



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0098636
(43) 공개일자 2008년11월11일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) Int. Cl. <i>A61K 9/08</i> (2006.01) <i>A61K 31/7048</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2008-7021403</p> <p>(22) 출원일자 2008년09월01일 심사청구일자 없음 번역문제출일자 2008년09월01일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2007/063171 국제출원일자 2007년03월02일</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2007/103782 국제공개일자 2007년09월13일</p> <p>(30) 우선권주장 11/680,893 2007년03월01일 미국(US) 60/779,273 2006년03월02일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인 인스파이어 파마슈티컬스 인코퍼레이티드 미국 노스캐롤라이나주 더람시 슈트 200 엠퍼러 블러바드 4222</p> <p>(72) 발명자 크리시나모르티 라메시 미국 27519 노스 캐롤라이나주 캐리 서우드 포레 스트 플레이스 403 트레비노 레오 에이 미국 27541 노스 캐롤라이나주 허들 밀스 맥키 스 쿨 로드 4301 에반스 리차드 엠 미국 27513 노스 캐롤라이나주 캐리 퀸스페리 로 드 206</p> <p>(74) 대리인 특허법인코리아나</p> |
|--|--|

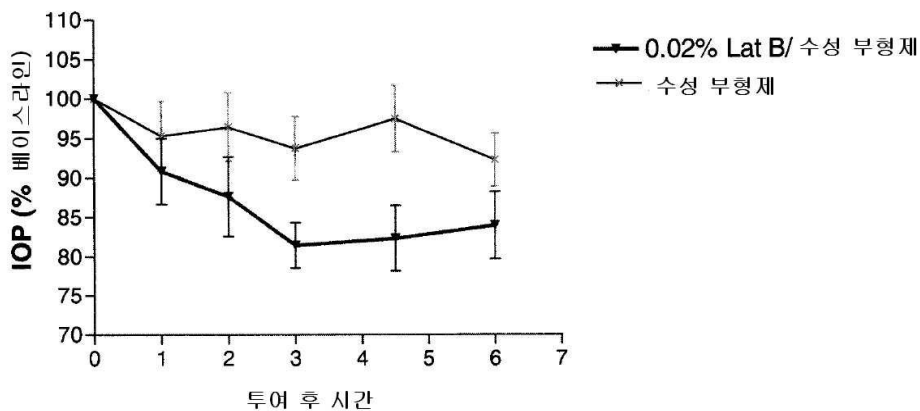
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 약학적 라트룬쿨린 제형물

(57) 요약

본 발명은 하나 이상의 라트룬쿨린을 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이고, 상기 제형물은 상당량의 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는다. 한 구현예에서, 본 발명은 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 0.01 내지 2 % w/v 양의 비이온성 계면활성제, 및 pH 4 내지 8 에서 강직성을 200 내지 400 mOsm/kg 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이고, 여기서 라트룬쿨린, 계면활성제 및 강직성제는 상기 제형물에 혼화성이고, 상기 제형물은 상당량의 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는다. 상기 제형물은 6 개월 이상 동안 냉장 온도에서 안정하다. 본 발명은 또한 안압 감소 방법, 녹내장 치료 방법, 섬유주절제술 후 상처 치유 억제 방법, 및 혈관생성 억제 방법을 제공한다.

대표도 - 도2



특허청구의 범위

청구항 1

0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 0.01 내지 2 % w/v 양의 비이온성 계면활성제, 및 pH 4 내지 8 에서 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물로서, 라트룬쿨린, 계면활성제 및 강직성제가 상기 제형물에 혼화성이고, 상기 제형물이 상당량의 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는 수성 약학적 제형물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 제형물이 0.001 % v/v 초과와 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는 수성 약학적 제형물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 제형물이 임의의 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는 수성 약학적 제형물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 비이온성 계면활성제가 폴리소르베이트, 타일록사폴, 폴리옥실 피마자유, 폴락사머, 폴리에틸렌 글리콜 카르필 트리글리세리드, 폴리옥실 스테아레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 및 이의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 수성 약학적 제형물.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 비이온성 계면활성제가 폴리소르베이트, 폴락사머, 또는 이의 조합인 수성 약학적 제형물.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, pH 를 4 내지 6 으로 유지하는데 적합한 1 내지 100 mM 완충액을 추가로 포함하는 수성 약학적 제형물.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 완충액이 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 시트레이트/포스페이트 완충액, 말레이이트 완충액, 타르타레이트 완충액, 또는 이의 조합인 수성 약학적 제형물.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 킬레이트제 및/또는 방부제를 추가로 포함하는 수성 약학적 제형물.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 강직성제가 비이온성 강직성제인 수성 약학적 제형물.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 상기 비이온성 강직성제가 만니톨 또는 텍스트로스인 수성 약학적 제형물.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형물이 2 내지 8 °C에서 6 개월 이상 동안 안정한 수성 약학적 제형물.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 상기 계면활성제가 0.02 내지 0.25 % w/v 양의 폴락사머이고, 상기 제형물이 추가로 1 내지 10 % v/v 프로필렌 글리콜을 포함하는 수성 약학적 제형물.

청구항 13

0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 5 내지 10 % v/v 에탄올, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kg 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물로서, 상기 제형물의 pH 가 4 내지 8 이고, 상당량의 DMSO 를 함유하지 않는 수성 약학적 제형물.

청구항 14

0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 시클로렉스트린, 방부제, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kg 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물로서, 상기 제형물의 pH 가 4 내지 8 이고, 상당량의 DMSO 를 함유하지 않는 수성 약학적 제형물.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 라트룬쿨린이 라트룬쿨린 A, 라트룬쿨린 B, 데스-메틸 라트룬쿨린 B, 또는 라트룬쿨린 동족체인 수성 약학적 제형물.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 상기 라트룬쿨린이 라트룬쿨린 A, 라트룬쿨린 B, 또는 데스-메틸 라트룬쿨린 B 인 수성 약학적 제형물.

청구항 17

제 15 항에 있어서, 상기 라트룬쿨린이 0.005 내지 0.02 % (w/v) 양인 수성 약학적 제형물.

청구항 18

치료를 필요로 하는 포유류에게 액틴 세포골격을 변경하는데 유효한 양으로 제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 따른 수성 약학적 제형물을 투여하는 단계를 포함하는, 포유류의 안압 감소 방법.

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 마크로시클릭 세포골격 활성 화합물, 예컨대 라트룬쿨린 화합물 및 이의 관련 동족체의 약학적 제형물, 특히 안과적 제형물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 액틴 세포골격의 보전의 변이에 의해 영향받는 질환 또는 장애의 예방 또는 치료, 예를 들어 인간 및 기타 포유류 내 원발성 개방각 녹내장 및 시신경 보호와 같은, 안압이 상승되는 장애의 치료에 이러한 약학적 제형물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

<2> 녹내장은 비가역적 시각 장애로 이르게 하는 안과 질환이다. 이는 미국에서 맹 (blindness) 의 4 번째로 가장 흔한 원인이고, 시력 저하의 2 번째로 가장 흔한 원인이며, 아프리카계 미국인 중에서 비가역적 시력 저하의 가장 흔한 원인이다. 일반적으로, 상기 질환은 시신경 상에 적어도 부분적으로 증가된 안압에서 생성되는 해로운 영향에 의한 진행성 신경장해를 특징으로 한다. 개방각 녹내장은 모든 원발성 녹내장의 약 90 %에 기여하고, 눈으로부터 유체 (안방수, aqueous humor) 배액에 대한 비정상적으로 높은 내성을 특징으로 한다. 정상적인 내성은 시력 보전을 위한 눈의 형상을 유지하는데 충분한 안압을 유지하기 위해 필요하다. 이러한 내성은 섬유주에 의해 제공되고, 복합 조직은 특정 내피 세포, 연결 조직 빔 및 세포밖 매트릭스로 이루어진다. 섬유주의 내성은 통상적으로 안방수가 생성되는 동일한 속도 (2.5 μ l/분) 로 눈을 벗어나는 압력인 안압이 ~16 mmHg 이도록 하는 것이다. 매우 높은 압력 (예, 70 mmHg) 은 단지 수 일 내에 맹을 일으킬 수 있다. P. L. Kaufman 및 T. W. Mittag, "Medical Therapy Of Glaucoma," Ch. 9, Sec. II (pp. 9.7-9.30), in P. L. Kaufman 및 T. W. Mittag (eds.): Glaucoma (Vol. 7 of S. M. Podos 및 M. Yanoff (eds): Textbook of Ophthalmology Series). London, Mosby-Year Book Europe Ltd. (1994); A. C. Guyton, Textbook of Medical Physiology (W. B. Saunders Co., Sixth Ed.), pp. 386-89 (1981) 참조.

<3> 최근, 화학적 종류의 광범위한 스펙트럼에 걸쳐 다수의 치료제를 사용하여 녹내장의 치료 및 상승된 안압의 조

절에 접근한다.

- <4> 대부분 종종 안압을 감소시키는데 사용된 약물 종류는 안방수 형성의 억제 (예. 베타-차단제, α_2 아드레날린 효능제, 탄산 탈수 효소 억제제) 또는 포도막 공막 (uveoscleral) 유출의 증가 (프로스타글란딘 동족체) 에 의존한다. 현재 섬유주에 직접적으로 작용하는 통상적인 용도의 항-녹내장 약물이 존재하지 않는다. 필로카르핀 (pilocarpine) 은 약물-유발 모양 체근 수축의 결과로 그물세공 변형에 기초하여, 섬유주를 통해 2차적으로 내유동성을 감소시키지만, 이의 사용은 매일 3 내지 4 회 투여의 필요 및 국소 부작용, 특히 동공 축소에 의해 제한된다. 에피네프린은 명백히 β_2 아드레날린 수용체-매개 통로를 통해 용이성을 증가시키도록 그물세공 세포에 직접적으로 작용하지만, 수용체-매개 국소 및 전신 부작용, 높은 빈도의 국소 알레르기, 및 반응성에 있어서의 단지 적당한 효능과 환자 내 변이성으로 인해 임상적으로 거의 사용되지 않는다.
- <5> 섬유주절제술은 가장 통상적인 형태의 녹내장 여과 수술이고, 원발성 개방각 녹내장에서 약물학적으로 비조절된 안압의 외과적 감소를 위한 일선의 치료법으로서 존재한다. 이러한 방법은 여과포를 형성하는 결막하의 공간으로 안방수를 배출시키는 각막윤부 누공 (limbal fistula) 를 형성하여 안압을 감소시킨다. 상기 방법의 성공은 상처 치유의 약물학적 조절에 매우 의존한다.
- <6> 녹내장의 외과적 치료에서의 주요 발전은 녹내장 여과 수술 후 흉터를 방지하기 위해 대사길항물질을 사용한 것이다. 여과포의 수술 후 흉터는 현대의 녹내장 여과 수술의 단기간 및 장기간 결과를 결정하는 가장 중요한 인자이다. 대사길항물질 미토마이신 C (MMC) 및 5-플루오로우라실 (5-FU) 은 여과포의 실패 및 흉터를 억제하기 위해 가장 널리 사용된 약제이다. 다수의 과거 연구에서, 종래에 수행된 섬유주절제술은 수술 후 3 개월 이내에 30 % 이하의 실패율을 나타냈다. 이러한 해로운 합병증의 발생을 감소시키기 위해, 여과포의 흉터를 자연적으로 발생하는 것을 방지하기 위한 다양한 방법이 연구되었고, 대부분은 항대사 약물 - 즉, 2 개의 가장 널리 사용된 세포독성제인 5-플루오로우라실 (5-FU) 또는 미토마이신 C (MMC) 의 수술전 또는 수술후 적용으로 처리한다.
- <7> 장기 여과에 대한 이의 명확한 장기간 효과에도 불구하고, 외과적 개안에 대한 세포독성 약물의 적용은 시력 위험 합병증의 동시 증가와 같은 중한 합병증의 발생을 증가시킨다. MMC 및 5-FU 는 중한 후-적용 합병증의 높은 발생을 나타내고; 이의 부작용은 주로 각막 상피에 영향을 주고, 이의 임상적 사용은 환자에게 심한 고통과 불안감으로 인해 제한된다. 환자를 위해 단지 부작용이 최소한이거나 없는 수술후 장기간의 외과적 결과를 충족시키는 것을 달성하기 위한 충분한 방법이 성립되지 않았다.
- <8> U.S. 특허 Nos 6,586,425; 6,110,912; 및 5,798,380 에는 안방수 유출을 증가시키기 위해 눈의 액틴 필라멘트 보전에 작용하는 화합물을 사용하는 녹내장의 치료 방법이 개시되어 있다. 상기 특허에는 또한 구체적으로 섬유주에서 액틴 세포골격의 또는 아래에 있는 막과의 상호작용의 조절을 일으키는, 키나아제 억제제 및 라트룬쿨린-A, 라트룬쿨린-B, 스윈홀리드-A 및 자스플라키놀리드가 개시되어 있다. 세포골격의 동요 (perturbation) 및 관련된 유착은 유체 유동에 대한 섬유주의 내성을 감소시켜 안압을 감소시킨다.
- <9> 라트룬쿨린은 디메틸 설펝시드 (DMSO) 에 용해되지만, 이는 큰 마크로시클릭 화합물인 라트룬쿨린의 매우 친유성인 특성으로 인해, 수용성이 매우 낮다. DMSO 는 인간에 사용하기 위한 안과적 제형물에 허용될 수 없다. 라트룬쿨린-B 는 저장 용액으로서 DMSO 에 통상적으로 용해되고, 장기간 안정성을 위해 -20 °C에서 저장된다 (Okka, 등, Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 102: 251-259 (2004)). 알려진 액체 라트룬쿨린 제형물은 하나 이상의 다음과 같은 문제로 인해 약학적 제형물로 허용될 수 없다: 부형제 또는 보조제로 인한 독성과 같은 원치 않는 부작용, DMSO 의 사용 없이 라트룬쿨린의 저용해도, 및 시간에 걸친 라트룬쿨린 분해로 인한 불량한 안정성.
- <10> 녹내장을 치료하고, 섬유주절제술 후 상처 치유를 조절하며, 액틴 세포골격의 보전에 의해 영향받는 기타 질환 또는 장애를 치료하는데 사용될 수 있는 약학적 제형물에 대한 요구가 존재한다.

발명의 상세한 설명

<11> **발명의 개요**

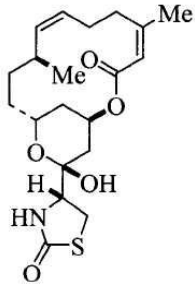
<12> 본 발명은 하나 이상의 라트룬쿨린을 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이고, 상기 제형물은 상당량의 디메틸 설펝시드를 함유하지 않는다. 본 발명은 하나 이상의 라트룬쿨린 및 수성 매질에서 라트룬쿨린의 용해도를 증가시키는 하나 이상의 약제를 포함하는 수성 약학적 제형물을 제공한다. 상기 제형물은 약학적, 특히 안과적 사용을 위한 상당량의 임의의 허용될 수 없는 약제를 함유하지 않는다. 상기 제형물은 치료적 사

용을 위한 충분한 활성을 갖는 라트룬쿨린을 제공하고, 냉장 온도에서 6 개월 이상 동안 안정하다.

- <13> 본 발명은 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 0.01 내지 2 % w/v 양의 비이온성 계면활성제, 및 pH 4 내지 8 에서 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이고, 여기서, 라트룬쿨린, 계면활성제 및 강직성제는 상기 제형물에 혼화성이고, 상기 제형물은 상당량의 디메틸 설펍시드를 함유하지 않는다.
- <14> 한 구현예에서, 수성 약학적 제형물은 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, pH 를 4 내지 6 으로 유지하기에 적합한 1 내지 100 mM 완충액, 0.01 내지 2 % w/v 의 비이온성 계면활성제, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함한다. 바람직한 완충액은 시트레이트 완충액이다. 바람직한 강직성제는 만니톨 및 텍스트로스이다.
- <15> 또 다른 구현예에서, 수성 약학적 제형물은 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 5 내지 10 % 에탄올, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함한다. 상기 제형물은 pH 를 4 내지 8 로 유지하기 위해 1 내지 100 mM 완충액을 임의로 포함한다.
- <16> 또 다른 구현예에서, 수성 약학적 제형물은 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 1 내지 10 % 폴리프로필렌 글리콜, 0.02 내지 0.25 % 폴락사머, 0.1 내지 1 % 폴리소르베이트, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하고, 여기서 제형물의 pH 는 4 내지 8 이다.
- <17> 또 다른 구현예에서, 수성 약학적 제형물은 0.001 내지 2 % 라트룬쿨린, 시클로텍스트린, 0.01 내지 0.5 % 방부제, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하고, 여기서 제형물의 pH 는 4 내지 8 이다.
- <18> 본 발명은 안압 감소 방법, 녹내장 치료 방법, 섬유주절제술 후 상처 치유 억제 방법, 및 혈관생성 억제 방법을 제공한다. 상기 방법은 치료를 필요로 하는 대상체에게, 예를 들어 액틴 중합을 억제함으로써 액틴 세포골격을 변경하는데 유효한 양으로 본 발명의 수성 약학적 제형물을 투여하는 단계를 포함한다.
- <19> **발명의 상세한 설명**
- <20> 열거되지 않는 한, 본 명세서에서 % 양은 % (w/v) 를 칭한다.
- <21> 본 발명자는 DMSO 의 사용을 필요로 하지 않는 수성 라트룬쿨린 제형물을 발견하였다. 본 발명자는 실온 및 냉장 온도에서 충분한 시간 동안 안정한 비-DMSO 수성 라트룬쿨린 제형물을 발견하였다. 본 발명자는 액틴 필라멘트의 중합을 억제함으로써 녹내장과 같은 특정 상태의 치료에 유용한 수성 라트룬쿨린 제형물을 발견하였다. 본 발명자는 눈에 사용하기 위한 적절하게 내성이 있는 수성 라트룬쿨린 제형물을 발견하였다.
- <22> 본 발명은 마크로시클릭 화합물, 특히 라트룬쿨린 및 라트룬쿨린 동족체를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이다. 본 발명은 수성 매질에서 라트룬쿨린의 용해도를 증가시키는 하나 이상의 약제를 포함하는 제형물을 제공한다. 상기 제형물은 약학적, 특히 안과적 사용을 위한 상당량의 허용될 수 없는 약제를 함유하지 않는다. 본 발명은 라트룬쿨린의 안정한 수성 제형물을 제공하고; 상기 제형물은 치료적 사용에 적합하고, 연장된 시간 동안 통상적인 사용 저장 조건 하에서 안정하다.
- <23> 본 발명의 수성 약학적 제형물은 메탄올 및 디메틸설펍시드와 같은 보조제를 부적절하게 용해시키는 사용을 제외하고, 이는 장기간 동안 인간 또는 포유류에서 사용되는 경우, 독물학적 결과 및 조직 손상을 일으킬 수 있다. 이러한 약학적 제형물은 충분한 농도로 수용액에 라트룬쿨린을 함유하고, 포유류에서 안압을 감소시키는 약리학적 효과를 나타낸다. 국소 투여에서, 1 내지 2 방울의 이러한 제형물은 당업자의 통상 결정에 따라 1 일 당 1 내지 4 회 안구 표면으로 전달된다. 이러한 수성 약학적 제형물은 비-자극성이고, 눈에 허용될 수 있고, 다수의 점적 주입에 적합하다.
- <24> 라트룬쿨린은 세포골격 활성 마크롤라이드이다. 라트룬쿨린은 액틴 필라멘트의 분해를 일으키는 단량체성 G-액틴을 격리시키는, 특정하고 잠재적인 액틴-분열제이다. 천연 라트룬쿨린은 라트룬쿨리아 마그니피카 (*Latrunculia magnifica*), 네곰바타 마그니피카 (*Negombata magnifica*), 및 스폰지아 마이코피지엔시스 (*Spongia mycofijiensis*) 와 같은 해양 해면동물, 및 갯민숭달팽이 (*nudibranche*), 예를 들어 크로모도리스 로치 (*Chromodoris lochi*) 로부터 분리된다. 라트룬쿨린 동족체는 합성 방법 ([A.B. Smith III 등, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 2995-3007]; [J.D. White 및 M. Kawasaki, *J Org. Chem.* 1992, 57, 5292-5300]; [A. Fuerstner 등, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 5358- 5380]) 에 의해 제조될 수 있다.

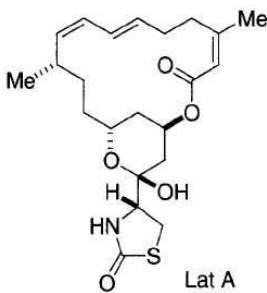
<25> 본 명세서에서 사용된 바와 같은 라트룬쿨린은 천연 라트룬쿨린 및 라트룬쿨린 동족체를 칭한다. 본 발명의 바람직한 라트룬쿨린은 라트룬쿨린 B, 라트룬쿨린 A, 데스-메틸 라트룬쿨린 B, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 호변체, 용매화물, 또는 수화물이다.

<26> 라트룬쿨린 B



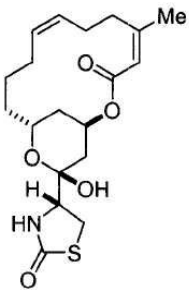
<27>

<28> 라트룬쿨린 A



<29>

<30> 데스-메틸 라트룬쿨린 B



<31>

<32> 본 명세서에서 사용된 바와 같은 라트룬쿨린 동족체는 [D. Blasberger 등, Liebigs Ann. Chem. 1171-1188 (1989)]; [Fuerstner 등, PNAS, 102: 8103-8108 (2005)]; 및 U.S. 특허 출원 US2006-0217427 에 기재된 바와 같이, 구조가 천연 라트룬쿨린의 구조와 유사한 합성 화합물을 칭하고, 상기의 내용은 참고로서 본원에 포함된다.

<33> 본 발명은 하나 이상의 라트룬쿨린을 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이고, 상기 제형물은 상당량의 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는다. 본원에서 사용된 바와 같이, "상당량"은 0.1 % 초과, 바람직하게는 0.01 % 초과, 더욱 바람직하게는 0.001 % 초과를 칭한다. 본 발명의 수성 약학적 제형물은 0.1 % 초과, 바람직하게는 0.01 % 초과, 더욱 바람직하게는 0.001 % v/v 초과, DMSO 를 함유하지 않는다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 수성 약학적 제형물은 임의의 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는다.

<34> 본 발명은 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이고, 여기서, 상기 제형물의 pH 는 4 내지 9 이고, 상기 제형물은 상당량의 디메틸 설폭시드를 함유하지 않는다. 상기 약학적 제형물이 안과적으로 사용되는 경우, 제형물의 pH 는 바람직하게는 4 내지 8 이고, 강직성은 바람직하게는 220 내지 380 mOsm/kG 이다.

<35> 본 발명은 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, pH 를 4 내지 8, 바람직하게는 4 내지 6 으로 유지하기에 적합한 1 내지 100 mM 의 완충액, 0.01 내지 2 % w/v 의 비이온성 계면활성제, 및 강직성을 200 내지

400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이다. 이러한 약학적 제형물은 상당량의 DMSO 를 함유하지 않고, 바람직하게는 5 % (v/v) 이하의 에탄올, 더욱 바람직하게는 2 % 이하, 1 % 이하의 에탄올을 함유한다.

- <36> 본 제형물의 성분이 서로 혼화성임은 중요하다. 본원에서 사용된 바와 같은 혼화성은 물리적 혼화성 및 화학적 혼화성을 칭한다. 물리적 혼화성은 성분들이 침전물 또는 코아세르베이트 (coacervate) 를 형성하지 않고, 상분리, 앙금 또는 변색을 일으키지 않는 것을 의미한다. 화학적 혼화성은 성분들이 라트룬쿨린의 분해를 일으키지 않거나 라트룬쿨린의 생물학적 활성을 비활성화시키는 것을 의미한다.
- <37> 본 발명에 적합한 계면활성제 (표면 활성제) 는 비이온성 또는 이온성일 수 있다. 그러나, 이온성 계면활성제는 그리 바람직하지 않다. 양이온성제, 특히 양이온성 계면활성제의 장기간 사용은 각막 상피 손상을 일으키는 것으로 잘 알려져 있다. 음이온성 계면활성제는 종종 본 제형물의 다른 성분과 비혼화성이다.
- <38> 본 발명에 바람직한 계면활성제는 비이온성이다. 적합한 비이온성 계면활성제에는, 제한되는 것은 아니지만, 폴리소르베이트 80, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 20, 타일록사폴, 폴리옥실 스테아레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 폴리옥실 피마자유, 폴리에틸렌 글리콜 카프릴 트리글리세리드, 및 폴록사머가 포함된다. 바람직한 비이온성 계면활성제는 폴리소르베이트 및 폴록사머이다. 이러한 계면활성제는 히드록실기를 함유하는 유기 화합물의 비이온성 알칼리 옥시드 축합물이다. 비이온성 계면활성제는 라트룬쿨린의 용해도를 증가시킨다. 비이온성 계면활성제는 종종 미셀 (micellar) 환경에서 라트룬쿨린 분자를 잡고 있으므로 화학 분해로부터 라트룬쿨린 분자를 보호하고, 이는 물리적 및 화학적 안정성을 향상시킨다. 제형물 중 계면활성제(들)의 농도는 약 0.01 내지 2 %, 바람직하게는 0.05 내지 1.5 %, 더욱 바람직하게는 0.1 내지 1 % (w/v) 이다. 계면활성제의 적절한 농도는 계면활성제의 존재 하에서 라트룬쿨린의 용해도에 의해, 수반하는 방부제에 대한 살균 효과의 중성화에 의해, 및/또는 인간에게 염증을 일으킬 수 있는 농도에 의해 결정된다. 비이온성 계면활성제의 존재 하에서 제조된 약학적 제형물은 라트룬쿨린의 용해도를 절충하지 않고 4 내지 8 의 표적 pH 로 조정될 수 있다.
- <39> 비이온성 계면활성제가 라트룬쿨린 제형물에 모두 적합한 것은 아닌데, 이는 라트룬쿨린 또는 제형물 중 다른 성분과 비혼화성이거나, 인간에 사용하는데 부적합하기 때문이다. 예를 들어, 소르비탄 모노스테아레이트, 소르비탄 트리올레에이트, 소르비탄 모노올레에이트, 폴리에틸렌 글리콜 글리세릴 코코에이트 및 올레트류의 계면활성제와 같은 비이온성 계면활성제는 라트룬쿨린 제형물과 혼화성이 아닌데, 이는 제형물 중 다른 성분과 혼합될 때, 이러한 계면활성제가 투명 용액을 형성하지 않고, 코아세르베이트 및/또는 침전물을 형성하기 때문이다. 또한, 비이온성 계면활성제 TRITON[®] (폴리옥시에틸렌 옥틸 페닐 에테르) 는 인간에 사용하는데 적합하지 않다.
- <40> 수성 제형물 중 라트룬쿨린(들)의 농도는 통상적으로 0.001 내지 2 %, 바람직하게는 0.005 내지 0.2 %, 더욱 바람직하게는 0.005 내지 0.1 %, 더욱 바람직하게는 0.005 내지 0.02 % (w/v) 이다.
- <41> pH 를 4 내지 8 로 유지하는데 적합한 완충액에는 포스페이트, 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 말레에이트 완충액, 타르타레이트 완충액 또는 이의 조합이 포함된다. 포스페이트 완충액 또는 시트레이트 완충액이 바람직하다. 장기간 안정성을 위해, 제형물은 4 내지 6 의 pH 를 가지는 것이 바람직하다. pH 를 4 내지 6 으로 유지하는데 적합한 완충액에는 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 시트레이트/포스페이트 완충액, 말레에이트 완충액, 타르타레이트 완충액 또는 이의 조합이 포함된다. 상기 완충액의 적합한 농도는 1 내지 100 mM, 바람직하게는 5 내지 50 mM, 더욱 바람직하게는 5 내지 25 mM, 가장 바람직하게는 10 내지 20 mM 이다.
- <42> 강직성제는 강직성을 200 내지 400, 바람직하게는 220 내지 380, 더욱 바람직하게는 250 내지 340 mOsm/kG 로 달성하기 위한 양으로 존재한다. 강직성제는 비이온성 또는 이온성일 수 있다. 비이온성 강직성제가 바람직한데, 이는 종종 이온성 강직성제보다 계면활성제와 더욱 혼화성이기 때문이다. 비이온성 강직성제에는 글리세롤, 만니톨, 에리트ρί톨과 같은 디올; 및 텍스트로스과 같은 당이 포함된다. 또한 공용매로서 작용하는, 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜과 같은 기타 비이온성 강직성제가 또한 사용될 수 있다. 비이온성 강직성제는 통상적으로 2 내지 20 %, 바람직하게는 3 내지 10 %, 더욱 바람직하게는 3.5 내지 5 % (w/v) 이다. 바람직한 비이온성제는 2 내지 6 % 양의 만니톨 및 텍스트로스이다.
- <43> 강직성제는 또한 이온성제, 예컨대 염화나트륨, 염화칼륨, 또는 평형 염 용액일 수 있다. 이온성 강직성제는 0.5 내지 0.9 %, 바람직하게는 0.6 내지 0.9 % (w/v) 로 존재할 수 있다.

- <44> 계면활성제, 강직성제, 공용매, 및 제형물에 도입된 임의의 기타 성분은 물에 대한 용해도가 양호해야 하고, 다른 성분과 혼화성을 가져야 하며, 제형물의 최종 점도에 대한 경한 효과를 가져야 한다. 상기 제형물은 전형적인 안과 점적기 병을 사용하여 국소 점적으로서 전달될 수 있고 여과-살균성이도록 하는 적절한 최종 점도를 가져야 한다. 상기 제형물은 바람직하게는 임의의 침전물이 없는 투명 용액이다.
- <45> 본 발명의 약학적 제형물은 임의로 킬레이트제를 포함한다. 킬레이트제는 금속 이온과 수 개의 배위 결합을 형성할 수 있는 물질이다. 킬레이트제는 수성계에서 금속 이온을 조절하는 광범위한 결합제 (sequestrant) 를 제공한다. 다가 금속 이온과 안정한 수용성 착물을 형성함으로써, 킬레이트제는 금속 이온의 통상적인 반응성을 방해하여 원하지 않는 상호작용을 방지한다. 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 및 N,N-비스(카르복시메틸)글리신 (NTA) 은 본 발명에 대한 킬레이트제의 예이다. EDTA (에틸렌디아민 테트라아세테이트) 가 바람직한 킬레이트제이다.
- <46> 다수의 국가에서 건강 규제에는 다중-투여 안과적 제제가 방부제를 포함하는 것이 요구된다. 일부 다른 안과적 제제에서 사용되고 있는 다수의 잘 알려진 방부제는 본 발명에서 사용될 수 없는데, 이는 이러한 방부제가 반복되는 눈에 사용되는 것에 안전하다고 고려되지 않거나 본원에서 사용된 계면활성제와 상호작용하여 방부제의 살균 활성을 감소시키는 착물을 형성하기 때문이다. 한 구현예에서, 염화벤즈알코늄은 안전한 방부제로서 사용되고; 바람직하게는 염화벤즈알코늄은 EDTA 와 사용된다. 다른 적절한 방부제에는 벤질 알코올, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 티메로살, 클로로부탄올, 및 벤제토늄 클로라이드가 포함된다. 통상적으로, 이러한 방부제는 0.001 내지 1 %, 바람직하게는 0.01 내지 0.25 %, 가장 바람직하게는 0.05 내지 0.2 % (w/v) 의 수준으로 사용된다.
- <47> 한 구현예에서, 약학적 제형물은 0.5 내지 0.9 % 이온성 강직성 변경제, 예컨대 염화나트륨을 포함하고; 상기 제형물은 1 내지 100 mM 의 부가적인 완충제 (예컨대 인산나트륨 및/또는 시트르산나트륨 및 시트르산), 0.01 내지 2 % 범위의 비이온성 계면활성제, 0.005 내지 0.5 % w/v 범위의 킬레이트제, 및 pH 조절제를 포함한다. 이러한 수성 조성물은 강직성이 250 내지 350 mOsm/kg 이고, pH 4 내지 6 에서 제형화된다.
- <48> 한 구현예에서, 약학적 제형물은 4 내지 5 %의 만니톨과 같은 비이온성 강직성제를 포함하고; 상기 제형물은 5 내지 50 mM 범위의 완충제 (예컨대 인산나트륨 및/또는 시트르산나트륨 및 시트르산), 0.01 내지 2 % 범위의 계면활성제, 0.005 내지 0.5 % w/v 범위의 킬레이트제, 및 pH 조절제를 포함한다. 이러한 수성 조성물은 강직성이 250 내지 350 mOsm/kg 이고, pH 4 내지 6 에서 제형화된다. 상기 제형물은 임의로 0.001 내지 0.1 % w/v 범위의 방부제를 포함한다.
- <49> 한 구현예에서, 약학적 제형물은 0.001 내지 2 % w/v 의 라트룬쿨린, 0.1 내지 2 %의 폴리소르베이트 80, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kg 로 유지하기 위한 강직성제를 포함한다. 상기 제형물은 임의로 pH 를 4 내지 6 으로 유지하기 위한 1 내지 100 mM 의 완충액을 포함한다. 적합한 완충액에는 포스페이트, 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 말레에이트 완충액, 타르타레이트 완충액 또는 이의 조합이 포함된다. 포스페이트 또는 시트레이트 완충액이 바람직하다.
- <50> 본 발명은 또한 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 5 내지 25 % 의 에탄올 (v/v), 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kg 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이다. 안과적 적용에서, 에탄올 농도는 5 내지 10 % 가 바람직하다. 상기 제형물은 임의로 pH 를 4 내지 8 로 유지하기 위한 1 내지 100 mM 의 완충액을 포함한다. 적합한 완충액에는 포스페이트, 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 말레에이트 완충액, 타르타레이트 완충액 또는 이의 조합이 포함된다. 포스페이트 완충액 또는 시트레이트 완충액이 바람직하다. 상기 제형물은 상당량의 DMSO 를 함유하지 않는다. 한 구현예에서, 상기 제형물은 0.005 내지 0.02 % 라트룬쿨린, 5 내지 10 % 에탄올, 및 0.5 내지 0.9 % 염화나트륨을 포함한다.
- <51> 본 발명은 또한 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 1 내지 10 % (v/v) 프로필렌 글리콜, 0.02 내지 0.25 % (w/v) 폴락사머, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kg 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이다. 상기 제형물은 임의로 pH 를 4 내지 8 로 유지하기 위한 1 내지 100 mM 의 완충액, 및/또는 0.1 내지 1 % 의 계면활성제, 예컨대 폴리소르베이트 80 을 포함한다. 적절한 완충액에는 포스페이트, 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 말레에이트 완충액, 타르타레이트 완충액 또는 이의 조합이 포함된다. 포스페이트 완충액 또는 시트레이트 완충액이 바람직하다. 상기 제형물은 임의의 DMSO 를 함유하지 않는다.
- <52> 본 발명은 또한 0.001 내지 2 % w/v 양의 하나 이상의 라트룬쿨린, 0.005 내지 5 %, 바람직하게는 0.01 내지 2

% w/v 양의 시클로텍스트린, 0.01 내지 0.5 % w/v 양의 염화벤즈알코늄과 같은 방부제, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 강직성제를 포함하는 수성 약학적 제형물에 관한 것이다. 라트룬쿨린과 착물을 형성하고 라트룬쿨린의 수용성을 증가시키는 시클로텍스트린은 본 발명에 적합하다. 예를 들어, 0.01 내지 2 % 의 히드록시프로필-베타 시클로텍스트린 또는 0.01 내지 1 % 의 히드록시프로필-베타 시클로텍스트린의 실포부틸화 에스테르는 수성 제형물에 포함된다. 상기 제형물은 임의로 pH 를 4 내지 8 로 유지하기 위한 1 내지 100 mM 의 완충액을 포함한다. 적합한 완충액에는 포스페이트, 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 말레에이트 완충액, 타르타레이트 완충액 또는 이의 조합이 포함된다. 포스페이트 또는 시트레이트 완충액이 바람직하다. 상기 제형물은 상당량의 DMSO 를 함유하지 않는다. 상기 제형물은 임의로 TWEEN[®] (폴리소르베이트)-20, TWEEN[®] (폴리소르베이트)-40, TWEEN[®] (폴리소르베이트)-60, Span (소르비탄 모노올레에이트)-20, Span (소르비탄 모노올레에이트)-40, 타일록사폴, 폴리비닐 피롤리돈, 및 폴리비닐 알코올과 같은 계면활성제를 포함한다.

- <53> 본 발명은 또한 마이크로에멀전 또는 희석 에멀전을 포함하는 에멀전에 관한 것이고, 여기서 라트룬쿨린은 보조제와 제형화되어, 물리적 및 화학적으로 안정한, 균일하고 재현가능하고 강한 약학적 제형물을 형성한다. 적합한 보조제에는 계면활성제, 에멀전화제, 및 약학적으로 허용가능한 적합한 식물유 또는 합성유가 포함된다. 상기 에멀전은 4 내지 8, 바람직하게는 4 내지 7, 더욱 바람직하게는 4 내지 6 의 pH 에서 수용액에서 제형화된다. 상기 제형물은 임의로 pH 를 4 내지 8 로 유지하기 위한 1 내지 100 mM 의 완충액을 포함한다. 적합한 완충액에는 포스페이트, 시트레이트 완충액, 아세테이트 완충액, 말레에이트 완충액, 타르타레이트 완충액 또는 이의 조합이 포함된다. 포스페이트 또는 시트레이트 완충액이 바람직하다. 상기 제형물은 상당량의 DMSO 를 함유하지 않는다. 상기 에멀전은 임의로 적합한 방부제 및 하나 이상의 항산화제를 함유한다. 이러한 에멀전은 제한되는 것은 아니지만, 고전단 균질화, 초음파, 고압 균질화, 기계적 교반 후 고압 에멀전화, 또는 미세유동화 또는 유체-유체 상호작용과 같은 기술을 포함하는 통상적인 에멀전화 기술을 사용하여 제조될 수 있다.
- <54> 한 구현예에서, 에멀전 제형물은 0.001 내지 2 % 라트룬쿨린, 1 내지 10 % 피마자유 또는 10 내지 20 % 광유, 1 내지 5 % 카보머 (carbomer) 또는 1 내지 10 % 세틸 알코올, 0.1 내지 1 % 폴리소르베이트 80, 0.1 내지 1 % 글리세릴 모노스테아레이트 또는 0.1 내지 2 % 폴리옥실 스테아레이트, 및 강직성을 200 내지 400 mOsm/kG 로 유지하기 위한 글리세린 또는 프로필렌 글리콜과 같은 강직성제를 포함하고; 상기 제형물의 pH 는 4 내지 7 이다.
- <55> 본 발명의 약학적 제형물은 냉장 저장 온도 하에서 3 개월 이상, 바람직하게는 6 개월 이상, 더욱 바람직하게는 12 개월 이상 동안 안정하다. 본원에서 사용된 바와 같은 안정함은 70 % 이상, 바람직하게는 80 % 이상, 더욱 바람직하게는 90 % 이상의, 분해 없이 완전하게 잔류하는 라트룬쿨린 분자를 칭한다.
- <56> 본 발명의 약학적 제형물은 냉장 온도 또는 실온에서 저장에 적합하지만, 라트룬쿨린 분자의 비-균질성 및 제형물의 방부 효과의 변화가 나타나기 때문에, 동결해지 사이클에 적용될 때는 안정하지 않다.
- <57> 본 발명의 약학적 제형물은 무균 기술에 의해 제조되거나 최종적으로 멸균된다. 제조에 사용된 모든 물질의 순도는 90 % 를 초과한다. 본 발명의 용액은 라트룬쿨린, 완충액, 강직성 변경제, 계면활성제, 킬레이트제; 임의로, 비이온성 중합체, 착제, 용해제, 방부제 및 항산화제를 완전히 혼합하여 제조된다.
- <58> 약학적 제형물은 바람직하게는 0.22 마이크로 공칭 포어 (pore) 크기의 멸균 급 필터를 통해 제형물을 여과시킴으로써 멸균될 수 있다. 약학적 제형물은 또한 제한되는 것은 아니지만, 열처리 또는 방사능 멸균 처리를 포함하는 하나 이상의 멸균 기술을 사용하거나 멸균 제형물을 제조하기 위한 펄스 광을 사용하여 최종적 멸균에 의해 멸균될 수 있다.
- <59> 한 구현예에서, 본 발명의 약학적 제형물은 안과적 제제의 형태로 눈에 부분적으로 (예. 국소적으로, 전방적으로, 또는 이식을 통해) 투여된다. 상기 약학적 제형물은 안과적으로 허용될 수 있는 점도 증진제 또는 침투 증진제와 혼합되어 안과적 현탁액 또는 용액을 형성할 수 있다. 상기 약학적 제형물은 추가의 희석 또는 임의의 기타 촉진 없이 사용될 수 있다.
- <60> 녹내장은 비가역적 시력 손상에 이르게 하는 안과 질환이다. 개방각 녹내장은 눈으로부터 유체 (안방수) 배출에 대한 비정상적으로 높은 내성을 특징으로 한다. 섬유주의 세포 간의 유착은 유동에 대한 내성의 주요 결정 인자이다. 본 발명의 약학적 제형물은 주로 막과의 상호작용의 조절 또는 관련 세포골격 구조의 붕괴를 통해 세포 유착의 일시적인 약리학적 동요를 일으킨다. 이러한 유착의 동요는 유체 유동에 대한 섬유주

의 내성을 감소시켜, 치료학적으로 유용한 방식으로 안압을 감소시킨다.

- <61> 본 발명의 약학적 제형물은 섬유주절제술 후 상처 치유의 조절에 유용하다. 약학적 제형물은 일반적으로 5-플루오로우라실 또는 미토마이신 C 와 같은 대사길항물질보다 각막 내피 세포에 대한 독성이 적다. 상기 약학적 제형물은 액틴 마이크로필라멘트계의 퇴화 및 이의 막 앵커리지 (membrane anchorage) 의 동요에 이르게 하는, 악토마이오신-유도 수축성을 억제하고, 이는 세포-세포밖 매트릭스 유착을 약하게 한다. 이러한 특성은 상처 치유를 억제시켜, 수술 후 수포 실패를 감소시킨다.
- <62> 혈관생성은 기존의 혈관으로부터 신생 혈관계의 발생을 특징으로 하고, 배발생, 상처 치유 및 여성 생식 기능과 같은 생리학적 과정, 및 암, 류머티즘성 관절염 및 당뇨병성 망막증을 포함한 병태생리학적 상태에서 중요한 역할을 한다. 종양의 성장 및 전이는 결정적으로 혈관생성에 의존한다. 혈관생성은 내피 세포 (EC) 세포 골격을 이동, 증식 및 차단 안정화시키는 것을 포함하는 다단계 과정이다. 본 출원인은 세포골격과 아포프토시스 (apoptosis) 간의 상호작용이 신생 혈관 형성이 발생하는 세포내 경로에 관련한다고 알고 있다. 본 발명의 약학적 제형물은 혈관생성을 억제하고 종양을 치료하는데 유용하다.
- <63> 세포분열 저해 약물은 세포골격 보전이 이러한 기능에 중요하다는 것을 강하게 나타내는, 항이노 반응을 방해한다. 상피 수송을 조절함에 있어서 세포골격의 이러한 역할은 입자 덩어리를 함유하는 수로 (water channel) 의 자리옮김 및 침착에 이의 전달에서 필요한 단계이다. 액틴 세포골격의 조절은 유체 수송의 조절에 중요하다. 세포골격의 삼투성-의존 재조직 및 특정 압력 단백질의 발현은 삼투압에 수질 세포의 적응에 포함된 조절계의 중요 성분이다. 본 발명의 약학적 제형물은 상피 기능을 통제하고 유체 수송을 조절하는데 유용하다.
- <64> 본 발명은 안압 감소 방법, 녹내장 치료 방법, 섬유주절제술 후 상처 치유 억제 방법, 혈관생성 억제 방법, 암 치료 방법, 및 상피 기능 통제와 유체 수송 조절 방법을 제공한다. 상기 방법은 예컨대 액틴 중합을 억제함으로써 액틴 세포골격을 변경하는데 유효한 양으로 본 발명의 약학적 제형물을 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- <65> 본 발명의 약학적 제형물은 안압 감소제로서 유용하고, 따라서 녹내장 또는 관련 안과적 상태의 치료 또는 예방에 유용하다.
- <66> 본 발명의 약학적 제형물은 증가된 안압 및 시신경에 대한 손상의 결과로서의 신경퇴행성 질환의 치료 또는 예방에 유용하다.
- <67> 본 발명의 약학적 제형물은 또한 당업자에게 알려진 투여 방식 및 경로로, 주름 감소를 위한 화장품의 영역, 혈소관 방부의 영역, 및 혈관 경련 및 평활근 경련의 영역에서 사용될 수 있다.
- <68> 본원에 개시되어 있는 약학적 제형물은 임의의 적합한 방식에 의해 국소적으로 환자의 눈에 투여될 수 있지만, 바람직하게는 점적, 분무 또는 겔의 형태로 투여된다. 대안적으로는, 약학적 제형물은 리포솜을 통해 눈에 적용될 수 있다. 추가로, 약학적 제형물은 펌프-카테터 (pump-catheter) 시스템을 통해 눈물막으로 주입될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 약학적 제형물은 연속적 또는 선택적-방출 장치, 예를 들어 제한되는 것은 아니지만 Ocusert™ 시스템 (Alza Corp., Palo Alto, CA) 또는 Retisert (Bausch & Lomb, Rochester, NY) 에서 사용된 것과 같은 막에 함유된다. 추가적인 구현예로서, 약학적 제형물은 눈에 놓인 콘택트 렌즈 내에 함유되거나, 이에 의해 전달되거나, 이에 부착될 수 있다. 본 발명의 또 다른 구현예는 눈 표면에 적용될 수 있는 약솜 (swab) 또는 스폰지 (sponge) 내에 함유된 약학적 제형물을 포함한다. 본 발명의 또 다른 구현예는 눈 표면에 적용될 수 있는 액체 분무에 함유된 약학적 제형물을 포함한다. 본 발명의 또 다른 구현예는 눈물 조직에 또는 눈 표면 상에 직접적으로 약학적 제형물의 주입을 포함한다.
- <69> 한 구현예에서, 약학적 제형물은 대상체의 전신에 투여된다. 본원에서 사용된 바와 같은 용어 전신에는 피하 주사, 정맥내, 유리체강내 (intravitreal) 주사, 전방내 (intracameral) 주사, 결막하 주사, 국소 투여 및 경구 투여가 포함된다.
- <70> 유리체강내 전달은 단일 또는 다중 유리체강내 주사를, 또는 지속 능력으로 세포골격 표적 화합물을 방출하는 이식가능한 유리체강내 장치를 통해 포함할 수 있다. 유리체강내 전달은 또한 외과적 촉진 동안 안구 내 관류액 (irrigation solution) 의 부가물로서 또는 외과적 절차 동안 유리질에 직접적으로 적용된 전달을 포함할 수 있다. 결막하 또는 구후 (retrobulbar) 주사에 대해 유사하게 접근될 수 있다.
- <71> 본 발명은 추가로 하기 실시예에 의해 설명되고, 기재되어 있는 특정 방법의 범주에 본 발명은 한정되지

않는다. 추가의 정교화 없이, 이전 기재내용을 사용하여 당업자가 최대 범위로 본 발명을 사용할 수 있다고 생각된다. 따라서, 하기의 바람직한 특정 구현에는 단지 예시적인 것으로 파악되고, 어떠한 방식으로든지 명세서의 나머지에 한정되지 않는다.

실시예

<77> 실시예 1. 5 % 에탄올 부형제 제형물 중 라트룬쿨린 B, 0.02 % 제형물의 제조

<78> 1 mg 의 라트룬쿨린 B 를 함유한 바이알에 250 μ l 의 200 프루프 (proof) 에탄올을 첨가한 후, 용액을 주위 온도에서 혼합하였다. 이 용액에 pH 가 약 7 인 포스페이트-완충 식염수 용액 750 μ l 을 첨가하고; 상기 용액을 주위 온도에서 약 5 분 동안 혼합하였다. 생성 용액은 투명하고, 라트룬쿨린 B 에 대해 0.1 % 였다. 상기 용액을 그 자체로, 또는 포스페이트-완충 식염수 제형물을 사용하여 0.02 % 농도로 희석시켜 사용하였다.

<79> 실시예 2. 수성 부형제 제형물 중 라트룬쿨린 B 용액의 제조

<80> 1 mg 의 라트룬쿨린 B 를 함유한 바이알에 100 μ l 의 프로필렌 글리콜을 첨가한 후, 용액을 주위 온도에서 혼합하였다. 라트룬쿨린 B 는 즉시 용액이 되었다. 상기 용액을 약 5 $^{\circ}$ C 로 빙조에서 냉각시켰다. 이 용액에 0.25 % w/v 폴락사머 407 을 함유한 포스페이트-완충 식염수 용액 (pH ~7) 450 μ l 을 첨가하고, 약 5 $^{\circ}$ C 에서 이 온도를 유지하면서 10 분 동안 혼합하였다. 이 용액에 1 % w/v 폴리소르베이트 80 을 함유한 포스페이트-완충 식염수 용액 (pH ~7) 450 μ l 을 첨가하고, 10 분 동안 주위 온도 조건에서 혼합하였다. 생성 용액은 투명하고, 라트룬쿨린 B 에 대해 0.1 % 였다. 상기 용액을 그 자체로, 또는 포스페이트-완충 식염수 용액 (pH ~7) 을 사용하여 0.02 % 농도로 희석시켜 사용하였다.

<81> 실시예 3. 수성 부형제 제형물 중 라트룬쿨린 B 제형물의 제조

<82> 1 mg 의 라트룬쿨린 B 를 함유한 바이알에 50 μ l 의 프로필렌 글리콜 및 40 μ l 의 글리세린을 첨가한 후, 용액을 주위 온도에서 혼합하였다. 라트룬쿨린 B 는 용액이 되었다. 상기 용액을 약 5 $^{\circ}$ C 로 빙조에서 냉각시켰다. 이 용액에 0.2 % w/v 폴락사머 407 및 1 % w/v 폴리소르베이트 80 을 함유한 포스페이트-완충 식염수 용액 (pH ~7) 910 μ l 을 첨가하였다. 첨가 후, 상기 용액을 5 $^{\circ}$ C 에서 약 10 분 동안 혼합한 후, 실온에서 추가의 10 분 동안 혼합하였다. 생성 용액은 투명하고, 라트룬쿨린 B 에 대해 0.1 % 였다. 상기 용액을 그 자체로, 또는 0.2 % w/v 폴락사머 407 및 1 % w/v 폴리소르베이트 80 을 함유한 포스페이트-완충 식염수 용액 (pH ~7) 을 사용하여 0.02 % 이하의 농도로 희석시켜 사용하였다.

<83> 실시예 4. 수성 부형제 제형물 중 라트룬쿨린 B 의 방부 제제의 제조

<84> 1 mg 의 라트룬쿨린 B 를 함유한 바이알에 4.5 % w/v 만니톨, 1 % w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 약 10 mM 시트레이트 완충액 (pH ~5.5) 1 mL 를 첨가하고, 실온에서 약 15 분 동안 혼합하였다. 상기 용액은 투명하고, 무색이었다. 상기 용액은 라트룬쿨린 B 에 대해 0.1 % 이고, pH 가 약 5.5 였다. 상기 용액을 그 자체로, 또는 4.5 % w/v 만니톨, 1 % w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 시트레이트 완충액 (pH ~5.5) 을 사용하여 0.02 % w/v 이하의 농도 (예컨대 0.005 % w/v) 로 희석시켜 사용하였다.

<85> 0.02 % (용액 A) 및 0.005 % (용액 B) 라트룬쿨린 B 를 함유한 용액을 안정성에 대해 시험하였다. 라트룬쿨린 B 의 분해를 HPLC 로 측정하였다. 결과는 2 내지 8 $^{\circ}$ C 에서 6 개월 동안 저장 후, 용액 A 가 초기량의 라트룬쿨린 B 의 95 % 를 유지하고 용액 B 가 100 % 를 유지함을 나타낸다.

<86> 실시예 5. 5 % 에탄올 부형제 제형물 중 데스-메틸 라트룬쿨린 B, 0.02 % 용액의 제조

<87> 1 mg 의 데스-메틸 라트룬쿨린 B 를 함유한 바이알에 250 μ l 의 200 프루프 에탄올을 첨가한 후, 용액을 주위 온도에서 혼합하였다. 이 용액에 pH 가 약 7 인 포스페이트-완충 식염수 용액 750 μ l 을 첨가하고; 상기 용액을 주위 온도에서 약 5 분 동안 혼합하였다. 생성 용액은 투명하고, 라트룬쿨린 B 에 대해 0.1 % 였다. 상기 용액을 그 자체로, 또는 포스페이트-완충 식염수 제형물을 사용하여 0.02 % 농도로 희석시켜 사용하였다.

<88> 실시예 6. 수성 부형제 제형물 중 시스-데스-메틸 라트룬쿨린 B 용액의 제조

<89> 1 mg 의 시스-데스-메틸 라트룬쿨린 B 를 함유한 바이알에 4.5 % w/v 만니톨, 1 % w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 약 10 mM 시트레이트 완충액 (pH ~5.5) 1 mL 를 첨가하고, 실온에서 약 15 분 동안 혼합하였다. 상기 용액은 투명하고 무색이었다. 상기 용액은 라트룬쿨린 B 에 대해 0.1 % 이고, pH 가 약 5.5 였다. 상기 용액을 그 자체로, 또는 4.5 % w/v 만니톨, 1 %

w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 시트레이트 완충액 (pH ~5.5) 을 사용하여 0.02 % w/v 이하의 농도로 희석시켜 사용하였다.

<90> **실시에 7. 생체 내 세포골격 표적 화합물의 제형물의 안압에 대한 효과**

<91> 동물 준비 및 기구: 모든 생체 내 실험 및 제형물의 내약성 평가 및 상기 제형물 중 화합물의 안압에 대한 효과 연구에 대해서, 더치-벨트 래빗에서 실험하였다. 이러한 평가에 사용된 동물은 정상적이고 비가역적인 12 시간의 명암 사이클에 노출되는 측사에 개별적으로 수용시키고, 먹이 및 물에 자유롭게 접근시켰다. 시판되는 TonoPen XL 안압계를 사용하여 안압을 측정하였다.

<92> 실험 프로토콜: 래빗을 이의 우리에서 제거하고, IOP 의 스트레스-유발 증가를 최소화하기 위해 IOP 측정 전에 수 분 동안 천 주머니에 가두었다. 래빗의 각막을 0.25 % 프로파라카인 (proparacaine) HCl 로 마취시켰다. 마취제의 효력을 나타나게 하도록 약 2 분 동안 기다린 후, 비-우세 손으로 눈꺼풀을 열어 유지하고, TonoPen 을 각막 중앙에 수 회 연속해서 터치하여, 기록하였다. 라트룬쿨린 B 또는 대조 부형제를 함유한 약학적 제형물을 하나 이상의 국소 안약(들)으로서 각 동물에 투여하였다. 통상적으로, 피펫을 사용하여, 20 µl (2 방울 × 10 µl 각각) 을 약 30 초 간격으로 각막 중앙에 투여하였다. 깜빡거림으로 침투를 최대화하는 것을 방지하고; 동일 부피의 동일한 시험 화합물 용액 또는 부형제를 두 눈으로 점적 주입하였다. 점점 주입 전 (-1 시간, 0 시간), 및 1, 2-2.5, 3, 4.5 및 6 시간 점점 주입 후에 IOP 측정하였다. 각 측정의 연속 후 동물을 우리로 돌려보냈다. IOP 측정 이외에, 투여 전 및 투여 과정 동안 및 연구의 종료에 간단한 눈 검사를 수행하였다. 눈의 상태, 특히 충혈, 결막부종, 결막 분비물 및 각막 혼탁과 같은 안과 증상을 관찰하는 것에 평가를 집중하였다.

<93> 결과

<94> 도 1 은 5 % 에탄올 제형물 중 0.02 % 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 감소 효과를 나타낸다.

<95> 도 2 는 프로필렌 글리콜, 폴록사머 407 및 폴리소르베이트 80 을 함유한 포스페이트-완충 식염수 용액 (pH ~7) 중 0.02 % 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 감소 효과를 나타낸다 (실시에 3).

<96> 도 3 은 4.5 % w/v 만니톨, 1 % w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 시트레이트-완충액 (pH ~5.5) 중 0.02 % 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 감소 효과를 나타낸다 (실시에 4).

<97> 도 4 는 5 % 에탄올 제형물 중 0.02 % 데스-메틸 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 감소 효과를 나타낸다 (실시에 5).

<98> 도 5 는 4.5 % w/v 만니톨, 1 % w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 시트레이트-완충액 (pH ~5.5) 중 0.1 % 시스-데스-메틸 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 감소 효과를 나타낸다 (실시에 6).

<99> 이제 본 발명, 및 이를 제조하고 사용하는 방식 및 방법은 임의의 당업자가 동일한 것을 제조하고 사용할 수 있도록 이러한 완전하고 명확하고 간결하며 정확한 용어로 기재되어 있다. 전술한 것은 본 발명의 바람직한 구현예를 기재하고 있고, 청구 범위에서 기재한 바와 같이 본 발명의 범주에서 벗어나지 않고 변경할 수 있다고 이해된다. 본 발명으로 간주되는 주제를 특히 지적하고 명백하게 청구하기 위해, 하기 청구범위는 본 명세서를 완결한다.

도면의 간단한 설명

<72> 도 1 은 5 % 에탄올 제형물 중 0.02 % 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗 (Dutch-belted rabbit) 의 안압 (IOP, % 베이스라인) 대 치료 후 시간을 나타낸다.

<73> 도 2 는 프로필렌 글리콜, 폴록사머 407 및 폴리소르베이트 80 을 함유한 포스페이트-완충 식염수 용액 (pH ~7) 중 0.02 % 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 (IOP, % 베이스라인) 대 치료 후 시간을 나타낸다.

<74> 도 3 은 4.5 % w/v 만니톨, 1 % w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 시트레이트-완충액 (pH ~5.5) 중 0.02 % 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의

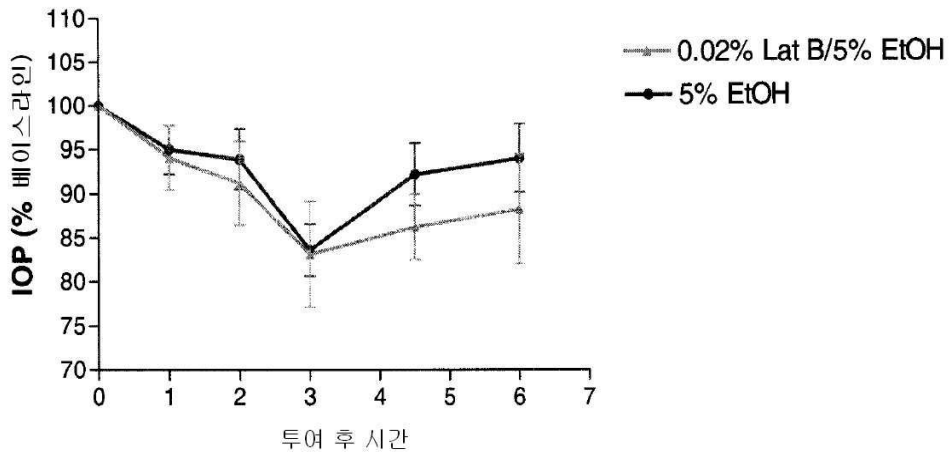
안압 (IOP, % 베이스라인) 대 치료 후 시간을 나타낸다.

<75> 도 4 는 5 % 에탄올 제형물 중 0.02 % 데스-메틸 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 (IOP, % 베이스라인) 대 치료 후 시간을 나타낸다.

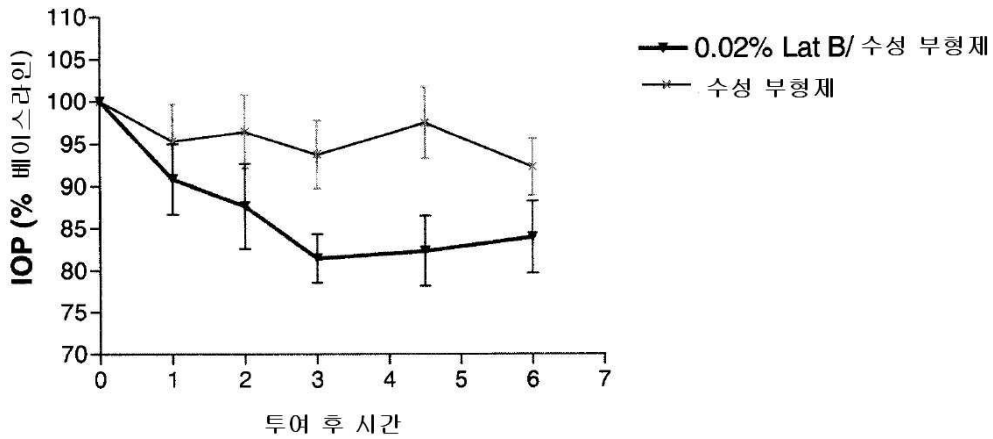
<76> 도 5 는 4.5 % w/v 만니톨, 1 % w/v 폴리소르베이트 80, 0.05 % w/v 에데트산2나트륨 및 0.01 % w/v 염화벤즈알코늄을 함유한 시트레이트-완충액 (pH ~5.5) 중 0.1 % 시스-데스-메틸 라트룬쿨린 B, 및 부형제로 치료된 더치-벨트 래빗의 안압 (IOP, % 베이스라인) 대 치료 후 시간을 나타낸다.

도면

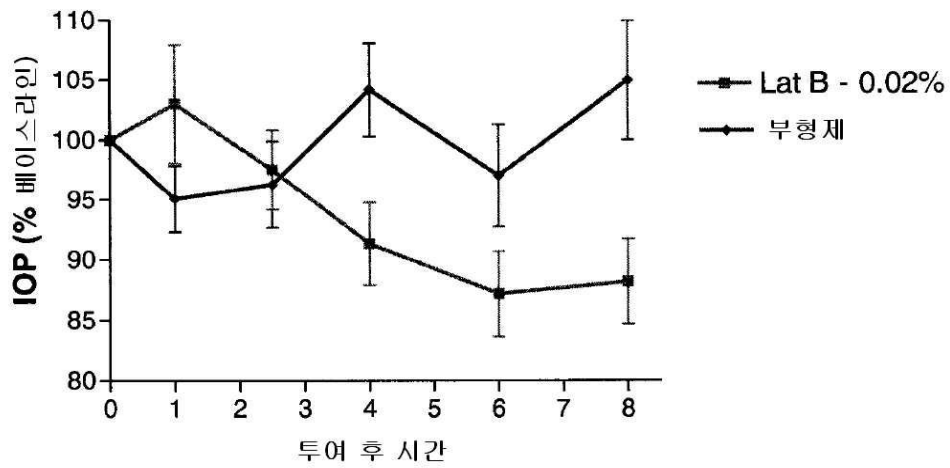
도면1



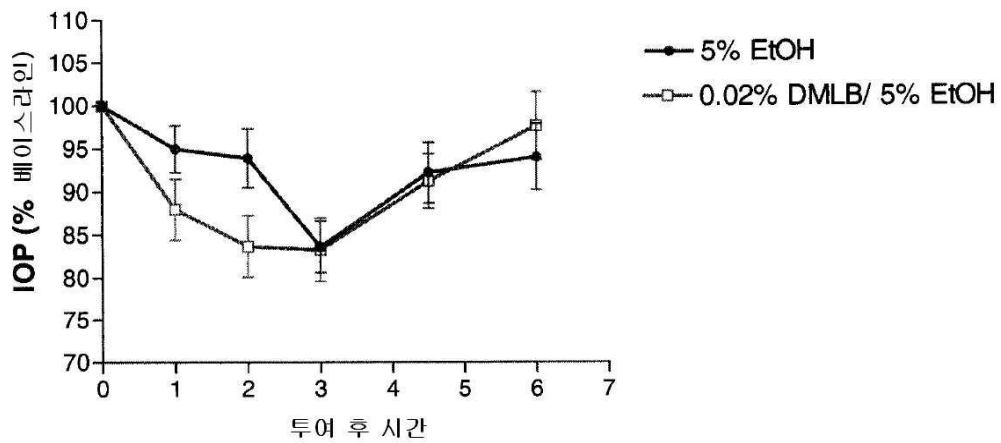
도면2



도면3



도면4



도면5

