(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년02월23일
(11) 등록번호 10-1494594
(24) 등록일자 2015년02월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/48 (2006.01) *A61K 9/22* (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) *A61K 47/30* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0093677
(22) 출원일자 2012년08월27일
심사청구일자 2012년08월27일
(65) 공개번호 10-2013-0024804
(43) 공개일자 2013년03월08일
(30) 우선권주장
1020110087160 2011년08월30일 대한민국(KR)
(56) 선행기술조사문헌
US05858398 A*
Guo Rong 외 2명. Complex Lamellar Structure of Polyoxyethylene 20 Sorbitan Oleate and a Fatty Acid/Lecithin Lamellar Liquid Crystal. Langmuir. 12, pp.4286~4291. (1996)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 종근당
서울특별시 서대문구 충정로 8(충정로3가)
(72) 발명자
고진영
경기 용인시 기흥구 동백죽전대로 315-20, 종근당(주) (중동)
김지연
경기 용인시 기흥구 동백죽전대로 315-20, 종근당(주) (중동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

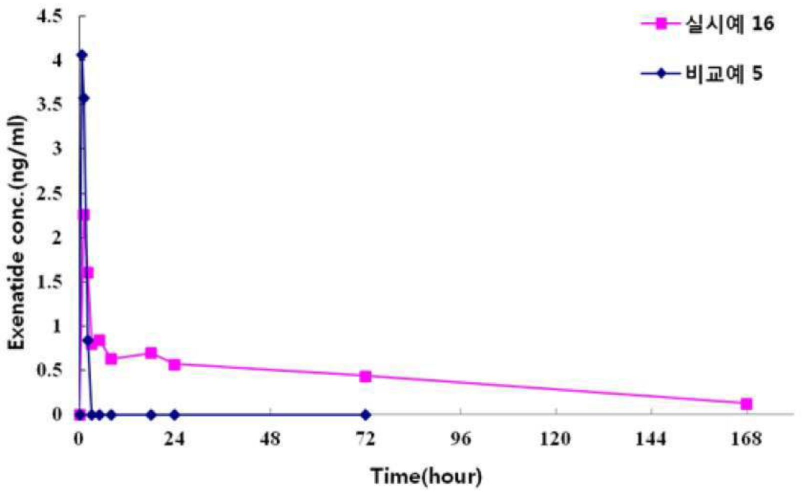
전체 청구항 수 : 총 14 항 심사관 : 윤동준

(54) 발명의 명칭 **약리학적 활성물질의 서방성 지질 초기제제 및 이를 포함하는 약제학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 a) 극성헤드기에 -OH(hydroxyl)기가 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터(sorbitan unsaturated fatty acid ester); b) 포스포리피드(phospholipid); 및 c) 이온화기를 가지지 않고 소수성 부분은 탄소수가 15개 내지 40개의 트리아실기를 가지거나 탄소링 구조를 가지는 액상결정 강화제를 포함하고 수성유체가 없는 상태에서 지질 액상이며 수성유체 상에서 액상결정을 형성하는 서방성 지질 초기제제(pre-concentrate) 및 이에 약리활성물질을 추가로 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

대 표 도 - 도3



(72) 발명자

박소현

경기 용인시 기흥구 동백죽전대로 315-20, 종근당 (주) (중동)

안성원

경기 용인시 기흥구 동백죽전대로 315-20, 종근당 (주) (중동)

기민효

경기 용인시 기흥구 동백죽전대로 315-20, 종근당 (주) (중동)

특허청구의 범위

청구항 1

a) 솔비탄 모노올레이트, 솔비탄 모노리놀레이트, 솔비탄 모노팔미톨레이트, 솔비탄 모노미리스톨레이트, 솔비탄 세스퀴올레이트, 솔비탄 세스퀴리놀레이트, 솔비탄 세스퀴팔미톨레이트, 솔비탄 세스퀴미리스톨레이트, 솔비탄 디올레이트, 솔비탄 디리놀레이트, 솔비탄 디팔미톨레이트, 솔비탄 디미리스톨레이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 솔비탄 불포화지방산 에스터(sorbitan unsaturated fatty acid ester);

b) 포스포리피드(phospholipid); 및

c) 카르복실기 또는 아민기의 이온화기를 가지지 않고 소수성 부분은 탄소수가 15개 내지 40개의 트리아실기를 가지거나 탄소링 구조를 가지는 액상결정 강화제를 포함하고 수성유체가 없는 상태에서 지질 액상이며 수성유체 상에서 비층상 액상결정을 형성하는 서방성 지질 초기제제(pre-concentrate).

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1 항에 있어서, 솔비탄 불포화지방산 에스터는 솔비탄 모노올레이트, 솔비탄 모노리놀레이트, 솔비탄 모노팔미톨레이트, 솔비탄 모노미리스톨레이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 것인 서방성 지질 초기제제.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 포스포리피드는 포화 또는 불포화된 탄소수가 4 내지 30인 알킬 에스터 그룹을 가지는 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine), 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine), 포스파티딜세린(phosphatidylserine), 포스파티딜글리세린(phosphatidylglycerine), 포스파티딜이노시톨(phosphatidylinositol), 포스파티딘산(phosphatidic acid), 스핑고미엘린(sphingomyelin) 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 것인 서방성 지질 초기제제.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 액상결정 강화제가 트리글리세리드, 레티닐 팔미테이트, 토코페롤 아세테이트, 콜레스테롤, 벤질 벤조에이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 것인 서방성 지질 초기 제제.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 액상결정 강화제가 트리글리세리드, 레티닐 팔미테이트, 토코페롤 아세테이트, 콜레스테롤 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 것인 서방성 지질 초기 제제.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 액상결정 강화제가 토코페롤 아세테이트인 서방성 지질 초기 제제.

청구항 8

제 1 항, 및 제 3 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, a) 및 b)의 중량비가 10:1 내지 1:10인 서방성 지질 초기제제.

청구항 9

제 1 항, 및 제 3 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, a) + b) 및 c)의 중량비가 100:1 내지 1:1인 서방성 지질 초기제제.

청구항 10

제 1 항, 및 제 3 항 내지 제 7 항 어느 한 항의 지질 초기제제에서, d) 단백질, 펩티드, 백신, 유전자, 비-펩

티드 호르몬, 합성의약품 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 약리활성 물질을 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 11

제 10 항에 있어서, 지질 초기제제의 구성성분인 a) 및 b)의 중량비가 10:1 내지 1:10인 약제학적 조성물.

청구항 12

제 10 항에 있어서, 지질 초기제제의 구성성분인 a) + b) 및 c)의 중량비가 100:1 내지 1:1인 약제학적 조성물.

청구항 13

제 10 항에 있어서, 약제학적 조성물이 주사제, 연고제, 겔제, 로션제, 캡슐제, 정제, 액제, 현탁제, 분무제, 흡입제, 점안제, 점착제, 첩부제 중에서 선택된 제형인 약제학적 조성물.

청구항 14

a) 솔비탄 모노올레이트, 솔비탄 모노리놀레이트, 솔비탄 모노팔미톨레이트, 솔비탄 모노미리스톨레이트, 솔비탄 세스퀴올레이트, 솔비탄 세스퀴리놀레이트, 솔비탄 세스퀴팔미톨레이트, 솔비탄 세스퀴미리스톨레이트, 솔비탄 디올레이트, 솔비탄 디리놀레이트, 솔비탄 디팔미톨레이트, 솔비탄 디미리스톨레이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 솔비탄 불포화지방산 에스터(sorbitan unsaturated fatty acid ester);

b) 포화 또는 불포화된 탄소수가 4 내지 30인 알킬 에스터 그룹을 가지는 포스포리피드(phospholipid); 및

c) 카르복실기 또는 아민기의 이온화기를 가지지 않고 소수성 부분은 탄소수가 15개 내지 40개의 트리아실기를 가지거나 탄소링 구조를 가지는 액상결정 강화제를 포함하고 수성유체가 없는 상태에서 지질 액상이며 수성유체 상에서 비층상 액상결정을 형성하는 서방성 지질 초기제제(pre-concentrate).

청구항 15

a) 솔비탄 모노올레이트, 솔비탄 모노리놀레이트, 솔비탄 모노팔미톨레이트, 솔비탄 모노미리스톨레이트, 솔비탄 세스퀴올레이트, 솔비탄 세스퀴리놀레이트, 솔비탄 세스퀴팔미톨레이트, 솔비탄 세스퀴미리스톨레이트, 솔비탄 디올레이트, 솔비탄 디리놀레이트, 솔비탄 디팔미톨레이트, 솔비탄 디미리스톨레이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 솔비탄 불포화지방산 에스터(sorbitan unsaturated fatty acid ester);

b) 포화 또는 불포화된 탄소수가 4 내지 30인 알킬 에스터 그룹을 가지는 포스포리피드(phospholipid); 및

c) 트리글리세리드, 레티닐 팔미테이트, 토코페롤 아세테이트, 콜레스테롤, 벤질 벤조에이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 액상결정 강화제를 포함하고 수성유체가 없는 상태에서 지질 액상이며 수성유체 상에서 비층상 액상결정을 형성하는 서방성 지질 초기제제(pre-concentrate).

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 약리학적 활성물질의 서방성 지질 초기제제 및 이를 함유하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 서방성 제제(sustained-release formulation)는 단회 투여로 약리학적 활성물질을 지속적으로 방출하여 반복 투여시 일어날 수 있는 부작용을 방지하고 일정 시간 또는 일정 기간 이상 약리학적 활성물질의 유효농도범위를 유지할 수 있는 제제이다.

[0003] 생분해성을 가지고 현재 사용되는 대표적인 서방성 소재는 식품의약품안전청(FDA)의 승인을 받은 PLGA[poly(lactic-co-glycolic acid)]이다. 미국등록특허 5,480,656에는 PLGA 생체분해성 고분자가 생체 내에서 일정시간이 지나면 락트산과 글리콜산으로 분해되어 약리학적 활성물질을 지속적으로 방출시킨다고 기재되어 있다. 그러나 PLGA의 분해산물인 산성물질은 염증반응을 일으키고 세포증식률을 감소시킨다고 보고되고 있으며 (K. Athanasiou, G. G. Niederauer, and C. M. Agrawal, Biomaterials, 17, 93 (1996)) 서방을 위해서는 10~100 마이크로미터 정도의 PLGA 고체입자에 약물을 봉입하여 주사하여야하나, 이 경우 주사시 동통이나 염증이 수반되는 문제가 있다. 따라서 약리학적 활성물질의 유효농도를 일정 기간 이상 제공하면서 환자 복약 순응

도를 높일 수 있는 새로운 서방성 제제 개발이 요구된다.

[0004] 이에 본 발명자들은 a) 극성헤드기에 -OH(히드록시기)가 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터 , b) 포스포리피드 , c) 이온화기를 가지지 않고 소수성 부분은 탄소수가 15개 내지 40개의 트리아실기를 가지거나 탄소 링 구조를 가지는 액상결정 강화제를 포함하고, 수성유체가 없는 상태에서 지질액상이며 수성유체상에서 액상결정을 형성하는 서방성 지질 초기제제(pre-concentrate)를 통하여 안전성 및 생분해성 문제를 해결하고 약리학적 활성 물질의 서방을 제공할 수 있는 본 발명을 완성하였다.

[0005] 이하 본 발명과 관련될 수 있는 선행기술을 검토하였다.

[0006] 국제공개특허 WO 2005/117830은 적어도 하나의 중성 디아실리피드 및/또는 토코페롤, 적어도 하나의 포스포리피드 그리고 적어도 하나의 생체에 적합하고 산소를 포함하는 저점도 유기용매를 포함하는 비액정 혼합물을 포함하는 초기제제를 개시하고 있으며, 국제공개특허 WO 2006/075124에서는 적어도 하나의 디아실 글리세리드, 적어도 하나의 포스파티딜콜린, 적어도 하나의 산소함유 유기용매 그리고 적어도 하나의 소마토스타틴 유사체를 포함하는 초기제제를 개시하고 있다. 이들 제제는 모두 약리학적 활성 물질을 in vivo 상에서 2주 이상 지속 방출하였으나, 이들 조성물의 핵심 구성성분인 디아실리피드는 일반적으로 의약품의 부형제로 사용되지 않는 안전성이 충분히 확보되지 않은 물질이며, 일부 약물의 활성 저하를 일으키는 유기용매를 사용하여야 한다는 점이 본 발명과 상이하다. (H. Ljusberg-Wahre, F. S. Nielse, 298, 328-332 (2005); H. Sah, Y. bahl, Journal of Controlled Release 106, 51-61(2005))

[0007] 미국등록특허 7,731,947은 인터페론, 수크로즈, 메치오닌, 구연산 완충액으로 조성되는 고체 입자가 벤질벤조에이트 등의 유기용매에 분산된 조성물을 개시하고 있다. 또 일부 실시예에서 포스파티딜콜린을 비타민 E(토코페롤)와 함께 유기용매에 용해시켜 고체 입자의 분산액으로 사용할 수 있음을 설명하고 있다. 그러나 상기 특허의 조성은 액상결정이 형성되지 않을 뿐 아니라 이들을 고체입자 분산 용도로 사용한다는 점에서 상기 조성물은 본 발명과 상이하다.

[0008] 미국등록특허 7,871,642는 인지질, 폴리옥시에틸렌을 가지는 계면활성제, 트리글리세리드, 에탄올 조성의 혼합물을 물에 분산시켜, 약리학적 활성 물질을 전달하는 분산체를 제조하는 방법을 개시하고 있으며 여기서 폴리옥시에틸렌을 가지는 계면활성제 중의 하나로서 폴리옥시에틸렌 솔비탄 지방산 에스터 (폴리소르베이트, polysorbate)와 폴리옥시에틸렌 비타민 E 유도체가 사용될 수 있음을 설명하고 있다. 그러나 폴리옥시에틸렌 솔비탄 지방산 에스터와 폴리옥시에틸렌 비타민 E 유도체는 솔비탄 지방산 에스터와 비타민 E 각각에 친수성 폴리머인 폴리옥시에틸렌이 결합된 물질로서, 원래의 솔비탄 지방산 에스터와 비타민 E와 구조가 완전히 상이하고 폴리옥시에틸렌의 특성을 이용한 친수성 계면활성제로 사용되는 물질이라는 점에서 본 발명의 구성성분과 상이하다.

[0009] 미국등록특허 5,888,533은 임플란트를 형성하는 유체 조성물로서 비 폴리머성, 수불용성, 생분해성을 가지는 물질과 이 물질을 최소한 부분적으로 녹이고 물이나 생체액과 혼화되거나 분산이 가능한 용매로 조성되며, 인체 적용시 이 용매가 생체액에 확산되면서 빠져나가 비 폴리머성, 수불용성, 생분해성을 가지는 물질이 응집되거나 침전됨으로써 임플란트가 형성되는 조성물을 개시하고 있다. 여기서 비 폴리머성, 수불용성, 생분해성을 가지는 물질로서 스테롤, 콜레스테릴 에스터, 지방산, 지방산 글리세리드, 자당 지방산 에스터, 솔비탄 지방산 에스터, 지방알코올, 지방알코올과 지방산의 에스터 결합물, 지방산의 탈수물, 인지질, 라놀린, 라놀린 알코올 등을 사용할 수 있다고 설명하고 용매로서 에탄올 등이 설명되고 있다. 그러나 상기 특허는 액상결정을 형성할 수 없을 뿐 아니라 단순한 응집이나 침전을 통해 임플란트를 제조하는 조성이라는 점과 많은 양의 유기용매를 필수적으로 사용해야 하는 점에서 본 발명과 상이하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 극성헤드기에 -OH(히드록시기)가 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터를 조성물로 하여 안전성과 생분해성을 현저히 향상시키며 수성유체가 없는 상에서는 액상이어서 투약형태의 의약품 제제의 적용에 용이하고 수성유체 상에서 액상결정(liquid crystal)을 형성하여 생체 내에서 약물의 서방성을 증가시키는 지질 초기제제를 제공하는데 있다.

[0011] 본 발명의 목적은 또한, 액상으로 주사가 가능하여 기존 제제가 극복하지 못한 주사 시 동통이나 염증을 개선할 수 있는 초기제제를 제공하는데 있다.

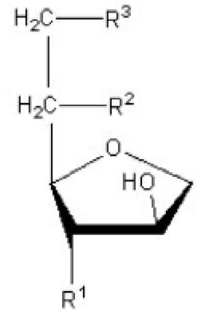
[0012] 본 발명의 목적은 본 발명의 초기제제에 약리학적 활성물질을 추가로 포함하는 약학조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 a) 극성헤드기에 -OH(hydroxyl)기가 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터(sorbitan unsaturated fatty acid ester); b) 포스포리피드(phospholipid); 및 c) 이온화기를 가지지 않고 소수성 부분은 탄소수가 15개 내지 40개의 트리아실기를 가지거나 탄소링 구조를 가지는 액상결정 강화제를 포함하고 수성유체가 없는 상태에서 지질 액상이며 수성유체 상에서 액상결정을 형성하는 서방성 지질 초기제제(pre-concentrate)를 제공한다.

[0014] 본 발명의 극성헤드기에 -OH(hydroxy)가 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터는 [화학식 1]의 화합물을 의미하며 이중에서 솔비탄 모노에스터는 $R^1=R^2=OH$, $R^3=R$, 솔비탄 디에스터는 $R^1=OH$, $R^2=R^3=R$, 여기서 R은 탄소수가 4 내지 30이며 이중결합을 1개 이상 포함하는 알킬 에스터 그룹을 의미한다.

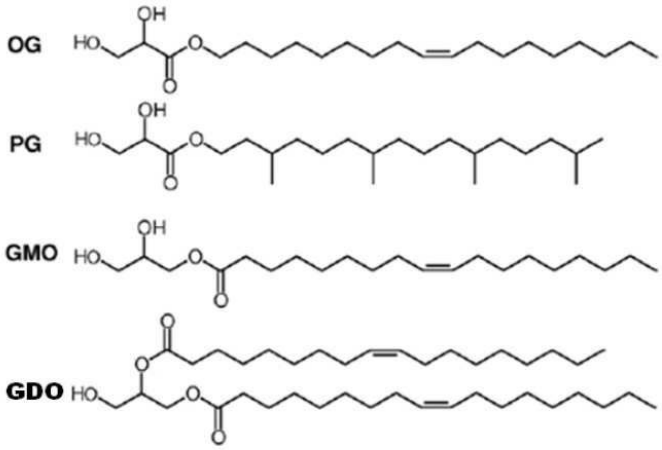
[0015] [화학식 1]



[0016]

[0017] 이는 종래의 기술에서 액상결정화 현상이 [화학식 2]에 표현된 올레일 글리세레이트(oleyl glycerate, OG), 피타닐 글리세레이트(phytanyl glycerate, PG), 글리세린 모노올레이트(glycerine monooleate, GMO), 글리세린 디올레이트(glycerine dioleate, GDO, 다아실 글리세롤의 한 종류)에 의하여 특이하게 유발되는 것으로 알려져 온 것과는 상이하다. 즉, 종래에 알려진 액상결정을 형성시키는 물질의 구조적인 공통점은 모두 글리세린(glycerine) 또는 글리세르산(glyceric acid)으로 구성되는 극성 헤드부분(polar head)을 가지고 여기에 지방 알코올 또는 지방산 형태에서 유래하는 비극성 테일(nonpolar tail)이 결합된 구조를 가진다.

[0018] [화학식 2]



[0019]

[0020] 그러나 종래의 액상결정 형성물질은 각각이 가지는 다음과 같은 단점으로 인하여 의약품 개발에 적용이 어려운 면이 있다. 올레일 글리세레이트(OG)와 피타닐 글리세레이트(PG)는 액상결정이 잘 형성될 수 있지만 상대적으로 독성이 높아 의약품의 부형제로 사용되고 있지 않으며 반대로 글리세린 모노올레이트는 의약품 부형제로 사용이 가능하지만 액상결정 형성능력이 낮아 의약품에서 필요로 하는 서방성의 액상결정을 형성할 수 없는 단점이 있

다.

[0021] 또한, 앞서 기술한 바 있는 국제공개특허 WO 2005/117830의 글리세린 디올레이트는 디아실기를 가지는 글리세리드 형태로서, 글리세린을 극성 헤드부분으로 사용하나, 일반적으로 의약품의 부형제로 사용되지 않는 안전성이 충분히 확보되지 않은 물질이며 생분해성이 현저히 낮다는 문제점을 가지고 있다.

[0022] 본 발명자들은 기존의 글리세린이나 글리세르산 유도체와 달리 솔비탄 불포화지방산 에스터에 의하여 형성되는 액상결정이 활성물질의 서방화에 매우 유리할 뿐 아니라 기존의 액상결정 형성물질과 비교하여 안전성이 더욱 우수하고 생분해성이 탁월하여 기존 기술의 단점을 극복하고 의약품 개발에 활용이 가능함을 발견하게 되었다. 의약품 조성물로서 사용되기 위해서는 안전성이 확보되어야 할 뿐 아니라 생분해성이 필수 요소이다. 더욱이 생체 내로 주입되어 서방성을 나타내는 물질의 경우, 생분해성은 매우 중요한 요소가 아닐 수 없다. 기존의 서방형 주사제로 사용되는 PLGA의 경우도 1주일간 서방효과를 나타내는 경우, 이상적으로 1주일 이후에는 주입된 PLGA가 생체내에서 분해되어 소실되는 것이 바람직하지만 실제로는 서방기능을 종료한 이후에도 1개월에서 수개월에 이르기까지 분해되지 않고 잔존하는 문제가 있다. 따라서 서방성이 우수하고 안전성이 확보되며 생분해성 또한 탁월한 본 발명의 솔비탄 불포화지방산 에스터는 산업적으로도 매우 높은 가치를 가지는 새로운 액상결정 형성물질임이 명백하다.

[0023] 구체적으로 본 발명의 솔비탄 불포화지방산 에스터는 식물성 오일(예: 야자유, 피마자유, 올리브유, 땅콩 기름, 평지씨유, 옥수수 기름, 참깨유, 면실유, 대두유, 해바라기 기름, 홍화유, 아마인유 등), 동물성 지방 및 오일(예: 유지방, 돼지 기름 및 우지) 뿐만 아니라 고래 기름 및 어유로부터 수득될 수 있는 지방산에서 유래하는 솔비탄 모노에스터, 솔비탄 세스퀴에스터, 솔비탄 디에스터 및 이들의 혼합물 중에서 선택될 수 있다. 솔비탄 모노에스터는 솔비탄에 1개의 지방산 그룹이 에스터 결합된 것으로 솔비탄 모노올레이트, 솔비탄 모노리놀레이트, 솔비탄 모노팔미톨레이트, 솔비탄 모노미리스톨레이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택될 수 있다. 솔비탄 세스퀴에스터는 솔비탄에 평균 1.5개의 지방산 그룹이 에스터 결합된 것으로 솔비탄 세스퀴올레이트, 솔비탄 세스퀴리놀레이트, 솔비탄 세스퀴팔미톨레이트, 솔비탄 세스퀴미리스톨레이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택될 수 있다. 솔비탄 디에스터는 솔비탄에 2개의 지방산 그룹이 에스터 결합된 것으로 솔비탄 디올레이트, 솔비탄 디리놀레이트, 솔비탄 디팔미톨레이트, 솔비탄 디미리스톨레이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택될 수 있다.

[0024] 본 발명의 포스포리피드는 기존의 기술에서는 리포좀과 같은 층상 구조(lamellar structure)의 제조에 필수적으로 사용되어 온 물질로서 독자적으로는 비층상 구조(non-lamellar phase structure)인 액상결정을 형성할 수는 없다. 하지만 솔비탄 불포화지방산 에스터에 의해 촉발되는 비층상 구조에 참여하여 액상결정을 안정화시키는 역할을 한다. 구체적으로 본 발명의 포스포리피드는 포화 또는 불포화된 탄소 수 4 내지 30인 알킬 에스터 그룹을 가지며 극성 헤드부분의 구조에 따라 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine), 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine), 포스파티딜세린(phosphatidylserine), 포스파티딜글리세린(phosphatidylglycerine), 포스파티딜이노시톨(phosphatidylinositol) 및 포스파티딘산(phosphatidic acid), 스핑고미엘린(sphingomyelin) 및 이들의 혼합물 중에서 선택될 수 있다. 그리고 포스포리피드는 콩이나 계란 등과 같이 식물이나 동물에서 유래된 형태이며, 포스포리피드에 결합되는 알킬 에스터 그룹은 모노 및 디팔미토일, 모노 및 디미리스토일, 모노 및 디라우릴, 모노 및 디스테아릴 등의 포화 지방산 에스터나 모노 및 디리놀레일, 모노 및 디올레일, 모노 및 디 팔미톨레일, 모노 및 디미리스톨레일 등의 불포화 지방산 에스터가 있으며 또는 포화 지방산 에스터와 불포화 지방산 에스터가 함께 존재하는 형태일 수 있다.

[0025] 본 발명의 액상결정 강화제는 독자적으로는 액상결정 형성물질처럼 비층상 구조를 형성할 수 없을 뿐 아니라 포스포리피드처럼 리포좀과 같은 층상 구조를 형성하지도 못한다. 하지만 액상결정 강화제는 솔비탄 불포화지방산 에스터에 의해 촉발되는 비층상 구조에 참여하여 비층상 구조의 곡률(curvature, 뒤틀림)을 높여 유수(oil, water)의 규칙적인 혼재 정도를 더욱 높이는 결과를 가져온다. 이러한 액상결정 강화제로서의 기능을 가지기 위해서는 분자구조 내부에 극성이 매우 제한적으로 존재하고 동시에 비극성을 나타내는 부위의 부피가 커야(bulky) 유리하다.

[0026] 하지만 본 발명의 액상결정 강화제는 이상과 달리 실제로는 매우 특이하게도 직접적이고 반복적인 실험을 통해서만 인체에 투여가능하고 생체에 적합한 물질이 선택될 수 있었으며 그 결과, 본 발명의 조성물에 적합한 액상결정 강화제는 각각이 상이한 분자구조를 가지고 있어 한가지의 구조로 설명할 수 없었다. 다만, 본 발명의 조성물에 적합한 액상결정 강화제를 밝혀낸 후 이들의 구조를 관찰해 볼 때, 카르복실기나 아민기와 같은 이온화기를 가지지 않고 소수성 부분은 전체 탄소수가 15개 내지 40개의 부피가 큰 (bulky) 트리아실기를 가지거나 탄소 링 구조를 가지는 물질임을 확인할 수 있었다. 바람직하게는 카르복실기나 아민기와 같은 이온화기를 가지지

않고 약한 극성 부분으로서 수산화기 및 에스터 구조를 최대 1개 가지며 상대적으로 소수성 부분은 전체 탄소수가 20개 내지 40개의 부피가 큰 (bulky) 트리아실기를 가지거나 탄소 링 구조를 가지는 물질이다. 따라서 구체적으로 본 발명의 액상결정 강화제는 트리글리세리드, 레티닐 팔미테이트, 토코페롤 아세테이트, 콜레스테롤, 벤질 벤조에이트 및 이들의 혼합물 중에서 선택될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0027] 본 발명의 조성에서 목적하는 액상결정에 적합한 a)와 b)의 중량비는 10:1 내지 1:10이며, 바람직한 비율은 일반적으로 5:1 내지 1:5이다. a) + b) 와 c)의 중량비는 100:1 내지 1:1이며, 바람직한 비율은 50:1 내지 2:1이다. 상기의 범위 내에서, 본 발명에서 목적하는 액상결정에 의한 서방성 효과를 보다 더 잘 발현할 수 있다.

[0028] 본 발명에서, 수성유체는 물을 포함하여 생체점막액, 눈물, 땀, 침, 위장관액, 혈관외액, 세포외액, 간질액(interstitial fluid) 또는 혈장과 같은 체액을 의미한다. 따라서, 수용성 체액이 외계환경을 형성하는 신체 표면, 부위 또는 강(예를 들어, 신체내)과 접촉할 때 본 발명의 조성물은 액상으로부터 전환되어 반고형의 외관을 나타내는 액상결정을 형성하게 되는 특징을 가진다. 이와 같이 본 발명의 조성물은 인체 적용 전에는 지질 액상이지만 실제 인체에 적용시 서방성을 나타내는 액상결정으로 전환되는 초기제제(pre-concentrate)이다.

[0029] 본 발명에서, 액상결정은 매우 제한된 조건에서 유수(oil, water)가 규칙적으로 혼재되고 배열되어 내상과 외상이 구분될 수 없는 상태인 비층상 구조를 가지며, 이러한 비층상 구조는 특이하게 유수의 규칙적인 배열로 인하여 액체상(liquid phase)과 고체상(solid phase)의 중간상(mesophase)의 성질을 가진다. 이는, 기존에 약제학적 제형의 설계에 널리 사용되어 온 미셀(micelle), 에멀젼(emulsion), 마이크로에멀젼(microemulsion), 리포좀(liposome), 이중지질막(lipid bilayer) 등은 모두 층상 구조의 특징을 공통적으로 가지며, 이러한 층상 구조는 유중수(o/w, oil in water) 또는 수중유 (w/o, water in oil)의 형태로 내층 (inner phase)과 외층(out phase)이 구분됨으로써 형성되는 구조가 상이하다.

[0030] 본 발명에서, '액상결정'을 나타내는 액상결정화 현상은 상기와 같은 초기제제로부터 수성유체에 노출됨으로써 비층상 구조(non-lamellar phase structure)인 액상결정(Liquid cystal)이 형성되는 현상을 의미한다.

[0031] 본 발명의 지질 초기제제는 극성헤드기에 -OH가 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터 중에서 선택된 1종 이상, 포스포리피드 중에서 선택된 1종 이상, 앞서 설명한 액상결정 강화제 중에서 선택된 1종 이상을 첨가하여 실온에서 제조될 수 있으며 필요시 열을 가하거나 호모게나이저를 이용하여 제조할 수 있다.

[0032] 이 때, 호모게나이저는 고압호모게나이저, 초음파호모게나이저, 파쇄호모게나이저 등에서 선택되어 사용될 수 있다.

[0033] 본 발명의 지질 초기제제는 수성 유체가 없는 상태에서 지질 액상이며, 수성 유체의 존재하에서 액상결정을 형성하는 약제학적 조성물로, 본 발명의 초기제제는 주사, 도포, 적하, 패드, 경구, 분무 등에서 선택되는 방법으로 인체에 적용됨을 특징으로 하는 약제학적 조성물로서 주사제, 연고제, 겔제, 로오션제, 캡슐제, 정제, 액제, 현탁제, 분무제, 흡입제, 점안제, 점착제, 첩부제 등에 적용가능하다.

[0034] 특히 주사제 투여 경로로는 피하 주사, 근육 주사 중 어느 투여 형태도 가능하고, 투여 형태는 각각의 약리활성 물질의 특성에 의해서 선택된다.

[0035] 본 발명의 초기제제에 적용될 수 있는 약리활성 물질은 단백질, 펩티드, 백신, 유전자, 비-펩티드 호르몬(non-peptidic hormone), 합성의약품 중에서 1종 이상이 선택될 수 있다.

[0036] 상기 단백질 또는 펩티드는 에리스로포이에틴, 성장호르몬(인간, 돼지, 소 등), 성장 호르몬 방출인자, 신경 성장 인자, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, 혈액 응고 인자, 인슐린, 옥시토신, 바소프레신, 부신 피질 자극 호르몬, 표피 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 프로락틴, 성장억제 호르몬, 글루카곤, 인터루킨-2(IL-2), 인터루킨-11(IL-11), 가스트린, 테트라가스트린, 펜타가스트린, 유로가스트론, 세크레틴, 칼시토닌, 엔케팔린, 엔돌핀, 안지오텐신, 갑상선 자극 호르몬 방출 호르몬, 종양 괴사 인자, 종양 괴사 인자 관련 세포 자멸사 유발 리간드, 헤파린 분해효소, 골 형성 단백질, hANP, 글루카곤유사 펩티드, 레닌, 브라디키닌, 바시트라신, 폴리믹신, 콜리스틴, 티로시딘, 그라미시딘, 사이클로스포린 및 이들의 혼합물에서 선택될 수 있으며 폴리에틸렌글라이콜 접합 단백질 및 이들의 합성 아날로그, 단클론항체, 항체, 효소 및 사이토카인류 및 이들의 혼합물에서 선택될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0037] 상기 비-펩티드 호르몬은 단백질 또는 펩티드에 해당하지 않는 호르몬으로서, 테스토스테론, 에스트라디올, 프로게스테론, 프로스타글란딘, 피나스테리드, 두타스테리드 또는 이들의 합성 아날로그 및 이들의 혼합물에서 선택될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0038] 상기 유전자는 플라스미드 디엔에이, 에스아이알엔에이, 폴리뉴클레오타이드, 올리고디옥시뉴클레오타이드, 안티센스 올리고디옥시뉴클레오티드 및 이들의 혼합물 중에서 선택될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 합성 약물로서 타크로리무스, 아나스트로졸, 올란자핀, 아리피프라졸, 리스페리돈, 메드록시프로게스테론, 날트렉손, 메소트렉세이트, 로피니톨, 올로파타딘, 라타노프로스트, 아넥코르타브, 트립토렐린 파모에이트, 미녹실린, 티보론, 솔리페나신, 타다라필, 바레니클린, 로피니롤, 펜타닐, 케토티펜, 몬테루카스트 및 이들의 혼합물에서 선택될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0039] 이에 따라, 본 발명은 또한 본 발명의 지질 초기제제에 d) 단백질, 펩티드, 백신, 유전자, 비-펩티드 호르몬, 합성의약품 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 약리활성 물질을 추가로 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0040] 본 발명의 약제학적 조성물에 함유되는 지질 초기제제의 성분 a) 내지 c) 및 액상결정에 대한 설명은 앞서 설명한 바와 동일하다.

[0041] 또한, 본 발명의 약제학적 조성물에 함유되는 약리활성 물질인 성분 d) 역시, 지질 초기제제에서 설명한 바와 같다.

[0042] 본 발명의 약제학적 조성물은 주사제, 연고제, 겔제, 로션제, 캡슐제, 정제, 액제, 현탁제, 분무제, 흡입제, 점안제, 점착제, 첩부제 중에서 선택된 제형인 것이 바람직하며, 주사제가 보다 더 바람직하다.

[0043] 본 발명의 약제학적 조성물에서 약리학적 활성물질은 초기제제의 총중량에 0.0001 내지 90의 중량%를 일반적으로 함유할 수 있으나, 약리학적 활성물질의 종류, 적용되는 제제의 종류 및 의료업계에서 그 약리학적 활성물질에 대해 요하는 함량에 따라 달라질 수 있다.

[0044] 본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명의 초기제제에 약리학적 활성 물질을 실온에서 첨가하여 제조될 수 있으며 필요시 열을 가하거나 호모게나이저를 이용하여 제조될 수 있으나 본 발명이 여기에 한정되는 것은 아니다.

[0045] 본 발명의 약제학적 조성물의 투여량은 사용된 약리학적 활성물질의 공지된 투여량과 동일하며, 환자의 증상 정도, 연령, 성별 등에 따라 달라질 수 있으며 약물 및 약제의 특성에 따라 경구 및 비경구 투여가 가능하다.

[0046] 본 발명은, 본 발명의 약제학적 조성물을 인간을 포함한 포유류에게 투여함으로써 약리학적 활성물질을 서방성으로 방출시켜 이의 약리효과를 지속시키는 방법 및 용도를 추가로 제공한다.

발명의 효과

[0047] 본 발명의 지질 초기제제는 솔비탄 불포화지방산 에스터를 조성물로 하여 안전성과 생분해성을 현저히 향상시키며 수성유체가 없는 상태에서는 액상형태이며 수성유체 상인 체내에서는 신속하게 액상결정을 형성하므로, 투약이 용이하고 기존의 고형입자 형태의 서방성 제제와 비교하여 동통, 염증 등 부반응이 수반되지 않고 우수한 서방성 효과를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0048] [도 1]은 실시예 4와 5, 비교예 1내지 3의 in vivo에서의 생분해성을 나타낸 것이다.

[도 2]는 실시예 14의 약리학적 활성물질의 in vitro에서의 방출 거동을 나타낸 것이다.

[도 3]은 실시예 16 및 비교예 5의 약리학적 활성물질의 in vivo 방출 거동을 나타낸 것이다.

[도 4]는 실시예 4 및 비교예 4의 수성유체 상에서의 상변화 거동을 나타낸 것이다.

[도 5]는 실시예 4의 제제의 액상결정구조를 Cryo TEM 사진으로 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 이하, 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 구체적으로 설명한다. 단, 이들 실시예 및 실험예는 본 발명의 예시일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0050] 본 발명에서 사용된 첨가제는 약전규격의 부형제 및 Aldrich, Lipoid, Croda사로부터 구입한 시약으로 사용하였다.

[0051] <u>[실시예 1 내지 11] 본 발명의 지질 초기제제 제조</u>

[0052] 다음 [표 1]과 같은 중량으로 극성헤드기에 -OH기가 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터, 포스포리

피드와 액상결정 강화제 및 적용 용매를 첨가하였다. 실시예 1 내지 4는 25~45 ℃의 물중탕 환경에서 호모게나이저(PowerGen model125. Fisher)로 약 10 분간 약 3,000 rpm의 조건하에서 혼합하였고, 실시예 5 내지 6은 30~50 ℃의 물중탕 환경에서 3시간 교반하여 혼합 하였으며, 실시예 7 내지 11은 45~75 ℃의 물중탕 환경에서 호모게나이저로 약 20 분간 약 3,000 rpm의 조건하에서 균질화 하였다. 이후 제조된 지질 용액을 상온에서 방치하여 25 ℃ 열평형 상태로 만든 후 1CC 1회용 주사기에 충진 한 후 수상(2 g의 3차 증류수)에 주입하여, 실시예 1 내지 11의 지질 용액인 본 발명의 초기제제를 제조하였다.

[0053] [표 1]

[0054]

(단위: mg)	실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4	실시예 5	실시예 6	실시예 7	실시예 8	실시예 9	실시예 10	실시예 11
솔비탄 모노올레이트	40	50	60	60	40	65					
솔비탄 세스퀴올레이트							40	50	60	60	65
포스파티딜콜린	55			35	48		55			30	
포스파티딜에탄올아민		42.5				25		42.5			25
포스파티딜세린			32.5						32.5		
트리글리세리드	5	7.5					5	7.5			
레티닐 팔미테이트			7.5						7.5		
토코페롤 아세테이트				5						10	
벤질 벤조에이트					7						
콜레스테롤						5					5
에탄올					5	5					5
수상에서의 형태	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성	액상결정형성

[0055] <u>[실시예 12 내지 21] 약리학적 활성 물질을 함유한 본 발명의 약제학적 조성물 제조</u>

[0056] 다음 [표 2]와 같은 중량비로 극성헤드기에 -OH기가 적어도 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터, 포스포리피드와 액상결정 강화제를 첨가하였다.

[0057] 실시예 12 내지 15는 30~60 ℃의 물중탕 환경에서 호모게나이저(PowerGen model125. Fisher)로 약 10 분간 약 3,000 rpm의 조건하에서 균질화 하였고, 실시예 16 내지 21은 25~50 ℃의 물중탕 환경에서 호모게나이저로 약 5 분간 약 3,000 rpm의 조건하에서 균질화 하였다. 그리고 제조된 지질 용액을 상온에서 방치하여 25 ℃ 열평형 상태로 만든 후 여기에 약리학적 활성물질로서 유전자 약물인 에스아이알엔에이(바이오니아), 형광접합 에스아이알엔에이(인비트로젠, Block-iT Fluorescent oligo), 펩타이드 약물인 엑세나타이드(Teva), 합성 약물인 탐술로신(Lekpharmaceuticals)을 각각 첨가하여 호모게나이저로 약 5분간 약 3,000 rpm의 조건하에서 균질화하여 용액상의 약제학적 조성물을 제조하였다. 단, 여기서 유전자 약물(에스아이알엔에이, 형광접합 에스아이알엔에이)은 [표 2]에 기재된 양(mg)으로 미리 정제수에 용해된 키토산과 1시간 교반하여 복합체를 만든 형태로 사용하였다.

[0058] [표 2]

(단위: mg)	실시예 12	실시예 13	실시예 14	실시예 15	실시예 16	실시예 17
에스아이알엔에이/키토산	0.02/0.4	0.02/0.4				
형광접합 에스알엔에이/키토산			0.02/0.4	0.02/0.4		
엑세나타이드					0.13	0.13
솔비탄 모노올레이트	49		49		44	
솔비탄 세스퀴올레이트		59		59		54
포스파티딜콜린	46		46		46	
포스파티딜에탄올아민		36		36		36
토코페롤 아세테이트	5		5		10	
벤질 벤조에이트		5		5		10

(단위:mg)	실시예 18	실시예 19	실시예 20	실시예 21
두타스테리드	0.5	0.5		
탐술로신			0.2	0.2
솔비탄 모노올레이트	49		45	
솔비탄 세스퀴올레이트		59		35
포스파티딜콜린	46		40	
포스파티딜에탄올아민		36		50
토코페롤 아세테이트	5		15	
레티닐 팔미테이트		5		15

[0059]

[0060] [비교예 1 내지 4]

[0061] 비교예 1 내지 3의 제제는 [표 3]과 같은 중량으로 디아실 글리세리드의 종류인 디올레일 글리세리드와 포스파티딜콜린, 토코페롤, 에탄올을 각각 첨가하고 호모게나이저(PowerGen model125. Fisher)로 약 10 분간 약 3,000 rpm의 조건하에서 균질화하여 제조하였다.

[0062] 비교예 4의 제제는 [표 3]과 같은 중량으로 폴리옥시에틸렌 솔비탄모노올레이트, 포스파티딜콜린과 토코페롤아세테이트를 첨가하고 호모게나이저로 약 30 분간 약 3,000 rpm의 조건하에서 균질화하여 제조하였다. 여기서 폴리옥시에틸렌 솔비탄모노올레이트는 솔비탄 극성 헤드기의 -OH기가 폴리옥시에틸렌으로 치환된 것으로, 본 발명의 솔비탄모노올레이트와 다른 물질이며, 폴리옥시에틸렌의 특성을 이용하여 친수성 계면활성제로 사용되는 물질이다.

[0063] [표 3]

(단위 mg)	비교예 1	비교예 2	비교예 3	비교예 4
글리세린 디올레이트	65	55	52.5	-
폴리옥시에틸렌 솔비탄모노올레이트	-	-	-	60
토코페롤	-	-	7.5	-
토코페롤 아세테이트	-	-	-	10
포스파티딜콜린	35	35	30	30
에탄올	-	10	10	-

[0064]

[0065] [비교예 5]

[0066] 비교예 5의 제제는 20 μg의 엑세나타이드를 1 mL의 생리 식염수에 첨가하고 실온에서 용해시켜 제조하였다.

[0067] [실험예 1] in vitro 안전성 (safety) 효과 비교

[0068] 다음과 같은 Extraction Colony Assay 세포독성실험을 통하여 in vitro 상에서의 본 발명의 조성물의 안전성 효과를 확인하였다. 실시예 1, 실시예 4, 비교예 1 및 비교예 2의 조성물 각각 2g을 10 % Fetal bovine serum이 함유된 EMEM (Eagle's minimum essential medium)배지 18ml에서 추출하였다. L929세포(Mouse fibroblast,

American Type Culture) 1x10^{2}개를 6 well에 24시간 37℃, 5% 이산화탄소 습윤 인큐베이터에서 안정화시킨 후, 상기 추출배지를 EMEM 배지로 희석하여(0, 5, 25, 50%) 2 ml씩 안정화시킨 L929세포에 도포하였다. 이 후, 이를 7일간 37 ℃, 5 % 이산화탄소 습윤 인큐베이터에서 배양한 후 10 % formalin solution으로 고정시키고, Giemsa stain solution으로 세포 염색을 실행하여 colony 수를 측정하였으며, 그 결과는 [표 4]와 같다.

[0069] [표 4]

	Relative colony formation rates(%)*			
추출배지 (v/v) % **	실시예 1	실시예 4	비교예 1	비교예 2
0 % 배지 (control)	100.0	100.0	100.0	100.0
5 % 배지	100.0	96.6	71.4	72.2
25 % 배지	66.7	72.4	23.8	27.8
50 % 배지	11.1	17.2	0.0	0.0

* Relative colony formation rates(%) = 시험 배지의 colony수/0% 배지의 colony수 X 100(%)

[0070] ** 추출배지 % = 추출배지/(희색배지+ 추출배지) X 100(%)

[0071] [표 4]의 결과를 통하여 추출된 배지의 희석비율을 5%, 25%, 50%의 비율로 높여가며 배양된 colony formation rates를 관찰할 때, 실시예 1과 4의 투여군이 비교예 1 내지 2의 투여군 보다 현저한 세포 성장률을 나타내었다. 따라서, 본 발명의 조성물(지질 초기 제제)이 국제공개특허 WO 2005/117830(비교예 1 또는 2)에 공지된 조성물에 비하여 매우 우수한 안전성을 가짐이 확인된다.

[0072] <u>[실험예 2] in vivo에서의 생분해성 효과 비교</u>

[0073] 다음과 같은 실험을 통하여 본 발명의 조성물의 생분해성 효과를 확인하였다. 400 mg의 실시예 4와 5의 조성물을 주사기에 충진하여 SD 랫트의 등에 피하주사 한 후 일정 시간동안 관찰하였다. 생분해성 효과의 비교를 위하여 비교예 1 내지 3을 동일한 방법으로 시행하였으며, 피하주사 2주 후의 사진 결과는 [도 1]과 같다.

[0074] [도 1]의 결과와 같이, 실시예 4와 5의 투여군은 대부분 생분해되어, 이물감이 거의 없는 것으로 육안 관찰되었으나, 비교예 1 내지 3은 처음 크기의 약 1/3 내지 2/3 가량이 남아있었다.

[0075] 즉, 실시예 4 및 5의 조성물은 비교예 1 내지 3(공개특허 WO 2005/117830의 조성물) 조성물 투여군 보다 현저히 우수한 생분해성을 나타내었다.

[0076] 참고로, 기존에 주로 사용되는 서방성 제제인 PLGA [poly(lactic-co-glycolic acid)] 또한, 2 내지 3개월이 경과하여도 생분해되지 않고 존재하는 것으로 알려져 있다.

[0077] 따라서, 본 발명의 지질 초기제제는 기존 서방형 제제의 분해속도가 늦어 약물 방출이 다 이루어진 뒤에도 전달체가 체내에 계속 남아 있게 되는 문제를 해결할 수 있는 이점이 있다.

[0078] <u>[실험예 3] in vitro에서의 서방성 효과 확인</u>

[0079] 다음과 같은 실험을 통하여 in vitro 상에서의 본 발명 조성물의 약물 방출 거동을 확인하였다. 전립선암 세포(Prostate cancer-3, 한국세포주은행) 5x10^{4}개를 trans well에 2일간 37 ℃, 5 % 이산화탄소 습윤 인큐베이터에서 안정화시킨 후, 100 mg의 실시예 14의 조성물을 10 % Fetal bovine serum이 함유된 RPMI 1640 배지 3 ml가 들어있는 insert에 넣었다. 24시간 간격으로 7일간 insert를 trans well에 옮기면서 실시예 14에서 방출된 형광을 형광현미경(Eclipse Ti-S, Nikon) 측정도구를 이용하여 측정하였으며 그 결과는 [도 2]와 같다.

[0080] [도 2]에서 왼쪽 사진은 미분간섭 (DIC) 나타내며, 오른쪽 사진은 형광접합 siRNA의 세포내 이입을 나타낸다. [도 2]의 결과를 통하여 본 발명의 조성물에서 약리활성 물질은 최소 7일 이상 지속적으로 방출됨을 관찰할 수 있었다.

[0081] <u>[실험예 4] in vivo에서의 서방성 효과 확인</u>

[0082] 다음과 같은 실험을 통하여 in vivo 상에서의 본 발명 조성물의 약물 방출 거동을 확인하였다. 실시예 16의 조성물을 투여중량이 엑세나타이드가 140 μg/kg이 되도록 일회용 주사기를 이용하여 평균 300 g의 9주령 SD 랫트

(수컷) 6마리의 등 피하로 주사하였다.

[0083] SD 랫트의 혈장 샘플에서 엑세나타이드의 농도를 상용 키트(immunoassay kit, Bachem)를 사용하여 14일간 PK 프로파일(pharmacokinetic profile)을 [도 3]과 같이 분석하였다. 일반 주사제의 PK 프로파일 비교를 위하여 비교예 5의 조성물을 투여중량이 엑세나타이드로서 10 μg/kg이 되도록 동일한 방법으로 투여하였다. {여기서 실시예 16 조성물의 엑세나타이드 투여량을 비교예 5에 비하여 14배로 투여한 이유는 일반 엑세나타이드 주사제가 1일 2회 주사되므로 1주(7일) 제형의 경우 일반주사제 투여량의 14배에 해당하기 때문이다.}

[0084] 그 결과 실시예 16의 조성물은 [도 3]과 같이 일반적인 주사액 형태인 비교예 1의 조성물에 비하여 생리학적 활성물질의 체내 반감기를 약 25 배 증가시키는 우수한 서방 효과를 나타내었다(도 3의 결과는 실험에 사용한 쥐 6마리에 대한 평균값을 기재한 것이다).

[0085] [실험예 5] in vivo에서의 약리 효과 확인

[0086] 다음과 같은 실험을 통하여 in vivo 상에서의 본 발명 조성물의 약리 효과를 확인하였다. 체중 감량 효과가 있는 약리활성 물질인 엑세나타이드(항당뇨제)를 함유한 실시예 16의 조성물을 투여중량이 엑세나타이드가 140 μg/kg이 되도록 일회용 주사기를 이용하여 평균 300 g의 9주령 SD 랫트(수컷) 6마리의 등 피하로 주사한 후, 시험 시작 0일째와 14일째의 평균 몸무게를 측정하였으며, 그 결과는 [표 5]와 같다.

[0087] [표 5]

(단위 g)	실시예 16	생리식염수 투여군
0일	303	308
14일	356	379
무게변화(%)*	75	100

(* 무게변화(%) = 실시예 투여군의 무게변화(g)/생리식염수 투여군의 무게변화(g) X 100(%) 식을 이용하여 계산)

[0088]

[0089] [표 5]와 같이 2주간 체중을 비교 관찰하였을 때, 실시예 16 투여군이 생리식염수 투여군에 비해 약 25 % 이상 감량되었다. 따라서, 본 발명의 서방성 조성물은 in vivo PK 프로파일을 통해 약물이 서방화 될 뿐 아니라 실질적인 효력에서도 in vivo 약효가 지속될 수 있음이 확인되었다.

[0090] [실험예 6] 수성유체 상에서의 액상결정(liquid crystal) 확인

[0091] 다음과 같은 실험을 통하여 본 발명의 조성물의 수성유체 상에서의 액상결정(liquid crystal)이 형성됨을 확인하였다. 액상의 실시예 4와 비교예 4의 조성물을 주사기에 충진하여, 2 g의 PBS (pH 7.4)에 주사하였으며 그 결과는 [도 4]와 같았다.

[0092] 극성헤드기에 -OH(Hydroxyl)기가 적어도 2개 이상 존재하는 솔비탄 불포화지방산 에스터 (솔비탄 모노올레이트)를 조성물로 하는 실시예 4는 주사 전 수성유체가 없는 상태에서 지질 액상이며 주사 후 수성유체 상에서 액상결정을 형성하였고, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 불포화지방산 에스터 (폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노올레이트)를 조성물로 하는 비교예 4는 주사 전 수성유체가 없는 상태에서 지질 액상이며, 주사 후 수성유체 상에서 액상결정이 전혀 형성되지 못하고 분산되었다. 따라서 본 발명의 서방성 조성물은 수성유체가 없는 상태에서는 액상 형태이며 수성유체 상인 체내에서는 우수한 서방성 효과를 나타낼 수 있는 액상결정을 신속하게 형성하므로, 서방성 의약품 제제에 활용이 가능하다.

[0093] 이러한 액상결정의 내부에는 뫼비우스의 띠와 같이 불연속적이고 나노크기 (20nm 이하) 직경의 무수히 많은 수통로 (water channel)가 존재하며 이들 수통로들은 지질층으로 둘러싸인 형태를 취하고 있다. 따라서 특정 지질 조성물이 액상결정을 형성하여 반고형의 성상을 가지게 되면, 약물이 이 내부로부터 방출되기 위해서는 무수히 많은 수층과 지질층을 통과하여야 하기 때문에 뛰어난 서방효과를 나타내게 된다.

[0094] [실험예 7] Cryo TEM을 이용한 액상결정(liquid crystal) 의 내부구조 확인

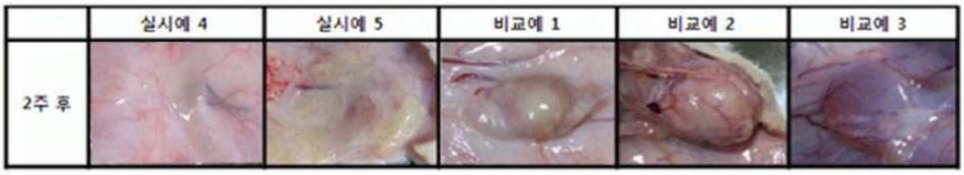
[0095] 다음과 같은 실험을 통하여 본 발명의 조성물이 이루는 액상결정(liquid crystal)의 내부 구조를 확인하였다. 액상의 실시예 4의 조성물을 주사기에 충진하여 2 g의 물에 주사하여 액상구조를 형성하였다. 구조 분석을 위한

호모게나이저를 이용하여 희석시켜 수상 내에 있는 액상결정을 충분히 분산시키고 분석 전까지 상온에서 평형상태를 유지하였다. 제조한 희석된 액상결정을 grid에 흡착시키고 냉동시킨 후, cryo Transmission Electron Microscopy(Cryo TecaiF20G2, FEI)으로 구조를 확인하였으며 결과는 [도5]와 같다.

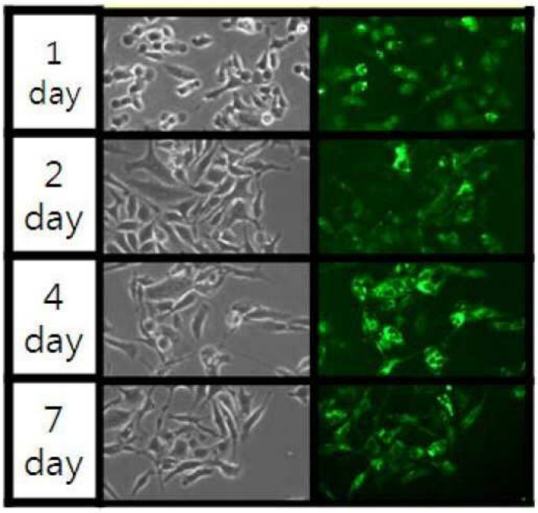
[0096] 그 결과 [도5]의 사진과 같이 큐빅상(cubic phase) 또는 헥사고널상(hexagonal phase)과 같은 액상결정구조를 이루는 것을 확인하였다. 일반적으로 층상구조(lamellar structure)에 해당되는 미셀이나 에멀젼, 마이크로에멀젼, 리포좀 등은 수상유체 상에서 완전한 구형의 성상을 전형적으로 가지지만 비층상구조(non-lamellar structure)에 해당되는 액상결정은 각(angle)을 가지는 규칙적인 형태를 나타내어 일반적인 구형과 완전히 구분된다.

도면

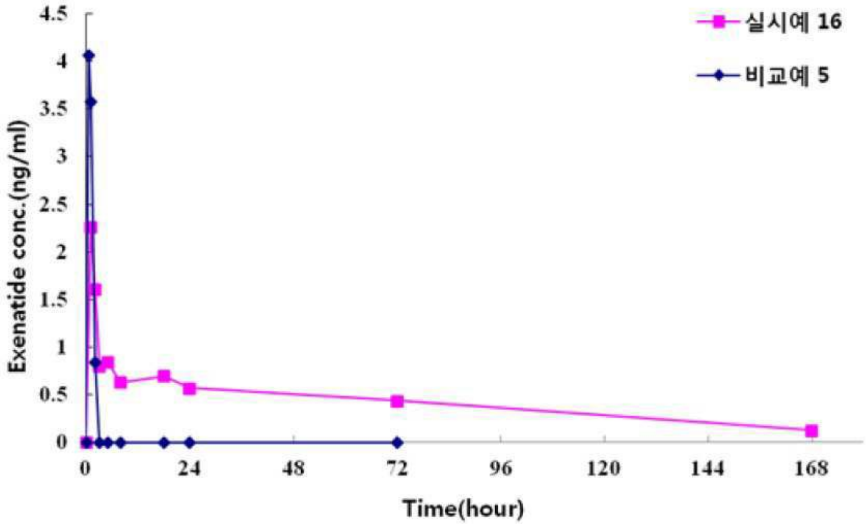
도면1



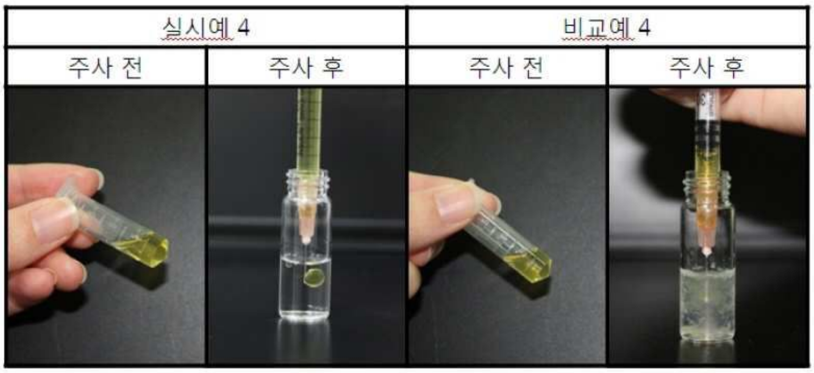
도면2



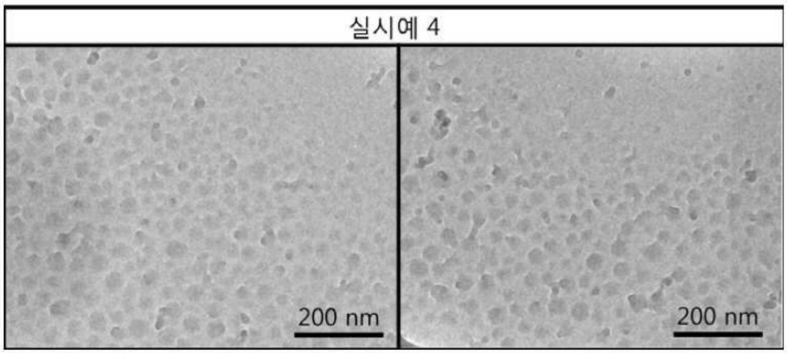
도면3


실시예 16
비교예 5
Exenatide conc.(ng/ml)
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0
24
48
72
96
120
144
168
Time(hour)

도면4


실시예 4
비교예 4
주사 전
주사 후
주사 전
주사 후

도면5


실시예 4
200 nm
200 nm