

명세서

발명의 명칭: 사이클로스포린 및 멘톨 함유 나노 에멀전 점안 조성물 및 그의 제조 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 사이클로스포린, 캐스터 오일, 친수성 유화제, 소수성 유화제 및 멘톨을 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 사이클로스포린은 물에 거의 녹지 않는 난용성 약물로 사이클로스포린을 포함하는 수용성 약제 조성물을 제조하는 것은 매우 어렵다. 현재까지 수용성 매체 및 비수용성 매체를 이용하여 사이클로스포린을 함유하는 제약 조성물을 제조하기 위해 많은 노력이 행해졌다. 예컨대, 사이클로스포린을 유효성분으로 하는 안구건조증 치료용 점안제로서 레스타시스(Restasis)®가 시판되어 있으나, 레스타시스®는 유색의 불투명한 에멀전 제형의 제품으로 시야흐림, 이물감, 작열감 등을 유발하는 단점이 있다.
- [3] 상기 단점을 개선한 나노 에멀전 제형의 점안제가 대한민국 특허 제1492447호로 개발되었다. 상기 특허 문헌에는 사이클로스포린, 캐스터 오일, 폴리옥실 35캐스터 오일, 폴리에틸렌글리콜 및 프로필렌글리콜을 포함하며, 안정한 나노 에멀전 제조를 위해 캐스터 오일의 함량이 사이클로스포린의 8배 이상인 것을 특징으로 하는 나노 에멀전 조성물이 개시되어 있다.
- [4] 상기 점안제들은 사이클로스포린을 0.05%의 농도로 포함하는 1일 2회 투여 점안제로, 투여 횟수를 줄여 복용 순응도를 높인 고농도의 사이클로스포린을 포함하는 조성물을 제공할 필요가 있다. 그러나 사이클로스포린은 투여 시 안자극감을 일으키는 성분으로, 함량 증가에 따라 자극감도 더 커지는 문제가 있다. 또한, 난용성의 사이클로스포린을 안정한 나노 에멀전으로 제조하기 위해서는 사이클로스포린 함량 증가에 따라 오일 성분의 함량을 증가시켜야 하는데, 오일 등의 비수용성제를 과량으로 포함할 경우, 점안 시 안 자극감을 포함한 통증 및 시야 혼탁을 유발할 수 있는 문제가 있다.
- [5] 따라서 사이클로스포린의 함량을 높이면서도 안정성을 유지 및 개선하고, 안 자극감을 개선할 수 있는 새로운 점안제의 개발이 필요하다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명의 과제는 안정성, 생체이용률 및 안 자극감을 개선한 사이클로스포린 함유 나노 에멀전 점안 조성물 및 그 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명은 사이클로스포린, 캐스터 오일, 친수성 유화제, 소수성 유화제 및 멘톨을 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다. 본 발명의 나노 에멀전

점안 조성물은 우수한 안정성(특히, 보관 안정성) 및 투명한 성상을 갖고, 점안 시 안 자극감을 포함한 통증이 낮고 시야 혼탁을 유발하지 않는다.

- [8] 본 발명은 사이클로스포린, 캐스터 오일, 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제, 멘톨 및 수성 용제를 포함하는 안정한 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [9] 본 발명에서, “사이클로스포린(Cyclosporine)”은 나노 에멀전 점안 조성물의 유효성분으로, 바람직하게는 사이클로스포린 A 또는 이의 유도체일 수 있다.
- [10] 사이클로스포린은 안구 건조를 개선하기 위한 목적을 달성하기 위하여 치료적으로 유효한 양으로 함유될 수 있으며, 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서 사이클로스포린은 0.01 w/v% 이상, 구체적으로 0.03 w/v% 이상, 더 구체적으로 0.05 w/v% 이상, 보다 구체적으로 0.07 w/v% 이상, 보다 더 구체적으로 0.08 w/v% 이상 포함될 수 있고, 0.5 w/v% 이하, 구체적으로 0.2 w/v% 이하, 보다 구체적으로 0.1 w/v% 이하로 포함될 수 있다. 예컨대, 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서 사이클로스포린의 함량은 0.01 w/v% 내지 0.5 w/v%, 0.01 w/v% 내지 0.2 w/v%, 0.01 w/v% 내지 0.1 w/v%, 0.03 w/v% 내지 0.5 w/v%, 0.03 w/v% 내지 0.2 w/v%, 0.03 w/v% 내지 0.1 w/v%, 0.05 w/v% 내지 0.5 w/v%, 0.05 w/v% 내지 0.2 w/v%, 0.05 w/v% 내지 0.1 w/v%, 0.07 w/v% 내지 0.5 w/v%, 0.07 w/v% 내지 0.2 w/v%, 0.07 w/v% 내지 0.1 w/v%, 0.08 w/v% 내지 0.5 w/v%, 0.08 w/v% 내지 0.2 w/v% 또는 0.08 w/v% 내지 0.1 w/v% 일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 구체적으로는 사이클로스포린의 함량은 0.07 w/v% 내지 0.2 w/v%, 보다 구체적으로는 0.07 w/v% 내지 0.1 w/v%, 보다 더 구체적으로는 0.08 w/v% 내지 0.1 w/v% 일 수 있다. 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서 사이클로스포린은 0.05 w/v%, 0.08 w/v%, 또는 0.1 w/v%로 포함될 수 있다.
- [11] 본 발명의 조성물은 비수성 용제로 캐스터 오일을 포함한다. 캐스터 오일은 예컨대 제품명 캐스터 오일(Castor oil, ITHO oil chem사, 일본)로 시판되는 것을 사용할 수 있다. 캐스터 오일은 안구 표면상의 눈물 증발을 감소시키고, 다른 오일류에 비해 퍼짐 능력이 우수하여 눈물샘의 마이봄선(Meibomian gland) 기능장애 등의 안구 건조 치료에 도움이 된다.
- [12] 그러나, 캐스터 오일은 안 자극감을 포함한 통증 및 시야 혼탁을 유발할 수 있다. 따라서 본 발명의 조성물에 포함되는 캐스터 오일은 사이클로스포린을 잘 용해시킬 수 있으면서 안구 이상 반응을 최소화 할 수 있는 최소 농도로 사용되는 것이 바람직하며, 또한, 이를 통해 오일상을 안정화시키기 위해 사용되는 유화제의 양도 최소화 할 수 있어 기존 사이클로스포린 에멀전보다 안전한 안과용 나노 에멀전 조성물을 제공할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 나노에멀전 점안 조성물 중 사이클로스포린 및 캐스터 오일의

함량비(w:w)는 1 : 2.5 이상, 1 : 2.5 초과, 1 : 3 이상일 수 있고, 1 : 8 미만, 특히 1 : 5 미만일 수 있으며, 1 : 4.7 이하일 수 있다. 일 실시예에서, 본 발명의 나노에멀전 점안 조성물 중 사이클로스포린 및 캐스터 오일의 함량비(w:w)는 1 : 3 이상 1 : 5 미만일 수 있고, 구체적으로 1 : 3 이상 1 : 4.7 이하일 수 있다. 본 발명자들은 난용성의 사이클로스포린을 안정한 나노 에멀전으로 제조하기 위해 필요한 캐스터 오일의 함량을 사이클로스포린 함량의 8배 미만, 특히 5배 미만으로 줄임으로써, 캐스터오일로 인한 안 자극감을 포함한 통증 및 시야 혼탁 유발을 최소화하였다.

- [13] 구체적으로, 본 발명에서, 캐스터 오일의 함량은 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 2.5배 초과, 3배 이상일 수 있다. 본 발명에서, 캐스터 오일의 함량은 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 4.1배 일 수 있다. 본 발명에서, 캐스터 오일의 함량은 조성물의 총 함량 대하여 0.2 w/v% 이상, 0.2 w/v% 초과일 수 있으며, 구체적으로 0.25 w/v% 이상, 보다 구체적으로 0.3 w/v% 이상일 수 있다. 또한, 본 발명에서, 캐스터 오일의 함량은 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 5배 미만일 수 있으며, 4.7배 이하일 수 있다. 또한, 본 발명에서, 캐스터 오일의 함량은 조성물의 총 함량 대하여 0.4 w/v% 미만, 0.375 w/v% 이하일 수 있다. 본 발명에서, 캐스터 오일의 함량은 0.325 w/v% 일 수 있다.
- [14] 본 발명의 일 실시예에서, 캐스터 오일의 함량은 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 3배 이상 5배 미만, 3배 이상 4.7배 이하, 예를 들어 4.1배 일 수 있다. 예컨대, 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서, 캐스터 오일의 함량은 0.2 w/v% 초과 0.4 w/v% 미만, 0.2 w/v% 초과 0.375 w/v% 이하, 0.25 w/v% 이상 0.4 w/v% 미만, 0.25 w/v% 이상 0.375 w/v% 이하, 0.3 w/v% 이상 0.4 w/v% 미만, 0.3 w/v% 이상 0.375 w/v% 이하, 0.325 w/v% 일 수 있다. 예컨대, 본 발명에서, 캐스터 오일의 함량은 0.2 w/v% 초과이고 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 5배 미만, 0.25 w/v% 이상이고 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 5배 미만, 0.3 w/v% 이상이고 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 5배 미만, 0.2 w/v% 초과이고 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하, 0.25 w/v% 이상이고 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하, 0.3 w/v% 이상이고 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하, 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 3배 이상이고 0.4 w/v% 미만, 조성물에 포함되는 사이클로스포린 함량의 3배 이상이고 0.375 w/v% 이하일 수 있다.
- [15] 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물은 수성용제 안의 캐스터 오일의 유화를 돕는 유화제 1종 이상을 포함한다. 유화제의 선택은 캐스터 오일의 Required HLB 값에 따라, 각 유화제가 가지는 HLB 값의 비율을 맞추어 1종 이상 선택할 수 있다. 유화제는 HLB(Hydrophilic-Lipophilic Balance) 값이 적어도 8, 특히 10 이상인 친수성 유화제에서 1종 이상, HLB 값이 8 미만, 특히 6 이하인 소수성 유화제에서 1종 이상을 선택할 수 있다. 본 발명의 유화제는 친수성 유화제,

소수성 유화제 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는, 나노 에멀전 조성물의 평균 입자 크기, 입자 분포 및 안정성 개선을 위해 친수성 유화제와 소수성 유화제를 조합하여 사용하는 것을 특징으로 한다.

- [16] 본 발명에서, 친수성 유화제는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일일 수 있으며, 바람직하게는 폴리옥실 35 캐스터 오일 일 수 있고 이는 제품명 크레모포어 EL™로 시판되고 있다. 상기 친수성 유화제의 함량은 조성물 총 함량에 대하여 1 내지 5 w/v%일 수 있다.
- [17] 본 발명에서 친수성 유화제의 함량은 1.4 w/v% 이상, 1.4 w/v% 초과, 1.5 w/v% 이상, 1.5 w/v% 초과, 1.6 w/v% 이상, 1.8 w/v% 이상일 수 있다. 본 발명에서 친수성 유화제의 함량은 5 w/v% 이하, 4.5 w/v% 이하, 4 w/v% 이하일 수 있다.
- [18] 예컨대, 본 발명에서 친수성 유화제의 함량은 1.4 w/v% 초과 5 w/v% 이하, 1.4 w/v% 초과 4.5 w/v% 이하, 1.4 w/v% 초과 4 w/v% 이하, 1.5 w/v% 이상 5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 이상 4.5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 이상 4 w/v% 이하, 1.5 w/v% 초과 5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 초과 4.5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 초과 4 w/v% 이하, 1.6 w/v% 이상 5 w/v% 이하, 1.6 w/v% 이상 4.5 w/v% 이하, 1.6 w/v% 이상 4 w/v% 이하, 1.8 w/v% 이상 5 w/v% 이하, 1.8 w/v% 이상 4.5 w/v% 이하, 1.8 w/v% 이상 4 w/v% 이하 일 수 있다.
- [19] 친수성 유화제가 본 발명의 나노 에멀전 조성물에 상기와 같은 함량으로 포함되는 경우, 보다 용이하게 평균입자 크기가 1 nm 내지 100 nm 인 안정한 나노 에멀전을 형성할 수 있으며, 친수성 유화제가 5 w/v% 이하로 포함되므로 우수한 점안감을 나타낼 수 있다.
- [20] 한편, 본 발명의 소수성 유화제는 이온성 또는 비이온성일 수 있으나, 바람직하게는 비이온성이다. 소수성 유화제로서 폴리에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있으며, 이들은 각각 제품명 Super refined PEG 300™, Super refined PEG 400™, Super refined PEG 600™(Croda), 프로필렌글리콜(Merck)로서 시판되고 있다. 상기 소수성 유화제의 함량은 0.1 내지 5 w/v% 일 수 있다.
- [21] 구체적으로, 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서 소수성 유화제의 함량은 0.2 w/v% 이상일 수 있고, 구체적으로 0.2 w/v% 초과일 수 있으며, 더 구체적으로 0.3 w/v% 이상일 수 있고, 보다 구체적으로 0.4 w/v% 이상, 0.5 w/v% 이상, 보다 더 구체적으로 0.7 w/v% 이상일 수 있다. 또한, 본 발명에서 소수성 유화제의 함량은 5 w/v% 이하, 구체적으로 4.5 w/v% 이하, 더 구체적으로 4 w/v% 이하일 수 있다.
- [22] 예컨대, 본 발명에서 소수성 유화제의 함량은 0.2 w/v% 내지 5 w/v%, 0.2 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.2 w/v% 내지 4 w/v%, 0.2 w/v% 초과 5 w/v% 이하, 0.2 w/v% 초과 4.5 w/v% 이하, 0.2 w/v% 초과 4 w/v% 이하, 0.3 w/v% 내지 5 w/v%, 0.3 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.3 w/v% 내지 4 w/v%, 0.4 w/v% 내지 5 w/v%, 0.4 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.4 w/v% 내지 4 w/v%, 0.5 w/v% 내지 5 w/v%, 0.5 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.5 w/v%

내지 4 w/v%, 0.7 w/v% 내지 5 w/v%, 0.7 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.7 w/v% 내지 4 w/v% 일 수 있다.

- [23] 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물은 구체적으로, 1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일 및 0.1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제를 포함한다.
- [24] 더 구체적으로는, 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서, 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일의 함량은 1.4 w/v% 초과 5 w/v% 이하, 1.4 w/v% 초과 4.5 w/v% 이하, 1.4 w/v% 초과 4 w/v% 이하, 1.5 w/v% 이상 5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 이상 4.5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 이상 4 w/v% 이하, 1.5 w/v% 초과 5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 초과 4.5 w/v% 이하, 1.5 w/v% 초과 4 w/v% 이하, 1.6 w/v% 이상 5 w/v% 이하, 1.6 w/v% 이상 4.5 w/v% 이하, 1.6 w/v% 이상 4 w/v% 이하, 1.8 w/v% 이상 5 w/v% 이하, 1.8 w/v% 이상 4.5 w/v% 이하, 1.8 w/v% 이상 4 w/v% 이하 일 수 있고, 상기 소수성 유화제의 함량은 0.2 w/v% 내지 5 w/v%, 0.2 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.2 w/v% 내지 4 w/v%, 0.2 w/v% 초과 5 w/v% 이하, 0.2 w/v% 초과 4.5 w/v% 이하, 0.2 w/v% 초과 4 w/v% 이하, 0.3 w/v% 내지 5 w/v%, 0.3 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.3 w/v% 내지 4 w/v%, 0.4 w/v% 내지 5 w/v%, 0.4 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.4 w/v% 내지 4 w/v%, 0.5 w/v% 내지 5 w/v%, 0.5 w/v% 내지 4.5 w/v%, 0.5 w/v% 내지 4 w/v%, 0.7 w/v% 내지 5 w/v%, 0.7 w/v% 내지 4.5 w/v%, 또는 0.7 w/v% 내지 4 w/v% 일 수 있다.
- [25] 본 발명자들은 나노 에멀전 조성물에 멘톨을 첨가함으로써 나노 에멀전 점안 조성물의 사이클로스포린 농도를 증가시키면서도, 나노 에멀전 조성물의 안정성을 유지 또는 개선하고, 캐스터 오일의 함량을 사이클로스포린 함량의 8배 미만, 예를 들어 5배 미만으로 유지할 수 있음을 발견하였다. 일반적으로 캐스터 오일 함량이 증가하면 안 자극감이 증가하는 부작용이 발생할 수 있다. 그러나, 본 발명에 따른 나노 에멀전 점안 조성물은 조성물 내 캐스터 오일의 함량을 사이클로스포린 함량의 8배 미만, 예를 들어 5배 미만으로 제한하였음에도 난용성의 사이클로스포린을 잘 용해시키면서도 향상된 보관 안정성을 보이며, 우수한 생체 이용률을 보이고, 안구 자극감과 이물감 및 시야 흐림에 대한 부작용이 해소 또는 완화 된다.
- [26] 구체적으로, 본 발명자는, 나노 에멀전 조성물에 멘톨을 첨가함으로써 가혹 조건에서도 사이클로스포린 함량 감소폭이 현저히 적으며 입자크기가 안정하게 유지된다는 점에서 사이클로스포린 나노 에멀전 조성물의 보관 안정성이 개선되었음을 확인하였다. 특히, 본 발명자들은 나노 에멀전 조성물에 멘톨이 포함되지 않을 경우 안정성이 떨어짐을 확인하여 멘톨이 안정성 유지에 필수적임을 확인하였으며, 나노 에멀전 조성물에 함유된 멘톨 함량이 너무 과량일 경우 오히려 사이클로스포린 나노 에멀전 조성물 안정화 효과가 떨어짐을 확인하여, 조성물 내 최적의 멘톨 함량이 사이클로스포린 나노 에멀전 조성물의 안정성 유지에 필수적임을 최초로 확인하였다. 또한, 멘톨을 0.1 w/v%

미만의 함량, 예를 들어 0.01 w/v% 이하의 함량으로 포함하는 경우 우수한 점안감을 나타냄을 확인하였다.

- [27] 본 발명에서, 멘톨의 함량은 0.001 w/v% 이상일 수 있고, 구체적으로 0.002 w/v% 이상 일 수 있다. 본 발명에서, 멘톨의 함량은 0.1 w/v% 미만일 수 있고, 구체적으로 0.05 w/v% 이하, 0.01 w/v% 이하일 수 있으며, 보다 구체적으로 0.005 w/v% 이하일 수 있다.
- [28] 예컨대, 본 발명에서 멘톨의 함량은, 0.001 w/v% 이상 0.1 w/v% 미만, 0.001 w/v% 내지 0.05 w/v%, 0.001 w/v% 내지 0.01 w/v%, 0.001 w/v% 내지 0.005 w/v%, 0.002 w/v% 이상 0.1 w/v% 미만, 0.002 w/v% 내지 0.05 w/v%, 0.002 w/v% 내지 0.01 w/v%, 0.002 w/v% 내지 0.005 w/v%, 0.0025 w/v% 일 수 있다.
- [29] 본 발명은 상기에서 설명한 함량들의 사이클로스포린, 캐스터 오일, 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제, 멘톨 및 수성 용제를 혼합하여 제조한 안정한 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [30] 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명은 0.03 내지 0.5 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.2 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 8배 미만으로 포함되는 캐스터 오일; 1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 0.001 w/v% 이상, 0.1 w/v% 미만으로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [31] 본 발명의 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.07 내지 0.2 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상이며 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만으로 포함되는 캐스터 오일; 1.4 w/v% 초과 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.2 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.05 w/v%로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [32] 본 발명의 또 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.07 내지 0.2 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상이며 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만인 캐스터 오일; 1.5 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.3 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 w/v% 이상 0.1 w/v% 미만의 멘톨; 및 수성 용제를 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [33] 본 발명의 또 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.08 내지 0.1 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만으로 포함되는 캐스터 오일; 1.5 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.3 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.01 w/v%로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를

포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.

- [34] 본 발명의 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.08 내지 0.1 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하로 포함되는 캐스터 오일; 1.6 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.5 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.005 w/v%로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [35] 본 발명의 또 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.08 내지 0.1 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하로 포함되는 캐스터 오일; 1.6 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.7 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.005 w/v%로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [36] 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명은 사이클로스포린; 캐스터 오일; 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 멘톨; 및 수성 용제를 혼합하여 제조된 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [37] 본 발명의 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.03 내지 0.5 w/v%의 사이클로스포린; 0.2 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 8배 미만인 캐스터 오일; 1 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.1 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 0.001 w/v% 이상, 0.1 w/v% 미만인 멘톨; 및 수성 용제를 혼합하여 제조된 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [38] 본 발명의 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.07 내지 0.2 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상이며 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만인 캐스터 오일; 1.4 w/v% 초과 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.2 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.05 w/v%의 멘톨; 및 수성 용제를 혼합하여 제조된 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [39] 본 발명의 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.07 내지 0.2 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상이며 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만인 캐스터 오일; 1.5 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.3 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 w/v% 이상 0.1 w/v% 미만의 멘톨; 및 수성 용제를 혼합하여 제조된 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [40] 본 발명의 또 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.08 내지 0.1 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만인 캐스터 오일; 1.5 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.3 w/v%

내지 5w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.01 w/v%의 멘톨; 및 수성 용제를 혼합하여 제조된 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.

- [41] 본 발명의 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.08 내지 0.1 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하인 캐스터 오일; 1.6 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.5 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.005 w/v%의 멘톨; 및 수성 용제를 혼합하여 제조된 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [42] 본 발명의 또 다른 일 실시예에서, 본 발명은 0.08 내지 0.1 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하인 캐스터 오일; 1.6 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.7 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.005 w/v%의 멘톨; 및 수성 용제를 혼합하여 제조된 나노 에멀전 점안 조성물을 제공한다.
- [43] 또한 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물은 안정화제를 추가로 포함할 수 있다. 안정화제를 추가로 포함하는 경우, 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물의 물리적, 화학적 안정성이 더욱 개선될 수 있다. 안정화제는 수성용매에 수화되어 일정한 결합 구조를 형성함으로써 나노 에멀전의 유적을 격자화시키는 효과를 가져 나노 에멀전을 물리적으로 안정화시키는 역할을 할 수 있으며, 카르복시메틸셀룰로오스(CMC), 하이드록시프로필메틸 셀룰로오스(HPMC), 하이드록시에틸셀룰로오스(HEC) 등을 포함하는 셀룰로오스계 화합물; 폴리비닐알코올(PVA), 폴리비닐피롤리돈(PVP) 등을 포함하는 폴리비닐계 화합물; 카보머(Carbomer) 등을 포함하는 아크릴계 화합물; 젤란검(Gellan Gum), 잔탄검(Xanthan Gum)등을 포함하는 검류 화합물; 히알루론산(HA), 히알루론산 나트륨(Sodium Hyaluronate), 알긴산나트륨(Sodium Alginate), 덱스트란(Dextran) 등을 포함하는 다당류 또는 이들의 임의의 조합 등을 포함할 수 있다. 또한 상기 안정화제는 카르복시메틸셀룰로오스, 잔탄검, 히알루론산(HA) 및 히알루론산 나트륨(Sodium Hyaluronate)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 상기 안정화제의 함량은 0.001 내지 10 w/v%, 0.01 내지 5 w/v%, 바람직하게는 0.01 내지 2 w/v% 범위일 수 있다.
- [44] 또한 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물은 pH 조절제, 등장화제, 보존제, 완충제 등을 더 포함할 수 있다. 상기 pH 조절제로는 수산화나트륨, 염산 등을 사용할 수 있으며, 적절한 pH를 얻기 위하여 당업자에게 공지된 방법으로 필요한 양을 첨가하여 사용할 수 있다. 상기 등장화제로 글리세롤, 만니톨, 솔비톨, 염화나트륨, 염화칼륨, 붕산, 붕사 중 1종 이상을 사용할 수 있으며, 이의 함량은 0.01 내지 10 w/v% 범위일 수 있고, 0.1 내지 3 w/v% 로 사용할 수 있다.
- [45] 본 발명의 보존제로는 벤잘코늄클로라이드, 벤제토늄클로라이드,

세탈코늄클로라이드, 폴리쿼터늄-1 (예를 들어, 폴리쿼드) 등을 포함하는 4차 암모늄 화합물; PHMB, 클로로 헥시딘 등을 포함하는 구아니딘-계 화합물; 클로로부탄올; 티로메살, 페닐수은 아세테이트 및 페닐수은 니트레이트 등을 포함하는 수은 방부제; 및 안정화된 옥시클로로 착물 (예를 들어, 퓨라이트), 파라옥시향산 알킬류 (예를 들어, 파라옥시향산 메칠(PM)) 등을 포함하는 산화 방부제를 포함할 수 있다.

- [46] 본 발명의 완충제로는 점안제에 사용하는 완충제를 제한없이 사용할 수 있으며, 예컨대, 아세트산 및/또는 그의 염인 완충제, 구연산 및/또는 그의 염인 완충제, 인산 및/또는 그의 염인 완충제(예를 들어, 인산수소나트륨 및/또는 그의 수화물, 인산이수소나트륨 및/또는 그의 수화물), 붕산 및/또는 그의 염과 같은 붕산 완충제 등을 사용할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 완충제의 사용량은 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있으며, 0.001 내지 10 w/v%, 구체적으로는 0.01 내지 5 w/v%, 더욱 구체적으로는 0.1 내지 2 w/v%로 첨가될 수 있다.
- [47] 본 발명의 수성용제는 안과용 제제의 제조에 적합한 성분을 말하며, 예를 들어 멸균정제수, 생리식염수, 주사용수 일 수 있다.
- [48] 본 발명의 조성물은 평균 입자 크기가 1 nm 이상 내지 100 nm 이하인 나노 에멀전 점안 조성물일 수 있다. 나노 에멀전 점안 조성물의 입자크기는 입자크기 측정 장비인 Zetasizer(예를 들어, Malvern Zetasizer, Zetasizer Nano ZS90 등)를 사용하여 측정할 수 있다.
- [49] 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물은 고농도의 사이클로스포린을 포함하여 투여 횟수를 줄인, 예를 들어 1일 1회 투여하는 조성물일 수 있다.
- [50] 본 발명은 사이클로스포린; 캐스터 오일; 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일을 포함하는 친수성 유화제; 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.
- [51] 본 발명은 또한, 0.03 내지 0.5 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.2 w/v% 이상 상기 사이클로스포린 함량의 8배 미만으로 포함되는 캐스터 오일; 1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일을 포함하는 친수성 유화제; 0.1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 0.001 이상 0.1 w/v% 미만으로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.
- [52] 본 발명은 또한, 0.07 내지 0.2 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상이며 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만으로 포함되는 캐스터 오일; 1.4 w/v% 초과 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.2 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.05

w/v%로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.

- [53] 본 발명은 또한, 0.07 내지 0.2 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상이며 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만인 캐스터 오일; 1.5 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.3 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 w/v% 이상 0.1 w/v% 미만의 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.
- [54] 본 발명은 또한, 0.08 내지 0.1 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하로 포함되는 캐스터 오일; 1.6 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.7 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.005 w/v%로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.
- [55] 본 발명은 또한, 0.03 내지 0.5 w/v%의 사이클로스포린; 0.2 w/v% 이상 상기 사이클로스포린 함량의 8배 미만인 캐스터 오일; 1 w/v% 내지 5 w/v%의, 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일을 포함하는 친수성 유화제; 0.1 w/v% 내지 5 w/v%의, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 0.001 이상 0.1 w/v% 미만인 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.
- [56] 본 발명은 또한, 0.07 내지 0.2 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상이며 상기 사이클로스포린 함량의 5배 미만인 캐스터 오일; 1.4 w/v% 초과 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.2 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.05 w/v%의 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.
- [57] 본 발명은 또한, 0.08 내지 0.1 w/v%의 사이클로스포린; 0.25 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 4.7배 이하인 캐스터 오일; 1.6 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리옥시에틸렌 캐스터 오일; 0.7 w/v% 내지 5 w/v%의 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌글리콜; 0.001 내지 0.005 w/v%의 멘톨; 및 수성 용제를 교반 혼합하여 혼합 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법을 제공한다.
- [58] 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물 제조 방법에 따라 평균 입자 크기가 1 nm 내지 100 nm 인 나노 에멀전 점안 조성물을 제조할 수 있다.
- [59] 상기 조성물의 제조에 있어서, 추가적으로 안정화제 또는 등장화제 등의 첨가제를 수성 용제에 용해시키고, 제조된 혼합 조성물과 함께 혼합하여 충분히 교반하고, pH를 조절하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.

- [60] 상기 나노 에멀전 점안 조성물의 제조방법에서, 모순되지 않는 한, 사이클로스포린, 캐스터 오일, 폴리옥시시에틸렌 캐스터 오일, 친수성 유화제, 소수성 유화제, 멘톨, 수성 용제, 안정화제 또는 등장화제 등의 첨가제는 상기에서 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서 설명한 것과 동일하다.
- [61] 상기 조성물의 제조에 있어서, pH 조절은 상기에서 본 발명의 나노 에멀전 점안 조성물에서 사용한 것과 동일한 pH 조절제 및 이의 함량으로 수행할 수 있다.
- [62] 본 발명의 제조방법에 따르면, 성분들이 적절하게 혼합됨으로써 평균 입자 크기가 1 nm 내지 100 nm 인 나노 에멀전이 형성될 수 있으며, 입자크기가 최대 220 nm 이하인 나노 에멀전 점안 조성물이 제조되므로, 기존의 고압식 호모게나이저나 마이크로 플루다이저 같은 고속 교반식 또는 고속 전단식 기기를 사용하지 않고 0.22 μ m의 필터를 사용한 통상의 제균여과 방법을 사용할 수 있으며, 낮은 제조비용으로 220 nm 이하의 입자크기를 갖는 나노 에멀전 점안 조성물을 제조할 수 있다.
- [63] 본 발명에 따른 나노 에멀전 점안 조성물은 상기 성분을 적절하게 혼합하여 제조되며, 입자의 평균 크기가 200 nm 이하, 구체적으로 평균 입자 크기가 1 nm 이상 100 nm 이하로 제조되고 입자 크기 분포(입도 분포)가 좁으므로, 제균여과 방식을 통해 여과가 가능하고 안정성이 증가되는 장점이 있다.
- [64] 본 명세서에서, 나노 에멀전 점안 조성물에 대해 기재된 설명은 모순되지 않는 한 나노 에멀전 점안 조성물의 제조 방법에 대해서도 동일하게 적용될 수 있다.
- [65] 본 발명의 다른 일 실시예에서는, 0.03 w/v% 내지 0.5 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.2 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 8배 미만으로 포함되는 캐스터 오일; 1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시시에틸렌 캐스터 오일을 포함하는 친수성 유화제; 0.1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 0.001 w/v% 이상 0.1 w/v% 미만으로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 안구 건조증의 예방 또는 치료방법이 제공될 수 있다.
- [66] 본 발명의 일 실시예는, 안구 건조증의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 0.03 w/v% 내지 0.5 w/v%로 포함되는 사이클로스포린; 0.2 w/v% 이상, 상기 사이클로스포린 함량의 8배 미만으로 포함되는 캐스터 오일; 1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리옥시시에틸렌 캐스터 오일을 포함하는 친수성 유화제; 0.1 w/v% 내지 5 w/v%로 포함되는 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌글리콜로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 소수성 유화제; 0.001 w/v% 이상 0.1 w/v% 미만으로 포함되는 멘톨; 및 수성 용제를 포함하는 나노 에멀전 점안 조성물의 용도가 제공될 수 있다.
- 발명의 효과**
- [67] 본 발명의 나노 에멀전 조성물은 안정성(특히, 보관 안정성)이 개선되고,

투명한 성상을 가지며, 점안 시 사이클로스포린의 안구 체류 시간, 잔류량 및 조직 투과성 등의 생체이용률이 우수하며, 안구 자극감, 이물감 및 시야흐림 등의 부작용이 개선되어 안구 건조증 치료제로 효과적으로 이용될 수 있다. 또한 본 발명의 나노 에멀전 조성물은 고농도의 사이클로스포린을 포함하여 투여 횟수를 줄인, 예를 들어 1일 1회 투여하는, 치료제로 효과적으로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[68] 도 1은 점안 조성물의 안 자극감 평가 결과를 나타낸 그래프이다.

[69] 도 2는 점안 조성물의 효력 평가 결과를 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

[70] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[71] **실험예 1: 나노 에멀전 조성물의 보관 안정성 확인**

[72] 하기 표 1의 성분 및 함량에 따라 점안 조성물들을 제조하였다.

[73] [표1]

성분 및 함량 (mg/ml)	비교예 1	실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4
사이클로스포린 A	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
캐스터오일	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25
폴리옥실35 캐스터오일	18	18	18	18	18
폴리에틸렌글리콜400	4	4	4	4	4
프로필렌글리콜	3	3	3	3	3
카르복실메틸셀룰로오스 나트륨	1	1	1	1	1
잔탄검	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
글리세린	적량	적량	적량	적량	적량
붕산	적량	적량	적량	적량	적량
L-멘톨	0	0.01	0.025	0.05	0.1

[74] 구체적으로, 표 1에 기재된 함량의 캐스터 오일, 친수성 유화제(폴리옥실35 캐스터오일) 및 소수성 유화제(폴리에틸렌글리콜400 및 프로필렌글리콜)를 혼합하여 교반한 후 사이클로스포린 A를 첨가하고 교반기를 사용하여 70°C 조건에서 완전히 용해시켰다. 이 액을 60°C 정도의 온도로 낮춘 다음 멘톨을 혼합하고 용해시켜 오일상을 조제하였다. 동시에 카르복실메틸셀룰로오스나트륨 및 잔탄검을 교반기를 사용하여 70°C 조건에서 주사용수에 완전히 수화시켰다. 수성 용제를 상온으로 냉각시키고, 등장화제 및 완충제를 넣어 용해시킨 다음, 수산화나트륨 용액을 사용하여 pH를 조절하고, 고압중기멸균기를 사용하여 멸균하여 수성용제를 만들었다. 수성용제에 0.2 μm 로 여과한 오일상을 넣어 균질하게 혼합하였다. 이 혼합액에 주사용수를 첨가하여 최종부피가 100 mL 이 되도록 하고 교반하였다. 비교예 1은 멘톨을 추가하는 과정을 제외하고 상기 방법과 동일하게 제조하였다. 상기 나노 에멀전은 자가 유화 방법(SNEDDS: Self Nano-Emulsifying Drug Delivery system)을 통해 자발적으로 안정한 단일상을 형성하였다. 그 후, 제조된 조성물들을 가혹 조건 (70°C, 55% RH)에서 4 주간 보관한 뒤 사이클로스포린의

함량을 분석하였다.

- [75] 그 결과, 멘톨을 함유한 본 발명의 나노 에멀전 조성물 실시예 1 내지 4에서는 비교예 1 조성물에 비해 조제 직후 사이클로스포린의 초기 함량 대비 4주간 보관 후 함량 감소폭이 현저히 적음을 확인하였다(표 2). 상기 결과들은, 멘톨이 포함된 본 발명의 조성물에서 나노 에멀전 점안 조성물의 보관 안정성이 우수하고, 멘톨을 포함하지 않는 비교 조성물에 비해 안정성이 현저히 개선되었음을 보여준다.

- [76] [표2]

단위(%)	비교예 1	실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4
조제시 함량	99.4	99.4	99.0	99.8	99.7
4주차	88.5	97.2	96.6	93.2	92.1
함량 감소폭	-10.9	-2.2	-2.4	-6.6	-7.6

- [77] 실험예 2: 안자극성 평가

- [78] 실험예 1의 방법에 따라 하기 표 3의 성분 및 함량으로 점안 조성물들을 제조하고 점안감 평가를 진행하였다. 8명의 성인을 대상으로 양안에 표 3의 점안 조성물을 투여하였으며, 투여 약 30분 후에 느끼는 작열감을 표 4의 기준에 따라 점수화하여 평가하고 그 결과를 도 1에 나타내었다.

- [79] [표3]

성분 및 함량(mg/ml)	실시예 2	비교예 2
사이클로스포린 A	0.8	0.8
캐스터오일	3.25	6.4
폴리옥실35 캐스터오일	18	18
플라에틸렌글리콜400	4	4
프로필렌글리콜	3	3
카르복실메틸셀룰로오스 나트륨	1	1
간단검	1.5	1.5
글리세린	적량	적량
붕산	적량	적량
L-멘톨	0.025	0.025

- [80] [표4]

작열감	점수
불쾌한 느낌 없음, 매우 부드러움	0
약간의 따끔거림이 느껴짐	1~2
따끔거림과 함께 약한 통증 수반	3~4
타는 듯한 느낌이 들고, 통증이 지속되어 일상생활 불가 수준	5

- [81] 그 결과, 캐스터 오일의 함량이 높은 비교예 2는 실시예 1에 비해 높은 작열감을 나타냈었고, 이는 통계적으로 매우 유의적임이 나타났다(도 1 참조).

- [82]

- [83] 실험예 3: 나노 에멀전 조성물의 보관 안정성 확인

- [84] 실험예 1의 방법으로 하기 표 5의 성분 및 함량에 따라 점안 조성물들을 제조하였다.

- [85]

[표5]

성분 및 함량(w/v%)	실시에 5	실시에 6	실시에 7	실시에 8	실시에 9
사이클로스포린 A	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
캐스터오일	0.325	0.325	0.25	0.275	0.375
폴리옥실35 캐스터오일	1.6	5	1.8	1.8	1.8
폴리에틸렌글리콜400	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
프로필렌글리콜	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
카르복실메틸셀룰로오스 나트륨	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
산탄검	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
글리세린	적량	적량	적량	적량	적량
붕산	적량	적량	적량	적량	적량
L-멘톨	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025

- [86] 제조된 조성물들을 고온 조건 (70°C, 55% RH)에서 2 주간 보관한 뒤 사이클로스포린의 함량을 측정하였다. 또한, 제조된 조성물들을 고온 조건(70°C, 55% RH)에서 4주간 보관한 뒤 나노에멀전의 입자크기를 분석하였다. 나노에멀전의 입자크기는 나노에멀전 200 μ L를 주사용수 2ml에 분산시킨 후 입자크기 측정 장비인 Zetasizer (Malvern Instruments, England)로 분석하였다.
- [87] 그 결과, 상기 제조된 조성물들의 입자크기 및 사이클로스포린 함량이 안정하게 유지됨을 확인할 수 있었다(표 6). 특히, 모든 실시에에서 2주 보관 후 사이클로스포린 함량이 초기 함량 대비 90 % 내지 110 % 범위 내에 속하고, 입자크기 또한 100 nm 이하로 유지되는 것을 확인하였다. 이로부터, 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물의 우수한 보관 안정성을 확인하였다.

[표6]

		실시에 5	실시에 6	실시에 7	실시에 8	실시에 9
함량 (%)	조제시	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	2주	96.4	83.0	92.0	92.0	90.0
입자크기 (nm)	조제시	21.9	17.2	20.0	20.1	22.2
	4주	25.9	20.6	22.2	22.8	76.5

- [89] **실험예 4: 나노 에멀전 조성물의 보관 안정성 확인**
- [90] 실험예 1의 방법으로 하기 표 7의 성분 및 함량에 따라 점안 조성물들을 제조하였다.

[표7]

성분 및 함량(mg/ml)	실시에 10	실시에 11	실시에 12
사이클로스포린 A	0.8	0.8	0.8
캐스터오일	3.25	3.25	3.25
폴리옥실35 캐스터오일	18	18	18
폴리에틸렌글리콜400	5	10	20
프로필렌글리콜	5	10	20
카르복실메틸셀룰로오스 나트륨	1	1	1
산탄검	1.5	1.5	1.5
글리세린	적량	적량	적량
붕산	적량	적량	적량
L-멘톨	0.025	0.025	0.025

- [92] 제조된 조성물들을 가혹 조건 (70°C, 55% RH)에서 4 주간 보관한 뒤 사이클로스포린의 함량을 분석하였다.
- [93] 그 결과, 상기 제조된 조성물들의 사이클로스포린 함량이 안정하게 유지됨을 확인할 수 있었다(표 8).
- [94]

[표8]

단위(%)	실시에 10	실시에 11	실시에 12
조제시 함량	100.7	98.7	100.8
4주차 함량	91.8	92.6	92.3
함량 변화폭	-8.9	-6.1	-8.5

[95] 실험예 5: 나노 에멀전 조성물의 생체이용률 확인

[96] New Zealand White Rabbit에 시판 중인 레스타시스® 점안액과 상기 실시예 2 점안 조성물을 1회 점안하고, 1일 동안 각막, 안방수에서의 약물 동태시험을 수행하였다. 현재 레스타시스® 점안액의 용법은 1일 2회이며, 이에 맞춰 예상되는 레스타시스® 점안액의 AUC와 C_{max}를 실시예 2 점안 조성물의 결과값과 비교하였다. 각막과 안방수에서 실시예 2 점안 조성물의 AUC는 레스타시스® 점안액의 AUC 예상값과 비교하여 각각 1.29배, 1.56배 높게 나타났으며, C_{max}는 각각 3.15배, 2.96배 높게 나타났다. 이러한 결과를 통해 본 발명의 실시예 2 조성물은 1일 1회 투여하더라도 레스타시스® 점안액과 비교하였을 때 각막 및 안방수에서 생체이용률이 우월한 효과를 나타냄을 확인하였다.

[97] [표9]

	실시에 2		레스타시스®	
	각막	안방수	각막	안방수
AUC (Single injection)	249.08	26.49	96.88	8.50
C _{max} (Single injection)	18.25	12.04	5.79	4.07
기재된 용법	1 회/일		2 회/일	
AUC 예상값 (용법 기준)	249.08	26.49	193.76	17.00

[98] 실험예 6: 나노 에멀전 조성물의 효력 확인

[99] New Zealand White Rabbit에 안구건조증을 유발한 뒤, 상기 실시예 2 조성물 및 레스타시스® 점안액을 투여하였다. 미처치군(G1), 상기 실시예 2 조성물을 1회 투여한 군(G2), 레스타시스® 점안액을 2회 투여한 군(G3)의 각막 및 결막을 염색하여 치료 효과를 확인하였다. 치료 효과의 평가는 각막은 Fluorescein으로, 결막은 Lissamine green으로 염색하여 염색 점수를 평가하였다. 그 결과, G2 군은 G1 군 대비 유의하게 낮은 염색 점수 수준을 나타내었으며, 레스타시스® 점안액을 2회 투여한 G3군과 비슷한 염색 점수 수준을 나타내었다(도 2). 실시예 2 조성물은 레스타시스® 점안액과 비교하여 투여 횟수가 적고 용법에 따라 투여된 사이클로스포린 함량이 낮지만 안구건조증 치료 효과가 동등한 수준으로 나타난다. 이로부터 실시예 2에 따른 조성물이 레스타시스® 점안액에 비해 개선된 효과를 나타냄을 확인하였다.