



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0099926  
(43) 공개일자 2013년09월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 31/155 (2006.01) A61K 31/16 (2006.01)  
C07C 279/12 (2006.01) A61P 27/02 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2013-7005431  
(22) 출원일자(국제) 2011년07월08일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2013년02월28일  
(86) 국제출원번호 PCT/FR2011/051639  
(87) 국제공개번호 WO 2012/013884  
국제공개일자 2012년02월02일  
(30) 우선권주장  
1056290 2010년07월29일 프랑스(FR)  
1152836 2011년04월01일 프랑스(FR)

(71) 출원인  
라보라뚜와르 푸르니에 에스.아.  
프랑스 디종 21000 볼르바르 클레망소 28  
(72) 발명자  
안낫, 조스린  
프랑스, 디종 에프-21000, 루 폴 디로우브리어 5  
허그엣, 헬렌-셀린  
프랑스, 디종 에프-21000, 루 리고우즈 거렌드 1  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
청운특허법인

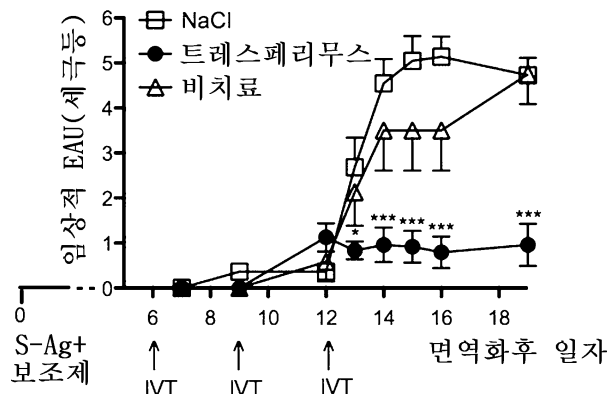
전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 **염증성 눈질환의 치료/예방용 화합물**

(57) 요약

본 발명은 염증성 눈질환, 특히, 포도막염, 중증의 결막염, 안구건조증 및 당뇨병성 망막증의 치료 및/또는 예방을 위한 화학식 1의 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

**라콤브, 올리비에**

프랑스, 이즈 쉬르 툴 에프-21120, 루 드 라 파익  
스 15

**레브레톤, 루크**

프랑스, 다익스 에프-21121, 루 세인트 로렌트 3

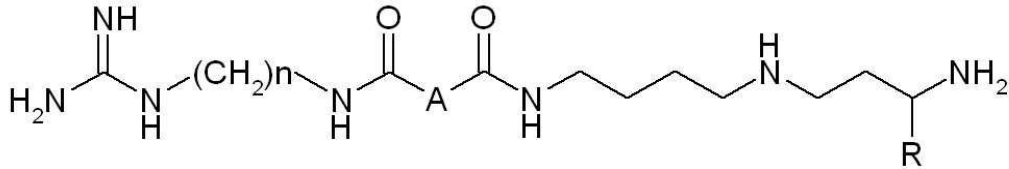
---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

염증성 눈질환 (ocular inflammatory diseases)의 치료 및/또는 예방에 사용하기 위한 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



여기서,

- n은 6 또는 8,
- A는 결합 (bond), 그룹 CH<sub>2</sub>, 그룹 CH(OH), 그룹 CHF, 그룹 CH(OCH<sub>3</sub>), 그룹 CH<sub>2</sub>NH 또는 그룹 CH<sub>2</sub>O,
- R은 H 또는 CH<sub>3</sub>.

### 청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 화합물은 N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것을 특징으로 하는 화합물.

### 청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 화합물은 N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르, 트리-하이드로클로라이드인 것을 특징으로 하는 화합물.

### 청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 화합물은 N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것을 특징으로 하는 화합물.

### 청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 화합물은 N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르, 테트라-하이드로클로라이드인 것을 특징으로 하는 화합물.

**청구항 6**

비-감염 포도막염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 7**

준계 각막결막염과 같은 중증의 결막염의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 8**

안구 건조증의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 9**

당뇨병성 망막증의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 10**

점안제 (eye drops)로 투여되는 청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 11**

주사 가능한 또는 이식 가능한 시스템으로 투여되는 청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 12**

항-VGEF제 및 항-TNF제의 조합, 코르티코스테로이드 (corticosteroid), 비-스테로이드성 항-염증제 (non-steroidal anti-inflammatory agent), 항생제 (antibiotic) 또는 면역억제제 (immunosuppressant)로 투여되는 청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 13**

단독 활성 물질로서 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 정의된 화합물, 및 국소적으로 투여가 적합한 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하며, 여기서 상기 활성 물질의 농도가 0.001% 내지 1.5%, 바람직하게는 0.01% 내지 1.5%인 수성의 국소적 제형 (aqueous topical formulation).

**청구항 14**

청구항 13에 있어서,

상기 수성의 국소적 제형은 필수적으로 중성 pH를 갖는 점안제 형태인 것을 특징으로 하는 수성의 국소적 제형.

#### 청구항 15

청구항 14에 있어서,

상기 수성의 국소적 제형은 히알루론산 (hyaluronic acid) 또는 이의 유도체 및/또는 염화나트륨 또는 글리세롤 (glycerol)을 포함하는 것을 특징으로 하는 수성의 국소적 제형.

#### 청구항 16

단독 활성 물질로서 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 정의된 화합물, 및 주사가능한 안구 투여가 적합한 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하며, 여기서 상기 활성 물질의 농도가 0.1  $\mu\text{M}$  내지 100 mM, 바람직하게는 1  $\mu\text{M}$  내지 10 mM인 수성의 주사가능한 제형 (aqueous injectable formulation).

#### 청구항 17

청구항 16에 있어서,

상기 수성의 주사가능한 제형은 안구 내 또는 안구 주위 제형인 것을 특징으로 하는 수성의 주사가능한 제형.

#### 청구항 18

청구항 17에 있어서,

상기 수성의 주사가능한 제형은 필수적으로 중성 pH를 갖는 유리채내 주사가능한 용액 형태인 것을 특징으로 하는 수성의 주사가능한 제형.

#### 청구항 19

청구항 16 내지 18 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수성의 주사가능한 제형은 염화나트륨 또는 글리세롤을 포함하는 것을 특징으로 하는 수성의 주사가능한 제형.

#### 청구항 20

청구항 17에 있어서,

상기 수성의 주사가능한 제형은 이식가능한 것을 특징으로 하는 수성의 주사가능한 제형.

#### 청구항 21

염증성 눈질환, 특히 포도막염, 중증의 결막염, 안구 건조증 또는 당뇨병성 망막증의 치료 또는 예방에 유용한 약물의 제조에, 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 특히 트레 스페리무스 또는 아니스페리무스의 용도.

#### 청구항 22

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 치료학적인 유효량을 대상에 투여하는 단계를 포함하는 염증성 눈질환의 치료 또는 예방방법.

**청구항 23**

청구항 22에 있어서,

상기 염증성 눈질환은 포도막염, 중증의 결막염, 안구 건조증 또는 당뇨병성 망막증인 것을 특징으로 하는 염증성 눈질환의 치료 또는 예방방법.

**청구항 24**

청구항 22 또는 23에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 점안제로 투여되는 것을 특징으로 하는 염증성 눈질환의 치료 또는 예방방법.

**청구항 25**

청구항 22 또는 23에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 주사 가능한 또는 이식 가능한 시스템으로 투여되는 것을 특징으로 하는 염증성 눈질환의 치료 또는 예방방법.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물의 새로운 치료학적 용도에 관한 것이다.

[0002] 좀 더 구체적으로는, 본 발명은 염증성 눈질환 (ocular inflammatory diseases), 좀 더 구체적으로 포도막염 (uveitis), 중증의 결막염 (severe conjunctivitis) (춘계 각막결막염 (vernal keratoconjunctivitis)), 안구 건조증 (dry eye syndrome) (건성각결막염 (keratoconjunctivitis sicca)) 또는 당뇨병성 망막증 (diabetic retinopathy)의 치료 및/또는 예방하기 위한 이들 화합물의 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염의 용도에 관한 것이다.

**배경기술**

[0003] 염증성 눈질환은 세상에서 시력을 변경시키는 주요 원인이다.

[0004] 좀 더 명확하게는, 포도막염 (uveitis)은 홍채 (iris), 섬모체 (ciliary body) 및 맥락막 (choroid)으로 이루어진 눈의 중간 도막 (vascular middle coat)인, 포도막의 염증과 관련된다. 포도막염에서 감염은 외상 (traumatic) 및 면역-매개 손상 (immune-mediated insults)의 광범위한 다양성으로부터의 결과이다.

[0005] 결막염 (Conjunctivitis)은 눈의 흰자위를 덮은 막인, 결막의 부기 (swelling), 가려움 (itching) 또는 타는 느낌 (burning feeling), 또는 적색도 (redness)를 특징으로 하는 질병을 포함한다. 결막염의 병인학 (aetiology)은 감염성 및 비-감염성 결막염을 포함한다. 결막염은 통상적으로 박테리아성 또는 바이러스성 감염인 경우 급성이고, 알레르기성의 경우에는 만성이다.

[0006] 눈 건조증은 가장 일반적인 안 질환의 하나이다. 이것은 또한 건성각막결막염 (keratoconjunctivitis sicca) (KCS)이라고 한다. 이것은 눈 자극의 증상을 특징으로 하고, 시력 혼탁 (blurred vision)을 유발할 수 있으며, 이러한 증상은 각막 감염 (corneal infection) 및 궤양 (ulceration)의 위험을 증가시킨다. 눈 건조의 발병학 (pathogenesis)은 완전히 밝혀지지 않았지만, 안구 표면 염증 (ocular surface inflammation)과 연관된다고

널리 인지되어 있다.

- [0007] 당뇨병성 망막증은 부종 (edema) 및 허혈상태 (ischemia)와 같은 기능성 변경 (functional alterations)을 갖는 모세관 손상 (capillary lesions)을 유도하는, 만성 과혈당증 (chronic hyperglycaemia)의 결과이다. 레이저 광응고 (Laser photocoagulation)는 여전히 치료의 기준이 되고, 유리체 절제술 (vitrectomy)은 망막 박리 (retinal detachment)의 경우에 사용된다. Lucentis® (ranibizumab)는 황반 부종 (macular edema)의 치료에 사용된다.
- [0008] 포도막염, 중증의 결막염 및 안구 건조증에 걸린 대상에 대한 주된 치료학적 선택은 국부적 (locally) 또는 계통적으로 (systemically) 투여된 코르티코스테로이드 (corticosteroids)로 이루어진다. 그럼에도 불구하고, 코르티코스테로이드는 상기 계통 경로 (systemic route)뿐 아니라 국부적 경로를 통하여, 코르티손-유도-백내장 (cortisone-induced cataract) 또는 녹내장 (glaucoma), 2차 감염 및 지연된 상처 치유와 같은, 심각한 부작용 (side effects)을 갖는다.
- [0009] 또한, 디클로페낙 (diclofenac) 또는 플루르비프로펜 (flurbiprofen)과 같은 비-스테로이드성 항-감염제 (non-steroidal anti-inflammatory agent)가 있다. 그러나, 대상의 다수는 스테로이드성 또는 비-스테로이드성 치료에 반응이 없거나 잘 치료되지 않는다.
- [0010] 헤마토- (hemato-) 및 간독성 (hepatotoxicity)을 갖는 메토티렉세이트 (methotrexate) 및 아자시오핀 (azathioprine)과 같은 항대사제 (antimetabolite drugs)가 또한 있고, 이것은, 경구 경로에 의해 투여된 분해성 (recalcitrant) 및 매우 심각한 포도막염, 사이클로스포린 A (cyclosporine A) 및 타크롤리무스 (tacrolimus)와 같은 면역 억제제 (immunosuppressants)의 치료에 사용하는 것이 필수적이며, 또한 신장 장애 (kidney impairment)의 위험, 림프세포증식질환 증후군 (lymphoproliferative syndromes) 및 악성 피부병 (malign skin diseases)의 위험의 증가와 같은 많은 부작용을 보인다. 이들 부작용에 제한하기 위하여, 이들 면역 억제제는 국소 경로에 의해 사용될 수 있고, 그러나, 이런 화합물은 이들의 거대고리 구조 (macrocyclic structures)때문에 물 매체에서 용해되지 않는다. 이들은 자극 (irritant), 고통 (painful) 및 시력 혼탁을 유발하는 단점을 갖는 오일 비히클에서 주로 조성된다. 이들 화합물들은 대상들이 전반적으로 내성을 갖지 않는다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0011] 본 발명은 화학식 1의 하나 이상의 화합물 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염의 새로운 사용을 제공, 특히 포도막염, 중증의 결막염, 안구 건조증 또는 당뇨병성 망막증과 같은 염증성 눈질환의 예방 및/또는 치료에서의 사용을 제공하여 종래의 기술로부터의 단점을 극복했다.
- [0012] 부가적으로, 본 발명은 후안방 (posterior chamber of the eye)에 도달할 수 있는, 화학식 1의 화합물을 함유하는, 수성의 약학적 조성물을 제공한다. 이것은 염증성 눈질환의 치료를 위해 많은 발전을 의미한다.
- [0013] 더군다나, 본 발명의 화합물은 면역계 반응 (systemic immune response)에 영향이 적거나 거의 없어, 따라서 상기 화합물의 투여와 연관된 잠재적 부작용을 상당히 제한한다.

**과제의 해결 수단**

- [0014] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 (이하 "본 발명의 화합물"이라 한다) 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염이, 국부적으로 투여된 경우, 포도막염 모델에서 임상적 징후를 개선하고, 특히 면역계 반응 (systemic immune response)의 변경없이 혈액 안구 장벽 (blood ocular barrier) 및 전방 및 후방 (anterior and posterior chamber)의 안구 조직을 보호할 수 있는 기대하지 않은 결과에 기초한다. 마찬가지로, 본 발명의 화합물은 중증의 결막염, 안구 건조증 및 당뇨병성 망막증에도 유용하다.
- [0015] 본 발명의 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염, 특히 다른 약학적 모델에서 얻어진, 트레스페리무스 (tresperimus) 및 아니스페리무스 (anisperimus)의 바람직한 효과는, 이들 화합물들이 눈에서 T 림프구

(lymphocytes)에 의해 매개된 반응 및 대식세포 활성의 조절을 유도할 수 있는 것이다.

- [0016] 선형 구조를 갖는 본 발명의 화합물 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염은 수성 매체에 용해 및 안정되고, 따라서 이들은 완벽히 생물친화적이고, 자극 또는 시력 혼탁을 유발하지 않는 수성 제형으로 국부적으로 투여될 수 있다.
- [0017] 제1 관점에 따르면, 따라서 본 발명은 염증성 눈질환, 특히, 포도막염, 중증의 결막염, 안구건조증 및 당뇨병성 망막증의 치료 및/또는 예방을 위해 유용한 약의 제조에, 본 발명의 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염, 특히 트레스페리무스 및 아니스페리무스의 사용에 관한 것이다.
- [0018] 제2 관점에 따르면, 본 발명은 염증성 눈질환, 주로 포도막염, 중증의 결막염, 안구건조증 또는 당뇨병성 망막증의 예방 및/또는 치료 방법을 제공하며, 상기 방법은 본 발명의 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 이들이 필요한 대상에게 투여하는 단계를 포함한다. 어떤 구체 예에 있어서, 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 트레스페리무스 또는 아니스페리무스이다. 본 발명의 화합물(들)은 점안제 (eye drops), 안구 내 (intraocular) 또는 안구주변 경로 (periocular route)에 의해 주사될 수 있는 용액, 또는 이식가능한 시스템 (implantable system)으로 투여된다.
- [0019] 본 발명의 화합물 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염, 특히 트레스페리무스 및 아니스페리무스는 포도막염, 안구건조증 또는 당뇨병성 망막증의 치료 및/또는 예방에 특히 유용하다.
- [0020] 제3 관점에 따르면, 본 발명은 안구 염증성 질환 (ocular inflammation diseases)을 갖는 대상에게 국부적 투여를 제공하기 위해 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유일한 활성 물질로 포함하는 약제학적 조성물 (pharmaceutical composition)의 적절한 제형에 관한 것이고; 본 발명은 좀 더 구체적으로는 국부 투여로 적절한 약학적으로 허용가능한 수성의 제형에 관한 것이다.
- [0021] 제4 관점에 따르면, 본 발명의 화합물, 특히, 트레스페리무스 및 아니스페리무스, 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염은 항-VEGF제, 항-TNF제, 코르티코스테로이드, 비-스테로이드성 항-감염제, 항생제 (antibiotic) 또는 면역억제제 (immunosuppressant)와 조합으로 투여될 수 있다.
- [0022] 본 발명의 특성 및 장점의 또 다른 이해는 하기 상세한 설명 및 청구항을 참조하여 만들어질 수 있다.

**발명의 효과**

- [0023] 본 발명에 따른 화학식 1의 화합물은 포도막염, 중증의 결막염, 안구 건조증 또는 당뇨병성 망막증과 같은 염증성 눈질환의 예방 및/또는 치료에서 면역계 반응에 영향이 적거나 거의 없어, 상기 화합물의 투여와 연관된 잠재적 부작용을 상당히 제한하는 효과가 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0024] 도 1은 랫트 (rat)에서 임상 실험적 자가-면역 유베오레티니스 (clinical Experimental Auto-immune Uveoretinis (EAU))에 대한 트레스페리무스 주사의 효과를 나타낸 도면이다.
- 도 2는 식염수로 주사된 랫트 (B)와 비교한 트레스페리무스로 처리된 랫트에서 EAU 조직병리학적 (histopathological) 스코어 (A) 및 EAU 조직병리학적 변화 (C)에 대한 유리체내 (intravitreal) (IVT) 트레스페리무스 주사의 효과를 나타낸 도면으로, a, b, d, e = 감광체 층 (photoreceptor layers); c, f = 시신경두 (optic nerve heads)이다.
- 도 3은 유리체내 주사에 의해 처리된 랫트에서 S-항원 (antigen)에 특이적인 지연성 과민증 (Delayed Type Hypersensitivity) (DTH)에서 트레스페리무스의 효과를 나타낸다.
- 도 4는 수컷 뉴질랜드 토끼에 4일 동안 하루에 두 번씩 1% 용액의 점안제를 적하 후에 트레스페리무스의 안구 분포를 나타낸다.
- 도 5는 LPS (지질다당류 (lipopolysaccharide))에 의해 유도된 포도막염의 임상적 징후에 대한 점적물 (instillation)로 처치 후 트레스페리무스의 효과를 나타낸다.



도 6은 LPS에 의해 유도된 포도막염에서 침투된 염증성 세포의 수에 대한 점적물로 치료 후 트레스페리무스의 효과를 나타낸다.

도 7은 페놀 레드 테스트 (Phenol Red test)에 의해 측정된 눈물의 부피에 대한 트레스페리무스의 효과를 나타낸다.

도 8는 누액층 (tear film)의 파열 (rupture)의 시간에 의해 측정된 누액층의 안정성에 트레스페리무스의 효과를 나타낸다.

도 9는 유리체 (vitreous body)에서 MCP-1 및 IL-6의 생산에 대한 트레스페리무스의 효과를 나타낸다.

도 10은 다른 빈도 (different frequencies)에서 가짜-진동 (pseudo-oscillations)의 크기에 대한 트레스페리무스의 효과를 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 특별히 명시하지 않는 한, 여기에 사용된 모든 기술적 및 특정 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 같은 의미를 갖는다. 부가적으로, 다음의 정의는 본 발명의 실시의 이해를 돕기 위해 제공된다.
- [0026] 상기 "대상"은 바람직하게는 포유류, 더 바람직하게는 인간이다.
- [0027] 여기에서 사용된 용어 "치료 및/또는 예방에 사용된 의도"는 상기 특정화된 질병의 치료 및/또는 예방에 대한 상기 화합물 또는 이의 염의 직접적인 사용을 보호하는 것으로 이해될 수 있다.
- [0028] "예방 및/또는 치료의 방법"은 화합물 또는 유도체 또는 이의 염이 특정화된 질병의 치료 및/또는 예방을 위해 투여되는 상기 방법을 보호하는 것으로 이해될 수 있다.
- [0029] "염증성 눈질환 (Ocular inflammatory diseases)"은 눈 또는 주변 조직의 어떤 부분에 영향을 주는 감염에 대한 일반적인 용어이다. 상기 눈을 포함하는 감염은 유사 알레르기성 초고열 결막염 (familial allergic hay fever conjunctivitis)으로부터, 중증의 결막염 (중계 각막결막염), 포도막염, 공막염 (scleritis), 상공막염 (episcleritis), 시신경염 (optic neuritis), 각막염 (keratitis), 안와 가성종양 (orbital pseudotumor), 망막 혈관염 (retinal vasculitis), 안구건조증, 당뇨병성 망막증, 및 연령관련황반변성 (age-related macular degeneration) (AMD), 눈 조직, 즉, 실명을 점진적으로 유도할 수 있는 망막 (retina)에 전신 질병 손상 (systemic disease damage)의 안구 합병증 (ocular manifestation)과 같이, 실명을 유도할 수 있는 잠재적으로 드문 상태까지의 범위일 수 있다. 상기 염증의 위치는 안구 염증 질병에 대한 진단명으로 관리된다. 염증성 눈질환은 여러 원인으로부터 초래할 수 있다.
- [0030] 본 발명에 따르면, 포도막염은 비-감염성이고, 약에 의해 유도된 외상의 원인, 면역 중개 (immune mediation)의 원인, 악성 (malignant) 원인, 또는 안과수술-후 원인 (post-ophthalmic surgery causes)으로부터 유발된다.
- [0031] 본 발명의 약학적 조성물은 또한 안구 염증을 일으키는, 각막 이식술 (cornea transplantation)과 같은 안과 수술 후에 사용된다.
- [0032] "포도막염"은 포도막 (uvea), 홍채를 포함하는 눈의 중간 도막, 섬모체 및 맥락막의 염증과 관련된다. 이것은 이의 위치, 임상적 과정 및 이의 편측성 (laterality)에 의해 분류된다.
- [0033] "전방 (Anterior)"은 홍채, 각막, 동공 (pupil), 눈방수 (aqueous humor) 또는 섬모체 포함과 관련된다. 예를 들어, 가와사키 질환 (Kawasaki disease)은 전방 포도막염으로 인용될 수 있다.
- [0034] "중간 (Intermediate)"은 유리체, 평면부 (pars plana), 주변 망막 (peripheral retina) 및 공막 (sclera)과 관련된다.
- [0035] "후방 (Posterior)"은 오목 (fovea) 및 시신경 (optic nerve)의 확장에 의한, 상기 맥락막 또는 망막과 관련된다. 비-감염성 후방 포도막염 중에서, 베체트 병 (Behcet's disease), 보그트-코야나기-하라다 병 (Vogt-Koyanagi-Harada disease), 주변 포도막염 (pars planitis), 사르코이드증 (sarcoidosis), 특발성 망막 혈관염 (idiopathic retinal vasculitis) 및 다초점 망막맥락막염 (multifocal retinochoroiditis)이 언급될 수 있다.
- [0036] "전체포도막염 (panuveitis)"은 둘 이상의 분절 (segments)이 영향을 받을 경우 사용된다.
- [0037] 본 발명에 따르면, 결막염은 비-감염성이고, 때때로 중요하고 결정적인 시력상실의 위험을 포함하는 궤양

(ulcers)을 유발하는 주로 심각한 안구 알레르기성으로부터 유발된다.

[0038] 알레르기성 결막염은 상기 결막 (눈을 덮고 있는 미세막 및 눈꺼풀의 안쪽부분)의 염증 반응이다. 상기 눈은 그런 다음 충혈 (red), 따가움 (sting), 화끈함 (burn), 가려움 (itch), 긁힘 (scratch) 및 눈물이 나게 (weep) 될 수 있다. 빛은 견디기 (눈부심 (photophobia))가 어렵다. 눈꺼풀은 종종 적색 및 붓는데, 결막 부기 (결막부종 (chemosis)), 또는 심지어 눈의 외형 (eyes contours)의 깊숙한 마킹 또는 중요한 점액 분비 (mucus secretions)들은 가끔 나타난다. 결막염은 거의 각막에는 영향을 미치지 않는다. 이것은 더 빈번하고 아마도 안구 알레르기보다 덜 심각하다. 이런 유형 I 반응은 종종 봄- 및 여름 시기 (나무 및 풀 꽃가루) 동안 풍부한 꽃가루의 결과이다. 상기 용어 "알레르기성 각막결막염 (allergic keratoconjunctivitis)"은 손상이 또한 각막뿐만 아니라 결막에도 연관되어 있을 경우 사용된다.

[0039] 때때로 유형 IV 민감성 (sensitivity)과 유형 I 민감성이 조합된 더욱 심각한 알레르기성뿐만 아니라 더 드물고, 더욱 특별한 다른 유형도 있다. 예를 들어, 봄철 (vernal) 결막염은 중요하고 결정적인 시력 상실의 위험을 항상 포함하는 궤양을 때때로 유발하는 안구 알레르기의 심각한 형태이다. 이러한 궤양은 종종 각막의 상부에 위치되고, 돌기 (papillae)는 눈꺼풀위의 결막상에 형성된다.

[0040] 포도막염과 같은, 중증의 결막염은 코르티코스테로이드, 비-스테로이드성 항-염증제 또는 면역억제제 (immunosuppressants)로 치료된다.

[0041] "안구건조증 또는 건성각결막염 또는 안구건조 (ocular dryness)"는 부족한 양의 눈물샘에 의한 분비 및 눈물의 질로부터 결과되는 눈의 모든 병리학과 관련된다. 본 발명의 적용에 있어서, 안구 건조증은 또한 모든 눈물 결핍의 형태 (자기면역 쇼그렌 증후군 (autoimmune Sjogren's syndrome) 및 비-쇼그렌 눈물 결핍 (non-Sjogren tear deficiency)을 포함) 및 증발의 형태에 관한 것이다. 안구 건조는 또한 눈물샘 (tear glands), 안구 표면 (각막, 결막 및 뾰루시 (meibomian glands)) 및 눈꺼풀뿐만 아니라, 이들과 접촉하는 감각 신경을 포함하는 통합 시스템인, 눈물 기능 단위의 파열로 알려져 있다.

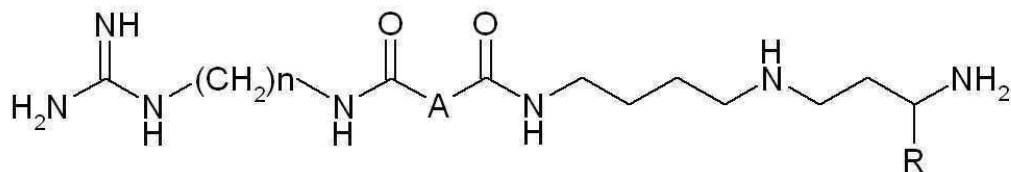
[0042] "당뇨병성 망막증"은 만성 과혈당증 때문에 망막의 및 맥락막의 미소순환계 (microcirculation) (상기 손상된 기관은 망막, 맥락막, 유두상 (papilla) 및 홍채)에 손상과 관련된다. 두 가지 형태는 존재한다: 단순 (또는 비-증식성) 및 증식성 (proliferative).

[0043] 몇몇 경우에 있어서, 망막 및 일반적으로 황반 부종이 나타난다. 다른 경우에 있어서, 망막 모세관의 폐색 (occlusions)은 망막 허혈상태를 유발하여 발생된다. 더구나, 이들 두 가지 주요 특성은 망막 주변 허혈상태 및 황반 삼출물 (macular exudates)을 유도하는 다른 것과 조합될 수 있다.

[0044] 본 발명의 화합물은 또한 연령-관련 황반 변성 (age-related macular degeneration) (AMD)의 치료용으로 유용하다.

[0045] 본 발명의 화합물은 화학식 1을 갖는다:

**화학식 1**



[0046]

[0047] 여기서,

[0048] - n은 6 또는 8,

[0049] - A는 결합 (bond), 그룹 CH<sub>2</sub>, 그룹 CH(OH), 그룹 CHF, 그룹 CH(OCH<sub>3</sub>), 그룹 CH<sub>2</sub>NH 또는 그룹 CH<sub>2</sub>O,

[0050] - R은 H 또는 CH<sub>3</sub>.

[0051] 본 발명의 화합물의 "염"은 상기 화학식 1의 화합물과 하기에 언급된 무기산 또는 유기산 사이의 화학적 반응에

의해 얻어질 수 있다.

- [0052] 염 형성을 위한 바람직한 무기산은: 염산 (hydrochloric acid), 브롬화수소산 (hydrobromic acid), 황산 (sulfuric acid), 인산 (phosphoric acid)이다.
- [0053] 염 형성을 위한 바람직한 유기산은: 푸마르산 (fumaric acid), 말레익산 (maleic acid), 옥산살 (oxalic acid), 시트릭산 (citric acid), 트리플루오르아세트산 (trifluoroacetic acid), 타르타르산 (tartaric acid) 및 설펜산 (sulfonic acids) (메탄설펜산으로부터 도데칸설펜산까지)이다.
- [0054] 상기 화학식 1의 화합물은:
- [0055] N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르;
- [0056] N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-프로판디아미드;
- [0057] N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-2-하이드록시-프로판디아미드;
- [0058] N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-2-플루오로-프로판디아미드;
- [0059] N-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-N'-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-2-메톡시-프로판디아미드;
- [0060] N-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-2-[[[4-[(3-아미노프로필)아미노]-부틸]아미노]카보닐]아미노]-아세타미드;
- [0061] N-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-N'-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-에탄디아미드;
- [0062] N-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-N'-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-에탄디아미드;
- [0063] N-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-N'-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-프로판디아미드;
- [0064] N-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-N'-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-2-하이드록시-프로판디아미드;
- [0065] N-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-N'-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-2-플루오로-프로판디아미드;
- [0066] N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-2-메톡시-N'-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-프로판디아미드;
- [0067] N-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-2-[[[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-아미노]카보닐]아미노]-아세타미드;
- [0068] N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]아미노]-2-옥소에틸 에스테르;
- [0069] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르;
- [0070] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-에탄디아미드;
- [0071] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-프로판디아미드;
- [0072] 2-[[[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]아미노]카보닐]아미노]-N-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-아세타미드;
- [0073] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-2-하이드록시-프로판디아미드;
- [0074] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-2-플루오로-프로판디아미드;
- [0075] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[6-[(아미노이미노메틸)아미노]헥실]-2-메톡시-프로판디아미드;
- [0076] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-에탄디아미드;
- [0077] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-프로판디아미드;
- [0078] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]아미노]-2-옥소에틸 에스테르;
- [0079] 2-[[[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]아미노]카보닐]아미노]-N-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-아세타미드

드;

- [0080] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-2-하이드록시-프로판디아미드;
- [0081] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-2-플루오로-프로판디아미드;
- [0082] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-N'-[8-[(아미노이미노메틸)아미노]옥틸]-2-메톡시-프로판디아미드;
- [0083] 및 이의 약학적으로 허용가능한 염으로부터 바람직하게 선택된다.
- [0084] 상기 화학식 1의 좀 더 바람직한 화합물은:
- [0085] N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르 (트레스페리무스) 및
- [0086] N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르, 및 이의 약학적으로 허용가능한 염으로부터 선택된다.
- [0087] 상기 화학식 1의 특히 바람직한 화합물은 N-[4-[(3-아미노프로필)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르, 트리-하이드로클로라이드 (tri-hydrochloride) 및 N-[4-[(3-아미노부틸)아미노]부틸]-카바믹산, 2-[[6-[(아미노이미노메틸)아미노]-헥실]아미노]-2-옥소에틸 에스테르, 테트라-하이드로클로라이드 (tetra-hydrochloride)이다.
- [0088] 본 발명의 약학적 조성물은 통상적으로 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체 (carriers) 또는 부형제 (excipients)와 함께, 단독 활성 물질 (sole active substance)로서 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다.
- [0089] "약학적 담체"는 활성물질의 투여가능한 약학적으로 허용가능한 부형제 또는 약학적으로 허용가능한 여러 가지 부형제의 혼합물과 관련된다. 이들은 상기 조성물의 제조를 촉진 또는 증진시킬 수 있고, 상기 조성물을 안정화시킬 수 있다. 더구나, 약학적으로 허용가능한 담체는 상기 조성물의 유효성을 향상시킬 수 있고, 상기 활성물질의 안구 내성을 증진시키며, 이의 방출 프로파일을 변형시킨다.
- [0090] 이들은 또한 상기 조성물의 다른 성분과 호환할 수 있고, 생물친화적이고, 비-독성인 의미에서 약학적 및 생리학적으로 모두 허용가능해야만 한다. 이러한 담체는, 예를 들어, 국소 투여와 같은 원하는 투여에 대한 제제의 형태에 의존하여 다양한 형태로 취할 수 있다.
- [0091] "국부 투여"는 모든 안구의 경로, 즉, 국소 (topical) 및 주사가능한 투여, 및 이식시스템 (plantable systems)의 수단에 의한 투여로 이해될 수 있다.
- [0092] "국소 투여"는 예를 든 형태일 수 있고, 점안제 (eye drops), 세안제 (collyrium) 또는 눈의 점적물 (ocular instillation), 스프레이 (sprays), 크림 (creams), 연고 (ointments), 젤 (gels), 하이드로젤 (hydrogels), 올레오젤 (oleogels), 친수성 렌즈 (hydrophilic lens), 삽입물 (inserts), 및 이식 (implants)의 비-제한적인 형태일 수 있다. 투약 형태는, 예를 들어, 용액, 현탁액, 콜로이드성 시스템 (colloidal systems) (예를 들어, 리포솜, 에멀전, 마이크로에멀전, 나노에멀전, 마이크로입자, 나노입자, 미소구체 (microspheres), 니오솜 (niosomes), 덴드리머 (dendrimers)), 미셀 (micelles), 혼합된 미셀 (mixed micelles), 복합 시스템, 예를 들어, 사이클로덱스트린 용액 (cyclodextrin solutions)뿐만 아니라, 예를 든 형태에서 비-이식성 삽입될 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니며, 그리고 디스크 (discs), 필름 (films) 또는 스트립 (strips)의 비-제한적인 형태일 수 있다.
- [0093] "주사가능한 투여"는 결막 밑 (subconjunctival), 서브 테논 (sub tenon's), 눈 뒤 (retrobulbar) 및 공막 내 (intrascleral) 투여를 포함하는 안구내 (intraocular) (유리체 내, IVT), 안구 주위 (periocular)에 비-제한적인 방법일 수 있다.
- [0094] "공막 내 투여"는 주사가능한 또는 이식가능한 시스템으로 수행될 수 있다. 투여량 형태는 예를 든 형태에서 생분해가능한 또는 비-생분해 가능한 이식뿐 아니라, 용액, 현탁액, 콜로이드성 시스템 (colloidal systems) (예를 들어, 리포솜, 에멀전, 마이크로에멀전, 나노에멀전, 마이크로입자, 나노입자, 미소구체 (microspheres), 니오솜 (niosomes), 덴드리머 (dendrimers)), 미셀 (micelles), 혼합된 미셀 (mixed micelles)일 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니며, 그리고 로드(rod), 네일 (nails), 펠렛 (pellet)의 비-제한적인 방법일 수 있다.
- [0095] 본 발명의 적용에 있어서, 농도가 m/V로 표시된 경우, 상기 용액의 밀도가 1로 고려된다.

- [0096] 전달될 상기 화합물에 의존하여, 투여 경로 (국소적 및 주사가능한) 모두에 있어서, 대부분의 상술된 투여 형태는 눈의 표면 또는 유리체에서 활성원 (active principle)의 체류 시간을 잠재적으로 증가시킬 수 있고, 캡슐화된 화합물의 느리고 지속적인 방출을 제공할 수 있으며, 독성 (toxicity)을 피할 수 있고, 눈의 내성 (tolerability)을 증가시킬 수 있다.
- [0097] 본 발명에 따르면, 염증성 눈질환, 특히 포도막염, 중증의 결막염, 안구 건조증 또는 당뇨병성 망막증의 치료 및/또는 예방을 위하여, 본 발명의 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용가능한 염은 수성의 약학적으로 허용가능한 조성물 또는 국소 투여에 적절한 제형, 바람직하게는 점적물, 또는 주사가능한 투여, 바람직하게는 유리체 내 투여를 통해 투여될 수 있다.
- [0098] 국소 또는 주사가능한 투여에 있어서, 상기 부형제는 이러한 유형의 안구 투여에 대해 약학적으로 허용가능하고 적절해야만 한다.
- [0099] 본 발명에서 사용된 수성 매체는 생리학적으로 (physiologically) 및 안과적으로 (ophthalmologically) 억제제 (adverse agents)를 함유하지 않는 물로 이루어진다. 본 발명의 약학적인 조성물은 상기 안구 경로에 대해 생물리화학적으로 호환가능한 pH를 갖는 수성 제형의 형태이다. "상기 안구 경로에 대해 생물리화학적으로 호환가능한 pH"는 약 5.5 내지 약 8의 범위, 바람직하게는 약 6.0 내지 약 7.5의 범위에서의 pH를 의미한다. 상기 제제의 pH는, 예를 들어, 아세트산, 붕산, 젯산, 염산과 같은 산; 예를 들어, 수산화나트륨, 붕산 나트륨, 구연산 나트륨 (sodium citrate), 아세트산 나트륨과 같은 염; 또는, 예를 들어, 인산 나트륨 버퍼, 인산 칼륨 버퍼, 구연산 나트륨 버퍼와 같은 약학적으로 허용가능한 버퍼 용액으로 조절된다. 본 발명의 수성 제제는 안구, 국부 및 안구 내 투여에 대해 등장성 (isotonic) 및 생리학적으로 적용된다. 상기 제제의 삼투압 (osmotic pressure)은 생리학적인 압력과 밀접하고, 일반적으로 약 200 mOsm 및 약 400 mOsm 사이, 바람직하게는 약 260 내지 약 340 mOsm 사이를 포함한다. 만약 필요하다면, 상기 삼투압은 생리학적 및 안과적으로 허용가능한 부형제의 적절한 양을 이용하여 조절될 수 있다. 염화 나트륨은 일반적으로 0.9%를 초과하지 않는 농도 (m/V로 표시된)에서 독성제 (tonicity agent)로 사용된다. 음이온 및 양이온으로 구성된 당량의 하나 이상의 염은 또한 사용될 수 있다. 본 발명의 치료학적 표시에 의존하여, 상기 삼투압은 선택적으로 당 또는 폴리올 단독 또는 조합된 혼합물을 첨가함으로써 선택적으로 보정될 수 있다. 본 발명의 제제는 약 0 내지 약 2000 Centipoises의 다양한 점도, 바람직하게는 100 Centipoises 이하, 및 좀 더 바람직하게는 30 Centipoises의 점도를 갖는다.
- [0100] 본 발명의 조성물은 상기 점도를 증가시키는 시약을 포함할 수 있고, 이에 의해 점적 후에 상기 활성원의 각막 기생 시간 (precorneal dwelling time)을 확장시킨다. 이런 점도성 시약 (viscosifying agent)은 또한 점막점착성 (mucoadhesive properties)을 갖는다. 결막에 주로 존재하는 글리코단백질과 비 공유 결합을 할 수 있는 점막점착성 폴리머는 눈에 대한 제형을 국소적으로 제한하기 위해, 상기 활성원의 안구의 생물학적 이용도 (bioavailability)를 국부적 및 잠재적으로 증가시키는 제형의 기생 시간을 최적화하기 위해, 그리고 이에 의해 치료학적 불만을 개선하는 투여 빈도를 감소시키기 위해 본 발명에 사용될 수 있다. 이들 폴리머는 일반적으로 거대분자 하이드로콜로이드 (macromolecular hydrocolloids)이다. 이들은 또한 본 발명에서 단독 또는 조합하여 사용될 수 있고, 예를 들어, 메틸셀룰로오스 (methylcelluloses), 소듐 카르복시메틸셀룰로오스 (sodium carboxymethylcelluloses), 하이드록시에틸셀룰로오스 (hydroxyethylcelluloses), 하이드록시프로필셀룰로오스 (hydroxypropylcelluloses), 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 (hydroxypropylmethylcelluloses)와 같은 셀룰로오스 유도체; 예를 들어, 폴리아크릴산 (polyacrylic acid)염과 같은 아크릴 유도체 및 이것의 기능적 유도체 (또는 폴리카보필 (polycarbophils)); 카보머 (carbomers); 예를 들어, 알지네이트 (alginates), 키토산 (chitosans), 펙틴 (pectins), 히알루론산 (hyaluronic acid) 및 이의 유도체와 같은 천연 산물; 예를 들어, 젤란 검 (gellan gum) 및 이의 유도체, 잔탄 검 (xanthan gum), 카라기난 (carrageenans)과 같은, 다당류 유도체; 폴록사머 (poloxamers)와 같은 공-중합체이다. 그 자체로 겔화 용량 (gelling capacity)을 갖는 중합체는 본 발명의 약학적 조성물의 제조에서 포함될 수 있다. 소위 상전이 시스템 (phase transition systems)은 액체이고, 상기 pH 및 온도에 의존하는 이온 활성화에 의해 안구 기능과 호환가능한 겔의 형성을 유도한다. 예를 들어, 폴리아크릴산 유도체, 셀룰로오스 유도체, 메틸셀룰로오스, 공중합체 및 폴록사머와 같은 중합체가 이용될 수 있다.
- [0101] 본 발명의 조성물은 또한 당업자에게 잘 알려진 부형제, 예를 들어, 계면활성제 (surfactants), 공-계면활성제 (co-surfactants), 공-용매 (co-solvents), 침투제 (penetration agents), 겔화제 (gelling agents), 유화제 (emulsifiers), 항산화제 (antioxidants), 보존제 (preservatives), 지속적인 방출 (sustained release)에 대한 중합체를 포함할 수 있다.

- [0102] 상기 약학적 조성물은 또한 안구 투여 및 상기 활성원의 지속적인 방출을 가능하게 하는 삽입 또는 고체 이식의 형태일 수 있다. 예를 들어, 삽입의 제제는 수-용성 중합체를 사용하여 수행될 수 있다. 상기 안구 경로에 대해 적절한 삽입의 제제에 대해 사용된, 상기 안구 경로에 대한 생물학적 적합성을 갖는 불활성 중합체는 합성, 세미-합성 또는 천연 자원이다. 고체 이식의 조성물은 또한 합성, 세미-합성 또는 천연 중합체, 바람직하게는, 예를 들어, 폴리비닐 알코올 (polyvinyl alcohols), 폴리락틱-코-글리콜릭산 (polylactic-co-glycolic acids), 폴리-엡실론 카프로락톤 (poly-epsilon caprolactones), 히알루론산 에스테르와 같은 생물학적으로 분해가능한 중합체로 이루어질 수 있다. 이들 생물학적으로 분해가능한 중합체는 또한 상기 활성원의 지속 및 목적 방출을 제공하기 위해 수성 용액에서 분산된 미세구, 나노구 또는 나노캡슐 (nanocapsules)에서 상기 활성원을 캡슐화하기 위해 사용될 수 있다.
- [0103] 상기 활성원을 함침 또는 함유하는 수-용성 렌즈와 같은 다른 매트릭스는 눈의 표면에 상기 활성원의 기생 시간을 증가시킬 수 있다.
- [0104] 이들 제형의 제조 및 멸균에 대한 원리는 투약 형태 기술의 분야에서 잘 알려져 있다.
- [0105] 제1 바람직한 구체 예에 따르면, 점안제 또는 주사가 가능한 용액의 형태에서 상기 약학적 조성물은, 예를 들어, 주 담체로서 생리학적 수성 용액에 용해된, 트레스페리무스와 같은 본 발명의 화합물의 유효 복용량을 포함한다. 이런 용액은 이상적으로 약 260 내지 약 340 mOsm 사이에서 포함된 약학적 조성물의 삼투성 (tonicity)을 얻기 위하여, 바람직하게는 0.9% (m/V) 미만의 농도에서 수성 염화나트륨 용액, 또는 바람직하게는 2.5% (m/V) 미만의 농도에서 수성 글리세롤 용액을 포함한다. 이 용액은, 예를 들어, 수산화나트륨으로 6.5와 근접한 pH로 조절된다. 바람직하게는 히알루론산 또는 이의 유도체와 같은, 생체접착성 중합체가 첨가된다. 이러한 투여 형태는 바람직하게는 감마 방사 (gamma radiation)에 의해 멸균된다. 이러한 투여 형태는 단일 복용 팩 (unidose packs)의 형태일 수 있다.
- [0106] 또 다른 바람직한 구체 예에 따르면, 생분해가능한 이식으로서 투여에 대한 주사가 가능한 용액은 바람직하게 폴리-엡실론 카프로락톤으로 구성된 미세- 또는 나노입자에서 바람직하게 캡슐화된 적어도 본 발명의 화합물의 유효 투여량을 포함한다.
- [0107] 본 발명의 주요 장점은 모든 안구 조직 (전방 또는 후방)이, 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 수성 조성물의 투여에 따라, 본 발명의 화합물에 노출된다는 것이다. 4일 동안 하루에 두 번씩 1% 용액의 점안제를 점적 후 수컷 뉴질랜드 토끼 (도 4)에서 트레스페리무스의 안구 분포의 연구의 평가에 있어서, 망막/맥락막 (후방 (posterior chamber)) 및 섬모체/홍채 (전방 (anterior chamber))이 단순 1% 수성 용액으로 하루에 두 번 점안제 점적을 반복한 후 24 시간동안 0.5 내지 0.7  $\mu\text{M}$  및 0.3 내지 0.7  $\mu\text{M}$ 의 수준으로 트레스페리무스에 노출된다. 따라서 안구 내 주사 또는 이식과 같은 또 다른 국부 투여와 비교, 및 더 좋은 수용상태에 첨가하여, 본 발명의 화합물의 국소 투여는 안구 조직에서 활성 물질 농도를 훨씬 더 잘 조절할 수 있도록 한다. 더구나, 플라즈마 수준은 점안제의 점적 후에 정량화 (Blq) (2ng/mL 4h 투여-후)의 하한 이하의 짧은 기간동안 낮게 (< 50ng/mL 점적-후 5 min 내지 2 h) 관찰된다. 이것은 원하지 않는 면역억제제 시스템 영향을 피하는 것을 허용한다.
- [0108] 상기 유리체내 경로에 대한 제형에서 치료학적 활성 물질의 농도는 0.1  $\mu\text{M}$  내지 100mM, 바람직하게는 1  $\mu\text{M}$  내지 10 mM, 및 좀더 바람직하게는 10  $\mu\text{M}$  내지 0.1mM로 변할 수 있다. 안구 국부적 점적물에 대한 제형에서 치료학적 활성 물질의 농도는 0.001% 내지 5% (m/V로 표시), 바람직하게는 0.001% 내지 1.5%, 좀더 바람직하게는 0.01% 내지 1.5%으로 변할 수 있다. 이러한 농도는 다른 안구 국소 투여 경로에 대해 적용될 수 있고, 치료학적 표시에 의존하여 변할 수 있다. 투여경로 및 투여량은 대상, 증상 및 병의 심각도에 따라 의사의 재량에 따른다.
- [0109] 이러한 조성물은 약학적인 기술 분야에서 잘 알려진 투여 형태를 제조하기 위한 어떤 공정에 의해 제조된다.
- [0110] 또 다른 관점에 따르면, 본 발명의 화합물은 다른 치료제와 함께 조합될 수 있고, 또는 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 대상은 본 발명의 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 특히 염증성 안구 질환의 치료에 대한 다른 종래의 약과 함께, 트레스페리무스 및/또는 아니스페리무스로 치료할 수 있다. 다양한 활성 물질은 동시에, 순차적으로 또는 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물 또는 약학적으로 허용가능한 이의 염은 Lck 효소 억제제와 조합하여 투여하지 않는 것이 바람직할 수 있다.
- [0111] 어떤 구체 예에 따르면, 따라서, 본 발명은, 예를 들어, 텍사메타손 (dexamethasone), 프레드니솔론 (prednisolone), 및 트리암시놀론 (triamcinolone)와 같은 코르티코이드; 예를 들어, 시클로포스파미드

(cyclophosphamide), 메토티렉세이트 (methotrexate), 아자시오프린 (azathioprine), 사이클로스포린 A (cyclosporine A), 타크롤리무스 (tacrolimus), 시롤리무스 (sirolimus), 마이코페놀레이트 모페틸 (mycophenolate mofetil)과 같은 본 발명의 화합물로부터 활성 메카니즘을 갖는 면역억제제; 예를 들어, 리텍시맵 (rituximab), 다실리주맵 (daclizumab), 인플릭시맵 (infliximab), 아달리무맵 (adalimumab) 및 이타너셉트 (etanercept)과 같은 항-TNF 제로부터 선택된, 포도막염의 치료에 사용된 하나 이상의 약과 조합한 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 적어도 하나의 화학식 1의 화합물을 활성 물질로 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0112] 어떤 구체 예에 따르면, 따라서, 본 발명은, 예를 들어, 텍사메타손, 프레드니솔론과 같은 코르티코이드; 네드로밀 (nedocromil), 리오독사마이드 (lidoxamide), 올로파타딘 (olopatadine)과 같은 비-스테로이드성 항-염증제; 토브라마이신 (tobramycin), 나타마이신 (natamycin), 목시플록사신 (moxifloxacin)과 같은 항생제, 항진균제 및 항균제; 예를 들어, 사이클로스포린 A, 타크롤리무스, 시롤리무스와 같은 본 발명의 화합물의 활성 메카니즘과 다른 메카니즘을 갖는 면역억제제로부터 선택된, 중증의 결막염의 치료에서 사용된 하나 이상의 약물과 조합하여 적어도 하나의 본 발명의 화학식 1의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 활성 물질로 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0113] 또 다른 구체 예에 따르면, 본 발명은, 예를 들어, 사이클로스포린 A 및 마이코페놀레이트 모페틸 (mycophenolate mofetil)과 같은 본 발명의 화합물의 활성 메카니즘과 다른 메카니즘을 갖는 면역억제제; 예를 들면, 로테프레드놀 (loteprednol), 리목세론 (rimexelone) 및 플로로메톨론 (fluorometholone)과 같은 코르티코스테로이드; 및 테트라사이클린 (tetracyclines)으로부터 선택된, 안구 건조증의 치료에서 사용된 하나 이상의 약물과 조합하여 본 발명의 적어도 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 활성 물질로서 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다. 이들은 또한 인공 눈물 및 세크레토고구스 (secretagogues)와 조합하여 사용될 수 있다.

[0114] 또 다른 구체 예에 따르면, 본 발명은 예를 들어, 라니비주마브 (ranibizumab), 페가타프니브 (pegaptanib), 베바시주마브 (bevacizumab)와 같은 항-VEGF 제; 예를 들어, 리텍시맵, 다실리주맵, 인플릭시맵, 아달리무맵 및 이타너셉트와 같은 항-TNF제; 예를 들어, 텍사메타손, 프레드니솔론 및 트리암시놀론과 같은 코르티코스테로이드; 및 예를 들어, 사이클로스포린 A, 타크롤리무스, 에베롤리무스 (everolimus) 및 시롤리무스와 같은 본 발명의 화합물과 다른 활성 메카니즘을 갖는 면역억제제로부터 선택된, 당뇨병성 망막증의 치료에 사용된 하나 이상의 약물과 조합된 본 발명의 적어도 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 활성 물질로 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다. 이들은 또한 레이저 치료 (광응고술 (photocoagulation))와 조합하여 사용될 수 있다.

[0115] 이하 트레스페리무스와 관련된 실시 예를 통하여 본 발명을 좀 더 구체적으로 설명하지만, 본 발명이 상기 화학식 1의 화합물에 한정되지 않는 것을 당업자들은 이해할 것이다.

[0116] 이하 실시 예 및 구체 예는 오직 본 발명을 설명하기 위한 것이고, 상기 실시 예 및 구체 예를 고려하여 만들어진 다양한 변형 또는 변화들은 당 업자에게 제시될 수 있으며, 이는 반드시 본 출원의 사상 및 범주 및 첨부된 청구항에 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 비록 여기에 기술된 것과 유사한 방법 및 재료들이 본 발명의 실행 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 재료들이 기술된다.

[0117] **실시 예 1: 포도막염**

[0118] 눈은 면역학적 특별격리 부위이다; 그러나 면역 시스템의 불균형으로부터 유래하는 눈의 질병은 시력상실을 유도할 수 있는 시력 장애에 책임이 있고, 장애를 진전시킨다. 동물 모델, 주로 실험적인 자가면역 포도막염 (EAU) 및 내독소-유도 (endotoxin-induced) 포도막염 (EIU)은, 안구 질환의 관련 임상학적 모델로 고려될 수 있고, 사람에서 질병을 조절할 수 있는 면역학적 메카니즘을 연구할 수 있는 소중한 수단이다:

[0119] - 정제된 망막 항원, 주로 S-항원 (S-Ag)으로 면역화시킨 렫에서 유도된 EAU은, 사람에서 후방 포도막염의 메카니즘을 연구하기 위한 관련 임상학적 모델 및 포도막염에 대한 새로운 치료학적 전략을 개발하는데 고려된다;

[0120] - EIU는 천연 면역 시스템의 구성분을 포함하는, 자발적으로 소산시키는 심각한 염증성 포도막염의 모델이다. 이것은 안구 염증의 국부적 관점을 연구하는데 유용한 모델이고, 사람에서 전 (anterior) 포도막염의 관련 모델로 고려된다.

[0121] 본 발명에 있어서, 본 발명자들은 먼저 상기 화학식 1의 화합물 및 이들의 약제적인 염의 국부적 안구 투여가 사람에서 포도막염의 관련 임상학적 모델로 고려되는 두 개의 실험적 모델에 큰 잇점이 있다는 것을

확인하였다.

[0122] **상기 EAU 모델**

[0123] EAU 모델은 물리병리학적 (physiopathological) 메카니즘, 특히 망막 과열의 메카니즘에서 대식세포 (macrophages) 및 항-염증성 (pro-inflammatory) 사이토카인의, CD4+ (분화의 클러스터 4) 림프세포의 연관을 이해하는 것을 돕는다.

[0124] EAU는 교감눈염증 (sympathetic ophthalmia), 버드샷 망막맥락막염 (birdshot retinochoroidopathy), 보그트-코야나기-하라다 병, 베체트 병, 및 사르코이드증과 같은, 인간 포도막염을 갖는 많은 임상학적 및 조직병리학적 특징을 공유하는 염증성 질병 모델이다. 이는 인간 안구 염증용 임상학적 관련 모델이다.

[0125] EAU는 포도막염을 갖는 대상으로 또한 인지된 정제된 망막 자가항원인, S-항원 (S-Ag)으로 면역화에 의해 유도된다. EAU는 CD4+ Th1 (인터페론-감마 생성 세포) 및 CD4+ Th17 (인터루킨-17 생성 세포) 작동자 세포 (effector cells)에 의존하며, 각각의 작동자 표현형 (phenotype)은 병리학적 반응을 유도할 수 있다.

[0126] 그러나, IL-17 (인터루킨-17)은 IRBP 단백질 (interphotoreceptor retinoid-binding protein)에 의해 유도된 EAU에서 지배적인 역할로 작용한다. IL-17의 중화는 상기 질병을 예방하거나 또는 이의 진행을 복구시킨다. 부가적으로, Th17 작동자 세포는 인터페론 (IFN)-감마의 부재하에서 EAU를 유도한다.

[0127] 그 다음, 대식세포 및 미세아교 세포 (microglial cells)는 상기 반응을 국부적으로 증폭시키고, 감광체 (photoreceptors) 및 상기 망막 조직의 과열을 유도한다. 단핵세포 (Monocytes)/대식세포 뿐만 아니라 호중구 (neutrophils)는 EAU에서 작동자 세포로 중요한 반면, T-세포는 상기 반응을 개시하고, 유지하는데 더 작용한다. 대식세포는 혈액-망막 장벽을 가로지르고, 상기 망막을 침투하는 반면, NO (산화 질소) 및 TNF (tumor necrosis factor)와 같은 매개물질의 방출은 심각한 망막 손상을 유발할 수 있고, 결론적으로 대상에서 시력을 상실시킬 수 있다.

[0128] 본 발명자들은 EAU 및 S-Ag 면역화에 의해 유도된 안구 및 면역계 반응에 대한 트레스페리무스의 국부적 투여 효과를 검토했다.

[0129] **재료 및 방법**

[0130] **I. 루이스 랫트 (Lewis rats)에서 EAU의 유도**

[0131] 8-주-령 암컷 루이스 랫트 (R. Janvier, Le Genest Saint Isle, France)는 예전에 기술 (de Kozak Y, Sainte-Laudy J, Benveniste J and Faure JP. Eur J Immunol. 1981; 11:612-617)된 바와 같이 정제된 40 mg의 망막 자가항원 S-항원 (S-Ag)으로 계통적으로 면역화된다.

[0132] **II. 처리 프로토콜**

[0133] 상기 트레스페리무스의 투여는 S-Ag 면역화 이후 6, 9 및 12일에 양쪽 눈에서 유리체내 (IVT) 주사 (5  $\mu$ l)에 의해 수행된다. 실험의 마지막, 즉, 면역화후 19-20 일에서, 랫트는 심장 찌르기에 의한 혈액 수집 전에 펜토바르비탈 (pentobarbital) (Sanofi-Aventis, France)의 복막 주사에 의해 마취된다. 그 다음, 랫트는 펜토바르비탈의 치사량으로 안락사시키고, 양쪽 눈과 혈액 샘플은 분석을 위해 수집된다.

[0134] 제1 실험에 있어서, 랫트의 한 그룹은 유리체에서 1mM 최종 용액을 달성하기 위해 9mM 트레스페리무스를 함유하는 실질적으로 등장 및 멸균 생리식염수로 처리되고, 랫트의 대조구 그룹은 비히클 (식염수)로 처리되고, 랫트의 한 대조구 그룹은 처리되지 않았다. 동물은 안락사할 때까지 S-Ag 면역화 후 9일까지 세극등 (slit lamp)으로 임상적으로 실험된다. 눈의 조직 병리학은 수행되고 면역 염색법 (immunostaining)은 저온유지장치 (cryostat)로 얻어진 섹션상에서 진행된다. 서혜부 림프절 (Inguinal lymph nodes)은 사이토카인의 RT-PCR분석으로 이루어진다.

[0135] 제2 실험에 있어서, 랫트의 한 그룹은 유리체로 트레스페리무스를 세번 주사하고, 대조구 랫트는 식염수를 주사했다. 상기 랫트는 지연성 과민반응 (Delayed Type Hypersensitivity) (DTH) 분석에 대상이 되고 임상적으로 관찰된다. 플라즈마 및 안구 조직에서 트레스페리무스 수준은 세 번의 주사 후에 1h, 3일 및 8일 측정된다.

[0136] **III. EAU 중증도 (severity)의 평가**

[0137] **1. 임상적 평가**

[0138] 동물은 질병의 개시시간 (onset time) 및 중증도를 평가하기 위해, 7 일에서 11일까지 안락사될 때까지 매일 세



극등으로 시험된다. 상기 임상적 안구 염증의 강도 (intensity)는 이전에 기술된 (de Kozak Eur J Imm 2004) 바와 같이 각 눈에 대해 0에서 7까지의 규모 (scale)로 기록된다.

- [0139] 2. 조직 병리학
- [0140] 안락사 (면역화 후 19-20일)의 당시에, 적출된 랫트의 눈은 고정되고, 가공되며, 파라핀 섹션을 절단하여 조직학 (histological) 평가를 위해 해마톡시린-에오신-사프란 (haematoxylin-eosin-safran)으로 염색된다. 섹션은 시험되고, 다음의 0 내지 7의 세미 정량의 규모에 따라 기록된다: (0) 조직 파열 (tissue destruction) 없음, (1-2) 시세포 (rods and cones)의 외부 분절 (outer segments)의 파열, (3-4) 외부 핵층 (outer nuclear layer)의 파열, (5-6) 내부 핵층의 파열, 및 (7) 신경절 세포층 (ganglion cell layer)의 파열.
- [0141] 3. 면역조직화학 (Immunohistochemistry)
- [0142] 눈 (2 눈/그룹)은 수집되고, 냉동미세절단기 (cryostat) 섹션은 절단되고, (10 μM) 면역화 후 10-20일 동안 전술한 바와 같이 면역화학을 위해 염색된다. 다음의 항체는 사용된다: 항-NOS-2 제1 항체 (Beckton Dickinson Biosciences, Transduction laboratories, San Jose, USA); 항-NF-kB/p65 제1 항체, 그 다음, 제2 항체 Alexa Fluor® 488 (Molecular Probes, Eugene, OR)과 결합된 제2 항체; 항-마크로시알린 (anti-macrosialin) CD68 제1 항체 (클론 (clone) ED1) (Serotec, Oxford, GB), 그 다음 Alexa 564 (red)에 결합된 제2 항체. 섹션은 형광 광현미경 (fluorescence photomicroscopy) (FXA; Microphot; Nikon, Melville, NY)에 의해 관찰되고, 디지털 현미경사진은 디지털 카메라 (Spot; BFI Optilas, Evry, France)로 얻는다.
- [0143] IV. 면역 반응 평가 (Immune response evaluation)
- [0144] 1. 지연형 과민반응
- [0145] DTH는 면역화 후 18일째에 특이적 항-S-Ag 반응을 측정하여 귀 검정 (ear assay)에 의해 평가된다. 랫트는 오른쪽 귀에 10 mg의 S-Ag 및 왼쪽 귀에 식염수에 대한 민감도를 측정한다. 특정한 귀 부기는 민감화 (sensitization)시킨 24 및 48 시간후에 측정되고, 두 귀 사이의 두께 (mm)에서의 차이를 산출한다.
- [0146] 2. RNA 분리 (isolation), 림프절 (lymph nodes) 및 안구 세포에서 역전사 (reverse transcription) PCR
- [0147] 총 RNA는 면역화시킨 19-20일에, 림프절 배출 면역 부위, 및 눈의 각 그룹으로부터 방수 (aqueous humor)/유리체의 원심분리 후에 수집된 세포로부터 분리된다.
- [0148] V. 통계 분석 (Statistical analysis)
- [0149] 데이터는 평균 ± 평균의 표준 오차 (Standard Error of the Mean) (SEM)로 나타낸다. EAU 및 DTH의 임상적 및 조직학 평가는 비-파라미터 만-휘트니 U 테스트 (non-parametric Mann-Whitney U test)를 사용하여 비교되고 분페로니 다중 비교 시험 (Bonferroni multiple comparison test)이 수반된다. 다중 비교 시험에 의해 조정된 p-값은 각 실험에서 계산된다.
- [0150] VI. 결과
- [0151] 1. 유리체내 주사후 안구 조직 및 플라즈마에서 트레스페리무스의 약동력학 (Pharmacokinetics)
- [0152] 루이스 랫트에서 트레스페리무스의 유리체내 주사 후 플라즈마, 방수/유리체 및 망막/맥락막에서 트레스페리무스 농도는 하기 표 1에 보고된다:

**표 1**

[0153] S-Ag 면역화 (M ± SEM)후 19-20일에 EAU 조직 병리학상에 트레스무스의 유리체내 주사의 효과

트레스페리무스 농도 (N=6)		면역된 랫트 (3 IVT 주사)		
주사-후 시간		1 시간	3 일	8 일
방수/유리체	평균	270	2.2	1.8
	SEM	61	1	1
망막/맥락막 (μM)	평균	155	36	11
	SEM	25	4	4

플라즈마 ( $\mu\text{M}$ )	평균	0.11	blq	blq
	SEM	0.03	-	-

- [0154] Blq: 하한 정량화 (6 ng/mL) 이하
- [0155] 트레스페리무스의 유리체내 주사 후에, 시험 샘플의 플라즈마 수준은 약 0.1  $\mu\text{M}$  (약 40ng/mL)의 낮은 평균 농도로, 주사-후 1 시간된 제1 시간 포인트에서만 정량화된다. 안구 조직은 주사-후 8일 망막/맥락막에서 상당한 함량 (>10  $\mu\text{M}$ )으로, 트레스페리무스에 높게 노출된다.
- [0156] 2. 트레스페리무스의 유리체내 주사는 EAU의 효과적인 치료이다; 임상적 관찰
- [0157] 트레스페리무스로 치료는 식염수를 주사한 랫트 (13 일 : \* p<0.02; 14 내지 19 일: \*\*\* p<0.0006), 또는 어떤 안구 내 치료를 받지 않은 랫트 (12 일: \* p<0.02 ; 19 일: \*\*\* p<0.0006) (도 1)와 비교하여 면역화 후 13일로부터 EAU의 임상적 중증도의 상당한 감소를 유도한다. 병의 중증도는 면역화 후 19일까지 치료에 의해 상당히 감소되고, 안구 내 치료는 매우 효과적인 것으로 나타난다.
- [0158] 3. 트레스페리무스의 안구내 주사는 과열로부터 망막을 보호하고 대식세포 활성 (macrophage activity)을 조절한다.
- [0159] 트레스페리무스의 3회 주사로 처리된 랫트는 식염수로 주사된 대조구 랫트에서 얻어진 손상 (lesions) (평균 EAU 중증도 등급: 3.25  $\pm$  0.5, n=10) (도 2A), 및 어떤 안구내 치료도 받지 않은 랫트 (평균 EAU 중증도 등급: 3.15  $\pm$  0.6, n=10, p=0.08)와 비교하여 매우 낮은 등급의 조직학 EAU (평균 EAU 중증도 등급: 1.45  $\pm$  0.26, n=10, p=0.007)를 나타낸다. 상기 평균 EAU 조직병리학적 기록은 망막 변형 (alterations)에 기초를 둔다.
- [0160] 식염수를 주사한 대조구 랫트로부터 망막의 조직병리학적 조사 (도 2B)는 감광체 세포층 (photoreceptor cell layer) (a, b, 흰색 별표)의 광범위한 과열을 갖는 심각한 전방 포도막염, 염증 세포 (inflammatory cells) (화살표 (arrow))에 의해 망막하 공간의 침투 (infiltration) 및 유리체 (화살촉 (arrowhead))에서 피브린 삼출액 (fibrin exudates)을 나타낸다. 다수의 감염 세포는 시신경 헤드 수준 (optic nerve head level) (화살표) (c)에 유리체에서 존재한다. 반면, 트레스페리무스 (도 2C)로 처리된 랫트에서, 상기 감광체 세포층은 과열로부터 (e, 흰 별표) 크게 스페어되거나 또는 염증 세포 (d, 화살촉)에 의해 맥락막의 침투로 바깥 분절 (d, 화살표)의 부분적 손실을 나타낸다. 염증은 시신경 헤드 수준 (f, 화살표)에서 가시적이지 않다.
- [0161] 식염수를 주사한 대조구 랫트에 면역 염색에 의해 보여진 바와 같이, 다수의 ED1-양성 거대세포 및 림프구 (lymphocytes)는 염증 세포에 의해 다수의 침투가 가시적인 유리체에서 주로 NF-kappaBp65의 세포질 (cytoplasmic) 및 핵 (nuclear) 발현을 발현시킨다. 대조적으로, 트레스페리무스로 처리된 랫트에서, 염증 세포에 의한 약간의 침투는 안구 조직 및 미디어에서 침투된 세포의 감소된 수 및 NF-kappaBp65의 세포질 발현만 보이는 안구 조직에서 가시적이다.
- [0162] 4. 트레스페리무스의 유리체내 주사는 생체내 면역 반응 시스템에 효과가 없다.
- [0163] a) 서혜립과절 (RT-PCR)에서 사이토카인
- [0164] TNF-알파, IL-2, IFN-감마 및 IL-17의 수준은 상기 치료가 계통적 효과가 없는 것을 나타내는 치료된 및 대조구 랫트로부터 서혜부 림프절에서 검출되지 않아 차이가 없다.
- [0165] b) 지연형 과민반응
- [0166] DTH는 특이적 항-S-Ag 반응을 측정하기 위해 귀 분석으로 조사된다. 트레스페리무스로 치료된 랫트는 생체 내에서 S-Ag에 대한 T-세포 반응성이 트레스페리무스로 치료하여 감소되지 않음을 입증하고, 상기 치료가 시스템 효과 (도 3)가 없다는 것을 확인하는 식염수의 IVT 주사 치료된 대조구 랫트와 비교하여 24 시간 및 48 시간에서 귀 부기의 상당한 감소를 나타내지 못했다.
- [0167] 결론적으로, 눈의 후방 극 (posterior pole), 섬모체의 후방 존에서 트레스페리무스의 주사는 EAU에서 전방 및 후방 안구 염증에서 이의 효과를 보여준 것과 같이 눈의 전방 및 후방 분절에서 이의 확산을 가능하게 한다. 더구나, 트레스페리무스의 낮은 수준 (< 90ng/mL)은 면역계 반응에서 어떤 영향없이 플라즈마에서 발견된다. 사실상, 트레스페리무스의 효과는 일반적인 순환에서 발생하는 효과적인 확산이 없다는 것이 확인된 눈에 제한된다.

- [0168] 본 발명자들은 상기 질병 (6, 9, 12일)의 도입된 상 (afferent phase)동안 S-Ag로 면역화 후 트레스페리무스의 세번의 유리체내 주사는 임상적 안구 염증을 감소 및 망막의 광채를 보호하기에 효과적임을 보여준다.
- [0169] 트레스페리무스 작용 수준을 실험하는데 있어서, 귀 시험에 의해 평가된 바와 같은, S-Ag에 대한 지연형 과민반응(DTH)은 상기 치료가 S-Ag에 대한 계통적 T-세포의 반응성을 변경하지 않는 것을 의미하는, 대조구 렛트 및 치료된 렛트 (도 3)와는 다르지 않다.
- [0170] 더구나, 본 발명자들은 안구 치료가 면역계 반응에 효과가 없는 것을 보여준다. 사실상, 서해부 림프절 배출 면역화 부위에서, TNF-알파와 같은 염증 사이토카인의 수준, 및 IL-2, IFN-감마 및 IL-17와 같은 T 림포구에 의해 생성된 사이토카인의 수준은, 트레스페리무스로 치료에 의해 변경되지 않는다.
- [0171] 상기 EIU 모델
- [0172] 상기 엔도톡신-유도 (endotoxin-induced) 포도막염 모델은 그람-음성 박테리아의 리포다당류 (LPS)의 계통적 또는 국소적 주사에 의해 유도된, 렛트 또는 마이스에서 실제 안구 염증의 모델이다. 이것은 Crohn's 질병, 강직성 척추염 (ankylosing spondylitis) 및 블라우 신드롬 (Blau syndrom)과 같은 계통 장애와 종종 연관된, 사람의 실제 전방 포도막염의 모델이다.
- [0173] EIU는 안구 뇌 장벽 (ocular brain barrier)의 파열, 눈의 후방 및 전방 분절로 염증 세포의 안구내 침투, 및 침투된 염증 세포, 주로 대식세포 및 다핵형 백혈구 (polymorphonuclear leukocytes) (PMNs)에 의한 NO 및 염증 사이토카인 및 케모카인의 생성, 및 혈관 내피세포 (vascular endothelium), 망막 색소 상피, 소교 세포 (microglia) 및 물러 (Muller's) 세포의 안구 세포를 특징으로 한다. 비록 이러한 염증 포도막염은 자연 면역 시스템의 개입시에 며칠 내에 자발적으로 해결될지라도, 이는 안구 조직의 중요한 손상원이다.
- [0174] 본 발명자들은 렛트의 이러한 EIU 모델에서 다른 농도로 점적물을 적하하여 트레스페리무스의 효과를 시험했다.
- [0175] 재료 및 방법
- [0176] I. 엔도톡신에 의한 포도막염의 유도
- [0177] 약 250g의 무게가 나가는 8-주-령 암컷 루이스 렛트 (R. Janvier, Le Genest Saint Isle, France)는 본 연구에서 사용되고, 이들 발바닥에 0.1 mL의 멸균수에서 *Salmonella typhimurium* (Sigma)의 200 $\mu$ g의 LPS로 주사된다.
- [0178] II. 치료 프로토콜
- [0179] 트레스페리무스는 히알루론산 나트륨의 0.1% (m/m) 수용액에서 5% (m/m) 및 0.5% (m/m)의 방울로 4 일 동안 하루에 두 번씩 각각의 눈에 점적물에 의해 투여된다.
- [0180] 3일째, LPS는 발바닥에 투여되고, 24h 후에 트레스페리무스는 마지막 1회만 투여된다. 상기 동물은, 그 다음, 세극등으로 시험되고, 이들의 혈액은 수집되며, 그들은 희생된다. 그 다음, 눈은 분석을 위해 수집된다.
- [0181] III. 임상적 시험
- [0182] 동물들은 포도막염 임상적 염증의 피크에 상응하는, 세극등 24h 이후 LPS 투여로 시험된다. 염증의 강도는 예전에 기술된 (De Kozak Y. et al., J. Neuroimmunol. 1998; 86(2):171-181) 바와 같이, 각각의 눈에 대해 1 내지 6의 규모로 다음과 같이 기록된다: 0, 염증 징후 없음; 1, 상기 홍채 및 각막의 분리된 염증; 2, 상기 홍채 및 각막의 혈관의 팽창; 3, 상기 후방에서 틴들 (Tyndall) 효과와 연관된 홍채의 충혈; 4-6, 등급 3과 유사한 징후지만, 유착 (synechia), 유섬유소 삼출물 (fibrinoid exudation) 또는 전방충농 (hypopyon)의 존재가 부가된다. 만약 상기 등급이 1 이상이라면, 양성 (positive)으로 고려된다.
- [0183] IV. 염증 세포의 조직 병리학 및 카운팅
- [0184] 동물을 안락사시킨 후 (즉, LPS 주사 후 24 시간), 렛트 눈은 적출되고, 그런 다음 고정되며 가공된다. 파라핀 섹션은 조직 병리학 평가를 위해 절단된다. 침투된 염증 세포는 조직 병리학 평가를 위해 해마톡시린-에오신-사프란으로 염색한 후, 눈 (각 눈당 5개의 섹션)의 전방 분절상에 만들어진 섹션을 카운트한다. 세포의 수는 절단된 바와 같이 (de Kozak Y. et al, IOVS 1999 Sep; 40(10): 2275-82) 각 눈 및 각 동물에서 세포의 총수  $\pm$  SEM 평균으로 표시된다.
- [0185] V. 통계적 분석 (Statistical analysis)
- [0186] 결과는 평균  $\pm$  SEM으로 나타내고, 만-휘트니 U 테스트를 사용하여 비교된다.  $P < 0.05$ 는 통계상 의미 있는 것으로

로 고려된다.

- [0187] VI. 결과
- [0188] 트레스페리무스의 효과는 랫트에서 상기 EIU 모델로 평가된다. LPS 주사에 의해 유도된 급성 및 만성 안구 염증은 주사 후 4 시간에 염증 세포의 침투를 특징으로 한다. 이것은 18 시간 및 24 시간 사이에 최대치에 도달하고, 4일 후에 사라진다.
- [0189] 트레스페리무스는 0.1% 수성의 히알루론산 나트륨 용액 (sodium hyaluronate solution)에서 5% (m/m) 및 0.5% (m/m)로 4일 동안 하루에 두 번씩 침투시켜 주사된다. 상기 결과 (도 5)는 각각 눈에 대해 임상적 스코어 ± SEM으로 표시된다.
- [0190] 대조구 동물과 비교에 있어서, 트레스페리무스로 치료는 얻어진 안구 염증의 상당한 감소 (각각 p=0.001 및 p=0.0001)를 나타낸다.
- [0191] 트레스페리무스로 관찰된 임상적 효과를 확인하기 위하여, 눈의 전방에서 존재하는 세포의 총수는 카운트되고, 이것은 염증 세포의 침투가 대조구 동물 (세포의 평균수/섹션: 12.2 ± 0.8, n=17 섹션)과 비교하여, 도 6에서 나타난 바와 같이, 상당히 감소된 (세포의 평균수/섹션: 7.7 ± 0.9, n=13 섹션, p=0.003 및 7.3 ± 0.7, n=13 섹션, p=0.0004) 것으로 명백히 나타난다.
- [0192] 이러한 결과는 랫트의 눈에서 트레스페리무스의 침투가 엔토크신-유도 포도막염의 모델에서 안구 염증의 감소로 얻어진 효과를 나타낸다는 사실을 설명하고 있다. 상기 결과는 이러한 병리학이 이들 2 동물의 약리학적 모델에서 코르티코이드 및 면역억제제 활성화에 의해 주로 치료되기 때문에 트레스페리무스가 점안제의 침투에 의해 임상적 징후의 포도막염을 치료 및 좀더 일반적으로는 중증의 결막염을 치료하는 것이 가능하다는 것을 의미한다.
- [0193] 실시 예 2: 안구 건조
- [0194] 최근 치료법은 완화제 (palliative)가 필수적이고, 인공 눈물을 자주 적용함으로 대상의 눈물을 대체 또는 유지시키는 것이 목적이다. 2차 감염의 위험이 증가되는 중증 각막 손상을 특징으로 하는, 중증 안구 건조는 때때로 항-염증 치료에 의해 치료될 수 있다.
- [0195] 여러 가지 동물 모델은 KCS에 포함된 다른 병리생리학적 (pathophysiological) 메커니즘을 반영하기 위해 개발되었다. 트레스페리무스의 효과는 건조한 환경적 스트레스에 의해 악화되는 인간 KCS와 유사한 안구 표면의 상피 변화를 유도하는 눈물 생성의 약리학적 억제제를 사용하여 안구 건조의 마우스 모델에서 연구된다.
- [0196] 안구 건조는 눈물샘 (lacrimal glands)의 무스카린 콜린성 수용체를 차단하는, 스코폴라민의 조합에 의해 마이스에서 유도되고, 그리고 습도를 감소시키고 공기 흐름을 증가시키는 추출기 후드에서 쥐들을 배치하여 유도된다. 수성 눈물, 눈물 제거, 및 각막 베리어 기능의 생성 및 부피는 치료 전에 평가되고, 그 다음 처리 후 일주일에 두 번 평가된다. 상기 결과는 치료되지 않은 대조구 쥐들의 그룹, 및 상기 추출기 후드에 배치된 쥐들의 그룹, 항콜린성제 스코폴라민으로 치료된, 트레스페리무스로 치료 또는 치료되지 않은 그룹 사이에서 비교된다.
- [0197] 안구 건조가 유도된 실험적 모델은 플루오르세인 염색 각막을 갖는, 안구 표면의 상피 변화, 변형된 각막 상피 베리어 기능, 결막 배상세포 (conjunctival goblet cell)의 감소된 밀도, 및 증가된 결막 상피 증식을 유도한다. 이러한 동물 모델은 수성-결핍 (aqueous-deficient) 및 인간 안구건조증의 증발 성분 (evaporative components)을 모사한다.
- [0198] 재료 및 방법
- [0199] I. 추출기 후드 (extractor hood)에서 콜린성 수용체 차단 (cholinergic receptor blockade) 및 건조 (desiccation)를 갖는 안구 건조의 유도
- [0200] 숫컷 129SV/CD-1 쥐들은 연구에 사용되고, 21일 동안 2.5 mg/mL의 식염수에 200 $\mu$ l의 스코폴라민 (scopolamine)을 세 번 피하주사한다. 상기 쥐들은 전체 실험과정 동안 추출기 후드 (습도 < 50%)에 배치된다.
- [0201] II. 수성 눈물 생성 (Aqueous Tear Production)
- [0202] 눈물 생성 (PRIT)은 60 초 동안 외안각 (lateral canthus)의 안구 표면에 적용된 페놀 레드 (Phenol Red)

(Zone-quick; Menicon, Japan)로 스며든 면사로 측정된다. 상기 실의 젖음은 면사의 스케일을 사용하여, 밀리미터로 측정된다.

[0203]

III. 눈물 막의 안정성 (Stability of tear film)

[0204]

눈물 막의 안정성 시험 (TBUT)은 풀 윙크 (full wink) 사이에 경과된 시간 및 눈물 막에서 건조점 (dry spot)의 제1 징후의 전개를 측정하여 눈의 건조를 평가하기 위해 사용된다.

[0205]

0.1% 소듐 플루오루세인 (sodium fluorescein)의 1 마이크로리터는 결막 백 (conjunctival bag)에 적용되고, 건조점이 나타난 후 시간 (초)은 세 번 윙크 후 측정된다. 90 초 후, 각막 상피에 손상은 측정되고, 코발트 청색 광 (cobalt blue light)을 사용하여 세극등 생체현미경 (biomicroscope)으로 사진을 찍는다. 임상적 스코어는 드레이즈 스코어 스케일 (Draize scoring scale)을 사용하여 기록된다.

[0206]

결과

[0207]

눈물 부피는 레드 페놀 시험을 사용하여 C57B16 쥐들에게 3 주 동안 측정된다. 도 7에 보고된 상기 결과는 평균 눈물 부피 (밀리미터) ± 평균의 표준오차 (SEM)로 표현된다. 이들은 스크폴라민의 피하주사 후 2 일 동안 극적으로 감소된 눈물 부피를 나타낸다. 수성 식염수 (0.6% NaCl)에 히알루론산 나트륨 0.1 % 용액에서 1 %의 투여량으로 하루에 두 번씩 트레스페리무스의 점적물은, 수성 식염수 (0.9% NaCl)에 히알루론산 나트륨 0.1 % (본페로니 다중 비교 시험 (Bonferroni multiple comparison test)을 사용하여 두-인자 가변성 분석,  $p < 0.0001$ )으로 구성된 비히클로 처리된 쥐들과 비교하며, 6 내지 20일까지 눈물 부피가 점진적으로 개선된다. 반대로, 하루에 두 번씩 0.1 % 덱사메타손의 점적물은 눈물 부피에 충분한 효과가 없는 것으로 나타났다.

[0208]

도 8은 스크폴라민 (scopolamine)으로 치료 및 건조한 공기에 노출이, 상기 눈물막 파괴 시험에 의해 측정된 바와 같이, 처음 3 일 중요한 감소, 그 다음 21 일까지 점진적인 감소를 갖는, 눈물막의 안정성에서 감소를 유도하는 것을 보여준다. 1% 점적물로 일일 두 번씩 상기 트레스페리무스의 투여는 식염수 (0.9% NaCl) ( $p < 0.0001$ )에서 히루알론산 나트륨의 0.1% 용액으로 제조된 비히클로 치료된 마이스와 비교하여 7일부터 21까지 눈물막의 안정성을 상당히 개선시키고; 반면에, 덱사메타손 (dexamethasone)은 오직 21일에 계속하지 않는 적당한 효과를 보여준다.

[0209]

결론에 있어서, 이들 결과는 트레스페리무스의 국소적 적용이, 안구 건조의 두 개의 특징적인 임상적 파라미터인, 눈물 분비 및 상기 눈물막의 안정성을 증가시켜 안구 건조에 대한 효과를 갖는 것을 보여준다. 이러한 결과는 안구 건조의 임상적 징후의 치료에 대한 트레스페리무스 점적물의 효과를 증명한다.

[0210]

**실시 예 3: 당뇨병성 망막증**

[0211]

레이저 광응고 (Laser photocoagulation)는 여전히 표준 치료이고, 유리체 절제는 망막 분리의 경우에 사용된다. 그러나, 상당한 비율의 대상은 레이저 광응고에 저항력이 있고, 시간과 더불어, 상기 레이저 상처와 관련된 망막 색소 상피 위축은 감소된 시력을 유발하는 와 (fovea) 하에서 종종 진행된다. 라니비주마브 (Ranibizumab)는 황반 부종의 치료를 위해 최근에 승인되었지만, 다른 항-VEGF 제 (bevacizumab)는 인가되지 않고 사용된다. 항-VEGF 제와 조합 치료는 레이저 치료를 지연시킬 수 있다.

[0212]

코르티코스테로이드 황반 부종 및 혈관신생 (neovascularization)의 퇴화 (regression)를 주목하는 것을 가능하게 만든다. 그러나, 부작용은 빈번하며 (고안압증, 백내장, 내안구염 (endophthalmitis)); 더군다나, 당뇨병 황반 부종에서 장기간 효율은 레이저 치료와 비교하여 입증되지 못했다.

[0213]

상기 트레스페리무스의 효과는 일반적으로 기술된 당뇨병성 망막증의 모델인, 스트렙토조톡신 (streptozotocin)-유도 I 형 당뇨병 모델을 사용하여 랫트에서 평가된다. 이러한 랫트 모델은 세포가 호르몬 인슐린을 생성하여 혈당증 (glycaemia)을 통상적으로 조절하는, 이자의 베타-세포의 파괴와 연관된 고혈당증을 유도시켜 인간 질병을 모방한다. 비록 이러한 모델에서 혈관 변화가 있을 지라도, 혈관증 (vasculopathy)은 사람에서 관찰된 바와 같이 혈관신생으로 진행되지 않는다.

[0214]

스트렙토조톡신은 묶여진 랫트에 정맥 주사된다. 고혈당증은 스트렙토조톡신 치료 후 5일 동안 빠르게 진행된다. 당뇨병 유도 후 3주에, VEGF 및 염증성 바이오마커의 수준은 상기 유리체에서 결정된다.

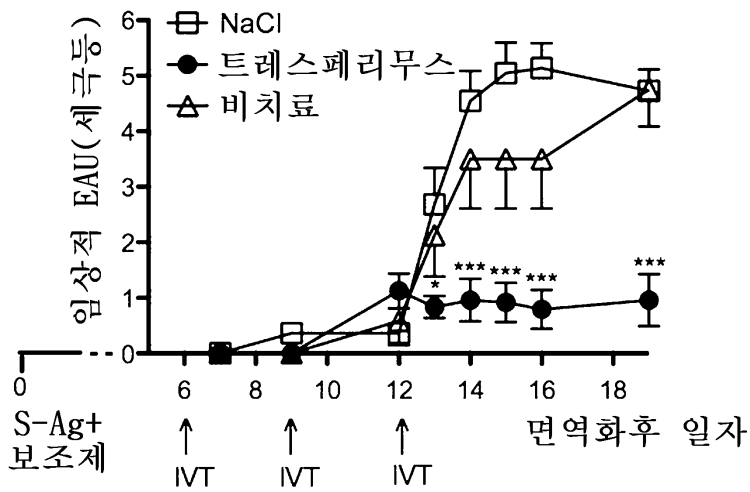
[0215]

a- 및 b-파 (wave)의 망막전위도 (Electroretinogram) (ERG) 측정뿐만 아니라 진동 잠재성 (oscillatory potentials)은 감각체 손상을 모니터링하여 분석된다. 그 결과는 트레스페리무스 또는 비히클로 처리된 비-당뇨병 랫트의 대조 그룹 및 당뇨병 랫트의 그룹 사이를 비교한다.

- [0216] 재료 및 방법
- [0217] I. 스트렙토조톡신에 의한 당뇨병의 유도
- [0218] 당뇨병은 pH 4.5인, 구연산 나트륨 버퍼에서 스트렙토조톡신 (Sigma)의 단일 60 mg/kg 정맥 주사에 의해 밤새 절식후에 Sprague Dawley (SD) 랫트 (200 g)에서 유도된다. 대조구 비 당뇨병 동물은 구연산 버퍼로만 처리한다. 5일 후에, 5 g/L의 혈당증을 갖는 동물은 당뇨병으로 고려된다.
- [0219] 1. 염증 바이오마커
- [0220] Three weeks after the induction of diabetes by 스트렙토조톡신에 의해 당뇨병의 유도후 3주에, 상기 랫트의 눈은 절개되고, 상기 유리체는 분리된다. 몇몇 염증 바이오마커는 제조업자의 권고에 따라 랫트용 멀티플렉스 루미넥스 검정 키트 (VEGF, MCP-1, ICAM-1, IL-6, IL-1 베타; 프로카르타 (Procarta))를 사용하여 측정된다.
- [0221] 2. 망막 전위도 기록법 (Electroretinography) (ERG)
- [0222] 당뇨병 랫트는 LKC사의 망막 전위도 기록법을 사용하여 ERG 시험전에 밤새 암소에 적응된다. 일련의 암소-적응 강도 반응은 로드-매개 망막 반응을 얻기 위해 일련의 간즈펠드 플래시 (Ganzfeld flashes)를 사용하여 기록된다. 개별적인 ERG 파형 성분 (a- 및 b-파, 플릭커 (flickers)) 및 상기 진동 잠재성의 크기 (amplitude) 및 대기시간은 종래의 방법으로 측정된다.
- [0223] II. 결과
- [0224] 상기 트레스페리무스의 효과는 SD 랫트에서 스트렙토조신 (Streptozocin)에 의해 유도된 당뇨병성 망막증의 실험 모델에서 평가된다. 스트렙토조신은 이자의 베타 세포를 파괴시키고, 따라서 모의 1형 당뇨병인, 고혈당증을 유도한다. 당뇨병 동물의 망막은 염증과 상관된 생화학적 및 전기 생리학적 이상을 보여준다. 식염수 (0.9% NaCl)에서 히루알론산 나트륨의 0.1% 용액에서 0.2% (m/m)의 투여량으로 2주동안 매일 두번씩 투여된 트레스페리무스의 점적물은 식염수 (0.9% NaCl)에서 히루알론산 나트륨의 0.1% 용액으로 만들어진 비히클로 치료된 당뇨병 랫트와 비교하여 혈당증 또는 체중을 변화시키지는 않는다.
- [0225] 사이토카인 (Cytokine) 및 케모카인 (chemokine) 수준은 멀티플렉스 루미넥스 검정 기술 (multiplex Luminescence assay technology)을 사용하여 유리체의 샘플에 대해 평가된다. 도 9에 보고된 결과는 유리질 매디움 (vitreous medium)에서 MCP-1 및 IL-6 수준이 스트렙토조신에 의한 당뇨병의 유도후 3주에 극적으로 증가되는 것을 보여준다. 7일부터 21일까지 두 눈에서 1일 2회 0.2%의 복용량으로 트레스페리무스의 점적물로 2주 치료는, 염증 공정 (둔넷 (Dunnett) 멀티플 비교 시험, p=0.001을 사용하는 일-인자 편차 분석) 동안에 단핵세포 회복에 대한 억제 효과를 암시하는, 당뇨병 랫트의 유리체에서 MCP-1 및 IL-6 수준을 상당히 감소시킨다.
- [0226] 스트렙토조신 치료후 3주에서, 상기 ERG 시험은 암소에 적응 후의 당뇨병 랫트가 상기 a- 및 b-파 (waves)의 크기에서 감소, 진동 잠재성 (oscillatory potentials)의 이상, 및 진동 (light flash)의 강도와 상관없이 상기 플릭커 (도 10)의 큰 악화를 보여준다. 상기 시세포는 고혈당증에 의해 영향받은 두 가지 유형의 감광체이다. 도 10은 1일 2회로 0.2% 트레스페리무스의 안구 점적물의 투여로 2주 치료후를 보여주는데, 트레스페리무스는 대조 배치 (비히클로 치료된 당뇨병 랫트)와 비교하여 플릭커 (flickers)의 크기, 및 또한 상기 망막 기능, 주로 당뇨병 랫트에서 시세포의 신경보호 효과를 의미하는, 상기 a- 및 b-파 및 진동 잠재성의 크기를 상당히 개선시킨다.
- [0227] 따라서, 결론에 있어서, 이러한 결과는 트레스페리무스의 국소적 투여가 망막 염증 수준을 감소 및 고혈당증으로부터, 상기 신경-망막 기능, 주로 시세포를 보호하여 당뇨병 랫트의 망막에 대해 효과가 있음을 보여준다. 따라서, 이러한 결과는 사람에서 당뇨병성 망막증의 치료 및 당뇨병 대상에서 시각 장애의 보호를 위한 트레스페리무스 점적물의 효과를 증명한다.

도면

도면1



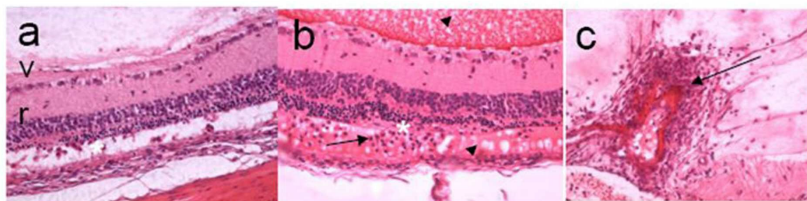
도면2a

치료	EAU	n 랫트
NaCl 대구조	3.25 ± 0.5	n=10
트레스페리무스	1.45 ± 0.26	n=10
비치료	3.15 ± 0.6	n=10

데이터는 S-Ag 면역화후 20일에서 평균 스코어 ±SEM임

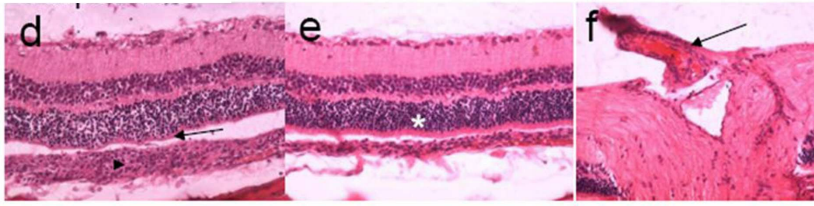
도면2b

식염수



도면2c

트레스페리무스



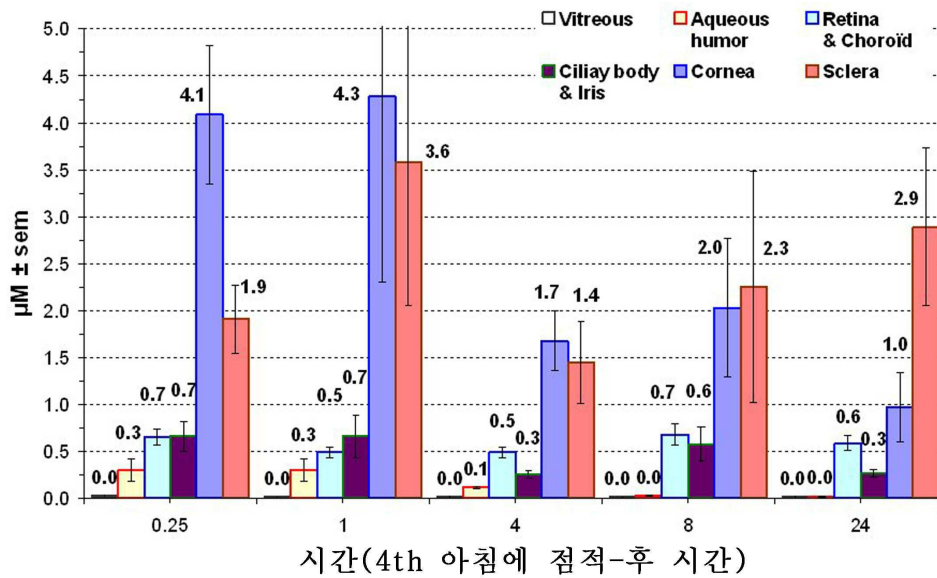
도면3

S-Ag 처치후 시간			
24h		48h	
식염수	트레스페리무스	식염수	트레스페리무스
13.9±2.6	12.182±2.3 <sup>b)</sup>	20.3±2.7	16.5±3.7 <sup>c)</sup>

데이터는 식염수로 주사된 12렛트 및 트레스페리무스로 처리된 11렛트의 평균 DTH(μm)±SEM임

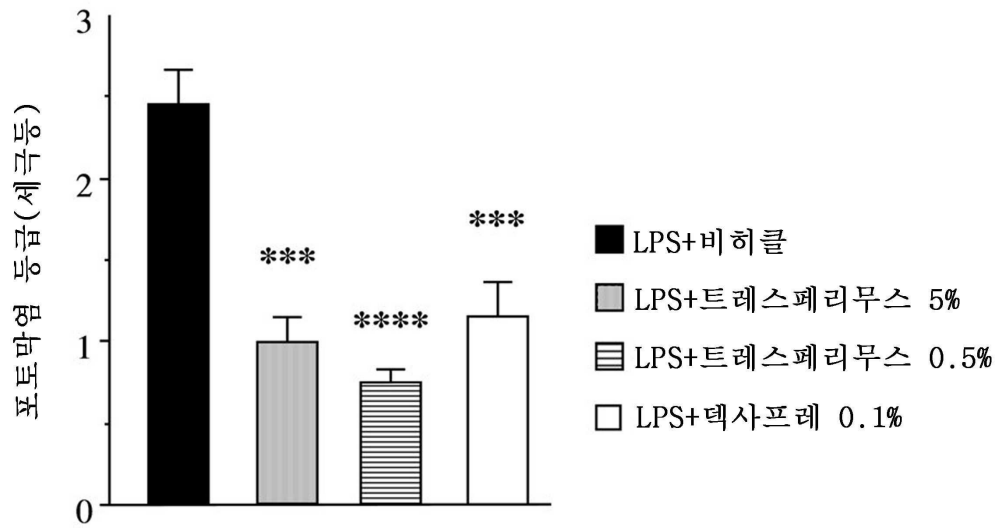
<sup>b)</sup> p=0.8, <sup>c)</sup> p=0.4

도면4

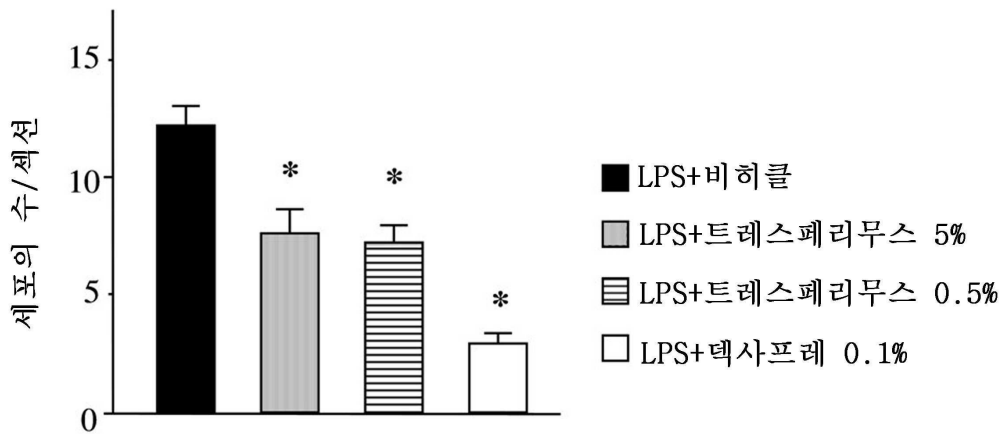




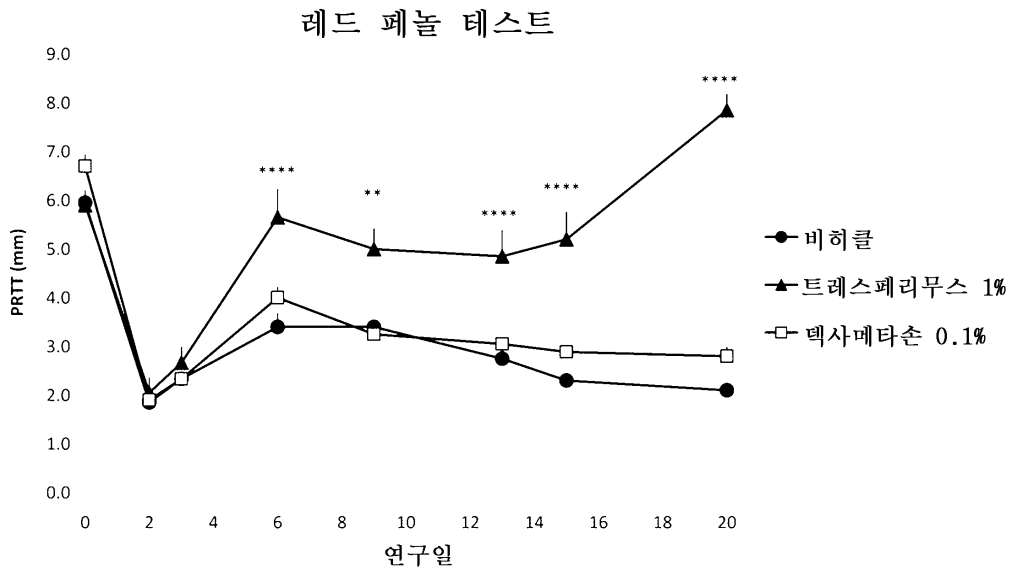
도면5



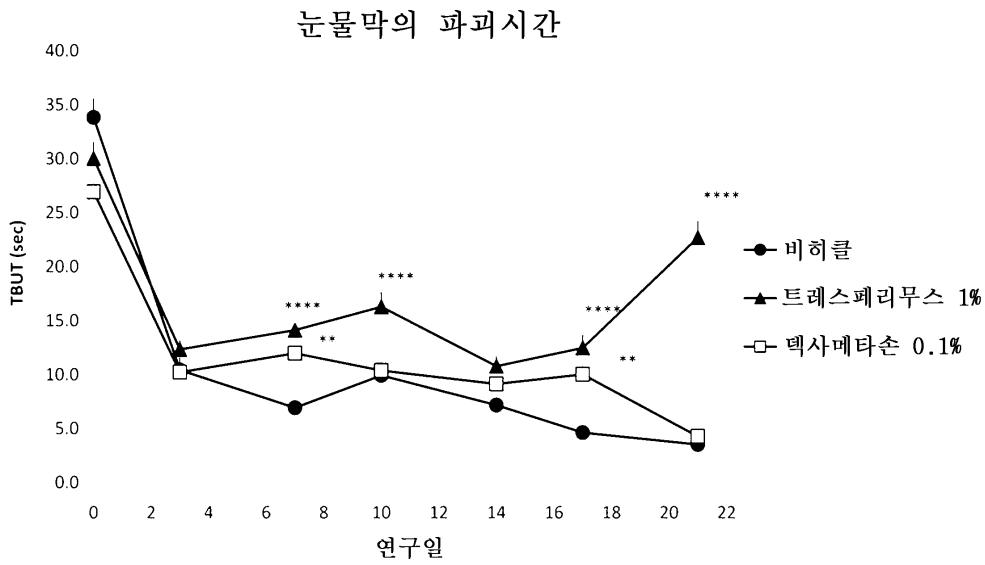
도면6



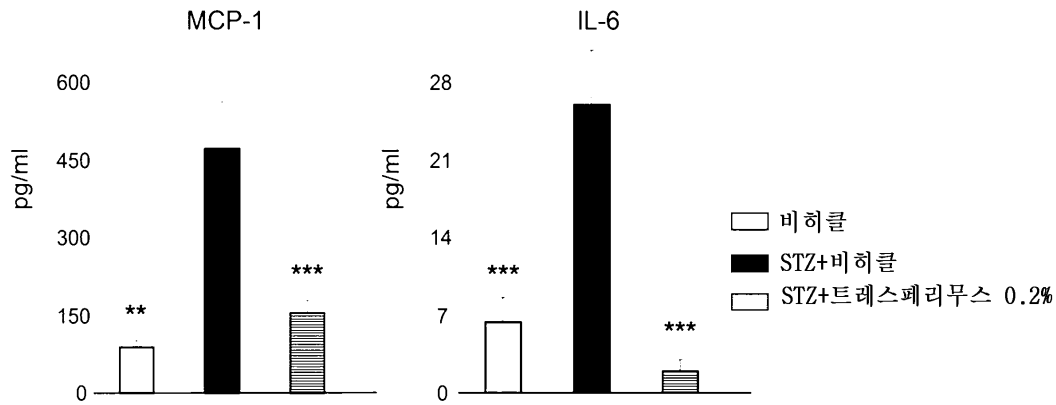
도면7



도면8



도면9



도면10

