



등록특허 10-2607729



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년11월29일
(11) 등록번호 10-2607729
(24) 등록일자 2023년11월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2006.01) *A61K 47/10* (2017.01)
A61K 47/22 (2017.01) *A61K 47/26* (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61P 19/02* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/127 (2013.01)
A61K 47/10 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7006061
- (22) 출원일자(국제) 2018년08월21일
심사청구일자 2021년08월06일
- (85) 번역문제출일자 2020년02월28일
- (65) 공개번호 10-2020-0044006
- (43) 공개일자 2020년04월28일
- (86) 국제출원번호 PCT/IL2018/050923
- (87) 국제공개번호 WO 2019/038763
국제공개일자 2019년02월28일
- (30) 우선권주장
62/548,429 2017년08월22일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문현
US20150037404 A1
US20170128473 A1
WO2008038292 A2

- (73) 특허권자
비비우스 메디칼 리미티드
이스라엘, 67910 텔 아비브, 27 하바엘 스트리트
- (72) 발명자
바렌홀즈 예체즈켈
이스라엘, 9370719 예루살렘, 18 네베 샤난 스트리트
돌레브 앤브
이스라엘, 4358008 라나나, 9 모쉐 다얀 스트리트
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

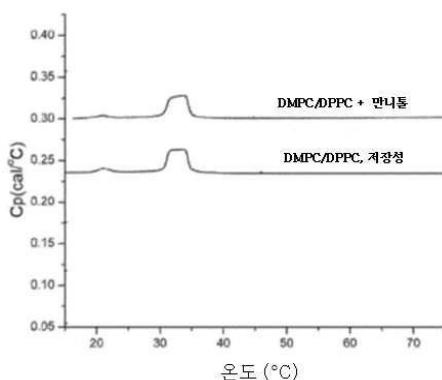
전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 최홍석

(54) 발명의 명칭 관절 윤활용 리포좀 제형

(57) 요약

본 발명은 관절의 윤활을 위한 약제학적 조성물을 제공하며, 약제학적 조성물은 폴리올을 포함하는, 비-이온성 등장성 제제, 및 동일하거나 상이한, 2개의 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 글리세로인지질(GPL), 및 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 스팽고미엘린(SM)으로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 적어도 하나의 막을 포함하는 리포좀을 포함하고, 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없고, 여기서 적어도 하나의 막은 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지고 그리고 관절은 상 전이 온도 위인 관절 온도를 갖는다.

대 표 도 - 도1

(52) CPC특허분류

A61K 47/22 (2013.01)

A61K 47/26 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61P 19/02 (2018.01)

(72) 발명자

투르제만 케렌

이스라엘, 9574569 예루살렘, 키르얏 요벨, 아파트
먼트 22, 테렉 카르밋 스트리트 10

사르파티 가디

이스라엘, 7937000 베이트 구브린, 베이트 구브린

아얄-허쉬코비츠 매티

이스라엘, 4642416 허즐리야, 6 빌루

명세서

청구범위

청구항 1

만니톨인 폴리올; 및

리포좀을 포함하며, 포유류의 관절에 윤활을 제공하기 위한, 투여량 단위의 형태로 제형화된 약제학적 조성물로서,

상기 리포좀은 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DMPC)을 포함하며, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC)을 더 포함하는 다층 소포(MLV)이고, 상기 리포좀은 20°C 내지 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지며;

상기 약제학적 조성물의 투여량 단위는 30mg 내지 550mg의 DPPC, 20mg 내지 450mg의 DMPC, 및 20mg 내지 350mg의 만니톨을 가지고;

상기 약제학적 조성물은, 관절 윤활, 관절 기능장애의 치료, 관절 통증, 관절 자극, 또는 관절 마모의 감소, 또는 이들의 조합에 사용하기 위해 공지된 부가적인 약제학적 활성제를 포함하지 않으며,

연골 퇴화, 관절 통증, 관절 운동성 감소, 관절 염증, 관절 자극, 또는 관절의 생리학적 파괴 및 기능장애를 초래하는 관절 부위의 고통, 상해 또는 질환의 치료, 관리 또는 예방에 사용하거나, 관절 마모를 예방하기 위한 것인, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

- i) 리포좀이 혼탁되는 유체 매질을 더 포함하거나;
- ii) 만니톨이 0.1%(w/w) 내지 7%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재하거나;
- iii) 200 내지 600 mOsm 범위의 삼투압을 가지거나;
- iv) 5 내지 8의 pH를 갖는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 리포좀 및 만니톨 간의 중량비는 6:1 내지 2:1의 범위인, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

리포좀 중의 DMPC의 몰%는 10% 내지 75%의 범위인, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

- i) DMPC와 DPPC의 총 농도는 50 내지 300mM 범위이거나;
- ii) DMPC와 DPPC는 약제학적 조성물의 총 중량의 0.5%(w/w) 내지 30%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재하거나;
- iii) 리포좀은 0.5 μm 내지 10 μm의 평균 직경을 가지거나;
- iv) 상 전이 온도가 30°C 내지 35°C이거나;
- v) 관절 온도가 상기 상 전이 온도보다 1 내지 15°C 위의 범위에 있거나;

vi) 조성물이 히알루론산을 포함하지 않는, 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, DMPC 및 DPPC; 만니톨; 및 히스티딘 완충액으로 구성되며, 약제학적 조성물의 총 중량 기준, DMPC는 1%(w/w) 내지 10%(w/w) 범위의 중량%로 상기 약제학적 조성물에 존재하고, DPPC는 2%(w/w) 내지 12%(w/w) 범위의 중량%로 존재하며, 만니톨은 1%(w/w) 내지 7%(w/w) 범위의 중량%로 존재하는, 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

- i) 조성물이 리포좀의 혼탁액을 포함하는 비경구 약제학적 조성물의 형태이거나;
- ii) 조성물이 관절-내 주사, 관절경 투여 및 수술적 투여로 이루어진 군으로부터 선택되는 투여용으로 적합한 형태인, 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 관절 부위의 고통, 상해 또는 질환은 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염 환자의 골관절 염, 외상성 관절 부상, 관절 잠김(locked joint), 스포츠 부상, 골관절염(OA)으로의 외상성 부상, 관절천자 후 관절(joint following arthrocentesis), 관절경 수술(arthroscopic surgery), 개방성 관절 수술(open joint surgery), 관절 대치(joint replacement) 및 건선성 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 골관절염에서 무릎 관절 통증의 감소를 위한 것인, 조성물.

청구항 10

만니톨인 폴리올; 및

리포좀을 포함하며, 포유류의 관절에 윤활을 제공하기 위한, 투여량 단위의 형태로 제형화된 약제학적 조성물로서,

상기 리포좀은, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DMPC) 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC)을 포함하는 다층 소포(MLV)이고, 상기 리포좀은 20°C 내지 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지며;

상기 약제학적 조성물의 투여량 단위는 30mg 내지 550mg의 DPPC, 20mg 내지 450mg의 DMPC, 및 20mg 내지 350mg의 만니톨을 가지고;

상기 약제학적 조성물은, 관절 윤활, 관절 기능장애의 치료, 관절 통증, 관절 자극, 또는 관절 마모의 감소, 또는 이들의 조합에 사용하기 위해 공지된 부가적인 약제학적 활성제를 포함하지 않으며;

연골 퇴화, 관절 통증, 관절 운동성 감소, 관절 염증, 관절 자극, 또는 관절의 생리학적 과괴 및 기능장애를 초래하는 관절 부위의 고통, 상해 또는 질환을 갖는 대상체의 관절 통증 또는 관절 자극의 치료를 위한 것이고, 여기서 관절은 상기 상 전이 온도 위인 관절 온도를 갖는, 조성물.

청구항 11

제2항에 있어서, 상기 유체 매질은 완충액 및 물로부터 선택되는, 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 완충액은 히스티딘 완충액 및 인산염 완충 식염수로부터 선택되는, 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, DMPC 대 DPPC의 몰% 비는 25:75 내지 70:30의 범위에 있는, 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

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

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 인지질 자체가 유일한 활성 약제학적 제제인 리포좀 약제학적 조성물, 및 이의 관절 윤활을 위한 치료적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

관절 기능장애는 인구의 매우 큰 부분에 영향을 미친다. 충분한 바이오윤활(biolubrication)은 적절한 관절 운동성을 위한 전제 조건으로, 이는 관절의 저하되는 변화를 예방 및 완화하는데 결정적이다.

[0003]

일반적 관절 기능장애는 골관절염(osteoarthritis, OA)이며, 미국에서만 2천만 달러를 초과하는 유병률을 갖는다. 현재의 치료는 관절의 과부하 감소, 물리치료, 및 일반적으로 약물의 전신 또는 관절내 투여에 의한, 통증 및 염증의 완화에 초점이 맞춰져 있다.

[0004]

관절 연골은 뼈 움직임을 용이하게 하는 매끄럽고, 튼튼하며, 탄성이 있고 유연성이 있는 표면을 형성한다. 윤활(synovial) 공간은 히알루론산(HA)과 당단백질 루브리신(lubricin)를 함유하는, 점성이 높은 윤활액(synovial fluid, SF)으로 채워져 있다. HA는 D-글루쿠론산 및 D-N-아세틸글루코사민의 중합체이며, 이는 OA 염증 상태 하에서 매우 불안정하며 분해된다 (Nitzan, D.W., Kreiner, B. & Zeltser, R. TMJ lubrication system: its effect on the joint function, dysfunction, and treatment approach. *Compend. Contin. Educ. Dent.* **25**, 437-444 (2004); Yui, N., Okano, T. & Sakurai, Y. Inflammation responsive degradation of crosslinked hyaluronic acid gels. *J. Control. Release* **22**, 105-116 (1992)). 루브리신은 ~44% 단백질, ~45% 탄수화물 및 ~11% 인지질(phospholipid, PL)로 구성되며, 인지질 중 ~41%는 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine, PC), ~27%는 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine, PE)이고 ~32%는 스팽고미엘린이다. 이들 PL을 "표면-활성 인지질(surface-active phospholipids)" (SAPL)이라고 지칭한다.

[0005]

윤활제 분자의 충들이 대향하는 표면들을 분리하는, 경계 윤활은 관절의 부하 하에 발생한다. HA와 루브리신을 포함한, 관절 연골 내 본연의 경계 윤활제로서 여러 가지 상이한 물질이 제안되어 왔다. Pickard 등 및 Schwartz 및 Hills는, 루브리신의 표면 활성 인지질로 정의된 인지질들이 관절 연골에서 관절 윤활을 용이하게 한다는 것을 입증하였다(Pickard, J.E., Fisher, J., Ingham, E. & Egan, J. Investigation into the effects of proteins and lipids on the frictional properties of articular cartilage. *Biomaterials* **19**, 1807-1812 (1998); Schwarz, I.M. & Hills, B.A. Surface-active phospholipid as the lubricating component of lubricin. *Br. J. Rheumatol.* **37**, 21-26 (1998)). Hills 및 동료들은 OA 관절에 SAPL 결핍이 있다는 것과, OA 환자들의 관절 내에 표면-활성 인지질 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC)을 주사하면 주요 부작용 없이 14 주까지 지속되는 운동성 개선을 야기하였다는 것을 입증하였다(Vecchio, P., Thomas, R. & Hills, B.A. Surfactant treatment for osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* **38**, 1020-1021 (1999); Gudimelte, O.A., Crawford, R. & Hills, B.A. Consolidation responses of delipidized cartilage. *Clin. Biomech.* **19**, 534-542 (2004)). 고유한 극저온 연골 보존 기술을 이용하는, 또 다른 연구에서, Watanabe 등은 윤활에 주요 역할을 하는 것으로 가정되는, 건강한 연골 표면 상의 지질 구상 소포를 관찰하였다(Watanabe, M. 등 Ultrastructural study of upper surface layer in rat articular cartilage by "in vivo cryotechnique" combined with various treatments. *Med. Elect. Microsc.* **33**, 16-24 (2000)). Kawano 등 및 Forsey 등은, 동물 모델을 사용하여, DPPC와 조합된 고분자량 HA (~2000kDa)의 사용이 후자의 윤활 능력을 개선시키는 것으로 보여주었다(Kawano, T. 등 Mechanical effects of the intraarticular administration of high molecular weight hyaluronic acid plus phospholipid on synovial joint lubrication and prevention of articular cartilage degeneration in experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* **48**, 1923-1929 (2003); Forsey, R.W. 등 The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials* **27**, 4581-4590 (2006)).

[0006]

미국 특허 제6,800,298호는 포유류 관절의 윤활을 위해, 지질, 특히 인지질을 함유하는 텍스트란-기반 하이드로

겔 조성물을 개시하고 있다.

[0007] 미국 특허 출원 제2005/0123593호는 골관절염의 치료를 위한 관절내 투여를 위해 리포좀 전달 시스템에 캡슐화된 글리코사미노글리칸을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0008] 미국 특허 제8,895,054호는 약 20°C 내지 약 39°C의 범위의 상 전이 온도를 갖는 인지질 막들로 필수적으로 이루어지는 리포좀을 활용한 관절 윤활 및/또는 연골 마모 예방에 관한 것이다.

[0009] 활성 성분으로서 히알루론산에 기초하는, 골관절염 예방 및 치료를 위한 시판중인 약제학적 조성물로는, 특히, Antalvisc®, Kartilage® 및 Kartilage® Cross가 있다. 상기 약제학적 조성물은 HA에 더하여 만니톨을 포함한다. 만니톨은 산화 스트레스 하에서의 HA 분해를 감소시키는 능력을 가지며 이에 따라 주사된 HA의 관절-내 체류 시간을 상당히 증가시키고 HA-기반 관절-내 주사의 점성보충(viscosupplementation) 효과성을 개선하는 것으로 밝혀졌다(M. Rinaudo, B. Lardy, L. Grange, 및 T. Conrozier, *Polymers* 2014, 6, 1948-1957). 무릎 골관절염 환자에서, 고농도 만니톨과 혼합된 중간 분자량(MW) 히알루론산 및 높은 MW HA 단독(Bio-HA)으로 제조한 관절-내 점성보충제의 안전성과 효능을 모두 비교하는 임상 연구에 의하면 부작용을 더 많이 유도하지 않으면서, 6개월에 걸친 통증 완화 및 기능 개선과 관련하여, 만니톨 함유 점성보충제가 그것의 대조자 Bio-HA보다 덜 효과적이라는 것을 밝혔다(Conrozier, Thierry 등 *The Knee*, 2016, 23 (5), 842 - 848). HA-기반 점성보충제 조성물의 효능에 대한 만니톨의 영향 또한 Eymard 등 (Eymard F, Bossert M, Lecurieux R, Maillet B, Chevalier X, 등 (2016) Addition of Mannitol to Hyaluronic Acid may Shorten Viscosupplementation Onset of Action in Patients with Knee Osteoarthritis: Post-Hoc Analysis of A Double-blind, Controlled Trial. *J Clin Exp Orthop* 2: 21) 및 Conrozier, T. 등 (Role of high concentrations of mannitol on the stability of hyaluronan in an oxidative stress model induced by xanthine/xanthine oxidase Osteoarthritis and Cartilage, Volume 22 , S478)에 의해 연구되었다. Ferraccioli 등은 자유 라디칼의 생산으로 인해 점도 저하를 유도하기 때문에, 윤활액의 자외선 조사가 약물의 자유 라디칼 소거 효과의 스크리닝을 위한 유용한 방법일 수 있음을 보여주었다. 인간 윤활액의 점도 보호는 초파산화물 불균등화효소(Superoxide dismutase), 만니톨 및 카탈라아제에 의해 매개되었다 (G.F. Ferraccioli, U. Ambanelli, P. Fietta, N. Giudicelli, C. Giori, Decrease of osteoarthritic synovial fluid viscosity by means of u.v. illumination: A method to evaluate the free radical scavenging action of drugs, *Biochemical Pharmacology*, 30, (13) 1981, 1805-1808).

[0010] 국제 특허 출원 WO2012/001679는 활성 폴리올 성분을 포함하는, 관절-내 주사용으로 제형화된, 관절 자극의 완화 또는 감소, 또는 기존의 관절 염증의 악화 감소를 위한, 주사용 약제학적 제형에 관한 것으로, 이때 폴리올은 활성 성분은 자일리톨이다. 자일리톨의 효능을 관절 자극의 예방을 위한 만니톨과 글리세롤의 효능과 비교하였으며, 토끼 무릎 내로의 관절-내 주사에 의해 주입될 때, 만니톨 또는 글리세롤의 용액은 자극을 예방하지 않는 것으로 개시하였다.

[0011] 미국 특허 출원 제2014/0038917호는, 히알루론산, 또는 이의 염 중 하나, 및 폴리올, 바람직하게는 7mg/ml 이상의 농도의 소르비톨을 포함하는 젤의 형태로, 대상체의 관절-내 관절의 관절-내 공간에 투여하기 위한 멸균 및 주사 가능한 수성 제형에 관한 것이다.

[0012] 국제 특허 출원 WO2003/000191은 하나 이상의 히알루로니다아제 억제제와 조합하여 하나 이상의 글리코사미노글리칸을 포함하는 관절염을 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것으로, 여기서 히알루로니다아제 억제제는 해파란 설레이트, 엑스트란 설레이트 및 자일로오스 설레이트로부터 선택될 수 있고, 여기서 히알루론산은 리포좀에서 히알루로니다아제 억제제와 공동-캡슐화될 수 있다.

[0013] 주사 가능한 HA 조성물은 운동 곤란, 근육 통증 또는 강직, 관절 통증 및 관절 부종 또는 발적과 같은, 다양한 부작용을 갖는 것으로 알려져 있다. Antalvisc®의 부작용 중 몇몇은 주사 후에 주사된 관절의 일시적인 통증과 부종이 포함된다.

[0014] 따라서, 관절 윤활을 위한 효율적인 약제학적 조성물에 대한 충족되지 않은 필요성이 남아 있으며, 이는 관절-내 투여와 연관된 부작용 가능성을 감소시키면서, 오래 지속되는 효과를 제공할 것이다.

발명의 내용

[0015] 본 발명은, 통증과 자극을 감소시키고 관절 운동성을 개선시키거나 복구하기 위해 윤활 관절 내로 도입해서 윤활을 제공하기 위한 리포좀 제형을 제공한다. 리포좀 제형은 관절-내 전달에 특이적으로 적합하다. 본 발명의

약제학적 조성물은 생리학적 온도보다 약간 낮은 상 전이 온도를 갖는 인지질 막을 포함하는, 활성 성분으로서, 리포좀을 포함한다. 따라서, 리포좀은 윤활 관절에 투여될 때 액체 무질서(liquid-disordered (LD)) 단계로 있다. 약제학적 조성물은 폴리올인 등장성 제제(tonicity agent)를 더 포함한다. 등장성 제제는 적용 부위에서 삼투 쇼크를 방지함으로써 국소 자극을 감소시키는데 사용되고 있다.

[0016] 본 발명은, 리포좀 조성물에 첨가된, 비이온성 등장성 제제가 이온성 등장성 제제와 비교하여 향상된 윤활을 제공하였다는 놀라운 발견에 부분적으로 기초한다. 특히, 리포좀 제형에 만니톨을 첨가하여 조성물의 윤활 효능을 개선시킨 반면, 염화나트륨 사용은 리포좀의 윤활 효능을 감소시켰다. 만니톨의 효과는 약제학적 조성물이 인지질 자체 이외에 어떠한 부가적인 약제학적 활성제도 포함하지 않으며, 특히, 폴리올 첨가에 의해 활성이 향상되는 것으로 알려진, 히알루론산을 함유하지 않는다는 사실에서 훨씬 더 놀라운 것이다. 특이적으로 글리세롤을 포함한, 다른 비-이온성 폴리올의 첨가는, 덜 두드러진 정도이지만, 염화나트륨의 사용과 비교하여, 리포좀 제형의 윤활 능력의 향상도 초래하였다.

[0017] 따라서, 제1 측면에 따르면, 본 발명은 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 동일하거나 상이한, 2개의 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 글리세로인지질(GPL), 및 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 스팽고미엘린(SM)으로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 적어도 하나의 막을 포함하는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서 상기 적어도 하나의 막은 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지고; 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없다. 약제학적 조성물은 상 전이 온도 위인 온도를 갖는 포유류 관절의 윤활에 유용하다. 일부 실시예에 따르면, 등장성 제제는 비-이온성이다. 추가 실시예에 따르면, 폴리올은 만니톨과 글리세롤로부터 선택된다. 특정 실시예에 따르면, 등장성 제제는 만니톨을 포함한다.

[0018] 또 다른 측면에서 포유류의 관절을 윤활하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 동일하거나 상이한, 2개의 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 글리세로인지질(GPL), 및 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 스팽고미엘린(SM)으로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 적어도 하나의 막을 포함하는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물을 관절강 내로 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 적어도 하나의 막은 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지고; 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없고, 여기서 상기 관절은 상기 상 전이 온도 위인 관절 온도를 갖는다. 일부 실시예에 따르면, 등장성 제제는 비-이온성이다. 추가 실시예에 따르면, 폴리올은 만니톨과 글리세롤로부터 선택된다. 특정 실시예에 따르면, 등장성 제제는 만니톨을 포함한다.

[0019] 또 다른 측면에서, 관절 장애를 갖는 대상체의 관절에서의 통증 또는 자극의 치료 방법이 제공되며, 상기 방법은 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 동일하거나 상이한, 2개의 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 글리세로인지질(GPL), 및 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 스팽고미엘린(SM)으로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 적어도 하나의 막을 포함하는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물을 관절강 내로 투여하여 상기 대상체의 관절을 윤활시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 적어도 하나의 막은 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지고; 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없고, 여기서 상기 관절은 상기 상 전이 온도 위인 관절 온도를 갖는다. 일부 실시예에 따르면, 등장성 제제는 비-이온성이다. 추가 실시예에 따르면, 폴리올은 만니톨과 글리세롤로부터 선택된다. 특정 실시예에 따르면, 등장성 제제는 만니톨을 포함한다.

[0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 동일하거나 상이한, 2개의 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 글리세로인지질(GPL), 및 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 스팽고미엘린(SM)으로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 적어도 하나의 막을 포함하는 리포좀의 용도를 제공하고, 여기서 상기 적어도 하나의 막은 상 전이 온도 위인 온도를 갖는 포유류 관절의 윤활을 위한 약제학적 조성물의 제조를 위해, 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지고; 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없다. 일부 실시예에 따르면, 등장성 제제는 비-이온성이다. 추가 실시예에 따르면, 폴리올은 만니톨과 글리세롤로부터 선택된다. 특정 실시예에 따르면, 등장성 제제는 만니톨을 포함한다.

[0021] 일부 실시예에서, 폴리올은 자일리톨을 포함하지 않는다.

[0022] 일부 실시예에서, 폴리올은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 5%(w/w) 내지 약 50%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시예에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 20%(w/w) 내지 약 40%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시예에서, 글리세롤은 약제학적 조성물의 건조

중량의 약 5%(w/w) 내지 약 25%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시예에서, 인지질은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 50%(w/w) 내지 약 95%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0023] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 리포좀이 분산되거나 혼탁되는 유체 매질을 더 포함한다. 추가의 실시예에서, 폴리올은 상기 유체 매질에 분산되거나 용해된다. 또 다른 실시예에서, 만니톨은 상기 유체 매질에 용해된다. 유체 매질은 완충액 및 물로부터 선택될 수 있다. 소정의 실시예들에서, 상기 완충액은 히스티딘 완충액 또는 인산염 완충 식염수를 포함한다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 소정의 실시예들에서, 상기 완충액은 히스티딘 완충액을 포함한다.

[0024] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 유체 매질에 혼탁된 리포좀을 포함하는 약제학적으로 허용 가능한 혼탁액의 형태이다.

[0025] 일부 실시예에 따르면, 리포좀 내부의 폴리올의 농도는 리포좀 외부의 배지 내 폴리올의 농도와 본질적으로 동일하다.

[0026] 일부 실시예에서, 폴리올은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.05%(w/w) 내지 약 10%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예에서, 폴리올의 중량%는 약 0.1%(w/w) 내지 약 7%(w/w)의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 폴리올의 중량%는 약 1%(w/w) 내지 약 5%(w/w)의 범위이다.

[0027] 일부 실시예에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.1%(w/w) 내지 약 7%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예에서, 만니톨의 중량%는 약 1%(w/w) 내지 약 7%(w/w)의 범위이다.

[0028] 일부 실시예에서, 글리세롤은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.05%(w/w) 내지 약 5%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예들에서, 글리세롤의 중량%는 약 0.5%(w/w) 내지 약 5%(w/w)의 범위이다.

[0029] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물을 약 200 내지 약 600 mOsm 범위의 삼투압을 갖는다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 약 300 mOsm의 삼투압을 갖는다. 이러한 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 등장성이다.

[0030] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 약 5~8의 pH를 갖는다.

[0031] 일부 실시예에서, 리포좀과 폴리올 사이의 중량비는 약 15:1 내지 약 1:1의 범위이다. 추가의 실시예들에서, 리포좀과 만니톨 사이의 중량비는 약 10:1 내지 약 1:1의 범위이다. 추가 실시예들에서, 리포좀 및 글리세롤 사이의 중량비는 약 15:1 내지 약 2:1의 범위이다.

[0032] 일부 실시예에 따르면, 리포좀은 하나 이상의 막을 가진다. 이러한 특정 실시예에서, 리포좀은 다층 소포(multilamellar vesicle, MLV)이다.

[0033] 일부 실시예에서, GPL은 2개의 아실 사슬을 포함한다. 추가의 실시예에서, 상기 사슬은 C₁₄, C₁₅, C₁₆ 및 C₁₈ 아실 사슬로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시예들에서, 상기 탄화수소 사슬 중 적어도 하나는 포화 탄화수소 사슬이다. 추가의 실시예에서, 2개의 탄화수소 사슬이 포화된다.

[0034] 일부 실시예에서, PL은 포스파티딜콜린(PC)이다. 추가의 실시예에서, 적어도 하나의 막은 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DMPC)을 포함한다.

[0035] 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막은 1, 2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DPPC), 1,2-디펜타데카노일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (C15), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DSPC), 및 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고실포스포릴콜린 (D-에리트로 C16)로 이루어진 군으로부터 선택된 PC를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막 중의 DMPC의 몰%는 약 10% 내지 약 75%의 범위이다.

[0036] 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막은 DMPC 및 DPPC를 포함한다. 추가의 실시예에서, DMPC 대 DPPC의 몰% 비는 약 25:75 내지 약 70:30의 범위이다. 소정의 실시예들에서, DMPC 대 DPPC의 몰% 비는 약 45:55이다.

[0037] 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막은 DMPC 및 C15를 포함한다. 추가의 실시예에서, DMPC 대 C15의 몰% 비는 약 25:75 내지 약 45:55의 범위이다.

[0038] 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막은 DMPC 및 DSPC를 포함한다. 추가의 실시예에서, DMPC 대 DSPC의 몰% 비는 약 75:25이다.

- [0039] 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막은 DMPC 및 D-에리트로 C16을 포함한다. 추가의 실시예에서, DMPC 대 D-에리트로 C16의 몰% 비는 약 10:90 내지 약 25:75의 범위이다.
- [0040] 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막은 C15를 포함한다.
- [0041] 본 발명의 일부 실시예에 따른 약제학적 조성물 중의 인지질의 총 농도는 약 50 내지 약 300mM 범위이다. 소정의 실시예들에서, 인지질의 총 농도는 약 100mM 내지 약 200mM 범위이다.
- [0042] 일부 실시예에서, 인지질은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.5%(w/w) 내지 약 30%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예들에서, 인지질의 중량%는 약 3%(w/w) 내지 약 30%(w/w)의 범위이다.
- [0043] 일부 실시예에서, 리포좀은 약 0.5 μm 내지 약 10 μm의 평균 직경을 갖는다.
- [0044] 소정의 실시예들에서, 적어도 하나의 막은 약 30°C 내지 약 35°C의 상 전이 온도를 갖는다.
- [0045] 일부 실시예에서, 관절의 온도는 상기 상 전이 온도보다 약 1 내지 15°C 위의 범위이다.
- [0046] 일부 바람직한 실시예에서, 약제학적 조성물은 본질적으로 히알루론산이 없다.
- [0047] 소정의 실시예들에서, 리포좀은 상기에서 상세히 설명된 바와 같이, 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 적어도 하나의 막으로 필수적으로 구성된다.
- [0048] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 DMPC 및 DPPC; 만니톨; 및 히스티딘 완충액으로 필수적으로 구성된 MLV 리포좀을 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC는 약제학적 조성물의 총 중량의 약 1%(w/w) 내지 약 10%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 또 다른 실시예에서, DPPC는 약제학적 조성물의 총 중량의 약 2%(w/w) 내지 약 12%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 또 다른 실시예에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 1%(w/w) 내지 약 7%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.
- [0049] 일부 실시예에서, 관절의 윤활은 이로부터 발생하는 관절 장애 또는 증상의 치료를 위한 것이다. 다른 실시예에서, 관절 장애는 관절염, 골관절염, 류마티스 관절염 환자의 골관절염, 외상성 관절 부상, 관절 잠김(locked joint), 스포츠 부상, 관절천자 후 상태(status post arthrocentesis), 관절경 수술(arthroscopic surgery), 개방성 관절 수술(open joint surgery), 및 관절 대치(joint replacement)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 골관절염 환자에서 무릎 관절 통증의 감소를 위한 것이다.
- [0050] 일부 실시예에서, 윤활은 관절 마모를 예방하기 위한 것이다.
- [0051] 특정 실시예에 따르면, 약제학적 조성물은 리포좀의 혼탁액을 포함하는 비경구 약제학적 조성물이다. 약제학적 조성물은 관절-내 주사, 관절경 투여에 의하거나 수술적 투여에 의한 투여에 적합한 형태일 수 있다. 각각의 가능성이 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다.
- [0052] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 약제학적 조성물은 약 0.5ml 내지 약 10ml의 용량으로 투여될 수 있다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물은 약 1ml 내지 약 6ml의 용량으로 투여된다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 약 3ml의 용량으로 투여된다.
- [0053] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 20mg 내지 약 350mg의 만니톨을 포함한다. 소정의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 120mg의 만니톨을 포함한다.
- [0054] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 50mg 내지 약 1000mg의 인지질을 포함한다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 50mg 내지 약 500mg의 DPPC를 포함한다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 40mg 내지 약 300mg의 DMPC를 포함한다.
- [0055] 본 발명의 적용 가능성의 추가 실시예와 전체 범위는 이하에서 주어진 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 본 발명의 사상 및 범위 내에서 다양한 변화 및 변형이 상세한 설명으로부터 당 기술분야의 숙련자에게 명백해질 것이기 때문에, 본 발명의 바람직한 실시예를 나타내면서, 상세한 설명 및 특정 예들이 단지 예시로서만 주어진다는 점을 이해해야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0056] 도 1은 DMPC/DPPC를 포함하는 등장성 및 저장성 리포좀 조성물의 원시 시차주사 열량측정(DSC) 열상을

보여준다.

도 2는 C15를 포함하는 등장성 및 저장성 리포좀 조성물의 원시 시차주사 열량측정(DSC) 열상을 보여준다.

도 3은 DSC 스캔으로부터 평가된 상이한 인지질 혼합물을 포함하는 리포좀들의 SO 대 LD 상 전이 온도 범위를 보여주는 막대 그래프이다. 회색 구역은 20°C- 39°C의 온도 범위를 나타낸다.

도 4는 단백질-기반 액체에서 마모 시험 전 및 후의 연골 핀들의 프로파일을 보여준다. 연골하 골이 보이는 위치를 화살표로 표시한다. 프로파일이 더 양호한 가시성을 위해 이동됨에 따라 눈금은 유효 높이를 보여주지 않는다.

도 5a 내지 도 5b는 단백질-기반 액체에서 마모 시험 전(**도 5a**) 및 12시간 후(**도 5b**)의 연골 핀 #9의 광학 이미지를 보여준다. 외부 연골 고리 이외에, 연골이 마모된 연골하 골이 보였다(화살표로 표시됨).

도 6은 리포좀 조성물에서 마모 전 및 후의 연골 핀들의 프로파일을 보여준다. 프로파일이 더 양호한 가시성을 위해 이동됨에 따라 눈금은 유효 높이를 보여주지 않는다.

도 7a 내지 도 7b은 리포좀 조성물에서 마모 시험 전(**도 7a**) 및 6시간 후(**도 7b**)의 연골 핀 #14의 광학 이미지를 보여준다.

도 8a 내지 도 8b은 리포좀 조성물에서 마모 시험 전(**도 8a**) 및 12시간 후(**도 8b**)의 연골 핀 #17의 광학 이미지를 보여준다.

도 9a 내지 도 9b는 단백질 기반 대 리포좀 조성물의 질량 손실(**도 9a**) 및 높이 손실(**도 9b**)의 그래프 비교를 보여준다. 여러 막대는 측정 정확도의 대략적인 추정치이다.

도 10a 내지 도 10b는 단백질-기반 액체(**도 10a**) 및 리포좀 조성물(**도 10b**)에서 마모 시험 전 및 후의 연골 표면들의 프로파일을 보여준다.

도 11는 리포좀 조성물에서 시험한 핀 13 내지 18에 대한 마모 시험 전 ($t=0$) 및 (6h 및 12h) 후, 기울기 파라미터들 R_a (●), R_k (◆), R_{pk} (▲) 및 R_{vk} (▼)를 보여주며, 여기서 R_a 는 거칠기 프로파일의 산술 평균 편차이고 R_k 는 커넬 거칠기 깊이 (최고 피크(R_{pk})와 하부 골(R_{vk})의 값을 제외한 거칠기 깊이)이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0057]

본 발명은 포유류 관절의 윤활에 사용하기 위한 리포좀 제형을 제공하며, 상기 윤활은 통증과 자극 감소를 제공하고 관절 운동성을 개선하고 복원시키고 관절 마모를 감소시킬 수 있게 한다. 약제학적 조성물은 또한 관절 장애 또는 병태의 치료, 관리 또는 예방을 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 원리에 따른 약제학적 조성물은 리포좀 막의 한정된 상 전이 온도를 갖는, 리포좀 조성물에 기초하며, 상기 온도는 관절의 온도 아래이다.

[0058]

본원에서 사용되는, 용어 "상 전이 온도(phase transition temperature)"는 일부 실시예에서, 리포좀의 고체 질서(solid ordered, SO)에서 액체 무질서(liquid disordered, LD)로 상 전이가 일어나는 온도를 지칭한다. 리포좀의 상 전이 온도는 시차주사 열량측정(Differential Scanning Calorimetry, DSC)에 의해 평가될 수 있다. 상 전이 온도를 평가하기 위해 검사할 수 있는 DSC 열상의 다양한 파라미터로는 SO-LD 상 전이가 개시되는 온도를 나타내는, T_{on} , 및 가열 스캔 동안 SO-LD 상 전이가 종료되는 온도를 나타내는, T_{off} , 및 예비-전이 (T_p) 및 주 전이 (T_m) 동안 열 용량의 최대 변화가 각각 일어나는 온도를 나타내는, T_p , 및 T_m 를 포함한다.

[0059]

다중 소포 리포좀은 2개의 C₁₂-C₁₆ 탄화수소 사슬을 갖는, 다양한 PC로 구성되었으며, 이는 이전에 SO-대-LD 상 전이 온도 (그 내용이 전체적으로 참조로 본원에 원용되는, 미국 특허 제8,895,054호에 상세히 설명되어 있는 바와 같음) 보다 약간 높은 온도에서 (예, 약 1°C, 2°C, 3°C, 5°C, 8°C, 11°C 및 때때로 최대 약 15°C) 효과적인 연골 윤활제와 마모 감소제인 것으로 보여졌다. 본 발명의 약제학적 조성물은 비-이온성 등장성 제제를 추가로 포함하고, 이는 조성물의 삼투성을 증가시킨다.

[0060]

놀랍게도 비-이온성 폴리올을 포함하는 약제학적 조성물의 윤활 효능은 이온성 등장성 제제, 특히 염화나트륨 염을 포함하는 약제학적 조성물에 비해 상당히 더 높았다. 본 발명의 약제학적 조성물이, 그 활성이 폴리올의 첨가에 의해 향상되는 것으로 알려져 있는, 히알루론산에 기초하지 않기 때문에, 염화나트륨과 비교하여 폴리올의 긍정적 효과는 전적으로 예측되지 않았다.

[0061]

본 발명자들은, 만니톨의 첨가가 리포좀 막의 상 전이 온도를 변경시키지 않는다는 것을 추가로 보여주었다. 이

론이나 작용 메커니즘에 얹매이지 않으면서, 폴리올 첨가의 놀라운 효과는 리포좀의 상 전이 온도와 직접적으로 관련되지 않는 것으로 가정될 수 있으며, 이는 이전에 그의 윤활 능력을 제공하는 필수 특징부인 것으로 보고되었다.

[0062] 따라서, 본 발명의 일 측면에 따르면, 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 글리세로인지질(GPL) 또는 스팽고지질(SPL)로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하고 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물이 제공되고, 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 포유류 관절의 윤활에 사용하기 위한 것이다.

[0063] 다른 측면에서, 포유류의 관절을 윤활하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지는 글리세로인지질(GPL) 또는 스팽고지질(SPL)로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물을 관절강 내로 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없다.

[0064] 다른 측면에서, 관절 장애를 갖는 대상체의 관절에서의 통증 또는 자극의 치료 방법이 제공되며, 상기 방법은, 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지는 글리세로인지질(GPL) 또는 스팽고지질(SPL)로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물을 관절강 내로 투여하여 상기 대상체의 관절을 윤활시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없다.

[0065] 또 다른 측면에서, 본 발명은 폴리올을 포함하는, 등장성 제제; 및 포유류 관절의 윤활을 위한 약제학적 조성물의 제조를 위해, 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 가지는 글리세로인지질(GPL) 또는 스팽고지질(SPL)로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 리포좀의 용도를 제공하고, 여기서 상기 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없다.

[0066] 본원에서 사용되는, 용어 "등장성 제제(tonicity agent)"는 일부 실시예에서, 관절-내 주사를 위한 약제학적 조성물에 사용하기에 적합한 등장성 제제를 지칭한다.

[0067] 일부 실시예에서, 등장성 제제는 비-이온성이다. 일부 실시예에서, 폴리올은 선형 폴리올이다. 일부 실시예에서, 폴리올은 환형 폴리올이다. 본 발명의 약제학적 조성물에 사용하기에 적합한 비-이온성 폴리올의 비제한적인 예는 만니톨, 글리세롤, 텍스트로스, 락토오스 및 트레할로스를 포함한다.

[0068] 일부 바람직한 실시예에서, 폴리올은 만니톨이다. 만니톨은 주지의 저비용 부형제로, 다양한 유형의 약제학적 조성물에서 배합자에 의해 빈번하게 사용된다. 상기한 바와 같이, 만니톨은 관절 윤활을 위해 약제학적 조성물에서 히알루론산과 조합하여 사용되어 왔다. 만니톨은 또한 리포좀의 냉동보존에 유용한 것으로 보고되고 있다 (Talsma H, van Steenbergen MJ, Saleminck PJ, Crommelin DJ, Pharm Res. 1991, 8 (8):1021-6).

[0069] 일부 실시예에서, 등장성 제제는 글리세롤을 포함한다.

[0070] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 폴리올의 조합, 즉, 만니톨과 글리세롤의 조합을 포함한다. 약제학적 조성물은 추가적인 등장성 제제와 폴리올의 조합을 추가로 포함할 수 있다.

[0071] 일부 실시예에서, 폴리올은 자일리톨을 포함하지 않는다.

[0072] 일부 현재 바람직한 실시예에 따르면, 등장성 제제는 리포좀들 내에 캡슐화되지 않는 것이 강조되어야 한다. 본원에서 사용되는, "캡슐화된"이라는 용어는, 일부 실시예에서, 리포좀 내부의 등장성 제제의 농도가 리포좀 외부의 매질보다 상당히 높다는 것을 지칭한다. 용어 "리포좀 내부"는 리포좀 중 적어도 하나의 내부 수성 상을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 용어 "농도"는 삼투 농도를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는, "상당히 높다"는 용어는, 일부 실시예에서 적어도 약 90%의 농도 차이를 지칭한다. 일부 실시예에서, 폴리올은 리포좀 내에 캡슐화되지 않는다. 추가의 실시예에서, 만니톨은 리포좀 내에 캡슐화되지 않는다. 추가의 실시예에서, 글리세롤은 리포좀 내에 캡슐화되지 않는다.

[0073] 또 다른 실시예에 따르면, 리포좀 내부의 등장성 제제의 농도는 리포좀 외부의 매질에서의 등장성 제제의 농도와 본질적으로 동일하다. 본원에서 사용되는, "본질적으로 동일하다"라는 용어는, 일부 실시예에서, 약 15% 미만의 농도 차이를 지칭한다. 추가의 실시예에서, 용어 "본질적으로 동일하다"는 약 10% 미만, 약 5% 미만, 약 2.5% 미만, 또는 약 1% 미만의 농도 차이를 지칭한다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다.

[0074] 추가의 실시예에 따르면, 리포좀 내부의 폴리올의 농도는 리포좀 외부의 매질에서의 폴리올의 농도와 본질적으

로 동일하다. 또 다른 실시예에 따르면, 리포좀 내부의 만니톨의 농도는 리포좀 외부의 매질에서의 만니톨의 농도와 본질적으로 동일하다. 또 다른 실시예에 따르면, 리포좀 내부의 글리세롤의 농도는 리포좀 외부의 매질에서의 글리세롤의 농도와 본질적으로 동일하다.

[0075] 일부 실시예들에서, 리포좀은 동결 건조되지 않는다. 추가의 실시예들에서, 리포좀은 관절에 투여하기 전에 동결 건조 및/또는 해동되지 않는다.

[0076] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 유체 매질을 더 포함한다. 일부 실시예에서, 리포좀은 상기 유체 매질에 분산되거나 혼탁된다. 추가의 실시예에서, 등장성 제제는 상기 유체 매질에 용해되거나 분산된다. 추가의 실시예에서, 만니톨 또는 글리세롤은 상기 유체 매질에 용해된다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 유체 매질에 혼탁된 리포좀을 포함하는 약제학적으로 허용 가능한 혼탁액의 형태이다.

[0077] 상기 다양한 실시예에 따른 약제학적 조성물을 포함하고 유체 매질을 더 포함하는 약제학적으로 허용 가능한 혼탁액이 추가로 제공된다.

[0078] 일부 실시예에서, 폴리올은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 5%(w/w) 내지 약 50%(w/w), 또는 약 10%(w/w) 내지 약 40%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예들에서, 폴리올은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 30%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예에서, 폴리올은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 15%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0079] 일부 실시예에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 10%(w/w) 내지 약 50%(w/w), 또는 약 20%(w/w) 내지 약 50%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예들에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 30%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0080] 일부 실시예에서, 글리세롤은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 5%(w/w) 내지 약 35%(w/w), 또는 약 5%(w/w) 내지 약 25%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 다른 실시예에서, 글리세롤은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 15%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0081] 일부 실시예들에서, 리포좀을 형성하는 인지질은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 50%(w/w) 내지 약 95%(w/w), 또는 약 60%(w/w) 내지 약 85%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예들에서, 인지질은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 70%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 추가의 실시예들에서, 인지질은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 85%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0082] 본원에서 사용되는, 용어 "건조 중량"은 일부 실시예에서, 유체 매질을 포함하지 않는, 약제학적 조성물의 중량을 의미한다. 또 다른 실시예에서, 용어 "건조 중량"은 물을 포함하지 않는 약제학적 조성물의 중량을 지칭한다.

[0083] 일부 실시예에서, 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능하다. 본원에서 사용되는, 용어 "약제학적으로 허용 가능하다"는 일부 실시예에서는 안전하고, 본 발명에서 사용하기 위한 유효량의 활성 성분의 원하는 투여 경로에 대한 적정한 전달을 제공하는 임의의 제형을 지칭한다. 이 용어는 완충된 제형의 용도 또한 지칭하며, 여기서 화합물의 안정성 및 투여 경로에 따라, pH 4.0 내지 pH 9.0에 이르는, 특정한 원하는 값으로 pH가 유지된다.

[0084] 따라서, 유체 매질은 완충액, 물 및 염 용액으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시예에서, 유체 매질은 완충액을 포함한다. 소정의 실시예들에서, 상기 완충액은 히스티딘 완충액 또는 인산염 완충 식염수를 포함한다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 히스티딘의 농도는 약 0.5mg/ml 내지 약 10mg/ml의 범위일 수 있다. 소정의 실시예들에서, 히스티딘의 농도는 약 2mg/ml이다. 일부 실시예에서, 히스티딘의 농도는 약 1mM 내지 약 50mM 범위이다. 소정의 실시예들에서, 히스티딘의 농도는 약 10mM이다. 히스티딘은 용해된 염산 또는 아세트산 염의 형태로 조성물에 존재할 수 있다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은, 예를 들어 염산과 같은, 미량의 무기 산을 더 포함한다.

[0085] 약제학적 조성물의 pH는 약 5 내지 약 8의 범위일 수 있다. 일부 실시예에서, pH는 약 6 내지 약 7의 범위이다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물의 pH는 약 6.5이다.

[0086] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물 중의 폴리올의 농도는 약 0.5 내지 약 100mg/ml의 범위이다. 추가의 실시예에서, 폴리올의 농도는 약 1 내지 약 70mg/ml의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 폴리올의 농도는 약 2.5 내지 약 60mg/ml의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 폴리올의 농도는 약 5 내지 약 50mg/ml의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 폴리올의 농도는 약 30 내지 약 50mg/ml의 범위이다. 소정의 실시예들에서, 폴리올의 농도는 약 5 내지

약 30mg/ml의 범위이다.

[0087] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물 중의 만니톨의 농도는 약 1mg/ml 내지 약 70mg/ml의 범위이다. 추가의 실시예에서, 만니톨의 농도는 약 10mg/ml 내지 약 70mg/ml의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 만니톨의 농도는 약 10mg/ml 내지 약 50mg/ml의 범위이다. 소정의 실시예들에서, 만니톨의 농도는 약 40mg/ml이다. 추가의 실시예에서, 만니톨의 농도는 약 20mg/ml이다.

[0088] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물 중의 글리세롤의 농도는 약 0.5mg/ml 내지 약 50mg/ml의 범위이다. 추가의 실시예에서, 글리세롤의 농도는 약 1mg/ml 내지 약 40mg/ml의 범위이다. 또 다른 실시예들에서, 글리세롤의 농도는 약 5mg/ml 내지 약 30mg/ml의 범위이다. 소정의 실시예들에서, 글리세롤의 농도는 약 20mg/ml이다. 추가 실시예에서, 글리세롤의 농도는 약 10mg/ml이다.

[0089] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물 중의 폴리올의 농도는 약 50 내지 약 500mM 범위이다. 추가의 실시예에서, 폴리올의 농도는 약 100 내지 약 400mM 범위이다. 또 다른 실시예에서, 폴리올의 농도는 약 200 내지 약 300mM 범위이다. 폴리올은 만니톨과 글리세롤로부터 선택될 수 있다.

[0090] 일부 실시예에서, 폴리올은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.05%(w/w) 내지 약 10%(w/w), 약 0.1%(w/w) 내지 약 7%(w/w), 약 0.5%(w/w) 내지 약 10%(w/w), 또는 약 1%(w/w) 내지 약 5%(w/w)의 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예들에서, 폴리올의 중량%는 약 4%(w/w)이다. 추가 실시예에서, 폴리올의 중량%는 약 2%(w/w)이다.

[0091] 일부 실시예에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.1%(w/w) 내지 약 7%(w/w), 약 0.5%(w/w) 내지 약 10%(w/w), 또는 약 1%(w/w) 내지 약 7%(w/w)의 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예들에서, 만니톨의 중량%는 약 4%(w/w)이다.

[0092] 일부 실시예에서, 글리세롤은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.05%(w/w) 내지 약 5%(w/w), 또는 약 0.5%(w/w) 내지 약 5%(w/w)의 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예들에서, 글리세롤의 중량%는 약 2%(w/w)이다.

[0093] 본원에서 사용되는, 용어 "총 중량"은 일부 실시예에서 유체 매질을 포함하는 약제학적 조성물의 중량을 지칭한다. 추가의 실시예에서, 용어 "총 중량"은 약제학적으로 허용 가능한 혼탁액의 중량을 지칭한다.

[0094] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 약 200 내지 약 600 mOsm 범위의 삼투압을 갖는다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물은 약 250 내지 약 500 mOsm 범위의 삼투압을 갖는다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물은 약 250 내지 약 400 mOsm 범위의 삼투압을 갖는다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 약 300 mOsm의 삼투압을 갖는다. 이러한 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 등장성이다.

[0095] 일부 실시예에서, 리포좀과 폴리올 사이의 중량비는 약 30:1 내지 약 1:2의 범위이다. 추가의 실시예들에서, 리포좀과 폴리올 사이의 중량비는 약 15:1 내지 약 2:1의 범위이다. 또 다른 실시예들에서, 리포좀과 폴리올 사이의 중량비는 약 10:1 내지 약 2:1의 범위이다. 또 다른 실시예들에서, 리포좀과 폴리올 사이의 중량비는 약 6:1 내지 약 2:1의 범위이다. 추가 실시예들에서, 리포좀과 폴리올 사이의 중량비는 약 10:1 내지 약 6:1의 범위이다.

[0096] 일부 실시예에서, 리포좀과 만니톨 사이의 중량비는 약 10:1 내지 약 1:1의 범위이다. 추가의 실시예들에서, 리포좀과 만니톨 사이의 중량비는 약 6:1 내지 약 2:1의 범위이다. 소정의 실시예들에서, 리포좀과 만니톨 사이의 중량비는 약 4:1이다.

[0097] 일부 실시예에서, 리포좀과 글리세롤 사이의 중량비는 약 15:1 내지 약 2:1의 범위이다. 추가의 실시예들에서, 리포좀과 글리세롤 사이의 중량비는 약 12:1 내지 약 2:1의 범위이다. 또 다른 실시예들에서, 리포좀과 글리세롤 사이의 중량비는 약 10:1 내지 약 6:1의 범위이다.

[0098] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 pH는 무기 산 또는 염기의 사용에 의해 조정될 수 있다. 적절한 무기 염기의 비제한적인 예는 수산화나트륨 및 수산화칼륨을 포함한다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다.

[0099] 본 발명의 일부 실시예에 따르면, GPL은 포스포콜린 헤드기(포스파티딜콜린, PC 기반 지질) 또는 포스포글리세롤 헤드기(포스파티딜글리세롤, PG 기반 지질)를 포함하며, SPL은 세라마이드(N-아실 스팽고신-포스포콜린(SM 기반 지질)으로도 지칭되는, N-아실 스팽고신 운반 포스포콜린 헤드기)이다.

- [0100] PC 및 SM는 양이온성 콜린 및 음이온성 디에스테르 인산염 모이어티를 갖는 (포스포콜린 헤드기를 구성함) 쌍성이온성 인지질이다. PC와 PG의 소수성 부분은 2개의 탄화수소(예, 아실 및 알킬) 사슬을 포함한다. SM은 또한 2개의 소수성 탄화수소 사슬을 가지며, 이 중 하나는 스팽고이드 염기 자체의 사슬이고 다른 하나는 N-아실 사슬이다. 탄화수소 사슬이 12개의 탄소 원자를 초과하는 PC, SM 및 PG는 이들의 패킹 파라미터가 0.74-1.0 범위에 있기 때문에 모두 원통형과 비슷한 형상이다. 이들은, SO 대 LD 상 전이 온도 위인 지질 소포(리포좀)를 형성하기 위해 고도로 수화되고 소포화되는 지질 이중층을 형성한다. PC 및 PG 리포좀 이중층은 고체 질서(SO) 상, 또는 액체 무질서(LD)로 있을 수 있다. SO 대 LD 상 사이의 전환은 흡열, 주 상 전이로 지칭되는 제1 질서 상 전이를 포함한다. T_m 은 SO 대 LD 상 전이 동안 열 용량 변화의 최대 변화가 발생하는 온도이다. T_m 및 PL의 SO 대 LD 상 전이에 대한 온도 범위는, 특히, PL 탄화수소 사슬 조성물에 좌우된다. LD 상에서 (그러나 SO 상에서는 아님), 하전된 포스포콜린 및 포스포글리세롤 헤드기는 고도로 수화된다.
- [0101] 일부 실시예에서, 용어 "상 전이 온도"는 T_m 를 지칭한다. 다른 실시예에서, 용어 "상 전이 온도"는 SO 대 LD 상 전이의 온도 범위를 지칭한다.
- [0102] 또한 PG와 SM은 대응하는 PC의 (동일한 길이의 치환하는 탄화수소 사슬(들))과 유사한 T_m 을 갖는 것을 유의해야 한다. 예를 들어, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포릴글리세롤(DMPG)의 T_m 은 DMPC의 온도, 즉, 23°C, 그리고 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포릴글리세롤(DPPG)의 온도와 동일하거나 N-팔미토일 SM은 DPPC의 온도, 즉, 41°C와 동일하다. 따라서, 하기 예들은 주로 PC-기반 지질을 활용하지만, 본 발명에 따른 PL은 또한 PG- 또는 SM-기반 지질일 수 있다.
- [0103] 본 발명의 원리에 따르면, 2개 이상의 PL의 혼합물(예, 2개의 상이한 PC, PG를 갖는 PC, 2개의 상이한 PG, 2개의 SM, PC 또는 SM를 갖는 PG 등등)은, 원위치에 있을 때 (예, 건강한 관절 또는 기능장애를 가진 관절의 관절 영역에서), 형성된 혼합물이 LD 상태에 있는 한, 사용될 수 있다.
- [0104] 일부 특정 실시예에서, 리포좀은 PC를 포함한다. 또 다른 특정 실시예에서, 리포좀은 2개의 상이한 PC의 조합을 포함한다. 다른 특정 실시예에서, 리포좀은 PC 및 SM의 조합을 포함한다.
- [0105] 일부 실시예에서, 리포좀은 동일하거나 상이한, 2개의 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 글리세로인지질(GPL), 및 C₁₂-C₁₈ 탄화수소 사슬을 갖는, 스팽고지질(SPL)로부터 선택된 적어도 하나의 인지질(PL)을 포함하는 적어도 하나의 막을 포함하는 것을 특징으로 한다. 고체 질서(SO)에서 액체 무질서(LD) 상 전이가 일어나는 상 전이 온도는, 약 20°C 내지 약 39°C의 온도 범위 내에 있다. 리포좀은 상 전이 온도보다 높은 관절 온도를 갖는 관절을 윤활하는 데에 사용된다. 따라서, 리포좀은 관절 내에서 LD 상에 있다.
- [0106] 상기 조건은 누적되고, 즉 리포좀 내에 함유된 PL의 선택(단일 PL 또는 추가 PL과 PL의 조합)은 리포좀이 약 20°C 내지 약 39°C의 SO-LD 상 전이 온도를 가지게 하는 것을 유의해야 한다.
- [0107] GPL 또는 SPL은 알킬, 알케닐 또는 아실 C₁₂ 내지 C₁₈ 탄화수소 사슬을 가질 수 있다. GPL의 경우, 2개의 사슬은 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 실시예에서, GLP는 C₁₂-C₁₆ 탄화수소 사슬을 가질 수 있다. 추가적인 실시예에서, SPL은 C₁₂-C₁₆ 탄화수소 사슬을 가질 수 있다.
- [0108] 하나의 특정 실시예는 적어도 하나의 C₁₄ 아실 사슬을 갖는 GPL 또는 SPL을 갖는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 또 다른 특정 실시예는 적어도 하나의 C₁₅ 아실 사슬을 갖는 GPL 또는 SPL을 갖는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 또 다른 특정 실시예는 C₁₄, C₁₅, C₁₆, 및 C₁₈ 아실 사슬 중 적어도 하나를 갖는 GPL를 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 또 다른 특정 실시예는 C₁₆ 아실 사슬을 갖는 SPL을 갖는 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 추가의 실시예는 상기 리포좀들 중 임의의 것의 조합을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0109] 일부 실시예에서 적어도 하나의 C₁₂-C₁₈ 또는 C₁₂-C₁₆ 소수성 사슬은 포화된다. 추가의 실시예에서 C₁₂-C₁₈ 및 C₁₂-C₁₆ 소수성 사슬 모두 포화된다.
- [0110] 일부 실시예에서 상기 C₁₂-C₁₈ 또는 C₁₂-C₁₆ 소수성 사슬은 불포화된다.
- [0111] 본 발명의 원리에 따라 리포좀에 존재할 수 있는 인지질 중 비제한적인 예는 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-

3-포스포콜린 (DMPC, $T_m \sim 24^\circ\text{C}$) ; 1, 2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DPPC, $T_m 41.4^\circ\text{C}$) ; 1,2-디펜타데카노일--sn-글리세로-3-포스포콜린 (C15, $T_m 33.0^\circ\text{C}$) ; 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DSPC), $T_m 55^\circ\text{C}$) ; 및 N-팔미토일-D-에리트로-스팡고실포스포릴콜린 (D-에리트로 C16, $T_m 41.0^\circ\text{C}$)을 포함한다. 다양한 PC-기반 지질의 T_m 값은 "Thermotropic Phase Transitions of Pure Lipids in Model Membranes and Their Modifications by Membrane Proteins", John R. Silvius, Lipid-Protein Interactions, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1982, 및 또한 지질 열방성 상 전이 데이터 베이스(Lipid Thermotropic Phase Transition Data Base) - LIPIDAT, 및 Marsh (1990)에서 발견될 수 있다.

[0112] 일부 실시예에 따르면, 2개 이상의 PL의 혼합물을 사용할 때, 이들 사이의 몰비는 약제학적 조성물이 관절에 투여될 때 상기 조합의 T_m 이 LD 상으로 리포좀을 제공하도록 설계된다. 추가의 실시예에서, 몰비는 약 20°C 내지 약 39°C 범위의 상 전이 온도를 갖는 리포좀을 제공하도록 선택된다.

[0113] 일부 실시예에서, 리포좀은 DMPC를 포함한다. 추가의 실시예에서, 리포좀은 DMPC로 필수적으로 구성된다. 또 다른 실시예에서, 리포좀 중 적어도 하나의 막은 DMPC로 필수적으로 구성된다. 추가적인 실시예에서, DMPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 등장성 제제의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 등장성 제제를 포함한다. 추가의 실시예에서, DMPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 폴리올의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 폴리올을 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 만니톨의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 만니톨을 포함한다.

[0114] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 DMPC와 추가 PC의 조합을 포함하는 리포좀을 포함한다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 DMPC와 SPM의 조합을 포함하는 리포좀을 포함한다.

[0115] 일부 실시예에서, 리포좀 막 내 DMPC의 몰%는 약 5% 내지 약 100%의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 리포좀 막 내 DMPC의 몰%는 약 5% 내지 약 80%의 범위이다. 추가의 실시예들에서, 리포좀 막 내 DMPC의 몰%는 약 10% 내지 약 75%, 약 15% 내지 약 70%, 약 20% 내지 약 65%, 약 25% 내지 약 60%, 약 30% 내지 약 55%, 약 35% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 15%, 약 20% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 30%, 약 40% 내지 약 50%, 또는 약 70% 내지 약 80%의 범위이다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 일부 예시적인 실시예에서, 리포좀 막 내 DMPC의 몰%는 약 10%이다. 다른 예시적인 실시예에서, 리포좀 막 내 DMPC의 몰%는 약 25%이다. 추가의 예시적인 실시예에서, 리포좀 막 내 DMPC의 몰%는 약 45%이다. 추가의 예시적인 실시예에서, 리포좀 막 내 DMPC의 몰%는 약 75%이다

[0116] 일부 실시예에서, 리포좀은 DMPC와 DPPC의 조합을 포함한다. 다른 실시예에서, 리포좀은 DMPC 및 DPPC로 필수적으로 구성된다. 또 다른 실시예에서, 리포좀의 적어도 하나의 막은 DMPC 및 DPPC로 필수적으로 구성된다. 추가의 실시예에서, DMPC와 DPPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 등장성 제제의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 등장성 제제를 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC와 DPPC로 필수적으로 이루어진 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 폴리올의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 폴리올을 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC 및 DPPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 만니톨의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 만니톨을 포함한다.

[0117] 일부 실시예에서, DMPC 대 DPPC의 몰% 비는 약 25:75 내지 약 70:30의 범위에 있다. 다른 실시예에서, DMPC 대 DPPC의 몰% 비는 약 30:70 내지 약 65:25, 약 35:65 내지 약 60:30, 또는 약 40:60 내지 약 55:45의 범위에 있다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 소정의 실시예들에서, DMPC 대 DPPC의 몰% 비는 약 45:55이다. 추가 실시예들에서, DMPC 대 DPPC의 몰% 비는 약 25:75이다.

[0118] 일부 실시예에서, DMPC와 DPPC의 조합을 포함하는 리포좀의 상 전이 온도는 약 33°C 내지 약 37°C 의 범위이다.

[0119] 일부 실시예에서, 리포좀은 DMPC와 C15의 조합을 포함한다. 추가의 실시예에서, 리포좀은 DMPC 및 C15로 필수적으로 구성된다. 또 다른 실시예에서, 리포좀 중 적어도 하나의 막은 DMPC 및 C15로 필수적으로 구성된다. 추가의 실시예에서, DMPC 및 C15로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 등장성 제제의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 등장성 제제를 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC 및 C15로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 폴리올의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 폴리올을 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC 및 C15로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 만니톨의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 만니톨을 포함한다.

- [0120] 일부 실시예에서, DMPC 대 C15의 몰% 비는 약 15:85 내지 약 55:45의 범위이다. 추가의 실시예에서, DMPC 대 C15의 몰% 비는 약 25:75 내지 약 45:55의 범위이다. 소정의 실시예들에서, DMPC 대 C15의 몰% 비는 약 45:55 이다. 추가 실시예에서, DMPC 대 C15의 몰% 비는 약 25:75이다.
- [0121] 일부 실시예에서, DMPC와 C15의 조합을 포함하는 리포좀의 상 전이 온도는 약 29°C 내지 약 31°C의 범위이다.
- [0122] 일부 실시예에서, 적어도 하나의 막은 DMPC 및 DSPC를 포함한다. 다른 실시예에서, 리포좀은 DMPC 및 DSPC로 필수적으로 구성된다. 또 다른 실시예에서, 리포좀 중 적어도 하나의 막은 DMPC 및 DSPC로 필수적으로 구성된다. 추가의 실시예에서, DMPC와 DSPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 등장성 제제의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 등장성 제제를 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC와 DSPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 폴리올의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 폴리올을 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC 및 DSPC로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 만니톨의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 만니톨을 포함한다.
- [0123] 일부 실시예에서, DMPC 대 DSPC의 몰% 비는 약 75:25이다.
- [0124] 일부 실시예에서, DMPC와 DSPC의 조합을 포함하는 리포좀의 상 전이 온도는 약 27°C이다.
- [0125] 일부 실시예에서, 리포좀은 DMPC와 D-에리트로 C16의 조합을 포함한다. 또 다른 실시예에서, 리포좀은 DMPC 및 D-에리트로 C16로 필수적으로 구성된다. 또 다른 실시예에서, 리포좀 중 적어도 하나의 막은 DMPC 및 D-에리트로 C16로 필수적으로 구성된다. 추가 실시예에서, 리포좀은 DMPC 및 D-에리트로 C16로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 등장성 제제의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 등장성 제제를 포함한다. 또 다른 실시예에서, 리포좀은 DMPC 및 D-에리트로 C16로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 폴리올의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 폴리올을 포함한다. 또 다른 실시예에서, 리포좀은 DMPC 및 D-에리트로 C16로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 만니톨의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 만니톨을 포함한다.
- [0126] 일부 실시예에서, DMPC 대 D-에리트로 C16의 몰% 비는 약 5:95 내지 약 50:50의 범위에 있다. 추가 실시예에서, DMPC 대 D-에리트로 C16의 몰% 비는 약 10:90 내지 약 45:55, 약 10:90 내지 약 40:60, 약 10:90 내지 약 35:65, 약 10:90 내지 약 30:70, 또는 약 10:90 내지 약 25:75의 범위에 있다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 일부 실시예에서, DMPC 대 D-에리트로 C16의 몰% 비는 약 5:95 내지 약 50:50의 범위에 있다. 일부 예시적인 실시예에서, DMPC 대 D-에리트로 C16의 몰% 비는 약 10:90이다. 다른 예시적인 실시예에서, DMPC 대 D-에리트로 C16의 몰% 비는 약 25:75이다.
- [0127] 일부 실시예에서, DMPC와 D-에리트로 C16의 조합을 포함하는 리포좀의 상 전이 온도는 약 27°C 내지 32°C의 범위이다.
- [0128] 일부 실시예에서, 리포좀은 C15를 포함한다. 다른 실시예에서, 리포좀은 C15로 필수적으로 구성된다. 또 다른 실시예에서, 리포좀 적어도 하나의 막은 C15로 필수적으로 구성된다. 추가의 실시예에서, C15로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 등장성 제제의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 등장성 제제를 포함한다. 추가의 실시예에서, C15로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 폴리올의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 폴리올을 포함한다. 또 다른 실시예에서, C15로 필수적으로 구성되는 리포좀은 리포좀 외부의 매질에서의 만니톨의 농도와 본질적으로 동일한 리포좀 내부의 농도를 갖는 만니톨을 포함한다.
- [0129] 본 발명의 일부 실시예에 따른 약제학적 조성을 내의 총 PL 농도는 약 20mM 내지 약 500mM의 범위이다. 추가의 실시예에서, 농도는 약 50mM 내지 약 300mM의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 농도는 약 100mM 내지 약 200mM의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 농도는 약 130mM 내지 약 170mM의 범위이다. 소정의 실시예들에서, 총 PL 농도는 약 150mM이다.
- [0130] 일부 실시예에서, 총 PL 농도는 약 10mg/ml 내지 약 500mg/ml의 범위이다. 추가의 실시예들에서, 농도는 약 30mg/ml 내지 약 300mg/ml의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 농도는 약 50mg/ml 내지 약 200mg/ml의 범위이다. 소정의 실시예들에서, 총 PL 농도는 약 100mg/ml이다.
- [0131] 일부 실시예에서, 리포좀을 형성하는 인지질은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 0.1%(w/w) 내지 약 40%(w/w), 약 0.5%(w/w) 내지 약 30%(w/w), 약 3%(w/w) 내지 약 30%(w/w), 또는 약 1%(w/w) 내지 약 20%(w/w)의 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예들에서, 리포좀을 형성하는 인지질은 약 10%(w/w)의 중량%

로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0132] 일부 실시예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물에 사용하기에 적합한 리포좀은 그들의 이중층에 콜레스테롤 같은 막 활성 스테로롤을 포함하지 않는다. 본 발명의 약제학적 조성물은 바람직하게는 프로필렌 글리콜을 함유하지 않는다는 점에 유의해야 한다. 본 발명의 약제학적 조성물은 바람직하게는 텍스트란을 함유하지 않는다는 점에 유의해야 한다.

[0133] 또한, 본 발명의 약제학적 조성물에 사용되는 리포좀은 소정의 약제학적 활성제의 담체로서 아니라 활성 성분으로서 사용된다는 점을 강조해야 한다. 이와 같이 그리고 전술한 바와 같이, 본 발명의 원리에 따른 약제학적 조성물은 본질적으로 부가적인 약제학적 활성제가 없다. 본원에서 사용되는, 용어 "본질적으로 부가적인 약제학적 활성제(pharmaceutical active agent)가 없다"는 일부 실시예에서, 관절 운활, 관절 기능장애 치료, 관절 통증, 자극 및/또는 마모 감소, 또는 이들의 임의의 조합에 사용하기 위해 공지된, 치료학적 유효량 미만의 약제학적 활성제를 포함하는 약제학적 조성물을 지칭한다. 본원에서 사용되는, 용어 "사용하기 위해 공지된"은 일부 실시예에서, 본 발명의 시점에서 표시된 용도에 대해 승인된 약제학적 활성제를 지칭한다. 또 다른 실시예에서, 용어 "사용하기 위해 공지된"은 미래에 표시된 용도에 대해 승인될 약제학적 활성제를 지칭한다. 또 다른 실시예에서, 용어 "사용하기 위해 공지된"은 표시된 사용에 적합한 것으로 과학 문헌 및/또는 특허에 언급되는 약제학적 활성제를 지칭한다.

[0134] 일부 실시예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은, 윤활제, 예컨대, 특히, 글리코사미노글리칸 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 에스테르 또는 유도체인 약제학적 활성제를 포함하지 않는다. 소정의 실시예들에서, 상기 글리코사미노글리칸은 히알루론산 또는 히알루로난 함유 염 또는 에스테르이다. 소정의 실시예들에서, 히알루론산은 리포좀 내에 캡슐화되지 않는다. 추가적으로 또는 대안적으로, 히알루론산은 유체 매질에 분산되어서는 안된다. 일부 현재 바람직한 실시예에서, 약제학적 조성물은 필수적으로 히알루론산, 또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 에스테르가 없다. 히알루론산과 관련하여 사용되는, "본질적으로 없는"이라는 용어는, 일부 실시예에서, 치료학적 유효량 미만의 히알루론산 또는 이의 염 또는 에스테르를 포함하는 약제학적 조성물을 지칭한다. 추가의 실시예들에서, 용어 "본질적으로 없는"은 검출가능한 양 미만의 히알루론산 또는 이의 염 또는 에스테르를 포함하는 약제학적 조성물을 지칭한다.

[0135] 일부 실시예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은, 표재 영역 단백질(superficial zone protein, SZP), 루브리신, 프로테오글리칸 4 및 이의 유사체 및 유도체로부터 선택되는 윤활제인 약제학적 활성제를 포함하지 않는다.

[0136] 일부 실시예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 자일리톨, 베타메타손, 프레드니솔론, 피록시캄, 아스피린, 폴루르비프로펜, (+)-N-{4-[3-(4-플루오로페녹시)페녹시]-2-시클로펜텐-1-일}-하이드록시우레아 살살레이트, 디플루니살, 이부프로펜, 페노프로펜, 페나메이트, 케토프로펜, 나부메톤, 나프록센, 디클로페낙, 인도메타신, 술린닥, 툴메틴, 에토도락, 케토로락, 옥사프로진, 세레콕시브, 메클로페나메이트, 메페남산, 옥시펜부타존, 페닐부타존, 살리실레이트 또는 피토스핑고신 타입 제제 같은, 항염제인 약제학적 활성제를 포함하지 않는다.

[0137] 일부 실시예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 항바이러스제, 예컨대 아시클로비르, 넬피나비르, 또는 비라졸인 약제학적 활성제를 포함하지 않는다.

[0138] 일부 실시예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은, 페니실린, 세팔로스포린, 아미노글리코시딕, 마크로리드, 카르바페넴 및 페넴 과에 속하는 항생제, 베타-락탐 모노사이토클릭, 베타-락타마제의 억제제, 및 테트라사이클린, 폴리펩티드성 항생제, 클로람페니콜 및 유도체, 폴리-에테르성 이온운반체(ionophore) 및 쿼놀론을 포함하는, 항생제인 약제학적 활성제를 포함하지 않는다. 이러한 항생제의 비제한적인 예로는 암피실린, 담손(dapsone), 클로람페니콜, 네오마이신, 세파클로르, 세파드록실, 세팔렉신, 세프라딘, 에리트로마이신, 클린디마이신, 린코마이신, 아목시실린, 암피실린, 바кам피실린, 카르베니실린, 디클록사실린, 시클라실린, 피클록사실린, 헤타실린, 메티실린, 나프실린, 옥사실린, 페니실린 G, 페니실린 V, 티카르실린, 리팜핀, 테트라사이클린, 푸시딘산, 린코마이신, 노보비오신 및 스팩티노마이신을 포함한다.

[0139] 일부 실시예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 벤즈알코늄 클로라이드 또는 클로르헥시딘과 같은, 항-감염제인 약제학적 활성제를 포함하지 않는다.

[0140] 일부 실시예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 스테로이드인 약제학적 활성제를 포함하지 않는다. 본원에서 사용되는, 용어 "스테로이드"는 자연 발생 스테로이드 및 이의 유도체뿐만 아니라 스테로이드 유사 활성을 갖는 합성 또는 반-합성 스테로이드 유사체를 지칭한다. 스테로이드는 당질코르티코이드 또는 코르티코스테로이드일 수 있다. 구체적인 천연 및 합성 스테로이드의 예로는 알도스테론, 베클로메타손, 베타메타손, 부데소니드, 클

로프레드놀, 코르티손, 코르티바졸, 데옥시코르تون, 테소니드, 데스옥시메타손, 텍사메타손, 디플루오로코르톨론, 플루클로론, 플루메타손, 플루니솔리드, 플루오시놀론, 플루오시노니드, 플루오코르틴 부틸, 플루오로코르티손, 플루오로코르톨론, 플루오로메톨론, 플루란드레놀론, 플루티카손, 할시노니드, 하이드로코르티손, 이코메타손, 메프레드니손, 메틸프레드니솔론, 파라메타손, 프레드니솔론, 프레드니손, 틱소코르톨 또는 트리암시놀론, 및 이의 각각의 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 유도체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0141] 일부 실시예에 따르면, 인지질은 유일한 활성 성분으로서 본 발명의 약제학적 조성물에 사용된다.

[0142] 일부 실시예에 따르면, 약제학적 조성물은 본원에 기술된 바와 같이, 폴리올을 포함하는 비-이온성 등장성 제제 및 리포좀으로 필수적으로 구성된다. 일부 실시예에서, 용어 "필수적으로 구성되는(consisting essentially of)"은 유일한 활성 성분이 표시된 활성 성분(즉, 리포좀)이지만, 제형의 삼투압, 점도 및/또는 pH를 안정화시키고, 보존하고 그리고/또는 제어하기 위한 것이지만, 리포좀 및/또는 인지질의 치료 효과에 직접적으로 관여되지 않는 다른 화합물이 포함될 수도 있는 조성물을 지칭한다. 일부 실시예에서, 용어 "구성되는(consisting)"은 리포좀, 등장성 제제 및 약제학적으로 허용 가능한 비히클 또는 부형제를 함유하는, 조성물을 지칭한다.

[0143] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 약제학적 조성물은 멸균될 수 있고, 원하는 경우, 보조제, 예를 들어 리포좀과 유해 반응하지 않는 보존제, 안정화제, 습윤제, 합성 유화제, 삼투압에 영향을 미치기 위한 추가 염, 착색제, 및/또는 방향성 물질 등과 혼합될 수 있다.

[0144] GPL, SPL 또는 이들의 조합은 리포좀, 바람직하게는 약 $0.3\text{ }\mu\text{m}$ 초과, 약 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ 초과, 약 $0.8\text{ }\mu\text{m}$ 초과, 또는 약 $1\text{ }\mu\text{m}$ 초과의 평균 직경을 갖는 리포좀을 형성한다. 리포좀의 평균 직경은 약 $10\text{ }\mu\text{m}$, $8\text{ }\mu\text{m}$, $7\text{ }\mu\text{m}$, $6\text{ }\mu\text{m}$ 또는 $5\text{ }\mu\text{m}$ 미만일 수 있다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 일부 실시예에 따르면, 리포좀은 약 $0.3\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $10\text{ }\mu\text{m}$ 의 평균 직경을 갖는다. 추가의 실시예에 따르면, 리포좀은 약 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $9\text{ }\mu\text{m}$ 의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 실시예에 따르면, 리포좀은 약 $1\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $8\text{ }\mu\text{m}$ 의 평균 직경을 갖는다. 또 다른 실시예에 따르면, 리포좀은 약 $3\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $5\text{ }\mu\text{m}$ 의 평균 직경을 갖는다.

[0145] 용어 "평균 직경(mean diameter)" 및 "평균 입자 크기(mean particle size)"는, 일부 실시예에서, 수 분포 모델에 기초하여 입자 크기 분포로부터 유래된 리포좀의 평균 직경을 지칭하면서, 상호 교환적으로 사용된다. 일부 실시예에서, 상기 용어는 부피 분포 모델에 기초하여 입자 크기 분포로부터 유래된 리포좀 평균 직경을 지칭한다. 추가의 실시예에서, 상기 용어는 표면적 분포 모델에 기초하여 입자 크기 분포로부터 유래된 리포좀 평균 직경을 지칭한다. 입자 크기 분포는, 특히, 레이저 광 회절 및/또는 쿨터 계수(Coulter Counter) 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0146] 리포좀은 단일-막 리포좀(single-membrane liposome)일 수 있거나, 일부 실시예에 따르면, 다층 소포(MLV) 리포좀일 수 있다. 다른 실시예들에 따르면, 리포좀은 또한 거대 다소포성 소포(LMV) 또는 탈수된 재수화 소포(DRV) 리포좀일 수 있다.

[0147] 일부 바람직한 실시예에서, 리포좀은 다층 소포(MLV)이다. 이러한 소정의 실시예들에서, 리포좀은 하나 보다 많은 막을 갖는다.

[0148] 일부 실시예에 따르면, MLV는 $0.3\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $10\text{ }\mu\text{m}$ 범위의 평균 직경에 의해 정의된다. 다른 실시예에 따르면, MLV는 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $9\text{ }\mu\text{m}$ 범위의 평균 직경에 의해 정의된다. 또 다른 실시예에 따르면, MLV는 약 $1\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $8\text{ }\mu\text{m}$ 범위의 평균 직경에 의해 정의된다. 또 다른 실시예에 따르면, MLV는 약 $3\text{ }\mu\text{m}$ 내지 $5\text{ }\mu\text{m}$ 범위의 평균 직경에 의해 정의된다.

[0149] 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 폴리올 및 MLV 리포좀을 포함하며, 막은 DMPC 및 DPPC로 필수적으로 구성된다. 폴리올은 만니톨과 글리세롤로부터 선택될 수 있다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물은 만니톨 및 MLV 리포좀을 포함하며, 막은 DMPC 및 DPPC로 필수적으로 구성된다. 추가의 실시예에서, 만니톨의 농도는 약 1 내지 약 $70\text{mg}/\text{mL}$ 의 범위이다. 또 다른 실시예에서, 약제학적 조성물은 약 200 내지 약 600 mOsm 범위의 삼투압을 갖는다. 또 다른 실시예에서, 리포좀과 만니톨 사이의 중량비는 약 6:1 내지 약 2:1의 범위이다.

[0150] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 만니톨과 MLV 리포좀을 포함하며, 막은 DMPC 및 DPPC로 필수적으로 구성된다. 일부 실시예에서, DMPC는 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 20%(w/w) 내지 약 40%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예에서, DMPC는 약 30%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시예에서, DPPC는 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 30%(w/w) 내지 약 60%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예에서, DPPC는 약 40%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시

예에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 건조 중량의 약 20%(w/w) 내지 약 40%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예에서, 만니톨은 약 30%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0151] 일부 실시예에서, 만니톨과 리포좀을 포함하며, 막은 DMPC 및 DPPC로 필수적으로 구성되는 약제학적 조성물은, 히스티딘 완충액을 유체 매질로서 더 포함한다. 또 다른 실시예에서, DMPC는 약제학적 조성물의 총 중량의 약 1%(w/w) 내지 약 10%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예에서, DMPC는 약 4%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시예에서, DPPC는 약제학적 조성물의 총 중량의 약 2%(w/w) 내지 약 12%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예에서, DPPC는 약 5%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 일부 실시예에서, 만니톨은 약제학적 조성물의 총 중량의 약 1%(w/w) 내지 약 7%(w/w) 범위의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다. 소정의 실시예에서, 만니톨은 약 4%(w/w)의 중량%로 약제학적 조성물에 존재한다.

[0152] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 약제학적 조성물은, 즉 관절 윤활제 및/또는 마모 저감제로서, 자연 발생 연골 PL의 대치물의 제조를 위해 사용될 수 있다.

[0153] 관절 윤활 감소 또는 골관절염과 같은 관절 마모로 고통받는 환자의 관절 온도는 질병이 진행됨에 따라 변한다는 것에 유의한다 [Hollander, J. L.; Moore, R., Studies in osteoarthritis using Intra-Articular Temperature Response to Injection of Hydrocortisone. *Ann. Rheum. Dis.* 1956, 15, (4), 320-326]. 실제로, 이러한 온도 변화가 골관절염 염증을 평가하기 위한 임상 도구로 사용되고 있다 [Thomas, D.; Ansell, B. M.; Smith, D. S.; Isaacs, R. J., Knee Joint Temperature Measurement using a Differential Thermistor Thermometer. *Rheumatology* 1980, 19, (1), 8-13]. 골관절염 환자의 손 관절은 온도가 ~ 28에서 ~ 33°C로 변하는 것으로 나타났다 [Varju, G.; Pieper, C. F.; Renner, J. B.; Kraus, V. B., Assessment of hand osteoarthritis: correlation between thermographic and radiographic methods. *Rheumatology* 2004, 43, 915-919], 하지만 건강한 측두 하악 관절(Temporomandibular joint, TMJ)의 온도는 ~35에서 37°C로 변한다 [Akerman, S.; Kopp, S., Intra-articular and skin surface temperature of human temporomandibular joint. *Scand. J. Dent. Res.* 1987, 95, (6), 493-498].

[0154] 따라서, 본 발명의 원리에 따르면, PL 또는 그 혼합물이 원위치에서, 그것으로 윤활될 관절 영역에서, LD 상으로 있는 것이 필수적이며, 사실상 전제 조건이다. 일부 실시예에서, 리포좀은 원위치, 즉 약 20°C 내지 약 39°C 범위 이내인, 관절 내, 온도에서 15°C 보다 높지 않은 SO 대 LD 상 전이의 오프셋 온도(상한)를 갖는다. 본 발명의 원리에 따르면 리포좀은 GPL, SPL 또는 이들의 조합으로 형성되고, 이에 따라 상기에서 기술된 바와 같은 SO 대 LD 상 전이 온도는, GPL, SPL 및 이들의 조합으로 형성되는 리포좀과 연관하며, 이에 따라 PL 또는 이의 혼합물이 LD 상으로 있는 리포좀을 제공하게 된다.

[0155] 소정의 실시예들에서, 폴리올을 포함하는 비-이온성 등장성 제제는 리포좀의 상 전이 온도에 영향을 미치지 않는다. 추가의 실시예들에서, 폴리올을 포함하는 비-이온성 등장성 제제와 조합된 리포좀의 상 전이 온도는 리포좀 단독의 상 전이 온도와 약 10% 이하만큼 상이하다. 또 다른 실시예에서, 폴리올을 포함하는 비-이온성 등장성 제제와 조합된 리포좀의 상 전이 온도는 리포좀 단독의 상 전이 온도와 약 5% 이하만큼 상이하다.

[0156] 본 발명의 약제학적 조성물은 관절 기능장애와 연관된 임의의 관절 장애 또는 증상을 치료, 완화, 지연, 예방, 관리 또는 치유하기 위해 사용될 수 있다. 본원에서 사용되는, 용어 "관절 장애(arthricular disorder)"는, 퇴화, 통증, 운동성 감소, 염증, 자극, 또는 관절의 생리학적 파괴 및 기능장애의 원인이 되는, 관절 부위의 임의의 고통(선천성, 자가 면역 또는 이와 다름), 상해나 질환을 의미하도록 보유되어야 한다. 이러한 장애는 관절 분비 및 윤활 감소뿐만 아니라 무릎 및 엉덩이 대치물의 합병증으로부터 연관될 수 있다.

[0157] 본 발명의 원리에 따른 관절은 무릎, 엉덩이, 발목, 어깨, 팔꿈치, 족근(tarsal), 수근(carpal), 수지간(interphalangeal) 및 추간판(intervertebral) 중 임의의 하나일 수 있다. 각각의 가능성은 본 발명의 개별적인 실시예를 나타낸다. 소정의 실시예들에서, 상기 관절은 무릎 관절이다.

[0158] 구체적인 관절 장애는, 관절염, 예를 들어 류마티스 관절염의 관절 미란 병태, 골관절염, 류마티스 관절염 환자의 골관절염, 외상성 관절 부상 (스포츠 부상 포함), 관절 잠김(예컨대 측두 하악 관절(TMJ)에서), 관절천자후 상태(status post arthrocentesis), 관절경 수술(arthroscopic surgery), 개방성 관절 수술(예, 무릎 또는 엉덩이 대치), 및 포유류, 바람직하게는 인간에서의 관절 대치(joint replacement)로부터 야기되는 관절 분비 및/또는 윤활의 결핍을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 약제학적 조성물의 사용에 의해 치료 또는 예방되는 바람직한 장애는 골관절염이다.

- [0159] 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 골관절염 환자에서 무릎 관절 통증의 감소를 위한 것이다.
- [0160] 본 발명의 약제학적 조성물은 향후 손상 또는 퇴화를 예방하기 위한 예방적 수단으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 약제학적 조성물은 스트레스 관련 상해 또는 연골 퇴화의 위험을 최소화하기 위해 운동선수에게 그들의 경력 전체에 걸쳐 간헐적으로 관절-내 투여될 수 있다.
- [0161] 본 발명의 약제학적 조성물은 항염증제, 진통제, 근육 이완제, 항우울제, 또는 관절염과 같은 관절 강직과 관련된 장애를 치료하는데 흔히 사용되는 관절 윤활을 촉진하는 제제를, 배제하거나 보조제로서 투여할 수 있다. 조합된 치료 접근법은, 감소된 관절 윤활과 연관된 골관절염 같은 장애를 예방하거나, 관리하거나, 또는 치료하기 위해 흔히 사용되는, 비-스테로이드성, 항염증 약물(NSAID)과 같은, 제제와 연관된 부작용을 감소시키는 데 유익하다. 안전성을 강화하는 것 이외에, 조합된 치료 접근법은 또한 치료의 효능을 증가시키는데 유리할 수 있다.
- [0162] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 비경구 투여에 적합한 형태이다. 본 발명의 약제학적 조성물을 환자의 관절강 내로 비경구 투여하는 것은 관절-내 주사, 관절경 투여 또는 수술적 투여로 이루어진 군으로부터 선택된 방법에 의해 수행될 수 있다. 따라서, 일부 실시예에서, 약제학적 조성물은 관절-내 주사, 관절경 투여 또는 수술적 투여로부터 선택된 경로에 의해 투여하기에 적합한 형태로 제형화된다. 개시된 약제학적 조성물의 유익한 특징 중 하나는 등장성 제제의 존재이며, 이는 리포좀 조성물의 삼투압을 생리학적 값으로 조정함으로써, 관절-내 투여와 연관된 부작용을 감소시키게 된다.
- [0163] 본 발명의 다양한 실시예에 따른 약제학적 조성물은 약 0.5ml 내지 약 10ml의 용량으로 투여될 수 있다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물은 약 1ml 내지 약 6ml의 용량으로 투여된다. 소정의 실시예들에서, 약제학적 조성물은 약 3ml의 용량으로 투여된다.
- [0164] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 20mg 내지 약 350mg의 만니톨을 포함한다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 40mg 내지 약 250mg의 만니톨을 포함한다. 소정의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 120mg의 만니톨을 포함한다. 다른 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 40mg의 만니톨을 포함한다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 250mg의 만니톨을 포함한다.
- [0165] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 50mg 내지 약 1000mg의 인지질을 포함한다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 100mg 내지 약 800mg의 인지질을 포함한다. 소정의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 300mg의 인지질을 포함한다. 다른 소정의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 100mg의 인지질을 포함한다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 600mg의 인지질을 포함한다.
- [0166] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 30mg 내지 약 550mg의 DPPC를 포함한다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 50mg 내지 약 500mg의 DPPC를 포함한다. 소정의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 180mg의 DPPC를 포함한다. 다른 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 60mg의 DPPC를 포함한다. 추가의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 365mg의 DPPC를 포함한다.
- [0167] 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 20mg 내지 약 450mg의 DMPC를 포함한다. 일부 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 40mg 내지 약 300mg의 DMPC를 포함한다. 소정의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 140mg의 DPPC를 포함한다. 다른 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 45mg의 DPPC를 포함한다. 소정의 실시예에서, 약제학적 조성물의 하나의 투여량 단위는 약 275mg의 DPPC를 포함한다.
- [0168] 약제학적 조성물은 약병에 또는 단일 주사 또는 실제 사용을 위한 임의의 다른 편리한 식으로 분할될 수 있다.
- [0169] 본 발명의 약제학적 조성물의 투여를 고려하는 대상체는 인간 및 기타 영장류와 같은 포유류를 포함하지만, 이들에 제한되지 않는다.
- [0170] 본 명세서의 설명 및 청구범위 전체에 걸쳐, 단수 형태("a" "an" 및 "the")는 문맥상 명백히 달리 언급하지 않는 한 복수의 참조를 포함한다. 따라서, 예를 들어, "PL"에 대한 참조는 하나 이상의 PL을 지칭하고 "리포좀"은 하나 이상의 리포좀을 지칭한다. 본 명세서의 설명 및 청구범위 전체에 걸쳐, 문맥상 명백히 달리 언급하지 않는 한, 단어들의 복수 형태는 단수 참조 또한 포함한다. 용어 "및" 또는 용어 "또는"은, 문맥상 명백히 달리 언

급하지 않는 한 "및/또는"을 포함하는 의미로 일반적으로 이용된다는 점에 유의해야 한다.

[0171] 그러나, 본 명세서의 설명 및 청구범위 전체에 걸쳐, 단어 "포함하다(comprise)" 및 "함유하다(contain)" 및 그 단어의 변형들, 예를 들어 "포함하는" 및 "포함한다"는 "포함하지만 이에 제한되지 않는"을 의미하며, 다른 모이어티, 첨가제, 성분, 정수 또는 단계를 배제하는(그리고 그렇지 않는) 것으로 의도되지 않는다.

[0172] 본원에서 사용되는, 용어 "약(about)"은, 양, 시간 기간 등과 같은 측정 가능한 값을 언급할 때, 명시된 값으로부터, +/-10%, 보다 바람직하게는 +/-5%, 훨씬 더 바람직하게는 +/-1%, 그리고 더욱 더 바람직하게는 +/-0.1%의 변동을 포함하는 것을 의미하며, 이러한 변동이 개시된 방법을 수행하기에 적합하기 때문이다.

[0173] 하기 예시들은 본 발명의 일부 실시예를 더욱 완전히 설명하기 위해 제시된다. 그러나, 이들은 결코 본 발명의 넓은 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 당 기술분야의 숙련자라면 본 발명의 범위를 벗어나지 않고 본원에 개시된 원리들의 많은 변동 및 변형을 쉽게 고안할 수 있다.

[0174] 예

[0175] 재료 및 방법

[0176] 재료

[0177] 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DMPC, 14:0, Cat: 556200), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DPPC 16:0, Cat: 556300)를 Lipoid (독일, 루드비그샤펜)로부터 입수하였다. 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DSPC 18:0, Cat: 850365P), 1,2-디펜타데카노일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (C15(본원에서 PC (15:0)로도 약칭됨, Cat: 850350P)를 Avanti Polar Lipids (미국 앤라배마주 앤라베스터)로부터 입수하였다. N-팔미토일-D-에리트로-스핑고실포스포릴콜린 (팔미토일 스핑고미엘린, D-에리트로 C16(본원에서 C16 SPM로도 약칭됨), Cat: 16608050)을 Bio-Lab Ltd. (이스라엘, 예루살렘)로부터 입수하였다

[0178] 고순도 물(저항 18.2MΩ)을 WaterPro PS HPLC/Ultrafilter Hybrid System(Labconco, 미국 미주리주 캔자스시티)을 사용하여 입수하였다. HPLC-급 에탄올을 이스라엘 예루살렘 소재의 BioLab Ltd로부터 입수하였다. L-히스티딘 모노 하이드로클로라이드 1수화물, 수산화나트륨(NaOH) 및 D-만니톨 전부 Merck(독일 다름스타트)로부터 입수하였다. 글리세롤은 Merck, cat 번호 1.04093로부터 입수하였다. 염화 나트륨은 J. T. Baker, cat 번호 4058-02로부터 입수하였다

[0179] 방법

[0180] MLV 리포좀을 포함하는 저장성(hypotonic) 조성물의 제조

[0181] 원하는 인지질 혼합물을 2.5ml 에탄올 중에 180mM의 농도로 용해시켰다. 이 용액을 와류에 의해 교반하고 수조 (60°C)에 ~20분 동안 두었다. 인지질이 완전히 용해될 때까지 교반을 여러 번 반복하였다. 에탄올 용액을 10ml 따뜻한 10mM 또는 7.5mM 히스티딘 완충액(pH 6.5)으로 옮기고, 지질을 수화시키고 원하는 MLV의 분산액을 형성하기 위해 2분 동안 와류에 의해 격렬하게 혼합하였다.

[0182] 에탄올을 원심분리 5회 사이클과 4°C에서 저온 완충액 교체로 제거하였다. PC로 구성되는 리포좀 시스템에 대해 원심분리를 1차 사이클에서 3000rpm에서 40분 동안, 및 후속 사이클에서 4000rpm에서 30분 동안 행하였다. SPL를 포함하는 리포좀 시스템에 대해 원심분리를 1차 사이클에서 사이에 밤새 대기하면서 4000rpm에서 50분 동안 2회, 2차와 3차 사이클에서 4000rpm에서 40분 동안 2회 수행하였다. 사이클 4 및 5를 4000rpm에서 60분 동안 행하였다. 에탄올 제거에 대한 모니터링은 삼투압 측정에 의해 수행하였다. 매회 저온 완충액 교체 후에, 무균 피펫을 사용하여 펠렛을 재현탁시켜 끈적거리는 펠렛을 느슨하게 한 다음, 튜브를 단단히 닫고 2분 동안 볼텍싱한다. 혼합물의 삼투압이 50 mOsm 미만일 때까지 원심분리 공정 및 용액 교체를 반복하였다. HB(10mM, 7.5mM)의 삼투압을 측정하였으며 각각 26 및 19 mOsm인 것으로 밝혀졌다. 분석 시까지 MLV를 2-8°C에 보관하였다.

[0183] MLV 리포좀 및 등장성 제제를 포함하는 등장성(isotonic) 조성물의 제조

[0184] 리포좀을 상술한 바와 같이 제조하였다. 리포좀의 에탄올 용액을 만니톨, 글리세롤 및 염화나트륨으로부터 선택된 등장성 제제를 포함하는 10ml 따뜻한 13.5mM 히스티딘 완충액(pH 6.5)으로 옮기고, 지질을 수화시키고 원하는 MLV의 분산액을 형성하기 위해 2분 간의 와류에 의해 격렬하게 혼합하였다.

[0185] 히스티딘 완충액 내 등장성 제제의 농도는 다음과 같았다: 글리세롤 - 235mM; 만니톨 - 234mM; 및 NaCl - 131mM.

- [0186] 혼합물의 삼투압이 약 300 mOsm일 때까지 원심분리 공정 및 용액 교체를 반복하였다. 분석 시까지 조성물을 2-8 °C에 보관하였다.
- [0187] MLV 리포좀 특성화
- [0188] 인지질 농도는 변형된 Bartlett 방법을 사용하여 결정하였다 [Barenholz, Y. and S. Amselem, *Quality control assays in the development and clinical use of liposome-based formulations*. Liposome technology, 1993. 1: p. 527-616]. 리포좀 크기 분포는 레이저 회절 입자 크기 분석기(LS13320 Beckman Coulter)에 의해 결정하였으며, 이는 40nm 내지 2mm 범위의 입자 크기를 측정할 수 있다. (전도성 유체에 혼탁된 입자가 작은 오리피스를 통과할 때 전기 전도도의 변화를 측정하는 것을 기반으로 하는) 쿨터 계수(Coulter Counter) 방법 또한 크기 분포 결정을 위해 사용하였다.
- [0189] 윤활 효능 평가를 위한 연골-온-연골(cartilage-on-cartilage) 생체 외 모델
- [0190] 공여자(연령: 남성 70세 및 여성 68, 72, 81, 87, 98세)로부터의 정상적인 관절 연골을, 예루살렘의 하다사 의료 센터(Hadassah Medical Center)에서 대퇴 골두 골절 수술로부터 입수하였다. 분석 시까지 조직을 -20°C에서 동결하였다.
- [0191] 윤활액은 예루살렘의 하다사 의료 센터에서 8명의 공여자로부터 모아졌다.
- [0192] 연골 시편의 제조에 사용한 시약은 Superglue (시아노아크릴레이트 접착제, 3g), NaCl (Bio Lab LTD, 이스라엘, 19030291 Cat 번호: 19030291 로트 번호: 57747), 에탄올 (Frutarom, 이스라엘, Cat 번호: 5551640 로트 번호: 26141007)을 포함하였다.
- [0193] 샘플은 이스라엘, 하이파 소재 IIT, 테크니온 공과 대학 바이오메디컬 학과, Cartilage and Joints Diseases 실험실에서 준비되었다. 시험은 이스라엘, 하이파 소재 IIT, 테크니온 공과 대학 기계 공학과, Shamban & Microsystems Tribology Laboratories에서 수행하였다. 마찰 측정을 위한 대학 내(in-house) 장비에 변형률 개이지 측정 시스템(HBM Z8, 독일) 및 LabView 소프트웨어(National Instruments, 미국)를 구비한 로드 셀을 장착하였다.
- [0194] 장비는 다음과 같이 설정했다. 연골 플러그들을 준비하고 고정시켰다. 모든 연골로부터, 직경이 4mm 또는 8mm인, 10-20개 플러그를 준비하였다. 이 플러그들을 다양한 시험된 체형에 무작위로 할당하였다. 8mm 플러그를 고정형 홀더 위에 장착하고, 2ml의 윤활액(SF)과 시험된 용액을 1:1 비율(v/v)로 함유하는 용액에 잠기게 했다. 4mm 플러그를 상부 피스톤 위에 고정시켰다.
- [0195] 측정: 상이한 시험된 샘플들의 존재 시에 다수의 반복으로 마찰 시험을 수행하였다. 모든 측정에 대해, 상부 플러그를 바닥 플러그 위로 위치시키고, 수초 체류 간격 후에, 마찰 계수를 측정하였다. 임의의 주어진 플러그 쌍에 대해, 10회보다 적지 않은 독립적인 측정을 수행하였으며, 이때 플러그들은 모든 반복에서 유사한 조건을 제공하기 위해 각각의 후속 시험 전에 회전 중이었다.
- [0196] 표 1에 나타낸 바와 같이, 인가된 하중, 슬라이딩 속도, 체류 시간 및 온도의 특정한 마찰학적(tribological) 조건 하에서 정지 마찰 계수를 결정하였다:

표 1

연골-온-연골 모델 실험 조건:

정상 하중	30N
슬라이딩 속도	1mm s ⁻¹
체류 시간 (슬라이딩 시작 전 로딩 지속시간)	5초
슬라이딩 거리	5mm
윤활제 온도	32 내지 34°C

- [0198] 시차주사 열량계(DSC) 측정

- [0199] 상이한 리포좀 시스템들의 T_m의 결정을 위해, 샘플들을 MicroCal™ VP-DSC GE Healthcare Life Sciences(현재 Malvern UK 소유인, 스웨덴 Uppsala)을 사용하여 스캔하였다. 기준 셀에서 만니톨을 가진 HB 또는 HB를 가지고,

약 20mM 인지질 농도에서, HB 중의 MLV 및 리포좀 및 만니톨을 포함하는 약제학적 조성물의 샘플들을, 1°C/분의 가열 속도로, 10°C와 75°C 사이의 범위에서 스캔하였다. 연구한 각각의 샘플은, 온도를 10°C에서 75°C로 온도를 증가시키고(스캔 1), 온도를 75°C에서 10°C로 감소시키고(스캔 2), 온도를 10°C에서 75°C로 재차 증가시키는(스캔 3) 식으로, 동일한 속도로 3회 스캔하였다. 열량측정 데이터의 처리는 Origin® 7.0 소프트웨어에 의해 수행되었다. 주요 상 전이의 T_{on} 및 T_{off} 가 주요 상 전이의 온도 범위를 정의하기 위해 직선을 외삽하여 결정하였다.

시스템 F1의 경우 모델: MN2State을 피팅한 추가 분석을 퍼크 2에서 넓은 "숄더"로 인해 수행하였다.

[0200] 예 1 - 리포좀 약제학적 조성물의 윤활 특성에 대한 등장성 제제의 효과

등장성 제제 및 리포좀을 포함하는 약제학적 조성물에 의한 연골 윤활을 연골-온-연골(cartilage-on-cartilage) 생체 외 모델을 사용하여 평가하였다. 연골-온-연골 생체 외 모델은 정적 마찰 계수에 대한 생체-윤활제 제제의 상대적 효과를 시험하기 위한 실험 시스템을 제공한다. 이러한 유형의 측정은 연골 마찰 계수를 감소시키는 서로 다른 윤활제들의 능력을 표시할 수 있다. 연골-온-연골 생체 외 모델은 서로 다른 윤활제들의 용액에 잠긴 상태에서 두 개의 고정된 인간 연골 플러그가 다른 것 위로 미끄러지도록 허용되는 장비를 활용한다. 장비는 2 개의 연골 시편들 사이의 정지 마찰의 측정을 가능하게 한다[Merkher Y 등 "A rational human joint friction test using a human cartilage-on-cartilage." Tribology Letters (2006): 29-36]. 이 모델은 상이한 리포좀 조성물들의 마찰 계수를 비교하기 위해 과거에 사용되었다 [Sivan S 등 "Liposomes act as effective biolubricants for friction reduction in human synovial joints." Langmuir (2010): 1107-16].

[0202] 본 실험을 정적 마찰 계수 측정에 의해 반영된 바와 같이, 등장성 제제를 포함하는 리포좀 제형의 상대적 윤활 특성을 결정하고 이를 저장성 리포좀 제형과 비교하도록 설계하였다. 표 2는 시험한 약제학적 조성물들을 제시한다. 선택된 리포좀 조합은 45:55의 몰% 비를 갖는 DMPC/DPPC이었다.

표 2

저장성 및 등장성 리포좀 조성물

제형 #	인지질 (몰% 비)	등장성 제제	유체 매질
1	DMPC/DPPC (45 : 55)	-	히스티딘 완충액
2	DMPC/DPPC (45 : 55)	글리세롤	히스티딘 완충액
3	DMPC/DPPC (45 : 55)	만니톨	히스티딘 완충액
4	DMPC/DPPC (45 : 55)	NaCl	히스티딘 완충액

[0204] 리포좀 조성물은 3ml의 10mM 히스티딘 완충액(HB) pH 6.5에 분산된 183mg의 DPPC 및 136mg의 DMPC를 포함하였다. 10mM 히스티딘 완충액을 포함하는 리포좀 조성물들은 약 50 mOsm의 삼투압을 가졌다(표 3). 따라서, 약 300 mOsm의 등장성 수준으로 삼투압을 증가시키기 위해, 등장성 제제의 농도를 조정하여 약 250mM 용질을 제공해야 한다.

[0205] 만니톨을 120mg(4중량% 또는 40mg/ml)의 양으로 첨가하여 등장성 조성물을 형성하였다. 글리세롤을 61mg(2중량% 또는 20mg/ml)의 양으로 첨가하였다. 염화나트륨을 21mg의 양으로 첨가하였다.

[0206] 표 3은 상이한 리포좀 조성물들의 물리화학적 특성을 요약한 것이다. 리포좀 조성물들은 3개의 상이한 등장성 제제와 함께 제조되었으며, 각각은 제제의 전체 삼투압에 동일한 기여를 하였다. 이들 제제의 등장성은 약 300 mOsm이었다. 이온성(NaCl)과 비이온성(만니톨 및 글리세롤) 등장성 제제 간에 비교를 수행하였다. 등장성 제제(50 mOsm 미만)가 없는 저장성 리포좀 조성물을 또한 시험하였다. 리포좀 조성물의 윤활 능력에 대한 등장성 제제의 효과를 재료 및 방법에서 기술한 바와 같이, 연골-온-연골 모델 셋업을 이용하여 평가하였다.

표 3

[0207]

리포좀 조성물들의 물리화학적 특성.

	완충액	저장성 제형		
		만니톨	글리세롤	NaCl
pH	6.6	6.4	6.4	6.4
삼투압 (mOsm)	49	307	299	289
부피 기준 입자 크기 (μm)	5.8	4.4	3.8	4.5
표면적 기준 입자 크기 (μm)	3.4	2.8	2.9	3.2
수 기준 입자 크기 (μm)	1.3	1.5	1.7	1.8
분석 DMPC (mM)	66.4	67.5	70.2	69.6
분석 DPPC (mM)	81.7	82.1	84.7	83.3
인지질 농도 (mM)	148	150	155	153
물% 비] DMPC/DPPC	55.2/44.8	45.1/54.9	45.3/54.7	45.5/54.5
리소-미리스토일 포스파티딜콜린 (%)	NMT* 0.5	ND**	ND	ND
리소-팔미토일 포스파티딜콜린 (%)	NMT 0.5	ND	ND	ND
미스트산 (%)	0.27	ND	ND	ND
팔미트산 (%)	0.27	0.06	0.04	ND
총 불순물	LT*** 0.2	0.06	0.04	ND

[0208] *NMT - 이하

[0209] **ND - 검출되지 않음

[0210] ***LT - 미만

[0211] 표 4는 실험에서 얻어진 평균 정적 마찰 계수의 예비 결과를 나타낸다. 측정 반복들의 정확도는 상대적 SD로 반영된 바와 같이, 모든 시험된 제형들 사이에서 유사하다.

표 4

리포좀 조성물들의 윤활 특성.

제형	완충액	글리세롤	만니톨	NaCl
반복 수	53	55	56	50
평균 정적 마찰 계수	0.093	0.075	0.064	0.098
S.D.	0.025	0.020	0.022	0.026

[0213] 제형들의 비교는 만니톨을 함유하는 제제가 다른 등장성 제형들에 비해 최저 정적 마찰 계수를 나타냄을 보여주었다. 최저 정적 마찰 계수는 만니톨 제형이 더 높은 윤활 특성을 갖는다는 것을 표시한다. 놀랍게도 만니톨 제형을 사용할 때 얻어진 정지 마찰 계수가 등장성 제제 없이 저장성 리포좀 조성물을 사용할 때보다 약 30% 낮다는 것이 밝혀졌다. 글리세롤 제형 또한 더 양호한 윤활을 제공하였다(저장성 제형에 비해 약 20% 낮은 평균 정적 마찰 계수). 대조적으로, 리포좀 조성물 제제에 대한 이온성 등장성을 첨가하면 그것의 윤활 능력을 향상시키지 않았다.

[0214] 예 2 - 리포좀 약제학적 조성물들의 열방성(thermotropic) 특성에 대한 등장성 제제의 효과

[0215] 본 실험은 등장성 제제의 첨가가 리포좀 조성물의 열방성 거동 및 SO-LD 상 전이의 범위 ($T_{\text{on}} \rightarrow T_{\text{off}}$), T_p , T_m , $T_{1/2}$, 및 ΔH 를 포함한, 열역학적 파라미터에 영향을 미치는지 여부를 결정하도록 설계되었다. T_{on} 및 T_{off} 는 가열 스캔 동안 SO-LD 상 전이가 개시되고 종료되는 온도를 나타내며, T_p 및 T_m 는 예비-전이 (T_p) 및 주 전이 (T_m) 동안 열 용량의 최대 변화가 일어나는 온도를 나타내며, $T_{1/2}$ 는 SO-LD 상 전이 동안 엔탈피 변화를 나타내는 흡열의 절반 높이에서의 온도(폭) 범위를 상기 흡열막의 절반 높이에서의 온도(폭) 범위를 나타내며, ΔH 는 SO-LD 상 전이 동안 엔탈피의 총 변화를 나타내는 곡선 아래 면적이다.

[0216] 두 가지 유형의 리포좀 조성물을 선택하였고, 각각을 (등장성 제제로서) 만니톨을 가지고 그리고 없이 시험하였

다. 시험한 리포좀 조성물들이 표 5에 제시되어 있다.

표 5

저장성 및 등장성 리포좀 조성물

인지질 (몰% 비 (해당되는 경우))	등장성 제제	유체 매질
DMPC/DPPC (45 : 55)	-	히스티딘 완충액
DMPC/DPPC (45 : 55)	만니톨	히스티딘 완충액
1,2-디펜타데카노일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (C15)	-	히스티딘 완충액
1,2-디펜타데카노일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (C15)	만니톨	히스티딘 완충액

[0217]

[0218] DMPC/DPPC 리포좀 조성물들은 3ml의 10mM 히스티딘 완충액(HB) pH 6.5에 분산된 183mg의 DPPC 및 136mg의 DMPC를 포함하였다. C15 리포좀 조성물은 212mg (70.6mg/ml) 인지질을 포함하였다. 만니톨을 120mg(4중량%)의 양으로 첨가하여 등장성 조성물을 형성하였다.

[0219]

표 6은 상이한 리포좀 조성물들의 물리화학적 특성을 요약한 것이다.

표 6

리포좀 조성물들의 물리화학적 특성.

인지질	등장성 제제	총 PC (mM)	MLV 삼투압 (mOsm)	부피 기준 크기 분포		
				평균 중간 (μ m)	중앙 (μ m)	S.D.
DMPC/DPPC	-	105	34	2.7	2.18	1.73
DMPC/DPPC	만니톨	91	288	4.24	2.70	4.61
C15	-	102.7	28	3.97	2.59	3.96
C15	만니톨	99.3	272	3.1	2.61	1.96

[0221]

[0221] 상이한 시스템들의 열방성 거동 및 열역학적 파라미터 ($T_{on} \rightarrow T_{off}$, T_m , $T_{1/2}$, ΔH)의 결정을 위해, 샘플들을 MicroCalTM VP-DSC (스웨덴 옵살라의 GE Healthcare Life Sciences)을 사용하여 스캔하였다. 열량측정 데이터의 처리는 Origin® 7.0 소프트웨어에 의해 수행되었다. $T_{on} \rightarrow T_{off}$ 범위를 결정한 방식은 재료 및 방법에 기술되어 있다.

[0222]

표 7은 DSC 스캔으로부터 평가한 시험된 리포좀 조성물들의 열방성 특성화를 제시한다

표 7

리포좀 조성물들의 열방성 특성화.

인지질	등장성 제제	열방성 특성화									
		파크 1 (예비-전이)					파크2 (상 전이)				
		T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	T_p (°C)	$T_{1/2}$ (°C)	ΔH (Cal/ 몰)	T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	T_m (°C)	$T_{1/2}$ (°C)	ΔH (Cal/ 몰)
DMPC/DPPC	-	17.8	24.7	21.0	2.2	1030.5	30.44	35.19	33.6	3.5	9782.1
DMPC/DPPC	만니톨	17.6	24.5	21.0	2.5	962.7	30.49	35.42	33.7	3.3	10707.7
C15	-	21.7	27.3	24.6	2.2	1316.9	33.03	35.16	34.3	1.3	6716.9
C15	만니톨	20.5	27.0	24.5	2.5	1009.1	32.66	35.29	34.4	1.5	6081.3

[0224]

표 7과 도 1과 도 2에 요약된 결과들은 DMPC/DPPC 45/55 몰비 MLV 및 100 몰% C15 MLV의 열방성 거동에 대한

만니톨 부재 효과를 나타낸다.

[0225] 예 3 - 리포좀 조합들의 상 전이 온도

[0226] 본 연구는 다양한 리포좀 조성물의 열방성 거동 및 열역학적 파라미터를 평가하고 특히 20°C 내지 39°C 범위의 상 전이 온도를 갖는 리포좀 조합을 찾도록 구성되어 있었다. 만니톨의 첨가가 리포좀의 열방성 거동에 영향을 미치지 않기 때문에(예 2에 나타낸 바와 같음), 본 연구에서 시험된 다양한 리포좀 조성물의 상 전이 온도는 대응하는 등장성 조성물들의 그것과 유사해야 한다.

[0227] 시험한 리포좀 조성물들이 표 8에 제시되어 있다.

표 8

리포좀 조성물

시스템	인지질 (몰 %)					완충액	예상 T_m
	DMPC	DPPC	DSPC	C15	D-에리트로 C16		
A1	0	100	-	-	-	HB	41°C
B1	10	90	-	-	-	HB	<41°C
C1	25	75	-	-	-	HB	<<41°C
D1	45	55	-	-	-	HB	~34°C
F1	75	-	25	-	-	HB	<<55°C
G1	45	-	-	55	-	HB	<<35°C
H1	25	-	-	75	-	HB	<35°C
A2	-	-	-	-	100	HB	~41°C
B2	10	-	-	-	90	HB	<41°C
C2	25	-	-	-	75	HB	<41°C
D2	75	-	-	-	25	HB	<<41°C
E2	90	-	-	-	10	HB	<<41°C
F2	100	-	-	-	-	HB	~24°C
G2	-	-	-	100	-	HB	~34°C

[0229] 상이한 MLV 시스템들을 크기 분포, 삼투압 및 총 PC 농도에 대해 특성화하였다. 결과가 표 9-12에 요약되어 있다.

표 9

상이한 DPPC의 MLV의 물리화학적 특성: DMPC 혼합물

시스템	PC 비율(몰 %)	총 PC (mM)	MLV 삼투압 (mOsM)	부피 기준 크기 분포		
				평균	중간 (μm)	중앙 (μm)
A1 DPPC 100	93	31	3.12	2.4	2.38	
B1 DMPC/DPPC 10/90	111	29	3.10	2.34	2.31	
C1 DMPC/ 25/75	107	27	3.92	2.64	4.03	
D1 DMPC/DPPC 45/55	105	34	2.7	2.18	1.73	
F2 DMPC 100	136.5	32	2.93	1.87	3.02	

[0231] 이 표에 기술된 삼투압 결과에 기초하여, 에탄올 수준은 모든 MLV 시스템에 대해 0.1% 미만이다. 리포좀/물 분할 계수에 기초하여, 대부분은 수성 상에 있다.

표 10

[0232]

DSPC의 MLV의 물리화학적 특성: DMPC 혼합물

시스템 PC 비율(몰 %)	총 PC (mM)	MLV 삼투압 (mOsm)	부피 기준 크기 분포		
			평균 중간 (μm)	중앙 (μm)	S.D
F1 DMPC/DSPC 75/25	69	50	3.72	3	2.77

[0233]

이 표에 기술된 삼투압 결과에 기초하여 에탄올 수준은 0.2% 미만이다. 리포좀/물 분할 계수에 기초하여, 대부분은 수성 상에 있다. 이 MLV는 에탄올을 제거하는 동안 발생한 주요 지질 손실을 나타낸다.

표 11

상이한 C15:DMPC 혼합물들의 MLV의 물리화학적 특성

시스템 PC 비율(몰 %)	총 PC (mM)	MLV 삼투압 (mOsm)	부피 기준 크기 분포		
			평균 중간 (μm)	중앙 (μm)	S.D
G2 PC(15:0) 100	102.7	28	3.97	2.59	3.96
G1 DMPC/PC15 45/55	103	40	4.57	3.44	3.84
H1 DMPC/PC15 25/75	97	34	3.06	2.16	2.38

[0235]

이 표에 기술된 삼투압 결과에 기초하여, 에탄올 수준은 모든 MLV 시스템에 대해 0.1% 미만이다. 리포좀/물 분할 계수에 기초하여, 대부분은 수성 상에 있다.

표 12

상이한 DMPC/D-알리트로 C16 혼합물의 MLV의 물리화학적 특성

시스템 PC 비율(몰 %)	총 PC (mM)	MLV 삼투압 (mOsm)	부피 기준 크기 분포		
			평균 중간 (μm)	중앙 (μm)	S.D
A2 D-알리트로 C16 100	53.9	20	4.04	2.66	4.38
B2 DMPC/ D-알리트로 C16 10/90	76.6	20	3.31	2.27	3.25
C2 DMPC/ D-알리트로 C16 25/75	85.7	21	3.37	2.31	3.18
D2 DMPC/ C16 D-알리트로 C16 75/25	90.4	24	2.67	2.05	1.83
E2 DMPC/ D-알리트로 C16 10/90	56.6	22	3.7	3.03	2.5
F2 DMPC 100	136.5	32	2.93	1.87	3.02

[0237]

이 표에 기술된 삼투압 결과에 기초하여, 에탄올 수준은 모든 MLV 시스템에 대해 0.1% 미만이다. 리포좀/물 분할 계수에 기초하여, 대부분은 수성 상에 있다.

[0238]

리포좀 조합들의 열방성 거동 및 열역학적 파라미터를 예 2 및 재료 및 방법에 설명한 바와 같이 평가하였다. 표 13은 시험한 리포좀 조합들의 열방성 특성화 결과를 요약하고 도 3은 DSC 스캔으로부터 평가된 상이한 인지질 혼합물들의 MLV의 SO-LD 상 전이 온도 범위를 보여준다.

표 13

[0239]

DSC 스캔으로부터 평가된 상이한 혼합물들의 MLV의 열방성 특성화

PC 비(몰 %)	열방성 특성화									
	파크 1 (예비-전이)					파크2 (상 전이)				
	T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _p (°C)	T _{1/2} (°C)	△H (Cal/ 몰)	T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _m (°C)	T _{1/2} (°C)	△H (Cal/ 몰)
DPPC: DMPC 혼합물										
DPPC (100)	32.3	37.3	34.9	2.2	1983.5	40.44	42.45	41.8	1.3	7993.7
DMPC/DPPC (10/90)	28.3	33.8	30.8	2.9	1666.2	37.77	40.91	40.0	1.9	9982.4
DMPC/DPPC (25/75)	22.6	29.8	25.8	3.2	1429.3	34.24	38.23	37.4	2.8	10363. 0
DMPC/DPPC (45/55)	17.8	24.7	21.0	2.2	1030.5	30.44	35.19	33.6	3.5	9782.1
DMPC (100)	11.4	16.4	14.0	1.0	683.7	23.24	25.24	24.4	1.1	5394.7
DSPC: DMPC 혼합물										
DMPC/DSPC (75/25)	11.4	17.4	14.2	4.0	369.5	24.67	34.6	27.1	2.7	10199. 9
C15: DMPC 혼합물										
C15 (100)	21.7	27.3	24.6	2.2	1316.9	33.03	35.16	34.3	1.3	6716.9
DMPC/C15 (45/55)	15.9	21.0	18.1	1.7	1059.7	28.03	30.28	29.4	1.3	7767.7
DMPC/C15 (25/75)	17.9	22.9	20.4	1.2	851.1	30.35	32.12	31.3	1.2	7107.5
D-에리트로 C16/DMPC 혼합물										
SPM (100)	30.2	38.8	33.9	0.8	941.5	41.14	43.24	41.8	1.0	7967.0
D-에리트로 C16/DMPC (90/10)	32.5	36.0	33.8	0.7	200.2	38.36	41.91	39.7	2.2	7503.7
D-에리트로 C16/DMPC (75/25)	22.3	25.8	23.8	0.5	97.5	34.7	39.77	36.5	3.1	6758.1
D-에리트로 C16/DMPC (25/75)	13.9	19.1	16.6	2.9	126.9	30.91	36.19	32.1	3.2	7304.5
D-에리트로 C16/DMPC (10/90)	11.4	14.8	13.0	1.3	233.9	26.68	29.72	27.5	1.7	7592.0
DMPC (100)	11.4	16.4	14.0	1.0	683.7	23.24	25.24	24.4	1.1	5394.7

[0240]

예를 들어 DMPC/DPPC (25/75), DMPC/DPPC (45/55), DMPC/DSPC (75/25), DMPC/C15 (45/55), DMPC/C15 (25/75), D-에리트로 C16/DMPC (75/25), D-에리트로 C16//DMPC (25/75), 및 D-에리트로 C16/DMPC (10/90)를 비롯한, 다양한 리포좀 조합들이, 원하는 20°C 내지 39°C의 온도 범위에서 리포좀 막의 상 전이 온도를 갖는다는 것을 알 수 있다.

[0241]

예 4 - 핀-온-디스크(pin-on-disc) 연골 마모 시험에 의한 리포좀 조성물의 평가

[0242]

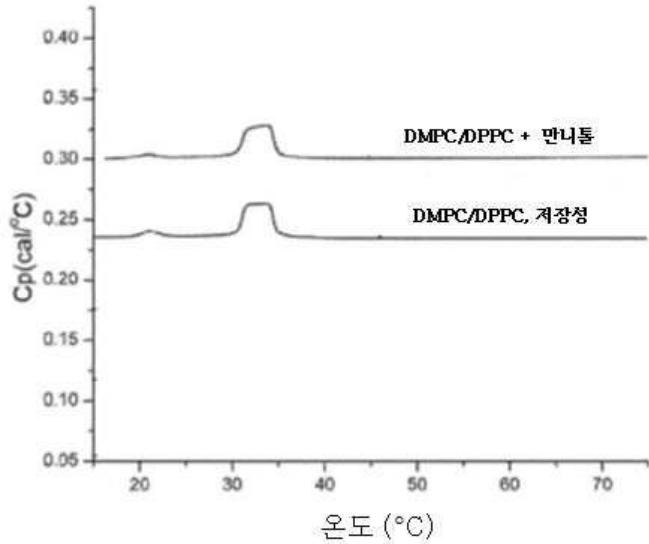
무릎에서의 마찰학적 상태를, CoCrMo 디스크에 대하여 슬라이딩하는 돼지 연골 핀을 사용하여 핀-온-디스크 시험에 의해 시험관 내 시뮬레이션하였다. 핀-온-디스크 시험은 미국 매사추세츠주 02472-4800, 워터타운 소재 Advanced Mechanical Technology Inc. (AMTI)의 OrthoPOD 기계 상에서 수행되었다. 기계를 온도 조절기 (thermostat)에 의해 가열하여 액체 내부에서 $37 \pm 3^\circ\text{C}$ 의 온도를 보장하였다. 원통형 용기를 20mL의 시험 액체로 채웠다. 각각의 개별 고정 아암에 의해 인가된 힘을 Mecmesin 힘 케이지를 사용하여 3, 10, 30, 50 및 100N에서 디스크 위로 중심이 맞춰진 핀으로 점검하였다.

- [0243] 연골 편들을 끼지 솔더로부터 회수하였다. 연골 표면을 노출시키기 위해 스칼pell(scalpel)을 사용하여 관절낭(joint capsule)을 개방하였다. 5.0mm 내경을 갖는 중공형 편치를 사용하여 적어도 10개의 원통형 편을 수거하였다. 각각의 편-온-디스크 마모 시험을 위해 적정 길이와 최소한의 표면 경사를 갖는, 동일한 동물로부터의 6개의 편을 선택하였다.
- [0244] 본 발명의 약제학적 조성물의 유통 능력을 12시간의 마모 시험 후 연골하 골 질량 손실 및 높이 손실을 측정함으로써 평가하였다. 6개의 연골 편을 각각의 시험마다 사용한 반면, 3개의 편을 6시간 후에 제거하였고 다른 3개의 편을 추가 6시간 동안 시험하였다. 편들의 중량 및 질량 손실을 결정하는 것 외에, 연골 표면을 시험 전과 후에 광학 프로파일러에 의해 분석하였다. 사용한 장치는 S neox 간섭계 및 공초점 현미경(Sensofar, 스페인)이었다. 거칠기 파라미터를 결정하기 위해, 12개 초파의 라인 프로파일을 형태 제거 후 표면형태로부터 추출하였다. 표면 경도의 예시를 위해, 편들의 위치설정이 남쪽을 향하여 최고 수준이 되므로, 5X 공초점 측정으로부터 북-남 방향으로 프로파일들을 추출하였다. 명료성 향상을 위해, 이 프로파일들을 평활하게 하고 Kaleidagraph 4.0을 사용하여 이동시켰다.
- [0245] 만니톨을 포함하는 리포좀 기반 조성물(표 2로부터의 제형 # 3)을 마모 시험에서 시험하였다. 이 조성물을, 둔부 시뮬레이터 시험(ISO 14242-1)에 사용되는 것처럼, 30g/1의 송아지 혈청 단백질, EDTA 및 NaN₃을 함유하는, 단백질 함유 액체와 비교하였다.
- [0246] 결과
- [0247] 마모 시험
- [0248] 액체를 함유하는 단백질 내의 편-온-디스크 시험은 연골 마모를 드러냈다. 편의 평균 질량 손실은 6시간 시험 후 22mg에서 12시간 시험 후 26mg으로 증가하였다. 편의 평균 높이 손실의 증가는 6시간 후 0.6mm와 12시간 마모 후 1.1mm로 더욱 두드러졌다. 추출된 프로파일들(도 4)은 6시간 마모 후에, 연골 표면이 평평해졌음을 보여준다. 일부 연골 물질을 옆으로 이동시키고, 초기 편에 단지 느슨하게 부착된 외측 벌지를 형성하였다. 따라서, 부착된 벌지를 포함하여 중량이 결정됨에 따라 실제 질량 손실이 과소평가되었다. 12시간 마모 후, 3개의 나머지 편은 연골이 마모된 구역들과 연골하 골이 나타난 구역을 보여주었다(도 4 및 도 5a, 도 5b).
- [0249] 리포좀 조성물(제형 #3)의 연골 편들은 제거 후 마모의 징후를 보였다. 편들의 평균 질량 손실은 6시간 마모 후 14mg이었고, 추가 6시간 마모 동안 그 수준으로 남아 있었다. 높이 손실은 2개의 시간 지점 동안 약 0.3 내지 0.4mm이었다. 6시간 마모 후, 연골 표면은 평평해졌으며(도 6 및 도 7a, 도 7b), 연골 물질이 중심 주위에 벌지를 형성하고 있었다. 12시간 마모 후, 나머지 편들의 연골 표면은 여전히 온전하고, 연골하 골을 보이는 구역을 보여주지 않았다(도 8a, 도 8b).
- [0250] 단백질 액체 내의 연골 편들은, 연골이 시험 전체에 걸쳐 온전하게 유지된 리포좀 조성물 내의 편들과 달리 12시간 마모 시험 후에 연골하 골의 출현을 보여주었다. 6시간 내지 12시간 사이에 추가 질량 손실 또는 높이 손실이 관찰되지 않았기 때문에, 마모가 리포좀 조성물에서 느려지는 것처럼 보였다.
- [0251] 마모 결과는 도 9a(질량 손실) 및 도 9b(높이 손실)에 추가로 예시된다. 두 가지 액체의 비교는 리포좀 조성물이 연골 편의 보다 작은 질량 및 높이 손실을 유도한다는 것을 보여주었다.
- [0252] 거칠기 측정
- [0253] 거칠기 파라미터들은 DI 10X 대물렌즈에 의한 간섭계 측정치에 기초하여 일련의 추출된 프로파일에서 결정되었다. 측정치들은 편의 중앙부에서, 접촉 표면 내에서 양호하게 취해졌다. 도 10a 및 도 10b는 하부 평면의 형태 제거 후 예시적인 프로파일들을 도시한다.
- [0254] 선택된 거칠기 파라미터 Ra, Rk, Rpk 및 Rvk가 도 11에 도시되어 있다. 단백질 기반 액체에서의 마모 시험을 위해, 마모로 인한 이들 파라미터의 매우 유의한 증가가 2($p < 0.01$)로 관찰될 수 있었다. 예를 들어, 평균 거칠기 Ra는 마모된 편의 경우 $t = 0$ 에서 $0.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 에서 $1.6 \pm 0.4 \mu\text{m}$ 로 증가하였고, 커넬 거칠기 Rk는 $1.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$ 에서 $4.5 \pm 1.1 \mu\text{m}$ 로 증가하였다. 리포좀 조성물에서 마모 시험을 위해, Rpk ($p > 0.2$)를 제외하고는 거칠기 파라미터들의 더 작지만 유의미한 증가가 관찰되었다. 평균 거칠기 Ra는 $0.4 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 에서 $0.8 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 로 증가하였고, 커넬 거칠기 Rk는 $0.9 \pm 0.4 \mu\text{m}$ 에서 $2.4 \pm 0.8 \mu\text{m}$ 로 증가하였다.
- [0255] 당 기술분야의 숙련자라면 본 발명이 특정하게 도시되고 상기에서 설명된 것에 의해 제한되지 않는다는 것을 이해할 것이다. 오히려, 본 발명의 범위는 상기에서 설명된 다양한 특징부들의 조합 및 하위 조합 뿐만 아니라 변

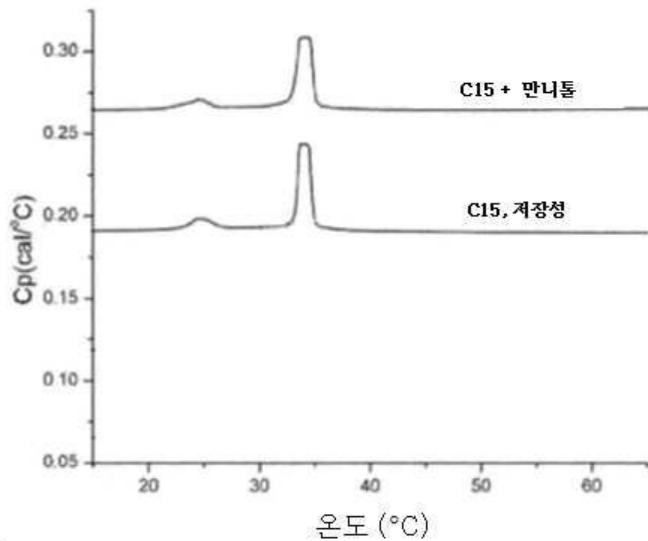
화와 변형을 포함한다. 따라서, 본 발명은 특정하게 설명된 실시예들로 제한되는 것으로 구성되어서는 안되며, 본 발명의 범위 및 개념은 이어지는 특허청구범위를 참조하여 보다 쉽게 이해될 것이다.

도면

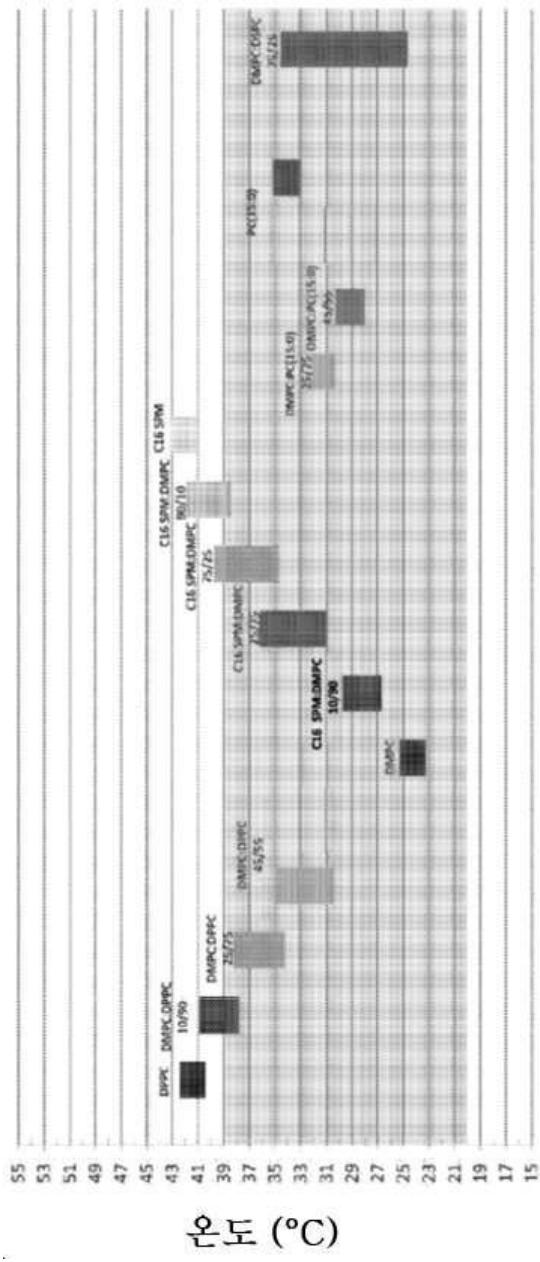
도면1



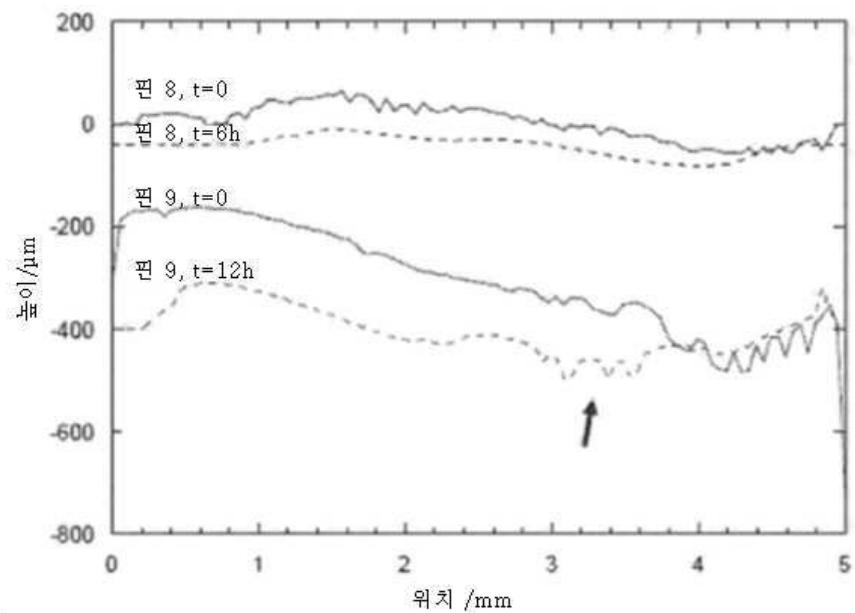
도면2



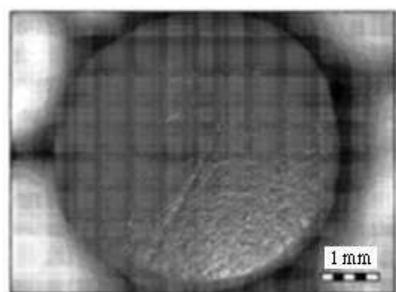
도면3



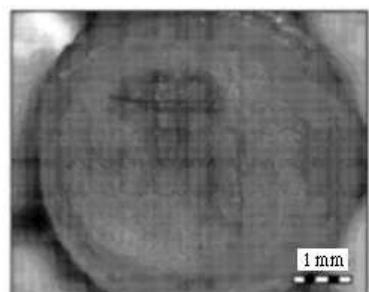
도면4



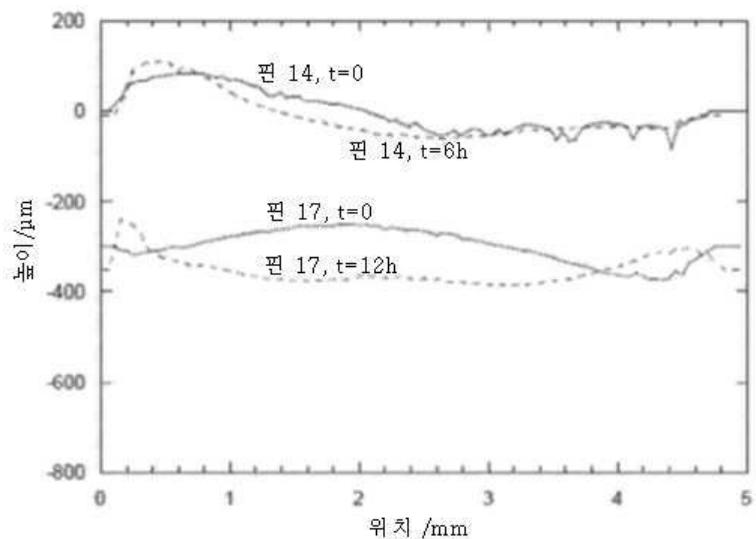
도면5a



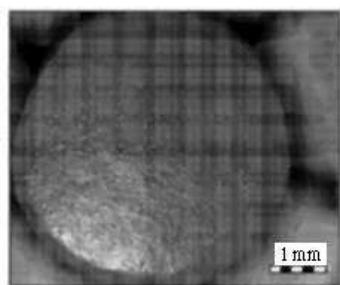
도면5b



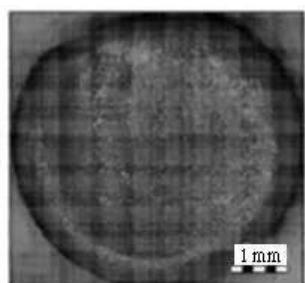
도면6



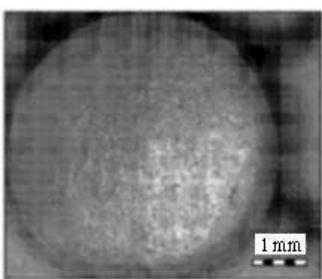
도면7a



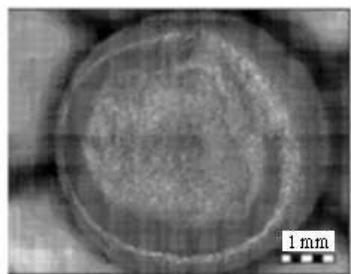
도면7b



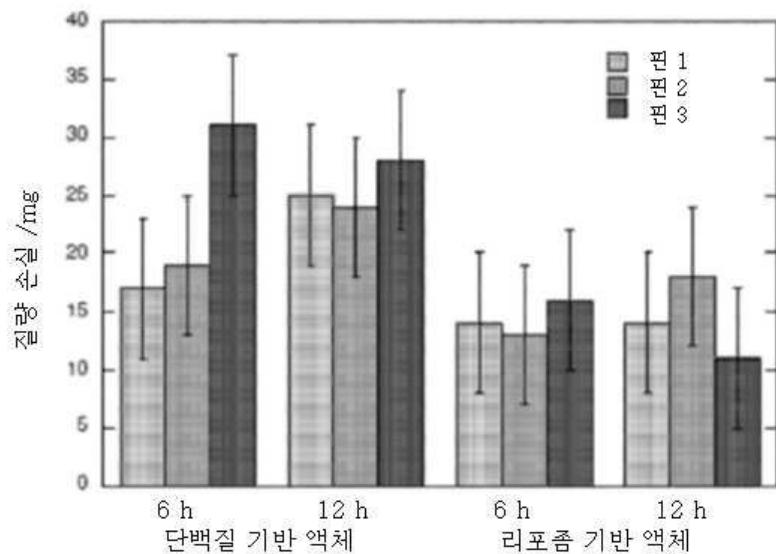
도면8a



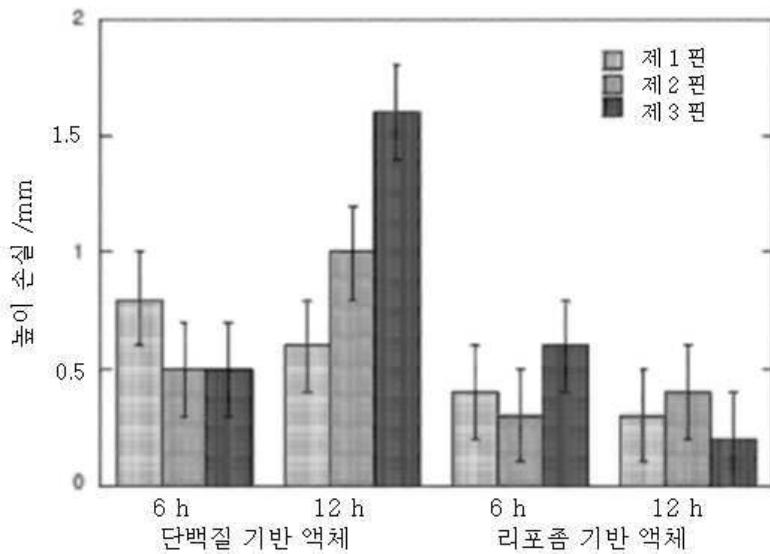
도면8b



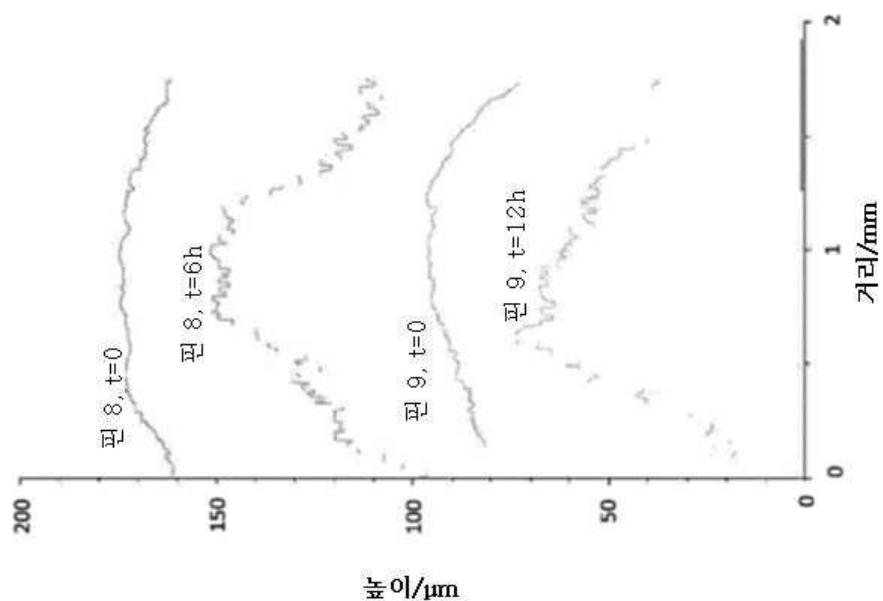
도면9a



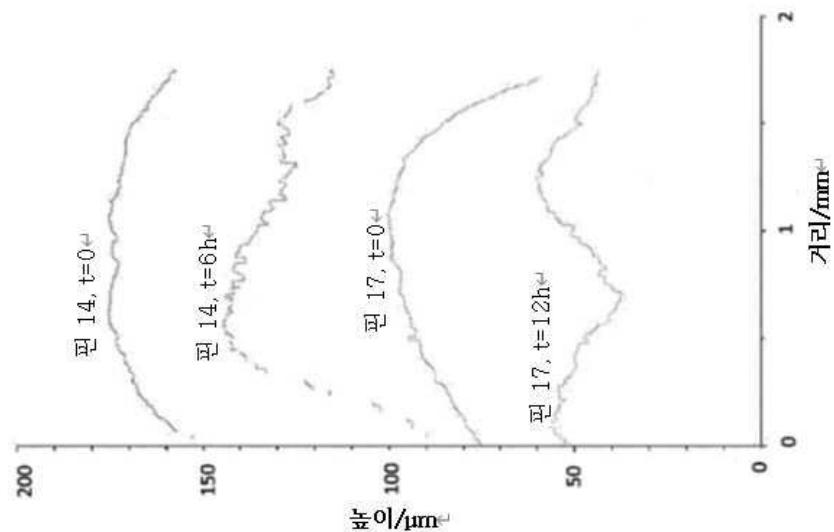
도면9b



도면 10a



도면 10b



도면11

