



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년11월14일
(11) 등록번호 10-2044676
(24) 등록일자 2019년11월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/16 (2006.01) A61K 31/437 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/1682 (2013.01)
A61K 31/437 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0035355
(22) 출원일자 2019년03월27일
심사청구일자 2019년03월27일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020120029428 A*
Chem. Pharm. Bull., 55(4), 2008, pp.625-628*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 씨트리
경기도 남양주시 경강로 27 (일패동)
(72) 발명자
정두용
경기도 수원시 영통구 영통로 290번길 25 신나무
실 주공5단지아파트 507동 1603호
이상휘
경기도 수원시 장안구 대평로 51번길 22, 신안아
파트 242동 1604호
(74) 대리인
(뒷면에 계속)
손민

전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 김강필

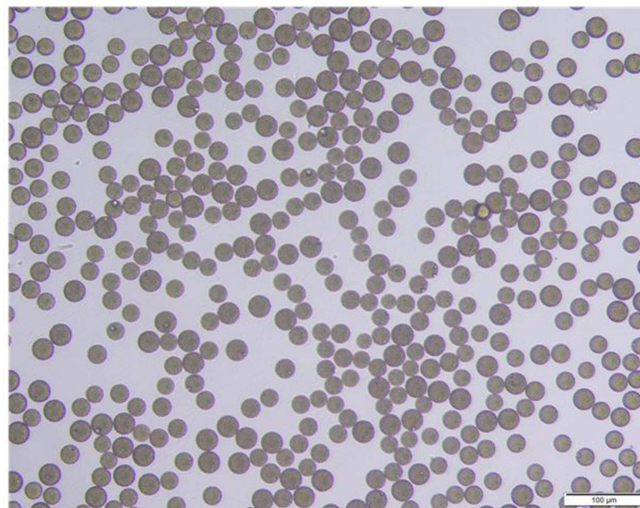
(54) 발명의 명칭 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 있어서 i) 지방산 또는 트리글리세라이드를 분산상에 첨가하는 단계; 및 ii) 미세유체법으로 미립구를 제조하는 단계를 포함하는 것인 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법은 고함량의 아픽사반이 안정적으로 봉입된 미립구 제조에 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

A61K 9/1617 (2013.01)

(72) 발명자

김미정

부산광역시 금정구 서1동 302-1496

김미정

경기도 남양주시 천마산로 65, 호평파라곤 110동
1702호

김완주

서울특별시 중구 소공로 46, 쌍용남산플래티늄 A동
1103호

주소경

경기도 성남시 분당구 성남대로 151, 1147호

명세서

청구범위

청구항 1

생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구(microsphere)의 제조방법에 있어서,

- i) 아픽사반 결정 형성을 억제하는 지방산 또는 트리글리세라이드를 분산상에 첨가하는 단계; 및
- ii) 미세유체법으로 미립구를 제조하는 단계를 포함하는 것인, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 지방산은 하나 이상의 카르복실기를 가지는 탄소수 12 내지 18의 지방산인 것인, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 지방산은 스테아르산(stearic acid) 또는 라우르산(lauric acid)인 것인, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 트리글리세라이드는 탄소수 10 이상의 지방산 3개와 글리세롤이 에스터 결합으로 형성된 것인, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 트리글리세라이드는 글리세릴트리도데카노에이트(glyceryl tridodecanoate)인 것인, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 분산상은 생체적합성 고분자 및 할로젠 유기용매를 포함하는 것인, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구의 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구는 5 내지 30 중량%의 아픽사반을 포함하는 것인, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 서방형 주사제용 미립구의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 있어서, i) 지방산 또는 트리글리세라이드를 분산상에 첨가하는 단계; 및 ii) 미세유체법으로 아픽사반 함유 미립구를 제조하는 단계를 포함하는 것인 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 아픽사반(Apixaban)은 혈액응고단계에서 Xa 응고인자를 선택적으로 저해하여 혈전의 생성 및 혈액 응고를 방지하는 의약품으로써, 고관절 또는 슬관절 치환술을 받은 성인 환자에서 정맥혈전색전증의 예방, 비관막성 심방세동 환자에서 뇌졸중 및 전신 색전증의 위험 감소, 심재성 정맥혈전증 및 폐색전증의 치료 및 재발 위험 감소의 목적으로 경구 투여되고 있다.

[0004] 그러나, 아픽사반을 경구 투여할 경우 아픽사반의 낮은 수용성에 의하여 체내 흡수가 저해되며, 이에 50% 정도의 생체이용률을 나타내는 것으로 알려져 있다. 또한, 경구로 투여되는 NOAC(Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants)인 아픽사반의 경우, 1) 전신적 항응고 효과, 2) 국소적 항응고 효과, 3) 국소적 직접 부식성 작용, 4) 응고와 관련 없는 국소적 생물학적 작용 등의 기전이 복합되어서 위장관 출혈을 발생시키거나, 경구 섭취 후 아픽사반의 항응고 작용을 하는 활성 형태가 장관내에 존재하므로 장관내 다양한 병변에서 출혈을 일으킬 수 있다. 이에, 아픽사반의 낮은 생체이용율을 극복하고 위장관 출혈을 감소시키기 위한 새로운 투여경로의 모색이 필요한 실정이다.

[0005] 기존 경구로 투여되는 의약품의 신규 투여 경로 모색과 관련하여, 생체적합성 고분자 기반의 미립구는 대표적인 근육 또는 피하 주사 제형으로써, 약물을 내부에 봉입할 수 있으며, 체내에 주입 후 서서히 완전 분해되어 약물을 100% 방출함으로써 체내 유효 약물 농도를 장기간 유지할 수 있도록 하는 장점을 가진다. 이에, 아픽사반을 상기 생체적합성 고분자 기반의 미립구로 제조하는 경우, 아픽사반의 투여 경로를 기존 경구 투여에서 근육 또는 피하 주사로 변경할 수 있으며, 낮은 생체이용율을 개선시킬 수 있을 것으로 기대된다.

[0006] 미립구의 제조방법으로는 i) 용매증발법(Solvent evaporation method), ii) 분무건조법(Spray drying method), iii) 용매추출법(Solvent extraction method), iv) 미세유체법(Microfluidic method) 이 알려져 있으나 (Biomaterials, 1989, 10(8) 557-563; Journal of microencapsulation, 2004, 21(2) 203-211; Journal of Controlled Release, 1997, 47(3) 233-245; Journal of Bioactive and Compatible Polymers, 2014, 29(4) 318-329), 현재까지 아픽사반은 상기 제조방법을 이용하여 미립구 제형으로 개발된 사례가 없으며, 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 대해서도 알려진 바가 없다.

[0008] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법을 개발하고자 예의 노력 연구한 결과, 지방산 또는 트리글리세라이드를 분산상에 첨가하고, 미세유체법으로 미립구를 제조하는 경우, 고함량의 아픽사반이 안정적으로 봉입된 미립구를 제조할 수 있음을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

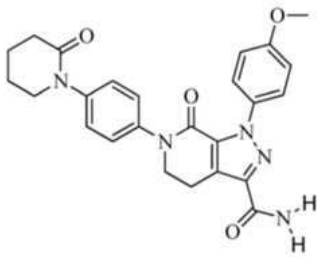
[0010] 본 발명의 하나의 목적은 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 있어서 i) 지방산 또는 트리글리세라이드를 분산상에 첨가하는 단계; 및 ii) 미세유체법으로 미립구를 제조하는 단계를 포함하는 것인 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 하나의 양태는 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 있어서 i) 지방산 또는 트리글리세라이드를 분산상에 첨가하는 단계; 및 ii) 미세유체법으로 미립구를 제조하는 단계를 포함하는 것인 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법을 제공한다.

[0014] 본 발명의 용어, "아픽사반(apixaban)"은 하기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물을 의미한다. 아픽사반은 구조 내에 3개의 아미드를 가지고 있으며, 아미드 고유의 극성(dipole)구조를 갖는다. 따라서, 아픽사반은 N-H...O로 구성되는 분자간 수소결합을 형성할 수 있고, 이에 따라 양성자를 제공하는 물질(Proton donor)또는 양성자를 받는 물질(Proton acceptor)이 존재할 경우 적절한 용매에서 공침전물을 형성할 수 있으며, 아픽사반 분자간 수소결합을 형성할 수도 있기 때문에 아픽사반만 용해하더라도 일정 시간이 경과하면 결정을 형성한다.

[0015] [화학식 1]



[0016]

[0018] 상기와 같은 약물 결정 현상은 미립구 내 약물의 함량을 현저하게 감소시킬 뿐만 아니라, 미립구 제조 과정 중 생성되는 약물 결정을 약물이 봉입된 미립구와 완벽히 분리하여 제거할 방법이 없으므로, 미립구 제조 시 약물의 결정 석출 현상을 방지할 필요가 있다.

[0019] 아픽사반과 같은 소수성 약물은 일반적으로 미립구 제조 과정 중 석출되어 결정을 형성하는 경향을 나타내며, 이러한 경우 고농도/고점도의 고분자 용액을 이용하거나, 약물의 첨가량을 감소시키거나, 유기용매의 종류를 변경하거나, 용매의 휘발 온도를 감소시키는 방법으로 결정의 석출을 방지한다. 이러한 방법을 적용하는 것은 약물이 물과 접촉하는 확률을 줄이고 고분자가 경화되는 속도를 조절함으로써, 미립구 내 약물이 물리적으로 봉입 되도록 하기 위함이다.

[0020] 아픽사반의 1일 권장량 및 미립구로부터 약물의 총 방출 기간을 감안할 때, 미립구의 높은 약물 함량 기준은 아픽사반 서방출형 미립구 개발에 있어서 필수적으로 고려되어야 한다. 따라서, 미립구 내 약물 함량을 현저히 감소시키는, 약물의 첨가량을 감소시키거나, 고농도의 고분자 용액을 이용하는 방법은 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조에 적용하는데 어려움이 있다.

[0021] 또한, 유기용매의 종류를 변경하거나, 용매의 휘발 온도를 감소시키는 방법은, 아픽사반이 대부분의 휘발성 비할로젠 유기용매에 대한 용해도가 극히 제한적이며, 용매의 완전 제거에 대한 잔류용매 문제가 있어 아픽사반 함유 미립구의 제조에 적용하기 적합하지 않다.

[0022] 이에, 아픽사반은 지금까지 미립구로 개발된 사례가 없으며, 아픽사반 함유 미립구의 제조방법에 대해서도 알려진 바가 없으므로, 본 발명자들에 의해 최초로 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법이 개발되었다는 점에서 그 의의가 매우 크다고 할 수 있다.

[0024] 본 발명에 있어서, 상기 아픽사반은 아픽사반의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함한다.

[0026] 본 발명의 용어, "약제학적으로 허용 가능한 염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염 중에서도 약제학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 통상적으로 금속염, 유기염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될 수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.

[0028] 본 발명의 용어, "생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구"는 생체적합성 고분자를 이용하여 제조된 미립구 내에 아픽사반이 봉입된 것을 의미하며, 본 명세서에서 단순히 아픽사반 함유 미립구, 아픽사반 미립구 또는 미립구 등으로 지칭되기도 한다. 생체적합성 고분자를 이용하여 제조된 미립구 내에 아픽사반이 봉입된 것이라면, 이용한 생체적합성 고분자의 종류 등에 제한 없이 모두 본 발명의 범위에 속한다.

[0030] 본 발명의 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법은 지방산 또는 트리글리세라이드를 분산상에 첨가하는 단계를 포함한다.

[0031] 본 발명에서 상기 지방산 또는 트리글리세라이드는, 본 발명의 효과에 영향을 주지 않는 한 i) 의약학적으로 허

용가능하고, ii) 아픽사반과 수소결합을 형성할 수 있는 작용기를 가지며, iii) 할로겐 유기용매에 대한 용해도가 높으면 그 제한 없이 사용될 수 있다.

[0033] 본 발명의 용어, "지방산(fatty acid)"은 포화 또는 불포화 지방족 사슬 및 하나 이상의 카르복실기를 가지는 화합물을 의미한다. 지방산은 i) 의약학적으로 허용가능하고, ii) 아픽사반과 수소결합을 형성할 수 있는 카르복실기를 가지며, iii) 할로겐 유기용매에 대한 용해도가 높으므로, 본 발명에 사용될 수 있다. 구체적으로, 상기 지방산은 미립구 제조 시 유기용매를 휘발하기 위한 최저 온도인 35℃ 이상의 녹는점을 가지는, 하나 이상의 카르복실기를 가지는 탄소수 12 내지 18의 지방산일 수 있으며, 보다 구체적으로 스테아르산(stearic acid), 팔미트산(palmitic acid), 라우르산(lauric acid) 또는 이들의 조합일 수 있으며, 보다 더 구체적으로 스테아르산 또는 라우르산일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 용어, "트리글리세라이드(triglyceride)"는 지방산 3개가 글리세롤과 에스터(ester) 결합으로 형성된 화합물을 의미한다. 트리글리세라이드는 i) 의약학적으로 허용가능하고, ii) 아픽사반과 수소결합을 형성할 수 있는 에스터기를 가지며, iii) 할로겐 유기용매에 대한 용해도가 높으므로, 본 발명에 사용될 수 있다. 구체적으로, 상기 트리글리세라이드는 상온에서 고체 형태로 존재하는, 탄소수 10 이상의 지방산 3개와 글리세롤이 에스터 결합으로 형성된 것일 수 있으며, 보다 구체적으로 글리세릴트리데카노에이트(glyceryl tridecanoate), 글리세릴트리운데카노에이트(glyceryl triundecanoate), 글리세릴트리도데카노에이트(glyceryl tridodecanoate), 글리세릴트림리스테이트(glyceryl trimyristate), 글리세릴트리팔미테이트(glyceryl tripalmitate) 또는 글리세릴트리스테아레이트(glyceryl tristearate)일 수 있으며, 보다 더 구체적으로 미립구 제조 시 유기용매를 휘발하기 위한 최저 온도인 35℃ 이상의 녹는점을 가지는 글리세릴트리도데카노에이트(glyceryl tridodecanoate)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0037] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가하지 않은 일반적인 분산상을 이용하여 아픽사반을 포함하는 미립구를 제조하는 경우, 아픽사반이 빠르게 수상으로 석출되어 침상의 결정을 형성하여 미립구를 제조할 수 없음을 확인하였다(도 4 및 5).

[0039] 본 발명의 용어, "분산상(dispersion phase)"은 유중수형(water in oil) 미립구의 경우, 내부 수상(Water phase)을 구성하기 위한 조성물, 수중유형(Oil in water) 미립구의 경우, 내부 유상(Oil phase)을 구성하기 위한 조성물, 수중유중수형(Water in oil in water) 미립구의 경우, 내부 1차 유중수상(Water in oil emulsion 또는 Primary emulsion)을 구성하기 위한 조성물로서, 미립구 제조용 조성물 중 외부상(Outer phase)을 제외한 내부상(inner phase), 즉 약물과 고분자가 용해 또는 분산된 형태의 혼합물을 의미한다.

[0041] 본 발명에 있어서, 상기 분산상은 생체적합성 고분자 및 할로겐 유기용매를 포함하는 것일 수 있다.

[0043] 본 발명의 용어, "생체적합성 고분자(biocompatible polymer)"는 생체 내에 투여하였을 때 높은 세포독성 및 염증반응 등을 유발하지 않는 생체 내 안전성이 확보된 고분자를 의미하며, 본 명세서에서 단순히 고분자로 지칭되기도 한다.

[0044] 본 발명에서 사용되는 생체적합성 고분자는 구체적으로 폴리에스터(Polyester)일 수 있으며, 보다 구체적으로 폴리에스터는 폴리락틱-코-글리코산(polylactic-co-glycolic acid; PLGA), 폴리락틱산(polylactic acid; PLA) 및 폴리카프로락톤(polycaprolactone; PCL)으로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0046] 본 발명의 용어, "할로겐 유기용매"는 F, Cl, Br 또는 I와 같은 할로젠족 원소를 포함하는 유기용매를 의미한다. 아픽사반의 경우 다른 일반적인 소수성 약물과는 달리, 비할로겐 유기용매에 대한 용해도가 매우 낮아 비할로겐 유기용매는 아픽사반 함유 미립구의 제조에 사용할 수 없다.

[0047] 본 발명에서 상기 할로겐 유기용매는 본 발명의 효과에 영향을 주지 않는 한 미립구 제조에 사용될 수 있으면 그 종류에 제한이 없다. 구체적으로, 상기 할로겐 유기용매는 디클로로메탄(CH₂Cl₂), 클로로폼(CHCl₃), 카본 테트라클로라이드(CCl₄)일 수 있으며, 보다 구체적으로 디클로로메탄일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0049] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 아픽사반은 비할로겐 유기용매인 에틸아세테이트, 에틸포르메이트, 메틸프로피오네이트 및 에탄올에 용해되지 않아 아픽사반을 포함하는 미립구 제조에 비할로겐 유기용매는 사용할 수 없음을 확인하였으며(도 1), 할로겐 유기용매인 디클로로메탄에는 아픽사반이 일시적으로 용해되어 아픽사반 함유 미립구 제조에 할로겐 유기용매를 사용하여야 함을 확인하였다(도 2 및 3).

[0051] 본 발명에 있어서, 상기 분산상은 아픽사반 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 생체적합성 고분자 대비 10

내지 50 중량%로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0052] 아픽사반 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 생체적합성 고분자 대비 10 중량% 미만으로 포함하는 경우, 미립구 내 아픽사반 함량이 적어 임상적으로 사용하기 힘들며, 아픽사반 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 생체적합성 고분자 대비 50 중량% 초과로 포함되는 경우, 미립구로부터 아픽사반의 초기 약물 방출을 억제하기 힘들다.
- [0054] 본 발명에 있어서, 상기 분산상은 지방산 또는 트리글리세라이드를 생체적합성 고분자 대비 50 중량% 이하로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0055] 지방산 또는 트리글리세라이드를 생체적합성 고분자 대비 50 중량% 초과로 포함하는 경우, 미립구 제조 시 미립구의 경도가 저하되어 구형이 아닌 미립자가 제조될 수 있으며, 미립구의 경도 저하 및 형태 불균일성은 물리화학적 안정성 저하 및 용출을 변화 등의 품질 문제를 야기할 수 있다.
- [0057] 본 발명에 있어서, 상기 분산상은 생체적합성 고분자를 할로겐 유기용매 대비 5 내지 30w/v%로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0058] 생체적합성 고분자를 할로겐 유기용매 대비 5 w/v% 미만으로 포함하며, 미립구 제조방법으로 미세유체법(Microfluidic method)를 이용하였을 경우, 동일량의 고분자를 이용하기 위한 조성물의 부피가 증가하여 주입시간이 길어지고, 점도가 떨어져 약물의 봉입이 효율적이지 않으며, 미립구의 경화(유기용매의 휘발)가 효율적이지 않다. 반면, 생체적합성 고분자를 할로겐 유기용매 대비 30 w/v% 초과로 포함하는 경우, 점도가 지나치게 높아져 미립구 제조에 한계가 있다.
- [0060] 본 발명의 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법은 미세유체법으로 미립구를 제조하는 단계를 포함한다.
- [0062] 본 발명자들은 기존에 알려진 미립구 제조방법인 용매증발법(Solvent evaporation method), 분무건조법(Spray drying method), 용매추출법(Solvent extraction method), 미세유체법(Microfluidic method)으로 아픽사반 함유 미립구의 제조가 가능한지 여부를 확인하였다.
- [0064] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 비할로겐 유기용매인 에틸아세테이트, 에틸포르메이트, 메틸프로피오네이트 및 에탄올에 대한 아픽사반의 용해도가 매우 낮은 반면(도 1), 할로겐 유기용매인 디클로로메탄에 대한 아픽사반의 용해도가 매우 높은 것을 확인하였다(도 2 및 3).
- [0065] 이로부터, 미립구 제조 시 주로 상기 4종의 비할로겐 유기용매를 사용하는 분무건조법과 용매추출법으로는 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 없으며, 미립구 제조 시 주로 상기 할로겐 유기용매를 사용하는 용매증발법 또는 미세유체법으로 아픽사반 함유 미립구를 제조하여야 함을 알 수 있었다.
- [0067] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가하지 않은 일반적인 분산상을 이용하여 아픽사반 함유 미립구를 제조하는 경우, 용매증발법과 미세유체법 모두에서 분산상(Dispersion phase)으로부터 형성된 액적(Oil phase)의 수상(Water phase) 분산을 시작함과 동시에 아픽사반이 빠르게 수상으로 석출되어 침상의 결정을 형성하는 것을 확인하였다(도 4 및 5).
- [0068] 이로부터, 일반적인 분산상과 용매증발법, 일반적인 분산상과 미세유체법으로는 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 없음을 알 수 있었다.
- [0070] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가한 분산상을 이용하여 용매증발법으로 아픽사반 함유 미립구를 제조하는 경우, 분산을 시작함과 동시에 아픽사반이 빠르게 수상으로 석출되어 침상의 결정을 형성하는 것을 확인하였다(도 6).
- [0071] 이로부터, 분산상에 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가하더라도 용매증발법으로는 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 없음을 알 수 있었다.
- [0073] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가한 분산상을 이용하여 미세유체법으로 아픽사반 함유 미립구를 제조하는 경우, 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구를 수득할 수 있으며, 약물도 석출되지 않음을 확인하였다.
- [0074] 이로부터, 분산상에 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가하고 미세유체법으로 미립구를 제조하는 경우에만 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 있음을 알 수 있었다.

- [0076] 본 발명의 생체적합성 고분자 기반 미립구는 5 내지 30 중량%의 아픽사반을 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 5 내지 30 중량%, 8 내지 28 중량%, 10 내지 25 중량%, 12 내지 22 중량%, 보다 구체적으로 15 내지 20 중량%의 아픽사반을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0077] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 본 발명이 제공하는 실시예 1 내지 6의 미립구가 15 내지 20 중량%, 고품량의 아픽사반을 포함하는 것을 확인하였다(표 2).
- [0079] 본 발명에 있어서, 상기 미세유체법의 구체적인 조건, 예를 들어 분산상 및 수상의 주입 유속, 교반 속도, 수상으로 사용되는 용액의 종류 등은 당업자가 적절히 선택할 수 있으며, 아픽사반을 포함하는 미립구를 제조할 수 있으면 구체적인 조건에 제한 없이 모두 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0081] 본 발명의 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구의 제조방법은 미세유체법으로 미립구를 제조하는 단계 이후, 일반적인 미립구의 세척 공정 및 건조 공정을 추가로 포함할 수 있다. 구체적으로, 제조된 미립구를 여과하여 수득하고 물로 세척하는 단계, 세척된 미립구를 동결건조 또는 감압건조 하는 단계를 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0083] 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 제조방법으로 제조된 아픽사반 생체적합성 고분자 기반 아픽사반 함유 미립구를 제공한다.

발명의 효과

- [0085] 본 발명의 생체적합성 고분자 기반 아픽사반함유 미립구의 제조방법은 고품량의 아픽사반이 안정적으로 봉입된 미립구 제조에 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0087] 도 1은 비할로젠 유기용매인 에틸아세테이트, 에틸포르메이트, 메틸프로피오네이트 및 에탄올에 아픽사반을 첨가하고 교반한 후를 디지털 카메라로 촬영한 사진이다.
- 도 2는 할로젠 유기용매인 디클로로메탄에 아픽사반 용해 후 즉시 및 12시간 경과 시를 디지털 카메라로 촬영한 사진이다.
- 도 3은 할로젠 유기용매인 디클로로메탄에 아픽사반 용해 후 12시간 경과 시 형성된 결정을 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 4는 실험예 3-1에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(비교예 1)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 5는 실험예 3-2에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(비교예 2)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 6은 실험예 4에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(비교예 3)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 7은 실험예 5-1에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(실시예 1)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 8은 실험예 5-2에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(실시예 2)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 9은 실험예 5-3에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(실시예 3)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 10는 실험예 5-4에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(실시예 4)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 11은 실험예 5-5에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(실시예 5)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 12은 실험예 5-6에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(실시예 6)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.
- 도 13은 실험예 5-7에서 제조한 아픽사반 함유 미립구(실시예 7)를 광학현미경으로 촬영한 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0088] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.
- [0090] **실험예 1. 비할로젠 유기용매에서의 아픽사반 용해**
- [0091] 에틸아세테이트, 에틸포르메이트, 메틸프로피오네이트 및 에탄올 각 1mL에 아픽사반 25mg을 넣고 교반하였다.

그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 아픽사반은 상기 4 종의 유기용매에 용해되지 않음을 확인하였다.

[0092] 이로부터, 비할로겐 유기용매에 대한 아픽사반의 용해도가 매우 낮아, 미립구 제조 시 주로 상기 4종의 용매를 사용하는 분무건조법과 용매추출법으로는 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 없음을 알 수 있었다.

[0094] **실험예 2. 할로겐 유기용매에서의 아픽사반 용해**

[0095] 25mg의 아픽사반을 1mL의 디클로로메탄에 용해하고 12시간 후에 사진 촬영하였다. 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 아픽사반은 디클로로메탄에서 결정을 형성하는 것을 확인하였다.

[0096] 또한, 상기 결정을 광학현미경으로 촬영한 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, 침상 구조를 형성하는 것을 관찰하였다.

[0097] 이로부터, 아픽사반이 일시적으로 디클로로메탄에 용해되더라도 시간이 경과하면, 그 자체의 결정성이 높아 용매 내에서 재결정된다는 것을 알 수 있었다.

[0099] **실험예 3. 일반적인 분산상을 이용한 아픽사반 함유 미립구의 제조**

[0100] **실험예 3-1. 용매증발법을 이용한 아픽사반 함유 미립구의 제조(비교예 1)**

[0101] 25mg의 아픽사반 및 100mg의 PLA R202H를 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 1,500rpm으로 교반되고 있는 High shear mixer (Silverson, L5M-A)를 이용하여 1% 폴리비닐알코올(poly vinyl alcohol; PVA) 용액에 분산하였다. 이때, 도 4에 나타낸 바와 같이, 분산을 시작함과 동시에 아픽사반은 빠르게 수상으로 석출되어 침상의 결정을 형성하였다.

[0102] 이로부터, 일반적인 분산상 및 용매증발법을 이용할 경우 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 없음을 알 수 있었다.

[0104] **실험예 3-2. 미세유체법을 이용한 아픽사반 함유 미립구의 제조(비교예 2)**

[0105] 25mg의 아픽사반과 100mg의 PLA R202H를 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩(Microfluidic chip) 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구 액적을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이, 다량의 침상 결정이 형성됨을 확인하였다.

[0106] 이로부터, 일반적인 분산상 및 미세유체법을 이용할 경우 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 없음을 알 수 있었다.

[0107] 상기 과정으로부터 얻어진 침상의 약물 결정 및 미립구의 혼합물로부터 75 μ m mesh sieve를 이용하여 3회 물로 세척하면서 최대한 약물 결정을 제거함으로써 상기 혼합물로부터 미립구를 최대한 분리하였으며, 분리된 미립구를 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 채수득하고 2일간 동결건조 하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0109] **실험예 4. 용매증발법을 이용한 아픽사반 함유 미립구의 제조 (비교예 3)**

[0110] 25mg의 아픽사반, 100mg의 PLA R202H 및 25mg의 스테아르산을 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 1,500rpm으로 교반되고 있는 High shear mixer (Silverson, L5M-A)를 이용하여 1% 폴리비닐알코올 (poly vinyl alcohol; PVA) 용액에 분산하였다. 이때, 도 6에 나타낸 바와 같이, 분산을 시작함과 동시에 아픽사반은 빠르게 수상으로 석출되어 침상의 결정을 형성하였다.

[0111] 이로부터, 분산상에 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가하더라도 용매증발법을 이용할 경우 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 없음을 알 수 있었다.

[0113] **실험예 5. 본 발명의 제조방법을 이용한 아픽사반 함유 미립구의 제조**

[0114] **실험예 5-1. 아픽사반 함유 미립구의 제조(실시예 1)**

[0115] 25mg의 아픽사반, 100mg의 PLA R202H 및 25mg의 스테아르산을 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구 액적

을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 7에 나타난 바와 같이, 미립구 액적으로부터 석출된 약물이 관찰되지 않았다.

[0116] 상기 미립구 액적을 35℃의 조건에서 추가적으로 2시간 동안 교반하면서 유기용매를 휘발하였으며, 유기용매가 제거된 후 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 경화된 미립구를 수득하고 2일간 동결건조하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0118] **실험예 5-2. 아픽사반 함유 미립구의 제조(실시예 2)**

[0119] 25mg의 아픽사반, 100mg의 PLGA RG753H 및 25mg의 스테아르산을 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구 액적을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, 미립구 액적으로부터 석출된 약물이 관찰되지 않았다.

[0120] 상기 미립구 액적을 35℃의 조건에서 추가적으로 2시간 동안 교반하면서 유기용매를 휘발하였으며, 유기용매가 제거된 후 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 경화된 미립구를 수득하고 2일간 동결건조하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0122] **실험예 5-3. 아픽사반 함유 미립구의 제조(실시예 3)**

[0123] 25mg의 아픽사반, 100mg의 PLGA RG503H 및 25mg의 스테아르산을 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구 액적을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 9에 나타난 바와 같이, 미립구 액적으로부터 석출된 약물이 관찰되지 않았다.

[0124] 상기 미립구 액적을 35℃의 조건에서 추가적으로 2시간 동안 교반하면서 유기용매를 휘발하였으며, 유기용매가 제거된 후 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 경화된 미립구를 수득하고 2일간 동결건조하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0126] **실험예 5-4. 아픽사반 함유 미립구의 제조(실시예 4)**

[0127] 25mg의 아픽사반, 100mg의 PLGA RG503H 및 25mg의 라우르산을 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구액적을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 10에 나타난 바와 같이, 미립구 액적으로부터 석출된 약물이 관찰되지 않았다.

[0128] 상기 미립구 액적을 35℃의 조건에서 추가적으로 2시간 동안 교반하면서 유기용매를 휘발하였으며, 유기용매가 제거된 후 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 경화된 미립구를 수득하고 2일간 동결건조하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0130] **실험예 5-5. 아픽사반 함유 미립구의 제조(실시예 5)**

[0131] 25mg의 아픽사반, 90mg의 PLGA RG753H와 10mg의 PCL(평균 Mw 45,000g/mol) 및 25mg의 스테아르산을 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구 액적을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 11에 나타난 바와 같이, 미립구 액적으로부터 석출된 약물이 관찰되지 않았다.

[0132] 상기 미립구 액적을 35℃의 조건에서 추가적으로 2시간 동안 교반하면서 유기용매를 휘발하였으며, 유기용매가 제거된 후 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 경화된 미립구를 수득하고 2일간 동결건조하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0134] **실험예 5-6. 아픽사반 함유 미립구의 제조(실시예 6)**

[0135] 25mg의 아픽사반, 90mg의 PLGA RG753H와 10mg의 PLA R202H 및 25mg의 스테아르산을 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구 액적을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 12에 나타난 바와 같이, 미립구 액적으로부터 석출된 약물이 관찰되지 않았다.

[0136] 상기 미립구 액적을 35℃의 조건에서 추가적으로 2시간 동안 교반하면서 유기용매를 휘발하였으며, 유기용매가 제거된 후 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 경화된 미립구를 수득하고 2일간 동결건조하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0138] **실험예 5-7. 아픽사반 함유 미립구의 제조(실시예 7)**

[0139] 25mg의 아픽사반, 100mg의 PLGA RG503H와 10mg의 PLA R202H 및 18.7mg의 글리세릴트리도데카노에이트를 1mL의 디클로로메탄에 동시에 용해하여 분산상을 제조한 후 0.01mL/min의 유속으로 미세유체 칩(Microfluidic chip; Dolomite, 3D focusing hydrophilic chip)에 주입하였다. 이때, 수상은 1% PVA용액을 이용하였으며, 0.1mL/min의 유속으로 분산상과 동시에 주입하였고, 미세유체 칩 내부에서 형성된 액적을 150rpm으로 교반되고 있는 1% PVA 용액에 수득하였다. 수득된 미립구 액적을 광학현미경으로 관찰한 결과, 도 13에 나타난 바와 같이, 미립구 액적으로부터 석출된 약물이 관찰되지 않았다.

[0140] 상기 미립구 액적을 35℃의 조건에서 추가적으로 2시간 동안 교반하면서 유기용매를 휘발하였으며, 유기용매가 제거된 후 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 경화된 미립구를 수득하고 2일간 동결건조하여 건조된 형태의 미립구를 수득하였다.

[0142] 이상으로부터, 지방산 또는 트리글리세라이드를 첨가한 분산상과 미세유체법으로 미립구를 제조하는 경우에만 아픽사반 함유 미립구를 제조할 수 있음을 알 수 있었다.

[0144] **실험예 6. 아픽사반 함유 미립구 내 약물 함량 분석**

[0145] 상기 실험예 3에서 제조한 비교예 1 및 2, 상기 실험예 4에서 제조한 비교예 3, 및 상기 실험예 5에서 제조한 실시예 1내지 7에 해당하는 동결 건조된 미립구의 약물 함량을 측정하기 위하여, 최종 동결건조된 미립구 1mg을 1mL의 아세트니트릴에 용해한 후 0.45µm PVDF 실린지 필터(syringe filter)를 이용하여 여과하고 하기 표 1에 나타난 조건에 따라 HPLC-UV 장비를 이용하여 정량 분석하였다.

표 1

[0146] Mobile phase	Water : ACN (60:40)
Column	YMC-Triart C18 column, C18 (150 x 4.0mm ID), S-5µm
Flow rate	1 mL/min
Column temperature	20° C
Wavelength	281nm
Injection volume	20µl

[0148] 미립구에 봉입된 약물의 함량은 하기 식(1)에 의하여 계산하였다.

[0150]
$$\text{함량} = \text{HPLC 분석된 약물의 농도 (mg/mL)} \div 1 \text{ mg/mL} \times 100(\%) - (1)$$

[0152] 상기 식(1)에 의하여 분석된 미립구 내 아픽사반 함량 분석 결과는 표 2에 나타난 바와 같다.

표 2

	비교예1	비교예2	비교예3	실시예1	실시예2	실시예3	실시예4	실시예5	실시예6	실시예7
[0153] 약물 함량(%)	측정 불가	0.57%	측정 불가	18.40	17.61	18.36	20.41	18.60	18.65	18.92

[0155] 구체적으로, 비교예 1 및 3의 경우 약물 결정이 너무 많아 약물 결정을 제거하기 어려워 미립구 내 아픽사반 함

량 측정이 불가능하였으며, 비교예 2의 경우 75um mesh sieve를 이용하여 3회 물로 세척하면서 최대한 약물 결정을 제거하고 동결건조 하여 수득한 미립구를 이용하여 미립구 내 아픽사반 함량을 측정하였다.

[0156] 그 결과, 본 발명이 제공하는 방법으로 제조한 실시예 1 내지 7의 미립구는 15 내지 20%, 고함량의 아픽사반을 포함할 수 있음을 확인하였다.

[0157] 또한 이로부터, 본 발명이 제공하는 방법으로 제조한 미립구는 동결건조 후에도 아픽사반이 잘 봉입되어 있다는 것을 알 수 있었다.

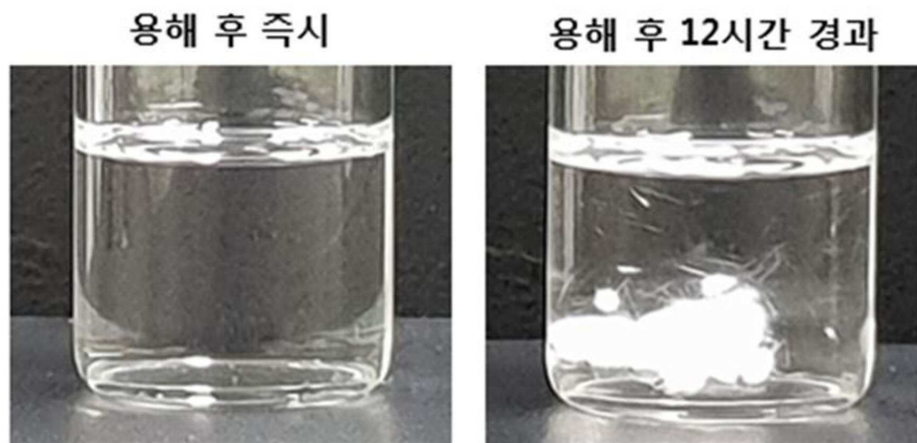
[0159] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

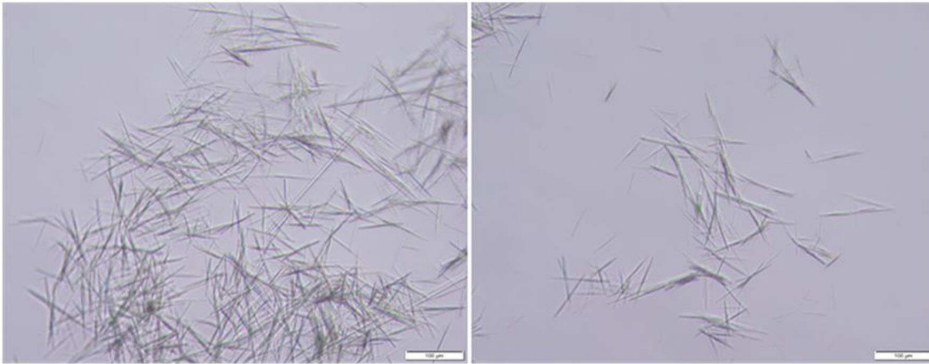
도면1



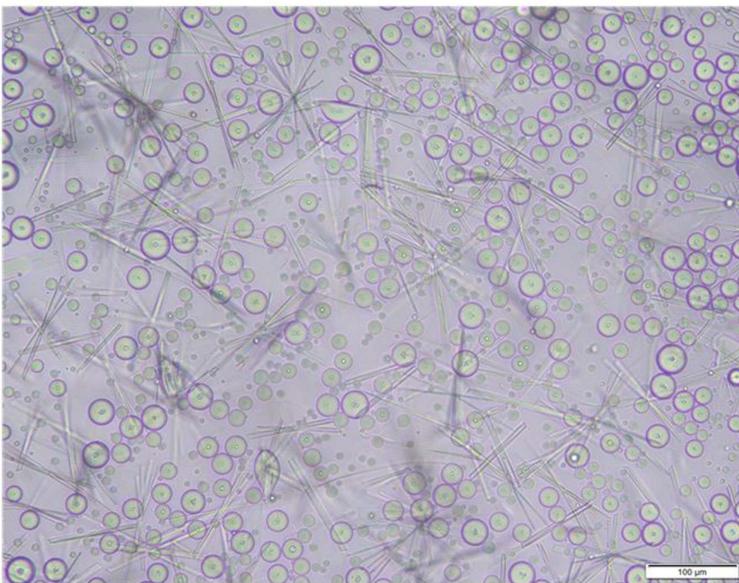
도면2



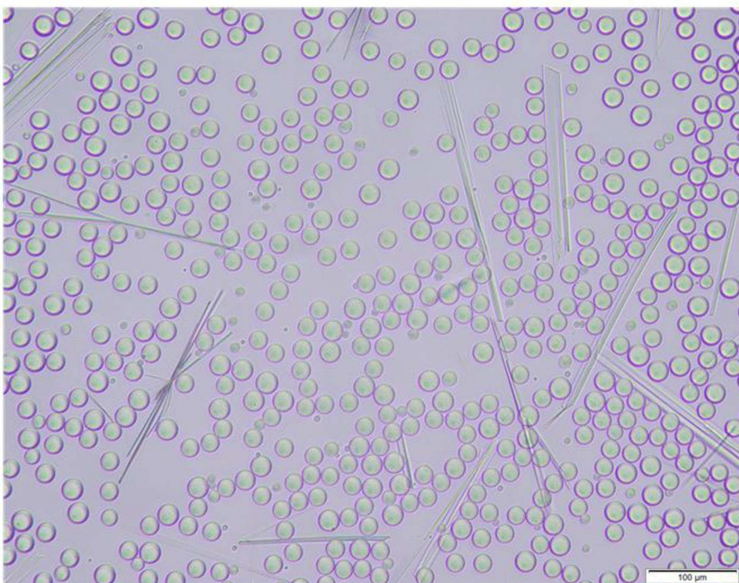
도면3



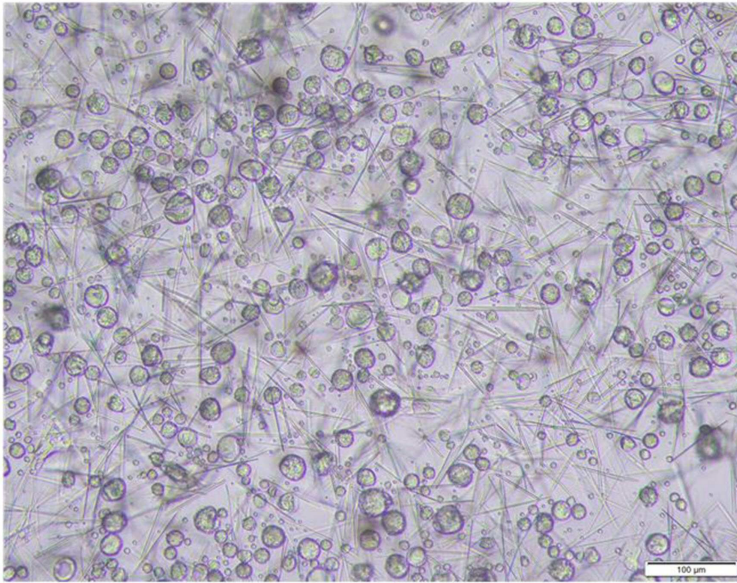
도면4



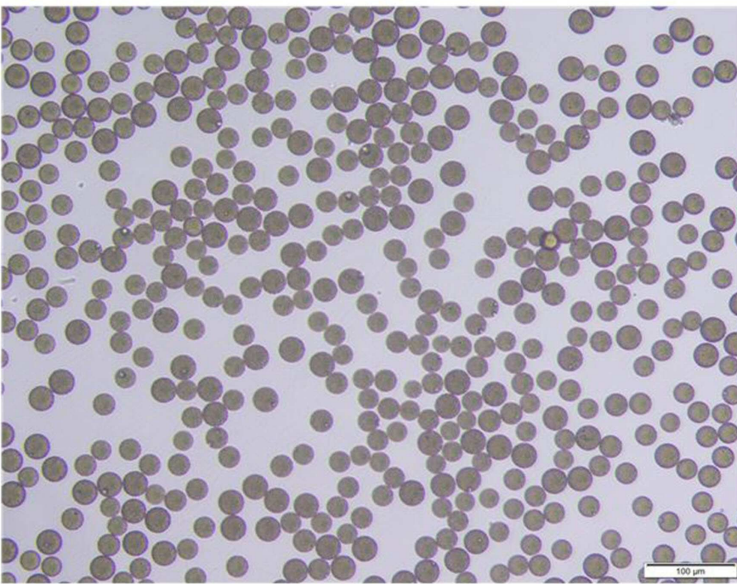
도면5



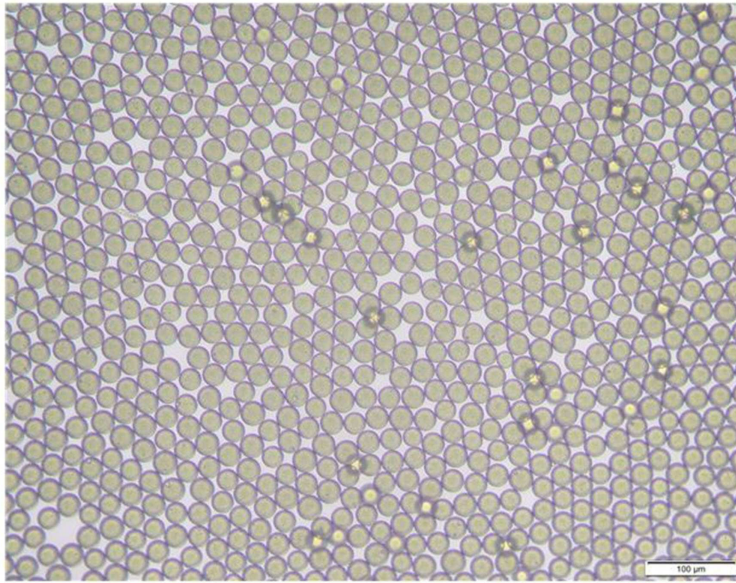
도면6



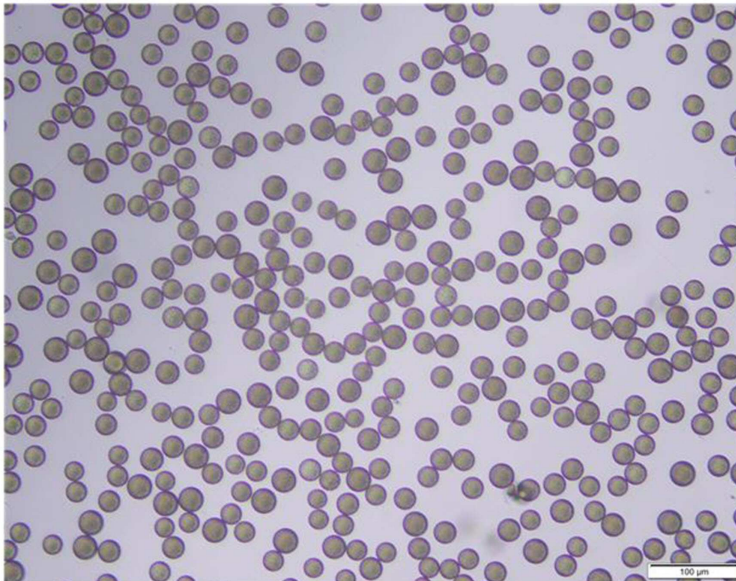
도면7



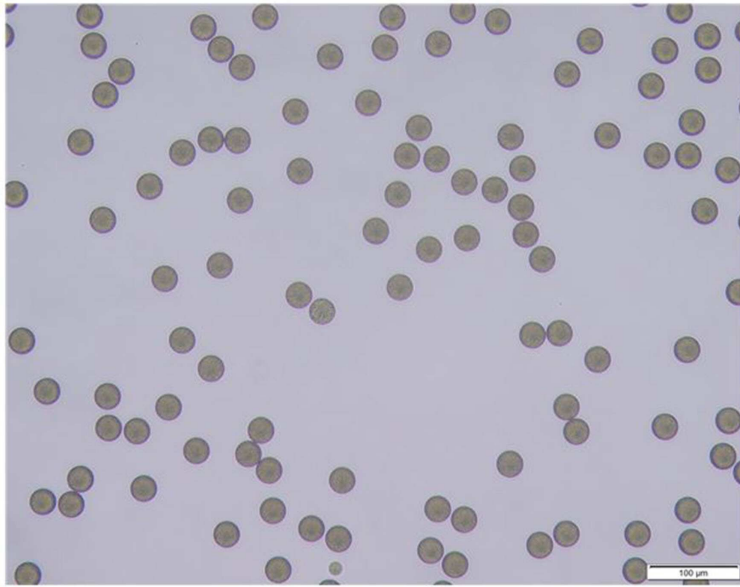
도면8



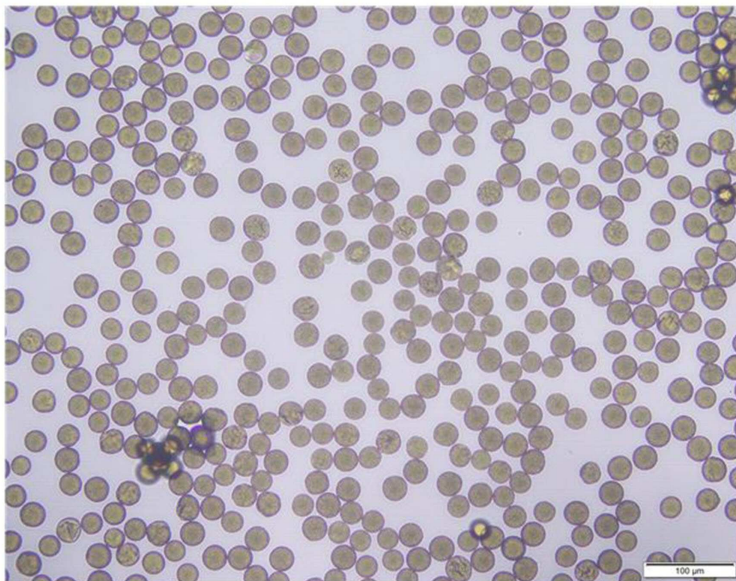
도면9



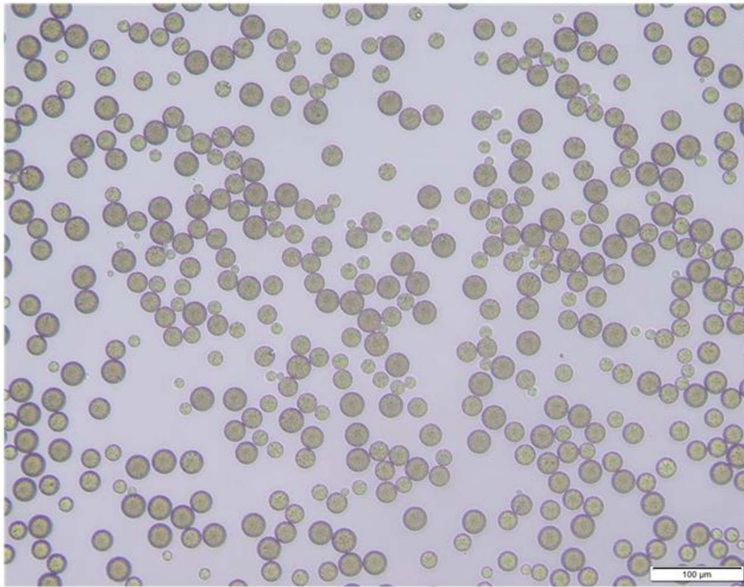
도면10



도면11



도면12



도면13

