



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년09월12일

(11) 등록번호 10-1773989

(24) 등록일자 2017년08월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/08 (2006.01) *A61K 47/02* (2006.01)*A61K 8/02* (2006.01) *A61K 8/24* (2006.01)*A61K 8/73* (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/08 (2013.01)*A61K 31/728* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-7009968

(22) 출원일자(국제) 2013년09월24일

심사청구일자 2016년10월04일

(85) 번역문제출일자 2015년04월17일

(65) 공개번호 10-2015-0064090

(43) 공개일자 2015년06월10일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2013/069874

(87) 국제공개번호 WO 2014/056722

국제공개일자 2014년04월17일

(30) 우선권주장

1259577 2012년10월08일 프랑스(FR)

(56) 선행기술조사문현

JP4809760 B2

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 강승진

(54) 발명의 명칭 가교된 히알루론산 및 수산화 인회석 기재의 에스테틱 용도로 주입가능한 멸균 수제 제형

(57) 요 약

본 발명의 과제는, i) 1% - 4% (중량/부피) 농도의 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염파, ii) 5% - 60% (중량/부피) 농도의 수산화 인회석을 포함하며, 가교에 의해 히알루론산 기재의 소위 응집성 구조를 가진 젤이 수득되며, 상기 수산화 인회석은 평균 크기가 $200 \mu\text{m}$ 이하인 입자 형태이며, 상기 주입가능한 멸균 수제 제형이 주파수 1 Hz에서의 $\tan \delta$ 가 0.60 이하인 점탄성을 가지는, 응집성 및 점탄성의 미립자 젤 형태로서 에스테틱 목적으로 사용되는, 흡수성의 레디-투-유즈의 주입가능한 멸균 수제 제형에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1

테스트 생성물	교반 전 관찰	교반 직후 관찰	교반 10 초 후 관찰
젤 B' 본 발명 (실시예 2)			
젤 X (실시예 2)			
CMC 및 수산화 인회석 기재의 제형 (실시예 4)			

(52) CPC특허분류

A61K 47/02 (2013.01)
A61K 47/12 (2013.01)
A61K 8/0241 (2013.01)
A61K 8/24 (2013.01)
A61K 8/735 (2013.01)
A61K 9/0014 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

CN101596328 A
JP2005538757 A
US20120108674 A1*
KR1020110084510 A
Biomaterials, 1999
US05922025 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

응집성 및 점탄성의 미립자 젤 (particulate cohesive viscoelastic gel) 형태의, 에스테틱 목적 (aesthetic purpose)의 주입가능한 멸균 수계 제형으로서,

- i) 1% - 4% (중량/부피) 농도의 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염과,
- ii) 5% - 60% (중량/부피) 농도의 수산화 인화석을 포함하며,

상기 가교에 의해, 가교된 히알루론산 기재의 응집성 구조를 가진 젤이 제공되며,

상기 수산화 인화석은 평균 크기가 200 μm 이하인 입자 형태이며,

상기 주입가능한 멸균 수계 제형은 주파수 1 Hz에서의 $\tan \delta$ 가 0.60 이하인 점탄성을 가지는 것을 특징으로 하는, 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 히알루론산 또는 이의 하나의 염의 분자량이 2.5×10^5 Da 내지 4×10^6 Da인 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제형은 습윤 비열 (humid heat) 조건에서 멸균 처리된 것임을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염의 농도가 1% - 3% (중량/부피)인 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 수산화 인화석의 농도가 10% - 50% (중량/부피)인 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 수산화 인화석은 입자의 평균 크기가 10 μm 내지 50 μm 인 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 제형이 하나 이상의 세라믹 물질을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 제형이 하나 이상의 마취제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 하나 이상의 마취제가 리도카인 (lidocaine) 단독, 리도카인과 아드레날린 (adrenaline)의 조합, 프로카인 (procaine), 에티도카인 (etidocaine) 단독, 에티도카인과 아드레날린의 조합, 아르티카인

(articaine) 단독, 아르티카인과 아드레날린의 조합, 메피바카인 (mepivacaine), 프라모카인 (pramocaine), 퀴니소카인 (quinisocaine) 또는 이들 마취제들의 하나 이상의 염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 마취제가 리도카인 하이드로클로라이드인 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 제형이 하나 이상의 항산화제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 하나 이상의 항산화제가 폴리올계 화합물로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 폴리올계 화합물이 소르비톨, 글리세롤, 만니톨 또는 프로필렌 글리콜을 포함하는 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 14

제1항에 있어서, 필링 (filling), 볼륨 회복 (restoring volume) 또는 생물 조직의 대체를 위해 사용되는 것을 특징으로 하는 주입가능한 멸균 수계 제형.

청구항 15

제1항에 따른 주입가능한 멸균 수계 제형을 포함하는 키트.

청구항 16

제15항에 있어서, 시린지, 앰플 또는 플라스크 형태인 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 17

주입가능한 멸균 수계 제형의 제조 방법으로서,

a) 이관능 또는 다관능 분자를 이용하여 바이오플리머의 체인들 간에 공유 결합을 형성함으로써, 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염을 적어도 1 중량% - 4 중량%로 포함하는 제1 혼합물을 제조하는 단계로서, 가교에 의해 응집성 구조를 가진 가교된 히알루론산 기재의 젤이 수득되는 것인 단계,

b) 상기 혼합물을 정제하는 단계,

c) 수산화 인회석을 5% - 60% (중량/부피)의 농도로, 가교된 히알루론산 기재의 젤에 균질하게 분산시킴으로써, 첨가하는 단계,

d) 수득되는 젤을 레디-투-유즈 (ready-to-use) 형태로 제공하는 단계,

e) 생성물을 습윤 비열 (humid heat) 하에 멸균하는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명의 과제는, i) 1% - 4% (중량/부피) 농도의 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염, 및 ii) 5% - 60% (중량/부피) 농도의 수산화 인회석을 포함하는, 점탄성의 응집성 미립자 젤로서 에스테틱 (aesthetic) 목적으로

사용되는 흡수성의 레디-투-유즈 주입가능한 멸균 수계 제형에 관한 것으로서, 가교에 의해 가교된 히알루론산을 기재로 하는 이른바 응집 구조를 가진 젤을 수득할 수 있으며, 상기 수산화 인회석은 평균 입자 크기가 200 μm 이하인 입자 형태이며, 상기 주입가능한 멸균 수계 제형은 주파수 1 Hz에서의 tan δ 가 0.60 이하인 점탄성을 가진다.

배경기술

- [0002] 노화는 모든 개체가 직면하게 되는 자연적인 현상이다. 노화는 필연적으로 인체의 세포 활성 감소에 의해 수반된다.
- [0003] 가장 가시적인 노화 신호는 얼굴에서 나타나는데, 피부가 쳐지고, 일차로 주름이 생긴다. 이러한 노화 신호 발생을 늦추거나 또는 이미 나타난 신호를 회복하기 위한 시도로 많은 해법들이 개발되고 있다.
- [0004] 이러한 해법들 중에서도, 피부에 또는 피부 아래에 소위 필링 물질을 주사하는 기법이 언급될 수 있으며, 필링 물질은 생체내에 흡수성인거나 또는 비흡수성인 것일 수 있다. 이를 물질의 역할은 신체의 여러 부위, 특히 얼굴의 시술을 위해, 피부내 또는 피부 아래에 볼륨을 확보함으로써 꺼진 부위를 채우는 것이다. 이러한 기술적인 효과로, 피부는 다시 팽팽해지고, 주름은 펴지게 되어, 시술받은 부분이 더 젊어진다.
- [0005] 소위 흡수성 필링 물질 중에서 피부 에스테틱에 사용되는 가교된 히알루론산 (HA) ("안정화된 HA"라고도 함)이 언급될 수 있다. 이것은 수개월 동안 신체 다양한 부위에서 주름을 펴거나 볼륨을 회복하기 위해, 진피내로 또는 진피 아래로 주입된다. 이것은 주입 후 부차적인 효과가 거의 없고, 장기간 합병증이 거의 없다는 이점을 가지고 있다. 한편, 주입이 잘못된 경우에는, 이마에 주입된 가교된 HA 기재의 생성물을 분해하는 용액인 히알루로니다제 (HA 특이 효소)를 주입함으로써, 시술자는 잘못 행해진 시술을 바로잡을 수 있다. 가교된 HA는 점차적으로 소실 (폴리머가 시간 경과에 따라 조직으로 흡수됨)되기 때문에, 시술 효과를 유지하기 위해서는, 이를 정기적으로, 일반적으로 6 - 12개월 간격으로 반복 주입하여야 한다. 비-가교된 히알루론산은 그 자체로는 피부내 체류 시간이 짧으며 (반감기가 1주일 미만임), 라디칼, 효소, 열 및 기계적 분해 등의 다양한 요인들에 의해 생체내에서 분해된다. 이러한 요인들에 따른 히알루론산의 분해 속도를 낮춤으로써 반감기를 현저하게 높일 수 있으며, 따라서 에스테틱 시술 효과를 약 12개월 지속시킬 수 있는 방법이 사실상 가교이다.
- [0006] 경시적인 성능이 강화된 히알루론산 기재의 처리제를 개발하기 위해 전세계적으로 상당한 과학적인 연구들이 수행되고 있다. 그 목표는, 특히, 주입된 생성물을 고도의 높은 수준으로 안전성을 유지하면서도, 가능한 장기간 최상의 에스테틱 효과를 유지하기 위해 느리게 분해될 수 있는 생성물을 확보하는 것이다.
- [0007] 피부-에스테틱 시장에는 다른 흡수성 필링 물질들도 존재한다. 예를 들어, 칼슘 수산화 인회석이 함유된 생성물들을 들 수 있다. 이 입자는 셀룰로스 유도체인 카르복시메틸셀룰로스와 같은 폴리머를 함유할 수 있는 수상에 혼탁된다. 이런 유형의 생성물은, 신체 다양한 부위에서, 특히 얼굴에서 주름을 펴거나 또는 볼륨을 회복하기 위해 진피내 또는 진피 아래로 주입된다. 이를 생성물은 생체친화성이 높아, 주입하기 전에 알레르기 검사를 거칠 필요가 없다. 이를 생성물의 경우, 추가적인 효과나 합병증이 거의 보고되지 않고 있으며, 효과 지속 기간이 12개월 이상으로 관찰된다. 흡수 관점에서 보면, 수상은 시술받은 부위에서 빨리 제거되며, 수산화 인회석 입자는 경시적으로 대식세포에 의해 분해 및 대사된다.
- [0008] 또한, 수산화 인회석 입자에 의한 콜라겐의 내인성 생성의 자극 역시 이를 생성물을 피부 조직으로 주입하는 이유로 설명된다.
- [0009] 공교롭게도, 이들 생성물은 다양한 과학 간행물들에 기술된 바와 같이 이동하는 경향이 있다. 이러한 이동은 에스테틱 효과의 초기 소실 (교정된 부위에서 바이오물질이 줄어듬)을 유도하고, 잠재적으로 부차적인 효과를 유도할 수 있기 때문에 (입자가 특히 (바이오물질에 가해지는 기계적 스트레스로 인해) 처치할 부위에서 다소 벗어난 부위에 집중되어, 국소적으로 소위 경화된 부위를 형성시킬 수 있음), 이러한 이동은 문제가 된다.
- [0010] 이런 점에서, 조직내 수명은 길어지고, 레디-투-유즈 형태이며, 전술한 문제가 없는, 코스메틱 및/또는 에스테틱 목적의 주사제로서 적합한 우수한 기계적인 특성을 가진 제형을 실무자에게 제공하는 것이 중요하다.

발명의 내용

- [0011] 본 발명은, i) 히알루론산 또는 이의 하나의 염의 분자량이 2.5×10^5 Da - 4×10^6 Da이고, 가교에 의해 이른바 응집 구조를 가진 가교된 히알루론산 기재의 젤을 제공할 수 있는, 1% - 4% (중량/부피) 농도의 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염, 및 ii) 평균 입자 크기 200 μm 이하의 입자 형태를 가진, 5% - 60% (중량/부피)

농도의 수산화 인회석을 포함하는, 응집성 및 점탄성의 미립자 젤로서 에스테틱 목적으로 사용되는 주입가능한 생체흡수성 멸균 수계 제형에 관한 것으로서, 이 주입가능한 멸균 수계 제형은 주파수 1 Hz에서의 $\tan \delta$ 가 0.60 이하인 점탄성을 가진다.

[0012] 본 발명은 다른 과제에 따르면, a) 이관능 또는 다관능 분자를 이용하여 바이오플리머의 체인들 간에 공유 결합을 형성함으로써 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염을 적어도 1 중량% - 4 중량%로 포함하는 제1 혼합물을 제조하는 단계로서, 가교에 의해 소위 응집성 구조를 가진 가교된 히알루론산 기재의 젤이 수득되는 단계; b) 상기 제1 혼합물을 정제하는 단계, c) 상기 가교된 히알루론산 기재의 젤에 수산화 인회석을 분산시켜, 수산화 인회석을 5% - 60% (중량/부피) 농도로 첨가하는 단계, d) 이렇게 수득되는 젤을 레디-투-유즈 형태로 제공하는 단계, e) 생성물을 습윤 비열 (humid heat) 하에 멸균하는 단계를 포함하는 주입가능한 멸균 수계 제형의 제조 방법에 관한 것이다.

[0013] 또한, 본 발명은 다른 과제에 따르면, 전술한 제형을 포함하는 키트, 바람직하게는 전술한 제형을 함유한 시린지 형태의 키트에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 실시예 2에 따라 테스트한 젤 B', X 젤 및 CMC 및 수산화 인회석 기재의 제형을 비교한 사진을 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 이하 기술된 본 발명은 코스메틱 및 에스테틱 목적으로 사용되며, 특이적인 점탄성을 가지며, 필링 및 장기적인 성능을 가진, 새로운 생체흡수성의 주입가능한 멸균 수계 제형을 제시하고자 한다. 이런 제형은

[0016] i) 1% - 4% (중량/부피) 농도의 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염과,

[0017] ii) 5% - 60% (중량/부피) 농도의 수산화인회석을 포함하며,

[0018] 가교에 의해 소위 응집 구조를 가진 가교된 히알루론산 기재의 젤이 수득되며,

[0019] 상기 수산화 인회석은 평균 크기가 200 μm 이하인 입자 형태이며,

[0020] 상기 주입가능한 멸균 수계 제형은 주파수 1 Hz에서의 $\tan \delta$ 가 0.60 이하인 점탄성을 가진다.

[0021] 매우 놀랍게도, 이 제형은, 본 발명의 조건에 따르면, 가교된 히알루론산과 수산화 인회석 입자들 간의 상승 작용에 의해, 장기간 조직내에서 볼륨을 확보하는 상당한 능력을 가진 것으로 확인되었다.

[0022] 기계적인 관점에 따르면, 수산화 인회석 입자 (고체 거동: 탄성은 강하지만, 점성은 무시할만한 수준임)가 젤의 탄성을 훨씬 강화함으로써, 처치해야 하는 결합 부위를 교정하기 위해 조직에 현저한 힘/압력을 가함으로써, 볼륨을 확보하는 능력을 강화한다.

[0023] 가교된 히알루론산은 그 자체로는 점탄성, 즉 거의 조직에 가까운 젤 견고성을 제공할 수 있는 탄성과 점성을 제공하며, 따라서 수산화 인회석 입자에 의해 제공되는 매우 강력한 탄성과 점성의 부재를 보완한다. 이로써, 훨씬 더 균질적인 방식으로 (환자가 만졌을 때 생성물의 촉감을 낮추는 방식)으로 조직에 융화되며, 조직에 대한 외상성이 적고 (주입 후 염증이 상당히 제한됨), 주입시 거의 통증이 없는, 생성물을 수득할 수 있다.

[0024] 한편, 본 발명의 조건 하에 가교된 히알루론산은, 응집성 타입의 가교된 히알루론산에 존재하는 강력한 응집성 (가교된 히알루론산은 흡수 속도가 낮음) 으로 인해, 수산화 인회석 입자의 이동성이 상당히 저감되어 입자는 젤 내에 유지될 수 있을 것이다. 이러한 현저한 이동 제한은, 장기간 개선된 볼륨-구축력을 가지며, 환자가 느끼기에 소위 경화된 영역 발생과 같은 부작용을 낮출 수 있는, 젤의 수득을 가능케 한다.

[0025] 히알루론산은 글루쿠로네이트 이당류와 N-아세틸 글루코사민 단위가 반복된 다당류이다. 이는 인간과 동물의 결합 조직, 상피 및 신경 조직들에 널리 분포되어 있다. 이것은 세포외 기질의 주 성분 중 하나이다. 이것은 세포의 증식과 이동에 크게 관여한다. 히알루론산은 특히 수계 체액, 유탈액, 피부 및 텃줄에서 고 농도로 관찰된다.

[0026] 본 발명에 따른 히알루론산의 바람직한 염으로서, 양이온성 히알루론산 염, 예컨대, 소듐, 포타슘, 마그네슘, 칼슘, 망간 염 등의 일가 또는 이가 염이 언급될 수 있다. 소듐 염이 특히 가장 바람직하다.

- [0027] 본 발명에서, 히알루론산 또는 이의 하나의 염은 가교된 형태이다. 가교는 이관능 또는 다관능 분자를 이용하여 바이오플리머의 체인들 간에 공유 결합을 형성함으로써 달성되며, 가교에 의해 소위 응집성, 또한 단상 구조 (monophasic structure)라고도 하는 구조를 가진 가교된 히알루론산 기재의 젤이 형성될 수 있다.
- [0028] 가교된 히알루론산 기재의 젤의 응집성은 본 발명에서 중요한 사항이며, 필수적인 특수한 특성이다. 젤은 또한 물에 도입되었을 때 "2상" 젤 (수산화 인회석 입자를 유지할 수 없어 이동을 방지할 수 없는, 가교된 히알루론산 기재의 젤 타입)이라고 하는 비-응집성 젤처럼 빨리 분산되어서는 안된다. 실시예 2는 응집성 젤과 비-응집성 젤의 이러한 차이를 보여준다.
- [0029] 본 발명은 일반적으로 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염을 1% - 4% (중량/부피), 바람직하게는 1% - 3% (중량/부피) 농도로 포함한다. 특히 바람직한 다른 구현예에서, 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염의 농도는 1.5% - 2.5% (중량/부피)이다. 다른 예로, 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염의 농도는 1.5% - 3% (중량/부피) 또는 1% - 2.5% (중량/부피)일 수 있다.
- [0030] 유리하게는, 본 발명에 따른 수계 제형은 분자량이 바람직하게는 2.5×10^5 Da - 4×10^6 Da인 히알루론산 또는 이의 하나의 염을 포함한다. 특히 바람직한 다른 구현예에서, 분자량은 1×10^6 Da 내지 3×10^6 Da이다. 다른 구현예로, 분자량은 1×10^6 Da - 2.5×10^6 Da 또는 2.5×10^5 Da - 3×10^6 Da이다.
- [0031] 수산화 인회석은 격자의 결정 구조가 2개의 분자로 구성된다는 점을 강조하기 위해 통상 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 로도 기재되는 식 ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$)의 인산염 광물 종이다. 수산화 인회석은 결정학적으로 인회석 유형의 육방정계 구조를 가진 동형 화합물에 속한다. 이 화합물은 다양한 의학 전문 제품들에 다년간 바이오물질로서 사용되고 있다.
- [0032] 본 발명은, 일반적으로, 수산화 입자를 5 - 60% (중량/부피), 바람직하게는, 10 - 50% (중량/부피), 바람직하게는 20 - 40% (중량/부피)의 농도로 포함하며, 수산화 인회석 입자의 평균 크기는 $200 \mu\text{m}$ 이하, 바람직하게는 $50 \mu\text{m}$ 미만, 바람직하게는 $10 \mu\text{m}$ 초과이다.
- [0033] 본 발명에 따른 제형의 점성 및 탄성 특성들은 주파수 1 Hz에서의 [점성 계수 $G''/\tan \delta$] 비에 해당되는 파라미터 tan delta 또는 tan δ 가 0.60 이하, 바람직하게는 0.58 이하일 때, 최적인 것으로 판찰된다. 실제, 본 발명에 따른 제형의 탄성 성질이 그 점성에 비해 수산화 인회석 입자의 침강을 방지할 수 있도록 충분히 높아야 하는 것으로 확인되었다. 즉, 0.60 미만에서는, 수산화 인회석 입자가 시간 경과에 따라 침강되는 경향이 관찰되었다. 이러한 침강은 수산화 인회석 입자 기재의 불균질 제형의 입수로 이어지며, 한편으로는 제형을 니들을 통해 주입하는 행위에 부적절하며 (니들을 막음), 다른 한편으로는 주입 부위에서의 제형의 안전성과 성능에도 만족스럽지 않다 (예를 들어, 피부 조직에 소위 경화된 부위가 발생함).
- [0034] 일반적으로, 탄성 (G')과 점성/탄성 비 ($\tan \delta = G''/G'$)는 플랫 구조 (flat geometry) 40 mm, 에어 갭 (air gap) 1,000 μm 및 분석 온도 25°C에서 유량계를 이용하여 0.01에서 100 Hz의 주파수를 스캔함으로써, 측정한다.
- [0035] 실시예 2에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 제형의 응집력이 주 요소이지만,
- [0036] - 용기 안에서 수산화 인회석 입자의 경시적인 침강을 방지하고, 및
- [0037] - 주입시 및/또는 주입 부위에서 생성물이 2상 (수산화 인회석 입자와 가교된 히알루론산 젤)으로 분리되어, 시술한 부위에 불균질 구역을 형성하는 것을 방지하는데 적합한 점탄성 성질도 요구된다.
- [0038] 본 발명의 다른 과제는 종래 기술 분야에서의 제형과 비해 수명을 개선시키는 것이다. 에스테틱 효과에 대한 수명 개선은 가교된 히알루론산이 주입 부위에서 장기간 수산화 인회석 입자를 유지하는 유지력과 수산화 인회석 입자의 장기간의 상당한 기계적/유변학적 특성 제공력을 통해 달성된다. 따라서, 본 발명에 따른 제형은 재주입 필요성이 감소될 것이며, 임상 상황에서의 수명 연장이 아미도 수개월일 것이다.
- [0039] 또한, 방사선 비투과성 (radio-opaque) 수산화 인회석 입자는 주입 시 및/또는 주입 후 방사선 촬영을 통해 실무자가 쉽게 위치를 파악할 수 있기 때문에, 이를 함유시키는 것이 젤에 유익함을 명시하는 것도 중요하다.
- [0040] 한편, 수산화 인회석 입자가 콜라겐의 내인성 생성을 자극하는 자극력도 본 발명에서 중요한 요소이다. 생성물의 조직내 느린 흡수는 콜라겐 생성 (볼륨 및 탄성 형성)을 수반함으로써, 장기간의 시술 성능에 일조할 수 있

을 것이다.

[0041] 그/그녀의 주입 부위를 교정하고, 생성물을 구성하는 가교된 히알루론산을 분해하기 위해, 실무자에게 주어지는 히알루로니다제 용액의 주입 가능성 역시 본 발명의 이점이 된다. 하지만, 상기한 주입은 수산화 인회석 입자의 흡수를 가속화할 수 있으며, 따라서 조직내 생성물이 완전히 분해되지 않는다.

[0042] 이에, 본 발명은 필링, 볼륨 복원 및/또는 생물 조직의 대체, 특히 i) 얼굴 (볼, 턱, 광대뼈, 관자놀이 등등)의 볼륨 복원, ii) 신체의 볼륨 복원 (둔부, 유방, 손 등등), iii) 얼굴의 지방이상증으로 인한 HIV 환자에서의 얼굴의 볼륨 복원에 사용되는, 전술한 제형으로 구성된다.

[0043] 본 발명에 따른 제형은, 일반적으로, 그대로 사용되지만, 하나 이상의 다른 첨가제 (전술한 것 이외의 물질) 및 /또는 하나 이상의 활성 성분의 첨가를 배제하는 것은 아니다.

[0044] 유익하게는, 실무자가 주입하기 전에 그/그녀 스스로 가교된 히알루론산 및 수산화 인회석 용액을 혼합해선 안 되기 때문에, 본 발명에 따른 제형은 "레디-투-유즈 제형"이다.

[0045] 즉, 제형은 하나 이상의 세라믹 물질을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 물질은 일반적으로 트리-칼슘 포스페이트, 칼슘 카보네이트 및 칼슘 설페이트, 또는 이들 세라믹 물질의 수종의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0046] 또한, 본 발명에 따른 제형은, 리도카인 단독, 리도카인과 아드레날린의 조합, 프로카인, 에티도카인 단독, 에티도카인과 아드레날린의 조합, 아르티카인 단독, 아르티카인과 아드레날린의 조합, 메피바카인, 프로모카인, 쿼니소카인, 또는 이들 마취제의 하나 이상의 염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 또는 수 종의 마취제를 더 포함할 수 있다. 특히 바람직한 구현예에 따르면, 선택되는 마취제는 리도카인 하이드로클로라이드이다. 본 발명에 따른 제형내 마취제의 존재는 주입시와 주입후 환자의 편안함을 개선하는데 가장 유용하다.

[0047] 본 발명의 다른 구체적인 구현예에서, 본 발명에 따른 제형은 또한 폴리올계 항산화제 등의 하나 이상의 항산화제를 더 포함할 수 있다. 항산화제는 소르비톨, 글리세롤, 만니톨 또는 프로필렌 글리콜로 이루어진 폴리올 군으로부터 선택될 수 있다.

[0048] 본 발명은, 다른 과제에 따르면, a) 이관능 또는 다관능 분자를 이용하여 바이오플리머의 체인들 간에 공유 결합을 형성함으로써 가교된 히알루론산 또는 이의 하나의 염을 적어도 1 중량% 내지 4 중량%로 포함하는 제1 혼합물을 제조하는 단계로서, 가교에 의해 소위 응집성 구조를 가진 가교된 히알루론산 기재의 젤이 수득되는 단계, b) 상기 제1 혼합물을 정제하는 단계, c) 수산화 인회석을 상기 가교된 히알루론산 기재의 젤에 균질하게 분산시켜, 수산화 인회석을 5% - 60% (중량/부피)의 농도로 첨가하는 단계, d) 수득되는 젤을 레디-투-유즈 형태로 제공하는 단계, e) 상기 생성물을 습윤 비열 하에 멸균하는 단계를 포함하는, 주입 가능한 멸균 수계 제형의 제조 방법에 관한 것이다.

[0049] 단계 e)에서의 제형의 멸균은 습윤 비열 하에 달성된다. 당해 기술 분야의 당업자라면 그/그녀의 생성물을 살펴하는데 적합한 열 멸균 사이클 (온도 및 멸균 사이클 기간)을 선정하는 방법을 알 것이다. 예를 들어, 습윤 비열에서는 하기 멸균 사이클이 적용될 수 있다: 131°C, 1분/130°C, 3분/125°C, 7분/121°C, 20분.

[0050] 본 발명은, 다른 과제에 따르면, 키트, 바람직하게는 전술한 제형이 함유된 시린지 형태의 키트에 관한 것이다.

[0051] 또한, 본 발명은, 전술한 제형이 함유된 앰플 또는 플라스크 등의 시린지 이외의 용기 형태의 키트에 관한 것이다.

[0052] 본 발명자는 아래 실시예들에서 가교된 HA 기재의 본 발명에 따른 제형이 특별한 특성을, 특히 응집력 특성을 가져야 함을 입증하였다. 이와 같지 않을 경우 (비-가교된 HA 또는 청구된 구조를 가지지 않는 가교된 HA를 이용한 실시예들을 참조함), 수산화 인회석 입자들이 매트릭스 내부에 적절하게 유지되지 않아, 젤 밖으로 상대적으로 쉽게 확산될 수 있으며, 이는 시술받은 부위에서의 볼륨 감소를 의미하며, 이동은 안전성 문제를 야기하여 합병증 가능성을 내포한다.

[0053] 본 발명은 아래 실시예 1 내지 4를 들어 비-제한적인 방식으로 예시될 것이다.

실시예

실시예 1

[0056] 소위 응집 구조를 가진, 가교된 히알루론산 기재의 젤의 제조

- [0057] **공정 1:** 분자량 2.6 MDa의 소듐 히알루로네이트 3.5 g을 1% 소듐 하이드록사이드 (30.5 g)에 첨가한다. 혼합물을 1시간 30분간 균질해지게 둔다. 균질해진 혼합물을 부탄다이올 디아울리시딜 에테르 (BDDE) 420 mg을 첨가하고, 밀봉한 다음, 수조에서 2시간 동안 50°C에 둔다. 그런 후, 혼합물에 1N HCl 7.5 g을 첨가하여 중화한다.
- [0058] 중성 pH의 등장성 (iso-osmolar) 생리 용액을 이용한 투석 (재생된 셀룰로스, 분리 한계: 분자량 = 60 kDa)에 의해 24시간 동안 젤을 정제하여, 히알루론산의 농도를 25 mg/ml (2.5%)로 만든다. 그런 다음, 일반적인 블레드 믹서에서 1시간 30분간 균질화한다 (= 젤 A1/124 g).
- [0059] 마지막으로 젤을 탈기시키고, 2 ml 유리 시린지에 충전한 다음 130°C에서 3분간 스팀 자동멸균기에서 멸균한다 (-gel A/소위 응집 구조 또는 단상 구조의 점탄성 젤).
- [0060] **공정 2:** 본 발명에 따른 젤의 제조. 젤 A1 100 g에, 포스포칼슘 수산화인회석 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 42.9 g을 첨가하며, 이때 입자의 평균 과립 크기는 30 - 50 μm 이며, 그런 후, 일반적인 블레드 믹서에서 1시간 30분간 균질화한다 (= 젤 B1/142.9 g).
- [0061] 마지막으로 젤을 탈기시키고, 2 ml 유리 시린지에 충전한 다음 130°C에서 3분간 스팀 자동멸균기에서 멸균한다 (젤 B).
- [0062] 이 젤은 미립자이며, 응집성과 점탄성을 가진다. 실제, 나중에 점탄성 젤로 확인되며 (탄성 G' 및 점성 G'' 특성을 가짐/하기 참조), 강력한 응집력을 가지며 (실시예 2 참조), 수산화 인회석 입자를 함유한다.
- [0063] 젤의 히알루론산 농도는 17.5 mg/ml (1.75%)이다 (카바늘을 이용한 분석, 유럽 약전의 방법). 한편, 젤의 pH (7.15)와 몰삼투압 농도 (osmolarity) (315 mOsm/kg)는 생리학적 수치에 해당된다.
- [0064] 이 젤은 니들을 통해 쉽게 주입할 수 있다: 21G 1/2 니들을 통해 12.5 mm/분의 속도로 젤을 밀어내는데 소요되는 힘은 26.3 N이다.
- [0065] 젤 A와 B는 기계적/유변학적 관점에서 특정화한다: 이러한 특정화에 사용되는 유량계는 AR2000 (TA Instruments)이며, 플랫 구조 40 mm, 에어 캡 1,000 μm 및 분석 온도 25°C로 설정된다.
- [0066] 탄성 (G')와 점성/탄성 비 ($\tan \delta = G''/G'$)는 주파수 0.1 - 100 Hz에서 스캔하여 측정한다.
- [0067] 파라미터들은 1 Hz에서 비교한다.

표 1

젤	$G'(1 \text{ Hz})$, Pa	$\tan \delta (1 \text{ Hz})$
A	184	0.25
B	381	0.29

- [0069] 생성물 B는 생성물 A 보다 훨씬 높은 탄성을 가지는 것으로 관찰된다. 하지만 생성물 A와 B 각각의 $\tan \delta$ 값은 상대적으로 가까우며: 젤 B는 수산화 인회석 입자 (이 자체는 탄성이 높지만, 점성은 미미함)가 존재함에도 불구하고 상당한 점성 특성을 유지한다. 본 발명에 따른 생성물의 강력한 응집력을 겸비한, 상기한 보다 높은 탄성은, 생성물이 조직내에서 볼륨을 확보하는 능력을 강화한다.

- [0070] 검사 대상인 젤에 의해 유발되는 수직 항력 (normal force)을, 웰터에 평면과 에어 캡 1,500 μm 기하구조 사이에 젤 양 1.4 g으로 샘플을 압박함으로써 측정한다.

표 2

젤	수직 항력 (N)
A	0.86
B	1.47

- [0072] 생성물 B가 매우 높은 탄성을 가지며, 생성물 A 보다 수직 항력이 높다는 것을 알 수 있다.

- [0073] 본 발명에 따른 젤의 강력한 응집력과 더불어, 이러한 강력한 탄성은 생성물의 조직내 볼륨 확보력을 강화한다.

실시예 2

[0075] **가교된 HA 기재의 소위 응집 구조의 중요성 - 비교**

[0076] 실시예 1에 기술된 젤 A1 (소위 응집 구조 또는 단상 구조의 젤)은 중성 pH의 등장성 생리 용액으로 투석 (재생된 셀룰로스, 분리 한계: 분자량 = 60 kDa)하여, 히알루론산의 농도를 20 mg/ml (2%)로 만든다.

[0077] 이후, 칼슘 수산화 인회석을 상기 젤에 200 mg/ml (20%) 농도로 첨가한 다음, 스파툴라를 이용하여 혼합한다 (젤 5 g의 대해 2분).

[0078] 수득한 젤은 121°C에서 20분간 자동멸균기에서 멸균한다 (= 본 발명에 따른 젤 B').

[0079] 가교된 히알루론산 기재의 비-응집성 또는 2상 구조의 시판 Resylane® Perlane® 젤 (batch 11363-1), 스파툴라로 혼합하여, 20 mg/ml (2%) 농도의 히알루론산에, 칼슘 수산화인회석 200 mg/ml (20%)을 처리한다 (젤 5 g의 대해 2분).

[0080] 수득한 젤은 121°C에서 20분간 자동멸균기에서 멸균한다 (= 젤 X).

[0081] 젤 A1과 Restylane® Perlane® 젤을 아래 테스트에 따라 비교한다:

[0082] 정제수 5 ml이 든 30 ml 플라스크에서, 플라스크 1에 젤 A1 1 ml을 넣고, 플라스크 2에는 Restylane® Perlane® 젤 1 ml을 넣는다. 플라스크를 밀봉한 후, 양쪽 플라스크를 5초간 손으로 흔들어 혼합한다.

[0083] 10초 후, Restylane® Perlane® 젤은 완전히 분리/분산되어, 수용액 중에 다수의 입자를 형성하는 것으로 관찰된다. 즉, Restylane® Perlane® 젤은 실제 소위 비-응집성 또는 2상 구조를 가진다 (이 젤은 수용액에서 빨리 분산됨).

[0084] 그러나, 젤 A1은 수용액에서 늘 "젤 볼" 형태이다. 즉, 이는 소위 응집 또는 단상 구조를 가진다 (이 젤은 수용액에서 신속하게 분산되지 않으며, Restylane® Perlane® 젤과는 달리 강한 응집력을 가진다).

[0085] 본 발명에 따른 젤 B'와 젤 X를 아래 테스트에 따라 비교한다 (도 1 참조):

[0086] 정제수 5 ml이 든 30 ml 플라스크에서, 플라스크 1에 젤 B' 1 ml을 넣고, 플라스크 2에는 젤 X 1 ml을 넣는다. 플라스크를 밀봉한 후, 양쪽 플라스크를 5초간 손으로 흔들어 혼합한다.

[0087] 10초 후, 젤 X는 완전히 분리/분산되어, 수용액 중에 다수의 입자를 형성하는 것으로 관찰된다. 젤 X는 비-응집성의 점탄성 미립자 구조를 가진다. 이는 본 발명에 따른 젤의 특징과 일치하지 않는다. 에스테틱 용도로 의료적으로 사용시, 주입 부위의 주변으로 확산/이동될 것이다.

[0088] 젤 B'는 그 자체로도 수용액에서 항상 "젤 볼" 형태로 존재한다. 따라서, 이것은 미립자 응집 구조를 실제로 가지므로, 에스테틱 용도로 사용하기 위한 의학적 실무 범위내에서 주입 부위 주변으로 확산/이동될 가능성이 없을 것이며, 그래서 조직내 수산화 인회석 입자의 이동과 관련된 합병증이 방지될 뿐만 아니라 시술받은 부위에서 바이오물질의 이동이 없다는 점에서 주입된 젤은 장기간 조직내에서 볼륨 확보력을 유지할 수 있기 때문에 생성물은 개선된 장기적인 성능을 가질 것이다.

실시예 3

[0090] **본 발명에 따른 젤의 점탄성의 중요성 - 비교**

[0091] BDDE를 420 mg 대신 200 mg 사용하여 실시예 1에 기술된 방법과 동일한 방법 (공정 1&2)에 따라 제조한 젤을 C라 한다.

[0092] BDDE를 420 mg 대신 290 mg 사용하여 실시예 1에 기술된 방법과 동일한 방법 (공정 1&2)에 따라 제조한 젤을 D라 한다.

[0093] 젤 C를 기계적/유변학적 측면에서 특정화한다.

[0094] 유변학적 특정화에 사용되는 유량계는 AR2000 (TA Instruments)이며, 플랫 구조 40 mm, 에어 캡 1,000 μm 및 분석 온도 25°C로 설정된다.

[0095] 점성/탄성 비 ($\tan \delta = G''/G'$)는 주파수 0.1 - 100 Hz에서 스캔하여 측정한다.

[0096] 파라미터들은 1 Hz에서 비교한다.

표 3

젤	Tan delta =G''/G'(1 Hz)
C	0.84
D	0.58

[0098] 젤 C의 경우 수산화 인회석 입자들이 경시적으로 침강 (샘플을 원심분리기에 이동시켰을 때 잘 관찰되는 현상) 되는 경향이 관찰되지만, 젤 D에서는 관찰되지 않는다.

[0099] 침강은, 젤을 니들을 통해 주입하는 행위에 적절하지 않으며 (니들을 막음), 또한 주입 부위에서의 생성물의 안전성 및 성능에는 만족스럽지 못한 (예를 들어 피부 조직내 소위 경화된 부위 형성 등의 유의한 합병증 발생 위험성), 불균질한 수산화 인회석 입자를 기재로 한 생성물의 제조를 수반한다.

[0100] 실시예 2에서 보여지는 바와 같이, 본 발명에 따른 젤의 응집력이 중요하며, 또한

[0101] - 용기 안에서의 수산화 인회석 입자의 경시적인 침강을 방지하고, 및

[0102] - 주입시 및/또는 주입 부위에서 생성물이 2상 (수산화 인회석 입자와 가교된 히알루론산 젤)으로 분리되어, 시술한 부위에 불균일한 구역을 형성하는 것을 방지하는데 적합한 점탄성 성질도 필요하다.

[0103] 젤의 탄성 성질은 따라서 입자의 침강을 방지할 수 있도록 하기 위해 (점성에 비해) 충분히 높아야 한다.

실시예 4

본 발명에 따른 젤과 종래의 용액의 비교

[0106] a) 비-가교된 HA와 수산화 이회석 기재의 제형

[0107] 문헌에 기술된 바와 같이, 생체내 비-가교된 히알루론산의 수명은 1주일 미만이다.

[0108] 따라서, 비-가교된 히알루론산은 매우 빨리 흡수되어, 수산화 인회석 입자의 이동을 장기간 방지할 수 없을 것으로, 수산화 인회석이 침가된 비-가교된 HA 용액은 관심의 대상이 되지 못한다.

[0109] b) 수산화 인회석의 수계 제형.

[0110] 수산화 인회석의 수계 제형 (S1)을 제조한다 (중성 pH의 등장성 생리 용액 중의 30% 포스포칼슘 수산화 인회석, 과립 크기 30 ~ 50 μm , 중성 pH).

[0111] 정제수 5 mL이 든 30 mL 플라스틱 플라스크에서, 용액 S1 1 mL을 넣는다. 플라스크 안에서 수산화 인회석 입자의 즉각적인 분산이 관찰된다.

[0112] 본 발명에 따른 제형과는 달리, 용액 S1은 주입한 부위에서 수산화 인회석 입자를 장기간 유지하기에는 불안정하다.

[0113] c) CMC 및 수산화 인회석 기재의 제형 (도 1 참조)

[0114] 카르복시메틸셀룰로스 (CMC)와 수산화 인회석으로 된 수계 제형 (S3)을 제조한다 (중성 pH의 등장성 생리 용액 중의 30% 포스포칼슘 수산화 인회석 및 2% CMC, 포스포칼슘 수산화 인회석의 과립 크기 30 ~ 50 μm , CMC의 분자량 250,000 Da).

[0115] 정제수 5 mL이 든 30 mL 플라스틱 플라스크에서, 용액 S3 1 mL을 넣는다. 플라스크를 밀봉한 후, 플라스크를 5초간 손으로 흔들어 혼합한다.

[0116] 10초 후, 제형 S3는 수용액 중의 다수의 입자로서 완전히 분리/분산되는 것으로 관찰된다.

[0117] 본 발명에 따른 제형과는 달리, 용액 S3는 주입한 부위에서 수산화 인회석 입자를 장기간 유지하기에는 불안정하다.

도면

도면1

테스트 생성물	교반 전 관찰	교반 직후 관찰	교반 10초 후 관찰
겔 B' 본 발명 (실시예 2)			
겔 X (실시예 2)			
CMC 및 수산화 인회석 기재의 제형 (실시예 4)			

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 14

【변경전】

및/또는

【변경후】

또는