



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년08월21일

(11) 등록번호 10-1890503

(24) 등록일자 2018년08월14일

- |   |   |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <b>A61K 9/00</b> (2006.01) <b>A61K 47/10</b> (2017.01)<br/> <b>A61K 47/24</b> (2017.01) <b>A61K 47/36</b> (2017.01)<br/> <b>A61K 47/44</b> (2017.01) <b>A61K 9/08</b> (2006.01)<br/> <b>A61K 9/10</b> (2006.01) <b>A61K 9/127</b> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/> <b>A61K 9/0048</b> (2013.01)<br/> <b>A61K 47/10</b> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-7030513</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2015년05월01일<br/>         심사청구일자 2017년11월15일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2016년10월31일</p> <p>(65) 공개번호 10-2016-0147784</p> <p>(43) 공개일자 2016년12월23일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2015/028748</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2015/168523<br/>         국제공개일자 2015년11월05일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>         61/987,012 2014년05월01일 미국(US)</p> <p>(56) 선행기술조사문헌<br/>         US20110223203 A1</p> | <p>(73) 특허권자<br/> <b>인티그럴 바이오시스템스 엘엘씨</b><br/>         미국, 매사추세츠 01730, 베드포드, 스위트 100에<br/>         이, 23 크로스비 드라이브</p> <p>(72) 발명자<br/> <b>바먼, 시카 피.</b><br/>         미국, 매사추세츠 01730, 베드포드, 2 보니베일<br/>         드라이브<br/> <b>더케다스, 리테쉬 브이.</b><br/>         미국, 매사추세츠 02115, 보스턴, 아파트 #21,<br/>         335 헌팅턴 애비뉴<br/>         (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>         손민</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 20 항

심사관 : 정혜진

(54) 발명의 명칭 안구 장애의 치료를 위한 막-부착성 자가-조립된 시스템

### (57) 요약

안구 투여용 액체 결정성 약물 전달 시스템이 제공된다. 상기 약물 전달 시스템은 점막부착성, 생체적합성, 비-자극성 및 조직 투과성이며, 수용액에 안정하게 분산된 나노 입자를 포함하고, 지속성 방출을 위해 제형화될 수 있다. 또한 상기 약물 전달 시스템을 제조하는 방법 및 이를 대상체에 투여하여 안구 장애를 치료하는 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

*A61K 47/24* (2013.01)

*A61K 47/36* (2013.01)

*A61K 47/44* (2013.01)

*A61K 9/08* (2013.01)

*A61K 9/10* (2013.01)

*A61K 9/1274* (2013.01)

(72) 발명자

워드, 케빈 엘.

미국, 매사추세츠 02476, 알링턴, 106 클레어몬트  
애비뉴

크롬워, 앤-마리

미국, 매사추세츠 01906, 소거스, 11 도나 로드

---

바먼, 커식

미국, 매사추세츠 01730, 베드포드, 2 보니베일 드  
라이브

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

액체 결정성 약물 전달 시스템을 제조하는 방법으로서, 상기 방법이,

지질 성분 및 알콜을 포함하는 제1 용액을 형성하는 단계로서, 상기 제1 용액이 40 내지 55 °C의 온도로 유지되는 단계;

점막부착 친수성 중합체 및 완충제를 포함하는 제2 용액을 수득하는 단계로서, 상기 제2 용액이 수성이며 5 내지 55 °C의 온도로 유지되는 단계;

상기 제1 용액 및 상기 제2 용액을 혼합하여 배합된 나노/마이크로-분산물을 형성하는 단계로서, 상기 혼합이 음파처리, 고 전단 혼합 및 이의 조합 중에서 선택되는 고 에너지 혼합 공정으로 달성되는 단계;

-10°C 내지 실온의 온도에서 상기 배합된 나노/마이크로-분산물을 미세 유동화시켜 나노-분산물을 형성하는 단계; 및

상기 나노-분산물을 2 내지 5 °C에서 인큐베이션하여 액체 결정성 약물 전달 시스템을 형성하는 단계를 포함하고,

상기 제1 용액 및 상기 제2 용액의 중량비가 1:1 내지 1:15이고, 상기 지질 성분이 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드를 포함하고, 상기 알콜이 세틸 알콜이고, 상기 점막부착 친수성 중합체가 히알루론산 나트륨, 크산탄 겔, 구아 겔, 카복시메틸 셀룰로오스, 1-4 베타 글루칸, 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(프로필렌 옥사이드)-폴리(에틸렌 옥사이드), 타마린드 종자 폴리사카라이드, 알긴산 나트륨, 폴리카보폴, 폴리카보필, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는,

액체 결정성 약물 전달 시스템을 제조하는 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제1 용액이 콜레스테롤, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 400, 폴리프로필렌 글리콜 (PPG), PEG-스테아레이트, 폴록사머 407, 킬록사폴, 폴리소르베이트 80, 폴리(락트산-코-글리콜산) 또는 피마자유를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 제1 용액에 적어도 하나의 활성 제약 성분 (API)를 용해시키는 단계를 추가로 포함하고, 여기서 상기 적어도 하나의 API는 플루티카손 프로피오네이트, 텍사메타손, 베타메타손, 부테소니드, 트리암시놀론 아세토니드, 메틸 프레드니솔론, 코르티손, 베클로메타손, 플루티카손 푸로에이트, 데옥시코르티코스테론 아세테이트, 로테 프레드놀 에타보네이트, 디플루프레드네이트, 플루오로메톨론, 리멕솔론, 트라보프로스트, 아지트로마이신, 목시플록사신, 네틸마이신, 네파페낙, 디클로페낙, 디플루프레드네이트, 포사코나졸, 프레드니솔론 아세테이트 및 이의 조합로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

#### 청구항 4

수용액에 분산된 나노 입자를 포함하는 액체 결정성 약물 전달 시스템으로서, 상기 나노 입자가 지질 성분 및 알콜을 포함하고, 상기 수용액이 점막부착 친수성 중합체 및 완충제를 포함하며, 상기 지질 성분이 상기 시스템의 0.1 내지 1 중량%, 상기 알콜이 상기 시스템의 0.1 내지 5 중량%, 상기 점막부착 친수성 중합체가 상기 시스템의 1 내지 5 중량%로 존재하며, 상기 나노 입자가 40 nm 내지 900 nm의 크기를 갖고, 상기 시스템이 6 내지 7.5의 pH, 250 내지 340 mOsm/L의 삼투압 및 200 내지 1000 cP의 점도를 갖고, 상기 지질 성분이 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드를 포함하고, 상기 알콜이 세틸 알콜이고, 상기 점막부착 친수성 중합체가 히알루론산 나트륨, 크산탄 겔, 구아 겔, 카복시메틸 셀룰로오스, 1-4 베타 글루칸, 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(프로필렌 옥사이드)-폴리(에틸렌 옥사이드), 타마린드 종자 폴리사카라이드, 알긴산 나트륨, 폴리카보폴, 폴리카보필,

및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는,  
액체 결정성 약물 전달 시스템.

#### 청구항 5

제4항에 있어서,

상기 나노 입자가 콜레스테롤, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 400, 폴리프로필렌 글리콜 (PPG), PEG-스테아레이트, 폴록사머 407, 킬록사폴, 폴리소르베이트 80, 피마자유, 폐결화된 피마자유, 폴리(락트산-코-글리콜산) 또는 이들의 혼합물을 추가로 포함하는, 액체 결정성 약물 전달 시스템.

#### 청구항 6

제4항에 있어서,

상기 시스템의 0.01 내지 0.5 중량%의 활성 제약 성분 (API)을 추가로 포함하며, 여기서 상기 API는 나노 입자에 로딩되며 항염증, 펩티드, 산화 방지제, 항진균제, 항-녹내장 약물 또는 이의 조합인, 액체 결정성 약물 전달 시스템.

#### 청구항 7

제4항에 있어서,

상기 시스템의 0.01 내지 0.5 중량%의 활성 제약 성분 (API)을 추가로 포함하며, 여기서 상기 API는 나노 입자에 로딩되며 플루티카손 프로피오네이트, 텍사메타손, 베타메타손, 부테소니드, 트리암시놀론 아세토니드, 메틸프레드니솔론, 코르티손, 베클로메타손, 플루티카손 푸로에이트, 데옥시코르티코스테론 아세테이트, 로테프레드놀 에타보네이트, 디플루프레드네이트, 플루오로메톨론, 리벡솔론, 트라보프로스트, 아지트로마이신, 목시플록사신, 네틸마이신, 네파펜, 디클로페낙, 디플루프레드네이트, 포사코나졸, 프레드니솔론 아세테이트 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는, 액체 결정성 약물 전달 시스템.

#### 청구항 8

제6항의 액체 결정성 약물 전달 시스템을 포함하는, 안구 장애를 치료하기 위한 약학 조성물.

#### 청구항 9

제8항에 있어서,

상기 안구 장애가 수술후 염증, 염증, 알레르기성 비염, 알레르기성 결막염, 마이봄선 기능장애, 감염, 결막염, 각막염, 궤양, 안검염, 녹내장, 포도막염, 당뇨병 황반 부종, 당뇨병망막병, 노인황반변성, 안구내염, 맥락막혈관신생, 눈물관 기능장애, 각막 수포 또는 건성안 질환인, 조성물.

#### 청구항 10

제8항에 있어서, 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템이 유리체 주사에 의하거나, 눈으로의 스프레이에 의하거나, 점안액으로 투여되는, 조성물.

#### 청구항 11

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 안검염이고, 상기 API가 플루티카손 프로피오네이트인, 조성물.

#### 청구항 12

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 알레르기성 결막염이고, 상기 API가 로테프레드놀 에타보네이트인, 조성물.

#### 청구항 13

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 수술후 염증이고, 상기 API가 텍사메타손인, 조성물.

#### 청구항 14

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 감염이고, 상기 API가 목시플록사신인, 조성물.

**청구항 15**

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 각막염이고, 상기 API가 항진균제인, 조성물.

**청구항 16**

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 포도막염인, 조성물.

**청구항 17**

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 녹내장인, 조성물.

**청구항 18**

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 당뇨망막병인, 조성물.

**청구항 19**

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 노인황반변성인, 조성물.

**청구항 20**

제9항에 있어서, 상기 안구 장애가 맥락막혈관신생인, 조성물.

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

삭제

**청구항 24**

삭제

**청구항 25**

삭제

**청구항 26**

삭제

**청구항 27**

삭제

**청구항 28**

삭제

**청구항 29**

삭제

**청구항 30**

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본원은 안구 표면 상, 전방 및 후방에 분산물을 투여함으로써 눈의 장애 및 질환을 효과적으로 치료하는데 사용될 수 있는 나노구조화된 분산물에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 많은 안과 제형은 미네랄 오일 및 바셀린으로 구성된 연고에 현탁된 약물 결정을 포함한다. 이러한 제형은 종종 눈의 자극 및 흐릿한 시야와 불편으로 인한 환자 비순응을 초래한다. 다른 안과 제형은 수용액에 약물 현탁제를 포함하는 점안액이고, 그들 중 몇몇은 점성으로 안구 표면에서의 체류 시간을 연장한다.

[0003] 점안액의 효과적인 사용은 많은 치료적으로 유용한 작용제가 국소적으로 눈에 투여 할 때 국소 자극을 일으킬 수 있다는 사실에 의해 제한된다. 각막은 화학적 작용제의 적용에 매우 감응적이다. 이와 같이, 이 민감도는 다른 경우에 유용한 많은 치료제의 사용을 현저하게 제한한다.

[0004] 기존 안구 약물 제형의 또 다른 문제는 약물의 저급한 생체이용률이다. 예를 들어, 눈의 전면에 현탁제(예: 점안액)로서 전달된 난용성 약물은 확산에 의해 눈에 흡수되기 전에 용해되어야 한다. 문제가 되는 것은, 약물 용해 속도가 전형적으로 안구 표면에서 유체가 제거되는 속도보다 훨씬 느리다는 것이다. 따라서, 비효율적인 약물 흡수, 즉, 저급한 생체이용률이 눈-전면 약물 전달을 교란하는 문제 중 하나이다.

[0005] 이 문제를 해결하기 위해서, 불용성 또는 난용성 약물, 예컨대 프로스타글란딘 및 디플루프레드네이트를 전형적으로 유기 부형제에 용해시키고 수성 비히클에서 에멀전화시킨다. 에멀전의 빈번한 사용은 안구 표면을 자극하며, 이는 안구 표면 염증을 일으키는 부형제의 사용으로 인한 것이다. 이는 만성 안구 표면 질환 치료, 예를 들어, 녹내장, 건성안 및 알레르기를 위한 치료를 위해 약제가 사용되는 경우에 특히 그러하다.

[0006] 또한, 에멀전은 본질적으로 불안정하며, 이는 응고 및 후속되는 상들의 분리에 따른 것이다.

[0007] 눈-후면 질환(back-of-the-eye)에 대해서는 상이한 문제가 있다. 예를 들어, 트리암시놀론 아세트나이드의 약물 현탁제는 유리체강내로 주입되어 당뇨병 황반 부종으로 인한 염증을 완화해왔다. 눈의 후방으로 여러번 주사하는 것은 안구내염 및 점진적인 망막 박리를 일으킬 수 있다.

[0008] 비자극성이며, 안정하고, 연장된 기간 동안 치료적 농도의 약물을 전달할 수 있는 안구 투여용 제형에 대한 필요성이 존재한다. 또한, 무독성 및 막-유사의 지속성 방출 전달 시스템이 눈-후면 질환의 치료를 위해 필요하다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

(특허문헌 0001) US 2013/0303502 A1

## 발명의 내용

- [0009] 상술된 필요를 충족시키기 위하여, 액체 결정성 약물 전달 시스템(liquid crystalline drug delivery system)이 제공된다. 상기 시스템은 수용액에 분산된 40 내지 900 nm 크기를 갖는 나노 입자를 포함한다. 상기 나노 입자는 지질 성분 및 알콜을 포함한다. 상기 수용액은 점막부착 친수성 중합체 및 완충제를 포함한다.
- [0010] 상기 지질 성분은 상기 시스템의 0.1 내지 1 중량%, 상기 알콜은 상기 시스템의 0.1 내지 5 중량%로 존재한다. 상기 점막부착 친수성 중합체는 상기 시스템의 1 내지 5 중량%로 존재한다.
- [0011] 액체 결정성 약물 전달 시스템의 제조 방법 또한 개시된다. 상기 방법은 하기 단계들을 포함한다: (i) 지질 성분 및 알콜을 포함하는 제1 용액을 형성하는 단계로서, 상기 제1 용액이 제1 온도로 유지되는 단계; (ii) 점막 부착 친수성 중합체 및 완충제를 포함하는 제2 용액을 수득하는 단계로서, 상기 제2 용액이 수성이며 제2 온도로 유지되는 단계; (iii) 상기 제1 용액 및 상기 제2 용액을 혼합하여 배합된 나노/마이크로-분산물을 형성하는 단계로서, 상기 혼합이 고 에너지 혼합 공정으로 달성되는 단계; (iv) 제3 온도에서 상기 배합된 나노/마이크로-분산물을 미세 유동화시켜 나노-분산물을 형성하는 단계; 및 (v) 상기 나노-분산물을 2 내지 5 °C에서 인큐베이션하여 액체 결정성 약물 전달 시스템을 형성하는 단계.
- [0012] 상기 개시된 방법에서 상기 제1 용액 및 상기 제2 용액의 중량비는 1:1 내지 1:15이다.
- [0013] 또한 상기 기재된 방법으로 제조된 액체 결정성 약물 전달 시스템이 제공된다.
- [0014] 또한, 안구 장애를 가진 대상체를 식별하는 단계 및 상기 대상체의 눈에 액체 결정성 약물 전달 시스템을 투여하는 단계를 포함하는 대상체의 안구 장애를 치료하는 방법이 개시된다.
- [0015] 다른 양태에서, 안구 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 액체 결정성 약물 전달 시스템의 용도가 개시된다.
- [0016] 본 발명의 하나 이상의 실시형태의 세부 사항이 하기의 도면 및 설명에 제시된다. 본 발명의 다른 특징, 목적 및 이점은 상세한 설명 및 청구범위로부터 명백할 것이다. 본원에 인용된 모든 문헌의 내용은 본원에 그 전체가 참조로 원용된다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 상기 언급된 바와 같이, 액체 결정성 약물 전달 시스템은 수용액에 분산된 나노 입자를 포함한다. 상기 전달 시스템은 고유한 내부 형태를 가지며, 이는 지속성 방출 및 흡수를 위해 이의 간극에 용해되는 난용성 약물 분자를 포함하고, 이로써 현탁제로 가능한 것보다 더 큰 생체이용률을 초래한다. 친수성 및 소수성 약물 양자 모두 개별적으로 또는 배합되어 액체 결정성 전달 시스템에 도입될 수 있다.
- [0018] 상기 전달 시스템은 연속 수성상에 포함된 나노 입자를 갖는 이상성 액체(biphasic liquid)이다. 상기 약물은 상기 나노 입자에 용해되며, 이는 친수성 및 소수성 성분 양자 모두를 포함한다. 함께 혼합되면, 상기 상들은 서로 상호 작용하여 액체 결정 상을 형성한다. 나노 입자 상 및 연속상 사이의 상호 작용은 정렬된 나노구조화된 조립체의 고유한 특성을 나타낸다. 상기 상들은 개별적으로 정렬되거나 액체 결정성이 되지 않는다.
- [0019] 액체 결정상은 종래 액체와 고체 결정 사이의 특성을 갖는 물질의 상태로 정의된다. 액정은 액체와 같이 흐를 수 있으나, 이의 분자는 결정-유사 배향으로 존재할 수 있다. 액체 결정상은, 교차 편광기 하에서 광학 현미경으로 볼 때 다색의 텍스처, 즉 복굴절을 나타낸다. 액체 결정상은 가열될 때 상이한 용융 전이를 가지며, 이는 시차 주사 열량계로 측정된다. X-선 회절 기술이 또한, 빛의 브래그 회절을 나타내는 결정의 능력으로 인해 액정을 특성화하는데 사용될 수 있다.
- [0020] 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 40 nm 내지 900 nm 크기의 나노 입자를 포함하며, 이는 쉽게 눈의 모든 조직, 예를 들어 각막 및 공막을 투과할 수 있다. 상기 전달 시스템은 점막부착성으로 설계되어, 안구 표면 상의 잔류 시간을 증진한다.
- [0021] 상기 언급된 바와 같이, 액체 결정성 약물 전달 시스템은 수용액에 분산된 나노 입자를 포함한다. 또한 상술된 바와 같이, 상기 나노 입자는 지질 성분 및 알콜을 포함한다. 상기 지질 성분은, 예를 들어 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드를 포함할 수 있다. 상기 알콜은 세틸 알콜일 수 있다.
- [0022] 상기 나노 입자는 또한 하나 이상의 콜레스테롤, 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 400, 폴리프로필렌 글리콜 (PPG), PEG-스테아레이트, 폴록사머 407, 킬록사폴, 폴리소르베이트 80, 피마자유 및 폐길화된(PEGylated) 피마자유를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 중합체, 예를 들어 폴리(락트산-코-글리콜산) (PLGA)은 지속성 방출 제형

을 위한 나노 입자에 포함될 수 있다.

- [0023] 일 실시형태에서, 상기 나노 입자는 포스파티딜콜린, 중쇄 트리글리세리드 및 세틸 알콜을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 나노 입자는 포스파티딜콜린, 중쇄 트리글리세리드, 콜레스테롤 및 세틸 알콜을 포함한다.
- [0024] 상기 언급된 수용액은 점막부착 친수성 중합체를 포함한다. 상기 중합체는 히알루론산 나트륨, 크산탄 겔, 구아 겔, 카복시메틸 셀룰로오스, 알부민, 히드록시프로필셀룰로오스, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌이민, 뮤신, 1-4 베타 글루칸, 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(프로필렌 옥사이드)-폴리(에틸렌 옥사이드), 타마린드 종자 폴리사카라이드, 알긴산 나트륨, 폴리카보폴 및 폴리카보필, 또는 이들의 혼합물일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0025] 상기 수용액은 또한 완충제를 포함한다. 상기 완충제는 소듐 아세테이트, 인산이수소나트륨, 인산수소이나트륨, 인산이수소칼륨, 인산 수소이칼륨,  $\epsilon$ -아미노카프로산; 아미노산 염, 예를 들어 글루탐산 나트륨, 붕산, 시트르산일 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 완충제는 인산염 완충제이다.
- [0026] 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템의 특정 실시형태에서, 상기 나노 입자는 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드, 세틸 알콜, PEG-400, PPG, PEG-스테아레이트, 폴록사머 407, 킬록사폴, 폴리소르베이트 80 및 피마자유를 포함하며, 상기 수용액은 나트륨 히알루로난을 포함한다. 다른 특정 실시형태에서, 상기 나노 입자는 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드, 콜레스테롤, 세틸 알콜, PEG-400, PPG, PEG-스테아레이트, 폴록사머 407, 킬록사폴, 폴리소르베이트 80 및 피마자유를 포함하며, 상기 수용액은 나트륨 히알루로난, 제일인산나트륨 및 제이인산나트륨을 포함한다.
- [0027] 상기 언급한 성분은 상기 시스템의 중량%로 표현된 다음의 양으로 액체 결정성 약물 전달 시스템에 포함될 수 있다: 0.1 내지 1 중량%의 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드; 0.1 내지 5중량%의 세틸 알콜; 0.2 내지 2 중량%의 PEG-400; 0.2 내지 1 중량%의 PPG; 0.1 내지 0.7 중량%의 PEG-스테아레이트; 0.1 내지 0.25 중량%의 폴록사머 407; 0.01 내지 0.15 중량%의 킬록사폴; 0.01 내지 0.02 중량%의 폴리소르베이트 80; 1 내지 5 중량%의 피마자유; 0.1 내지 0.5 중량%의 히알루산 나트륨; 0.01 내지 0.02 중량%의 제일인산나트륨; 0.05 중량%의 제이인산나트륨 및 75 내지 90 중량%의 탈이온수 ( $dH_2O$ ). 대안적인 액체 결정성 약물 전달 시스템은 이들 성분을 모두 포함하고, 또한 0.02 내지 0.2 %의 콜레스테롤을 포함한다. 추가의 실시형태는 히알루론산 나트륨 대신 0.1 내지 0.5 %의 크산탄 겔을 포함한다. 부가적인 실시형태는 나트륨 히알루로난 대신 0.1 내지 0.5 %의 카복시메틸 셀룰로오스를 포함한다.
- [0028] 특정 실시형태에서, 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 1 중량%의 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드, 1 중량%의 세틸 알콜, 2 중량%의 PEG-400, 1 중량%의 PPG, 0.7 중량%의 PEG-스테아레이트, 0.22 중량%의 폴록사머 407, 0.10 중량%의 킬록사폴, 0.10 중량%의 폴리소르베이트 80 및 3.8 중량%의 피마자유, 및 0.14 중량%의 히알루론산 나트륨, 0.02 중량%의 제일인산나트륨; 0.05 중량%의 제이인산나트륨 및 밸런스  $dH_2O$ 를 포함한다. 대안적인 액체 결정성 약물 전달 시스템은 이들 모든 성분의 동일한 양을 포함하고, 또한 0.2 %의 콜레스테롤을 포함한다.
- [0029] 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 또한 상기 시스템의 0.01 내지 0.5 중량%의 활성 제약 성분 (API)을 포함할 수 있다. 상기 API는 나노 입자에 로딩된다. 상기 API는 플루티카손 프로피오네이트, 텍사메타손, 베타메타손, 부테소니드, 트리암시놀론 아세토니드, 메틸 프레드니솔론, 코르티손, 베클로메타손, 플루티카손 푸로에이트, 데옥시코르티코스테론 아세테이트, 로테프레드놀 에타보네이트, 디플루프레드네이트, 플루오로메톨론, 리맥솔론, 트라보프로스트, 목시플록사신 및 프레드니솔론 아세테이트, 포사코나졸, 부테소니드, 네틸마이신, 또는 류피로신일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0030] 특정 실시형태에서, 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 0.01 내지 0.1 중량%의 플루티카손 프로피오네이트, 0.01 내지 0.1 중량%의 텍사메타손, 0.01 내지 0.1 중량%의 디플루프레드네이트, 0.1 내지 0.5 중량%의 로테프레드놀 에타보네이트, 0.1 내지 0.5 중량%의 포사코나졸, 0.1 내지 0.5 중량%의 부테소니드, 0.05 내지 0.5 중량%의 네틸마이신 또는 0.05 내지 0.5 중량%의 류피로신을 포함한다.
- [0031] 특정 실시 형태에서, 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 0.1 중량%의 플루티카손 프로피오네이트를 포함한다.
- [0032] 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템의 상술된 실시형태들 각각은 6 내지 7.5의 pH, 250 내지 340 mOsm/L의 오스



몰농도 및 200 내지 1000 cP의 점도를 가질수 있다.

- [0033] 상술된 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 저장 안정성이다. 예를 들어, 수용액에 분산된 상기 나노 입자는 적어도 90 일 동안은 분산액에서 침전하지 않는다.
- [0034] 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 점안제로서 스프레이, 주사 또는 제형화될 수 있다. 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 주사기에 미리 로딩된 고-점도 액체일 수 있다.
- [0035] 본원에 기재된 액체 결정성 약물 전달 시스템은 다음의 단계들로 제조될 수 있다.
- [0036] 먼저, 지질 성분 및 알콜을 포함하는 제1 용액을 형성한다. 상기 지질 성분은 바람직한 실시형태에서 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드를 포함한다. 상기 알콜은 세틸 알콜일 수 있다. 용액을 형성한 후, 이는 40 내지 55 °C에서 유지될 수 있다. 다른 실시형태에서, API를 상기 제1 용액에 용해시킨다.
- [0037] 이어서, 수성이며 점막부착 친수성 중합체 및 완충제를 포함하는 제2 용액을 수득한다. 상기 점막부착 친수성 중합체는 히알루론산 나트륨, 크산탄 겔, 구아 겔, 카복시메틸 셀룰로오스, 1-4 베타 글루칸, 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(프로필렌 옥사이드)-폴리(에틸렌 옥사이드), 타마린드 종자 폴리사카라이드, 알긴산 나트륨, 폴리 카보폴 및 폴리카보필, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 상기 완충제는 소듐 아세테이트, 인산이수소나트륨, 인산수소이나트륨, 인산이수소칼륨, 인산 수소이칼륨,  $\epsilon$ -아미노카프로산; 아미노산 염, 예를들어 글루탐산 나트륨, 붕산, 시트르산 일 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 바람직하게는, 상기 완충제는 인산염 완충제이다. 상기 제2 용액은 5 내지 55 °C, 바람직하게는 40 내지 55 °C의 온도로 유지될 수 있다.
- [0038] 상기 제1 용액 및 상기 제2 용액을 혼합하여 배합된 나노/마이크로 분산물을 형성한다. 상기 제1 용액 및 상기 제2 용액의 사이의 중량비는 1:1 내지 1:15일 수 있다 (예: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:4, 1:15). 바람직하게는, 상기 비율은 1:9이다.
- [0039] 상기 언급된 바와 같이, 배합된 나노/마이크로 분산물을 형성하기 위한 상기 제1 용액 및 제2 용액의 혼합은 고 에너지 혼합 공정에 의해 달성된다. 상기 고 에너지 혼합 공정은, 예를 들어, 고 전단 혼합, 음파처리 또는 두 공정의 조합일 수 있다.
- [0040] 배합한 나노/마이크로 분산물을 미세 유동화시켜 나노-분산물을 형성한다. 상기 미세 유동화는, 예를 들어, 고 압 균일화에 의해 수행될 수 있다. 상기 미세 유동화는 8 내지 24 시간 동안 40 내지 55 °C에서 수행될 수 있다.
- [0041] 이에 따라 형성된 상기 나노-분산물은 12 내지 24 시간 동안 2 내지 5 °C에서 인큐베이션되어 액체 결정성 약물 전달 시스템을 형성할 수 있다.
- [0042] 상기 방법의 다른 실시형태는, 상술된 모든 단계들 이외에, 12 내지 24 시간 동안 2 내지 5 °C에서 이들을 인큐베이션하기 전에, 16 내지 24 시간 동안 상기 나노-분산물을 혼합하는 단계를 포함한다. 상기 혼합 단계는 고 전단 혼합에 의해 달성될 수 있다. 또한, 이 혼합 단계는 -10 내지 15 °C에서 수행될 수 있다. 일 실시형태에서, 상기 혼합은 -1 내지 10 °C에서 수행된다. 대안적인 실시형태에서, 상기 혼합은 8 내지 15 °C에서 수행된다. 다른 실시형태에서, 상기 혼합은 실온에서 수행된다.
- [0043] 상기 언급된 제1 용액은 또한 지질 성분 및 알콜 외에, PEG-400, PPG, PEG-스테아레이트, 폴록사머 407, 킬록사폴, 폴리소르베이트 80 및 피마자유를 첨가함으로 형성될 수 있다. 다른 실시형태에서, 콜레스테롤이 또한 첨가되어 상기 제1 용액을 형성한다. 부가적인 실시형태에서, PLGA가 상기 제1 용액에 첨가된다.
- [0044] 상기 방법의 특정 실시형태에서, 제1 용액은 10 중량%의 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드, 10 중량%의 세틸 알콜, 20 중량%의 PEG-400, 10 중량%의 PPG, 7 중량%의 PEG-스테아레이트, 2.2 중량%의 폴록사머 407, 1 중량%의 킬록사폴, 1 중량%의 폴리소르베이트 80 및 38 중량%의 피마자유로부터 형성된다. 상기 제1 용액은 이들 구성 요소 이외에, 2 중량%의 콜레스테롤로부터 형성될 수 있다. 플루티카손 프로피오네이트는 1 %에서 상기 제1 용액에 용해된다. 이러한 특정 실시형태에서, 제2 용액은 0.2 중량%의 제일인산나트륨, 0.5 중량%의 제이인산나트륨 및 1.5 중량%의 히알루론산 나트륨을 포함한다. 상기 제1 및 제2 용액을 1:9의 비율로 혼합한다.
- [0045] 상술한 제1 용액은 단계적 방식으로 제조될 수 있다. 예를 들어, API는 먼저 지질 성분 및 알콜에 용해될 수 있다. 이러한 가용화는 원하는 양의 API를 용해하는데 요구되는 온도에서 수행될 수 있다. 상기 온도는 예를 들어, 25 내지 65 °C일 수 있다. API를 용해한 후, 상기 기재된 부가적인 부형제 중 하나 이상을 첨가하여 상기 제1 용액을 형성할 수 있다. API를 용해하는데 높은 온도가 사용 된 경우, 상기 제1 용액의 온도는 30 내지

45 ℃까지 낮아질 수 있다.

- [0046] 상기 문헌에 상세히 기재된 바와 같이, 제1 용액은, 고 에너지 혼합 공정에 의해, 점막부착 친수성 중합체를 포함하는 제2 용액과 혼합된다. 대안적인 실시형태에서, 상기 점막부착 친수성 중합체는 제2 용액에서 생략되고, 미세 유동화 단계 후, 최종 인큐베이션 단계 전에 첨가된다. 이러한 대안적인 공정은 혼합 단계에서 전단력에 민감한 특정 점막부착 친수성 중합체를 사용하는 경우에 필요할 수 있다.
- [0047] 또한 대상체의 안구 장애를 치료하는 방법이 상기 언급된다. 상기 방법은 안구 장애를 가진 대상체를 식별하는 단계 및 상기 대상체의 눈에 상기 기재된 액체 결정성 약물 전달 시스템을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0048] 당업자는 관례적인 방법, 예를 들어 눈 검사로 안구 장애를 갖는 대상체를 식별할 수 있다. 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템으로 치료 될 수 있는 안구 장애는 수술후 염증, 염증, 알레르기성 비염, 알레르기성 결막염, 마이봄선 기능장애, 감염, 결막염, 각막염, 궤양, 안검염, 녹내장, 포도막염, 당뇨병 황반 부종, 당뇨병망막병, 노인황반변성, 안구내염, 맥락막혈관신생, 눈물관 기능장애, 각막 수포 및 건성안 질환을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.
- [0049] 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 점안액, 스프레이, 주사에 의해 눈에 투여될 수 있다. 특정 실시상태에서, 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 유리체 주사로 투여된다.
- [0050] 투여될 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 바람직하게는 안구 장애의 치료에 효과적인 것으로 알려진 API로 제형화된다. 상기 API는 플루티카손 프로피오네이트, 텍사메타손, 베타메타손, 부데소니드, 트리암시놀론 아세토니드, 메틸 프레드니솔론, 코르티손, 베클로메타손, 플루티카손 푸로에이트, 데옥시코르티코스테론 아세테이트, 로테프레드놀 에타보네이트, 디플루프레드네이트, 플루오로메톨론, 리벡솔론, 트라보프로스트, 목시플록사신, 프레드니솔론 아세테이트, 포사코나졸, 부데소니드, 네틸마이신, 또는 뮤피코신일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0051] 다른 실시형태에서, 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 비-스테로이드성 항-염증 약물로 제형화 될 수 있으며, 이는 네파펜나, 브롬펜나 나트륨, 디클로페나, 플루르비프로펜 나트륨, 케토롤라 트로메타민 및 플루르비프로펜 나트륨을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0052] 다른 실시형태에서, 항-미생물제가 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템에 도입될 수 있다. 상기 항-미생물제는 토브라마이신, 네틸마이신, 에리트로마이신, 바시트라신, 아지트로마이신, 시프로플록사신, 가티플록사신, 겐타마이신 설페이트, 레보플록사신, 목시플록사신 하이드로클로라이드, 오픈록사신, 술파세타미드 나트륨, 폴리믹신 B 설페이트, 술파아세트미드, 네오마이신 설페이트, 바시트라신 징크 및 그라미시딘을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.
- [0053] 상기 기재된 액체 결정성 약물 전달 시스템은 소수성 약물과 함께 제형화 될 수 있다. 소수성 약물의 예시는 ROCK 억제제, EGFR 억제제, A-1 작용제, PARP 억제제, SOD 유사제, PPAR 작용제, WNT 억제제, SYK-특이적 억제제, JAK-특이적 억제제, SYK/JAK 또는 다중-키나아제 억제제, MTOR, STAT3 억제제, VEGFR/PDGFR 억제제, c-Met 억제제, ALK 억제제, mTOR 억제제, PI3K δ 억제제, PI3K/mTOR의 억제제, p38/, MAPK 억제제, 마크로라이드, 아졸 유도체, 프로스타글란딘, NO-방출제, 펩티드, NSAID, 스테로이드, 항생제, 항바이러스제, 항진균제, 항기생충제, 혈압 강하제, 항암제 또는 항-종양제, 면역조절 약물, 진단제 및 산화 방지제를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0054] 임의의 상술된 API들의 조합은 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템에 또한 도입될 수 있다.
- [0055] 대안적으로, 상기 액체 결정성 약물 전달 시스템은 눈물 생성이 손상되거나 부재한 경우, 안구 병태의 치료를 위해 API 없이 제형화되고 투여될 수 있다.
- [0056] 추가의 정교화 없이, 당업자는 상기 기재에 기초하여 본 발명을 최대한 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 하기의 특정 실시예는 단지 예시적인 것으로 해석되어야하고 어떠한 방식으로든 명세서의 나머지 부분을 제한하지 않아야한다.
- [0057] 실시예
- [0058] 실시예 1: 공정 개발의 최적화
- [0059] 상기 언급된 바와 같이, 상기 나노 입자 (상 I)는 제형 중 API를 포함하는 부분이다. 상기 API는, 공동-가용성이며 또한 API를 용해하는 막-유사 부형제의 혼합물에 용해된다. 사용되는 상기 부형제는 일반적으로 안전한

것으로 간주되며 (GRAS) 안과용으로 미국 FDA가 승인한 것이어야한다. 상 I 중 API의 높은 용해도는 최종 나노-분산물에서 높은 농도의 API를 보장할 것이다. 적어도 하나의 소수성 및 하나의 친수성 성분을 포함하는 상 I는, 또한 상기 액체 결정성 분산 시스템에 분산된 상이다.

- [0060] API의 용해도를 상이한 상 I 혼합물에서 조사하였다.
- [0061] 우선, 플루티카손 프로피오네이트의 용해도를 PHOSAL<sup>TM</sup> 중쇄 트리글리세리드 ("MCT") 및 폴리에틸렌 글리콜-400 (PEG-400)의 7:3 (w/w) 혼합물로 구성된 10g의 상 I에서 측정하였다. 이러한 예시적인 상 I에서 포스파티딜콜린 및 중쇄 트리글리세리드의 혼합물인 MCT는 소수성 성분이며, PEG-400은 친수성 성분이다. MCT 및 PEG-400을 유리 바이알에 첨가하고, 상기 성분들이 균일 혼합물을 형성할 때까지 혼합물을 2 분 동안 볼텍싱 (vortex)하였다. 플루티카손 프로피오네이트를 증분 방식 (incremental manner)으로 첨가하고, 37 °C의 온도에서 Scilogex MS H280 Pro hot 교반 플레이트를 이용하여 850 rpm으로 교반하였다. 포화 용해도에 도달할 때까지 교반을 지속하였다. 플루티카손 프로피오네이트는 이러한 10g의 상 I 혼합물 중 108.7 mg의 포화 용해도를 가졌다.
- [0062] 상 I 중에서 플루티카손 프로피오네이트의 용해도를 증가시키기 위하여, 광유 (Drakeol 600 LT)를 상기 조성물에 첨가하였다. MCT: PEG-400: 광유를 중량비 7: 2: 1로 포함하는 상 I을 상기 기재된 바와 같이 제조하였다. 상 I의 총량은 10 g이었다. 상기 혼합물에 플루티카손 프로피오네이트를 각각 첨가한 후, 플루티카손 프로피오네이트를 증분 방식으로 첨가하고, 상기 혼합물을 5 분 동안 교반하고 5 분 동안 볼텍싱하였다. 이러한 상 I 중에서, 플루티카손 프로피오네이트 98.2 mg을 37 분 동안 완전히 용해하였다.
- [0063] PEG-400, 폴리프로필렌 글리콜 (PPG) 및 크레모포르를 중량비 2.9:7:0.1로 포함하는 다른 상 I 혼합물 또한 평가하였다. 난용성 약물의 용해도를 향상시키기 위한 이유로 보조용매 (co-solvent)로서 널리 사용되는 크레모포르를 사용하였다. 이러한 10g의 상 I에서 20 분 동안 45 °C에서 990 rpm으로 교반한 후 플루티카손 프로피오네이트의 포화 용해도는 103.7 mg이었다.
- [0064] 플루티카손 프로피오네이트의 용해도를 또한 에탄올 중의 5 % 세틸 알콜에서 평가하였다. 이러한 10g의 상 I에서, 45 °C에서 2 분 동안 1,200 rpm으로 교반한 경우 플루티카손 프로피오네이트 200.30 mg을 완전히 용해시켰다.
- [0065] 30 % w/w PEG-400, 60 % w/w PPG, 5 % w/w MCT, 0.25 % w/w 세틸 알콜 및 4.75 % w/w 에탄올을 포함하는 또 다른 상 I 혼합물을 제조하였다. 10 g의 이러한 상 I에서 180 mg의 플루티카손 프로피오네이트를 15 분 동안 1,280 rpm으로 45 °C에서 교반한 후 완전히 용해시켰다.
- [0066] 상이한 API, 즉, 트리암시놀론 아세토니드 또한 이러한 상 I로 시험하였다. 10 g의 상 I에 트리암시놀론 아세토니드 220 mg을 1280 rpm으로 20 분 동안 45 °C에서 교반한 후 용해하였다. 트리암시놀론 아세토니드는 낮은 수용성을 갖는 비-스테로이드 항-염증성 약물이다.
- [0067] 상 I에 대한 추가의 변형을 API의 용해도를 추가로 향상시킬 목적으로 시험하였다. 이러한 목표를 달성하기 위해, 추가의 소수성 성분을 상 I에 도입하였다.
- [0068] 30 % w/w PEG-400, 20 % w/w PPG, 0.5 % w/w 세틸 알콜, 9.5 % w/w 에탄올, 5 % w/w MCT 및 35 % w/w 피마자유를 포함하는 상 I 혼합물을 제조하였다. 트리암시놀론 아세토니드를 증분 방식으로 첨가하고, 혼합물을 45 °C의 온도에서 Scilogex MS H280 프로 세트를 이용하여 840 rpm으로 교반하였다. 트리암시놀론 아세토니드는 이러한 상 I 혼합물 10g에서 230 mg의 포화 용해도를 가졌다.
- [0069] 상 II는 수성상으로서 상 I이 부어지거나, 펴핑되거나, 주입되거나, 또는 혼합된다. 친수성 부형제만을 포함하는 수용액인 상 II는, 최종 제형에서 pH를 유지하고 API를 pH-관련 불안정성으로부터 보호하는 완충제를 제공한다. 상 III을 형성하기 위하여 상 II를 상 I와 혼합함으로써 상 II의 최적화를 모니터링하였다. 상기 언급된 바와 같이, 상 III은, 상 I 및 상 II가 고 에너지 공정을 사용하여 혼합될 때 형성되는 에멀전에 사용되는 용어이다.
- [0070] 0.5 % w/w 히알루론산 나트륨, 0.63 % w/w 염화 나트륨, 0.3 % w/w 제이인산나트륨, 0.04 % w/w 제일인산나트륨 및 98.56 % w/w 증류된 H<sub>2</sub>O (dH<sub>2</sub>O)를 포함하는 상 II를 pH 6.5 ± 0.1에서 제형화하였다.
- [0071] 30 % w/w PEG-400, 20 % w/w PPG, 0.5 % w/w 세틸 알콜, 9.5 % w/w 에탄올, 5 % w/w MCT 및 35 % w/w 피마자유를 포함하는 상 I의 1 중량부를 상 II의 9 중량부에 0.5 g/분의 유속으로 주입하여 상 III을 형성하였다. 상

기 혼합 공정은, sonotrode S3의 마이크로 팁과 커플링된 Heilscher UP200S 초음파 분산기를 사용하여 25 %의 진폭 및 0.5의 주기로 설정된 프로세서로 수행하였다. 상기 상 II는 32 °C로 설정된 재킷 (jacketed) 용기에 포함되었다.

[0072] Horiba LA952 입자 분석기로 측정한 상기 상 III의 평균 입자 크기는 26  $\mu\text{m}$ 였다. 이러한 공정에 의해 생성된 에멀전 입자의 크기는 균일하지 않았다; 입자 크기 분포에 대한 분산은 2157.60이었다.

[0073] 상 III의 불-균일성 및 큰 입자 크기를 감소시키기 위해, 폴리에틸렌 글리콜 스테아레이트 (PEG-stearate)를 상 I에 첨가하였다. PEG-스테아레이트는 혼합된 매크로콜 (폴리옥시에틸렌 중합체)의 디스테아레이트 에스테르 및 상응하는 유리 글리콜의 혼합물이다. 이들은 전형적으로 제약 화합물 중에서 에멀전화 및 가용화제로 사용된다. 또한, 상기 제형 중에서 더 높은 수준의 소수성 성분을 달성하고 높은 수준의 에탄올을 방지하기 위해, 상기 기재된 바와 같이, 더 많은 양의 MCT를 사용하고, 세틸 알콜을 사용하였다. 낮은 온도에서 세틸 알콜의 응괴를 방지하기 위해, 소수성 성분을 67 °C에서 250 rpm으로 혼합하였다. 28 % w/w PEG-400, 10 % w/w PPG, 10 % w/w 세틸 알콜, 10 % w/w Phosal MCT, 2 % w/w PEG-스테아레이트 및 40 % w/w 피마자유를 포함하는 상 I 을 제조하였다. 이러한 상 I (1 중량부)을 5 중량부 상 II (0.5% w/w 히알루론산 나트륨, 0.63% w/w 염화 나트륨, 0.3% w/w 제이인산나트륨, 0.04% w/w 제일인산나트륨, 98.56% w/w dH<sub>2</sub>O) 에 0.5 g/분의 유속으로 주입하여 상 III를 형성하였다. 상기 혼합 공정을 25 %의 진폭 및 0.5의 주기로 설정된 초음파 분산기를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 수행하였다. 상기 상 II를 25 °C로 설정된 재킷 용기에 수용하였다. 상기 상 III의 평균 입자 크기는 30  $\mu\text{m}$ 였다. 이러한 공정에 의해 제조된 에멀전은 입자 크기의 균일성이 개선되었고, 입자 크기 분포에 대한 분산은 653.4였지만, 상기 입자 크기는 증가하였다.

[0074] 상기 입자 크기를 추가로 줄이기 위해, 그들의 조성을 일정하게 유지하면서 상 I 및 상 II 사이의 비율에 변화를 주었다. 상 III을 형성하기 위해, 상 I의 1 중량부 및 상 II의 15 중량부 (양자 모두 이전 단락에 기재됨)를 30 %의 진폭 및 1의 주기로 설정된 초음파 분산기를 사용하여 혼합하였다. 상기 상 II를 25 °C로 설정된 재킷 용기에 수용하였다. 이러한 변형된 공정으로 제조된 에멀전은, 입자 크기 분포에 대한 분산이 6.35이도록 입자 크기의 균일성이 개선되었고, 평균 입자 크기는 3.6  $\mu\text{m}$ 였다. 이러한 변형에서, 초음파 분산기에 설정된 상기 진폭은 상기 기재된 25 %와는 달리, 30 %였다. 증가된 진폭을 사용하였음에도 불구하고, 음파처리 후, 최종 상 III의 온도는 상 I 및 상 II 사이에 1:5의 비율을 갖는 상 III 에멀전의 온도보다 낮은 것으로 확인되었다.

[0075] 따라서, 두 가지 요소, 낮은 상 III 온도 및 상 I의 상 II에 대한 낮은 비율은 바람직한 방식으로 입자 크기에 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다.

[0076] 상 I의 상 II에 대한 비율을 1:5 에서 1:15로 낮추는 것은 최종 제형 중 API의 농도를 희석시키는 효과를 가질 것이다. 따라서, 부가적인 상 I/II 비율은 상기 1:15 비율만큼 상기 약물 농도를 낮추지 않을 것으로 검증되었다.

[0077] 상기 언급된 상 I 및 상 II의 조성은 변화 없이 유지되었다. 상 III를 상 I의 상 II에 대해 1:11의 비율로 형성하였다. 또한, 상기 혼합 공정은 30 %의 진폭 및 1의 주기로 설정된 초음파 분산기를 사용하여 수행하였다. 상기 상 II를 25 °C로 설정된 재킷 용기에 수용하였다. 이에 따라 생성된 상 III의 평균 입자 크기는, 86.30의 입자 크기 분포의 분산을 갖는 5.87  $\mu\text{m}$ 였다. 상 I 및 상 II 사이의 비율은 상기 에멀전의 입자 크기에 중요한 역할을 하였다. (지나친 희석 없이) 약물의 최적 농도를 제공하는 비율은 효율적인 약물 전달 시스템을 형성하는데 매우 중요하다.

[0078] 상기 언급된 바와 같이, 상 III의 온도를 낮게 유지하는 것은 더 작은 입자 크기를 수득하기 위한 중요한 요소이다. 또한, 음파처리 시간을 증가시키는 것은 또 다른 요인이었다. 음파처리의 지속 시간을 증가시키는 것은 상 III 온도를 증가시키는 면에서 문제가 있다. 이러한 증가는, 결국, 증가된 입자 크기에 기여한다. 온도 상승으로 인한 입자 크기의 증가를 방지하기 위해, 상 III의 수조 음파처리를 공정에 도입하였다.

[0079] 상 I 및 상 II의 조성은 변화 없이 유지하고, 상기 상 비를 1:11로 유지하였다. 상 II를 25 °C로 설정된 재킷 용기에 수용하였다. 30 %의 진폭 및 1의 주기를 사용하여 상기 기재된 바와 같이, 상기 초음파 혼합 공정을 수행하여 상 III을 형성하였다. 이에 따라 상 III를 15 분간 수조 음파처리하였다. 상 III의 평균 입자 크기는 5.48  $\mu\text{m}$ 이고, 입자 크기 분포의 분산이 8.23이었다. 상 III의 온도는 28 °C였고, 이는 상기 상 III 온도가 상대적으로 일정하게 유지되었음을 의미한다. 제형 개발에 있어서 수조 음파처리 공정을 추가하는 것은 유리한 변경이었는데, 상기 입자 크기는 동일하게 유지되면서 상기 분산이 86.30에서 8.3로 감소되었고, 이는 균일성의



증가를 가리키기 때문이다. 액체 결정성 나노에멀전의 경우, 큰 분산에 의해 입증되듯이, 에멀전 중의 큰 입자의 존재가 응고 및 궁극적으로는 에멀전의 상 분리를 초래하는 것이 관찰되었다. 이와 같이, 상기 분산 또한 안정성의 지표이다.

- [0080] 입자 크기를 추가로 감소시키기 위한 시도로서 다양한 계면활성제를 시험하였다. 알킬 아릴 폴리에테르 알콜형의 비이온 액체 중합체이며 액화를 돕기 위해 사용된 계면활성제인 틸록 사폴을 0.018 mM 초과 임계 미셀 농도 (CMC)로 상 II에 첨가하였다.
- [0081] 상 I의 조성을 변화 없이 유지하였고 (28 % w/w PEG-400, 10 % w/w PPG, 10 % w/w 세틸 알콜, 10 % w/w Phosal MCT, 2 % w/w PEG-스테아레이트, 40 % w/w 피마자유) 상 II를 0.5% w/w 히알루론산 나트륨, 0.63% w/w 염화 나트륨, 0.3% w/w 제이인산나트륨, 0.04% w/w 제일인산나트륨, 4% 0.1 mM 틸록사폴 용액 및 98.56% w/w dH<sub>2</sub>O로 제형화하였다. 상 II를 25 °C로 설정된 재킷 용기에 수용하였다. 먼저 상기 기재된 바와 같이 30 %의 진폭 및 1의 주기로 설정된 프로세서를 이용하여 초음파적으로 혼합함으로써 상 I의 상 II에 대한 비율 1:11로 상 III을 형성하였다. 상기 상 III을 15 분간 수조 음파처리하였다. 이렇게 형성된 상 III의 평균 입자 크기는, 입자 크기 분포의 분산으로 1.02인 1.81  $\mu\text{m}$ 였으며, 이는 에멀전이 균일한 입자 크기를 가지고 있음을 나타내었다. 상 III의 온도는 일정하게 29 °C였고, 이는 상 III 온도가 거의 변화 없이 유지되었음을 나타내었다. 제형 개발에 있어 틸록사폴을 첨가하는 것은 유리한 변경이었는데, 상기 입자 크기가 600% 감소하였고, 상기 분산이 8.3에서 1.02로 감소하였으며, 이는 안정한 에멀전을 나타내기 때문이다.
- [0082] 시험한 또 다른 계면 활성제는 폴리소르베이트 80이었다. 폴리소르베이트 80은 CMC 미만으로 사용되었다. 상 I의 조성을 변화 없이 유지하였고, 반면 상 II를 0.5% w/w 히알루론산 나트륨, 0.63% w/w 염화 나트륨, 0.3% w/w 제이인산나트륨, 0.04% w/w 제일인산나트륨, 0.00015% w/w 폴리소르베이트 80 및 98.56% w/w dH<sub>2</sub>O로 제형화하였다. 상기 상 II를 25 °C로 설정된 재킷 용기에 수용하였다. 상 I에 대한 상 II의 비율을 1:11로 유지하였다. 이전의 단락에 기재된 바와 같이 혼합 공정을 수행하였다. 상 III의 형성 후, 이를 15 분간 수조 음파처리하였다. 상 III의 평균 입자 크기는, 6.05의 입자 크기 분포의 분산으로 53.75 $\mu\text{m}$ 였으며, 이는 CMC 미만의 트윈 첨가는 입자 크기를 감소시키지 않았음을 나타내었다.
- [0083] 입자 크기에 대한 CMC 미만의 틸록사폴의 영향을 평가하기 위해서 유사한 연구를 실시하였다. 틸록 사폴의 존재는 CMC 미만의 폴리소르베이트 80으로 제조된 상 III 에멀전에 비해 입자 크기를 분명히 감소시켰다. 또한, 이러한 상 III은 양호한 균일성의 입자 크기를 보였으며, 이는 안정한 제형을 의미한다.
- [0084] 온도 및 틸록사폴의 상승 효과를 평가하기 위해 실험을 실시하였다. 상기 상 II 재킷 용기를 15 °C로 설정하여 이러한 실험들을 더 낮은 온도에서 수행하였다. 음파처리 후 생성된 상 III 온도는 22 °C였다. 더 낮은 상 III 온도가 달성되었으나, 상기 입자의 크기와 분산은 각각 7.14  $\mu\text{m}$  및 136.18로 이는 모두 더 높은 온도에서 얻어진 값들보다 큰 값들이었다. 입자 크기의 증가는, 더 낮은 온도에서 상 II의 점도를 증가시키는 히알루론산 나트륨의 존재에 기인하였다. 따라서, 공정의 온도는 안정화제의 존재를 무색하게하고, 처리 온도가 상기 에멀전을 위한 더 중요한 요소로 확인되었다.
- [0085] 입자 크기에 미치는 음파처리 강도의 효과를 평가하기 위해 또 다른 일련의 연구를 실시하였다. 상기 혼합 공정이 (상기 기재된 30 %와는 달리) 40 %의 진폭 및 1의 주기로 설정된 초음파 분산기를 사용하여 상기와 같이 수행될 때, 상기 평균 입자 크기는, 1.58의 분산을 갖는 2.41  $\mu\text{m}$ 로 감소되었음을 관찰하였다. 더 높은 음파처리가 더 작은 입자 크기를 초래하는 것이 분명했다. 또한, 입자 크기를 결정하는 부분에 있어서 음파처리 강도가 상 III 혼합상의 온도보다 더 중요한 역할을 수행함이 일련의 실험에서 관찰되었다.
- [0086] 더 높은 초음파 진폭이 유리한 요소인 것으로 밝혀졌기 때문에, 상기 초음파 강도를 60 %의 진폭 및 1의 주기로 상승시켰다. 상기 상 비율을 1:11이 아닌 1:10 (상 I 대 상 II)으로 감소시키고, 상기 상 II를 25 °C로 설정된 재킷 용기에 수용하였다. 상 III의 형성 후, 이를 15 분간 수조 음파처리하였다. 상기 평균 입자 크기는 1.09  $\mu\text{m}$ 인 것으로 발견되었으며, 상기 에멀전은 단지 0.2116의 분산으로 매우 균일하였다.
- [0087] 일련의 실험을 히알루론산 나트륨, 예를 들어, 다양한 결합, 상피 및 신경 조직에서 발견되는 글리코사미노글리칸인 히알루론산의 나트륨 염의 영향을 추가로 평가하기 위해 수행하였다. 나트륨-글루쿠로네이트-N-아세틸글루코사민의 반복되는 디사카라이드 단위를 포함하는 장-쇄 고분자인 히알루론산 나트륨은 각막 내피에 자연적으로 발생한다. 히알루론산 나트륨을 2가지 이유로 상 II에 도입하였다: (a) 이는 조직 윤활제로서 작용하고 상처 치유를 촉진하며 (b) 상기 제형의 점도를 증가시켜 상기 전달 시스템 및 표적 장기 사이의 접촉 시간을 증가시킨다. 상 I의 조성을 변화 없이 유지하였다 (28 % w/w PEG-400, 10 % w/w PPG, 10 % w/w 세틸 알콜, 0 %

w/w MCT, 2 % w/w PEG-스테아레이트, 40 % w/w 피마자유). 상 II에 다양한 농도의 히알루론산 나트륨을 첨가하였다 (0.63% w/w 염화 나트륨, 0.3% w/w 제이인산나트륨 및 0.04% w/w 제일인산나트륨, dH<sub>2</sub>O). 결과를 하기 표 1에 나타낸다. 상 II에 0.4 % w/w 히알루론산 나트륨을 첨가하면 더 작은 입자 크기 (입자의 50 %가 1  $\mu$ m 미만, 즉, D50 <1  $\mu$ m)를 갖는 에멀전을 생성하는 반면, 다른 농도의 히알루론산 나트륨은 1  $\mu$ m 초과 입자 크기를 생성하는 것으로 관찰되었다.

표 1

[0088]

히알루론산 나트륨 농도의 함수로서의 입자 크기 분포			
HA (%)	D50 ( $\mu$ m)	D90 ( $\mu$ m)	최빈값 ( $\mu$ m)
0.1	1.02	1.78	1.09
0.2	1.18	1.72	1.20
0.3	2.3	4.39	2.41
0.4	0.9	1.49	0.9
0.5	1.02	1.78	1.09

[0089]

나타낸 값들은 입자 크기 분포이다 ( $\mu$ m). D50 = 입자의 50%가 나타난 값 미만이다; D90 = 입자의 90%가 나타난 값 미만이다; 최빈값 = 통계적 최빈값.

[0090]

에멀전의 입자 크기를 추가로 줄이기 위해, 고 전단 혼합을 공정에 도입하였다. 고 전단 스크린에 적합한 Silverson L5MA 혼합기를 사용하여 상 I 및 상 II를 혼합하였다.

[0091]

특정한 실시예에서, 상 I의 조성은 27 % w/w PEG-400, 10 % w/w PPG, 10 % w/w 세틸 알콜, 10 % w/w MCT, 2 % w/w PEG-스테아레이트, 40 % w/w 피마자유 및 1% w/w 텍사메타손이었다. 상 I의 상기 제조 방법은 텍사메타손을 삽입하기 위해 상기로부터 변형되었다. 소수성 성분을 칭량하고 50 내지 55  $^{\circ}$ C에서 혼합하여 균일 혼합물을 형성하였다. 이어서 친수성 성분을 첨가하고, 혼합물을 균일해질 때까지 연속적으로 교반하였다. 마지막으로, 텍사메타손을 첨가하고, 약물이 완전히 용해되어 투명한 용액이 될 때까지 50 내지 55  $^{\circ}$ C에서 혼합을 지속했다.

[0092]

상 II는 0.4 % w/w 히알루론산 나트륨, 0.63 % w/w 염화 나트륨, 0.3 % w/w 제이인산나트륨, 0.04 % w/w 제일인산나트륨, 0.28 % w/w PEG-스테아레이트, 0.14 % w/w 폴리소르베이트 80 및 98.21 % w/w dH<sub>2</sub>O를 포함하였다.

[0093]

1/10의 상 I/상 II 비율로 550g의 상 III를 형성하기 위해, 상 II 500g을 25  $^{\circ}$ C로 설정된 재킷 용기에 부었다. 39  $^{\circ}$ C에서 상 I (50 g)를, 고 전단 스크린으로 15 분간 10,000 rpm으로 혼합되는 동안 상 II에 0.5 g/분으로 주입하였다 ( $\pm$  0.1). 상기 혼합기를 다음 60 분 동안 6000 rpm으로 감소시켰다. 이렇게 형성된 상 III의 평균 입자 크기는 분산이 0.196인 0.85  $\mu$ m ( $\pm$  0.44)였다.

[0094]

상기 제형을 추가로 개선하기 위해, 이전 단락에 기재된 상 I 및 상 II 조성물을 상 I 중 PEG-스테아레이트의 농도를 3 % 높이고 상 II 중에서는 이를 생략하여 변형하였다. 또한, 킬록사폴을 상 II에 0.3% w/w 첨가하였다.

[0095]

1/10의 상 I/상 II 비율로 100g의 상 III를 형성하기 위해, 상 II 90g을 상기 혼합 단계 전에 냉각하여 상기 공정의 전체 온도를 25  $^{\circ}$ C로 줄이고, 그 후에 이를 15  $^{\circ}$ C로 설정된 재킷 용기에 부었다. 50  $^{\circ}$ C에서 상 I (10 g)를, 에멀서 (emulsor) 스크린을 탑재한 Silverson L5MA으로 60 분간 6,000 rpm으로, 그 후 30  $^{\circ}$ C에서 15 분간 10,000 rpm 혼합하면서 상 II에 0.5 g/분으로 주입하였다. 상 III의 평균 입자 크기는 91.58의 큰 분산을 갖는 4.58  $\mu$ m ( $\pm$  9.58)였다. 매우 큰 입자가 존재하기 때문에, 혼합기의 헤드를 에멀서 스크린에서 사각으로 구멍난 고 전단 스크린으로 변경하였는데, 후자가 더 많은 전단을 제공하였기 때문이다. 상기 에멀전을 추가로 5 분간 더 혼합하였다. 고 전단 스크린을 사용한 혼합은 입자의 평균 크기를 0.68  $\mu$ m ( $\pm$  0.38)로 감소시켰다.

[0096]

상기 제형의 오스몰농도는 제형 개발에서 중요한 요소이다. 이전 단락에 기재된 상기 제형의 오스몰농도를 측정한 경우, 360 mOsm/kg로 밝혀졌다. 상기 제형의 오스몰농도를 줄이기 위해, PEG-400의 양을 20 % w/w 로 감소시키고, PEG-스테아레이트의 양을 7 % w/w로 증가시켰다. 그에 더해, 혼합 중에 더 큰 입자 크기에 기여하여 상 II의 점도를 증가시키는 히알루론산 나트륨을 제거하였다.

[0097]

25  $^{\circ}$ C로 설정된 재킷 용기의 상 II 500g 및 상 I 50g을 50 내지 55  $^{\circ}$ C에서 혼합함으로써 1/10의 상 I/상 II로 100g의 상 III를 형성하였다. 고 전단 스크린으로 25  $^{\circ}$ C에서 15 분간 700 rpm으로, 그 후 19  $^{\circ}$ C에서 60 분간 6000 rpm으로, 그 후에 30  $^{\circ}$ C에서 10 분간 10,000 rpm으로 혼합하면서 상 I을 상 II에 1.0 g/분 ( $\pm$  0.1) 으로

주입하였다. 상 III의 평균 입자 크기는 184.14의 큰 분산을 갖는 0.141  $\mu\text{m}$  ( $\pm$  13.38)였다.

[0098] 상 I에서 상 II로의 유속은 상 III 제형의 입자 크기에 영향을 미치는 중요한 요소이다. 이는 고 전단 혼합을 사용한 제형 개발 과정에서 보다 분명했다. 상 I 유속이 상 III 에멀전의 입자 크기에 미치는 영향을 평가하기 위해 일련의 실험들을 실시하였다. 분산이 상기 에멀전의 전체적인 균일성의 지표이므로, 평균, 최빈값, 또는 중앙값 크기 대신 분산을 안정성의 척도로 간주하였다. 예를 들어, 상기 에멀전이 0.1  $\mu\text{m}$ 의 평균 입자 크기 및 2.0  $\mu\text{m}$ 의 분산을 갖는 경우, 상기 에멀전은 원하는 것보다 큰 입자의 소집단을 가지며, 이들의 존재는 결국 응고 및 상분리를 초래할 수 있음을 나타낸다. 결과를 하기 표 2에 나타낸다. 증가된 유속이 높은 분산, 즉 낮은 안정성을 초래하는 것이 명백하다.

표 2

[0099]

유속의 함수로서의 분산	
유속 (g/분)	분산
0.475	0.75
1.04	2.46
2.07	9.54
2.08	22.75
6.57	197.96

[0100] 다양한 혼합 공정들로 제조된 제형들의 입자 크기에 상당한 차이가 있었다. 상기 기재된 바와 같이, 3가지 상이한 혼합 프로토콜을 제형의 개발에 이용하였다. 고 전단 혼합으로 상 I 및 상 II를 혼합하여 지속적으로 80 %를 초과하는 200 nm 미만의 입자의 백분율을 산출하였다. 음파처리로만 상 I 및 상 II를 혼합하면 0.8 % 미만의 200 nm 이하의 입자를 갖는 제형을 생산한 반면 음파처리 및 혼합의 조합은 입자의 크기가 12 내지 50%의 200 nm 미만인 입자를 갖는 제형을 생산하였다.

[0101] 이러한 약물 전달 플랫폼의 실현가능성을 시험하기 위해 다양한 API를 사용하였다. 상기 플랫폼이, 다수의 저급하게 수용성인 비-스테로이드성 항-염증 약물들을 사용하는 나노분산물 제조에 효과적이라는 것이 밝혀졌다. 예시적인 약물들은 다음과 같으며, 이들은 그들의 상응하는 D50 및 D90 값들을 함께 제시한다: 텍사메타손 (D50= 0.139  $\mu\text{m}$ ; D90= 0.170  $\mu\text{m}$ ), 트리암시놀론 아세토니드 (D50= 0.134  $\mu\text{m}$ ; D90= 0.197  $\mu\text{m}$ ), 및 플루티카손 프로피오네이트 (D50= 0.141  $\mu\text{m}$ ; D90= 0.181  $\mu\text{m}$ ).

[0102] 실시예 2: 분석 방법

[0103] 상기 에멀전의 통합성을 유지하기 위해 주의하면서, 상기 분산물의 20  $\mu\text{L}$  액적의 이미징을 현미경 슬라이드에 배치하고 이를 유리 커버 슬립으로 덮음으로써 수행하였다. 상기 분산물을, 기름-방물을 떨어뜨리고 Olympus BX51P 편광 광학 현미경의 100 배 대물렌즈를 사용하여 교차 편광기 하에서 조사하였다. 약물-포함 및 약물-미포함 분산물 양자 모두를 조사하였다.

[0104] 입자 크기측정을 2 % w/w 글리세린, 0.1 % w/w 피로인산 나트륨 침수화물의 용액 중의 상 III 분산물의 약 20  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 수행하였다. 상 III 나노-분산물의 입자 크기 분포를 실온, 즉 22 내지 25  $^{\circ}\text{C}$ 에서 Horiba LA-950V2 입자 크기 분석기를 사용하여 측정하였다.

[0105] 1.5 mL의 원심분리기 관에 약물-포함 상 III 1.0 g을 넣고, 실온에서 Eppendorf Centrifuge 5145D를 사용하여 10 분 동안 6000 rpm로 원심 분리하여 캡슐화 효율(encapsulation efficiency) (mg/G)을 측정하였다. 원심분리물 100  $\mu\text{L}$ 를, 900  $\mu\text{L}$ 의 75 % 아세트 니트릴/ 25 % 물을 포함하는 HPLC 바이알에 옮겼다.  $\lambda_{\text{max}}$  = 239 nm에서 HPLC에 의해 약물, 즉 텍사메타손의 농도를 위해 상기 샘플을 측정하였다. 상기 농도를 상 III 분산물의 g 당 mg의 약물로서 산출하였다.

[0106] 37  $^{\circ}\text{C}$ , pH를 7.4에서 시험관내 약물 방출을 다음과 같이 측정하였다: 상기 상 III 분산물 (1g)을 Spectra/Pore Float-A-Lyzer G2 투석 장치로 옮기고, 이어서 pH 7.4, 37  $^{\circ}\text{C}$ 에서 인산 완충제 중 1 % 하이드록시프로필- $\beta$ -시클로덱스트린 (HP- $\beta$ -CD)의 40g을 포함하는 50 mL 잠금 원심분리기 튜브(locking centrifuge tube)에 배치하였다. 상기 전체 조립물을 Robbins Scientific Model 400 회전 인큐베이터에 탑재하였다. 각 시점에서, 샘플의 1 mL를 회수하고 새로운 완충제로 상기 제거된 부피를 대체하였다.  $\lambda_{\text{max}}$  = 239 nm에서 HPLC를 이용하여 샘플의 약물 함량을 측정하였다.

[0107] 생체의 각막 투과성 검사는 안구 조직에 침투 할 수 있는 그들의 능력에 대한 제형을 스크린할 수 있는 유용한

도구이다. 갓 절제된 각막을 이용하여 각막 막을 통해 확산 할 수 있는 그들의 능력에 대해 제형을 시험할 수 있다. 생물학적 막을 통해 확산할 수 있는 능력은 제형 부형제, 물리적 상태 (예를 들어, 현탁제, 용액, 에멀전, 분산물) 및 분배 계수 (P) 및 로그 P에 직접적으로 관련된다.

[0108] 신선한 송아지 눈을 근처의 도살장에서 수득하고, 멸균 기술을 사용하여 각막을 신중하게 절제하였다. 갓 절제된 각막은 1 내지 2 시간 이내에 사용해야 한다. 각막을 클래스 100(Class 100) 환경의 멸균된 클린벤치에서 절제하였다. 먼저 수용성 체액을 배출하고 이어서 초기 절개용 작은칼을 사용하여 각막을 조심스럽게 절단하였다; 집게 및 가위를 사용하여 나머지 조직을 절단하였다. 상기 절제한 각막을 pH 7.0에서 0.1 중량% 글루타민, 0.051 중량% 인산이나트륨 및 99.45 중량%의 H<sub>2</sub>O를 포함하는 소량의 수화 용액이 담긴 페트리 접시에 저장하였다.

[0109] 상기 수용체 유체 중 API 용해도는 각막 투과도 실험에서 매우 중요하다. 수용체 유체 중 상기 약물의 포화 용해도는 수용체 용액 중의 약물의 총 이론적 농도보다 훨씬 더 커야한다. 전형적인 상기 수용체 유체의 조성은 1 중량%의 HP-β-CD, 0.051 중량%의 인산이나트륨, 0.017 중량%의 제일인산나트륨 및 98.55 중량%의 H<sub>2</sub>O이다.

[0110] Franz-Cell 확산 챔버 시스템을 사용하여 각막 투과성 시험을 수행하였다. 상기 Franz-Cell 시스템은 개별적인 자기 교반 플레이트 단일 유닛에 장착된 6개의 직렬 재킷 세포(in-line jacketed cell)들로 구성되어 있고, 각각의 세포가 주 시스템 워터 재킷에 연결되어 있다. 상기 재킷을 재순환식 가열 수조를 이용하여, 실험 기간 동안 37 °C로 유지하였다. 각 세포는 공지된 용량의 제형이 적정된 상단의 공여체 세포 및 아래의 샘플링 사이드 암을 갖는 수용체 세포로 구성되어 있다. 공여체 및 수용체 세포의 접합부는 각막의 형상을 흉내내어 위쪽으로 볼록하다. 각 수용체 세포는 수용체 유체 5 mL를 유지하며, 각 공여체 세포는 연구되고 있는 상기 제형의 200 μL를 유지한다.

[0111] 상기 수용체 유체를 바늘이 장착된 주사기를 사용하여 각각의 수용체 세포에 첨가하였다. 공여체 세포 접합부에 볼록 메니스커스가 생길때까지 상기 용액을 천천히 첨가하였다. 상기 볼륨을 기록하고, 상기 남은 세포들을 채웠다.

[0112] 각막을 계량한 후, 이를 한 쌍의 집게를 이용하여 수용체-공여체 세포 조인트의 상부에 배치하고, 이때 각막이 접히거나 기포가 생기지 않도록 유의한다. 일단 배치되면 공여체 세포 캡을 조심스럽게 부착하고, 금속 클립으로 배치된 위치에 고정하였다.

[0113] 교정 피펫 및 기록된 시간을 이용하여 각각의 공여체 챔버 내로 제형 200 μL를 증착함으로써 샘플을 연속해서 첨가하였다. 유의적인 증발이 없도록 공여체 챔버 및 샘플링 암을 봉인했다.

[0114] 샘플들을 2, 4, 6, 7 및 22 시에 수용체 세포로부터 회수하였다. 상기 기재된 바와 같이 샘플을 HPLC로 API 함량 분석하였다.

[0115] 플럭스 (J)는 단위 시간당 막을 횡단하는 약물의 양이다. 이는 질량/지역/시간 단위로 제공된다. 플럭스는 다음의 수학적식에 의해 계산될 수 있다:  $J = Q/(A \cdot t)$ , 여기서 Q는 시간 t 동안 상기 막을 통과하는 화합물의 양이고, A는 노출된 막의 면적 (cm<sup>2</sup>)이다. 플럭스의 상기 단위는 중량 (μg)/cm<sup>2</sup>/분이다.

[0116] 실시예 3: 0.1 % 플루티카손 프로피오네이트를 포함하는 나노구조화된 분산물의 제조

[0117] 상 I의 제조

[0118] PHOSAL ® Mixed Chain Triglycerides ("MCT") 3 g, 세틸 알콜 3 g 및 피마자유 11g을 미리-칭량된 유리 비커에 첨가하여 30g의 상 I을 제조하였다. 상기 혼합물을 핫 플레이트에서 연속 교반하면서 55 °C로 가열하여 균일 혼합물을 형성하였다. 이러한 혼합물에, 폴리에틸렌 글리콜-400 6 g, 폴리프로필렌 글리콜 3 g, PEG-40-스테아레이트 2.1 g, 폴록사머 407 0.666 g, 킬록사폴 0.3 g 및 트윈 80 0.3 g을 첨가한 후, 55 °C에서 교반하였다. 달성된 균일 혼합물을 확보한 후, 상기 교반 플레이트의 가열 컴포넌트의 전원을 껐다. 일단 상기 혼합물이 45 °C 내지 40 °C로 냉각되면 플루티카손 프로피오네이트 (0.24 g)를 첨가하였다. 플루티카손 프로피오네이트가 균일, 투명 용액에 완전히 용해되어 미립자가 눈에 보이지 않을 때까지 상기 혼합물을 교반함으로써 상 I을 형성하였다.

[0119] 상 II의 제조

[0120] 300 g의 상 II를 제일인산나트륨 0.051 g, 제이인산나트륨 0.156 g으로 제조하였으며, 증류수 (dH<sub>2</sub>O) 299.796 g



을 칭량 유리 비커에 첨가하였다. 상기 나트륨 염이 완전히 용해될 때까지 이러한 혼합물을 교반하여 상 II를 형성하였다. 상 II의 pH는 7.3이었다.

[0121] 상 III의 제조

[0122] 상 III은, 상 I 및 상 II가 고 에너지 공정을 사용하여 혼합될 때 형성되는 분산물에 사용되는 용어이다. 이러한 실시예에서, 고 전단 혼합을 사용하여 최종 분산물을 수득하였다.

[0123] 상 III 100 g을 수득하기 위해, 상 I 10 g을 1 g/분의 유속으로 상 II 90 g에 주입하였고, 상기 혼합물을 Silverson L5MA 실험실 혼합기를 사용하여 연속적으로 혼합하였다. 상기 주입 동안, 상 I를 40 내지 45 °C로 유지하고, 상 II는 8 °C로 냉각시켰다. 보다 구체적으로, 상 II를 -10 °C에서 냉각장치 세트에 연결된 재킷 용기에 부었다.

[0124] 2개의 혼합 속도를 사용하여 최종 분산물, 즉 상 III을 수득하였다. 상 I이 상 II에 주입될 때 7500 RPM의 고속을 사용하였다. 상 I의 첨가가 완료되면, 상기 혼합 속도를 나머지 혼합 기간 동안 5,040 RPM으로 감소시켰다. 상기 혼합을 총 150 분 동안 수행하였다. 이러한 실시예에서, 상기 높은 혼합 속도를 처음 10 분간 사용하고, 이어서 더 낮은 속도를 사용하였다. 플루티카손 프로피오네이트의 최종 농도는 상 III의 0.1 중량%였다.

[0125] 분산물 중 입자 크기의 통계적 최빈값은 120 nm였다. 상기 분산물의 중간값은 122 nm였고, 모든 입자의 85 %가 300 nm미만이었다. 상기 분산물은 실온에 저장시 유백색이고, 균일하며 안정된 것으로 나타났다.

[0126] 편광 광학 현미경으로 조사했을 때, 상기 분산물은 액체 결정성 상태와 유사한 고유한 나노구조를 나타냈다. 상기 분산 상은, 상 II의 상 I로의 도입으로 나타나는 반-고체이다. 상기 분산물의 나노-크기는 상기 분산물이 조직으로 침투하기에 적합하도록 한다.

[0127] 실시예 4: 텍사메타손을 포함하는 나노구조화된 분산물의 제조

[0128] 상 I의 제조

[0129] 30g의 상 I을, MCT 3 g, 세틸 알콜 3 g 및 피마자유 12g을 유리 비커 중에 혼합하여 제조하였다. 상기 혼합물을 핫 플레이트에서 연속 교반하면서 55 °C로 가열하여 균일 혼합물을 형성하였다. 이러한 혼합물에, 폴리에틸렌 글리콜-400 6 g, 폴리프로필렌 글리콜 3 g, PEG-40-스테아레이트 2.1 g 및 폴록사머 407 0.6 g을 첨가한 후, 55 °C에서 교반을 지속하였다. 균일 혼합물을 형성한 후, 상기 교반 플레이트의 가열 컴포넌트의 전원을 켜었다. 일단 상기 혼합물을 40 내지 45 °C로 냉각하면 텍사메타손 (0.3 g)을 혼합물에 첨가하였다. 상기 텍사메타손이 완전히 용해될 때까지 상기 혼합물을 교반하였다.

[0130] 상 II의 제조

[0131] 300 g의 상 II를 제일인산나트륨 0.051 g, 제이인산나트륨 0.156 g 및 증류수 (dH<sub>2</sub>O) 299.796 g으로부터 유리 비커에서 제조하였다. 상기 나트륨 염이 완전히 용해될 때까지 이러한 혼합물을 교반하였다. 상 II의 pH는 7.3이었다.

[0132] 상 III의 제조

[0133] 다음과 같이 상 III을 형성하였다: 상 II 90 g을 -10 °C로 설정된 냉각장치에 연결된 재킷 용기에 부어서 8 °C로 냉각시켰다. 상 I 10 g을 40 내지 45 °C로 유지하면서 1 g/분의 유속으로 상 II에 주입하였고, Silverson L5MA 고 전단 혼합기를 사용하여 연속적으로 혼합하였다.

[0134] 상기 기재된 실시예 3과 같이, 2개의 혼합 속도를 사용하여 최종 분산물, 즉 상 III을 수득하였다. 상 I이 상 II에 주입되는 동안 초기에 10,000 RPM의 고속, 즉 일차 혼합을 사용하였다. 모든 상 I이 도입된 후, 상기 혼합을 나머지 혼합 기간 동안 5,040 RPM의 저속, 즉 이차 혼합으로 수행하였다. 상기 혼합을 총 150 분 동안 수행하였는데, 처음 10 분 동안은 높은 혼합 속도를 사용하였고 이어서 낮은 속도를 사용하였다. 텍사메타손의 최종 농도는 상 III의 0.1 중량%였다.

[0135] 상기 분산물의 분석은 입자 크기 분포의 중간값 (d<sub>50</sub>)이 143 nm였고, 최빈값은 141 nm였으며, 분산된 나노-구조 입자의 90 %는 245 nm미만인 것으로 나타났다. 상기 나노구조화된 분산물은 실온에서 시간이 경과함에 따라 안정하였다. 현미경으로 조사했을 때, 상기 분산물은, 정렬되었으나 액체-유사한 상태의 정렬된 미세구조를 나타냈다.

[0136] 부가적인 분석은 텍사메타손이 0.845 mg/G로 캡슐화된 것으로 나타났다. 시험관내 약물 방출 검사는 텍사메타

손의 적어도 25 %가 3 시간에 걸쳐 방출되었으며, 이는 고도로 생체이용가능한 제형임을 나타낸다.

- [0137] 0.1 % 텍사메타손의 나노구조화된 제형의 상기 각막 투과도를 상기 기재된 바와 같이 시험하였다. 각막에 적용되는 텍사메타손의 약 35 %가 22 시간의 기간 동안 수용체 용액에 방출되었고, 이는 상기 제형의 높은 생체이용률을 나타낸다. 대조적으로, 동일한 검사에서 시험된 텍사메타손의 현탁제는 22 시간 동안 <5 %의 비교적 낮은 각막 투과성을 나타냈다. 또한, 상기 확산 연구가 완료된 후, 상기 각막을 아세트니트릴로 추출하고, 텍사메타손 함량을 분석하였다. 상당한 침착-유사 효과(depot-like effect)가 제형으로 처리된 각막에서 관찰되었고, 이는 지속 방출 효과가 이러한 제형으로 달성될 수 있음을 나타낸다. 보다 구체적으로는, 각막으로부터 추출된 텍사메타손의 양은 초기에 상기 각막에 총 로딩된 양의 평균 35 %였다.
- [0138] 실시예 5: 로테프레드놀 에타보네이트를 포함하는 나노구조화된 분산물의 제조
- [0139] 상 I의 제조
- [0140] 30 g의 상 I를, 텍사메타손이 아닌 로테프레드놀 에타보네이트 (0.3 g)를 첨가하는 것을 제외하고는, 실시예 4에 상기 기재된 바와 같이 제조하였다.
- [0141] 상 II의 제조
- [0142] 상기 실시예 4에 기재된 바와 같이 300g의 상 II를 제조하였다.
- [0143] 상 III의 제조
- [0144] 실시예 4에 상기 기재된 바와 같이 상 I 대 상 II의 1:9 비율 (w/w)로 상 III을 형성하였다. 로테프레드놀 에타보네이트의 최종 농도는 상 III의 0.1 중량%였다.
- [0145] 상기 분산물의 분석은 상기 입자 크기 분포의 중간값 (d50)이 159 nm였고, 최빈값은 160 nm였으며, 상기 분산된 나노-구조 입자의 90 %는 303 nm미만인 것으로 나타났다. 상기 나노구조화된 분산물은 침전 또는 분해가 관찰되지 않은 상태로 실온에서 적어도 60 일 동안 안정하였다. 현미경으로 조사했을 때, 상기 분산물은 정렬되었으나 액체-유사한 상태의 정렬된 미세구조를 나타냈다.
- [0146] 부가적인 분석은 캡슐화된 로테프레드놀 에타보네이트의 양이 1.24 mg/G임을 나타냈다. 상기 약물은 3 시간 동안 35 %의 시험관내 방출을 보였다. 놀랍게도, 이러한 약물의 시판 제형, 즉 Lotemax® 겔에 대한 로테프레드놀 에타보네이트의 각막 투과율은 22 시간 동안 8 %가 아닌 36 %였다.
- [0147] 실시예 6: 고 전단 혼합 및 미세 유동화에 의한 약물-비포함 나노구조화된 분산물의 제조
- [0148] 상 I의 제조
- [0149] 70g의 상 I을, MCT 7.01 g, 세틸 알콜 7.01 g 및 피마자유 28g을 유리 비커 중에서 혼합하여 제조하였다. 상기 혼합물을 핫 플레이트에서 연속 교반하면서 55 °C로 가열하여 균일 혼합물을 형성하였다. 이러한 혼합물에, 폴리에틸렌 글리콜-400 7.07 g, 폴리프로필렌 글리콜 7.07 g 및 PEG-40-스테아레이트 4.97 g을 첨가한 후, 55 °C에서 교반을 지속하였다. 균일 혼합물을 형성한 후, 상기 교반 플레이트의 가열 컴포넌트의 전원을 껐다.
- [0150] 상 II의 제조
- [0151] 700 g의 상 II를 톨록사폴 0.21 g, 트윈 80 0.11 g, 시트르산 일수화물 1.441 g, 시트르산 나트륨 이수화물 6.9688 g, 폴록사머 407 0.140 g을 혼합하여 제조하였으며, dH<sub>2</sub>O 691.68 g을 유리 비커에 첨가하였다. 상기 염이 완전히 용해될 때까지 혼합물을 교반하였다. 상 II의 pH는 6.0이었다.
- [0152] 상 III의 제조
- [0153] 다음과 같이 총 600 g의 상 III을 형성하였다: 상 II 540 g을, 50 °C로 설정된 냉각장치에 연결된 재킷 용기에서 50 내지 55 °C로 유지시켰다. 상 I 60 g을 50 내지 55 °C로 유지하면서 상 II에 부었고, 7500 RPM으로 설정된 Silverson L5MA 고 전단 혼합기를 사용하여 15분간 혼합하였다. 상기 생성된 분산물을 28 psi의 압력에서 미세유동화기로 4 회 통과시켰다.
- [0154] 상기 분산물의 분석은 상기 입자 크기 분포의 중간값 (d50)이 176 nm였고, 최빈값은 207 nm였으며, 분산된 나노-구조 입자의 90 %는 358 nm미만인 것으로 나타났다. 나노구조화된 분산물은 실온에서 시간이 경과함에 따라 안정하였으며, 현미경으로 조사했을 때, 상기 분산물은 정렬되었으나 액체-유사한 상태의 정렬된 미세구조를 나타냈다. 상기 미세 유동화 단계는 단일 모드의 분산물을 산출했다.

- [0155] 실시예 7: 고 전단 혼합 및 음파처리에 의한 약물-비포함 나노구조화된 분산물의 제조
- [0156] 상 I의 제조
- [0157] 상기 실시예 6에 기재된 바와 같이 70g의 상 I을 제조하였다.
- [0158] 상 II의 제조
- [0159] 상기 실시예 6에 기재된 바와 같이 또한 70g의 상 II를 제조하였다.
- [0160] 상 III의 제조
- [0161] 다음과 같이 총 600 g의 상 III을 형성하였다: 상 II 540 g을 냉각장치에 연결된 재킷 용기에서 40 내지 45 °C로 유지시켰다. 상 I 60 g을 40 내지 45 °C로 유지하면서 상 II에 부었고, 7500 RPM으로 설정된 Silverson L5MA 고 전단 혼합기를 사용하여 15분간 혼합하였다. 상기 생성된 분산물을 sonotrode S3 microtip을 사용하는 50% 진폭으로 설정된 Heilscher UP200S 초음파 분산기로 처리하였다. 상기 분산물은 3회 음파처리하였고, 음파처리의 효과를 모니터링하기 위해 각각의 처리 후에 부분표본을 취하였다.
- [0162] 상기 분산물의 분석은 상기 입자 크기 분포의 중간값 (d50)이 167 nm였고, 최빈값은 140 nm였으며, 분산된 나노-구조 입자의 90 %는 316 nm미만인 것으로 나타났다. 또한, 상기 나노구조화된 분산물은 실온에서 시간이 경과함에 따라 안정하였으며, 현미경으로 조사했을 때 정렬된 미세구조를 나타냈다.
- [0163] 실시예 8: 나노구조화된 분산물 중 플루티카손 프로피오네이트의 용해도
- [0164] 20 %의 PEG-400, 10%의 PPG, 10 %의 세틸 알콜, 1%의 MCT, 7 %의 PEG-스테아레이트, 2.22%의 폴록사머 407, 1 %의 틸록사폴, 1%의 폴리소르베이트 80, 38%의 피마자유 및 1 내지 2%의 플루티카손 프로피오네이트를 포함하는 상 I을 제조하였다.
- [0165] 상 II의 상기 조성은 제일인산나트륨 (0.017 %), 제이인산나트륨 (0.052 %), 히알루론산 나트륨 (0.15 %) 및 dH<sub>2</sub>O (99.78 %)였다.
- [0166] 상 I을 상 II와 1:9의 중량비로 혼합하였다.
- [0167] 이러한 제형에서 달성될 수 있는 플루티카손 프로피오네이트의 농도는 0.1 내지 0.2 %였다. 특히, 플루티카손 프로피오네이트가 개별적으로 각 부형제에 용해되고 첨가된 각 부형제로부터 용해된 기여가 추가되었을 때, 예상되는 플루티카손 프로피오네이트의 최대 농도는 단지 0.05 %이다. 그러나, 상기 제형은 놀랍게도 0.1 내지 0.2 중량%의 플루티카손 프로피오네이트를 용해하였다.
- [0168] 또한, MCT 중 플루티카손 프로피오네이트의 용해도가 최소임에도 불구하고 (0.150 mg/ml), 세틸 알콜 및 MCT의 조합은 향상된 가용화를 제공하는 것으로 확인되었다. 세틸 알콜 중 플루티카손 프로피오네이트의 용해도는 0.3 mg/ml이다. 기재된 바와 같이, 최종 분산물은 1 내지 2 mg/ml (0.1 내지 0.2 %)의 플루티카손 프로피오네이트의 농도를 갖는다.
- [0169] 이론에 의해 제한되는 것은 아니나, 상기 약물의 향상된 용해도가 상기 상들의 상승 작용적 자가-조립체로 인해 약물의 용해도가 증가되어 삽입된(intercalated) 정렬된 상을 형성할 가능성이 있다.
- [0170] 실시예 9: 상 I의 소수성의 효과
- [0171] 이러한 실시예에서, 콜레스테롤을 첨가하여 높은 농도의 소수성 부형제를 수득하였다. 상 I의 조성은 PEG-400 (20 %), PPG (10 %), 세틸 알콜 (10 %), 콜레스테롤 (2 %), MCT (10 %), PEG-스테아레이트 (5 %), 폴록사머 407 (2.22 %), 틸록사폴 (1 %), 폴리소르베이트 80 (1 %), 피마자유 (36.9 %) 및 플루티카손 프로피오네이트 (1 내지 5 %)였다.
- [0172] 상 II의 상기 조성은 제일인산나트륨 (0.017 %), 제이인산나트륨 (0.052 %), 히알루론산 나트륨 (0.15 %) 및 dH<sub>2</sub>O (99.78 %)였다.
- [0173] 상 I을 상 II와 1:9의 중량비로 혼합하였다.
- [0174] 이러한 제형에서 달성될 수 있는 플루티카손 프로피오네이트의 최종 농도는 0.1 내지 0.5 %이다. 각각의 개별적인 부형제 중 용해되는 양까지 첨가함으로써 용해될 것으로 예상되는 플루티카손 프로피오네이트의 최대 양은 0.06 %이다.

- [0175] 또한, 이러한 실시예 9에서, 상 I의 각 개별 성분에 다른약물의 가용화에 대해 이론적으로 가능한 것보다 높은 농도의 소수성 약물이 나노-분산물 중에서 달성되었다.
- [0176] 실시예 10: 나노분산물 중의 시험관내 약물 방출
- [0177] 플루티카손 프로피오네이트가 아닌 텍사메타손을 삽입하는 것을 제외하고는 실시예 8에 상기 기재된 바대로 상 I 및 상 II를 사용하여 나노-분산물을 제조하였다. 상 I를 Silverson 고 전단 균질기로 상 II와 혼합하였으며 (2개 상 모두 40 내지 45 °C), 그 후에 미세 유동화기를 사용하여 고압 균일화하였다. 상기 혼합물을 실온에서 미세 유동화기로 1 내지 5 회 통과시켰다. 상기 생성된 혼합물을 -10 °C에서 밤새 (18-22시간) Silverson 고 전단 균질기로 혼합하였다. 혼합 후, 상기 분산물을 22 내지 24 시간 동안 2 내지 5 °C에서 저장하였다.
- [0178] 마이크로-분산물을, 2 내지 3 시간 동안 1800 RPM에서 간접 Scilogex 교반-패들 혼합기로 상 I 및 상 II를 혼합 하여 동일한 구성 요소로 형성하였다. 각 상의 온도는 40 내지 45 °C였다. 상기 마이크로-분산물을 22 내지 24 시간 동안 2 내지 5 °C에서 인큐베이션하지 않았다.
- [0179] 입자 크기 측정은 마이크로분산물의 D50이 60 내지 90  $\mu\text{m}$  사이였던 반면 나노분산물의 D50은 100 내지 250 nm의 사이임을 나타냈다.
- [0180] 나노분산물 및 마이크로분산물 중 텍사메타손의 시험관내 누적 방출 속도를 pH 7.4, 37 °C에서 인산염 완충된 식염수로 측정하였다. 상기 결과는 마이크로분산물에 초기에 로딩된 텍사메타손의 100 %가 40 시간 이후에 방출됨을 나타냈다. 대조적으로, 초기에 나노분산물에 로딩된 텍사메타손의 ~55 %만이 동일한 기간 동안 방출되었다. 텍사메타손의 초기량의 50 %의 누적 방출을, 나노분산물에 대해서는 24시간 동안 측정된 것과 비교하여 마이크로분산물에 대해서 10 시간 동안 측정했다.
- [0181] 마이크로분산물의 더 큰 입자는 약물 방출을 위한 더 긴 확산 경로 길이를 갖는다. 마이크로분산물로부터의 방출은 나노분산물에서 방출보다 느릴 것으로 예상했다. 이와 같이, 이러한 결과는 예상치 못한 것이었다.
- [0182] 또한, 이론에 의해 제한되지 않으면서, 나노분산물의 삽입된 정렬된 나노구조가 방출될 약물 분자에 대하여 비틀린 확산 경로를 생성하는 것으로 여겨진다.
- [0183] 실시예 11: 각막 투과율로 측정된 생체이용률
- [0184] 플루티카손 프로피오네이트 (0.1 %)의 4가지 상이한 제형을, 생체이용율을 향상시키는 변수를 확인하기 위해 제조하였다. 제형 I은 MCT, 세틸 알콜 및 히알루론산 나트륨을 제외하고 실시예 8에 상기 나열된 모든 부형제를 포함하였다. 제형 II는 제형 I과 동일하지만 히알루론산 나트륨을 추가로 포함했다. 제형 III은 실시예 8에 기재된 것과 동일하였다. 제형 IV는 실시예 9에 기재된 것과 동일하였다.
- [0185] 상기 4가지 제형을 실시예 8에 기재된 동일한 혼합 프로토콜에 따라 제조하였다. 실시예 2에 기재된 바와 같이 4가지 제형의 각막 투과도를 시험하였다.
- [0186] 상기 결과는 제형 I 중 플루티카손 프로피오네이트의 2.39 % 만이 각막에 제형을 투여한 후 7 내지 22시간 사이에 각막을 침투한 것을 나타냈다. 유사하게, 제형 II 중 플루티카손 프로피오네이트의 2.3 % 만이 7 내지 22시간 동안 상기 각막을 통해 확산되었다.
- [0187] 대조적으로, 제형 III 및 제형 IV (각각 17 % 및 20 %)로부터의 플루티카손 프로피오네이트는 7 내지 22 시간 동안 각막을 통해 확산되었다. 분명히, 이러한 2가지 제형은, MCT 및 세틸 알콜이 모두 결합된 제형 I 및 제형 II와 비교하여 더 나은 생체 이용률을 나타냈다.
- [0188] **기타 실시형태들**
- [0189] 본 명세서에 기술된 모든 특징들은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에서 설명하는 각 기능은, 동일하거나 동등하거나 유사한 목적을 제공하는 다른 기능으로 대체될 수 있다. 따라서, 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, 개시된 각 특징은 동등 또는 유사한 특징의 일반적인 일련의 예시일 뿐이다.
- [0190] 상기 기재로부터, 당업자는 용이하게 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 본 발명의 본질적인 특성을 확인할 수 있으며, 다양한 사용 및 조건에 적합하도록 본 발명의 다양한 변형 및 수정을 할 수 있다. 따라서, 다른 실시형태들은 또한 청구범위 내에 있다.