



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0031715
(43) 공개일자 2021년03월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2006.01) A61K 31/573 (2021.01)
A61K 31/58 (2021.01) A61K 31/661 (2006.01)
A61K 47/24 (2017.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/127 (2013.01)
A61K 31/573 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7003687
- (22) 출원일자(국제) 2019년07월08일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년02월05일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/040794
- (87) 국제공개번호 WO 2020/014118
국제공개일자 2020년01월16일
- (30) 우선권주장
62/695,763 2018년07월09일 미국(US)
62/839,231 2019년04월26일 미국(US)

- (71) 출원인
타이완 리포좀 캄파니 리미티드
대만 타이페이 11503 난강 디스트릭트 유안쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1
티엘씨 바이오파머슈티컬즈 인코포레이티드
미국 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 611 스위트 830 (우: 94080)
- (72) 발명자
쉬 슈-광
대만 타이페이 11503 난강 디스트릭트 유안쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1
창 포-춘
대만 타이페이 11503 난강 디스트릭트 유안쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1
우 밍-주
대만 타이페이 11503 난강 디스트릭트 유안쿠 스트리트 넘버 3 11에프-1
- (74) 대리인
제일특허법인(유)

전체 청구항 수 : 총 31 항

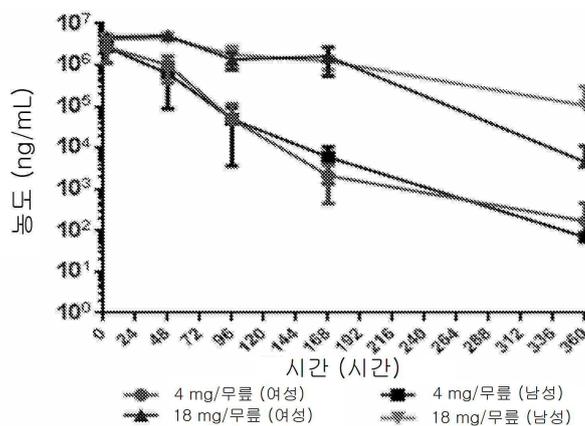
(54) 발명의 명칭 **관절내 스테로이드의 합병증을 감소시키는 방법**

(57) 요약

본 발명은 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 혼합물; 및 유효량의 관절내 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 유효량의 약학 조성물을 관절통의 치료를 필요로 하는 대상에게 투여함을 포함하되, 관절내 스테로이드의 치료 효능은 유지되지만, 관절내 스테로이드와 연관된 부작용은 감소되는, 관절통의 치료 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1a

개 활액 중 덱사메타손 포스페이트의 평균 (±SD) 농도



(52) CPC특허분류

A61K 31/58 (2013.01)
A61K 31/661 (2013.01)
A61K 47/24 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)
A61P 19/02 (2018.01)
A61P 29/00 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상에서 관절통을 치료하고 관절내(IA) 스테로이드에 의해 유발된 부작용을 감소시키기 위한 약학 조성물의 용도로서,

상기 약학 조성물이 (a) 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 혼합물; 및 (b) 유효량의 IA 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 상기 대상에서 IA 스테로이드와 연관된 하나 이상의 부작용이, 지질 혼합물 없이 IA 스테로이드가 투여된 대상에서의 부작용과 비교하여 감소되는, 용도.

청구항 2

제1항에 있어서,

부작용이 연골세포 손상, 연골세포 세포자멸, 프로테오글리칸 손실, 관절 연골의 낭종, 관절 연골 퇴행, 관절 파괴 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 용도.

청구항 3

제1항에 있어서,

지질 혼합물이 하나 이상의 인지질 및 스테롤을 포함하는, 용도.

청구항 4

제1항에 있어서,

지질 혼합물이 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스파티딜콜린(DOPC) 및 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스포글리세롤(DOPG)을 포함하는, 용도.

청구항 5

제1항에 있어서,

IA 스테로이드가 수용성 스테로이드인, 용도.

청구항 6

제1항에 있어서,

약학 조성물의 IA 스테로이드가 10 mM 이상, 약 10 내지 약 40 mM, 약 15 내지 약 30 mM 및 약 20 내지 약 25 mM로 이루어진 군으로부터 선택되는 양인, 용도.

청구항 7

제1항에 있어서,

IA 스테로이드가 코르티코스테로이드인, 용도.

청구항 8

제1항에 있어서,

IA 스테로이드가 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 텍사메타손, 베타메타손, 베타메타손 나트륨 포스페이트, 베타메타손 아세테이트, 베타메타손 다이프로피오네이트, 베타메타손 발러레이트, 모메타손 푸로네이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 트리암시놀론 헥사세토나이드, 트리암시놀론 다이아세테이트, 메틸프레드니솔론 나트륨 석시네이트, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 프레드니솔론 테부테이트, 하이드로코르티손 아세테이트, 알클로메타손

다이프로피오네이트, 할시노나이드, 플루오코르톨론, 플루오시놀론 아세토나이드 또는 이들의 조합인, 용도.

청구항 9

제1항에 있어서,

IA 스테로이드의 유효량이 약 0.1 내지 약 300 mg인, 용도.

청구항 10

제1항에 있어서,

IA 스테로이드의 유효량이 약 0.1 내지 약 20 mg인, 용도.

청구항 11

제1항에 있어서,

IA 스테로이드의 유효량이 약 4 내지 약 18 mg인, 용도.

청구항 12

제1항에 있어서,

약학 조성물이 관절 주사에 의해 투여되는, 용도.

청구항 13

제11항에 있어서,

약학 조성물이 2회 이상의 관절 주사에 의해 투여되는, 용도.

청구항 14

제13항에 있어서,

2회 이상의 관절 주사가 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주, 21주, 22주 및 23주로 이루어진 군으로부터 선택되는 투약 간격으로 투여되는, 용도.

청구항 15

제13항에 있어서,

2회 이상의 관절 주사가 약 10 내지 14주의 투약 간격으로 투여되고, 각각의 관절 주사 당 IA 스테로이드가 8 내지 18 mg의 투약량의 텍사메타손 나트륨 포스페이트인, 용도.

청구항 16

(a) 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 혼합물; 및 (b) 유효량의 IA 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 유효량의 약학 조성물을, 관절통의 치료를 필요로 하는 대상에게 투여함을 포함하는, 관절통을 치료하고 관절내(IA) 스테로이드에 의해 유발된 부작용을 감소시키는 방법으로서,

상기 대상에서 IA 스테로이드와 연관된 하나 이상의 부작용이, 지질 혼합물 없이 IA 스테로이드가 투여된 대상에서의 부작용과 비교하여 감소되는, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서,

부작용이 연골세포 손상, 연골세포 세포자멸, 프로테오글리칸 손실, 관절 연골의 낭종, 관절 연골 퇴행, 관절 파괴 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 18

제16항에 있어서,
지질 혼합물이 하나 이상의 인지질 및 스테롤을 포함하는, 방법.

청구항 19

제16항에 있어서,
지질 혼합물이 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스파티딜콜린(DOPC) 및 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스 포글리세롤(DOPG)을 포함하는, 방법.

청구항 20

제16항에 있어서,
IA 스테로이드가 수용성 스테로이드인, 방법.

청구항 21

제16항에 있어서,
약학 조성물의 IA 스테로이드가 10 mM 이상, 약 10 내지 약 40 mM, 약 15 내지 약 30 mM 및 약 20 내지 약 25 mM로 이루어진 균으로부터 선택되는 양인, 방법.

청구항 22

제16항에 있어서,
IA 스테로이드가 코르티코스테로이드인, 방법.

청구항 23

제16항에 있어서,
IA 스테로이드가 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 텍사메타손, 베타메타손, 베타메타손 나트륨 포스페이트, 베타 메타손 아세테이트, 베타메타손 다이프로피오네이트, 베타메타손 발러레이트, 모메타손 푸로네이트, 트리암시놀 론 아세토나이드, 트리암시놀론 헥사세토나이드, 트리암시놀론 다이아세테이트, 메틸프레드니솔론 나트륨 석시 네이트, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 프레드니솔론 테부테이트, 하이드로코르티손 아세테이트, 알클로메타손 다이프로피오네이트, 할시노나이드, 플루오코르톨론, 플루오시놀론 아세토나이드 또는 이들의 조합인, 방법.

청구항 24

제16항에 있어서,
IA 스테로이드가 약 0.1 내지 약 300 mg의 투약량으로 투여되는, 방법.

청구항 25

제16항에 있어서,
IA 스테로이드가 약 0.1 내지 약 20 mg의 투약량으로 투여되는, 방법.

청구항 26

제16항에 있어서,
IA 스테로이드가 약 4 내지 약 18 mg의 투약량으로 투여되는, 방법.

청구항 27

제16항에 있어서,
약학 조성물이 하나 이상의 관절 주사에 의해 투여되는, 방법.

청구항 28

제16항에 있어서,
 약학 조성물이 2회 이상의 관절 주사에 의해 투여되는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서,
 2회 이상의 관절 주사가 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주, 21주, 22주 및 23주로 이루어진 군으로부터 선택되는 투약 간격으로 투여되는, 방법.

청구항 30

제28항에 있어서,
 2회 이상의 관절 주사가 약 10 내지 14주의 투약 간격으로 투여되고, 각각의 관절 주사 당 IA 스테로이드가 8 내지 18 mg의 투약량의 텍사메타손 나트륨 포스페이트인, 방법.

청구항 31

(a) 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 혼합물; 및
 (b) 10 내지 14 mg의 투약량의 텍사메타손 나트륨 포스페이트인 IA 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염
 을 포함하는, 관절통 또는 염증을 치료하기 위한 고정된 투약량의 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 혼합물; 및 유효량의 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학 조성물을 투여함으로써, 관절 통증을 치료하고 관절내 스테로이드의 부작용을 최소화하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 관절내(IA) 스테로이드 요법은 항염증제의 국소 전달에 의해 관절 염증 및 통증을 감소시키는 이론적 해석으로 50년 넘게 사용되었다. 이는 골관절염 및 기타 염증성 질환과 관련된 관절통을 일시적으로 완화하는 데 효과적인 것으로 나타났다.

[0003] IA 스테로이드 요법의 사용 후 수년 동안, 의사들은 IA 스테로이드를 수용한 환자에서 급속히 진행되는 퇴행성 관절염을 발견하였다. 후속 생체내 및 시험관내 연구는 IA 스테로이드가 프로테오글리칸의 분해 및 손실, 관절 연골의 낭종 및 연골세포 세포자멸을 비롯한 관절 연골에 대한 진행성 손상을 유발한다. 연구된 세 가지 스테로이드(하이드로코르티손, 트리암시놀론 및 텍사메타손) 중에서 텍사메타손이 연골세포 세포자멸을 유도하는 데 가장 효과적이었다(문헌[F. Nakazawa *et al*, "Corticosteroid treatment induces chondrocyte apoptosis in an experimental arthritis model and in chondrocyte cultures" *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2002; 20: 773-781]).

[0004] 최근의 인간 연구는, 스테로이드가 연골 부피 손실 및 연골 독성을 상당히 증가시켰으므로, 관절 연골에 대한 IA 스테로이드의 해로운 효과를 추가로 입증하였다. 이러한 이유로, 많은 의사들은 스테로이드의 사용, 특히 코르티코스테로이드의 사용을 임의의 소정 관절에 대해 1년에 3 또는 4회 IA 주사로 제한한다(문헌[P. Wehling *et al*, "Effectiveness of intra-articular therapies in osteoarthritis: a literature review" *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2017 Aug; 9(8): 183-196]). 단일 IA 스테로이드 주사의 효과는 1 또는 2주 동안만 지속된다. 또한, 주사 후 4주에 걸쳐 IA 스테로이드 주사 효과의 증거는 거의 관찰되지 않았다. 따라서, 스테로이드의 사용을 1년에 3 또는 4회로 제한하는 것은 IA 주사 사이의 치료 효과에 갭을 야기하고, 관절염 증상을 악

화시킨다.

[0005] 상기 약술된 결점을 고려할 때, 만족스러운 치료 효능을 갖지만, 감소된 부작용 프로필, 특히 연골 및/또는 연골세포 손상의 감소를 갖는, 관절 통증을 치료하기 위한 IA 스테로이드 요법이 요구된다.

발명의 내용

[0006] 본 발명의 한 양태에 따라서, 관절내 스테로이드(IA 스테로이드)의 치료 효과를 유지하면서 IA 스테로이드와 연관된 부작용을 감소시키기 위한 약학 조성물이 제공된다. 상기 약학 조성물은 (a) 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 혼합물; 및 (b) 유효량의 IA 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 이때 IA 스테로이드와 연관된 부작용은 지질 혼합물 없는 약학 조성물의 부작용과 비교하여 감소된다.

[0007] 다른 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 약학 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여함으로써, IA 스테로이드 주사와 연관된 부작용이 감소되는 관절통을 치료하기 위한 본원에 기술된 약학 조성물의 용도에 관한 것이고, 이때 IA 스테로이드 연관 부작용은 즉시 방출 또는 표준 스테로이드 제형의 관절 투여 후 대상에서 IA 스테로이드에 의해 유발된 부작용과 비교하여 감소된다.

[0008] 또한, 관절통의 치료를 필요로 하는 대상에게 유효량의 본원에 기술된 약학 조성물을 투여함을 포함하는, 관절 스테로이드 주사와 연관된 부작용이 감소되는 관절통을 치료하는 방법이 제공되고, 이때 IA 스테로이드 유발된 부작용은, 즉시 방출 또는 표준 스테로이드 제형의 관절 투여 후 대상에서 IA 스테로이드에 의해 유발된 부작용과 비교하여 감소된다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1a 및 1b는 개의 단일-투약량 IA 주사 후 리포솜 DSP 조성물의 독성동태학 프로파일이다(연구 #8351851 및 #8388198).

도 2는 단일 또는 다중-투약량의 리포솜 DSP에 의한 처리 후 개(연구 #8351850) 및 토끼(연구 #8288836)에서 연골의 툴루이딘 블루 염색을 예시한다.

도 3은 리포솜 DSP 조성물(TLC599), 트리암시놀론 아세트나이드(TA), 트리암시놀론 아세트나이드 연장-방출 주사용 현탁액(ER-TA) 또는 대조군 염수에 의한 처리 후 개의 연골의 툴루이딘 블루 염색을 예시한다(연구 #79503-18-214).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 정의

[0011] 상기 및 개시내용 전반에 걸쳐 사용된 바와 같이, 달리 표시되지 않는 한, 하기 용어는 하기 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다.

[0012] 본원에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥상 달리 명확하게 지시되지 않는 복수 형태를 포함한다.

[0013] 본원의 모든 수는 "약"에 의해 수식되는 것으로 이해될 수 있고, 이는 양, 시간적 기간 등과 같은 측정가능할 값을 언급할 때, 달리 특정되지 않는 한, 이러한 편차가 원하는 양의 물질 또는 기간을 획득하기에 적절한, 특정된 값으로부터 ±10%, ±5%, ±1%, ±0.1%, ±0.01%의 편차를 포함함을 의미한다.

[0014] 본원에 사용된 용어 "관절 주사"는 관절통 부위 또는 부위 근처의 국소 주사, 관절내 주사 또는 관절 주위 주사를 포함한다.

[0015] 본원에 사용된 "유효량"은 관절의 통증, 염증, 팽팽함 및 종창과 같은 관절통을 유발하는 질병의 증상 및 징후를 감소시키고, IA 스테로이드 주사와 연관된 부작용을 감소시키기에 충분한 약학 조성물의 투약량을 지칭한다. 관절통을 유발하는 질병의 증상 및 징후의 감소는 적절한 임상 척도로 측정된 값 사이에서 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 또는 임의의 양일 수 있다.

[0016] 본원에 사용된 용어 "치료하는", "치료된" 또는 "치료"는 관절통을 유발하는 진행성 구조 조직 손상을 방지(예를 들어, 예방), 감속, 저지 또는 역전시키는 것을 포함한다. 본원 전반에 걸쳐, 치료는 당업계에 공지된 기술에 의해 검출되는 관절통을 감소시키거나 완화시키거나 억제하거나 지연시키는 방법 또는 관절통의 완전한 개선을 의미한다. 이들은, 비제한적으로, 예를 들어 혈청 또는 관절 흡인물의 임상 검사, 영상화 또는 분석(예를 들어, 류마티스 인자, 적혈구 침강 속도)을 포함한다. 예를 들어, 개시된 방법은 치료 전의 대상 또는 대조군

대상과 비교할 때 대상에서 관절통의 약 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 감소가 존재할 때 치료되는 것으로 간주된다.

[0017] 용어 "대상"은 관절통을 갖는 척추동물 또는 관절통에 대한 치료가 필요한 것으로 간주되는 척추동물을 지칭할 수 있다. 대상은 온혈동물, 예컨대 포유동물, 예컨대 영장류, 더욱 바람직하게는 인간을 포함한다. 인간이 아닌 영장류도 대상이다. 용어 "대상"은 사육되는 동물, 예컨대 고양이, 개 등, 가축(예를 들어, 소, 말, 돼지, 양, 염소 등) 및 실험실 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 래트, 게르빌, 기니아 피그 등)을 포함한다. 따라서, 수의학적 용도 및 의학적 제형이 본원에서 고려된다.

[0018] 용어 "관절 통증"은 하나 이상의 관절의 염증 및/또는 통증을 수반하는 관절 질환 또는 상태를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "관절통"은 다양한 병인 및 원인의 다양한 유형 및 아형의 관절염, 예컨대 비제한적으로 류마티스 관절염, 골관절염, 감염성 관절염, 건선성 관절염, 통풍성 관절염, 또는 윤활낭염, 건막염, 상과염, 활막염 및/또는 기타 질환에 의해 영향을 받는 루푸스-관련 관절염 또는 통증이 있는 국소 조직을 포괄한다.

[0019] 본 개시내용의 스테로이드의 "약학적으로 허용되는 염"은 염기로 형성된 산성 스테로이드의 염, 즉 염기 부가 염, 예컨대 알칼리 및 알칼리 토금속 염, 예컨대 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 및 4차 암모늄 염, 예컨대 트라이메틸-암모늄, 다이에틸암모늄 및 트리소-(하이드록시메틸)-메틸-암모늄 염을 포함한다. 유사하게, 산 부가 염, 예컨대 무기 산, 유기 카복실산 및 유기 설폰산, 예컨대 염산, 메탄설폰산, 말레산의 산 부가 염도 염 기성 스테로이드에 제공될 수 있다.

[0020] **약학 조성물**

[0021] 한 양상에서, 본 개시내용은 하나 이상의 지질을 포함하는 지질 혼합물, 및 유효량의 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 약학 조성물은 IA 스테로이드의 치료 효능을 유지하고, IA 스테로이드와 연관된 부작용을 감소시킨다. IA 스테로이드의 부작용은 비제한적으로 연골세포 손상, 연골세포 세포자멸, 프로테오글리칸 손실, 관절 연골의 낭종, 관절 연골 퇴행 또는 관절 파괴를 포함한다. 예를 들어 IA 스테로이드의 부작용에 대한 평가, 예를 들어 비제한적으로 비침습적 검사, 예컨대 MRI가 수행될 수 있다. 본원에 기술된 약학 조성물로 제형화된 IA 스테로이드를 주사한 대상에서 부작용의 감소는 본원에 기술된 약학 조성물 없이, 즉 지질 혼합물 없이 제형화된 IA 스테로이드로 주사된 대상과 비교할 때 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%일 수 있다.

[0022] 한 양태에서, 약학 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제, 비히클, 담체, 활성 성분을 위한 매질, 보존제, 동결방지제 또는 이들의 조합을 추가로 포함한다.

[0023] 한 양태에서, 본 개시내용의 약학 조성물은 콜레스테롤의 존재 또는 부재 하에 하나 이상의 지질, 및 하나 이상의 완충제를 혼합하여 리포솜을 형성하고, 리포솜을 하나 이상의 증량제와 동결건조하여 지질 혼합물을 케이크의 형태로 형성하고, 지질 혼합물 케이크를 스테로이드를 함유하는 수용액으로 재구성하여 리포솜 스테로이드 조성물을 형성함으로써 제조되고, 이때 리포솜 스테로이드 조성물은 비-연관 형태 또는 지질과 연관된 형태로 지질 혼합물 및 스테로이드를 포함한다. 용어 "비-연관 형태"는 약학 조성물의 인지질/콜레스테롤 분획으로부터 겔 여과를 통해 분리가능한 스테로이드 분자를 지칭하고, 즉시 방출 성분을 제공한다.

[0024] 다른 양태에서, 본 개시내용의 약학 조성물은 용매에서 콜레스테롤의 존재 또는 부재 하에 하나 이상의 지질을 혼합하고, 이어서 용매를 제거하여 분말 또는 필름의 형태의 지질 혼합물을 형성하고, 지질 혼합물 분말 또는 필름을 스테로이드를 함유하는 수용액으로 재구성하여 수성 현탁액의 형태의 약학 조성물을 수득함으로써 제조된다.

[0025] 일부 양태에서, 본 개시내용의 약학 조성물은 약 10 내지 약 50%의 지질-연관 스테로이드 또는 약 50 내지 약 90%의 비-연관 스테로이드를 포함한다. 다른 양태에서, 인지질 및 콜레스테롤 조합 대 스테로이드의 중량비는 약 5 내지 80 대 1이다. 또 다른 양태에서, 인지질 및 콜레스테롤 조합 대 스테로이드의 중량비는 약 5 내지 40 대 1이다. 예를 들어, 인지질 및 콜레스테롤 조합 대 스테로이드의 중량비는 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 또는 80 대 1일 수 있다.

[0026] **지질 혼합물**

[0027] 본원에 제공된 약학 조성물의 지질 혼합물은 지질 또는 지질 혼합물을 지칭한다. 지질 혼합물은 비제한적으로 필름, 케이크, 과립 또는 분말의 형태이다.

[0028] 일부 양태에서, 지질 혼합물은 하나 이상의 지질을 포함한다. 임의적으로, 하나 이상의 지질은 하나 이상의 중

성 지질 및 음이온성 지질을 29.5 내지 90% : 3 내지 37.5%의 몰%; 또는 2:1에서 33:1의 몰비로 포함한다.

- [0029] 한 양태에서, 인지질 또는 인지질의 혼합물은 콜레스테롤의 존재 또는 부재 하에 지질 혼합물로 추가 처리되기 전에 리포솜으로 사전-형성된다.
- [0030] 다른 양태에서, 인지질 또는 인지질의 혼합물은 콜레스테롤의 존재 또는 부재 하에 지질 혼합물로 추가 처리되기 전에 리포솜으로 사전-형성되지 않는다.
- [0031] 리포솜은 나노 크기이고, 내부 작용제-운반 성분을 둘러싸는 지질 단일층 또는 지질 이중층을 포함한다. 리포솜의 비제한적인 예는 작은 단층 소포(SUV), 대형 단층 소포(LUV), 다낭 리포솜(MVL) 및 다층 소포(MLV) 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0032] 지질 혼합물은 단일층 또는 이중층 구조를 형성하거나 이로 혼입될 수 있는 다양한 지질로부터 제조될 수 있다. 본 개시내용에서 사용된 지질은 양친매성 물질의 카테고리로서, 비제한적으로 지방산, 글리세로지질, 인지질, 스펅고지질, 스테롤, 프레놀 지질, 사카로지질 및 폴리케티드를 포함한다. 하나 이상의 인지질의 예는 비제한적으로 포스파티딜콜린(PC), 포스파티딜글리세롤(PG), 포스파티딜에탄올아민(PE), 포스파티딜세린(PS), 포스파티드산(PA), 포스파티딜이노시톨(PI)을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 인지질은 예그 포스파티딜콜린(EPC), 예그 포스파티딜글리세롤(EPG), 예그 포스파티딜에탄올아민(EPE), 예그 포스파티딜세린(EPS), 예그 포스파티드산(EPA), 예그 포스파티딜이노시톨(EPI), 대두 포스파티딜콜린(SPC), 대두 포스파티딜글리세롤(SPG), 대두 포스파티딜에탄올아민(SPE), 대두 포스파티딜세린(SPS), 대두 포스파티드산(SPA), 대두 포스파티딜이노시톨(SPI), 다이팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스파티딜콜린(DOPC), 다이미리스토일포스파티딜콜린(DMPC), 다이팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 다이올레오일포스파티딜글리세롤(DOPG), 다이미리스토일포스파티딜글리세롤(DMPG), 핵사데실포스포콜린(HEPC), 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC), 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 다이스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG), 다이올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 팔미토일스테아로일포스파티딜콜린(PSPC), 팔미토일스테아로일포스파티딜글리세롤(PSPG), 모노올레오일포스파티딜에탄올아민(MOPE), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스파티딜콜린(POPC), 폴리에틸렌글리콜 다이스테아로일포스파티딜에탄올아민(PEG-DSPE), 다이팔미토일포스파티딜세린(DPPS), 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스파티딜세린(DOPS), 다이미리스토일포스파티딜세린(DMPS), 다이스테아로일포스파티딜세린(DSPS), 다이팔미토일포스파티드산(DPPA), 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스파티드산(DOPA), 다이미리스토일포스파티드산(DMPA), 다이스테아로일포스파티드산(DSPA), 다이팔미토일포스파티딜이노시톨(DPPI), 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스파티딜이노시톨(DOPI), 다이미리스토일포스파티딜이노시톨(DMPI), 다이스테아로일포스파티딜이노시톨(DSPI) 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0033] 다른 양태에서, 지질 혼합물은 인지질 분자에 부착된 고도로 수화된 가요성 중성 중합체의 장쇄를 갖는 친수성 중합체를 포함한다. 친수성 중합체의 예는 비제한적으로 약 2,000 내지 약 5,000 달톤의 분자량을 갖는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 메톡시 PEG(mPEG), 강글리오사이드 GM₁, 폴리시알산, 폴리락트산(폴리락 타이드로도 지칭됨), 폴리글리콜산(폴리글리콜라이드로도 지칭됨), 폴리락틱폴리글리콜산, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐피롤리돈, 폴리메톡사졸린, 폴리에틸옥사졸린, 폴리하이드록시에틸옥사졸린, 폴리하이드록시프로필옥사졸린, 폴리아스파르타마이드, 폴리하이드록시프로필 메타크릴아마이드, 폴리메타크릴아마이드, 폴리다이메틸아크릴아마이드, 폴리비닐메틸에터, 폴리하이드록시에틸 아크릴레이트, 유도체화된 셀룰로스, 예컨대 하이드록시메틸셀룰로스 또는 하이드록시에틸셀룰로스 및 합성 중합체를 포함한다.
- [0034] 한 양태에서, 지질 혼합물은 스테롤을 추가로 포함한다. 본 개시내용에 사용된 스테롤은 특별히 제한되지 않지만, 이의 예는 콜레스테롤, 피토스테롤(시토스테롤, 스티그마스테롤, 푸코스테롤, 스피나스테롤, 브라시카스테롤 등), 에르고스테롤, 콜레스타논, 콜레스테논, 코프로스테놀, 콜레스테릴-2'-하이드록시에틸 에터, 및 콜레스테릴-4'-하이드록시부틸 에터를 포함한다. 지질 혼합물의 스테롤 성분은 존재하는 경우 리포솜, 지질 소포 또는 지질 입자 제조의 분야에 통상적으로 사용되는 임의의 스테롤일 수 있다. 다른 양태에서, 지질 혼합물은 약 10 내지 약 33 몰%의 콜레스테롤, 약 15 내지 약 30 몰% 미만의 콜레스테롤, 약 18 내지 약 28 몰%의 콜레스테롤 또는 약 20 내지 약 25 몰%의 콜레스테롤을 포함한다.
- [0035] 일부 양태에서, 지질 혼합물은 제1 인지질 및 제2 인지질을 포함한다. 다른 양태에서, 제1 인지질은 DOPC, POPC, SPC 및 EPC로부터 선택되고, 제2 인지질은 PEG-DSPE 또는 DOPG이다. 예시적인 양태에서, 지질 혼합물은 29.5 내지 90% : 3 내지 37.5% : 10 내지 33%의 몰%로 DOPC, DOPG 및 콜레스테롤을 포함한다.
- [0036] 한 양태에서, 지질 혼합물은 지방산 또는 양이온성 지질(즉, 생리학적 pH에서 순 양전하를 갖는 지질)이 존재하

지 않는다.

- [0037] 일부 양태에서, 지질 혼합물은 리포솜이 표적 분자를 보유하는 표적 세포에 특이적으로 결합할 수 있도록 표적화 모이어티로서 작용하는 항체 또는 펩티드의 지질-접합체를 추가로 포함할 수 있다. 표적 분자의 비제한적인 예는 비제한적으로 TNF- α 및 B 세포 표면 항원, 예컨대 CD20을 포함한다. CD19, HER-3, GD2, Gp75, CS1 단백질, 메조텔린, cMyc, CD22, CD4, CD44, CD45, CD28, CD3, CD123, CD138, CD52, CD56, CD74, CD30, Gp75, CD38, CD33, GD2, VEGF 또는 TGF와 같은 다른 항원이 또한 사용될 수 있다.
- [0038] 본 개시내용에서 제조된 리포솜은 소포를 제조하는 데 사용되는 통상적인 기술에 의해 생성될 수 있다. 이러한 기술은 에터 주입 방법(문헌[Deamer et al., Acad. Sci. (1978) 308: 250]), 계면활성제 방법(문헌[Brunner et al., Biochim. Biophys. Acta (1976) 455: 322]), 동결-해동 방법(문헌[Pick et al., Arch. Biochim. Biophys. (1981) 212: 186]), 역상 증발 방법(문헌[Szoka et al., Biochim. Biophys. Acta. (1980) 601: 559-71]), 초음파 처리 방법(문헌[Huang et al., Biochemistry (1969) 8: 344]), 에탄올 주입 방법(문헌[Kremer et al., Biochemistry (1977) 16: 3932]), 압출 방법(문헌[Hope et al., Biochim. Biophys. Acta (1985) 812: 55-65]), 프랑스 프레스 방법(문헌[Barenholz et al., FEBS Lett. (1979) 99: 210]) 및 문헌[Szoka, E, Jr., et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9: 467 (1980)]에 기술된 방법을 포함한다. 상기 모든 공정은 소포 형성을 위한 기본 기술이고, 이러한 공정은 본원에 참고로 혼입된다. 멸균 후, 사전-형성된 리포솜을 용기에 무균적으로 위치시키고, 이어서 동결건조하여 분말 또는 케이크를 형성한다. 지질 혼합물이 사전-형성된 리포솜을 포함하는 양태에서, 상기 리포솜은 용매 주입 방법에 의해 수득되고, 이어서 동결건조되어 지질 혼합물을 형성한다. 지질 혼합물은 하나 이상의 증량제를 포함한다. 한 양태에서, 지질 혼합물은 하나 이상의 완충제를 추가로 포함한다.
- [0039] 증량제는 비제한적으로 폴리올 또는 당 알코올, 예컨대 만니톨, 글리세롤, 소르비톨, 텍스트로스, 수크로스 및/또는 트레할로스; 아미노산, 예컨대 히스티딘, 글리신을 포함한다. 하나의 바람직한 증량제는 만니톨이다.
- [0040] 완충제는 비제한적으로 나트륨 포스페이트 1염기성 2수화물 및 나트륨 포스페이트 2염기성 무수물을 포함한다.
- [0041] 지질 혼합물이 리포솜으로 사전-형성되지 않은 지질을 포함하는 양태에서, 지질 혼합물은 비제한적으로 에탄올, 메탄올, t-부틸 알코올, 에터 및 클로로포름과 같은 적합한 유기 용매에 용해시키고, 가열, 진공 증발, 질소 증발, 동결건조, 또는 기타 일반적인 용매 제거 수단에 의한 건조에 의해 제조될 수 있다.
- [0042] 본 개시내용을 뒷받침하는 지질 혼합물 제조의 구체적인 예는 하기 기술될 것이다.
- [0043] **관절 주사를 위한 스테로이드**
- [0044] 본원에 기술된 약학 조성물 중의 스테로이드는 관절 주사에 적합한 스테로이드 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함한다. 스테로이드의 예는 비제한적으로 글루코코르티코이드 및 미네랄로코르티코이드와 같은 코르티코스테로이드를 포함한다. 한 양태에서, 본원에 기술된 약학 조성물의 스테로이드는 관절내(IA) 주사에 적합한 코르티코스테로이드이다.
- [0045] 본 개시내용에 유용한 IA 스테로이드는 임의의 자연 발생 스테로이드 호르몬, 합성 스테로이드 및 이들의 유도체를 포함한다. IA 스테로이드, 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 예는 비제한적으로 코르티손, 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 아세테이트, 텍소코르톨 피발레이트, 플루오시놀론, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 프레드니손, 트리암시놀론 아세토나이드, 트리암시놀론, 모메타손, 암시노나이드, 부테소나이드, 테소나이드, 플루오시노나이드, 플루오시놀론 아세토나이드, 할시노나이드, 베타메타손, 베타메타손 나트륨 포스페이트, 텍사메타손, 텍사메타손 나트륨 포스페이트(DSP), 플루오코르톨론, 하이드로코르티손-17-부티레이트, 하이드로코르티손-17-발러레이트, 알클로메타손 다이프로피오네이트, 베타메타손 발러레이트, 베타메타손 다이프로피오네이트, 프레드니카베이트, 클로베타메타손-17-부티레이트, 클로베타솔-17-프로피오네이트, 플루오코르톨론 카프로에이트, 플루오코르톨론 피발레이트, 플루프레드니렌 아세테이트, 다이플루프 레드네이트, 로테프레드놀, 플루오로메톨론, 메드리손 리멕솔론, 베클로메타손, 클로프레드놀, 코르티바졸, 데옥시코르티손, 다이플루오로코르톨론, 플루클로롤론, 플루오로코르티손, 플루메타손, 플루니솔라이드, 플루오로코르톨론, 플루란드레놀론, 메프레드니손, 메틸프레드니솔론, 파라메타손 또는 이들의 혼합물을 포함한다. 예시적인 양태에서, IA 스테로이드는 수용성 스테로이드이다. 다른 예시적인 양태에서, IA 스테로이드는 쿠프만(Coopman) 분류에 따르면 B 및 군 C 스테로이드로부터 선택된다(문헌[S. Coopman et al., "Identification of cross-reaction patterns in allergic contact dermatitis from topical corticosteroids" Br J Dermatol. 1989 Jul; 121(1):27-34]).

- [0046] IA 스테로이드의 약학적으로 허용되는 염은 비-독성 무기 또는 유기 염기로부터 형성된 비-독성 염을 포함한다. 예를 들어, 비-독성 염은 무기 염기, 예컨대 알칼리 또는 알칼리 토금속 하이드록사이드, 예를 들어 칼륨, 나트륨, 리튬, 칼슘 또는 마그네슘; 및 유기 염기, 예컨대 아민 등에 의해 형성될 수 있다.
- [0047] IA 스테로이드의 약학적으로 허용되는 염은 또한 비-독성 무기 또는 유기 산으로부터 형성된 비-독성 염을 포함한다. 유기 및 무기 산의 예는, 예를 들어 염산, 황산, 인산, 아세트산, 석신산, 시트르산, 락트산, 말레산, 푸마르산, 팔미트산, 콜산, 파모산, 무크산, D-글루탐산, 글루타르산, 글리콜산, 프탈산, 타르타르산, 라우르산, 스테아르산, 살리실산, 소르브산, 벤조산 등이다.
- [0048] IA 스테로이드는 관절염의 증상이나 징후를 감소시키기 위해 관절 주사에 의해 임의의 유효량으로 투여될 수 있다. 이들은 약 0.1 내지 약 300 mg, 약 0.1 내지 약 100 mg, 약 0.1 내지 약 20 mg, 약 0.1 내지 약 18 mg, 약 1 내지 약 300 mg, 약 1 내지 약 100 mg, 약 1 내지 약 20 mg, 약 1 내지 약 18 mg, 약 4 내지 약 300 mg, 약 4 내지 약 100 mg, 약 4 내지 약 20 mg, 약 4 내지 약 18 mg의 투약량으로 투여될 수 있다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 약학 조성물의 IA 스테로이드는 1 밀리리터(mL) 당 약 1 내지 약 20 mg, 약 1 내지 약 18 mg, 약 4 내지 약 300 mg, 약 4 내지 약 100 mg, 약 4 내지 약 20 mg, 또는 약 4 내지 약 18 mg의 농도이다.
- [0049] 일부 양태에서, 본 개시내용의 약학 조성물의 IA 스테로이드는 적어도 10 mM, 11 mM, 12 mM, 13 mM, 14 mM, 15 mM, 16 mM, 17 mM, 18 mM, 19 mM, 20 mM, 21 mM, 22 mM, 23 mM, 24 mM, 25 mM, 26 mM, 27 mM, 28 mM, 29 mM, 30 mM, 31 mM, 32 mM, 33 mM, 34 mM 또는 35 mM; 및 임의적으로 약 10 내지 약 40 mM, 약 15 내지 약 40 mM, 20 내지 약 40 mM, 약 15 내지 약 35 mM, 약 15 내지 약 25 mM, 또는 약 20 내지 약 25 mM의 농도이다.
- [0050] 인간에서 IA 스테로이드의 유용한 용량은 시험관내 활성 및 동물 모델에서의 생체내 활성을 비교하여 결정된다. 마우스 및 다른 동물에서 인간에 대한 유효 용량을 외삽하는 방법은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 본원에 참고로 혼입된 미국 특허공보 제4,938,949호 참고).
- [0051] 투여되는 IA 스테로이드의 용량은 치료되는 병태의 중증도, 특정 제형, 및 수용자의 체중 및 일반적인 병태 및 부작용의 중증도와 같은 기타 임상적 인자에 따라 달라질 것이다.
- [0052] 약학 조성물은 치료되는 병태에 적절한 기간에 걸쳐 단일 투약 치료 또는 다중 투약 치료로 투여될 수 있다. 약학 조성물은 적절한 간격으로, 예를 들어 1주, 2주, 6주, 1개월, 2개월, 3개월 이상, 6개월 이상의 기간에 걸쳐, 또는 병태의 증상 및 징후가 해결될 때까지 1회 편리하게 투여될 수 있다. 일군의 양태에서, 2회 이상의 관절 주사에 의한 다중 투약 치료는 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 13주, 14주, 15주, 16주, 17주, 18주, 19주, 20주, 21주, 22주 및 23주로 이루어진 군으로부터 선택되는 투약 간격으로 투여된다.
- [0053] 본 개시내용의 IA 스테로이드는 리포솜 스테로이드 조성물의 제조에 사용하기 위한 스테로이드를 함유하는 수용액을 형성하기 위해 ddH₂O 또는 적합한 완충액에서 혼합될 수 있다. 일부 양태에서, IA 스테로이드는 수용성이고, 비제한적으로 스테롤, 인지질 또는 지방산, 예컨대 팔미테이트를 비롯한 지질에 공유 결합되지 않는다. 물 중에서 IA 스테로이드의 적합한 용해도는, 예를 들어, 비제한적으로 적어도 4 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL 또는 50 mg/mL; 임의적으로 4 내지 10 mg/mL; 및 5 내지 60 mg/mL이다.
- [0054] **관절통 또는 염증을 치료하고 IA 스테로이드와 연관된 부작용을 감소시키는 방법**
- [0055] 전형적으로, 대상의 관절 연골은 스테로이드, 예컨대 코르티코스테로이드의 IA 투여 후 급속히 진행되는 변성 또는 손상을 겪는다. 이것은 IA 스테로이드의 부작용, 예컨대 연골세포 손상, 연골세포 세포자멸, 프로테오글리칸 손실, 관절 연골 퇴행 또는 관절 파괴에 기인한다.
- [0056] 본 개시내용의 한 양상은 유효량의 본원에 기술된 바와 같은 약학 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여함을 포함하는, 대상에서 IA 스테로이드의 최소 부작용으로 관절통을 치료하는 방법에 관한 것으로서, IA 스테로이드에 의해 유발된 부작용은 즉시 방출 또는 표준 스테로이드 제형의 투여 후 대상의 부작용과 비교하여 감소된다. 한 양태에서, 대상은 관절염, 예컨대 골관절염, 류마티스성 관절염, 급성 통풍성 관절염을 갖는다.
- [0057] 또한, 본원에 개시된 약학 조성물을 투여함으로써, 관절통의 치료를 필요로 하는 대상에서 코르티코스테로이드-유발 관절병증 또는 IA 스테로이드와 연관된 부작용을 최소화하는 방법이 제공된다.
- [0058] 다른 양상에서, 본원에 기술된 약학 조성물로부터 IA 스테로이드의 지속적인 정상 상태 방출은 관절 연골 손상 또는 파괴를 유발하지 않는다.

- [0059] 본원에 제공된 약학 조성물은 임의의 다양한 추가 치료제, 예컨대, 비제한적으로 진통제(예컨대, 부피바카인, 로피바카인 또는 리도카인), 히알루론산 제제[예컨대, 신비스크-원(Synvisc-One, 상표)], 비-스테로이드성 항염증제(예컨대, 이부프로펜), 질병 변형제(예컨대, 메토틱렉세이트) 또는 생물의약품(예컨대, 에타너셉트, 인플릭시맵, 아달리무맵, 세르틀리주맵 페골, 골리무맵 또는 리툭시맵)과 병용으로 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 청구된 약학 조성물 및 추가 치료제는 단일 치료 조성물로 제형화되고, 청구된 약학 조성물 및 추가 치료제는 동시에 투여된다. 다르게는, 청구된 약학 조성물 및 추가 치료제는 서로 분리되어 있고, 예를 들어, 각각은 별도의 치료 조성물로 제형화되고, 청구된 약학 조성물 및 추가 제제는 단일-투약량 또는 다중-투약량으로서 동일한 경로 또는 상이한 경로에 의해 동시에 또는 치료 요법 동안 상이한 시간에 투여된다.
- [0060] 하기 실시예는 본 개시내용에 따른 약학 조성물, 방법 또는 용도를 추가로 예시한다. 이들 실시예는 단지 본 개시내용에 따른 약학 조성물, 방법 또는 용도를 예시하기 위한 것이고, 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0061] **실시예 1: 지질 혼합물의 제조**
- [0062] 용매 주입 방법으로 지질 용액을 제조하였다. DOPC, DOPG 및 콜레스테롤을 비롯한 지질을 67.5:7.5:25의 몰%로 합하고, 플라스크에서 약 40°C에서 99.9% 에탄올에 용해시켜 지질 용액을 형성하였다. 지질 용해를 위해 탁상용 초음파 욕을 사용하였다.
- [0063] 용해된 지질 용액을 연동 펌프에 의해 100 mL/분으로 1.0 mM 나트륨 포스페이트 용액에 첨가하여 프로-리포솜 현탁액을 형성하였다. 이어서, 프로-리포솜 현탁액을 0.2 μm의 공극 크기를 갖는 폴리카보네이트 막을 통해 6 내지 10회 통과시켰다. 리포솜 혼합물이 수득되었고, 리포솜은 약 120 내지 140 nm의 평균 소포 직경을 가졌다 [맬버른 제타사이저 나노((Malvern ZetaSizer Nano) ZS-90(맬버른 인스트루먼트 리미티드(Malvern Instruments Ltd, 영국 우스터셔 소재))에 의해 측정됨].
- [0064] 리포솜 혼합물을 밀리포어 펠리콘 2 미니 울트라필트레이션 모듈 바이오맥스-100C(Millipore Pellicon 2 Mini Ultrafiltration Module Biomax-100C)(0.1 m²)[밀리포어 코포레이션(Millipore Corporation, 미국 매사추세츠주 빌러리카 소재)]를 사용하는 접선 유동 여과 시스템으로 투석하고 농축하고, 이어서 0.2 μm 평균 필터를 사용하여 멸균하였다.
- [0065] 여과된 리포솜 혼합물의 지질 농도를 인 검정으로 정량하고, 여과된 리포솜 혼합물을 2% 만니톨 농도의 만니톨로 제형화하고, 이어서 0.2 μm 평균 필터를 사용하여 다시 살균하였다. 이어서, 멸균된 리포솜 혼합물을 동결 건조하여 케이크 형태의 지질 혼합물을 수득하였다.
- [0066] **실시예 2: 약학 조성물의 제조**
- [0067] 본 발명에 따른 약학 조성물을, 실시예 1에 기술된 지질 혼합물을 13.2 mg/mL 텍사메타손 나트륨 포스페이트(DSP)(C₂₂H₂₈FN₂O₈P; 분자량: 516.41 g/L) 및 4 mg/mL 나트륨 시트레이트를 포함하는 DSP 용액과 혼합함으로써 제조하여, 12.0 mg/mL(23.2 mM)의 DSP 최종 농도를 갖는 리포솜 DSP 조성물을 수득하였다.
- [0068] **실시예 3: 상이한 투약량의 관절 스테로이드의 부작용의 감소에 대한 약학 조성물의 생체내 평가**
- [0069] 상이한 투약량의 IA 스테로이드의 부작용의 감소에 대한 약학 조성물의 효과를 평가하기 위해 비글 견을 사용하여 생체내 연구를 수행하였다. 비히클 대조군을 실시예 1에 기술된 지질 혼합물을, 0.9% 나트륨 클로라이드를 포함하는 용액과 혼합하여 제조하였다.
- [0070] 비글 견은 5개의 군으로 나뉘어지고, 각각의 무릎에 하기 IA 주사를 수용하였다:
- [0071] 군 A(n = 8): 염수의 단일 IA 주사(무릎 당 1.5 mL 중 0.9% 나트륨 클로라이드);
- [0072] 군 B(n = 8): 비히클 대조군의 단일 IA 주사(무릎 당 1.5 mL 중 DSP가 없는 지질 혼합물의 현탁액);
- [0073] 군 C(n = 8): 실시예 2의 리포솜 DSP 조성물의 단일 IA 주사(무릎 당 0.34 mL 약학 조성물 중 4 mg DSP);
- [0074] 군 D(n = 8): 실시예 2의 리포솜 DSP 조성물의 단일 IA 주사(무릎 당 1.0 mL 약학 조성물 중 12 mg DSP);
- [0075] 군 E(n = 8): 실시예 2의 리포솜 DSP 조성물의 단일 IA 주사(무릎 당 1.5 mL 약학 조성물 중 18 mg DSP).
- [0076] 비글 견을 각각의 무릎에 시험 조성물의 IA 주사 3개월 후에 희생시켰다. 무릎 연골에서 프로테오글리칸의 손실을 평가하기 위해 툴루이딘 블루 염색을 사용하였다. 프로테오글리칸 손실의 중증도는 하기 기준에 따라 점수를 매긴다:

- [0077] 점수 0: 프로테오글리칸 손실 없음;
- [0078] 점수 1: 최소 프로테오글리칸 손실;
- [0079] 점수 2: 약간의 프로테오글리칸 손실;
- [0080] 점수 3: 중간 프로테오글리칸 손실;
- [0081] 점수 4: 현저한 프로테오글리칸 손실;
- [0082] 점수 5: 심각한 프로테오글리칸 손실.
- [0083] 표 1은 DSP의 투약량에 관계 없이, 다양한 투약량의 리포솜 DSP 조성물의 군(군 C, D 및 E)에서 프로테오글리칸 손실 정도가 유사함을 나타낸다. 개가 각각의 무릎에 리포솜 DSP 조성물의 단일 IA 주사(4 내지 18 mg의 투약량)를 수용한 후, 무릎 연골의 75 내지 100%는 프로테오글리칸 손실 없음 내지 최소 프로테오글리칸 손실을 나타냈고, 이는 무릎 연골의 100%가 프로테오글리칸 손실 없음 내지 최소 프로테오글리칸 손실을 나타낸 염수 대조군(군 A)의 결과와 유사하다.
- [0084] [표 1]

[0085] 군 A 내지 E의 프로테오글리칸 손실 점수

군	점수	무릎의 %
A	0	12/16 = 75%
	1	4/16 = 25%
	2	0
	3	0
	4	0
	5	0
B	0	14/16 = 88%
	1	1/16 = 6%
	2	1/16 = 6%
	3	0
	4	0
	5	0
C	0	11/16 = 69%
	1	4/16 = 25%
	2	1/16 = 6%
	3	0
	4	0
	5	0
D	0	11/16 = 69%
	1	5/16 = 31%
	2	0
	3	0
	4	0
	5	0
E	0	6/16 = 37.5%
	1	6/16 = 37.5%
	2	4/16 = 25%
	3	0
	4	0
	5	0

[0086]

[0087] **실시예 4: 약학 조성물의 독성/독물동태학 프로파일 및 약물동태학 프로파일**

[0088] 본 실시예의 목적은 실시예 2의 리포솜 DSP 조성물의 연골 손상을 기존 스테로이드 치료, 예컨대 트리암시놀론 아세토나이드(TA) 및 트리암시놀론 아세토나이드 연장-방출 주사용 현탁액(ER-TA), 및 건강한 개 및 토끼의 5개의 전임상 연구에서 IA 주사 후 실시예 2의 리포솜 DSP 조성물의 독물동태학(TK)/약물동태학(PK) 프로파일과 비교하여 평가하는 것이었다.

[0089] 4개의 독성 연구에서, 연골 조직학은 리포솜 DSP 조성물(TLC599로 표시됨) 또는 기타 시험 물품의 IA 주사 후 조사되었다. 프로테오글리칸 손실은 프로테오글리칸을 염색하는 양이온성 염료인 톨루이딘 블루에 의해 평가되었다. 프로테오글리칸 염색 강도의 감소는 연골 손상과 근본적인 연골 독성을 시사할 것이다. 2개의 TK/PK 연구에서, 텍사메타손 포스페이트(DP) 농도를 정량하고, TK/PK 프로파일을 평가하였다(표 2). DSP는 DP의 나트륨 염 형태이다.

[0090] [표 2]

비-임상 연구 목록

연구	동물 종	연구 디자인
#8351851	개	DP의 잠재적인 전신 및 국부 무릎 독물학을 단일 투여(제1일에 1회) 또는 다중 투여(제1일, 제93항, 제183일 및 제274일에 1회) 후에 평가하였다. 개의 무릎에 염수, 비히클 대조군 및 TLC599를 각각 4, 12 및 18 mg/무릎의 투약량 수준으로 투약하였다. 관절 조직을 제3일, 제92일 및 제276일에 수집하여 연골 손상(급성 상, 제3일 및 제276일) 및 회복 기회(제92일)를 평가하였다. 활액을 마지막 투약 후 2.5, 48, 96, 168 및 360시간에 수집하였다.
#8388198	개	TLC599를 개의 무릎에 IA 투여하였다(단일 투약; 18 mg/무릎, 36 mg/동물). 활액을 투약 후 15, 30, 45, 90 및 120일에 수집하였다.
#8351850	개	TLC599를 개의 무릎에 IA 투여하였다(단일 투약; 12 mg/무릎).
#8288836	토끼	TLC599를 개의 무릎에 IA 투여하였다(1개월 후 단일 투약 또는 반복 투약; 1.2 mg/무릎).
#75903-18-214	개	TLC599를 2개의 시판되는 제품인 트리암시놀론 아세트나이드(TA) 주사용 현탁액 및 트리암시놀론 아세트나이드 연장-방출(ER-TA) 주사용 현탁액과 비교하였다. 개의 무릎에 염수, 더 높은(18.75 mg/무릎) 및 더 낮은(2.1 mg/무릎) 투약량의 ER-TA, 또는 12 mg/무릎의 TLC599(효능은 계산에 의해 60 mg TA와 동등함)를 투약하였다.

[0091]

[0092]

도 1a는 개 활액에서 텍사메타손 포스페이트의 평균 농도를 도시하고, 이때 활액은 암컷과 수컷 개의 양쪽 무릎에 4 및 18 mg/무릎의 투약량 수준으로 리포솜 DSP 조성물의 단일-투약량 IA 주사 후 2.5, 48, 96, 168 및 360 시간에 샘플링되었다.

[0093]

도 1b는 개 활액에서 텍사메타손 포스페이트 농도를 도시하고, 이때 활액은 양쪽 무릎에 18 mg/무릎(총 36 mg/동물)의 투약량 수준으로 TLC599의 단일-투약량 IA 주사 후 15, 30, 45, 90 및 120일에 샘플링되었다.

[0094]

리포솜 DSP 조성물의 IA 주사 후, 활액내 DP의 농도는 2.5 내지 48.0시간에서 높은 수준으로 유지되었고, 360시간 동안 지속되었다(도 1a). DP는 투약 후 30일부터 120일까지 유사한 수준으로 유지되었고(도 1b), 관절에서 장기간의 국소 노출을 나타낸다.

[0095]

리포솜 DSP 조성물의 단일 또는 다중 투약에 의한 처리 후 개(연구 #8351850) 및 토끼(연구 #8288836)에서 연골의 톨루이딘 블루 염색은 도 2에 도시된다. 연구 #8351850에서, 개의 무릎 관절에 12 mg/무릎의 리포솜 DSP 조성물을 투약하고, 치료 후 8일(패널 A1), 31일(패널 A2) 및 91일(패널 A3)에 희생시켰다. 연구 #8288836에서, 토끼의 무릎 관절에 1.2 mg/무릎의 리포솜 DSP 조성물을 단독으로 투여하고 치료 후 15일(패널 B1) 및 31일(패널 B2)에 희생시키고; 토끼의 무릎 관절에 1.2 mg/무릎의 리포솜 DSP 조성물을 2회(투약 후 1개월 내에 제2 투여) 투여하고, 처리 후 91일(패널 B3)에 희생시켰다.

[0096]

도 2에 도시된 바와 같이, 톨루이딘 블루 염색의 강도 변화와 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색의 형태 변화가 개 및 토끼 둘 다에서 관찰되지 않았고, 반복 투여 후에도 프로테오글리칸 손실 또는 연골 손상이 없음을 나타낸다.

[0097]

고 투약량 TA 및 ER-TA의 단일-투약량에 의한 처리 후 개에서 연골의 톨루이딘 블루 염색(연구 #75903-18-214)은 도 3에 도시된다. 고 투약량 TA 및 ER-TA는 염수와 비교하여 유의한 프로테오글리칸 손실을 나타냈고, 저 투약량 ER-TA는 TA 및 염수의 동등한 투약량과 비교하여 유의한 프로테오글리칸 손실을 나타냈다(도 3). 대조적으로, 리포솜 DSP 조성물(TLC599로 표시됨)은 처리 후 30일에 염수의 수준과 유사한 수준의 프로테오글리칸을 나타냈다(도 2).

[0098]

따라서, ER-TA는, 특히 더 낮은 투약량 수준(2.1 mg/무릎)에서 TA 단독보다 많은 프로테오글리칸 손실 및 기저

연골 독성을 유발하는 것으로 관찰되었다. 이러한 데이터는 리포솜 DSP 조성물이 2개의 전통적인 제품보다 유익하게 덜 독성임을 나타냈다.

[0099] 연구 #75903-18-214에서, 개의 무릎 관절에 염수, 2.1 mg/무릎 및 18.75 mg/무릎의 트리암시놀론 아세토나이드 (TA)(각각 "TA 2.1 mg" 및 "TA 18.75 mg"으로 표시됨), 2.1 mg/무릎 및 18.75 mg/무릎의 트리암시놀론 아세토나이드 연장-방출 주 사용 현탁액(각각 "ER-TA 2.1 mg" 및 "ER-TA 18.75 mg"으로 표시됨), 또는 12 mg/무릎의 리포솜 DSP 조성물["TLC599 12 mg(60 mg TA와 동등함)"으로 표시됨]을 투약하였다.

[0100] 연구 #8351851에서, 리포솜 DSP 조성물의 4회 반복 투약 후, 개에서 리포솜 DSP 조성물의 최초 투약과 리포솜 조성물의 마지막 투약 사이에 독성 및 TK 프로파일의 유의한 차이가 관찰되지 않았고, 다중-투약량 투여와 단일-투약량 투여 사이의 유사한 연골 안전성 프로파일을 시사한다. 리포솜 DSP 조성물은 유의한 부작용 없이 반복적으로 투여될 수 있고, OA의 장기 관리에서 안전하고 효과적인 치료법이다.

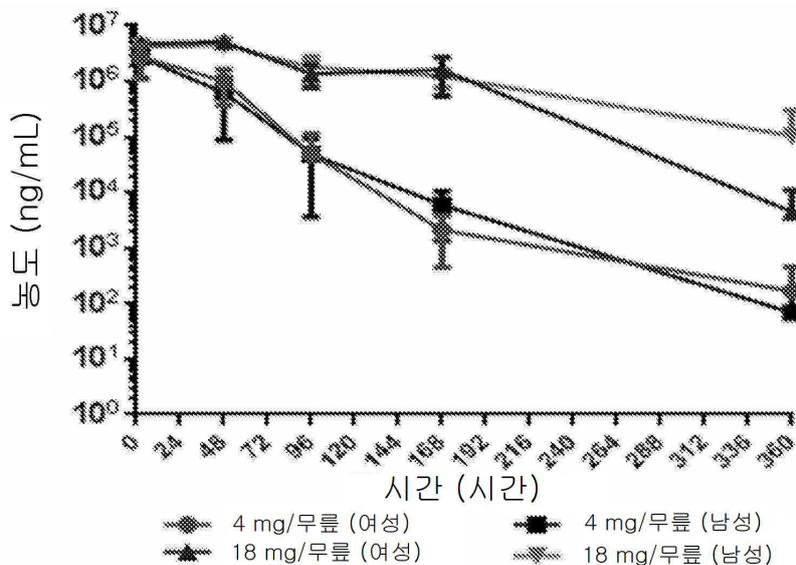
[0101] 본 개시내용에 따른 약학 조성물로서 리포솜 DSP 조성물(DSP의 신규 연장-방출 제형)은 단일 IA 주사 후 관절에서 DSP의 높은 수준의 노출을 나타냈고, 4개월까지 유사한 수준으로 유지되었다(도 1b).

[0102] 리포솜 DSP 조성물의 단일-투약량 및 다중-투여량 IA 주사 후 전임상 개 및 토끼 연구에서 뚜렷한 연골 독성이 관찰되지 않았다. 대조적으로, 연골에서 중간의 프로테오글리칸 손실이 단일-투약량 TA 및 단일-투약량 ER-TA 둘 다에 대해 관찰되었다(도 3).

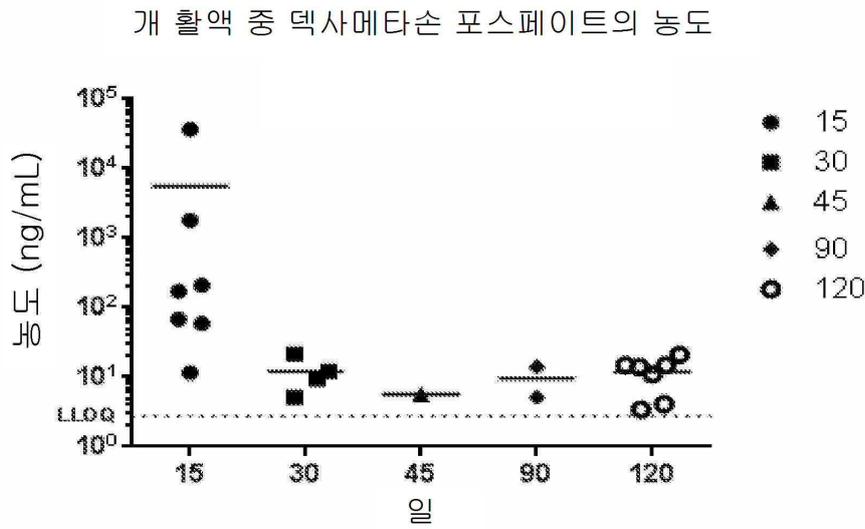
도면

도면1a

개 활액 중 덱사메타손 포스페이트의 평균 (±SD) 농도

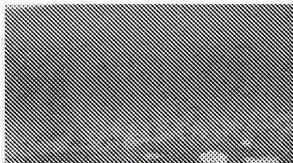


도면1b

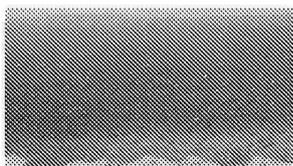


도면2

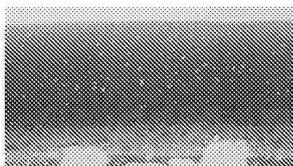
TLC599 단일 투약
 개: 12 mg DSP
 (60 mg TA와 동등함)



A1: 제8일에 12 mg/무릎

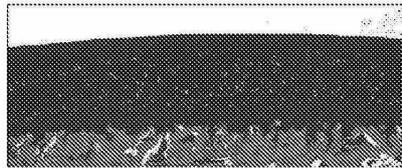


A2: 제31일에 12 mg/무릎



A3: 제91일에 12 mg/무릎

TLC599 반복 투약
 토끼: 1.2 mg DSP
 (6 mg TA와 동등함)



B1: 제15일에 1.2 mg/무릎



B2: 제31일에 1.2 mg/무릎

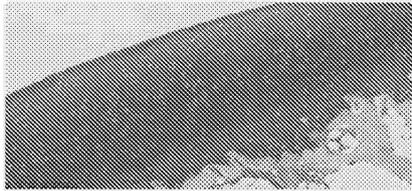


B3: 제91일에 2×1.2 mg DSP

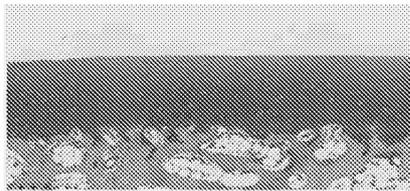
도면3

염수

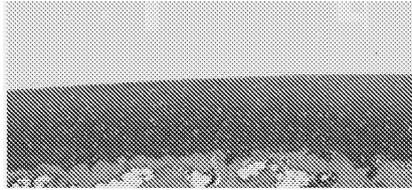
TLC599 12 mg
(60 mg TA와 동등함)



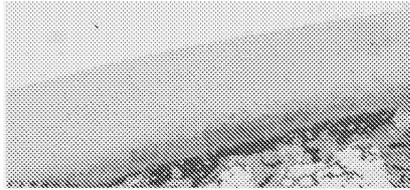
TA 2.1 mg



ER-TA 2.1 mg



TA 18.75 mg



ER-TA 18.75 mg

