醇化合物濃度能夠藉由如下方式而決定：於提取之眼房液中添加甲醇及內標準(潑尼松龍)溶液並攪拌後，進而添加乙腈並攪拌而進行離心(13100×g、4℃、5分鐘)，藉由LC-MS/MS法而對所獲得之上清液進行測定。又，提取之結膜中之糖皮質類固醇化合物濃度能夠藉由如下方式決定：添加相對於所獲得之結膜之濕重量而為9倍容量之超純水而使其均質化，添加甲醇及內標準(潑尼松龍)溶液並攪拌後，進而添加乙腈並攪拌而進行離心(13100×g、4℃、5分)，藉由LC-MS/MS法而對所獲得之上清液進行測定。

另一態樣中，本發明之局部應用製劑係能夠降低眼房液中之蛋白質濃度之上升率之眼用局部應用製劑。此處，所謂「能夠降低眼房液中之蛋白質濃度之上升率」，係指將調整至0.05%(w/v)或0.1%(w/v)之糖皮質類固醇化合物的水性局部應用製劑之40 μL於實驗動物(例如兔子)之角膜穿刺前後以30～60分鐘間隔投予7次(較佳為將角膜穿刺設為0分鐘，180分鐘前、120分鐘前、60分鐘前、30分鐘前、30分鐘後、60分鐘後及90分鐘後之7次投予)，自投予結束起30分鐘後之眼房液中之蛋白質濃度未達未進行角膜穿刺之眼房液中之蛋白質濃度的3倍(較佳為未達2.5倍或未達2倍)。

另一態樣中，本發明之局部應用製劑係能夠發揮眼之炎症抑制作用之眼用局部應用製劑。更詳細而言，本發明之局部應用製劑係能夠抑制作為炎症介質之前列腺素E2(PGE2)的產生之眼用局部應用製劑。此處，所謂「能夠抑制PGE2之產生」，係指將調整至0.05%(w/v)

或0.1%(w/v)之糖皮質類固醇化合物之水性局部應用製劑的40 μL於實驗動物(例如兔子)之角膜穿刺前後以30～60分鐘間隔投予7次(較佳為將角膜穿刺設為0分鐘，180分鐘前、120分鐘前、60分鐘前、30分鐘前、30分鐘後、60分鐘後及90分鐘後之7次投予)，自投予結束起30分鐘後之眼房液中之PGE2濃度低於以相同方式投予之Durezole(註冊商標)投予群中之PGE2濃度。

本發明之眼用局部應用製劑可具有選自上述向眼房液之移動性、向結膜之移動性、眼房液中之蛋白質濃度之上升率較低、及眼之炎症抑制作用中之2以上(2種、3種或全部)之性質。

某態樣中，本發明之水性懸浮液劑係刺激性較低之水性懸浮液劑。此處，所謂刺激性較低，係指於將該水性懸浮液劑投予至對象時，與先前一直使用之含有相同之有效成分的水性製劑相比，刺激性反應(例如發紅、腫脹、充血等炎症性反應)之程度較低。關於受檢水性懸浮液劑之刺激性是否較低，例如Jonas、J. Kuehne等人根據Am J Ophthalmol(2004)138：547-553記載之方法而將受檢水性懸浮液劑投予至兔子之眼中，測定眼之炎症程度，於炎症之程度較標準液劑(同上)低之情形時，能夠判定刺激性較低。更具體而言，於為點眼劑之情形時，刺激性能夠藉由如下方式判定：將糖皮質類固醇化合物之濃度為1.0%之製劑以30分鐘～數小時間隔進行1日1～20次點眼，對投予前、最終投予後1、3、5、24小時之角膜、虹彩及結膜進行觀察，根據Draize之評價基準(參照OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS 405(24 Feb. 1987)Acute Eye Irritation/Corrosion)而分數化。

本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物可含有1種或2種以上之生理學上容許之鹽。

作為本說明書中之「生理學上容許之鹽」，例如可列舉：氯化

鈉、氯化鉀、氯化銨、硫酸鈉、硫酸鎂、硫酸鉀、硫酸鈣、蘋果酸鈉、檸檬酸鈉、檸檬酸二鈉、檸檬酸二氫鈉、檸檬酸二氫鉀、磷酸二氫鈉、磷酸二氫鉀、磷酸氫二鈉及磷酸氫二鉀等。可列舉氯化鈉、氯化鉀、硫酸鎂、硫酸鈣、檸檬酸鈉、磷酸二氫鈉、磷酸二氫鉀、磷酸氫二鈉、磷酸氫二鉀等，較佳為氯化鈉。

本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物能夠含有生理學上容許之鹽0.01～10%，較佳為0.1～5%，例如亦能夠含有0.5～3%、0.8～2%。或者，本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物能夠含有生理學上容許之鹽0.01～50 mg/mL、0.1～20 mg/mL或1～5 mg/mL。

本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物可含有1種或2種以上之界面活性劑，且/或亦可含有1種或2種以上之抗凝集劑。

本說明書中，所謂「界面活性劑」，係指即便作為醫藥品添加物對人投予，亦不顯示毒性之界面活性劑，只要為不妨礙糖皮質類固醇化合物之作用之界面活性劑，則並無特別限定，例如可列舉：Poloxamer 407、Poloxamer 235、Poloxamer 188等聚氧乙烯(以下，稱為「POE」)-聚氧丙烯(以下，稱為「POP」)嵌段共聚物；Poloxamine等乙二胺之聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物加成物；POE(20)山梨醇酐單月桂酸酯(聚山梨糖醇酯20)、POE(20)山梨醇酐單油酸酯(聚山梨糖醇酯80)、聚山梨糖醇酯60等POE山梨醇酐脂肪酸酯類；POE(60)硬化蓖麻油等POE硬化蓖麻油；POE(9)月桂醚等POE烷基醚類；POE(20)POP(4)十六烷基醚等POE•POP烷基醚類；POE(10)壬基苯醚等POE烷基苯醚類；POE(105)POP(5)二醇、POE(120)POP(40)二醇、POE(160)POP(30)二醇、POE(20)POP(20)二醇、POE(200)POP二醇(70)、POE(3)POP(17)二醇、POE(42)POP(67)二醇、POE(54)POP(39)二醇、POE(196)POP(67)二醇等POE•POP二醇類等非離子性界面活性劑；烷基二胺基乙基甘胺酸等甘胺酸型、月桂基二甲基胺基乙酸甜菜

鹼等乙酸甜菜鹼型、咪唑啉型等兩性界面活性劑；POE(10)月桂醚磷酸鈉等POE烷基醚磷酸及其鹽、月桂醯基甲基丙胺酸鈉等N-醯基胺基酸鹽、烷基醚羧酸鹽、N-椰油醯基甲基牛磺酸鈉等N-醯基牛磺酸鹽、十四烯磺酸鈉等磺酸鹽、月桂基硫酸鈉等烷基硫酸鹽、POE(3)月桂醚硫酸鈉等POE烷基醚硫酸鹽、α-烯烴磺酸鹽等陰離子界面活性劑；烷基胺鹽、烷基四級銨鹽(氯化苄烷銨、苄索氯銨等)、烷基吡啶鎓鹽(西吡氯銨、西吡溴銨等)等陽離子界面活性劑等。本發明之水性懸浮液劑可含有1種界面活性劑，或者亦可含有2種以上之界面活性劑。

又，本說明書中，「抗凝集劑」係能夠防止糖皮質類固醇化合物之凝集，對人體投予而不顯示毒性之物質，只要為不妨礙糖皮質類固醇化合物之作用的抗凝集劑，則並無特別限定，例如可列舉：烷基硫酸鹽、N-烷醯基甲基牛磺酸鹽、乙醇、甘油、丙二醇、檸檬酸鈉、甘油磷脂質(卵磷脂(磷脂醯膽鹼)(例如精製大豆卵磷脂、氫化大豆卵磷脂)、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯肌醇、磷脂酸、磷脂醯甘油、溶血磷脂醯膽鹼、溶血磷脂醯絲胺酸、溶血磷脂醯乙醇胺、溶血磷脂醯肌醇、溶血磷脂酸及溶血磷脂醯甘油)及鞘脂(神經鞘磷脂、腦醯胺、神經鞘糖脂質或神經節苷脂)等磷脂質、D-山梨醇、乳糖、木糖醇、阿拉伯膠、蔗糖脂肪酸酯、聚氧乙烯硬化蓖麻油、聚氧乙烯脂肪酸酯、聚乙二醇(PEG)、聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯、烷基苯磺酸鹽、磺基琥珀酸酯鹽、POE•POP二醇、聚乙烯吡咯啶酮、PVA、羥基丙基纖維素、甲基纖維素、羥基乙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉、羧乙烯聚合物、N-醯基-麩胺酸鹽、丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物、酪蛋白鈉、L-纈胺酸、L-白胺酸、L-異白胺酸、氯化苄烷銨、苄索氯銨等。本發明之水性懸浮液劑可含有1種抗凝集劑，或者亦可含有2種以上之抗凝集劑。

本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物能夠含有抗凝集劑0.001～

10%或0.01～10%，較佳為0.02～5%，例如亦能夠含有0.03～1%、0.04～0.5%、0.05～0.2%。或者，本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物能夠含有抗凝集劑0.01～50 mg/mL、0.1～20 mg/mL或1～5 mg/mL。

作為界面活性劑及/或抗凝集劑，較佳為選自聚氧乙烯硬化蓖麻油60(例如HCO-60)、聚氧乙烯硬化蓖麻油40(例如HCO-40)、聚山梨糖醇酯80(例如Tween80)、聚山梨糖醇酯20(例如Tween20)、POE•POP二醇(例如Pronon 407P、普朗尼克F68、Unilube 70D P-950B及PVA(例如Kuraray Poval 217c)中之1種以上之物質，更佳為選自POE•POP二醇及PVA中之1種以上之物質。

本說明書中，所謂「黏度調整劑」，係能夠具備本發明之水性懸浮液劑之黏度之物質，係即便作為醫藥品添加物對人投予，亦不顯示毒性之物質，只要為不妨礙糖皮質類固醇化合物的作用之物質，則並無特別限定，例如可列舉：多糖類或其衍生物(阿拉伯膠、刺梧桐樹膠、三仙膠、刺槐豆膠(Carob gum)、瓜爾膠、愈創木脂、槐柽籽、鹽酸氟西泮膠(Dalmane gum)、黃耆膠、安息香膠、刺槐豆膠(Locust bean gum)、酪蛋白、瓊脂、海藻酸、糊精、葡聚糖、角叉菜膠、明膠、膠原蛋白、果膠、澱粉、聚半乳糖醛酸、甲殼素及其衍生物、殼聚糖及其衍生物、彈力蛋白、肝素、類肝素、硫酸肝素、硫酸乙醯肝素、玻尿酸、硫酸軟骨素等)、腦醯胺、纖維素衍生物(甲基纖維素、乙基纖維素、羥基乙基纖維素、羥基丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、羧甲基纖維素、羧乙基纖維素、纖維素、硝基纖維素等)、PVA(完全或部分皂化物)、聚乙烯吡咯啶酮、聚乙二醇(Macrogol)、聚甲基丙烯酸乙烯酯、聚丙烯酸、羧乙烯聚合物、聚伸乙基亞胺、聚環氧乙烷、聚乙二醇、核糖核酸、脫氧核糖核酸、甲基乙烯基醚-順丁烯二酸酐共聚物等及其藥理學上容許之鹽類(例如海藻酸鈉)等。本

發明之水性懸浮液劑可含有1種黏度調整劑，或者亦可含有2種以上之黏度調整劑。作為黏度調整劑，較佳為選自羥丙基甲基纖維素(例如TC-5(R)、Metlose 60SH-50)、PVA(Kuraray Poval 217C)及甲基纖維素(例如Metlose SM-100、Metlose SM-15)中之1種以上之物質，更佳為選自羥丙基甲基纖維素及甲基纖維素中之1種以上之物質。

本發明之水性懸浮液劑能夠含有黏度調整劑1～10 mg/mL，較佳為1～5 mg/mL，例如亦能夠含有1～4 mg/mL、1～3 mg/mL、1～2 mg/mL。

本說明書中之分散穩定劑能夠使用作為上述界面活性劑、抗凝集劑及/或黏度調整劑所記載之物質，較佳為選自聚氧乙烯硬化蓖麻油60、聚氧乙烯硬化蓖麻油40、聚山梨糖醇酯80、聚山梨糖醇酯20、POE•POP二醇、PVA、羥丙基甲基纖維素及甲基纖維素中之1種以上之物質，更佳為選自POE•POP二醇、PVA、羥丙基甲基纖維素及甲基纖維素中之1種以上之物質。

本說明書中，能夠用作分散穩定劑之界面活性劑、抗凝集劑及/或黏度調整劑(以下，本段落中，稱為「添加劑」)亦可附著或吸附於糖皮質類固醇化合物之奈米粒子之表面。於粉碎步驟前添加上述添加劑之情形時，藉由附著或吸附於糖皮質類固醇化合物之奈米粒子之表面而抑制粉碎步驟中的奈米粒子之凝集。又，藉由附著或吸附於糖皮質類固醇化合物之奈米粒子之表面，即便於水性懸浮液中，亦有抑制凝集之效果。再者，本說明書中，所謂使作為分散穩定劑之界面活性劑、抗凝集劑及/或黏度調整劑附著或吸附於糖皮質類固醇化合物之奈米粒子之表面，係指使至少一部分該等添加劑附著或吸附於奈米粒子表面(有助於表面修飾)，並非係指於水性懸浮液劑中不存在不附著亦不吸附之該等添加劑。本說明書中，所謂「表面修飾劑」，係指能夠以此種方式對糖皮質類固醇化合物之奈米粒子表面進行表面修飾之

作為分散穩定劑之界面活性劑、抗凝集劑及/或黏度調整劑。

本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物可含有1種或2種以上之生理學上容許之多元醇。例如本發明之醫藥組合物能夠含有上述生理學上容許之多元醇。作為「生理學上容許之多元醇」，例如可列舉甘油、丙二醇、聚乙二醇、二丙二醇及二乙二醇等，較佳為丙二醇或甘油。本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物例如能夠含有生理學上容許之多元醇0.001～10%或0.01～10%，較佳為0.02～5%，例如亦能夠含有0.03～1%、0.04～0.5%、0.05～0.2%。或者，本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物能夠含有生理學上容許之多元醇0.01～10 mg/mL、0.05～5 mg/mL或0.1～3 mg/mL。

本發明之水性懸浮液劑或水性醫藥組合物不含有油性溶劑。所謂油性溶劑，係指不溶於或幾乎不溶於水之溶劑。

本發明之水性懸浮液劑或水性醫藥組合物所含有之糖皮質類固醇化合物係奈米微粒子狀。該糖皮質類固醇化合物奈米粒子之平均粒徑(Dv)為300 nm以下，較佳為亦可為250 nm以下、240 nm以下、230 nm以下、220 nm以下、210 nm以下、200 nm以下、190 nm以下、180 nm以下、170 nm以下、160 nm以下、150 nm以下、140 nm以下、130 nm以下、120 nm以下、110 nm以下。例如糖皮質類固醇化合物之平均粒徑之範圍為50～300 nm、50～250 nm、50～240 nm、50～230 nm、50～220 nm、50～210 nm、50～200 nm、50～190 nm、50～180 nm、50～170 nm、50～160 nm、50～150 nm、50～140 nm、50～130 nm、50～120 nm、50～110 nm、100～300 nm、100～250 nm、100～240 nm、100～230 nm、100～220 nm、100～210 nm、100～200 nm、100～190 nm、100～180 nm、100～170 nm、100～160 nm、100～150 nm、100～140 nm、100～130 nm、100～120 nm或100～110 nm。

又，本發明之水性懸浮液劑或水性醫藥組合物所含有之糖皮質類固醇化合物奈米粒子之90%徑(D90)為450 nm以下，較佳為400 nm以下、350 nm以下、300 nm以下、290 nm以下、280 nm以下、270 nm以下、260 nm以下、250 nm以下、240 nm以下、230 nm以下。例如糖皮質類固醇化合物之90%徑(D90)之範圍亦可為50～400 nm、50～350 nm、50～300 nm、50～290 nm、50～280 nm、50～270 nm、50～260 nm、50～250 nm、50～240 nm、50～230 nm、100～400 nm、100～350 nm、100～300 nm、100～290 nm、100～280 nm、100～270 nm、100～260 nm、100～250 nm、100～240 nm或100～230 nm。

又，本發明之水性懸浮液劑或水性醫藥組合物所含有之糖皮質類固醇化合物奈米粒子之50%徑(D50)可為200 nm以下，較佳為190 nm以下、180 nm以下、170 nm以下、160 nm以下、150 nm以下、140 nm以下、130 nm以下、120 nm以下、110 nm以下、100 nm以下。例如糖皮質類固醇化合物之50%徑(D50)之範圍亦可為50～190 nm、50～180 nm、50～170 nm、50～160 nm、50～150 nm、50～140 nm、50～130 nm、50～120 nm、50～110 nm、50～100 nm、80～190 nm、80～180 nm、80～170 nm、80～160 nm、80～150 nm、80～140 nm、80～130 nm、80～120 nm、80～110 nm或80～100 nm。

本發明之水性懸浮液劑或水性醫藥組合物所含有之糖皮質類固醇化合物奈米粒子亦可為滿足與選自上述平均粒徑(Dv)、90%徑(D90)及50%徑(D50)中之2種以上的粒徑相關之條件者。又，例如本發明之水性懸浮液劑所含有之糖皮質類固醇化合物奈米粒子能夠將平均粒徑(Dv)設為166 nm以下，將D50設為138 nm以下及/或將D90設為241 nm以下。又，例如本發明之水性醫藥組合物所含有之糖皮質類固醇化合物奈米粒子能夠將平均粒徑(Dv)設為204 nm以下，將D50設為177 nm

以下及/或將D90設為306 nm以下。

本發明之水性懸浮液劑由於作為其有效成分之糖皮質類固醇化合物為奈米微粒子狀，因此能夠利用過濾器進行殺菌，因此，能夠容易地進行對活性成分之物理化學性質的影響較少之殺菌。

本發明之水性懸浮液劑所含有之糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子較佳為藉由將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、生理學上容許之多元醇與分散穩定劑混合而製造之奈米微粒子。更佳為本發明之糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子係藉由將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、生理學上容許之多元醇與分散穩定劑混合而製造之奈米微粒子，係藉由於粉碎過程中或粉碎後添加卵磷脂(例如氫化大豆卵磷脂)而製造之奈米微粒子。

作為本發明之水性懸浮液劑之一例，可列舉含有如下者之製劑：糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子；氯化鈉；氫化大豆卵磷脂；甘油；無水檸檬酸；選自POE•POP二醇類、聚氧乙烯硬化蓖麻油、聚山梨糖醇酯80、PVA、POE•POP嵌段共聚物中之1種以上之物質；氯化苄烷銨、山梨酸或其鹽(山梨酸鉀、山梨酸鈉、山梨酸三氯卡班等)或對羥苯甲酸酯(對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸丁酯等))；羥丙基甲基纖維素及/或甲基纖維素；及檸檬酸鈉(包括檸檬酸三鈉)。

本說明書中，水性懸浮液劑及醫藥組合物能夠含有水作為主成分。又，本說明書中，醫藥組合物、水性懸浮液劑及/或稀釋劑亦可視需要含有作為添加物之穩定(化)劑、矯味劑、增黏劑、界面活性劑、防腐劑、殺菌劑或抗菌劑、pH值調節劑、等張劑、緩衝劑等各種添加劑。

作為防腐劑、殺菌劑或抗菌劑，例如可列舉：山梨酸或其鹽(山梨酸鉀、山梨酸鈉、山梨酸三氯卡班等)、對羥苯甲酸酯(對羥苯甲酸

甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸丁酯等)、利凡諾、氯化甲基玫瑰苯胺、氯化苄烷銨、苄索氯銨、西吡氯銨、西吡溴銨、雙氯苯雙胍己啶或其鹽、聚己二醯雙胍、烷基聚胺基乙基甘胺酸、苄醇、苯乙醇、氯丁醇、異丙醇、乙醇、苯氧基乙醇、磷酸鋯之銀、汞溴紅、聚維酮碘、硫柳汞(Thimerosal)、去氫乙酸、對氯間二甲苯酚(Chloroxylenol)、氯酚、間苯二酚、鄰苯基苯酚、異丙基甲基苯酚、瑞香草酚、檜木醇、胺基磺酸、溶菌酶、乳鐵蛋白、三氯生、8-羥基喹啉、十一碳烯酸、辛酸、丙酸、苯甲酸、鹵卡班、腐絕、多黏菌素B、5-氯-2-甲基-4-異噻唑啉-3-酮、2-甲基-4-異噻唑啉-3-酮、聚離胺酸、過氧化氫、泊利氯銨、Glokill(商品名：例如Glokill PQ、Rhodia公司製造)、聚二烯丙基二甲基銨氯、聚[氧乙烯(二甲基亞胺基)乙烯-(二甲基亞胺基)安氟醚二氯化物]、聚乙烯聚胺-二甲基胺表氯醇縮聚物(商品名：例如Busan1157、Bachmann公司製造)、雙胍化合物(Cosmosil CQ(商品名、含有聚己二醯雙胍鹽酸鹽約20重量%、Apsia公司製造))等及其藥理學上容許之鹽類等。較佳為氯化苄烷銨。

作為pH值調整劑，例如可列舉：無機酸(鹽酸、硫酸、磷酸、聚磷酸、硼酸等)、有機酸(乳酸、乙酸、檸檬酸、無水檸檬酸、酒石酸、蘋果酸、琥珀酸、草酸、葡萄糖酸、反丁烯二酸、丙酸、乙酸、天冬胺酸、ε-胺基己酸、麩胺酸、胺基乙基磺酸等)、葡萄糖酸內酯、乙酸銨、無機鹼(碳酸氫鈉、碳酸鈉、氫氧化鉀、氫氧化鈉、氫氧化鈣、氫氧化鎂等)、有機鹽基(單乙醇胺、三乙醇胺、二異丙醇胺、三異丙醇胺、離胺酸等)、硼砂及其藥理學上容許之鹽類等。

作為等張劑，例如可列舉：無機鹽類(例如氯化鈉、氯化鉀、碳酸鈉、碳酸氫鈉、氯化鈣、硫酸鎂、磷酸氫鈉、磷酸氫二鈉、磷酸氫二鉀、硫代硫酸鈉、乙酸鈉等)、多元醇類(例如甘油、丙二醇、乙二醇、1,3-丁二醇等)、糖類(例如葡萄糖、甘露醇、山梨醇等)等。

作為緩衝劑，例如可列舉：三羥甲基胺基甲烷緩衝劑、硼酸緩衝劑、磷酸緩衝劑、碳酸緩衝劑、檸檬酸緩衝劑、乙酸緩衝劑、ε-胺基己酸、天冬胺酸鹽等。具體而言，可列舉：硼酸或其鹽(硼酸鈉、四硼酸鉀、甲硼酸鉀等)、磷酸或其鹽(磷酸氫鈉、磷酸二氫鈉、磷酸二氫鉀等)、碳酸或其鹽(碳酸氫鈉、碳酸鈉等)、檸檬酸或其鹽(檸檬酸鈉、檸檬酸鉀、無水檸檬酸等)等。

本說明書中，水性懸浮液劑及醫藥組合物之黏度能夠設為1～5 mPa・s，例如亦可為1～3 mPa・s。

本說明書中，除特別說明之情況以外，所謂組成或含量中之「%」，係表示重量%(w/w)。

[發明之效果]

本發明之含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之水性懸浮液劑由於清澈性、分散性、保存穩定性、結膜移動性及眼房液移動性優異，刺激性較低，殺菌較容易，經時穩定性及分散穩定性優異，因此能夠用作非經口投予用醫藥組合物、尤其是點眼劑。

【圖式簡單說明】

圖1係表示將實施例5(1)～(3)中所製作之奈米化點眼懸浮液進行點眼後之眼房液中之丙酸倍氯松濃度之經時變化的圖表。縱軸表示眼房液中之丙酸倍氯松濃度(ng/mL)，橫軸表示點眼後之經過時間(分鐘)。黑圈表示0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑100 nm)，黑四角表示0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑300 nm)，黑三角表示0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑600 nm)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖2係表示將實施例5(1)～(3)中所製作之奈米化點眼懸浮液進行點眼後之結膜中之丙酸倍氯松濃度之經時變化的圖表。縱軸表示結膜中之丙酸倍氯松濃度(ng/mL)，橫軸表示點眼後之經過時間(分鐘)。黑

圈表示0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑100 nm)，黑四角表示0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑300 nm)，黑三角表示0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑600 nm)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖3係表示將實施例7(1)～(4)中所製作之奈米化點眼懸浮液進行點眼後之眼房液中之丙酸倍氯松濃度之經時變化的圖表。縱軸表示眼房液中之丙酸倍氯松濃度(ng/mL)，橫軸表示點眼後之經過時間(分鐘)。白圈表示0.05%奈米化點眼懸浮液P(HPMC(60SH-50)3 mg/mL)，黑圈表示0.05%奈米化點眼懸浮液Q(HPMC(60SH-4000)1.5 mg/mL)，白三角表示0.05%奈米化點眼懸浮液R(MC(SM-100)2 mg/mL)，黑三角表示0.05%奈米化點眼懸浮液S(MC(SM-4000)1.5 mg/mL)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖4係表示將實施例7(1)～(4)中所製作之奈米化點眼懸浮液進行點眼後之結膜中之丙酸倍氯松濃度之經時變化的圖表。縱軸表示結膜中之丙酸倍氯松濃度(ng/mL)，橫軸表示點眼後之經過時間(分鐘)。白圈表示0.05%奈米化點眼懸浮液P(HPMC(60SH-50)3 mg/mL)，黑圈表示0.05%奈米化點眼懸浮液Q(HPMC(60SH-4000)1.5 mg/mL)，白三角表示0.05%奈米化點眼懸浮液R(MC(SM-100)2 mg/mL)，黑三角表示0.05%奈米化點眼懸浮液S(MC(SM-4000)1.5 mg/mL)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖5係表示兔子BSA(牛血清白蛋白，Bovine Serum Albumin)誘發葡萄膜炎模型中之外眼部之炎症分數之圖表。縱軸表示炎症分數，橫軸表示自第1次BSA投予之經過日數(15日後至18日後)。中空表示對照群(生理食鹽水)，深灰色表示0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液投予群，淺灰色表示陽性對象群(0.1%氟米龍點眼液投予群)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖6係表示兔子BSA誘發葡萄膜炎模型中之內眼部之炎症分數之

圖表。縱軸表示炎症分數，橫軸表示自第1次BSA投予之經過日數(15日後至18日後)。中空表示對照群(生理食鹽水)，深灰色表示0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液投予群，淺灰色表示陽性對象群(0.1%氟米龍點眼液投予群)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖7係表示兔子BSA誘發葡萄膜炎模型中之第1次BSA投予29日後之外眼部(A)及內眼部(B)之炎症分數之圖表。縱軸表示炎症分數。中空表示對照群(生理食鹽水)，深灰色表示0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液投予群，淺灰色表示陽性對象群(0.1%氟米龍點眼液投予群)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖8係表示大鼠之巴豆誘發結膜炎模型中之結膜重量之圖表。縱軸表示結膜重量(g)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖9係表示大鼠之鹿角菜膠誘發結膜浮腫模型中之眼瞼結膜重量之圖表。縱軸表示眼瞼結膜重量(g)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖10係表示兔子之LPS誘發葡萄膜炎模型中之眼房液中PGE2濃度之圖表。縱軸表示眼房液中PGE2濃度(pg/mL)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖11係表示兔子之LPS誘發葡萄膜炎模型中之玻璃體中PGE2濃度之圖表。縱軸表示玻璃體中PGE2濃度(pg/mL)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖12係表示兔子前房穿刺炎症模型中之眼房液中之蛋白濃度之圖表。縱軸表示前眼房液中之蛋白濃度(mg/mL)。值表示平均值，誤差槓表示標準偏差。

圖13係表示兔子LPS誘發葡萄膜炎模型中之玻璃體中PGE2濃度之圖表。縱軸表示玻璃體中PGE2濃度(pg/mL)。值表示平均值。「b.i.d」表示1日點眼2次，「q.i.d」表示1日點眼4次。

【實施方式】

1.含有糖皮質類固醇化合物之微粒子之水性懸浮液劑

糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子能夠藉由將糖皮質類固醇化合物與生理學上容許之鹽及生理學上容許之多元醇混合並對上述有機化合物進行濕式粉碎而製造。此種製造方法詳細地記載於國際公開WO2008/126797號中。混合只要將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽及生理學上容許之多元醇最終混合即可，該等成分之添加順序並無特別限定。例如該混合可藉由於糖皮質類固醇化合物中添加生理學上容許之鹽及生理學上容許之多元醇而進行，或者亦可藉由於生理學上容許之鹽及生理學上容許之多元醇中添加糖皮質類固醇化合物而進行。尤其是，本發明之粉體中所含之糖皮質類固醇化合物微粒子能夠藉由於熔點為80℃以上之有機化合物中添加生理學上容許之鹽及生理學上容許之多元醇並對上述有機化合物進行濕式粉碎而製造。於本製造方法中，能夠於不去除上述鹽及上述多元醇之情況下製備水性懸浮液。因此，無需去除上述鹽及上述多元醇，因此能夠藉由非常簡便之步驟而製造。濕式粉碎能夠藉由將有機化合物、鹽及多元醇混合並對該混合物進行混練而進行。較佳為本發明之糖皮質類固醇化合物之微粒子能夠藉由於粉碎步驟中或該步驟後添加卵磷脂而製造。

糖皮質類固醇化合物奈米微粒子較佳為藉由於不使用硬質固體粉碎助劑之情況下進行濕式粉碎而製造，更佳為藉由於不使用玻璃製、不鏽鋼等金屬製、氧化鋯及氧化鋁等陶瓷製或硬質聚苯乙烯等高分子製之固體粉碎助劑之情況下進行濕式粉碎而製造，最佳為本發明之糖皮質類固醇化合物微粒子藉由於除上述生理學上容許之鹽及黏度調整劑以外不使用固體粉碎助劑之情況下進行濕式粉碎而製造。

本說明書中，所謂「生理學上容許」，係指通常認為能夠於生理學上不產生特別問題之情況下攝取，關於某物質是否為生理學上容許

之物質，根據作為攝取對象之生物種或攝取之態樣等而適當決定。作為生理學上容許之溶劑，例如可列舉作為醫藥品或食品等之添加劑或溶劑等而被認可之物質等。

本說明書中之「生理學上容許之鹽」只要為能夠於生理學上不產生特別問題之情況下攝取之鹽，則無特別限定。作為生理學上容許之鹽，較佳為對於多元醇之溶解性低之鹽、對於水之溶解性高之鹽及/或吸濕性少並具有適合於有機化合物之微粉碎化的硬度之鹽。作為糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之製造方法中所使用的生理學上容許之鹽，更佳為具有該等性質之2種以上之鹽。生理學上容許之鹽對於多元醇之溶解度較佳為10(質量/容量)%以下。又，於使粉碎後之去除變得簡單之情形時，作為生理學上容許之鹽，較佳為對於水之溶解性較高之鹽。具體而言，可列舉上述鹽。

本說明書中之「生理學上容許之鹽」較佳為於與糖皮質類固醇化合物混合前進行粉碎等而預先調整粒徑。又，視需要為了由所含水分所引起之粒子融合及粒子成長，例如亦可預先於30～200℃之溫度下進行減壓乾燥而降低水分含量。於預先調整生理學上容許之鹽之粒徑之情形時，作為粒子之體積平均徑，例如可為5～300 μm、10～200 μm，較佳為0.01～300 μm，更佳為0.1～100 μm，更佳為0.5～50 μm，最佳為1～5 μm。又，關於該鹽之使用量，相對於糖皮質類固醇化合物，較佳為1～100倍質量，更佳為5～30倍質量，進而較佳為10～20倍。進而，該鹽可使用1種鹽，亦可混合使用2種以上之鹽。

糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之製造方法中所使用之「生理學上容許之多元醇」只要為能夠於生理學上不產生特別問題之情況下攝取之多元醇，則並無特別限定。作為生理學上容許之多元醇，較佳為鹽之溶解性低者、對於水之溶解性高者、凝固點低者及/或引火點高者。又，於簡單地進行粉碎後之去除之情形時，生理學上容許之

多元醇較佳為對於水之溶解性高。

糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之製造方法中所使用之多元醇較佳為黏度高者。作為此種多元醇於20℃下之黏度，例如為40 mPa・s以上，較佳為50 mPa・s以上，更佳為80 mPa・s以上。作為糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之製造方法中所使用之多元醇的20℃下之黏度，上限並無特別限定，例如能夠選自40 mPa・s以上5,000 mPa・s以下之範圍，較佳為50 mPa・s以上3,000 mPa・s以下，更佳為80 mPa・s以上2,000 mPa・s以下。具體而言，可列舉上述多元醇。

關於糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之製造方法中的生理學上容許之多元醇之使用量，相對於作為微粉碎化之對象之有機化合物，較佳為0.5～100倍質量，更佳為1～10質量倍。又，所使用之多元醇之種類能夠考慮作為微粉碎化之對象的有機化合物之溶解性而適當決定。進而，該多元醇可使用1種多元醇，亦可混合使用2種以上之多元醇。

於糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之製造方法中，糖皮質類固醇化合物、多元醇及鹽之混練物較佳為黏度較高。作為提高混練物之黏度之方法，較佳為使用於多元醇中添加黏度調整劑之混合物的方法、或與多元醇分開並單獨添加黏度調整劑之方法，能夠有效地提高粉碎效率。作為添加於多元醇中之黏度調整劑，能夠使用上述物質。作為添加有此種黏度調整劑之多元醇於20℃下之黏度，較佳為1,000 mPa・s以上，更佳為2,000 mPa・s以上，進而較佳為5,000 mPa・s以上，最佳為10,000 mPa・s以上。作為添加有本發明之黏度調整劑之多元醇於20℃下之黏度，上限並無特別限定，例如能夠選自1,000 mPa・s以上5,000,000 mPa・s以下之範圍，較佳為1,000 mPa・s以上1,000,000 mPa・s以下，更佳為2,000 mPa・s以上500,000 mPa・s以

下，進而較佳為5,000 mPa・s以上300,000 mPa・s以下，最佳為10,000 mPa・s以上100,000 mPa・s以下。

於糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之製造方法中，用於對糖皮質類固醇化合物進行濕式粉碎之粉碎裝置只要為具有能夠以機械手段進行糖皮質類固醇化合物、鹽、多元醇及/或分散穩定劑之混練、分散的能力者，則能夠無特別限定地使用。作為該粉碎裝置，例如存在捏合機、雙輥、三輥、雙軸式輪軋機(Fret mill)、胡佛式研磨機、圓盤刮刀混練分散機等通常使用之粉碎裝置。

粉碎溫度能夠考慮微粉碎化之糖皮質類固醇化合物或粉碎裝置等而適當決定。作為粉碎溫度，並無特別限定，較佳為-50～50℃，更佳為-20～30℃，最佳為-10～25℃。又，粉碎時間能夠考慮微粉碎化之有機化合物或粉碎裝置等而適當決定。粉碎時間例如能夠設為1～50小時、2～30小時、3～20小時、4～18小時、5～10小時。

糖皮質類固醇化合物之粉碎結束後，能夠於不去除用於粉碎之鹽及多元醇之情況下獲得目標微粉碎化糖皮質類固醇化合物微粒子。因此，無需洗淨步驟，故而能夠更簡單且廉價地製造奈米粒子製劑。因此，能夠藉由於溶劑中使用均化器等使糖皮質類固醇化合物、鹽、多元醇及/或黏度調整劑之混合物均一而製造。於使該混合物均一時使用之溶劑係易於溶解多元醇、鹽及黏度調整劑且難以經微粉碎之糖皮質類固醇化合物之溶劑，且只要為生理學上容許之溶劑，則並無特別限定。該溶劑較佳為水，亦能夠使用除水以外之溶劑。作為該除水以外之溶劑，例如存在乙酸、甲醇、乙醇等有機溶劑與水之混合液。又，視需要能夠對均一化之混合物進行過濾。過濾方法並無特別限定，通常藉由用於對有機化合物之含有物進行過濾之公知之方法而進行。作為該過濾方法，例如存在減壓過濾法、加壓過濾法、超過濾膜法等。

微粉碎化粒子通常具有較高之表面能量，故而易於凝集。因此，去除鹽等後，為了防止二次凝集，亦可添加上述抗凝集劑。抗凝集劑可使用1種，亦可混合使用2種以上。

去除鹽及多元醇後，進行乾燥處理，藉此能夠自所獲得之微粉碎化糖皮質類固醇化合物微粒子中去除用於去除鹽等之溶劑。該乾燥方法並無特別限定，通常能夠藉由用於對有機化合物進行乾燥之方法而進行。作為該乾燥方法，例如存在減壓乾燥法、冷凍乾燥法、噴霧乾燥法、冷凍噴霧乾燥法等。該乾燥中之乾燥溫度或乾燥時間等並無特別限定，為了防止醫療用有機化合物粒子之化學穩定性之保持及粒子之二次凝集，該乾燥較佳為於低溫下進行，較佳為藉由冷凍乾燥法、噴霧乾燥法、冷凍噴霧乾燥法而進行。

作為藉由糖皮質類固醇化合物之製造方法所獲得之微粉碎化糖皮質類固醇化合物微粒子的平均粒徑之範圍，能夠設為與上述本發明之水性懸浮液劑或水性醫藥組合物所含有之糖皮質類固醇化合物奈米粒子之平均粒徑相同。又，藉由糖皮質類固醇化合物之製造方法所獲得之微粉碎化糖皮質類固醇化合物微粒子的90%徑(D90)及50%徑(D50)之範圍亦能夠設為與上述本發明之水性懸浮液劑或水性醫藥組合物所含有之糖皮質類固醇化合物奈米粒子各自之90%徑(D90)及50%徑(D50)相同。

所謂本說明書中所述之「平均粒徑」或「Dv」，係指藉由動態光散射光子相關法而測定之粒度分佈中之算術平均徑。50%徑(中值徑、亦稱為D50)係指於藉由上述測定方法而測定之粒度分佈中，將粉體自某粒徑分成2部分時，較大之側與較小之側成為等量之徑。所謂「90%徑」，係指於藉由上述測定方法而測定之粒度分佈中，自粒徑較小之側依序計數直至0(最小)～100%(最大)為止時的位於90%之位置之粒徑(D90)。所謂「10%徑」，係指於藉由上述測定方法而測定之粒度分佈

中，自粒徑較小之側依序計數直至0(最小)～100%(最大)為止時的位於10%之位置之粒徑(D10)。關於利用動態光散射光子相關法之測定方法及粒度分佈之算出方法，於該技術領域中被廣泛熟知。

2.醫藥組合物

又，本發明係關於一種醫藥組合物，其特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子。較佳為本發明之醫藥組合物為非經口投予用醫藥組合物，例如能夠製成注射劑或局部應用製劑。本說明書中，醫藥組合物之種類並無特別限定，作為劑型，可列舉：眼用局部應用製劑(例如點眼劑)、耳用局部應用製劑(例如滴耳劑)、鼻用局部應用製劑(例如滴鼻劑)、懸浮劑、軟膏、乳霜劑、凝膠劑、吸入劑、注射劑(例如靜脈注射用注射劑、皮下投予用注射劑、肌肉注射用注射劑、點滴)等。該等製劑能夠藉由常規方法而製備。較佳為本發明之醫藥組合物含有分散穩定劑。於為注射劑之情形時，使本發明之糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子懸浮於水中而製備，視需要亦可懸浮於生理食鹽水或葡萄糖溶液中，又，亦可添加分散劑、緩衝劑或保存劑。本發明之醫藥組合物例如能夠作為靜脈內投予用、肌肉內投予用或皮下投予用等之注射劑、點滴劑、經皮吸收劑、經黏膜吸收劑、點眼劑、滴耳劑、滴鼻劑、吸入劑等形態之非經口投予用醫藥組合物而製備。

本發明之醫藥組合物亦可含有藥理學上容許之載體(製劑用添加物)。關於用於製造醫藥組合物之製劑用添加物之種類、製劑用添加物相對於有效成分之比率或醫藥組合物之製造方法，業者能夠根據組合物之形態而適當選擇。作為製劑用添加物，能夠使用無機或有機物質、或者固體或液體之物質，通常能夠相對於有效成分重量，自1重量%至90重量%之間調配。具體而言，作為此種物質之例，可列舉：乳糖、葡萄糖、甘露醇、糊精、環糊精、澱粉、蔗糖、矽酸鋁鎂、合

成矽酸鋁、羧甲基纖維素鈉、羥基丙基澱粉、羧甲基纖維素鈣、離子交換樹脂、甲基纖維素、明膠、阿拉伯膠、羥基丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、聚乙烯吡咯啶酮、PVA、輕質矽酸酐、硬脂酸鎂、滑石、黃耆膠、膨潤土、矽酸鎂鋁(Veegum)、氧化鈦、山梨醇酐脂肪酸酯、月桂基硫酸鈉、甘油、脂肪酸甘油酯、精製羊毛脂、甘油明膠、聚山梨糖醇酯、聚乙二醇(Macrogol)、植物油、蠟、流動石蠟、白凡士林、氟碳、非離子性界面活性劑、丙二醇、水、氯化苄烷銨、鹽酸、氯化鈉、氫氧化鈉、乳酸、鈉、磷酸一氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸、檸檬酸鈉、乙二胺四乙酸2鈉、泊洛沙姆(Poloxamer)407、聚卡波非等。例如本發明之醫藥組合物含有選自POE•POP二醇、PVA、羥丙基甲基纖維素及甲基纖維素中之1種以上之製劑用添加物。

本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物能夠以套組之形態與外箱、容器、稀釋劑、濁液劑及/或和製備方法、投予方法相關之說明書一起包含。於本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物作為套組供給之情形時，可將該水性懸浮液劑或醫藥組合物中不同之構成成分包裝於不同容器中，包含於一個套組中，或者亦可於套組中僅包含該水性懸浮液劑或醫藥組合物中之一者以上之一部分構成成分(至少包含糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子)，另一構成成分與套組分開提供。又，於作為套組供給本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物之情形時，為了獲得本發明之水性懸浮液劑或醫藥組合物，較佳為於即將使用前將必要之構成成分混合。

例如本發明之套組能夠設為以下之套組：

(a)一種用於製備醫藥組合物之套組，其具備含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之水性懸浮液劑；

(b)如上述(a)之套組，其進而具備分散穩定劑；

(c)如上述(b)之套組，其中上述分散穩定劑為選自POE•POP二

醇、PVA、羥丙基甲基纖維素及甲基纖維素中之1種以上之物質；

(d)如上述(a)至(c)中任一項之套組，其係用於製備非經口投予用醫藥組合物者；

(e)如上述(a)至(d)中任一項之套組，其係用於製備注射劑或局部應用製劑者。

(f)如上述(e)之套組，其係用於製備眼用局部應用製劑、耳用局部應用製劑、鼻用局部應用製劑、肺用局部應用製劑、點眼劑、滴耳劑、滴鼻劑或吸入劑者。

(g)如上述(a)至(f)中任一項之套組，其中醫藥組合物為眼、耳、鼻或肺之炎症性疾病或感染性疾病之治療藥或預防藥。

一態樣中，本發明亦可為一種含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子之水性醫藥組合物之製備方法，其包括將包含糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子的水性懸浮液劑與稀釋劑混合之步驟。

於製備本發明之醫藥組合物(例如注射劑、眼用局部應用製劑(較佳為點眼劑)、耳用局部應用製劑(較佳為滴耳劑)、鼻用局部應用製劑(較佳為滴鼻劑)或肺用局部應用製劑(較佳為吸入劑)之情形時，關於其pH值及浸透壓，只要容許作為局部應用製劑，則並無特別限定，較佳為pH值5～9.5，更佳為pH值6～9，進而較佳為pH值7～9。作為該製劑(除軟膏劑以外之情形)相對於生理食鹽液之浸透壓比，例如為0.3～4.3，較佳為0.3～2.2，尤佳為0.5～1.5左右。pH值或浸透壓之調節能夠使用pH值調整劑、等張劑、鹽類等並藉由該技術領域中已知之方法而進行。

本發明之醫藥組合物之製備能夠藉由適當公知之方法而進行，例如能夠藉由如下方法而製造：於蒸餾水或精製水等適當之稀釋劑中，將含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子的水性懸浮液劑與任意之調配成分混合，調整至上述浸透壓及pH值，於無菌環境下進行高

壓蒸氣殺菌或過濾殺菌處理，對洗淨殺菌完成之容器進行無菌填充。

本發明之醫藥組合物能夠製成炎症性疾病或感染性疾病之治療藥或預防藥。例如本發明之醫藥組合物能夠用於由感染所引起之炎症性疾病或感染性疾病之治療或預防。因此，本發明包含一種水性懸浮液劑，其特徵在於含有用作醫藥(炎症性疾病或感染性疾病之治療藥或預防藥)之糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子及分散穩定劑。

本說明書中，所謂炎症性疾病或感染性疾病，包含全身性之炎症性疾病及感染性疾病及局部性之炎症性疾病或感染性疾病。於炎症性疾病中，除由感染所引起之炎症性疾病以外，亦包含過敏性之炎症性疾病(例如過敏性鼻炎、過敏性結膜炎、過敏性皮膚炎、過敏性濕疹、過敏性哮喘、過敏性肺炎)。作為全身性之炎症性疾病，可列舉：表在性、深在性皮膚感染症、淋巴管、淋巴節炎、乳腺炎、骨髓炎、扁桃炎、肺炎、腎盂腎炎、尿道炎、淋菌感染症、梅毒、子宮內感染、猩紅熱、白喉、百日咳、外傷、燒傷及手術等之二次感染、咽頭、喉頭炎、氣管支炎、慢性呼吸器病變之二次感染、牙冠周圍炎、牙周組織炎、破傷風、膀胱炎、前列腺炎、感染性腸炎、顎炎、感染性關節炎、胃炎等全身之炎症性疾病或感染性疾病。

具體而言，本發明之醫藥組合物能夠用於治療或預防眼之炎症性疾病及感染性疾病及該等所附帶之多種症狀。作為眼之炎症性疾病及感染性疾病，例如可列舉：包含眼瞼炎、眼瞼結膜炎、瞼腺炎、急性或慢性麥粒腫、霰粒腫、淚囊炎、淚腺炎及酒糟性痤瘡之眼瞼之症狀；包含結膜炎、新生兒眼炎及砂眼之結膜之症狀；包含角膜潰瘍、表在性角膜炎及角膜實質炎、角結膜炎、異物及術後感染症之角膜之症狀；及包含眼內炎、感染性葡萄膜炎及術後感染症之前眼房及葡萄膜之症狀。作為感染症之預防，包括於手術等外科處置前、與呈現感染性症狀者之接觸前投予之情況。於用於預防之情形時，例如能夠於

如下處置前投予：眼瞼形成術、霰粒腫之摘除、瞼板縫合術、用於淚小管或淚管排液系統手術及與眼瞼及淚器相關之其他外科處置等外科處置；包含翼狀片、結膜脂肪斑及腫瘤之摘除、結膜移植、割傷、燒傷及摩擦等外傷性之傷及結膜被覆術的結膜手術；包含異物之去除、角膜切開術及角膜移植的角膜手術；包含光折射率處置之折射率手術；包含囊胞之過濾之綠內障手術；前眼房之穿刺；虹膜切除術；白內障手術；視網膜手術；及與外眼肌肉相關之手術。又，新生兒眼炎之預防亦包含於本說明書之預防中。

例如本發明之醫藥組合物能夠用於治療或預防耳之炎症性疾病或感染性疾病所附帶之多種症狀。作為耳之炎症性疾病或感染性疾病，例如可列舉中耳炎或外耳炎。所謂感染症之預防，係指包括手術前之處置及有感染之可能性的狀態(例如與懷疑感染之人或感染之人的接觸)前之處置。作為預防性狀況之例，可列舉伴隨耳之外傷或損傷之外科性處置及其他手術或處置前之治療。

又，本發明之醫藥組合物能夠用於治療或預防鼻之炎症性疾病或感染性疾病所附帶之多種症狀。再者，遍及本說明書整體，所謂「鼻之炎症性疾病或感染性疾病」及「鼻用局部應用製劑」之用語中之「鼻」，係指包含上氣道整體，例如包含鼻腔、鼻咽喉、咽頭及喉頭。作為鼻之炎症性疾病或感染性疾病，例如可列舉副鼻腔炎、過敏性鼻炎及鼻炎。

又，本發明之醫藥組合物能夠用於治療或預防肺之炎症性疾病或感染性疾病所附帶之多種症狀。再者，遍及本說明書整體，所謂「肺之炎症性疾病或感染性疾病」及「肺用局部應用製劑」之用語中之「肺」，係指包含下氣道整體，例如包括氣管、氣管支、細氣管支及肺者。作為肺之炎症性疾病或感染性疾病，例如可列舉肺炎、氣管支炎、過敏性肺炎及哮喘等。

更佳為本發明之醫藥組合物能夠用於治療或預防由多種細菌或寄生蟲所引起之感染性疾病(例如眼、耳、鼻或肺之感染性疾病)。作為此種微生物，例如可列舉：包含黃色葡萄球菌及表皮葡萄球菌之葡萄球菌屬；包含肺炎鏈球菌及化膿鏈球菌及C、F及G群之鏈球菌及草綠色群之鏈球菌之鏈球菌屬；包含生物類型III之流感菌；軟性下疳菌；卡他莫拉菌；包含淋菌及髓膜炎菌之奈瑟菌屬；包含砂眼衣原體、鸚鵡熱衣原體及肺炎衣原體之衣原體屬；包括包含人結核菌及鳥結核菌細胞內複合體及海洋分枝桿菌、偶然分枝桿菌及龜結核菌之非定型分枝桿菌之分枝桿菌屬；百日咳菌；空腸彎麴菌；軍團桿菌屬；雙向擬桿菌；產氣莢膜梭狀芽孢桿菌；消化鏈球菌類；伯氏疏螺旋體；肺炎支原體；梅毒螺旋體；解脲支原體；弓形蟲；瘧疾；及抱子蟲。

3.治療方法、預防方法

本發明之醫藥組合物能夠藉由對需要其之患者投予有效量而用於炎症性疾病或感染性疾病之治療或預防。因此，本發明係關於一種炎症性疾病或感染性疾病之治療方法或預防方法，其包括對需要其之患者投予有效量之包含水性懸浮液劑之醫藥組合物的步驟，該水性懸浮液劑之特徵在於含有糖皮質類固醇化合物之奈米微粒子(及分散穩定劑)。此處，成為對象之患者係指分類為哺乳類之任意之動物，但並不限定於此。作為例，包含人，狗、貓、兔子等觀賞動物，牛、豬、羊、馬等家畜動物；較佳為人。

本發明之醫藥組合物之投予量及投予次數並無特別限定，能夠根據治療對象疾病之惡化、進展之防止及/或治療之目的、疾病之種類、患者之體重或年齡等條件並按照醫師之判斷而適當選擇。通常，成人每日之投予量為0.01～1000 mg(有效成分重量)左右，一日能夠投予1次或數次。投予路徑為注射或局部投予，例如可列舉：靜脈注

射、肌肉內注射或皮下注射、點滴、點眼、滴耳、滴鼻、經皮、經黏膜、吸入等。又，例如本發明之醫藥組合物中之有效成分之含量能夠設為0.001%～10%、0.01%～1%或0.05%～0.1%。

於本發明之醫藥組合物為注射劑之情形時，能夠以一日量0.001～100 mg(有效成分重量)對成人連續投予或間歇投予。

於本發明之水性醫藥組合物為局部投予用途之情形時，直接投予至患部、患部之周邊部或包含患部之臟器等局部。例如本發明之醫藥組合物能夠製成眼用局部應用製劑、耳用局部應用製劑、鼻用局部應用製劑或肺用局部應用製劑。於本發明之醫藥組合物為局部投予用製劑之情形時，亦能夠日常應用，於局部之炎症性疾病或感染性疾病發病後，能夠使用任意之次數。又，應用量能夠根據症狀等而適當設定，通常每日1～6次左右，例如每日進行1次、2次、3次、4次、5次或6次點眼，1次使用1～3滴左右。又，投予時間能夠設為任意之時間直至症狀充分痊癒為止，例如能夠設為2週～1年。

以下，使用實施例更詳細地說明本發明，但其並不限定本發明之範圍。再者，本案說明書通篇引用之文獻係藉由參照而將其整體編入至本案說明書中。

(實施例1)丙酸倍氯松之粉碎方法之研究

為了調查丙酸倍氯松之粉碎中之添加無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂之影響而進行以下之(1)～(9)的粉碎，使用粒度分佈測定裝置(Delsa Nano S、Beckman Coulter公司製造)對所獲得之粒子之平均粒徑(Dv)、中心粒徑(D50)及90%粒徑(D90)進行測定。

(1)不添加無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂之條件下之粉碎

於水冷式1.0 L立式捏合機(井上製作所)中加入平均粒徑38,390 nm之丙酸倍氯松(熔點：193～200℃、東京化成製造)10 g及氯化鈉(Tomita Salt K-30、富田製藥製造)110 g並均一地混合後，投入甘油

(Sigma-Aldrich公司製造)17 g，將內容物保持為揉捏粉狀態，於5℃下進行6小時粉碎。其後，稱量所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g、作為分散劑之0.1%POE•POP二醇(Unilube 70DP-950B、日本油脂製造)5 g置於50 mL螺旋管中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)進行均一地分散，添加精製水45 g而獲得懸浮液50 g。使用粒度分佈測定裝置(Delsa Nano S、Beckman Coulter公司製造)測定所獲得之懸浮液之粒度分佈，結果丙酸倍氯松之粒度分佈係平均粒徑(Dv)285 nm、中心粒徑(D50)231 nm、90%粒徑(D90)433 nm。

(2)添加無水檸檬酸之條件下之粉碎

追加無水檸檬酸(純正化學公司製造)0.8 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下在5℃下進行7小時粉碎。其後，以與實施例1相同之方式進行粉碎混練物(麵團)之分散處理，測定丙酸倍氯松之粒度分佈，結果為平均粒徑(Dv)260 nm、中心粒徑(D50)222 nm、90%粒徑(D90)363 nm。

(3)添加氫化大豆卵磷脂之條件下之粉碎

追加氫化大豆卵磷脂(Phospholipon 90H、Lipoid公司製造)10 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下進行粉碎及其後之分散處理。其結果為，丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)147 nm、中心粒徑(D50)124 nm、90%粒徑(D90)210 nm。

(4)無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂添加條件下之粉碎1

追加無水檸檬酸(純正化學公司製造)0.8 g及氫化大豆卵磷脂(Phospholipon 90H、Lipoid公司)5 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下進行粉碎及其後之分散處理。其結果為，丙酸倍氯松之粒度分佈係平均粒徑(Dv)166 nm、中心粒徑(D50)138 nm、90%粒徑(D90)241 nm。

(5)添加無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂之條件下之粉碎2

追加無水檸檬酸(純正化學製造)0.8 g及氫化大豆卵磷脂(Phospholipon 90H、Lipoid公司)10 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下在5℃下進行7小時粉碎。其後，以與實施例1相同之方式進行粉碎混練物(麵團)之分散處理，測定丙酸倍氯松之粒度分佈，結果為平均粒徑(Dv)101 nm、中心粒徑(D50)87 nm、90%粒徑(D90)141 nm。

(6)添加無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂之條件下之粉碎3

追加無水檸檬酸(純正化學公司製造)0.8 g及氫化大豆卵磷脂(Phospholipon 90H、Lipoid公司製造)20 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下在5℃下進行7小時粉碎。其後，以與實施例1相同之方式進行粉碎混練物(麵團)之分散處理，測定丙酸倍氯松之粒度分佈，結果為平均粒徑(Dv)144 nm、中心粒徑(D50)121 nm、90%粒徑(D90)214 nm。

(7)添加無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂之條件下之粉碎4

追加無水檸檬酸(純正化學公司製造)2 g及氫化大豆卵磷脂(Phospholipon 90H、Lipoid公司製造)5 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下在5℃下進行7小時粉碎。其後，稱量所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g、作為分散劑之0.01%POE•POP二醇(Unilube 70DP-950B、日本油脂製造)5 g置於50 mL螺旋管，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)進行均一地分散，添加精製水15 g而獲得懸浮液20 g。使用粒度分佈測定裝置(Delsa Nano S、Beckman Coulter公司製造)測定所獲得之懸浮液之粒度分佈，結果丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)137 nm、中心粒徑(D50)112 nm、90%粒徑(D90)209 nm。

(8)無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂添加條件下之粉碎5

追加無水檸檬酸(純正化學公司製造)2 g及氫化大豆卵磷脂

(Phospholipon90H、Lipoid公司製造)10 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下在5℃下進行6小時粉碎。其後，以與實施例1(1)相同之方式對所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g進行分散處理，測定所獲得之懸浮液之粒度分佈，結果丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)129 nm、中心粒徑(D50)112 nm、90%粒徑(D90)179 nm。

(9)無水檸檬酸及氫化大豆卵磷脂添加條件下之粉碎6

追加無水檸檬酸(純正化學公司製造)2 g及氫化大豆卵磷脂(Phospholipon90H、Lipoid公司製造)20 g，除此以外，於與實施例1(1)同一條件下在5℃下進行7小時粉碎。其後，以與實施例1(1)相同之方式對所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g進行分散處理，測定所獲得之懸浮液之粒度分佈，結果丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)147 nm、中心粒徑(D50)121 nm、90%粒徑(D90)228 nm。

將(1)～(9)之粉碎條件及粉碎之結果所獲得之粒徑示於表1。根據本實驗之結果，顯示(5)之粉碎處方為最良好之粉碎性能。

[表1]

粉碎方法	粉碎處方(g)					粉碎後之粒度分佈(nm)			
	丙酸倍氯松	氯化鈉	無水檸檬酸	氫化大豆卵磷脂	甘油	平均(Dv)	D10	D50	D90
(1)	10	110	-	-	17	285	135	231	433
(2)	10	110	0.8	-	17	260	143	222	363
(3)	10	110	-	10	17	147	78	124	210
(4)	10	110	0.8	5	17	166	86	138	241
(5)	10	110	0.8	10	17	101	56	87	141
(6)	10	110	0.8	20	17	144	71	121	214
(7)	10	110	2	5	17	137	65	112	209
(8)	10	110	2	10	17	129	70	112	179
(9)	10	110	2	20	17	147	66	121	228

(實施例2)丙酸倍氯松之製劑化研究

(1)分散劑之研究

稱量實施例1(4)中所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g及表2中所記載

之各分散劑之水溶液5 g置於50 mL螺旋管中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)進行均一地分散，添加精製水45 g而製成分散液50 g。將所獲得之各分散液於室溫(約25℃)下保存1日，以目視觀察剛分散後及經過1日後之各分散液之清澈性與沈澱之有無，對分散液之穩定性進行評價。

將結果示於表2。於表2中，保存穩定性之評價中所記載之記號係指以下之意義。○：穩定性良好；△：剛分散後穩定，但隨著時間之經過而生成沈澱；×：自剛製備後起，有混濁感，不穩定。如表2所示，根據本實驗之結果，於使用作為分散劑之POE•POP二醇(Pronon 407P、普朗尼克F68、Unilube 70DP-950B)及PVA(Kuraray Poval 217C)之情形時，不僅剛分散後，而且經過1日後，亦未發現沈澱之生成，保持清澈性，穩定性良好。

[表2]

分散劑(濃度)	一般名稱	製造商	分散狀態		保存穩定性之評價
			分散直後	1日後	
HCO60(0.1%)	聚氧乙烯硬化蓖麻油60	Nikko Chemicals	清澈	完全沈澱	△
HCO40 (0.1%)	聚氧乙烯硬化蓖麻油40	Nikko Chemicals	清澈	完全沈澱	△
Tween80 (0.1%)	聚山梨糖醇酯80	Nikko Chemicals	清澈	完全沈澱	△
Tween20 (0.1%)	聚山梨糖醇酯20	Sigma-Aldrich	清澈	完全沈澱	△
MYS40MV (0.1%)	硬脂酸聚烴氧酯40	Nikko Chemicals	清澈	完全沈澱	△
Pronon 407P(0.1%)	聚氧乙烯聚氧丙二醇	日本油脂	清澈	清澈	○
普朗尼克F68 (0.1%)	聚氧乙烯聚氧丙二醇	旭電化工業	清澈	清澈	○
Unilube 70DP-950B (0.1%)	聚氧乙烯聚氧丙二醇	日本油脂	清澈	清澈	○
Kuraray Poval 217C(0.1%)	聚乙烯醇	可樂麗	清澈	清澈	○
軟骨素硫酸C鈉(0.1%)	軟骨素硫酸鈉	和光純藥	懸浮	完全沈澱	×
聚乙烯吡咯啶酮K-25(0.1%)	聚乙烯吡咯啶酮	和光純藥	懸浮	懸浮	×
聚乙二醇400(0.1%)	聚乙二醇	關東化學	懸浮	完全沈澱	×
聚乙二醇4000(0.1%)	聚乙二醇	關東化學	懸浮	完全沈澱	×

(2)增黏劑之研究

稱量實施例1(4)中所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g及0.1%普朗尼克F68/0.01%Tween80(1：1)混合水溶液7.3 g置於50 mL螺旋管中，使用超音波均化器(Sonicator S-4000、晶片418號、輸出30、Astrason公司製造)進行3分鐘均一地分散後，添加表3中所記載之各增黏劑之水溶液1.5 g，進而添加精製水13.5 g而製成分散液22.4 g。再者，各增黏劑之最終濃度係如表3所記載。將所獲得之各分散液於室溫(約25℃)下保存4日，以目視觀察各分散液之清澈性與沈澱之有無而對穩定性進行評價。

將結果示於表3。於表3中，保存穩定性之評價中所記載之記號係指以下之意義。○：穩定性良好；△：發現少量沈澱，穩定性較低；×：發現完全沈澱，不穩定。如表3所示，根據本實驗之結果，於使用羥丙基甲基纖維素及甲基纖維素作為增黏劑之情形時，不僅剛分散後，而且經過4日後，亦未發現沈澱之生成，保持清澈性，穩定性良好。

[表3]

增黏劑	一般名稱	製造商	最終濃度(%)	目視觀察(4日後)	保存穩定性之評價
精製水(無添加)	-	-	0	完全沈澱	×
TC-5(R)	羥丙基甲基纖維素	信越化學	0.1	清澈、無沈澱	○
Metlose 60SH-50	羥丙基甲基纖維素	信越化學	0.1	清澈、無沈澱	○
Kuraray Poval 217C	聚乙烯醇	可樂麗	0.1	清澈、有少量沈澱	△
軟骨素硫酸C鈉	軟骨素硫酸	和光純藥	0.1	完全沈澱	×
聚乙烯吡咯啶酮K-90	聚乙烯吡咯啶酮	和光純藥	0.05	完全沈澱	×
聚乙二醇6000	聚乙二醇	關東化學	0.1	完全沈澱	×
Metlose SM-100	甲基纖維素	信越化學	0.1	清澈、無沈澱	○
Metlose SM-15	甲基纖維素	信越化學	0.1	清澈、無沈澱	○
HEC	羥基乙基纖維素	和光純藥	0.1	完全沈澱	×
Hibiswako-104	羧乙烯聚合物	和光純藥	0.1	完全沈澱	×

(3)防腐劑之研究1

稱量實施例1(4)中所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g及0.1%普朗尼克F68/0.01%Tween80(1：1)混合水溶液7.3 g及1%Kuraray Poval 217C

水溶液1.43 g置於50 mL螺旋管中，使用超音波均化器(Sonicator S-4000、晶片418號、輸出30、Astrason公司製造)進行7分鐘均一地分散後，添加0.01%氯化苄烷銨水溶液1.43 g及3%TC-5(R)水溶液1.43 g，一面攪拌一面緩緩地添加100 mM檸檬酸鈉水溶液而調整至pH值7.0，進而添加精製水而製成點眼劑14.6 g。將所獲得之點眼劑於5℃-25℃之週期及40℃下保存7日，以目視觀察該點眼劑之清澈性而對穩定性進行評價。

將實施例2(3)之結果示於表4。所謂表4中之保存溫度之「週期(5℃-25℃)」，係指反覆進行於5℃下保存6小時後於25℃下保存6小時之操作。如表4所示，根據本實驗之結果，使用氯化苄烷銨作為防腐劑製備之點眼劑不僅於剛製備後，而且經過7日後，亦保持清澈性，穩定性良好。

[表4]

經過日數(日)	保存溫度	
	週期(5℃-25℃)	40℃
0	清澈	清澈
7	清澈	清澈

(實施例3)過濾殺菌之研究

(1)點眼劑之製備1

於1 L之燒杯中添加實施例1(5)中所獲得之粉碎混練物(麵團)6.0 g、0.01%Unilube 70DP-950B水溶液408 g及1.0%Kuraray Poval 217C水溶液81.6 g，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)進行粗分散後，利用高壓均化器(L01-YH1、90 MPa×5路徑、三和工程公司製造)進行均一地分散。進而添加0.1%氯化苄烷銨水溶液7.48 g及3%TC-5(R)水溶液7.48 g並攪拌5分鐘後，添加100 mM檸檬酸鈉水溶液而設為pH值7.0後，一面攪拌一面添加精製水而設為總量748 g。

使用粒度分佈測定裝置(Delsa Nano S、Beckman Coulter公司製造)測定所獲得之點眼劑之粒度分佈，結果為平均粒徑(Dv)173 nm、中心粒徑(D50)151 nm、90%粒徑(D90)233 nm。

(2)點眼劑之製備2

於1 L之燒杯中添加實施例1(7)中所獲得之粉碎混練物(麵團)6.0 g、0.01%Unilube 70DP-950B水溶液414 g及1.0%Kuraray Poval 217C水溶液82.8 g，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)進行粗分散後，利用高壓均化器(L01-YH1、90 MPa×5路徑、三和工程公司製造)進行均一地分散。進而添加0.1%氯化苄烷銨水溶液7.5 g及3%TC-5(R)水溶液7.5 g並攪拌5分鐘後，添加100 mM檸檬酸鈉水溶液而設為pH值7.0後，一面攪拌一面添加精製水而設為總量750 g。使用粒度分佈測定裝置(Delsa Nano S、Beckman Coulter公司製造)測定所獲得之點眼劑之粒度分佈，結果為平均粒徑(Dv)201 nm、中心粒徑(D50)177 nm、90%粒徑(D90)260 nm。

(3)點眼劑之製備3

於1 L之燒杯中添加實施例1(8)中所獲得之粉碎混練物(麵團)6.29 g、0.01%Unilube 70DP-950B水溶液415 g及1.0%Kuraray Poval 217C水溶液83.0 g，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)進行粗分散後，利用高壓均化器(L01-YH1、90 MPa×5路徑、三和工程公司製造)進行均一地分散。進而添加0.1%氯化苄烷銨水溶液7.84 g及3%TC-5(R)水溶液7.84 g並攪拌5分鐘後，添加100 mM檸檬酸鈉水溶液而設為pH值7.0後，一面攪拌一面添加精製水而設為總量784 g。使用粒度分佈測定裝置(Delsa Nano S、Beckman Coulter公司製造)測定所獲得之點眼劑之粒度分佈，結果為平均粒徑(Dv)204 nm、中心粒徑(D50)166 nm、90%粒徑(D90)306 nm。

(4)過濾器過濾透過性之研究

對於實施例3(1)～(3)中所製備之各點眼劑，使用Millipore公司製造之2種過濾器過濾膜(Optiscale25及Optiscale25 Capsule)進行過濾器過濾透過性之研究。過濾條件係如下所述。

過濾器名：

Optiscale25(預濾器0.5 μm/條過濾器0.22 μm)

Optiscale25 Capsule(預濾器0.2 μm/條過濾器0.22 μm)

過濾器材質：聚偏二氟乙烯(PVDF)

有效過濾面積：3.5 cm^2

試驗壓力：0.18 MPa

試驗之方法係藉由Vmax法而實施，該方法係經時性地測定點眼劑之透過流量，不進行過濾直至過濾器完全堵塞為止，預測過濾器之最大處理量。

將結果示於表5。表5中之透過量表示將各點眼劑透過過濾器之量換算成L/m^2之值。又，透過率係藉由HPLC(High Performance Liquid Chromatography，高效液相層析法)而對過濾器過濾前後之丙酸倍氯松之濃度進行測定，以百分率表示過濾後相對於過濾前之濃度。根據表5中所示之結果，已知任一粒徑均能夠進行過濾器過濾殺菌。粉碎後之丙酸倍氯松之粒徑最小的實施例3(1)中所製備之點眼劑係透過量與透過率之兩者均顯示較高之值。

[表5]

點眼劑樣品	藥劑濃度(%)	過濾器過濾		
		過濾器名(孔尺寸：Pre/條)	透過量(L/m^2)	透過率(%)
(1)	0.05	Optiscale25(0.5/0.22)	644	95.5
		Optiscale25 Capsule(0.2/0.22)	501	93.0
(2)	0.05	Optiscale25(0.5/0.22)	450	70.8
		Optiscale25 Capsule(0.2/0.22)	659	72.2
(3)	0.05	Optiscale25(0.5/0.22)	259	87.4
		Optiscale25 Capsule(0.2/0.22)	347	89.1

(實施例4)丙酸倍氯松之粉碎

(1)平均粒徑100～150 nm之奈米粒子之製作

於水冷式1.0 L立式捏合機(井上製作所)中加入平均粒徑38,390 nm之丙酸倍氯松(熔點：193～200℃、東京化成製造)10 g、氯化鈉(Tomita Salt K-30、富田製藥製造)110 g、氫化大豆卵磷脂(Phospholipon90H、Lipoid公司製造)10 g及無水檸檬酸(純正化學公司製造)0.8 g並均一地混合後，投入甘油(Sigma-Aldrich公司製造)17 g，將內容物保持為揉捏粉狀態，於5℃下進行7小時粉碎。其後，稱量所獲得之粉碎混練物(麵團)0.1 g、作為分散劑之0.01%POE•POP二醇(Unilube 70DP-950B、日本油脂製造)5 g置於50 mL螺旋管中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)進行均一地分散，添加精製水45 g而獲得懸浮液50 g。使用粒度分佈測定裝置(Delsa Nano S、Beckman Coulter公司製造)對所獲得之懸浮液之粒度分佈進行測定，結果丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)101 nm、10%粒徑(D10)56 nm、中心粒徑(D50)87 nm、90%粒徑(D90)141 nm。

(2)平均粒徑100～150 nm之奈米粒子之製作

以與(1)相同之方式進行丙酸倍氯松之粉碎及粒度分佈測定。其結果為，丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)108 nm、10%粒徑(D10)57 nm、中心粒徑(D50)89 nm、90%粒徑(D90)151 nm。

(3)平均粒徑250～300 nm之奈米粒子之製作

不添加氫化大豆卵磷脂(Phospholipon90H、Lipoid公司製造)10 g，除此以外，以與(1)相同之方式進行丙酸倍氯松之粉碎及粒度分佈測定。其結果為，丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)260 nm、10%粒徑(D10)143 nm、中心粒徑(D50)222 nm、90%粒徑(D90)363 nm。

(4)平均粒徑500～700 nm之奈米粒子之製作

將平均粒徑38,390 nm之丙酸倍氯松1 g、氯化鈉及甘油之混合物(氯化鈉11 g、甘油2 g)2 g投入至砂漿研磨機RM200(Retsch公司製造)中，於室溫下以1次1分鐘反覆運轉9次而進行粉碎。其後，稱量所獲得之粉碎混練物(麵團)0.04 g、作為分散劑之0.01%POE•POP二醇(Unilube 70DP-950B)5 g置於50 mL螺旋管中，使用超音波裝置進行均一地分散，添加精製水45 g而獲得懸浮液50 g。使用粒度分佈測定裝置對所獲得之懸浮液之粒度分佈進行測定，結果丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)637 nm、10%粒徑(D10)233 nm、中心粒徑(D50)475 nm、90%粒徑(D90)1129 nm。

(實施例5)奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之製作

(1)0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑約100 nm)之製作

稱量實施例4(1)中所製作之粉碎混練物(麵團)2.4 g、0.01%Unilube水溶液150 g及1.0%PVA(Merck公司製造)水溶液30 g置於燒杯中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)均一地分散約5分鐘而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行處理而獲得分散液。進而添加0.1%氯化苄烷銨(BAC)水溶液2.5 g及3.0%羥丙基甲基纖維素(HPMC)水溶液2.5 g後，緩緩地添加500 mM檸檬酸鈉而調整至pH值7.0。其後，添加注射用水而將總量設為417.6 g，製作0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑約100 nm)。該點眼懸浮液之浸透壓比為0.8。

(2)0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑約300 nm)之製作

稱量實施例4(3)中所製作之粉碎混練物(麵團)2.1 g、0.01%Unilube水溶液150 g及1.0%PVA水溶液30 g置於燒杯中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)均一地分散約5分鐘而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行處理而獲得分散液。進而添加0.1%BAC水溶液2.5 g

及3.0%HPMC水溶液2.5 g後，緩緩添加500 mM檸檬酸鈉而調整至pH值7.0。其後，添加注射用水而將總量設為405.4 g，製作0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑約300 nm)。該點眼懸浮液之浸透壓比為0.8。

(3)0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑約600 nm)之製作

稱量實施例4(4)中所製作之粉碎混練物(麵團)0.52 g、注射用水150 g及1.0%PVA水溶液30 g置於燒杯中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)均一地分散約5分鐘而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行處理而獲得分散液。進而添加0.1%BAC水溶液2.5 g及3.0%HPMC水溶液2.5 g後，緩緩添加500 mM檸檬酸鈉而調整至pH值7.0。其後，添加氯化鈉1.45 g並添加注射用水而將總量設為245 g，製作0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑約600 nm)。該點眼懸浮液之浸透壓比為0.9。

將實施例5(1)～(3)中所製作之各0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之組成示於以下之表6。

[表6]

成分	組成(mg/mL)		
	(1)	(2)	(3)
丙酸倍氯松	0.5	0.5	0.5
氯化鈉	5.5	5.5	5.9
氫化大豆卵磷脂	0.5	-	-
甘油	0.86	0.86	0.5
無水檸檬酸	0.04	0.04	0.04
PVA	1	1	1
POE•POP二醇	0.05	0.05	-
BAC	0.01	0.01	0.01
HPMC	3	3	3
檸檬酸鈉	適量	適量	適量
注射用水	適量	適量	適量

(實施例6)眼內藥物動態試驗

以實施例5(1)～(3)中所製作之各奈米化點眼懸浮液對兔子(Kbl：JW、雄)進行點眼而進行眼內藥物動態試驗(n＝3)。將兔子之下眼瞼

穩定地分離，使用移液管將被試驗物質滴(單次點眼投予、50 μL/eye)至左眼之結膜囊內，點眼後，緩緩地合上上下眼瞼並保持約2秒鐘。點眼15分鐘、30分鐘、60分鐘及90分鐘後，藉由戊巴比妥鈉(東京化成工業股份有限公司)水溶液之耳廓靜脈內投予而進行麻醉，放血使其安樂死，利用注射用水對眼進行充分地洗淨後，提取眼房液(左眼)。其後，提取結膜(左眼)。對於提取之眼房液及結膜，分別使用電子秤測定重量後，利用液態氮進行冷凍，自測定為止保存於超低溫冷凍器(容許範圍：-70℃以下)中。眼房液及結膜中之丙酸倍氯松濃度係藉由LC-MS/MS法(Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method，液相層析-聯合質譜分析法)而進行測定。

(眼房液之前處理)

於提取之眼房液25 μL中添加甲醇20 μL及內標準(潑尼松龍)溶液20 μL並充分地攪拌。進而添加乙腈100 μL並充分地攪拌，離心(13100×g、4℃、5分)後，將上清液10 μL注入至LC-MS/MS中。

(結膜之前處理)

提取之結膜係添加相對於其濕重量而為9倍容量之超純水而均質化。於該勻漿25 μL中添加甲醇25 μL及內標準(潑尼松龍)溶液20 μL並充分地攪拌。進而添加乙腈100 μL並充分地攪拌，離心(13100×g、4℃、5分)後，將上清液20 μL注入至LC-MS/MS中。

(LC-MS/MS之測定條件)

(HPLC之測定條件)

管柱：CAPCELL PAK C18 MGIII(5 μm、2 mm×150 mm、資生堂)

移動相A：0.2%甲酸水溶液

移動相B：乙腈

梯度之時間程式：按照以下之容量比而進行

時間(分鐘)	移動相A(%)	移動相B(%)
0.00	70	30
2.20	70	30
2.50	20	80
5.40	20	80
5.41	70	30
7.00	70	30

流速：0.3 mL/分

管柱溫度：40℃

自動取樣器溫度：4℃

分析時間：7分鐘

(MS/MS之測定條件)

離子源(Ion Source)：電噴霧電離(ESI，Electrospray ionization)

掃描方式(Scan Type)：多重反應監測(MRM，Multiple reaction monitoring)

極性(Polarity)：正(Positive)

源極溫度(Source Temperature)：400℃

顯示器離子：

化合物	Q1(m/z)	Q3(m/z)
丙酸倍氯松	468.1	356.3
內標準物質(潑尼松龍)	361.3	147.1

容許範圍：±0.5以內

作為實施例5(1)～(3)中所製作之奈米化點眼懸浮液之眼內藥物動態試驗的結果，將眼房液中之藥物濃度之經時變化示於圖1及表7，將結膜中之藥物濃度之經時變化示於圖2及表8。對於眼房液中之藥物濃度，可見粒徑依存性。即，顯示隨著粒徑變小而眼房液中之藥物濃度變高之傾向。因此，關於點眼之奈米化丙酸倍氯松向眼房液中之移動性，顯示粒徑越小越適宜。又，對於結膜中之藥物濃度，同樣亦可見

粒徑依存性之傾向，關於點眼之奈米化丙酸倍氯松向結膜之移動性，顯示粒徑越小越適宜。

[表7]

時間(分鐘)	濃度(mg/mL)					
	0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑600 nm)		0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑300 nm)		0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑100 nm)	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
15	0	0	14.00	1.07	23.19	20.61
30	9.27	2.67	24.45	13.76	39.92	7.65
60	6.45	1.24	25.92	6.51	75.32	29.8
90	5.45	1.62	20.80	6.20	23.19	1.04

[表8]

時間(分鐘)	濃度(ng/mL)					
	0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑600 nm)		0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑300 nm)		0.05%奈米化點眼懸浮液(平均粒徑100 nm)	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
15	255	74.5	703.4	148.7	1210	391
30	149.1	140	640.0	793.3	203.4	34.3
60	73.34	24.01	88.98	32.6	429.4	68.4
90	5.32	9.22	78.25	43.99	95.96	20.34

(實施例7)奈米化點眼懸浮液中之增黏劑之影響之研究

根據實施例6，顯示奈米化丙酸倍氯松之平均粒徑較佳為約100 nm，故而其次於含有平均粒徑約100 nm之奈米化丙酸倍氯松之點眼懸浮液中採用各種增黏劑，藉此改變奈米化點眼懸浮液之黏度而進行眼內藥物動態試驗。

(1)奈米化點眼懸浮液P之製作

稱量實施例4(2)中所製作之粉碎混練物(麵團)5 g、0.01%Unilube水溶液335 g及1.0%PVA水溶液67 g置於燒杯中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)均一地分散約5分鐘而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行處理而獲得分散液。進而添加0.1%BAC水溶液6.7 g及

1.0%HPMC(60SH-50)水溶液201 g後，緩緩添加500 mM檸檬酸鈉而調整至pH值7.0。其後，添加注射用水而將總量設為670 g，製作0.05%奈米化點眼懸浮液P。該點眼懸浮液之黏度約2 mPa・S。

(2)奈米化點眼懸浮液Q之製作

將「1.0%HPMC(60SH-50)水溶液201 g」變更為「1.0%HPMC(60SH-4000)水溶液100.5 g」，除此以外，以與實施例7(1)相同之方式製作0.05%奈米化點眼懸浮液Q。該點眼懸浮液之黏度約3 mPa・S。

(3)奈米化點眼懸浮液R之製作

將「1.0%HPMC(60SH-50)水溶液201 g」變更為「1.0%MC(SM-100)水溶液134 g」，除此以外，以與實施例7(1)相同之方式製作0.05%奈米化點眼懸浮液R。該點眼懸浮液之黏度約2 mPa・S。

(4)奈米化點眼懸浮液S之製作

將「1.0%HPMC(60SH-50)水溶液201 g」變更為「1.0%MC(SM-4000)水溶液100.5 g」，除此以外，以與實施例7(1)相同之方式製作0.05%奈米化點眼懸浮液S。該點眼懸浮液之黏度約3 mPa・S。

將實施例7(1)～(4)中所製作之各0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之組成示於以下之表9。

[表9]

	組成(mg/mL)			
實施例7	(1)	(2)	(3)	(4)
奈米化點眼懸浮液	P	Q	R	S
丙酸倍氯松	0.5	0.5	0.5	0.5
氯化鈉	5.5	5.5	5.5	5.5
氫化大豆卵磷脂	0.5	0.5	0.5	0.5
甘油	0.84	0.84	0.84	0.84
無水檸檬酸	0.04	0.04	0.04	0.04
PVA	1	1	1	1
POP・POA二醇	0.05	0.05	0.05	0.05

BAC	0.01	0.01	0.01	0.01
HPMC(60SH-50)	3	-	-	-
HPMC(60SH-4000)	-	1.5	-	-
MC(SM-100)	-	-	2	-
MC(SM-4000)	-	-	-	1.5
檸檬酸鈉	適量	適量	適量	適量
注射用水	適量	適量	適量	適量

(5)眼內藥物動態試驗

藉由實施例6所記載之方法而對實施例7(1)～(4)中所製作之奈米化點眼懸浮液進行眼內藥物動態試驗。

(6)結果

將眼房液中之藥物濃度之經時變化示於圖3及表10，將結膜中之藥物濃度之經時變化示於圖4及表11。根據圖3所示之結果，明確有點眼懸浮液之黏度越高，則向眼房液中之移動性越高之傾向。又，根據圖4所示之結果，明確有點眼懸浮液之黏度越高，則初期(15分鐘後)之向結膜之移動性越高之傾向。

[表10]

時間(分鐘)	濃度(ng/mL)							
	0.05%奈米化點眼懸浮液P		0.05%奈米化點眼懸浮液Q		0.05%奈米化點眼懸浮液R		0.05%奈米化點眼懸浮液S	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
15	25.77	8.94	24.83	11.92	17.03	2.16	23.49	1.43
30	63.88	12.87	74.62	5.81	54.74	12.37	63.16	2.18
60	48.58	27.62	53.09	15.86	52.69	10.34	52.08	17.4
90	36.67	11.72	54.23	38.82	33.8	13.71	59.34	28.99

[表11]

時間(分鐘)	濃度(ng/mL)							
	0.05%奈米化點眼懸浮液P		0.05%奈米化點眼懸浮液Q		0.05%奈米化點眼懸浮液R		0.05%奈米化點眼懸浮液S	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
15	971.9	162.8	1455.00	641.00	659.10	174.50	2141	708
30	608.40	228.10	525.70	5.10	367.7	37.20	497.3	59.6
60	260.90	182.30	204.80	42.90	269.9	101.90	177.2	86.4
90	127.00	36.80	288.20	198.10	199.9	88.10	148.4	48

(實施例8)奈米化倍氯松點眼懸浮液於兔子之BSA誘發葡萄膜炎模型中之藥效試驗

(1)丙酸倍氯松之粉碎

以與實施例4(1)相同之方式進行丙酸倍氯松之粉碎，製作丙酸倍氯松之粒度分佈為平均粒徑(Dv)132 nm、10%粒徑(D10)65 nm、中心粒徑(D50)109 nm、90%粒徑(D90)186 nm之粉碎混練物(麵團)。

(2)0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之製作

稱量上述(1)中所製作之粉碎混練物(麵團)2.4 g、0.01%POE•POP二醇水溶液167.5 g及1.0%PVA水溶液33.5 g置於燒杯中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)使麵團分散而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行5次處理而獲得麵團分散液。進而添加0.1%氯化苄烷銨水溶液2.8 g及1.0%甲基纖維素水溶液56.4 g後，緩緩添加500 mM檸檬酸鈉水溶液而調整至pH值7.0。其後，添加甘油1.5 g而將浸透壓比調整至1.0，添加注射用水而將總量設為282.1 g，製作0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液。將該點眼懸浮液之組成與物性示於以下之表。

點眼懸浮液之組成

成分	組成(%)
丙酸倍氯松	0.05
氯化鈉	0.50
氫化大豆卵磷脂	0.05
甘油	0.08
無水檸檬酸	0.004
聚氧乙烯聚氧丙二醇	0.005
聚乙烯醇	0.1
氯化苄烷銨	0.001
甲基纖維素	0.20
檸檬酸鈉	適量
注射用水	適量

點眼懸浮液之物性

測定項目	測定值
丙酸倍氯松濃度(%)	0.05
浸透壓比	1.0
pH值	7.0
黏度(mPa・s)	2.1

(3)使用兔子之BSA誘發葡萄膜炎模型之藥效試驗

使兔子(Std：JW/CSK)於氯胺酮鹽酸鹽(氯胺酮肌肉注用500 mg)及甲苯噻嗪(Selactar 2%注射液)之併用麻醉下，以0.4%羥基普魯卡因鹽酸鹽(倍諾喜(Benoxil)點眼液0.4%)對右眼球進行點眼麻醉，角膜反射消失後，對右眼之玻璃體中央部注入10%BSA生理食鹽液0.1 mL，引起葡萄膜炎(第1次)。自第二天起，使用微量吸管將對照(生理食鹽液)、被試驗物質(上述(2)中所製作之0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液)及陽性對照物質(0.1%氟米龍點眼液、市售品)提取50 μL，以1日2次(原則上，9：00及17：00)連續29日對右眼球進行點眼投予。對於左眼，未進行處置，以各群n＝5進行藥效試驗。

自第1次BSA投予15日後至18日後為止之4日，根據山內等人之眼炎症評分基準(山內秀泰除外(1973)、日本眼科紀要、24、969-979)而使外眼部(角膜之外側)與內眼部(角膜之內側)之炎症症狀分數化，藉此進行抗炎症效果之評價。又，27日後，以2 mL/kg之用量自耳廓靜脈注入1.25%BSA生理食鹽液，引起葡萄膜炎(第2次)，29日後以與上述相同之方式使外眼部與內眼部之炎症症狀分數化，對抗炎症效果進行評價。

(4)結果

將結果示於圖5～7。根據本結果，明確0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液對於外眼部與內眼部之炎症模型具有與0.1%氟米龍點眼液相同程度之抗炎症效果。

(實施例9)大鼠之巴豆誘發結膜炎模型中之藥效試驗

(1)0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之製作

稱量上述實施例8(1)中所製作之粉碎混練物(麵團)4.2 g、0.01%聚氧乙烯聚氧丙烯水溶液150 g及1.0%PVA水溶液30 g置於燒杯中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)使麵團分散而製成粗分散液，使用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行5次處理而獲得麵團分散液。進而添加0.1%氯化苄烷銨水溶液2.4 g及1.0%甲基纖維素水溶液48.3 g後，緩緩添加500 mM檸檬酸鈉水溶液而調整至pH值7.0。其後，添加注射用水而將總量設為241.4 g，製作0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液。將該點眼懸浮液之組成與物性示於以下之表。

點眼懸浮液之組成

成分	組成(%)
丙酸倍氯松	0.1
氯化鈉	1.1
氫化大豆卵磷脂	0.1
甘油	0.16
無水檸檬酸	0.008
聚氧乙烯聚氧丙二醇	0.005
聚乙烯醇	0.1
氯化苄烷銨	0.001
甲基纖維素	0.20
檸檬酸鈉	適量
注射用水	適量

點眼懸浮液之物性

測定項目	測定值
丙酸倍氯松濃度(%)	0.1
浸透壓比	1.6
pH值	7.0
黏度(mPa・s)	1.9

(2)使用大鼠之巴豆誘發結膜炎模型之藥效試驗

對於大鼠(Wistar、雌)之雙眼，以乙醇(致炎劑)按照2.5 μL/site進行-41分與0分之點眼2次，使其合計致炎2次。使用微量吸管以被試驗物質((1)中所製作之0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液)及陽性對照物質(0.1%地塞米松、市售品)按照5 μL/site對雙眼進行第1次致炎劑投予1分鐘前(-42分)及第2次致炎劑投予1分鐘前(-1分)之點眼2次投予。再者，將正常對照群(無致炎、無藥物投予)及致炎對照群(有致炎、無藥物投予)設為對照群，以各群n＝10進行試驗。

以10%巴豆油乙醇溶液(炎症誘發劑)按照5 μL/site對雙眼進行第2次致炎劑投予40分鐘後、100分鐘後及160分鐘後之合計3次點眼而誘發炎症。自10%巴豆油乙醇溶液之最終點眼起2小時後，於異氟醚麻醉下藉由頸椎脫臼而使大鼠安樂死後，提取雙眼之結膜並測定重量。藉由與致炎對照群之結膜重量比較而對被試驗物質之抗炎症效果進行評價。

將所獲得之結果示於圖8。根據本結果，確認致炎對照群之結膜重量與正常對照群相比而顯示較高值，因此本模型誘發炎症。又，以被試驗物質(0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液)及陽性對照物質(0.1%地塞米松)進行點眼之群之結膜重量與任一致炎對照群相比均顯示較低值。因此，明確本專利之0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液能夠藉由對大鼠之巴豆誘發結膜炎模型進行點眼而抑制結膜之浮腫。

(實施例10)大鼠之鹿角菜膠誘發結膜浮腫模型中之藥效試驗

(1)0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之製作

稱量上述實施例8(1)中所製作之粉碎混練物(麵團)4.3 g、0.01%聚氧乙烯聚氧丙烯水溶液150 g及1.0%PVA水溶液30 g置於燒杯中，使用超音波裝置(MODEL VS-100III、AS ONE公司製造)使麵團分散而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行5次處理而獲得麵團分散液。進而添加0.1%氯化苄烷銨水

溶液2.4 g及1.0%甲基纖維素水溶液47.9 g後，緩緩添加500 mM檸檬酸鈉水溶液而調整至pH值7.0。其後，添加注射用水而將總量設為239.5 g，製作0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液。將該點眼懸浮液之組成與物性示於下表。

點眼懸浮液之組成

成分	組成(%)
丙酸倍氯松	0.1
氯化鈉	1.0
氫化大豆卵磷脂	0.1
甘油	0.16
無水檸檬酸	0.008
聚氧乙烯聚氧丙二醇	0.005
聚乙烯醇	0.1
氯化苄烷銨	0.001
甲基纖維素	0.20
檸檬酸鈉	適量
注射用水	適量

點眼懸浮液之物性

測定項目	測定值
丙酸倍氯松濃度(%)	0.1
浸透壓比	1.5
pH值	7.0
黏度(mPa・s)	1.9

(2)使用大鼠之鹿角菜膠誘發結膜浮腫模型之藥效試驗

使用微量吸管以對照(生理食鹽液)、被試驗物質(實施例8(2)中所製備之0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液及實施例10(1)中所製備之0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液)及陽性對照物質(0.1%氟米龍點眼液、市售品)對大鼠(Wistar、雄)之右眼進行點眼投予(各群n＝8)。點眼投予15分鐘後，於異氟醚麻醉下以1%鹿角菜膠生理食鹽液溶液(致炎物質)對右上眼瞼結膜進行50 μL皮下投予，藉此製作結膜浮腫模

型。致炎物質投予4小時後，於異氟醚麻醉下藉由自腹部大動脈之放血而使大鼠安樂死，摘除包含右眼球及副淚腺(哈得氏腺)之浮腫部位後，將右眼瞼結膜分離並測定其重量。藉由對所獲得之眼瞼結膜重量進行比較而進行抗炎症效果之評價。

將眼瞼結膜重量之結果示於圖9。根據本結果，明確於奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液中確認有依存於濃度之抗炎症效果，0.1%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液顯示與陽性對照之0.1%氟米龍點眼液大致相同之抗炎症作用。

(實施例11)奈米化倍氯松點眼懸浮液之兔子LPS(Lipopolysaccharide，脂多醣)誘發葡萄膜炎模型中之藥效試驗

(1)丙酸倍氯松之粉碎

於水冷式1.0 L立式捏合機(井上製作所)中加入丙酸倍氯松(Farmabios SPA公司製造)50 g、氯化鈉(Tomita Salt K-30、富田製藥製造)550 g、無水檸檬酸(Sigma-Aldrich公司製造)4 g及氫化大豆卵磷脂(Phospholipon 90H、Lipoid公司製造)50 g並均一地混合後，投入甘油(Sigma-Aldrich公司製造)70 g，將內容物保持為揉捏粉狀態，於5℃下進行5小時粉碎。以與實施例1(1)相同之方式使用分散劑使所獲得之粉碎混練物(麵團)分散而製成懸浮液，對丙酸倍氯松之粒度分佈進行測定，結果為平均粒徑(Dv)132 nm、10%粒徑(D10)67 nm、中心粒徑(D50)110 nm、90%粒徑(D90)184 nm。

(2)0.002%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之製作

稱量(1)中所製作之粉碎混練物(麵團)0.076 g、0.01%Poloxamer407水溶液31.3 g、1.0%PVA水溶液25.0 g、氯化鈉0.217 g、注射用水93.3 g置於燒杯中，使用超音波裝置使麵團分散而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行4次處理而獲得麵團分散液。稱量該麵團分散液110.67 g

置於燒杯中，添加0.1%氯化苄烷銨水溶液1.85 g及1.0%甲基纖維素水溶液36.91 g後，緩緩添加1 M 檸檬酸鈉水溶液而調整至pH值7.0。其後，添加甘油而將浸透壓比調整至1.0，添加注射用水而將總量設為184.6 g，製作0.002%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液。將該點眼懸浮液之組成與物性示於下表。

點眼懸浮液之組成

成分	組成(%)
丙酸倍氯松	0.002
氯化鈉	0.11
氫化大豆卵磷脂	0.002
甘油	2.2
無水檸檬酸	0.0002
Poloxamer407	0.0013
聚乙烯醇	0.1
氯化苄烷銨	0.001
甲基纖維素	0.20
檸檬酸鈉	適量
注射用水	適量

點眼懸浮液之物性

測定項目	測定值
丙酸倍氯松濃度(%)	0.002
浸透壓比	1.0
pH值	7.0
黏度(mPa・s)	1.98

(3)0.01%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之製作

稱量(1)中所製作之粉碎混練物(麵團)0.38 g、0.01%Poloxamer407水溶液62.5 g、1.0%PVA水溶液25.0 g、注射用水62.5 g置於燒杯中，使用超音波裝置使麵團分散而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行4次處理而獲得麵團分散液。稱量該麵團分散液119.44 g置於燒杯中，添加0.1%氯化苄烷銨水溶液1.98 g及1.0%甲基纖維素水溶液39.70 g後，緩緩添加1 M檸檬酸鈉

水溶液而調整至pH值7.0。其後，添加甘油而將浸透壓比調整至1.0，添加注射用水而將總量設為198.5 g，製作0.01%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液。將該點眼懸浮液之組成與物性示於下表。

點眼懸浮液之組成

成分	組成(%)
丙酸倍氯松	0.01
氯化鈉	0.12
氫化大豆卵磷脂	0.01
甘油	2.1
無水檸檬酸	0.0008
Poloxamer407	0.0025
聚乙烯醇	0.1
氯化苄烷銨	0.001
甲基纖維素	0.20
檸檬酸鈉	適量
注射用水	適量

點眼懸浮液之物性

測定項目	測定值
丙酸倍氯松濃度(%)	0.010
浸透壓比	1.0
pH值	7.0
黏度(mPa・s)	1.99

(4)0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之製作

稱量(1)中所製作之粉碎混練物(麵團)1.84 g、0.01%Poloxamer407水溶液125.0 g、1.0%PVA水溶液25.0 g置於燒杯中，使用超音波裝置使麵團分散而製成粗分散液，利用高壓均化器(三和工業公司製造、L01-YH1)對該粗分散液進行4次處理而獲得麵團分散液。稱量該麵團分散液116.79 g置於燒杯中，添加0.1%氯化苄烷銨水溶液1.92 g及1.0%甲基纖維素水溶液38.45 g後，緩緩添加1 M檸檬酸鈉水溶液而調整至pH值7.0。其後，添加甘油而將浸透壓比調整至1.0，添加注射用

水而將總量設為192.3 g，製作0.05%奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液。將該點眼懸浮液之組成與物性示於下表。

點眼懸浮液之組成

成分	組成(%)
丙酸倍氯松	0.05
氯化鈉	0.56
氫化大豆卵磷脂	0.05
甘油	0.50
無水檸檬酸	0.004
聚氧乙烯聚氧丙二醇	0.005
聚乙烯醇	0.1
氯化苄烷銨	0.001
甲基纖維素	0.20
檸檬酸鈉	適量
注射用水	適量

點眼懸浮液之物性

測定項目	測定值
丙酸倍氯松濃度(%)	0.048
浸透壓比	1.0
pH值	7.0
黏度(mPa・s)	1.99

(5)兔子之LPS誘發葡萄膜炎模型中之藥效試驗

藉由自耳廓靜脈對兔子(Kbs：JW)投予戊巴比妥鈉(鈉戊基)而實施麻醉，進而將0.4%羥基普魯卡因鹽酸鹽(倍諾喜點眼液)滴至雙眼，角膜反射消失後，對兔子安裝開瞼器，使用附有30 G注射針之注射器向玻璃體內投予調整至2 μg/mL之LPS(Lipopolysaccharide、源自E. ColiO55：sigma)0.02 mL而引起炎症。點眼係以對照(saline)、陽性對照物質(durezol(註冊商標)：0.05%二氟潑尼酯眼用乳液、Alcon Laboratories公司製造)及上述(4)中所製作之被試驗物質(0.05%點眼懸浮液)各50 μL，使用微量吸管於LPS投予之4小時前、15分鐘後、6小

時及8小時後對雙眼實施。再者，使用每群各6隻之雙眼，設為各群n＝12。藉由自LPS投予起24小時後對兔子投予過量戊巴比妥鈉(鈉戊基)而使其安樂死，利用附有26 G注射針之注射器提取總量之前眼房液。進而摘除眼球並將強膜-角膜移動部附近切開，使用1 mL注射器提取玻璃體。提取之兩樣品中之PGE2濃度係藉由ELISA法(Enzyme Linked Immunosorbent Assay，酵素結合免疫吸附分析法)(Prostaglandin E2 Express ELISA Kit：cayman)而進行測定。

(6)結果

將眼房液中PGE2濃度(前眼部評價)示於圖10，將玻璃體中PGE2濃度(後眼部評價)之結果示於圖11。明確本發明之奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液藉由對兔子之LPS誘發葡萄膜炎模型進行點眼而對葡萄膜炎(前眼部)顯示與陽性對照之durezol(註冊商標)相同之抗炎症作用。又，明確關於玻璃體內之PGE2濃度，與Durezol(註冊商標)投予群相比，本發明之奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液投予群變得更低，因此對葡萄膜炎(後眼部)顯示高於Durezol(註冊商標)之抗炎症作用。

(實施例12)奈米化倍氯松點眼懸浮液於兔子前房穿刺炎症模型中之藥效試驗

(1)兔子之前房穿刺炎症模型中之藥效試驗

使用微量吸管以對照(saline)、陽性對照物質(durezol(註冊商標))及實施例11(2)(3)(4)中所製作之被試驗物質(0.002%、0.01%及0.05%點眼懸浮液)各50 μL對兔子(Kbs：JW)之雙眼進行各1次點眼投予。再者，使用每群各6隻之雙眼，設為各群n＝12。其4小時後，將0.4%羥基普魯卡因鹽酸鹽(倍諾喜點眼液)滴至雙眼，角膜反射消失後，對兔子安裝開瞼器，向前房內刺入附有26 G注射針之注射器，提取前眼房液總量，藉此引起前眼部炎症。進而其3小時後，再次使用附有26 G注射針之注射器提取總量之前眼房液，使用BCA法(Bicinchoninic

acid method，二喹啉甲酸法)(Pierce™ BCA Protein Assay Kit：Thermo Fisher Scientific Inc.)對前眼房液中蛋白濃度進行測定。又，不因前房穿刺而引起前眼部炎症之群(Normal)之前眼房液中蛋白濃度亦使用BCA法進行測定。

(2)結果

將前眼房液中之蛋白濃度之結果示於圖12。根據本結果，明確本發明之奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液(0.002%、0.01%及0.05%)藉由對兔子之前房穿刺炎症模型進行點眼而顯示與陽性對照之durezol(註冊商標)(0.05% difluprednate)相同之抗炎症作用。

(實施例13)奈米化倍氯松點眼懸浮液於兔子LPS誘發葡萄膜炎模型中之藥效試驗

(1)兔子之LPS誘發葡萄膜炎模型中之藥效試驗

藉由自耳廓靜脈對兔子(Kbs：JW)投予戊巴比妥鈉(鈉戊基)而實施麻醉，進而將0.4%羥基普魯卡因鹽酸鹽(倍諾喜點眼液)滴至雙眼，角膜反射消失後，對兔子安裝開瞼器，使用附有30 G注射針之注射器向玻璃體內投予調整至2 μg/mL之LPS(Lipopolysaccharide、源自E. ColiO55：sigma)0.02 mL而引起炎症。點眼係使用微量吸管以對照(saline)、陽性對照物質(durezol：0.05%二氟潑尼酯眼用乳液、Alcon Laboratories公司製造)及實施例11(4)中所製作之被試驗物質(0.05%點眼懸浮液)各50 μL，自LPS投予之第二天起於b.i.d(1日點眼2次)之9：00及17：00、q.i.d(1日點眼4次)之9：00、12：00、15：00及18：00，對雙眼連續實施6日。再者，使用每群各4隻或5隻之雙眼，設為各群n＝8或10。自LPS投予起24小時後，藉由對兔子投予過量戊巴比妥鈉(鈉戊基)而使其安樂死，摘除眼球並將強膜-角膜移動部附近切開，利用1 mL注射器提取玻璃體。提取之樣品中之PGE2濃度係藉由ELISA法(Prostaglandin E2 Express ELISA Kit：cayman)而進行測定。

(2)結果

將玻璃體中PGE2濃度(後眼部評價)之結果示於圖13。對照之玻璃體中PGE2濃度為345.6 pg/ml。陽性對照之durezol之1日點眼2次及1日點眼4次的玻璃體中PGE2濃度分別為256.35 pg/ml及179.4 pg/ml而顯示改善傾向。本發明之奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液之1日點眼2次及1日點眼4次的玻璃體中PGE2濃度分別顯示219.2 pg/ml及167.6，顯示出優於durezol之抗炎症作用。因此，明確本發明之奈米化丙酸倍氯松點眼懸浮液藉由對兔子之LPS誘發葡萄膜炎模型進行點眼，而與陽性對照之durezol相比，於b.i.d(1日點眼2次)及q.i.d(1日點眼4次)之兩者中顯示出更高之抗炎症作用。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種水性懸浮液劑，其含有藉由將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、甘油、無水檸檬酸與氫化大豆卵磷脂混合及粉碎而製造之奈米微粒子，且上述奈米微粒子之平均粒徑為300 nm以下，D90粒徑為450 nm以下。
2. 如請求項1之水性懸浮液劑，其中上述糖皮質類固醇化合物為選自丙酸倍氯松、乙酸雙氟拉松、丙酸地塞米松、二氟潑尼酯、糠酸莫米松、戊酸二氟米松、丁酸丙酸倍他米松、乙酸氟輕鬆、丁酸丙酸氫化可體松、貝克每松、丙酸地潑羅酮、戊酸倍他米松、戊酸地塞米松、戊酸乙酸潑尼松龍、氟輕鬆、丁酸氫化可體松、丁酸氯倍他松、丙酸阿氯米松、曲安奈德、氟米松特戊酸酯、潑尼松龍及氫化可體松中之1種以上之物質。
3. 如請求項1之水性懸浮液劑，其進而含有分散穩定劑，且該分散穩定劑為聚氧乙烯聚氧丙二醇及/或聚乙烯醇。
4. 如請求項1之水性懸浮液劑，其進而含有黏度調整劑，且該黏度調整劑為選自甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素及聚乙烯醇中之1種以上之物質。
5. 一種醫藥組合物，其含有如請求項1至4中任一項之水性懸浮液劑。
6. 如請求項5之醫藥組合物，其係眼用局部應用製劑、耳用局部應用製劑、鼻用局部應用製劑或肺用局部應用製劑。
7. 如請求項5之醫藥組合物，其係炎症性疾病或感染性疾病之治療藥或預防藥。
8. 一種用於製備如請求項5之醫藥組合物之套組，其包含藉由將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、甘油、無水檸檬酸與

氫化大豆卵磷脂混合及粉碎而製造之奈米微粒子，且上述奈米微粒子之平均粒徑為300 nm以下，D90粒徑為450 nm以下。

9. 一種製造如請求項5之醫藥組合物之方法，其包括將糖皮質類固醇化合物、生理學上容許之鹽、甘油、無水檸檬酸與氫化大豆卵磷脂進行混合及粉碎之步驟。

圖式

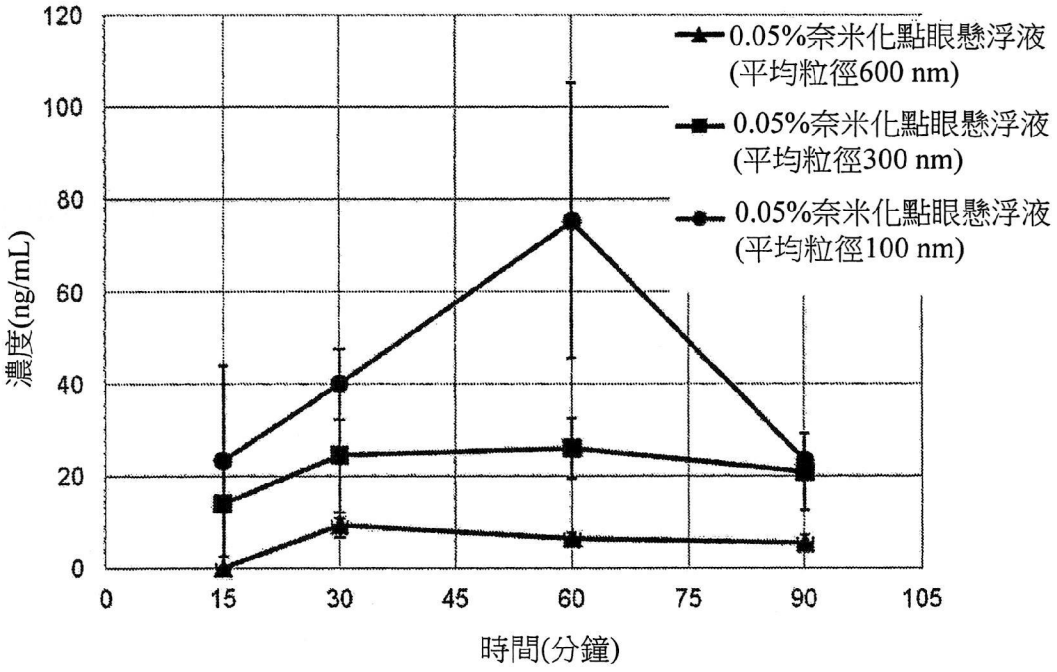
120
100
80
60
40
20
0
濃度(ng/mL)
0
15
30
45
60
75
90
105
時間(分鐘)
0.05%奈米化點眼懸浮液
(平均粒徑600 nm)
0.05%奈米化點眼懸浮液
(平均粒徑300 nm)
0.05%奈米化點眼懸浮液
(平均粒徑100 nm)

圖1

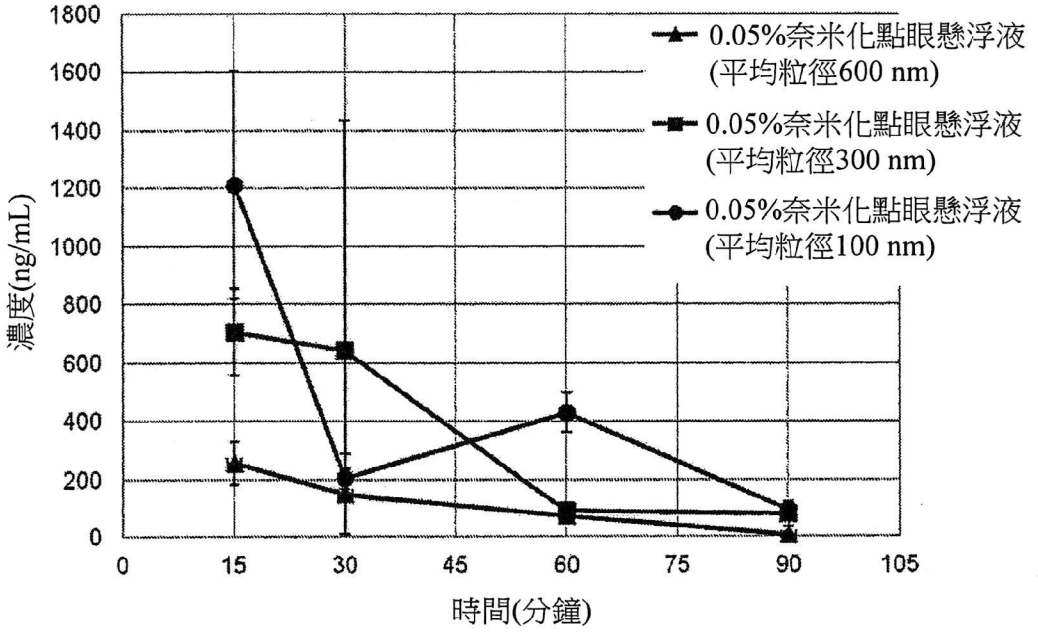
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
濃度(ng/mL)
0
15
30
45
60
75
90
105
時間(分鐘)
0.05%奈米化點眼懸浮液
(平均粒徑600 nm)
0.05%奈米化點眼懸浮液
(平均粒徑300 nm)
0.05%奈米化點眼懸浮液
(平均粒徑100 nm)

圖2

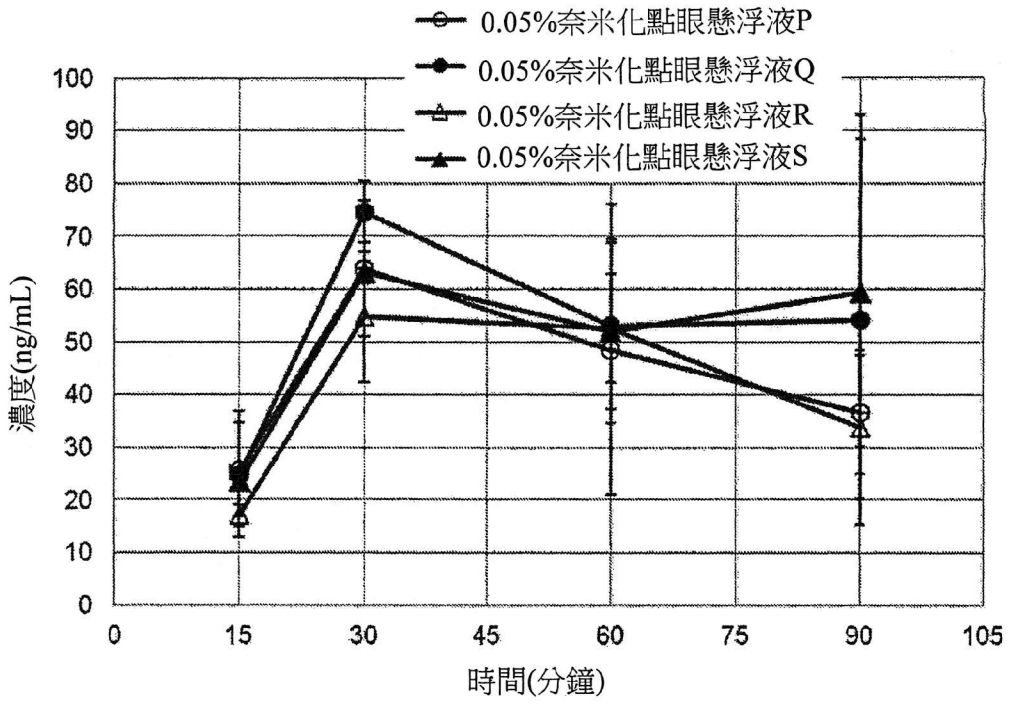
0.05%奈米化點眼懸浮液P
0.05%奈米化點眼懸浮液Q
0.05%奈米化點眼懸浮液R
0.05%奈米化點眼懸浮液S
濃度(ng/mL)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
15
30
45
60
75
90
105
時間(分鐘)

圖3

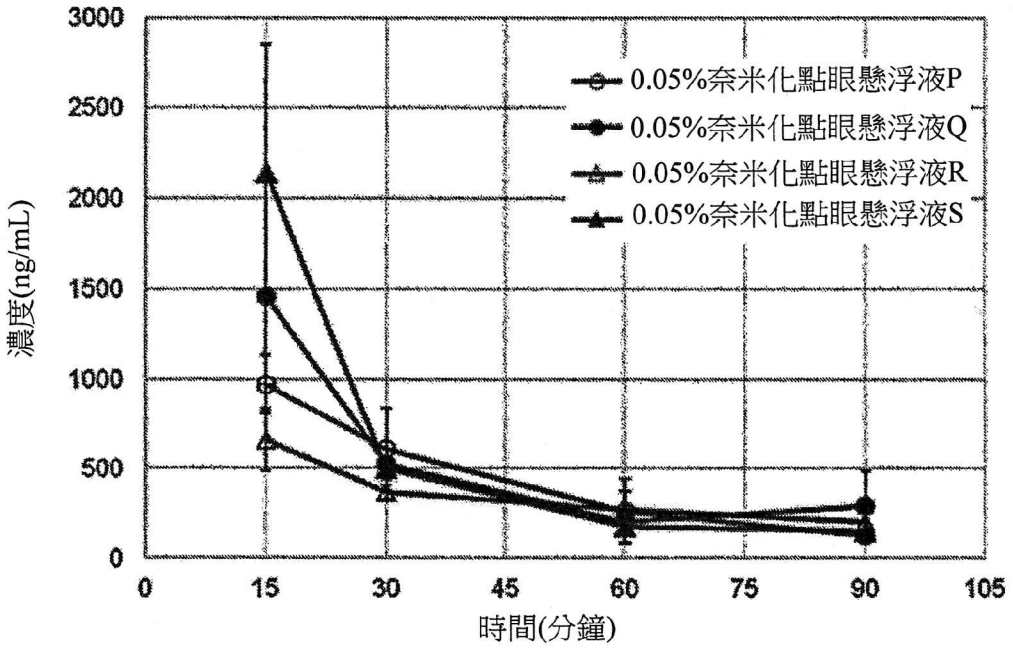
0.05%奈米化點眼懸浮液P
0.05%奈米化點眼懸浮液Q
0.05%奈米化點眼懸浮液R
0.05%奈米化點眼懸浮液S
濃度(ng/mL)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
15
30
45
60
75
90
105
時間(分鐘)

圖4

外眼部之分數(15日後至18日後)

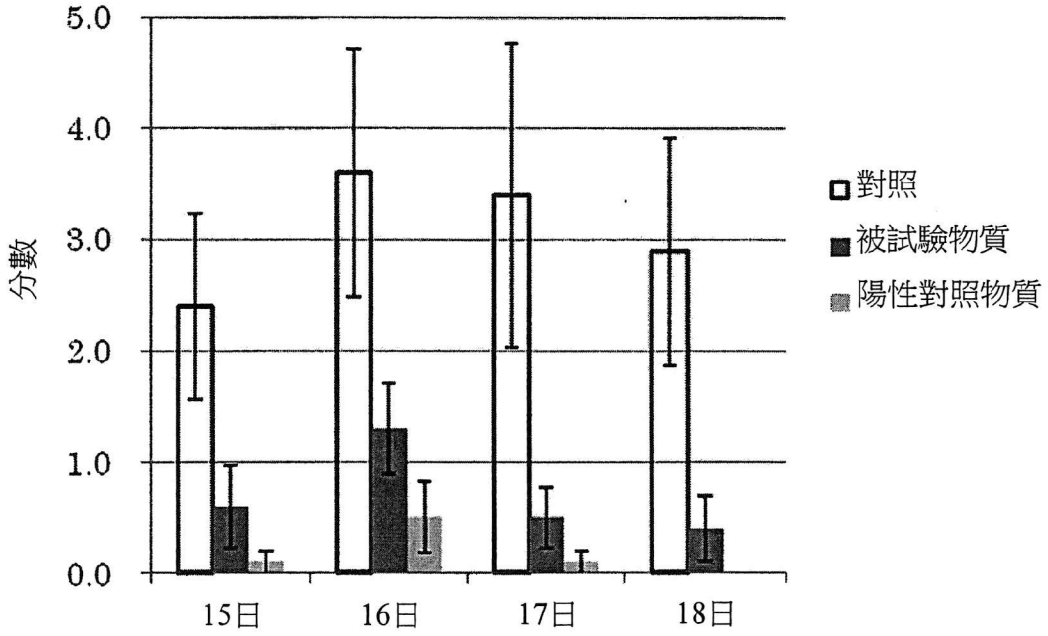

圖5

內眼部之分數(15日後至18日後)

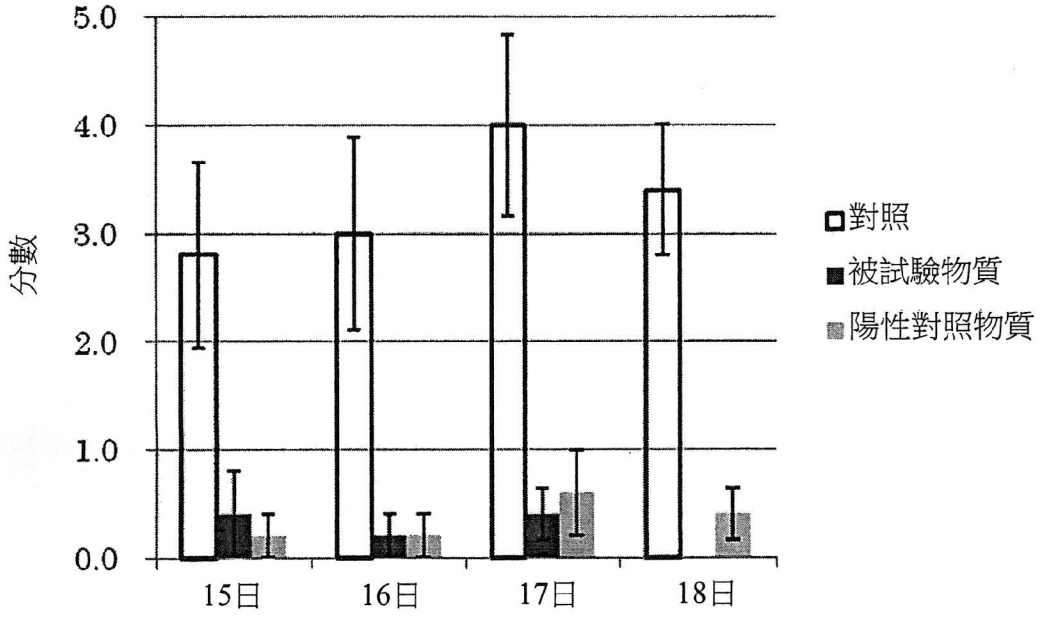

圖6

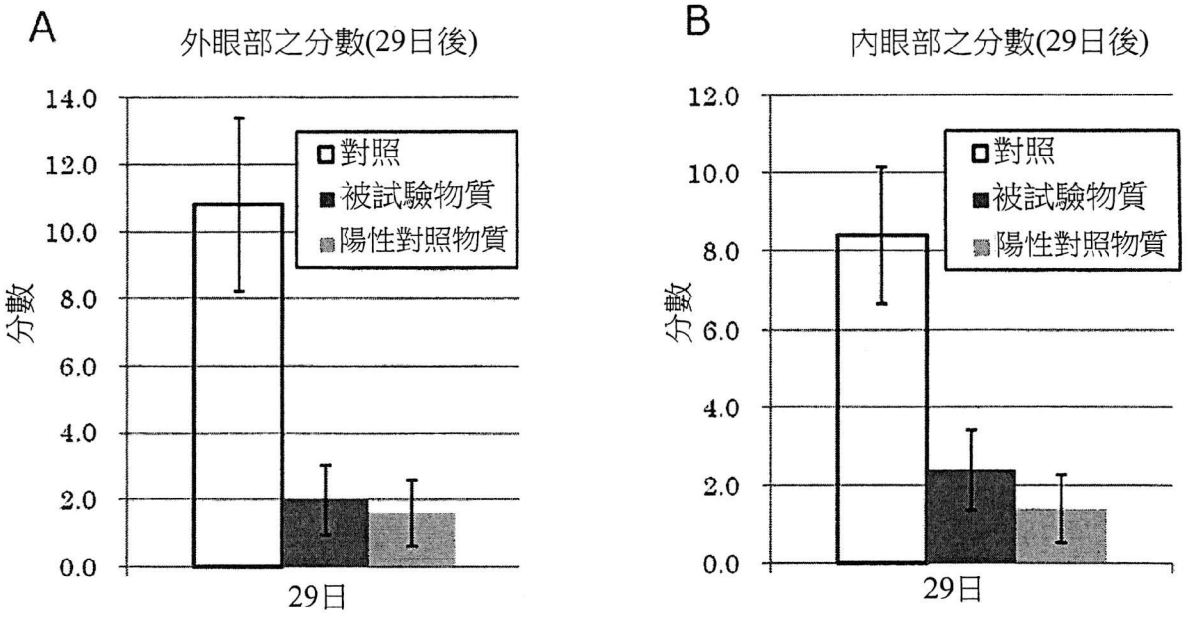
A
外眼部之分數(29日後)
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
分數
對照
被試驗物質
陽性對照物質
29日
B
內眼部之分數(29日後)
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
分數
對照
被試驗物質
陽性對照物質
29日

圖7

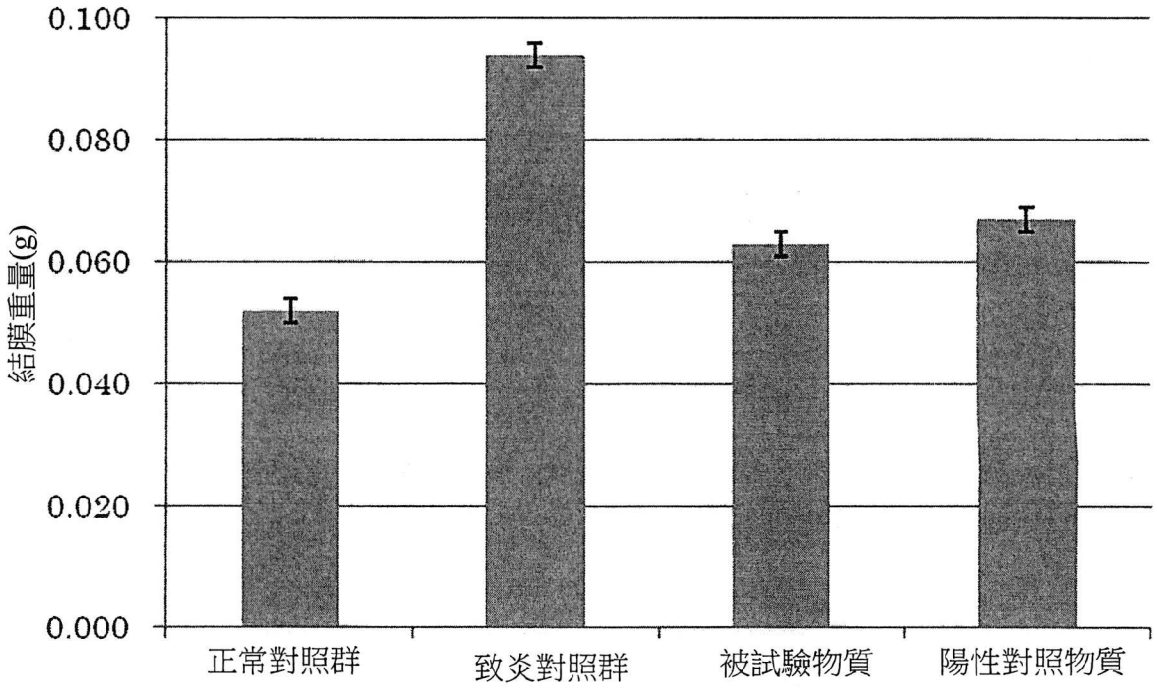
0.100
0.080
0.060
0.040
0.020
0.000
結膜重量(g)
正常對照群
致炎對照群
被試驗物質
陽性對照物質

圖8

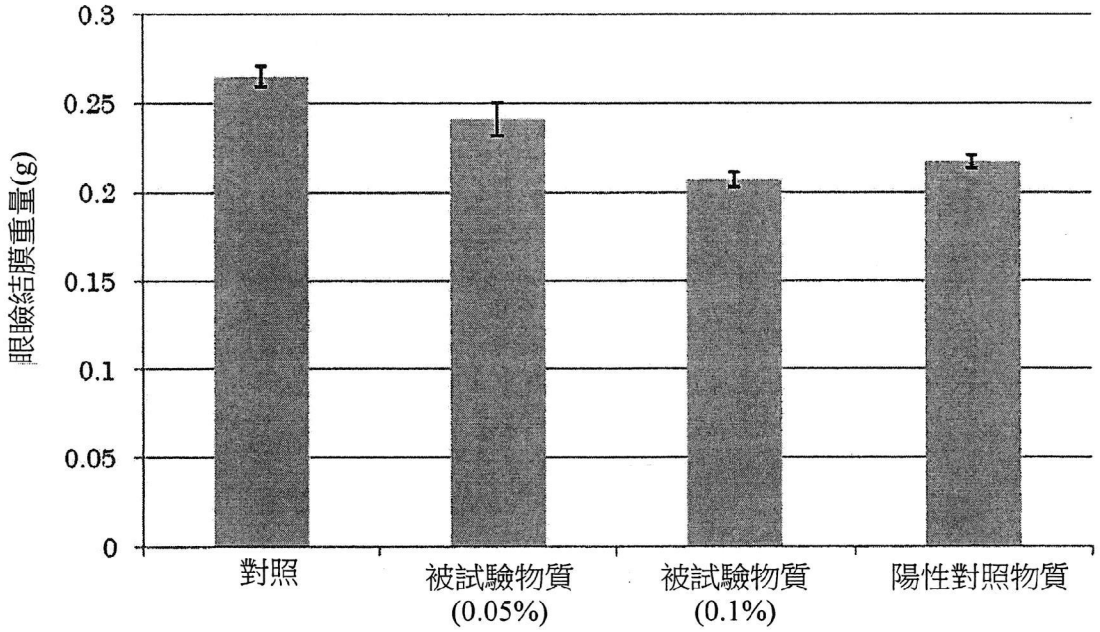
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
眼瞼結膜重量(g)
對照
被試驗物質
(0.05%)
被試驗物質
(0.1%)
陽性對照物質

圖9

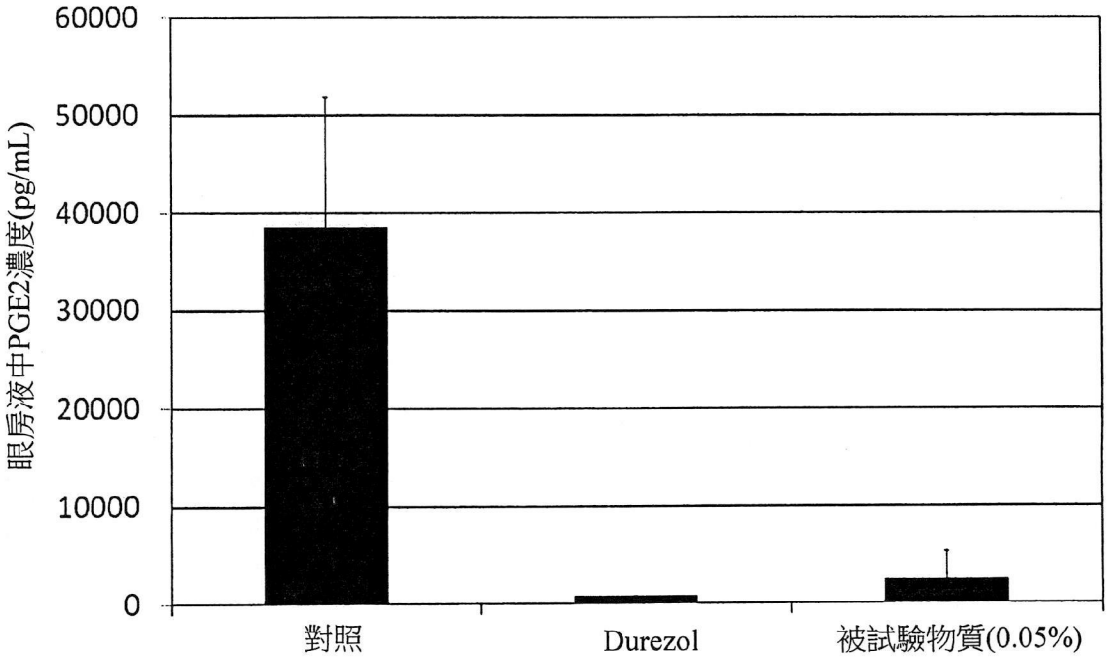
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
眼房液中PGE2濃度(pg/mL)
對照
Durezol
被試驗物質(0.05%)

圖10

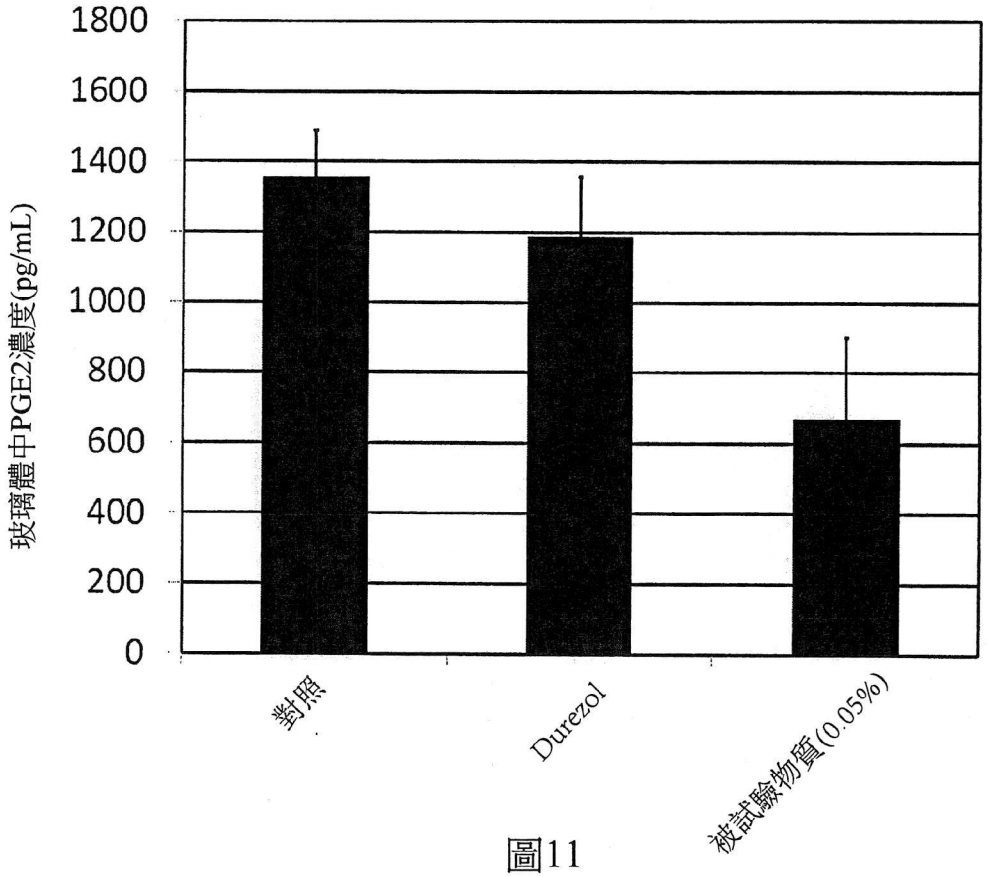
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
玻璃體中PGE2濃度(pg/mL)
對照
Durezol
被試驗物質(0.05%)

圖11

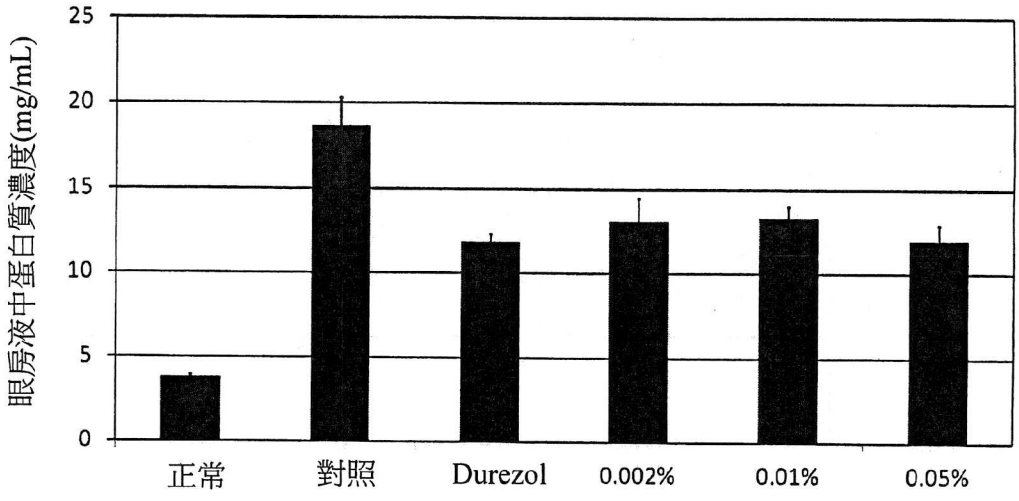
25
20
15
10
5
0
眼房液中蛋白質濃度(mg/mL)
正常
對照
Durezol
0.002%
0.01%
0.05%

圖12

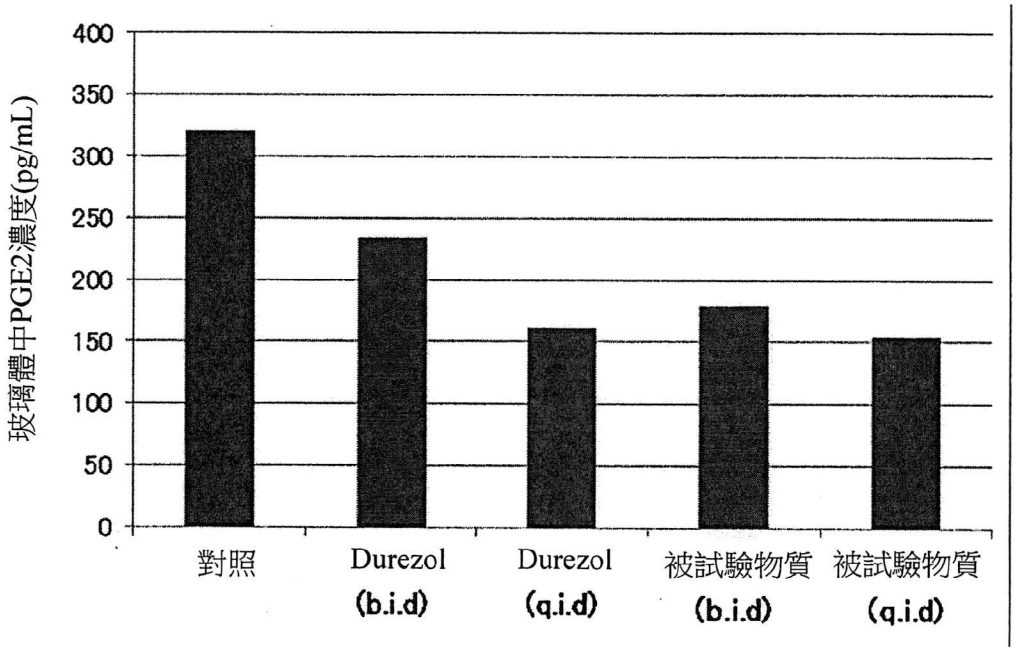
玻璃體中PGE2濃度(pg/mL)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
對照
Durezol (b.i.d)
Durezol (q.i.d)
被試驗物質 (b.i.d)
被試驗物質 (q.i.d)

圖13