

명세서

발명의 명칭: 사이클로스포린 함유 무자극성 나노에멀전 안약 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 사이클로스포린을 함유한 안과용 에멀전에 관한 것으로, 보다 상세하게는 점안시 자극성이 없으며 에멀전 입경 크기가 100nm 이하인 안정한 안약 조성물 및 그 제조방법 등에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 면역억제제를 함유하는 안과용 제제에는 사이클로스포린, 시롤리무스 또는 타크롤리무스 및 이들의 유도체 등이 함유될 수 있다. 이 중, 안구건조증을 치료하는데 효과적인 것으로 알려져 있는 사이클로스포린은 사이클로스포린 A, 사이클로스포린 B, 사이클로스포린 C 및 사이클로스포린 D를 포함하나, 사이클로스포린 A 및 그 유도체가 가장 광범위하게 연구되고 있다.
- [3] 하지만 사이클로스포린의 물 용해성이 약 20 μ g/ml 내지 30 μ g/ml로 매우 낮아, 수용성 매체에 용해되는 사이클로스포린을 함유하는 약제 합성물을 조제하는 것은 일반적으로 어려운 것으로 알려져 있으며 현재 레스타시스®(Restasis®: 사이클로스포린 안과용 에멀전 0.05%)가 시판되고 있다.
- [4] 에멀전은 하나의 액상에 섞이지 않는 하나 이상의 액상이 분산되어 있는 액-액 분산계를 말하는데, 일반적으로 0.1 마이크로미터(μ m)에서 수십 마이크로미터(μ m)의 크기 분포를 가진다. 상기 마이크로 에멀전은 열역학적으로 불안정한 상태이며 응집(Flocculation), 침강(Sedimentation), 크림링(Creaming), 입자성장(Ostwald ripening), 유착(Coalescence) 등과 같은 다양한 경로를 통하여 종국에는 분리되려는 성질을 가지고 있다. 이와 관련하여, 분산상의 에멀전 입자의 크기가 나노 크기로 작아지면 입자간의 브라운 운동에 의해 동역학적(Kinetic) 측면에서 에멀전의 안정도를 크게 향상시킬 수 있는 장점이 있으며 현재 시판중인 레스타시스 또한 분산상의 입자크기를 나노 크기로 줄인 나노에멀전이다.
- [5] 한편, 상기 레스타시스를 비롯한 공지된 나노에멀전들은 에멀전을 제조하는 과정에서 유화물에 물리적인 큰 힘을 가하는 고압식 호모제나이저나 마이크로플루다이저 같은 고속 교반식 또는 고속 전단식의 기계를 이용하여 제조된다. 상기 제조방법은 제조설비가 크고 비용이 많이 소요되며, 에멀전에 가하는 에너지가 크기 때문에 유화시의 온도상승이 크고 열에 약한 성분의 적용에 어려움이 있다. 또한 상기 방법으로 제조된 레스타시스는 에멀전의 입자 크기가 불균일하여, 더 큰 응집이 발생하며 이로 인해 크림화가 빨리 진행되기 때문에 장기 보관에 문제를 초래한다. 이에 더하여, 고압식 호모제나이저 사용시, 인지질의 고온 불안정성(예를 들어, 오일분리, 크림링 등)으로 인해

변취나 고온 안정도가 떨어지며, 특히 분산상의 입도 분포가 상대적으로 넓어 제조 로트마다 균질한 품질을 확보하기 어려운 단점이 있다.

- [6] 상기 문제점과 관련하여 본 발명자들은 에멀전 제조시 오일과 수상의 단순 혼합 및 교반만으로도 에멀전 평균 입경 크기가 200nm 이하인 나노에멀전 안약 조성물을 제조하는 기술을 개발한 바 있다 (대한민국등록특허 제 1008189호). 하지만 상기 특허 조성물의 경우, 실제 점안시 눈에 대한 자극성이 크게 나타나는 문제를 가지고 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명은 상기한 바와 같은 종래기술이 가지고 있는 문제를 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 사이클로스포린과 가용화제의 단순혼합만으로도 입경이 100nm 이하이며, 오랜시간 물리화학적으로 안정할 뿐만 아니라, 이에 더하여 점안시 자극성이 없는 사이클로스포린 함유 나노에멀전 안약 조성물을 제공하는 것이다.
- [8] 그러나 본 발명이 해결하고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

- [9] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 사이클로스포린 0.01 중량% 내지 1 중량%; 폴리에톡실레이티드 캐스터 오일 (Polyethoxylated castor oil) 또는 폴리에톡실레이티드 하이드로제네이티드 캐스터 오일 (Polyethoxylated hydrogenated castor oil) 0.5 중량% 내지 9.79 중량%; 및 인산염 완충액 90 중량% 내지 99.29 중량%를 포함하는 나노에멀전 안약 조성물로, 상기 조성물은 사이클로스포린의 가용화제로 상기 폴리에톡실레이티드 캐스터 오일 또는 폴리에톡실레이티드 하이드로제네이티드 캐스터 오일을 사용함으로써 오일과 유화제를 별도로 사용할 필요가 없으며, 단순 혼합에 의해 제조되는 것을 특징으로 하는 나노에멀전 안약 조성물을 제공한다.
- [10] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 나노에멀전 평균입경 크기는 100nm 이하이며, 바람직하게는 50 nm 이하 이다.
- [11] 본 발명의 다른 구현예에서, 상기 사이클로스포린은 사이클로스포린 A이다.
- [12] 본 발명의 안약 조성물은 점증제를 더 포함할 수 있다. 본 발명에 사용되는 점증제에는 제한이 없으나, 바람직하게는 히알루론산 또는 그 염, 키토산, 히드록시프로필메틸셀룰로즈, 히드록시프로필셀룰로즈, 히드록시에틸셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 카르복시메틸셀룰로즈, 카보머, 글리세린, 및 폴리에틸렌옥사이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상을 사용할 수 있다. 더욱 바람직하게는 히알루론산 또는 그 염을 점증제로 사용할 수 있다. 상기 점증제는 본 발명 안약 조성물의 총 중량에 대하여 0.1 중량% 내지

5 중량% 포함될 수 있다.

- [13] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 본 발명의 안약 조성물은 보조 용해제에 에탄올을 더 포함할 수 있다. 상기 에탄올은 전체 안약 조성물의 총 중량에 대하여 0.1 중량% 내지 3 중량% 포함될 수 있다.
- [14] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 무자극성 사이클로스포린 나노에멀전 안약 조성물의 제조방법을 제공한다: 사이클로스포린 A를 가용화제에 용해시켜 제1 용액을 생성시키는 단계; 점증제를 인산염 완충액에 용해시켜 제2용액을 생성시키는 단계; 및
- [15] 상기 제1용액을 상기 제2용액에 혼합하여 고속 교반식이나 고속 전단식 기계를 사용하지 않고 단순 교반시키는 단계.
- [16] 상기 가용화제로 폴리에톡실레이티드 캐스터 오일 (Polyethoxylated castor oil) 또는 폴리에톡실레이티드 하이드로제네이티드 캐스터 오일 (Polyethoxylated hydrogenated castor oil)이 사용될 수 있으며, 상기 가용화제에 에탄올이 추가로 포함될 수 있다. 또한, 상기 점증제로 글리세린 및/또는 소듐 히알루로네이트가 사용될 수 있다.

발명의 효과

- [17] 본 발명은 눈에 전혀 자극이 없는 사이클로스포린 나노에멀전 안약 조성물을 제공할 수 있다는 점에서 큰 장점이 있다. 아울러, 본 발명의 안약 조성물은 고압 호모제나이저를 사용하지 않고, 사이클로스포린과 가용화제의 단순 혼합만으로도 종래의 안과용 에멀전보다 유체의 입경이 작고, 고른 분포를 지니는 나노에멀전을 제공할 수 있으며, 동시에 물리화학적 안정성이 증가되어 오랜기간 보관이 가능하다. 또한 입경이 100nm 이하로 작고 고른 분포를 가짐으로써, 점안제 투여시 시야 흐림이나 이물감이 없는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [18] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 의해 제조된 나노에멀전의 입자 크기를 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- [19] 도 2는 시판되는 레스타시스®(Restasis®)의 입자 크기를 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- [20] 도 3은 본 발명의 일 구현예에 따른 안약 조성물 및 대조 점안액(control)에 대한 자극성 실험 결과를 나타낸 도이다.
- [21] 도 4는 본 발명의 일 구현예에 따른 안약 조성물과 대조 점안액(control 1)에 대한 schimer tear test를 통한 약효 실험 결과를 나타낸 도이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [22] 본 발명자들은 에멀전 제조시 사이클로스포린과 가용화제의 단순 혼합 및 교반만으로도 100nm 이하의 입경을 가지며 오랜기간 물리화학적으로 안정하면서도 자극성이 없는 나노에멀전을 개발하고자 예의 노력한 결과 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

- [23] 본 발명의 사이클로스포린 나노에멀전 안약 조성물은 사이클로스포린 0.01 내지 1 중량%; polyethoxylated castor oil 또는 polyethoxylated hydrogenated castor oil 0.5 내지 9.79 중량 %; 및 인산염 완충액 90 내지 99.29 중량% 를 포함하는 나노 에멀전 안약 조성물로, 상기 조성물은 사이클로스포린의 가용화제로, 상기 폴리에톡실레이티드 캐스터 오일 또는 폴리에톡실레이티드 하이드로제네이티드 캐스터 오일을 사용함으로써 오일과 유화제를 별도로 사용할 필요가 없으며, 단순 혼합에 의해 제조되는 것을 특징으로 한다.
- [24]
- [25] 본 발명의 사이클로스포린 활성성분으로 사이클로스포린 A, 사이클로스포린 A 유도체, 사이클로스포린 B, 사이클로스포린 C 및 사이클로스포린 D 등을 포함할 수 있다. 바람직하게 본 발명은 사이클로스포린 A를 포함한다.
- [26] 본 발명 안약 조성물의 유효성분인 사이클로스포린의 가용화제로 polyethoxylated castor oil 또는 polyethoxylated hydrogenated castor oil 이 사용될 수 있다.
- [27] Castor oil 또는 hydrogenated castor oil은 뛰어난 사이클로스포린 용해도를 나타내며, 현재 시판중인 레스타시스 안약 조성물의 경우에도 가용화제로 castor oil을 사용한다. 그러나 Castor oil 또는 hydrogenated castor oil은 리시놀레산 또는 스테아르산과 글리세롤이 에스테르 결합된 트리글리세라이드로써, 이를 물에 분산시키기 위해서는 유화제를 필요로 한다. 또한, 물에 분산된 오일상의 안정성을 위해 추가로 고압 호모제나이저를 통해 에멀전 입경 크기를 수백 nm 단위로 분쇄하여야만 한다.
- [28] 이와 관련하여, 본 발명에서는 종래 나노에멀전 안약 조성물과는 달리 사이클로스포린의 가용화제로 Castor oil 또는 hydrogenated castor oil을 사용하지 아니하고, Castor oil 또는 hydrogenated castor oil의 지방산에 직접 친수성기인 ethylene oxide를 수식한 polyethoxylated castor oil 또는 polyethoxylated hydrogenated castor oil 을 사용함으로써, 사이클로스포린의 용해도는 그대로 유지시키면서 수상에 쉽게 분산되는 사이클로스포린 안과용 나노에멀전 조성물을 제공할 수 있게 되었다. 즉, 상기 polyethoxylated castor oil 또는 polyethoxylated hydrogenated castor oil의 사용으로, 종래기술과 달리 별도의 오일 및 유화제의 첨가가 필요하지 않게 되며, 또한, 평균 입자 크기가 100nm 이하인 나노에멀전 조성물의 제조가 가능하게 되어, 궁극적으로 실제 점안시 이물감이나 시야 흐림 및 자극성이 없는 안약 조성물을 제공할 수 있게 되었다.
- [29] 본 발명의 일 구현예로, 본 발명의 안약 조성물은 사이클로스포린의 보조용해제로 에탄올을 추가로 포함할 수 있다.
- [30] 본 발명의 다른 구현예로, 본 발명의 안약 조성물은 점증제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 점증제는 전체 안약 조성물의 0.5 내지 5 중량% 포함될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 점증제에는 제한이 없으며, 당업계에서 일반적으로 사용되는 의약품 또는 식용의 점증제를 사용할 수 있다. 예를 들면, 히알루론산

또는 그 염, 글리세린(glycerin), 키토산, 히드록시프로필메틸셀룰로즈(HPMC), 히드록시프로필셀룰로즈(HPC), 히드록시에틸셀룰로즈(HEC), 폴리비닐피롤리돈(PVP), 카르복시메틸셀룰로즈(CMC), 카보머(carbomer), 및 폴리에틸렌옥사이드(PEO) 으로 이루어진 군으로부터 1종 이상 선택될 수 있다.

[31] 또한 본 발명은 사이클로스포린 함유 나노에멀전 안약 조성물을 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함할 수 있다:

[32] 사이클로스포린 A를 가용화제에 용해시켜 제 1 용액을 생성시키는 단계;

[33] 점증제를 인산염 완충액에 용해시켜 제 2 용액을 생성시키는 단계; 및

[34] 상기 제 1용액을 상기 제 2용액에 혼합하여 단순 교반시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[35]

[36] 상기 가용화제로 polyethoxylated castor oil 또는 polyethoxylated hydrogenated castor oil이 사용될 수 있으며, 상기 가용화제에 에탄올이 추가로 포함될 수 있다.

[37] 상기 본 발명의 방법은 필요한 경우에 점안제의 pH 및 삼투압 조절을 위해 pH 조절제 및/또는 등장화제를 첨가하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[38]

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

[40]

[41] [실시예]

[42] 실시예 1. 가용화제 종류에 따른 나노에멀전 제조

[43] 하기 표 1의 1-A 내지 1-J의 각 조성비율에 따라 사이클로스포린을 각각의 가용화제에 혼합하였다(제1액). pH를 7.2로 맞추는 인산염 완충액에 글리세린 및 폴록사머 188을 각 조성에 따라 혼합한 후 이 용액에 제 1액을 분산시켜 에멀전을 제조하였다. 등장화제로써 NaCl을 사용하여 오스몰농도 (osmolarity)를 300 밀리오스몰 (mOsmol)로 조정하였다.

[44]

[45] 표 1

[Table 1]

다양한 가용화제를 함유하는 에멀전 조성물

성분조성물	1-A	1-B	1-C	1-D	1-E	1-F	1-G	1-H	1-I	1-J
사이클로스포린 A	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%
Polyethoxylated castor oil	5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polyethoxylated hydrogenated castor oil	-	5%	-	-	-	-	-	-	-	-
Castor oil	-	-	5%	-	-	-	5%	-	-	-
Cottonseed oil	-	-	-	5%	-	-	-	5%	-	-
Soybean oil	-	-	-	-	5%	-	-	-	5%	-
Olive oil	-	-	-	-	-	5%	-	-	-	5%
폴록사머 188	-	-	-	-	-	-	3.3%	3.3%	3.3%	3.3%
글리세린	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%
인산염완충액	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량
등장화제	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량

[46]

[47] 실시예 2. 가용화제/Ethanol 조성비율 변화에 따른 에멀전 조성물의 제조

[48] 하기 표 2와 같이 Polyethoxylated castor oil 및 ethanol 양을 조절하여 상기 실시예 1에서 조성물 1-A를 만드는 방법과 동일하게 하기 조성물 2-A 내지 2-I 를 제조하였다.

[49]

[50] 표 2

[Table 2]

가용화제/Ethanol 조성비율 변화에 따른 에멀전 조성물

성 분 조성물	2-A	2-B	2-C	2-D	2-E	2-F	2-G	2-H	2-I
사이클로스포르린 A	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%
Polyethoxylated Castor oil	5%	4%	3%	5%	4%	3%	5%	4%	3%
Ethanol	1%	1%	1%	0.5%	0.5%	0.5%	-	-	-
Sodium Hyaluronate	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
글리세린	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%
인산염 완충액	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량
등장화제	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량

[51]

[52] 실시예 3. 다양한 점증제를 함유하는 에멀전 조성물의 제조

[53] 하기 표 3과 같이 점증제 종류 및 양을 조절하여 상기 실시예 1에서 조성물 1-A를 만드는 방법과 동일하게 하기 조성물 3-A 내지 3-F 를 제조하였다.

[54]

[55] 표 3

[Table 3]

다양한 점증제를 함유하는 에멀전 조성물

성 분 조성물	3-A	3-B	3-C	3-D	3-E	3-F
사이클로스포르린 A	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%	0.05%
Polyethoxylated Castor oil	5%	5%	5%	5%	5%	5%
Ethanol	1%	1%	1%	1%	1%	1%
Sodium Hyaluronate	0.1%	0.5%	-	-	-	-
카보머	-	-	0.1%	0.5%	-	-
키토산	-	-	-	-	0.1%	0.5%
글리세린	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%
인산염 완충액	적량	적량	적량	적량	적량	적량
등장화제	적량	적량	적량	적량	적량	적량

[56]

[57] 실시예 4. 사이클로스포린 A 농도에 따른 에멀전 조성물의 제조

[58] 하기 표 4와 같이 사이클로스포린 A 의 농도를 변화시켜 조성물 4-A 내지 4-E 를 제조하였다.

[59]

[60] 표 4

[Table 4]

사이클로스포린 A 농도에 따른 에멀전 조성물

성분조성물	4-A	4-B	4-C	4-D	4-E
사이클로스포린 A	0.01%	0.03%	0.05%	0.1%	0.2%
Polyethoxylated Castor oil	5%	5%	5%	5%	5%
Ethanol	1%	1%	1%	1%	1%
Sodium Hyaluronate	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
글리세린	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%	2.2%
인산염 완충액	적량	적량	적량	적량	적량
등장화제	적량	적량	적량	적량	적량

[61]

[62] 시험예 1. 에멀전의 입경크기 측정

[63] 상기 실시예 1 내지 4에서 제조한 에멀전에 대하여 레이저회절입도분석기를 사용하여 입경의 평균입자 크기를 측정하여 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다. 이 때, 현재 시판되고 있는 삼일엘러간사의 레스타시스® 점안액 0.05% 제제 (Lot 번호: 69297) 를 control (대조 조성물) 1, 대한민국 특허 제1008189호의 실시예 6-G 제제를 control 2로 사용하였다.

[64]

[65] 표 5

[Table 5]

Control 2의 조성물 구성성분 및 함량

성 분	6-G
사이클로스포린 A	0.05%
올레오일 마크로폴글리세라이드	2.5%
폴록사머 188	3.3%
글리세린	1.6%
키토산	0%
NaOH	적량
정제수	적량

- [66] 하기 표 6에 나타난 바와 같이, 실시예 1에 따라 제조된 에멀전 제제로 가용화제로 Polyethoxylated castor oil 또는 Polyethoxylated hydrogenated castor oil을 사용한 조성물 1-A 내지 1-B의 경우 별도의 유화제 사용 없이도, 입경이 100nm 이하인 나노에멀전을 조제할 수 있었다.
- [67] 이에 비해, 조성물 1-C 내지 1-F의 경우 유화제 사용 없이는 에멀전 형성이 되지 않았으며 유화제를 사용한 1-G 내지 1-J의 경우 평균 입경이 수 um 로 매우 크게 나타났다.
- [68] 한편, 본 발명에 따른 2-A 내지 4-E의 경우 모두 입경이 100nm 이하인 나노에멀전을 제조할 수 있음을 알 수 있으며, 이는 고압식 호모게나이저를 사용하여 제조된 control 1 보다는 입경이 작았다.
- [69] 또한, 도 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 조성물 2-C의 경우 입자가 17.4 nm로 작을 뿐만 아니라 입도 분포도 단일 분포로 고르게 나타난 반면, 도 2에 나타난 바와 같이 control 1 의 경우 평균 입자크기가 328.4nm 로 클 뿐만 아니라 작은 입자들이 뭉쳐 입도 분포가 커진 것을 알 수 있다.
- [70] 일반적으로 에멀전의 안정성에 대한 스톡스 법칙 (Stokes' law)에 근거해 볼 때, 에멀전의 입자 크기를 줄이면 침전이 생길 가능성을 감소시킬 수 있다.
- [71] 상기 결과로부터, 본 발명의 조성물은 사이클로스포린을 수중 유상 제형에서 입자의 크기를 미립자로 하고 균일하게 제제화하는 것을 가능하게 함으로써, 이물감을 느끼지 않는 점안액으로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.
- [72]
- [73] 표 6

[Table 6]

본 발명에 따른 에멀전 및 대조 조성물의 입자 크기 비교

조성물	입자크기 (nm)	조성물	입자크기 (nm)
1-A	17.5 ± 1.4	2-G	17.2 ± 3.3
1-B	18.3 ± 2.4	2-H	17.7 ± 1.1
1-C	-	2-I	17.3 ± 2.7
1-D	-	3-A	16.9 ± 1.1
1-E	-	3-B	24.5 ± 4.4
1-F	-	3-C	19.2 ± 2.9
1-G	4219 ± 54	3-D	33.7 ± 3.9
1-H	6529 ± 43	3-E	18.4 ± 3.3
1-I	1759 ± 86	3-F	41.4 ± 5.9
1-J	4391 ± 131	4-A	17.2 ± 2.5
2-A	16.9 ± 1.1	4-B	17.7 ± 1.9
2-B	17.5 ± 1.9	4-C	16.9 ± 1.1
2-C	17.4 ± 3.1	4-D	16.7 ± 2.9
2-D	17.5 ± 2.2	4-E	17.5 ± 3.3
2-E	17.7 ± 0.7	control 1	328.4 ± 12
2-F	17.3 ± 2.9	control 2	92.6 ± 11.3

[74]

[75] 시험예 2. 본 발명 에멀전의 안정성 테스트

[76] 본 발명의 조성물 1-A, 1-B, 3-A, 3-C, 및 3-E 에 대하여 시간에 따른 입자크기변화 및 pH 변화를 상온에서 시험하고, 그 결과를 표 7 및 표 8에 나타내었다. 하기 표 7 및 표 8에 나타난 바와 같이, 본 발명의 조성물은 시간이 지남에 따라 입자 크기 및 에멀전 pH에 유의적 변화가 나타나지 않음을 알 수 있다.

[77] 상기 결과는 본 발명의 조성물은 물리화학적으로 안정하여 오랜기간 보관이 가능함을 의미한다.

[78]

[79] 표 7

[Table 7]

시간에 따른 에멀전의 입자 크기 변화 (nm)

일 (Day)조성물	0일	7일	15일	30일
조성물 1-A	17.5 ± 1.4	18.2 ± 2.1	17.9 ± 1.5	19.1 ± 0.5
조성물 1-B	18.3 ± 2.4	17.4 ± 2.2	17.5 ± 1.7	19.2 ± 1.5
조성물 3-A	16.9 ± 1.1	18.5 ± 0.9	19.7 ± 2.4	17.4 ± 2.9
조성물 3-C	19.2 ± 2.9	22.1 ± 3.4	21.7 ± 1.7	20.9 ± 1.9
조성물 3-E	18.4 ± 3.3	21.6 ± 4.5	22.8 ± 1.9	21.7 ± 3.3

[80]

[81] 표 8

[Table 8]

시간에 따른 에멀전의 pH 변화

일 (Day)조성물	0일	7일	15일	30일
조성물 1-A	7.22 ± 0.12	7.25 ± 0.08	7.19 ± 0.22	7.22 ± 0.17
조성물 1-B	7.25 ± 0.17	7.29 ± 0.15	7.30 ± 0.17	7.31 ± 0.11
조성물 3-A	7.29 ± 0.18	7.32 ± 0.11	7.27 ± 0.23	7.28 ± 0.09
조성물 3-C	7.21 ± 0.24	7.25 ± 0.16	7.22 ± 0.19	7.27 ± 0.05
조성물 3-E	7.26 ± 0.09	7.22 ± 0.10	7.22 ± 0.25	7.28 ± 0.10

[82]

[83] 시험예 3. 점안액의 투명도 평가

[84] 점안액의 투명도 평가를 통해 점안액을 눈에 점적했을 때의 투명도와 시야 흐림 정도를 in vitro (시험관내) 에서 미리 관찰하기 위해 본 발명에 의해 제조된 안약 조성물 4-C 내지 4-E, 및 control 1 (레스타시스®) 의 투명도 테스트를 진행하였다.

[85] 구체적으로, 눈물 대신에 생리식염수 (0.9% NaCl)을 사용하여 안약 조성물을 각각 2ml을 취하고, 여기에 생리식염수를 가해 투명도를 육안으로 평가하여 표9에 나타내었다.

[86]

[87] 표 9

[Table 9]

투명도 테스트

	조성물 4-C	조성물 4-D	조성물 4-E	Control 1
정상	투명	투명	투명	불투명
생리식염수 50ml 까지	투명	투명	투명	불투명
생리식염수 50ml	투명	투명	투명	약간 우유빛 반투명
생리식염수 50ml 이상	투명	투명	투명	반투명에서 투명해짐

[88] 표 9에 나타난 바와 같이, 종래 시판 제품인 레스타시스®의 경우, 점안시 불투명한 것이 투명하기까지 점안액의 약 25배(2ml일 때 50ml)의 생리식염수가 필요하다. 즉, 기존 제품 0.4ml을 점안하면 눈물 10ml이 흘러나와 점안액이 희석되어야 시야가 투명해지게 됨을 예측할 수 있다.

[89] 그러나, 본 발명에 따른 4-C 내지 4-E의 안약 조성물은 처음부터 투명할 뿐만 아니라 계속 투명성이 유지되므로 시야 흐림과 같은 바람직하지 못한 작용을 일으키지 않음을 알 수 있다.

[90]

[91] 시험예 4. 점안액의 자극성 테스트

[92] 피험자를 각 군당 4명씩 3군으로 하여 하기 표 10과 같이 3X3 교차 실험을 통해 자극성 테스트를 진행하였다. 총 3기에 걸쳐 실험을 진행하였으며 각 피험자에게 본 발명에 따른 조성물 2-C, control 1, 및 control 2를 각각 점안 후 자극성 정도를 표 11과 같이 점수로 나타내었다.

[93] 표 11 및 도 3에 나타난 바와 같이 본 발명에 의해 제조된 조성물 2-C의 경우 자극감이 거의 없는 우수한 효과를 나타낸 반면, control 2의 경우 점안시 매우 심한 자극감을 나타내었으며 control 1의 경우 자극감이 거의 없거나 약한 자극감을 나타내었다.

[94]

[95] 표 10

[Table 10]

3X3 라틴 방격법 실험 모델

Subject No	Period I	Period II	Period III
A1	조성물 2-C	control 1	control 2
A2			
A3			
A4			
B1	control 2	조성물 2-C	control 1
B2			
B3			
B4			
C1	control 1	control 2	조성물 2-C
C2			
C3			
C4			

[96]

[97] 표 11

[Table 11]

자극성 실험 결과

	조성물 2-C	control 1	control 2
A1	0	0	3
A2	0	0	4
A3	0	0	4
A4	0	0	4
B1	0	0	3
B2	0	1	4
B3	0	0	3
B4	1	0	4
C1	0	0	4
C2	0	1	4
C3	0	0	4
C4	0	1	4

[98] [0; 자극성 없음, +1; 미세한 자극을 느낌, +2 ~ +3; 자극을 느낌, +4; 강한 자극을 느낌]

[99]

[100] 시험예 5. Schimer's Tear Test

[101] 본 발명에 따른 안약 조성물의 약효를 평가하기 위하여 Albino rabbit 에 대하여 하기와 같은 실험을 실시하였다.

[102] 구체적으로, 토끼를 각 군당 6마리씩 2 개의 군으로 한 후, 1일 3회 (오전 9시, 오후 2시, 오후 7시), 0.1% 아트로핀 설페이트 (Atrorpine sulfate) 용액 50ul를 점안하였다 (0.1% Atropine sulfate 용액을 토끼 눈에 투여시 한시적으로 안구건조증을 유발시킬 수 있다). 5분 후 각 군의 오른쪽 눈에는 생리식염수, 왼쪽 눈에는 본 발명에 따른 조성물 2-C 또는 레스타시스®를 점안하였다 (표 12 참조).

[103]

[104] 표 12

[Table 12]

Schimer tear test 실험 방법

	1군	2군
Right eye	1% Atrypin sulfate + Normal saline (0.9%)	1% Atrypin sulfate + Normal saline (0.9%)
Left eye	1% Atrypin sulfate + 본 발명의 조성물 2-C 점안제	1% Atrypin sulfate + 레스타시스

[105]

[106] 실험은 5일간 진행하였으며 Schimer tear test는 2,3,4 그리고 5일 후 오후 9시에 schimer tear test 시험용지를 이용하여 눈물양을 측정하고 그 결과를 표 13에 나타내었다.

[107]

[108] 표 13

[Table 13]

Schimer tear test 실험 결과 (눈물양 mm)

조성물 2-C												
rabbit \ 일(day)	Rabbit 1		Rabbit 2		Rabbit 3		Rabbit 4		Rabbit 5		Rabbit 6	
	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye
0	15	10	17	21	13	9	10	8.5	10	12	14.5	11.5
2	6.5	15	10	12.5	7	7.5	5	7.5	9	13.5	5	9.5
3	11	13.5	6.8	12	6	6.5	5	6.5	10	9.5	5	8.5
4	9.5	10	11	18.5	5	10.2	7	7.5	6.8	10.5	9	18
5	11	16	7	18	5	7	5	7	5	10.5	7	11
Control 1												
rabbit \ 일(day)	Rabbit 7		Rabbit 8		Rabbit 9		Rabbit 10		Rabbit 11		Rabbit 12	
	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye	Right eye	Left eye
0	12	9.5	10.5	14	8.5	9.5	10	13	9.5	9.5	10	12
2	5	7.5	5.5	11	11	12	5.8	6.2	7.5	6	12.5	12
3	5	6.8	10.3	9.2	10	14.5	5	6.2	5	5	9.5	14.5
4	6.5	6	9.5	10	12	11	5.5	7.2	8	11.5	10	12
5	6	8	10	8	14	22	5	5	7.5	9.5	10.5	15

[109]

[110] 본 발명의 안약 조성물의 약효는 각 개체마다 오른쪽 눈 (안구건조증 유발군)과 왼쪽 눈 (안구건조증 유발 후 치료제인 조성물 2-C 또는 레스타시스® 투여군) 의 눈물 양 차이를 통해 평가하였으며, 그 결과를 도 4에 그래프로 나타내었다.

[111] 도 4에 나타난 바와 같이, Control 1을 투여한 군에 비해 본 발명의 조성물 2-C를 투여한 군의 눈물생성량이 2, 3, 4 및 5일에 각각 3.1, 1.1, 4.3, 및 2.0 배 증가하였음을 알 수 있다.

[112]

[113] 상기 결과는 본 발명의 안약 조성물이 우수한 안구건조증 치료효과를 가짐을 의미한다.

[114]

[115] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술 분야의

통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

산업상 이용가능성

- [116] 본 발명에 따른 사이클로스포린 함유 나노에멀전 안약 조성물은 점안제 투여시 시야 흐림이나 이물감 같은 눈 자극이 전혀 없고, 물리화학적 안정성이 증가되어 오랜기간 보관이 가능하며, 고압 호모게나이저를 사용하지 않아 보다 안전하게 사용가능한 효과가 있으므로, 사이클로스포린 함유 안약으로 유용하게 활용될 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 사이클로스포린 0.01 내지 1 중량%;
폴리에톡실레이티드 캐스터 오일 (Polyethoxylated castor oil) 또는
폴리에톡실레이티드 하이드로제네이티드 캐스터 오일
(Polyethoxylated hydrogenated castor oil) 0.5 내지 9.79 중량%; 및
인산염 완충액 90 내지 99.29 중량% 를 포함하는 나노에멀전 안약
조성물로,
상기 조성물은 사이클로스포린의 가용화제로 상기
폴리에톡실레이티드 캐스터 오일 또는 폴리에톡실레이티드
하이드로제네이티드 캐스터 오일을 사용함으로써 오일과
유화제를 별도로 사용할 필요가 없으며, 단순 혼합에 의해
제조되는 것을 특징으로 하는, 나노에멀전 안약 조성물.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서,
상기 나노에멀전 평균입경 크기가 100nm 이하인 것을 특징으로
하는, 안약 조성물.
- [청구항 3] 제 2 항에 있어서,
상기 나노에멀전 평균입경 크기가 50nm 이하인 것을 특징으로
하는, 안약 조성물.
- [청구항 4] 제 1 항에 있어서,
상기 사이클로스포린은 사이클로스포린 A인 것을 특징으로 하는,
안약 조성물.
- [청구항 5] 제 1 항에 있어서,
상기 안약 조성물은 점증제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는,
안약 조성물.
- [청구항 6] 제 5 항에 있어서,
상기 점증제는 히알루론산 또는 그 염, 키토산,
히드록시프로필메틸셀룰로즈, 히드록시프로필셀룰로즈,
히드록시에틸셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈,
카르복시메틸셀룰로즈, 카보머, 글리세린, 및
폴리에틸렌옥사이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인
것을 특징으로 하는, 안약 조성물.
- [청구항 7] 제 6 항에 있어서,
상기 점증제는 히알루론산 또는 그 염인 것을 특징으로 하는, 안약
조성물.
- [청구항 8] 제 5 항에 있어서,
상기 점증제는 전체 안약조성물의 0.1 내지 5 중량% 인 것을
특징으로 하는, 안약 조성물.

- [청구항 9] 제 1 항에 있어서,
상기 안약 조성물은 에탄올을 더 포함하는 것을 특징으로 하는,
안약 조성물.
- [청구항 10] 제 9 항에 있어서,
상기 에탄올은 전체 안약 조성물의 0.1 내지 3 중량% 인 것을
특징으로 하는, 안약 조성물.