

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁵
A61K 9/50
A61K 47/00

(45) 공고일자 1994년07월 16일
(11) 공고번호 특1994-0006321

(21) 출원번호	특 1986-0010031	(65) 공개번호	특 1987-0004703
(22) 출원일자	1986년 11월 27일	(43) 공개일자	1987년 06월 01일
(30) 우선권주장	802,545 1985년 11월 27일 미국(US) 900,122 1986년 08월 25일 미국(US)		
(71) 출원인	에티콘, 인코포레이티드 로버트 엘. 미니어 미합중국 뉴저지 섬머빌 유. 에스 .루트 22		
(72) 발명자	워렌 디. 쉬필드 미합중국 뉴저지 레바논 블로썸 힐 로드 로드 3 더글라스 비. 존스 미합중국 뉴저지 밀포드 로드4 샬라비 더블류. 샬라비 미합중국 뉴저지 레바논 로드2 롱뷰로드 328에이 저어 에스. 디저르가 미합중국 캘리포니아 파사데나 로드 2 산 주안 플레이스 420 레로 이 엘. 리취 미합중국 캘리포니아 산 가브리엘 윌라드 예비뉴 엔. 6924		
(74) 대리인	이병호		

심사관 : 이병현 (책자공보 제3682호)

(54) 수술후의 유착증 발생을 억제하기 위한 국소투여용 비-스테로이드성 소염제 함유 담체의 제조방법

요약

내용 없음.

명세서

[발명의 명칭]

수술후의 유착증 발생을 억제하기 위한 국소투여용 비-스테로이드성 소염제 함유 담체의 제조방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 수술후의 유착증(adhesion) 발생을 억제하는 방법에 관한 것이다.

본원은 1985년 11월 27일에 출원된, 공계류중인 미합중국 특허원 제802,545호의 연속출원이다.

유착증은 실제적 해결책이 없는 중요한 수술후 합병증이다. 수술에 수반되는 유착증의 발병률은 몇몇 자료에 따르면 100%에 가까우며, 수술의 형태에 따라 임상적으로 중요한 합병증 비율은 약 5 내지 10%이다. 이러한 합병증 중에는 장폐색증, 불임증 및 통증이 있다. 가끔 유착증은 유착증을 제거하기 위한 제 2의 수술 절차를 불가피하게 하며, 이는 상기 문제를 더욱 악화시킬 수 있다.

상기 문제의 심각성으로 인해, 많은 의학적 연구가 유착증을 퇴치하는 방법을 찾기 위한 노력으로 수행되어 왔다.[참조 : Stangel et al., "Formation and Prevention of Postoperative Abdominal Adhesions", the Journal of Reproductive Medicine, Vol. 29, No. 3, March 1984(Pages 143-156), and diZerega, "The Cause and Prevention of Postsurgical Adhesions", published by Pregnancy Research Branch, National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Building 18, Room 101, Bethesda, MD 20205].

수술후의 유착증을 방지하기 위해 시도된 방법중에는 하기와 같은 것들이 있다.

이부프로펜의 전신 투여(참조 : Singer, 미합중국 특허 제4,346,108호) ; 항히스타민, 코르티코스테로이드, 및 항생제의 비경구 투여 ; 텍스트란 용액 및 폴리비닐피롤리돈 용액의 복강내 투여 ; 및 옥시펜부타존, 프로스타글란딘 생성을 억제함으로써 작용하는 비-스테로이드성 소염제의 전신 투여.

코르티코스테로이드는 유착증을 방지하기 위해 복강내 뿐만 아니라 전신투여되어 왔다[참조 : Stangel et al., 상기 인용된 논문, 147페이지, 및 그중 인용된 논문]. 몇몇 연구에서 유착증 방지에 대한 코르티코스테로이드의 효능에 의문점을 나타냈다. 고 용량에서, 이들 물질은 면역계를 억압

하며 상처가 아무는 것을 방해할 수 있다. 그러므로, 코르티코스테로이드의 사용은 수술후의 유착증 문제에 대한 적합한 해결책이 되지 못한다.

동물 연구 및 제한된 사람 임상 연구의 결과를 기초로 하면, 이부프로펜(보통, 항생제와 같은 다른 약제와 혼합하여 사용한다)과 같은 비-스테로이드성 소염제의 전신투여는 수술후의 유착증 발생률은 감소시키는 것으로 현재 공지된 가장 유효한 약리학적 방법인 것으로 나타난다. 이 방법의 결함은 비교적 다량의 약제를 여러날에 걸쳐 투여해야 하기 때문에, 환자가 해로운 부작용을 겪는 상당한 위험이 따른다는 것이다. 또한, 이 방법은 제한된 형태의 수술 절차, 예를 들면 부인과 수술에서만 유효한 것으로 나타났다. 니시무라(Nishimura), 니카무라(Nakamura), 및 디제레가(diZerega)[Journal of surgical Research 36, 115-124 February 1984]에 의해 보고된 것으로서, 토끼의 자궁혼(horn)의 소파(abrasion) 또는 허혈후 수술후의 유착증을 억제하기 위해 전신 투여된 이부프로펜의 최소 유효 용량은 70mg/kg일인데, 수술 1시간 전에 추가 용량을 투여하며 수술후 3일이 상, 바람직하게는 5일 동안 하루 1번씩 투여한다. 유사한 일련의 실험에서, 시글러(Siegler)등[Fertility and Sterility 34, No. 1, July 1980, pages 46-49]은 전신 투여된 이부프로펜의 유효용량은, 수술 30분전에 최초 주사하여, 수술후 2일 동안 매일 3회(7mg/kg 용량으로 3회) 투여된 약 21 mg/kg/일인 것으로 밝혀냈다. 또한, 이 시험에서 최선의 결과는 7mg/kg 용량을 3회 각각 우연히 투여한 두마리의 토끼에서 나타났다. 불임증을 치료하기 위해 시도한 수술에서 유착증을 방지하기 위하여, 코슨(Corson)등[The Journal of Reproductive Medicine, Vol. 29, No. 3, pages 143-156, March 1984]은, 수술한 밤에 시작하여 수술후 5일까지 계속하여 매일 3 내지 4회 용량(용량당 400mg)의 이부프로펜을 전신 투여함을 포함하는 섭생을 추천하였다. 평균 여자 몸무게를 약 48kg (110 파운드)로 가정할 때, 이 추천되는 용량은 25 내지 33mg/kg/일이 된다. 미합중국 특허 제 4,346,108호에서, 싱어(Singer)는 유착증을 퇴치하기 위해 전신 투여된 이부프로펜에 대해 단일 또는 분할 용량으로 약 2.5 내지 50mg/kg/일의 용량을 추천하였다.

본 발명은, 증상 치료 기간에 걸쳐, 수술 외상 부위에 비-스테로이드성 소염제("NSAID")를 국소 투여함을 특징으로 하여 포유동물(사람포함)에 있어서 수술후의 유착증 발생을 억제하는 방법에 관한 것이다.

선행기술로서, 상기에 모두 인용된 싱어 특허, 및 니시무라등, 시글러등, 및 코슨 등의 정기 간행물에는 유착증을 퇴치하기 위한 이부프로펜의 전신 투여가 기술되어 있다.

하기 문헌[Lenk et al., U.S. Patent No. 4,522,803, Column 17, lines 67 et seq.]에는 소염제를 함유하는 인지질 소포(vesicle)가 기술되어 있다. 단지 스테로이드성 소염제만이 특별히 기술되어 있다. 하지만, 항-유착증을 위한 유용성은 기술되어 있지 않다.

유착증을 퇴치하기 위한 옥시펜부타존의 전신 투여가 제안되었다(참조 : Kapur et al., "Prevention of Reformation of Peritoneal Adhesions", Arch. Surg., Vol. 105, Nov. 1972, Pages 761-764).

본 발명에 사용되는 약리학적 활성 조성물은, 이부프로펜, 톨메틴, 인도메타신, 숀린락, 수프로펜, 옥시펜부타존 및 약제학적으로 허용되는 이들의 염 또는 에스테르와 같은 비-스테로이드성 소염제이다. NSAID는 조성물의 인지된 일원을 구성한다.

본 발명의 방법에 따라서, 활성제는 수술후 2일 내지 약 7일 동안 유효량으로 수술외상 부위에 국소적으로 투여되며, 이로써 수술후의 유착증 발생이 억제된다. "국소적"은, 국부적 효과를 위해, 치료할 조직(내부 또는 몇몇 경우에는, 외부)의 표면에 비-전신적으로 NSAID가 투여되는 것을 의미한다. "수술 외상 부위"는 어떠한 방법으로 손상된 조직의 부위를 포함하며, 예를 들면, 절개술, 절제술, 박리, 타박상, 열상, 문합술, 촉진술, 치과 보철수술, 소파술, 정형외과수술, 신경외과수술, 심장혈관수술, 또는 성형 또는 복구수술을 당한 조직부위를 포함한다. 또한, "수술외상부위"는 손상된 조직에 인접해 있는 조직도 포함한다.

본 발명의 방법은 수술후 유착증의 발생을 억제하는 것이 요구되는 어떠한 수술 절차에도 유용하다. 따라서, 본 발명의 방법은 유착증이 합병증일 수 있는 모든 형태의 수술에 광범위하게 유용하다.

NSAID는, 세정 ; 카테테르 ; 고약, 연고, 겔, 크림, 수성 계면활성 조성물, 에멀션, 현탁액 또는 발포체로 부위에 직접 피복시키는 것과 같은 편리한 방법에 의해 또는 다른 편리한 방법에 의해 수술 외상 부위에 투여될 수 있다. 그 부위는, 고약을 붙이는 것과 같이, 직접 접촉될 수 있거나, 몇몇 경우에는 약제가 외상부위 근처 부위에 도입될 수 있으며 유체의 자연적 이동이 목적하는 부위에 약제를 운반하도록 작용할 것이다. 이러한 유체의 자연적 이동은, 예를 들어, 장의 연동적 수축에 의하여 복강내적으로 일어날 수 있다.

NSAID는 포스페이트 완충 염수("PBS"), 등장성 염수, 정제수, 지질과 같은 유기 담체(예를 들면, 인지질 미셀 또는 소포), 덱스트란, 마이크로캡슐의 형태일 수 있으나 고약-또는 연소-상 제제로 혼합될 수 있는 중합체(특히 p-디옥사논, 락티드, 및/또는 글리콜리드 기본 흡수성 중합체)와 같은 약제학적으로 허용되는 담체 또는 비히클 중의 멸균제제, 또는 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 공중합체 또는 솔비탄 지방산 에스테르-폴리옥시에틸렌 에테르와 같은 계면활성제의 수용액중의 멸균제제로 보통 투여된다. 제제의 멸균은 무균제조, 여과, 감마 방사선에의 노출, 가압멸균 (autoclaving)등을 포함하는 통상의 방법으로 수행할 수 있다. 본 발명의 바람직한 태양에서는, NSAID는, 활성 약제를 1일 이상, 바람직하게는 2일 내지 약 7일 동안 방출할 수 있는 방출-조절 담체 중에 함유된다. NSAID의 투여 방식은 바람직하게는 증상치료 기간에 걸쳐 연속적으로 이루어지는데, 이러한 경우는 약제를 방출 조절 담체를 통해 단일 용량으로 또는 카테테르에 의해 연속적으로 수술 외상 부위에 투여하는 경우일 것이다.

약제를 함유하는 중합체 마이크로캡슐을 제조하는, 중합체 마이크로캡슐에 NSAID를 혼합시키기에 적합한 일반적 방법은 하기와 같다 :

1. 약제 및 중합체를 휘발성 유기 용매중에 용해시킨다 ; 2. 약제 및 중합체를 함유하는 용매를, 분산제를 사용하여 물중에 분산시킨다 ; 3. 경미한 가열 또는 진공증발, 또는 이들을 배합하여 유기용매를 단계 2의 분산액 생성물로부터 증발시킨다. ; 4. 생성된 마이크로캡슐을, 보통 하나 이상의 세척단계와 연결된 여과, 원심분리 등과 같은 통상적인 방법에 의해 수성 분산액으로부터 회수한다.

이 방법은 본 발명을 위한 하기 실시예 1,2,9 및 10에 의해 설명된다 :

[실시예 1]

(a) 폴리(락티드-코-글리콜리드(65 : 35) (클로로포름중 0.5dl/g 고유점도를 갖는 락티드와 글리콜리드의 65/35중량부 공중합체) 9.39g, 정제된 참깨씨 기름 0.75g, 이부프로펜 1.140g, 및 디클로로메탄 40ml를 작은 바이알에 첨가한다. 수득된 용액을 기계적 교반기 및 진공제거기가 장치된 1리터 수지 캐틀중의 수성 5용량%/용적 폴리(비닐 알코올)(Air Products Vinol Grade 523) 400ml에 첨가하고, 이를 얼음/물 욕조중에서 냉각시키고 500rpm으로 교반한다. 10분 동안 유평시킨 후, 1.5시간에 걸쳐 500mmHg의 절대압력까지 아스피레이터에 의해 진공을 서서히 가한다. 그다음, 추가로 19.5시간 동안 진공을 유지하고(디클로로메탄 용매를 제거하기 위해), 이때 진공 및 교반을 중지하고 플라스크의 내용물을 1리터비이커에 부은다음 물을 사용하여 전체 용적 800ml 희석한다(디클로로메탄 용매를 제거하기 위한 또다른 방법은 대기압하에 30℃에서 2시간동안 가열하는 것이다). 비이커의 내용물을 원심분리가 튜브에 넣고 약 100rpm으로 2분동안 원심분리시킨다. 액체를 붓고, 신선한 물을 첨가한 다음, 원심분리를 분리한다. 이 과정을 한번더 반복하고, 3번째 세척후, 최종 미량의 물을 동결건조에 의해 제거한다. 건조된 샘플은 2.03g의 자유 유동 백색분말이다. 이 분말은 100배율로 검경하여 약 1 내지 10마이크론 크기의 마이크로캡슐을 함유함을 밝혀냈다. 유리 약제 결정이 감지되지 않았다. 후속 NMR 분석은 이부프로펜 8.6중량%가 존재하는 것으로 나타났다.

(b) 대조 마이크로캡슐을 제조하기 위하여, 이부프로펜을 첨가하지 않고 상기 과정을 반복한다.

(c) 상기에 기술된 바와 같이 제조된 이부프로펜 함유 및 비함유 마이크로캡슐을 0.05중량% 수성 레시틴 50ml당 마이크로캡슐 1.5g의 비율로 레시틴의 수성 분산액 중에 분산시킨다. 동결 건조후, 레시틴 약 1.4중량%를 함유하는 마이크로캡슐 1.4g을 수득한다.

[실시예 2]

폴리(락티드-코-글리콜리드-65 : 35) 1.50g, 이부프로펜 0.50g 및 디클로로메탄 5ml를 작은 바이알에 첨가한다. 생성된 용액을 3% 수성 폴리(비닐 알코올)용액 50ml에 첨가하여 얼음/물 욕조중에서 냉각시키고 500rpm으로 교반한다. 상기한 바와 같이 진공을 가하고 세척 및 동결건조후, 마이크로캡슐 1.100g을 수득한다. 마이크로캡슐은 10 내지 120마이크론의 크기이며 NMR에 의해 이부프로펜 17.1중량%를 함유하는 것으로 밝혀졌다.

[실시예 3]

이부프로펜 17.중량%를 함유하는 것으로 밝혀진(NMR) 이부프로펜/폴리(락티드-코-글리콜리드-65 : 35) 마이크로캡슐(실시예 2)을 조사한다. 5개의 각각 4온스 호박색병에 마이크로캡슐 100mg 및 pH 7.27 포스페이트 완충액 100ml를 넣는다. 뚜껑을 단단히 닫고 병을 37℃에서, 진탕시키지 않고 배양한다. 15분, 1일, 2일, 7일 및 24일후, 병을 꺼내, 마이크로캡슐을 여과에 의해 수집하고, 물로 잘 세척한 다음, 진공하에 건조시키고 NMR에 의해 이부프로펜 함량을 분석한다. 첨부된 표에 나타난 결과는 약제의 약 50%가 처음 7일내에 방출되었고 그 나머지는 14일째까지 완전히 방출되었음을 나타낸다(무시해도 좋은 중합체 중량 손실이 14일간에 걸쳐 일어났다).

[표 1]

폴리(락티드-코-글리콜리드)마이크로캡슐로부터의 이부프로펜의 시험관내 방출

샘플	시간(일)	이부프로펜 잔류 중량%(총 캡슐 중량%)
1	0	17.0
2	1	14.3
3	2	13.6
4	7	10.0
5	14	0.0

지질 담체중에 약제를 혼입시키는 방법은 본 분야에 공지되어 있다. 예를 들면, 인지질 소포내에 약제를 캡슐화시키는 하나의 방법은 하기와 같다 : 지질 또는 레시틴 또는 기타 인지질과 같은 지질의 혼합물(콜레스테롤 또는 기타 리포이드 물질과 혼합될 수 있다)을 디에틸 에테르와 같은 유기 용매중에 용해시킨 다음 : 캡슐화될 물질(이 경우에는 NSAID)을 함유하는 수성상을 지질 용액에 첨가하고, 그 혼합물을 초음파에 노출시킴으로써 진탕시킨다(음파 파쇄). 바람직하게는, 유기 용매를, 가열 또는 진공 또는 둘다를 사용하여 음파파쇄 동안 제거하는데, 몇몇 경우에는 용매를 음파파쇄후에 제거할 수 있다. 이방법은 통상적으로 유니라멜라(unilamellar) 소포를 생성시킨다.

약제를 함유하는 인지질 소포(이 경우에는 멀티라멜라소포 "MLV")를 제조하는 또다른 방법은, 지질을 함유하는 유기용매 용액으로부터 용매를 증발시켜 용액을 함유하는 용기의 벽에 필름을 형성시킨 다음, 캡슐화될 NSAID를 함유하는 수성상중에서 교반함으로써 건조 지질 필름을 형성하는 것이다.(증발은 분무 건조 또는 진공 증발, 또는 기타 편리한 방법에 의해 수행할 수 있다). 유리 비캡슐화된 NSAID는 예를 들어 12,000rpm으로 원심분리시킴으로써 MLV로 부터 분리시킬 수 있다.

바람직하게는, 오랜기간 저장 안정성을 확보하기 위하여, NSAID를 함유하는 소포를, 제조후 동결 건

조에 의해 탈수시킨다. 소포 수성 현탁액은 멸균 포스페이트 완충 염수, 멸균수 등을 첨가함으로써 사용 바로전에 환전시킬 수 있다.

상당히 큰 크기(즉, 1마이크론 이상, 예를 들면 약 1 내지 약 10마이크론)의 멀티라멜라 소포의 사용은 복강(또는 다른 체강) 내에 NSAID를 함유하는 소포의 체류시간을 증가시키기 위해서 바람직한 것으로 나타난다. 또한, 화합물의 혼합물인 천연 레시틴 대신 소포를 제조함에 있어서, 포스파티딜 콜린분자 중의 지방산 잔기가 단일 지방산으로 부터 유도되는 순수 또는 합성 포스파티딜콜린을 사용하는 것이 바람직하다. 하기 실시예 13은 NSAID를 함유하는 멀티라멜라 소포의 제조를 설명한다.

하기의 미합중국 특허에는, 여러방법에 의한, 여러 약제를 함유하는 인지질 소포의 제조방법이 기술되어 있다 :

렌크(Lenk)등 제4,522,803호

발데쉬윌러 (Baldeschwieler)등 제4,310,505호

메제이(Mezei)등 제4,485,054호

게르손드(Gersonde)등 제4,452,747호

캘리(Kelly)등 제4,356,167호

파파해드조포올러스(Pspahadjopoulos)등 제4,241,046호

스즈기(Suzuki)등 제4,016,100호

사셰(Sache)등 제4,239,754호

맥도날드(MacDonald)등 제4,532,089호

라흐만(Rahman)등 제3,993,754호

[참조 : Callahan et al., European Patent Application No. 0126580, published November 28, 1984, and Gregoriadis, "The Carrier Potential of Liposomes In Biology and Medicine", New England Journal of Medicine, Vol, 295, pp. 704-710 and pp. 765-770(Sept. 23 and 30, 1976)].

전술된 것은 리포솜내 NSAID의 혼입을 위해 이용할 수 있는 일반적인 방법으로서, 본 명세서에서 참조 문헌으로 인용된다.

인지질(미셀 또는 리포솜)중에 약제를 함유시키기 위한, NSAID에 적합한 다른 방법이 본 명세서에서 참조문헌으로 인용되는 시어스(Sears)의 미합중국 특허 제4,426,330호 및 제4,145,410호, 및 시어스 등의 미합중국 특허 제4,298,594호에 기술되어 있다.

보통 담체가 인지질 소포인 경우일 때 처럼 본 발명에 사용된 NSAID 약제가 담체의 내측 구획 또는 구획들내에 캡슐화되는 것은 필수적이지 아니다. 몇몇 경우에는 NSAID가 담체전체에 걸쳐 다소 균등하게 용해되거나 그렇지 않으면 분배되는 것이 허용된다.

비-스테로이드성 소염제는 중상 치료기간(이 기간은 환자 및 관련된 수술외상의 형태에 따라 다양하지만, 보통 약 2 내지 5일이고, 몇몇 경우에는 수술후 7일 또는 그 이상이다)에 걸쳐 유효량으로 수술외상 부위에 투여된다. 하기 실시예는 약제의 유효량 및 약제가 유효한 결과를 위해 투여되는 시간에 대하여 설명한다.

하기 연구는 수술외상 부위에 대한 비-스테로이드성 소염제의 국소적 투여의 유착증 억제 효과를 설명하기 위하여 토끼 모델을 사용한다 :

[실시예 4]

뉴질랜드 암컷 흰토끼(1.8 내지 2.0kg)에게, 아셀레프로마진 및 케타민 마취를 통해 중선 개복술을 실시한다. 전제 3×5cm 면적에 걸쳐 정상유혈이 발현될 때까지 작은칼로 복막 표면을 긁음으로써 우측-측면부 복막 측벽에 걸쳐 3×5cm 찰과상을 유발시킨다. 동일한 방법을 사용하여 동일한 전체 면적(15cm²)에 상당하는 제 2 찰과상을, 우측-측면부 복막 측벽을 따라 초기 부위 보다 1.5 내지 2.0cm 아래에 유발시킨다. 제 2 부위는 비처리된 대조로서 사용한다. 복막 찰과상 부위에 인접한 대장의 장막 표면도 유사하게 긁는다.

실시예 1에 기술된 바와 같이 제조된 폴리(락티드-코-글리콜리드-65 : 35)마이크로캡슐중에 함유된 이부프로펜을 15중량% 수성 폴리(비닐 피롤리돈) "PVP" (GAF Povidone C-15)중에 현탁시킨다. 그 비율은 PVP용액 100g당 마이크로캡슐 15g이다.

레시틴-함유 마이크로캡슐은 실험의 후반부에 사용한다. 현탁액을, 이부프로펜 약 40mg(마이크로캡슐 약 470mg)이 상해 부위에 가해질 정도의 양으로 상처위에 적하한다. 하나의 대조는 이부프로펜-비함유 마이크로캡슐을 함유하는 PVP용액이고, 다른것은 레시틴과 함께 이부프로펜-비함유 마이크로캡슐을 함유하는 PVP용액이다.

찰과상 유발 7일후, 토끼를 펜토바이탈 과량에 의해 희생시킨다. 유착증의 정도를 하기와 같이 평가한다 :

1. 유착증 없음
2. 필름성 유착증(분리가능)
3. 경미한 유착증(분리불가능-시험 면적의 약 35%이하를 덮는다)

4. 보통 유착증(분리불가능-시험 면적의 약 35 내지 60% 덮는다)

5. 심한 유착증(분리불가능-시험 면적의 약 60% 이상을 덮는다)

상술된 평가 등급은 유착증 발생을 억제하기 위한 여러 방법의 효능을 비교함에 있어서 유용한 것이다. 하지만, 궁극적으로 단지 “1” 등급만이 완전히 허용가능한 것으로 간주될 수 있음을 언급해야 한다. 임상적 합병증은 경미한 또는 보통 유착증에서 보다 심한 유착증에서 유발될 가능성이 더 있는 것으로 사료될 지라도 경미한 유착증에서조차 유발될 수 있다. 하기 표 11은 그 결과를 나타낸다 :

[표 11]

토끼번호	이부프로펜	해시틴	평 가	
			이부프로펜처리	비처리대조
1	유	무	4	4
2	유	무	4	5
3	유	무	1	1*
4	유	유	3	5
5	유	유	4	5
6	유	유	3	5
7	무	무	5	5
8	무	무	5	5
9	무	무	5	5
10	무	유	5	5
11	무	유	5	5
12	무	유	5	5

* 이 실험에 따르는 수술과정은 비처리된 토끼의 약 87%에 있어서 유착증을 유발시킨다. 분명하게 이 토끼는 유착증이 유발되지 않은 약 13%중 하나 이었다.

결과는 이부프로펜을 함유하는 마이크로캡슐에 의해 나타난 어느 정도의 항-유착증 활성을 나타낸다.

비히클 대조 부위가 시험 부위와 동일한 토끼에 존재하는 경우, 복강내 유체 이동은 NSAID처리 부위로부터 비히클 대조 부위로 어느 정도의 약제를 운반할 수 있다. 그러므로, 표 11에서 토끼번호 1 내지 6의 비처리된(“비처리된”은 활성약제가 없는 것을 뜻한다)대조 부위 및 하기 보고된 동족체 비처리된 대조 부위가 복강내의 유체의 이동 또는 순환에 의해 소량의 NSAID를 받을 수 있다. 하지만, 비처리된 대조 부위중 어느 부위가 이러한 유체 이동에 의한 어느 정도의 활성 약제를 받는 경우, 동일한 토끼의 처리부위에서 받는 것 보다는 상당히 적을 것이다. 그러므로, 동일한 토끼에 있어서 처리 부위와 대조 부위사이의 결과에서의 차이는 NSAID의 유착증 억제 효과에 의해 일어난 것으로 확실히 설명될 수 있다.

[실시에 5]

용량 반응연구 및 시간 반응 연구를 수행하기 위하여, 소형 삼투성 펌프(Alzet 소형 펌프, 모델 2MIL 또는 모델 2002-이들 펌프는 Higuchi 등의 미합중국 특허 제3,995,631호에 기술되어 있다)을 사용하여 7일 이하의 기간에 걸쳐 시험 토끼에 있어서의 수술 외상 부위에 매우 낮은 조절된 유동속도로 연속 스트림으로 항-유착제를 전달한다. 따라서, 소형-펌프는 카테테르 전달 방식과 유사한 방법으로 약제를 전달한다.

뉴질랜드 암컷 흰토끼(1.8 내지 2.0kg)을 아셀레프로마진 및 케타민 마취를 통해 중선 개복술을 받게 한다. 복막벽(약 1mm두께)의 3×5cm 조직판을 우측측면부 복막 측벽으로부터 날카롭게 절개한다. 인접 대장의 장막 표면을 점상 유혈이 발견될 때까지 작은 칼로 긁는다. 그 다음, 잘라낸 복막벽과 인접 대장 장막사이의 부위를 유착증 억제용 약제의 효능을 평가하는데 사용한다. 동일한 총면적(약 15cm²)을 차지하는 복막벽의 제 2 절개를 우측측면부 복막 측벽을 따라 초기 시험 부위 아래쪽 1.5 내지 2.0cm에서 수행한다. 인접 대장 장막의 찰과는 처리 부위에 대해 상술된 바와 같이 수행한다. 이 제 2 부위는 유착증을 유발시키는 수술 절차의 효과 및 비히클 대조에 대한 반응을 평가하는데 사용한다.

포스페이트 완충 염수(“PBS”)중에 용해된 이부프로펜을 함유하는 Alzet 소형 펌프를, 펌프의 각 끝으로부터 3 내지 5mm에 위치한 VICRYL(폴리글락틴 910) 봉합선을 사용하여 시험 토끼의 등쪽 피하 공간에 꿰맨다. 펌프로부터 각 토끼의 복강으로 이르는 폴리테틸렌 카테테르 튜브를 상처 부위 2 내지 3mm 위에 위치시킨다. 카테테르를 상처의 부위를 포함하지 않는 두 3/0 VICRYL 봉합선에 의해 그자리에 고정시킨다. PBS 비히클만을 함유하는 펌프 및 카테테르 시스템을 아래쪽(부형제 대조) 찰과상 부위의 중간 부위에 끼워 넣는다.

두개의 다른 소형 펌프를 이들 시험에 사용한다. 제 1 펌프(2ml 펌프)는 시간당 10마이크로리터의 펌핑 속도를 가지며 제 2 펌프(0.2ml 펌프)는 시간당 0.5 마이크로리터의 펌핑속도를 갖는다. 각 펌

프는, 큰 펌프에는 2ml 및 작은 펌프에는 0.2ml의 포스페이트 완충 염수(다른 설명이 없는한 pH=7.2)를 함유한다. 대조 펌프는 포스페이트 완충 염수만을 함유하며, 처리 펌프는 이부프로펜 20mg(2ml 펌프) 또는 이부프로펜 2mg(0.2ml 펌프)을 함유한다.

수술 7일후의 결과가 하기 표 III에 나타나 있다. 평가 방법은 실시예 4에 기술된 바와 같다.

[표 III]

토끼번호	펌프크기	평 가	
		이부프로펜처리	비허클대조
1	0.2ml	5	5
2	0.2ml	4	5
3	0.2ml	4	5
4	0.2ml	4	5
5	0.2ml	2	5
6	0.2ml	1	5

두펌프중 작은 펌프는 3마리 토끼중 2마리에 있어서 경미한 양성 반응을 제공한 반면, 큰 펌프는 3마리 토끼중 2마리에 있어서 상당한 양성 반응을 제공하고 다른 토끼에 있어서는 경미한 양성 반응을 제공한다.

[실시예 6]

이 실험 모델에 있어서 이부프로펜(“IBF”)에 대한 역치 용량을 더 명확히 정의하기 위하여, 펌프당 다른 농도의 IBF를 사용하여 두종류 크기의 펌프로 유사한 실험을 수행한다. 하기 표IV는 이 일련의 실험에서 펌프당 IBF의 농도 및 반응을 나타낸다 :

[표 IV]

토끼번호	펌프크기	IBF의농도 mg/ml	평 가	
			처리	비허클대조
1	0.2ml	10	1	4
2	0.2ml	10	4	5
3	0.2ml	10	5	5
4	2ml	10	3	5
5	2ml	10	4	4
6	2ml	10	3	5
7	0.2ml	3	4	5
8	0.2ml	3	5	5
9	0.2ml	3	4	5
10	2ml	3	3	5
11	2ml	3	5	5
12	2ml	3	4	5
13	0.2ml	1	5	5
14	0.2ml	1	5	5
15	0.2ml	1	1	4
16	2ml	1	5	5
17	2ml	1	5	5
18	2ml	1	4	5
19	0.2ml	0.3	5	5
20	0.2ml	0.3	5	5
21	0.2ml	0.3	5	5
22	2ml	0.3	5	5
23	2ml	0.3	5	5
24	2ml	0.3	4	5

이 일련의 실험은, 이 모델에서, 상당한 항-유착증 효과가 감지되기 시작하는 역치 용량, ml당 1

내지 3mg 농도의 IBF를 함유하는 펌프를 사용하는 경우에 일어나는 것으로 나타난다. 여기에서 두개의 상이한 크기의 펌프 사이에 큰차이가 없는 것으로 나타났다.

국소 투여된 약제의 유효용량은, 약제가 투여되는 일당 회수와 결부된, 담체중 약제의 농도로 보통 표시된다. 본 발명에서, 유효용량은 사용된 특정 NSAID의 성질, 비히클의 성질, 처리되지 조직의 성질, 외상의 형태, 및 투여 방식(즉, 카테테르에 의한 연속 투여 또는 방출 조절된 비히클과 같은 비히클중의 1회 투여)과 같은 인자에 따라 변할 것이다. 그러므로, 모든 경우에 적용되는 엄격하고 고정된 법칙이 구체화될 수 없으며, 이 실시예 6에 보고된 것들과 유사한 실험이, 각각 다른 NSAID에 대하여, 특정 비히클 시스템에 대하여, 및 특정 투여 방식에 대하여 역시 용량을 정의하기 위하여 수행되어야 할 것이다. 이 내용을 읽은 후, 역시 용량을 결정하기 위해 필요한 실험을 수행하는 것은 본 분야에 숙련된 자의 능력내에 포함된다.

[실시예 7]

상당한 항-유착증 효과를 얻기 위하여 항-유착제가 투여되어야 하는 기간을 결정하기 위해서, 하기와 같은 일련의 실험을 수행한다(실시예 5에 상술된 실험절차를 사용한다) :

IBF 10mg/ml를 함유하는 2ml 펌프를 사용하고, 수술외상 부위에 처리용액을 전달하는 카테테르를 수술후 1,2,3,4 및 5일에 연결을 끊는다. 토끼를 수술 7일후에 희생시키고, 상기와 같이 평가한다. 그 결과가 하기표 V에 나타나 있다.

[표 V]

토끼번호	수술후 카테테르를 단절시킨 일수	평 가	
		이부프로펜처리	비히클대조
1	1	5	5
2	1	4	4
3	1	3	1
4	2	4	4
5	2	5	5
6	2	1	1
7	3	4	1
8	3	1	3
9	3	1	3
10	4	4	5
11	4	3	1
12	4	1	1
13	5	3	5
14	5	4	5
15	5	5	5

이 모델에서, 이부프로펜에 대하여, 적어도 3일 동안 PBS중의 2ml 펌프에 의한 NSAID의 투여가, 약제가 상당한 항-유착 효과를 갖도록 하기 위한 요구된다. 다른 NSAID 및/또는 다른 전달 방식, 및 수술의 상의 다른 형태에 있어서, 최소 기간이 다를것으로 예상하는 것은 타당하다. 어떤 경우에, NSAID가 투여 되어야 하는 최소 기간은 실시예 7에 기술된 것과 유사한 실험에 의해 결정될 수 있다. 일반적으로, 대부분의 경우에, 최소 1일이 바람직하며 몇몇 경우에는, 오랜기간(예를 들면, 5이하 내지 7일 또는 그 이상)이 요구될 수 있다.

NSAID 활성 성분은 수술 외상 부위에 국소적으로 투여된다. 이러한 국소 투여는 분무, 세정, 부위상에 적하, 카테테르 투여 등에 의해 수행될 수 있다. 선택된 투여방법은, 유효용량이 증상치료 기간에 걸쳐 투여되는 한 중요하지 않으며, 이는 실시예 7에서 상술된 것과 유사한 일련의 실험에 의해 결정될 수 있다. NSAID는 수술후 즉시, 상처 치료 시작 이전에 투여되어야 한다.

[실시예 8]

실시예 5의 상술된 것과 유사한 방법에 의해, 토끼의 시험 부위에 수프로펜을 투여하기 위해 2ml Alzet 소형 펌프를 사용한다. 수프로펜의 농도는 포스페이트 완충 염수(pH=7.4) 2.5mg/ml이다. 토끼는 수술 7일후에 희생시키고 상기와 같이 평가한다. 그 결과가 하기 표 VI에 기술되어 있다:

[표 VI]

2.5mg/ml 수프로펜

토끼번호	평 가	
	수프로펜처리	비히클대조
1	3	4
2	4	3
3	3	5
4	4	5
5	4	4
6	3	5
7	3	4

[실시에 9]

폴리(락티드-코-글리콜리드-65 : 35) 2.78g, 수프로펜 0.30g 및 디클로로메탄 8ml를 소형 바이알에 첨가한다. 생성된 용액을 30℃까지 가열한 3% 수성 폴리(비닐 알코올) 용액 120ml에 500rpm으로 기계적으로 교반하면서 첨가한다. 2시간후, 마이크로캡슐을 실시에 1에 기술된 바와 같이 분리시키고 세척 및 동결-건조시킨후 마이크로캡슐 1.61g을 수득한다. 마이크로캡슐의 크기는 10 내지 250마이크론이상 이었으며 NMR에 의해 수프로펜 7.0중량%를 함유하는 것으로 밝혀졌다.

[실시에 10]

폴리(D, L-락트산) 1.25g, 정제된 참깨씨 기름 0.12g, 이부프로펜 0.512g, 및 디클로로메탄 3ml를 소형 바이알에 첨가한다. 생성된 용액에 3% 수성 폴리(비닐 알코올)용액 30ml를 첨가하고 얼음/물 욕소에서 냉각시키고 500rpm으로 교반한다. 진공을 실시에 1에 기술된 바와 같이 가하고, 세척 및 동결-건조후, 마이크로캡슐 1.12g을 수득한다. 마이크로캡슐의 크기는 10 내지 75마이크론이고 NMR에 의해 이부프로펜 8.7중량%를 함유하는 것으로 밝혀졌다.

[실시에 11]

실시에 5에 상술된 것과 유사한 방법에 의해, 토끼 모델에 수프로펜 나트륨(즉, 수프로펜의 나트륨 염)의 다양한 양을 전달하기 위해 2ml 소형펌프를 사용한다. 포스페이트 완충 염수(pH=6.9)중에 함유된 약제의 양은 3.0mg/ml 내지 0.03mg/ml이다. 토끼를 수술 7일후에 희생시키고 상기한 바와 같이 평가한다. 그 결과가 하기 표VII에 기술되어 있다.

[표 VII]

수프로펜, 용량 반응 연구

토끼번호	수프로펜 농도 mg/ml	평 가	
		처리	비히클대조
1	3	1	1
2	3	1	1
3	3	1	1
4	3	4	4
5	3	1	1
6	1	4	5
7	1	1	1
8	1	3	4
9	1	1	5*
10	1	1	3

11	0.3	1	5
12	0.3	3	4
13	0.3	3	5
14	0.3	3	3
15	0.3	3	4
16	0.1	3	3
17	0.1	3	4
18	0.1	3	5
19	0.1	1	5
20	0.1	5	5
21	0.03	5	1
22	0.03	1	1
23	0.03	4	4
24	0.03	1	4
25	0.03	4	5

* 이 토끼는 약간의 출혈을 나타내었다.(이런 경우에, 이 모델에서 출현이 일어나는 경우 유착증이 발생하지 않는다.

이 일련의 실험은 NSAID로서 수프로펜 나트륨을 사용한 이 모델에서 상당한 항-유착증 효과하 감지 되기 시작하는 역치 용량은 약 0.1mg/ml 농도의 약제를 함유하는 펌프를 사용하는 경우에 일어남을 나타낸다. 그러므로, 중량을 기준하여, 수프로펜은 이부프로펜 보다 약간 더 활성인 것으로 보인다.

[실시에 12]

실시에 5에 기술된 것과 유사한 방법에 의해, 다양한 양의 톨메틴을 투여하기 위하여 2ml 소형 펌프를 사용한다(톨메틴의 나트륨 디하이드레이트 염을 사용한다). 포스페이트 완충 염수(pH=7.4) 중에 함유된 약제의 농도는 3.0mg/ml 내지 0.01mg/ml이다. 처리 펌프는 하기 표 VIII에 나타난 농도의 톨메틴을 함유하고, 대조 펌프는 비히클만을 함유한다. 토끼를 수술 7일후에 희생시키며, 그 결과가 하기 표 VIII에 나타나 있다.

[표 VIII]

톨메틴, 용량 반응 연구

토끼번호	톨메틴 농도 mg/ml	평 가	
		처 리	비허클 대조
1	3	1	1
2	3	1	1
3	3	1	5
4	3	1	1
5	3	1	3*
6	1	1	4

7	1	1	5
8	1	3	5
9	1	1	3
10	1	토끼죽음**	
11	0.3	3	3
12	0.3	1	3*
13	0.3	1	3
14	0.3	3	5
15	0.3	3	4
16	0.1	3	5
17	0.1	1	5
18	0.1	1	5
19	0.1	1	5
20	0.1	토끼죽음	(비성호흡)***
21	0.03	1	1
22	0.03	1	5
23	0.03	3	5
24	0.03	1	5
25	0.03	1	4
26	0.01	5	5
27	0.01	1	5
28	0.01	1	5
29	0.01	1	4
30	0.01	1	1

* 경미한 출혈 일어남

** 사망의 원인은 알려지지 않았지만, 약제와 관련된다는 징조는 없다.

*** “비성호흡”은 토끼에 걸리는 바이러스-원인 상부

호흡기 질환이다. 이것이 약제와 관련된다는 징조는 없다.

표 VIII에 나타난 데이터로부터 알수 있는 바와같이, 그 중량을 기준하여 톨메틴이 이 토끼 모델실험에서 이부프로펜 또는 수프로펜 보다 더 유효한 것으로 나타난다. 이 실험의 결과에 의해 나타난 바와같이, 역치 용량은 토끼 번호 26 내지 30에 투여된 용량보다 확실히 적었다(약제의 농도는 0.01mg/ml 이다).

[실시에 13]

하기는 NSAID를 함유하는 리포좀(MLV)의 전형적 제조 방법이다 : (이제조에서, 사용된 모든 물질 및 장치는 멸균 상태이며 피로겐-비함유이다)

a) 지지 필름의 제조

L-알파-디스테아로일 포스파티딜콜린(“DSPC”) 1.21g 및 콜레스테놀 0.29g(DSPC : 콜레스테롤의 물비는 2 : 1이다)을 클로로포름 45ml중에 용해시킨다. 생성된 용액을 5ml 분획으로 9부분으로 분배하고 이러한 각 분획을 100ml 플라스크에 넣는다. 용매를, 회전식 진공 증발기를 사용하여 각 플라스크로부터 증발시킨다. 플라스크제거 전에, 증발기의 공기 흡입구에 0.22마이크론 Milllex 필터를 부착시킴으로써 멸균성을 유지시킨다. 용매 증발후 플라스크상에 멸균 격막을 위치시킨다. 각 격막의 표면을 70% 알코올로 닦고 0.22마이크론 필터에 고정된 19게이지 멸균 니들을 각 격막을 통해 통과시킨다. 그 다음, 모든 플라스크를 큰 진공 데시케이터에 넣고 방새 보존한다. 각 플라스크는 약 167mg의 지질을 함유한다.

b) NSAID 용액의 제조

이부프로펜의 나트륨 염(Na-IBF) 0.202g을 멸균, 피로겐-비함유 물 40ml중에 용해시킨다. 그 다음, 용액을 0.22마이크론 Milllex 필터를 통해 통과시킨다.

c) Na-IBF를 함유하는 MLV의 제조

Na-IBF 용액 3.9ml를, 지질 필름을 함유하는 각 플라스크에 주입한다. 플라스크를 질소하에 65°C 수욕조에서 40 내지 60분동안 와동-교반시킨다(질소 퍼지는 0.22마이크론 필터를 통해 먼저 통과시킨다). 각 플라스크의 내용물에 멸균, 피로겐-비함유 포스페이트 완충 염수를 첨가하고 플라스크를

15,000rpm으로 6 내지 10분 동안 원심분리시킨다. 이 세척 과정을 총 5회 반복하여 비캡슐화된 NSAID를 제거한다. 그다음, 플라스크의 내용물을 배합하고 PBS(0.15NaCl 중의 5mM PO₄)를 32ml로 첨가한다. 이렇게 생성된 리포솜 현탁액은 PBS 중에 현탁된 약 1마이크론 크기의 MLV를 포함한다. 이것은 수개월동안 저장 안정성이 있지만, 오랜기간 저장하기 위해서는 바람직하게는 탈수시키고 사용 직전에 멸균, 피로겐-비함유 물과 재혼합한다.

약제-비함유 대조를 제조하기 위해, 물/Na-IBF 용액 대신 순수한 물을 사용하여 상기 절차를 반복한다.

(a) 유리산 형태의 IBF, 및 (b) 톨메틴의 나트륨 염을 사용하여 상기 절차를 반복한다. 유사한 결과가 수득되며 IBF 또는 나트륨 톨메틴을 함유하는 리포솜 MLV가 제조된다.

본원중 기술된 바와같이 제조된 IBF 또는 톨메틴을 함유하는 MLV는 약 1-1/2 내지 2마이크론(광학 현미경에 의한) 및 약 5 내지 8마이크론(Coulter Counter에 의한)의 입자크기를 갖는 것으로 밝혀졌다.

지방산 잔기가 다른 지방산(예를들면, C₁₂ 내지 C₂₄ 지방산)으로부터 유도되는 포스파티딜콜린으로부터 소포를 생성시키기 위하여 유사방법을 사용한다. C₁₄ 내지 C₂₀ 포화 지방산이 바람직하다.

[실시에 14]

이 실험은 수술후의 유착증을 퇴치하기 위한 리포솜/이부프로펜 혼합물의 효능을 평가한다. 사용된 방법은, 리포솜/이부프로펜 처리된 토끼의 비처리된 대조 부위가 우측-측면부 복막 측벽에서의 처리 부위 아래쪽 1.5 내지 2.0cm에 위치하는 대신 좌측-측면부 복막 측벽상에 위치하며 실시예 5에 기술된 상해 과정을 사용하는 것을 제외하고는 실시예 4에 기술된 방법과 유사하다.

이 실시예에서 사용된 리포솜은, 실시예 13에 기술된 방법으로 제조된 DSPC/콜레스테롤 MLV(L-알파-디스테아로일포스파티딜콜린/콜레스테롤 멀티라멜라 소포)이다. 처리 혼합물은 5mM 포스페이트 완충 염수중에 현탁된, MLV 1200mg 및 유리산 형태의 이부프로펜 35mg을 함유하는 용액 31ml로 이루어진다. 비히클 대조는, 이부프로펜이 생략된 것을 제외하고는 동일한 조성을 갖는다. 각 토끼에 현탁액 10ml를 투여하는데, 이는 토끼당 이부프로펜 3.5mg에 상당한다. 처리 현탁액 및 비히클 대조 현탁액을 실시예 4에 기술된 바와같이 외상 부위상에 적하한다. 3마리 토끼는 우측벽 부위에 리포솜/이부프로펜으로 처리하고 다른 부위는 처리하지 않으며, 3마리의 토끼는 우측벽 부위에 비히클 대조(이부프로펜이 없는 리포솜)으로 처리하고 다른 부위는 처리하지 않는다. 토끼를 수술 7일 후에 희생시키고, 상술된 바와같이 평가한다. 그 결과가 하기 표 IX에 나타나 있다.

[표 IX]

리포솜/이부프로펜 연구

토끼번호	이부프로펜	부 위	
		처 리	비 처 리
1	유	1	1
2	유	1	1
3	유	1	4
4	무	2	4
5	무	5	5
6	무	1	5

실험을 정확히 동일한 방법으로 반복하여 하기 표 X에 나타난 결과를 얻는다 :

[표 X]

토끼번호	이부프로펜	부 위	
		처 리	비 처 리
1	유	1	1
2	유	1	1
3	유	1	4
4	무	5	4
5	무	3	4
6	무	1	1*

* 이 토끼는 경미한 유혈을 나타낸다.

표 IX 및 X에 보고된 실험에서, 이부프로펜/리포솜 혼합물에 의해 처리된 토끼는 약제가 직접 투여되지 않은 부위에서도 유착증이 사실상 유발되지 않았다. 이는 약제가 복막유체의 순환의 결과로서 복강내에서 이동할 수 있다는 사실을 나타내는 것으로 사료된다. 또한, 전체적 관측에 의해, 조직

반응 또는 육아종이 처리된 부위에서 발견되지 않았다.

[실시에 15]

이 일련의 실험에서, 하기와 같이 변형된 실시에 14의 방법을 반복한다 :

사용된 리포솜은 실시에 13에 기술된 바와같이 제조된 Na-IBF를 함유하는 DSPC/콜레스테롤 MLV이다. 대조 MLV(2벡치-“MLV-1” 및 “MLV-2”)는 약제를 함유하지 않는다. 약제-함유 리포솜을 다양한 비율로 대조 리포솜과 혼합하여 다양한 양의 NSAID를 함유하는 MLV를 수득한다. 하기 표 XI에, 약제-함유 리포솜 및 대조 리포솜의 조성이 나타나 있다.

[표 XI]

리포솜 조성

대조	용적 ml	지질 mg/ml	총지질 mg	약제 mg/ml	약제/지질 (중량)
MLV-1	50	33	1675	N/A	N/A
MLV-2	50	34	1710	N/A	N/A
이부프로펜 MLV	50	33	1675	0.98 (49g)	0.029

하기 표 XII에는, 상기 실시에 14에 기술된 방법으로 시험 토기에 투여되는, 혼합된 약제-함유 리포솜과 대조 리포솜의 비율이, 수술 7일후에 토기를 평가한 결과와 함께 나타나 있다 :

[표 XII]

Na-IBF/MLV 평가

토기번호	IBF MLV, ml	대조 MLV, ml	평가	
			처리부위	대조부위
1	10	0	1	1
2	10	0	3	3
3	10	0	1	1
4	3	7	1	1
5	3	7	1	4
6	3	7	1	5
7	3	7	1	4
8	1	9	1	1
9	1	9	1	1
10	1	9	1	1
11	1	9	1	1
12	0.3	9.7	1	3
13	0.3	9.7	1	3
14	0	10	4	5
15	0	10	5	3
16	0	10	3	3
17	0	10	4	5
18	0	10	3	3

[실시에 16]

실시에 14에 기술된 것과 유사한 방법으로, 계면활성제 및 유리산 형태의 톨메틴을 포함하는 수성 조성물을 토기 모델의 처리 부위에 가한다. 수성 조성물은 3회 증류수중 다양한 농도의 “Tween 80”, 에톡실화된 술포탄 모노-올레이트, 및 1 또는 2mg/ml 농도의 톨메틴으로 이루어진다. 이 용액을 0.22마이크론 필터를 통해 통과시킴으로써 멸균한다. 하기 표에는 톨메틴 및 Tween 80의 농도 및 수술 7일후 유착증의 평가가 나타나 있다. 각 경우에, 용액 10ml를 처리 부위에 적하한다.

[표 XIII]

5중량% Tween 80

1 mg/ml 톨메틴

토끼번호	평 가	
	처리부위	대조부위
1	1	5
2	1	1
3	1	1(출혈)
4	1	1
5(대조*)	3	3
6	1	3
7	1	4
8	3	5
9	1	1
10(대조*)	4	3

*대조 토끼는 아무 처리도 하지않는다.

[표 XIV]

20중량% Tween 80

2mg/ml 톨메틴

토끼번호	평 가	
	처리부위	대조부위
1	1	5
2	3	5
3	1	4
4	3	1
5(대조*)	4	4
6	1	3
7	3	5
8	1	1
9	1	1
10(대조*)	5	5

* 무처리

[표 XV]

20중량% Tween 80

2mg/ml 톨메틴

토끼번호	평 가	
	처리부위	대조부위
1	1	5
2	1	1(출혈)
3	1	5
4	1	5
5	1	4
6	1	4
7	1	4
8	1	1

[표 XVI]

1mg/ml 톨메틴 나트륨 (1)

무 Tween

토끼번호	평 가	
	척리부위	대조부위
1	3	5
2	4	3
3	1	3
4	3	4
5	3	3
6	4	3
7	1	3
8	3	5
9(대조 ⁽²⁾)	4	3

(1) 그 유리산 형태가 순수 물중에 아주 불용성 이기 때문에 나트륨의 염이 사용되었다.

(2) 물만 존재 : 톨메틴 없음

물중에 아주 불용성인 톨메틴의 유리산 형태는 계면활성제에 의해 수성용액 또는 콜로이드성 현탁액 중에 보유된다.

본 발명에 따르는 NSAID의 유효량의 문제에 관하여, 모든 경우에 적용될 엄격히 정해진 수치가 제공될 수 없지만, 상기 제공된 실시예는 특정 경우에 사용하기 위한 약제의 양의 정도를 결정하는데 지침으로서 인용될 수 있다. Alzet 삼투 소형 펌프에 의해 연속적으로 투여되는 포스페이트 완충 염수에 있어서, 하기 용량이 효과적인 것으로 밝혀졌다 :

이부프로펜, 3mg/ml, 0.5마이크로리터/시간의 용량을(실시예 6) ; 수프로펜, 0.1mg/ml, 1마이크로리터/시간의 용량을(실시예 11) ; 및 톨메틴, 0.01mg/ml, 10마이크로리터/시간의 용량을(실시예 12)mg/kg/일 및 mg/일/외상조직 cm²으로 표현된 이들 수치는 하기와 같다 :

이부프로펜 - 18×10^{-13} mg/kg/일

2.4×10^{-3} mg/일/cm²

수프로펜 - 12×10^{-3} mg/kg/일

1.6×10^{-3} mg/일/cm²

톨메틴 - 1.2×10^{-3} mg/kg/일

0.16×10^{-3} mg/일/cm²

이들 계산은 하기와 같이 수행한다(예로서 이부프로펜 수치를 사용한다) : 3mg/ml를 함유하는 0.5마이크로리터/시간의 용액은 0.5×10^{-6} 리터/시간 \times (3mg/10⁻³ 리터)와 같다. 이를 환산하면, $0.5 \times 3 \times 10^{-6} / 10^{-3} = 1.5 \times 10^{-3}$ mg/시간이다. 이는 36×10^{-3} mg/일 또는 18×10^{-3} mg/kg/일(각 토끼 중량은 약 2kg)과 같다.

외상 조직의 면적은 약 15cm²이므로, mg/일/cm²으로 표현된 용량은 $35/15 \times 10^{-3}$ mg/일/cm² 또는 2.4×10^{-3} mg/일/cm²이다.

전신 투여된 이부프로펜에 대한 2.5mg/kg/일 최소 요구 용량(상기 인용된 싱어 특허로부터)와 비교하여, 국소 투여된 이부프로펜에 대한 유효용량은 2 내지 3배 정도 더 적을 수 있다. 명백하게는, 이 상당히 감소된 용량은 바람직하지 못한 부작용을 감소시킨다.

담체로서 계면활성제를 함유하는 수성 조성물 또는 MLV를 사용한 최소 용량은 명백하게 이루어지지 않았다. 하지만, 실시예 15, 토끼번호 12 내지 13으로부터, MLV 담체 중의 이부프로펜 약 0.3mg의 총용량이 유효한 것으로 알 수 있다. 이 수치는 하기와 같이 계산된다 :

$0.98\text{mg/ml} \times 0.3\text{ml} / 0.7\text{ml}$ 는 0.0278mg/ml 와 같다. 이 제형 10ml가 투여되므로, 총 용량은 0.3mg 또는 0.15mg/kg 또는 0.02mg/cm^2 이다. 더 낮은 농도도 이 모델에서 유효할 것이다.

Tween 80 용액에서, 사용된 최소량의 톨메틴은 10mg(표 XIII에 제공된 데이터로부터)이다. 이 방법으로 투여된 더 적은 용량도 유효할 것이다. 여기에 제공된 데이터의 함리적 외삽은, 단일용량으로 사용된 NSAID 제형에 대한 최소 유효농도가 전체 비히클의 ml당 NSAID 약 0.025mg 내지 5mg일 것이다(“전체 비히클”)은 MLV 또는 Tween 80과 같은 유기 비히클과 물 또는 PBS와 같은 희석제를 의미한다).

유사하게는, 카테테르에 의해 연속적으로 투여되는 NSAID 제형에 대해서는, 전체 비히클 중의 NSAID의 최소 유효 농도는 보통 약 0.01 내지 10mg/ml일 것이다.

[실시에 17]

이 일련의 실험에서는, 뉴질랜드 흰토끼 암컷의 자궁혼을 유착증 발생을 위한 모델로서 사용한다. 이 형태의 수술 절차에서 유발된 외상은 수술과 통상적으로 관련된 어떠한 외상보다 심한 유착증을 유발시키기 더 쉬우므로, 이는 수술후의 유착증 발생을 억제하는 약제의 효능을 평가하기 위해 아주 중요한 시험이다.

아셀레프로마진 및 케타민을 사용하여 토끼를 마취시킨 다음, 저부 정중 개복수술 절개를 수행한다. 그 다음, 양쪽 자궁혼의 장막 표면을 가아제 수술용 스폰지로 붙잡고 작은 반점의 유혈이 발현될 때까지 자궁으로 끌어당김으로써 찰과상을 입힌다.

자궁혼을 상술된 바와같이 외상을 입힌후 즉시, 톨메틴의 나트륨 염을 함유하는 MLV 리포솜(실시에 13에 기술된 것과 유사한 방법을 제조된)의 다양한 양을 외상 부위에 적하한 다음, 토끼를 봉합시킨다. 수술 7일후, 토끼를 희생시키고 유착증의 발생을 평가한다. 그 결과는 하기에 기술되어 있다.

리포솜은 편탁액 ml당 리포솜 40mg 및 현탁액 ml당 톨메틴 1.46mg의 농도로 PBS 중에 현탁시킨다.

평가 결과는 하기와 같으며, 표시된 양은 수술 외상 부위에 적하된 리포솜 현탁액의 용적이다.

10ml-경미한 유착증

30ml-경미한 유착증, 10ml 용량 보다는 더 심하다. 유착은 필름상이다.

1 ml-가벼운 유착증

대조-(약제없음)-심한 유착증 ; 근본적으로, 자궁과 장 및 자궁과 전방 복막 벽사이에 발생된 유착증을 찢어내지 않고 토끼를 열개 할 수 없다.

리포솜/톨메틴 혼합물을 사용하여 상술된 연구를 수회반복하여, 근본적으로 동일한 결과를 얻는다.

수성 Tween 80 15ml중에 함유된 유리산 형태의 톨메틴(Tween 80 5중량%, 톨메틴 1mg/ml)을 한쌍의 자궁혼 모델 연구에서 톨메틴/리포솜 현탁액 대신 사용하는 경우, 수술후의 유착증 발생이 상당히 억제되었다.

(57) 청구의 범위**청구항 1**

비스테로이드성 소염제(NSAID) 및 중합체를 휘발성 유기 용매에 용해시키고 ; 분산제를 사용하여 NSAID 및 중합체를 함유하는 용매를 수중에 분산시키고 ; 가열하거나 진공화시켜 분산액 생성물로부터 유기 용매를 증발시키고 ; 원심분리하여 생성된 마이크로캡슐을 수성 분산액으로부터 회수하는 단계를 포함하여, 수술후의 유착증 발생을 억제시키기 위한 국소 투여용 NSAID 함유 흡수성 중합체 성 마이크로 캡슐을 제조하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, NSAID가 이부프로펜, 수프로펜, 톨메틴 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염 또는 에스테르인 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 흡수성 중합체가 락트산, 글리콜산, 이들의 사이클릭 이량체 에스테르, 또는 p-디옥사논의 단독중합체 또는 공중합체인 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 마이크로캡슐이, 수술외상부위에 점착하기 위한 마이크로캡슐의 능력을 증진시키기 위해 충분한 양으로 레시틴을 포함하는 방법.

청구항 5

인지질을 유지 용매에 용해시키고 ; 분무 건조 또는 진공화에 의해 인지질을 함유하는 유기 용매로부터 용매를 증발시켜 용액 함유 용기 벽에 필름을 형성시키고 ; 그 안에서 NSAID를 함유 수성상을 교반시켜 캡슐화시킨후, 원심분리하여 캡슐화되지 않은 NSAID를 생성물로부터 분리시키는 단계를 포함하여, 수술후의 유착증 발생을 억제하기 위한 국소투여용 NSAID 함유 인지질 소포를 제조하는 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서, NSAID가 이부프로펜, 수프로펜, 톨메틴, 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염 또는 에스테르인 방법.

청구항 7

제 5 항에 있어서, 인지질 소포가 멀티라멜라(multilamellar) 소포인 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 소포의 크기가 1 내지 10마이크론인 방법.

청구항 9

제 7 항에 있어서, 소포가, 지방산 잔기가 단일 지방산으로부터 유도되는 포스파티딜 콜린을 포함하는 방법.

청구항 10

제 7 항에 있어서, 소포가 포스파티딜 콜린 및 콜레스테롤의 혼합물을 포함하는 방법.