(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0083514
(43) 공개일자 2012년07월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/06 (2006.01) *A61K 31/728* (2006.01)
A61K 31/738 (2006.01) *A61K 47/36* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7014663
(22) 출원일자(국제) 2010년11월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2012년06월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/055801
(87) 국제공개번호 WO 2011/059909
국제공개일자 2011년05월19일
(30) 우선권주장
12/616,020 2009년11월10일 미국(US)

(71) 출원인
알러간, 인코포레이티드
미합중국92612
캘리포니아얼바인두폰트드라이브2525
(72) 발명자
스트로움포울리스, 디미트리오스
미합중국 캘리포니아주 93117, 골레타, 에이피티 4, 아브레고 로드 6616
레슬리, 더스틴 비.
미합중국 캘리포니아주 93110, 산타 바바라, 에스트렐라 드라이브 1170
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최경준

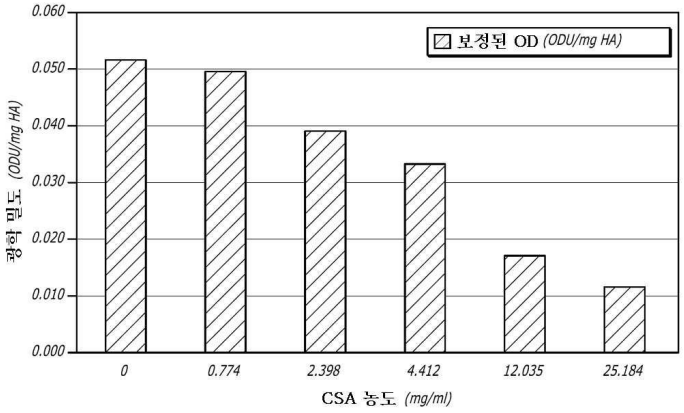
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **다단 생활성제 전달을 구비한 다당류 겔 제형**

(57) 요 약

본 명세서에는 적어도 1종의 다당류 분해 억제제를 포함하는 다당류 겔 제형 및 그 제조 방법이 개시되어 있다. 본 명세서에 개시된 방법은 적어도 1종의 다당류를 제공하는 단계 및 적어도 1종의 분해 억제제를 상기 다당류에 혼입시키는 단계를 포함한다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

머드, 크리스토퍼 에스.

미합중국 캘리포니아주 93117, 골레타, #비, 휘트먼 스트리트 451

테젤, 아멧

미합중국 캘리포니아주 93117, 골레타, 제라드 드라이브 112

특허청구의 범위

청구항 1

(a) 히알루론산(hyaluronic acid: HA), 셀룰로스, 키토산, o-황산화 HA(o-sulfated HA), 덱스트란, 덱스트란 설페이트, 콘드로이틴 설페이트, 더마탄 설페이트(dermatan sulfate), 케라틴 설페이트, 헤파린, 헤파린 설페이트 및 알지네이트로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 다당류;

(b) 글라이코사미노글라이칸, 항산화제, 플라보노이드, 단백질, 지방산 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 다당류 분해 억제제; 및

(c) 만니톨을 포함하는 다당류 겔 제형(polysaccharide gel formulation).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 다당류는 가교된 히알루론산인 것인 다당류 겔 제형.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 적어도 1종의 다당류 분해 억제제는 글라이코사미노글라이칸인 것인 다당류 겔 제형.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 글라이코사미노글라이칸은 콘드로이틴 설페이트인 것인 다당류 겔 제형.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 적어도 1종의 다당류 분해 억제제는 탄닌산인 것인 다당류 겔 제형.

청구항 6

제1항에 있어서, 생체적합성 또는 생분해성 베셀(vessel)을 추가로 포함하되, 상기 억제제는 상기 베셀 내에 있거나 혹은 해당 베셀의 일부이며, 상기 베셀은 리포좀, 마이셀(micelle), 또는 중합된 소포(polymerized vesicle)인 것인 다당류 겔 제형.

청구항 7

(a) 히알루론산;

(b) 글라이코사미노글라이칸, 항산화제, 플라보노이드, 단백질, 지방산 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 다당류 분해 억제제; 및

(c) 만니톨을 포함하는 다당류 겔 제형.

청구항 8

분해 시간이 증가된 다당류 겔 제형을 제조하는 방법으로서,

히알루론산, 셀룰로스, 키토산, o-황산화 HA, 덱스트란, 덱스트란 설페이트, 콘드로이틴 설페이트, 더마탄 설페이트(dermatan sulfate), 케라틴 설페이트, 헤파린, 헤파린 설페이트 및 알지네이트로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 다당류를 제공하는 단계; 및

상기 다당류에 글라이코사미노글라이칸, 항산화제, 플라보노이드, 단백질, 지방산 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 다당류 분해 억제제 및 만니톨을 혼입시키는 단계를 포함하는 다당류 겔 제형의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 혼입시키는 단계는 1) 고도로 수화된 상태에서 상기 적어도 1종의 다당류 분해 억제제를 상기 적어도 1종의 다당류와 혼합함으로써 해당 적어도 1종의 다당류 분해 억제제를 다당류 네트워크(polysaccharide network) 내에 캡슐화(encapsulating)시키는 단계, 및 2) 상기 다당류 네트워크를 탈수시켜

방출 동력학(release kinetics) 또는 최종 팽윤 비(final swell ratio)를 제어하는 단계를 포함하는 것인 다당류 겔 제형의 제조방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 혼입시키는 단계는 1) 상기 적어도 1종의 다당류 분해 억제제를 생체적합성 또는 생분해성 베셀 내에 캡슐화시키는 단계, 및 2) 상기 적어도 1종의 다당류와 상기 베셀을 겔 제형으로 조합시키는 단계를 포함하는 것인 다당류 겔 제형의 제조방법.

청구항 11

다당류 입자들이 내부에 분산되어 있는 다당류 매트릭스(polysaccharide matrix)를 포함하되, 상기 매트릭스 및/또는 상기 입자들은 적어도 1종의 생물학적 활성제를 더 포함하고, 상기 매트릭스 및/또는 상기 입자들은 상기 매트릭스 및/또는 상기 입자들로부터 연조직 내로 상기 적어도 1종의 생물학적 활성제의 방출을 제어하는 것인 연조직 증대 시스템(soft tissue augmentation system).

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 매트릭스는 제1속도에서 생물학적 활성제를 방출시키고, 상기 입자들은 제2속도에서 생물학적 활성제를 방출시키는 것인 연조직 증대 시스템.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 매트릭스 및 상기 입자들은 상이한 생물학적 활성제를 방출하는 것인 연조직 증대 시스템.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 입자들은, 트라이폴리포스페이트와 물리적으로 가교되고 알지네이트로 피복된 키토산을 포함하는 것인 연조직 증대 시스템.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 입자들은, 칼슘과 물리적으로 가교되고 키토산으로 안정화된 알지네이트를 포함하는 것인 연조직 증대 시스템.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 관한 교차 참조**

[0002] 본 출원은, 미국 특허 가출원 제60/991,473호(출원일: 2007년 11월 30일)의 이득을 주장하는 미국 특허 출원 제12/276,167호(출원일: 2008년 11월 21일)의 부분 계속 출원인 미국 특허 출원 제12/616,020호(출원일: 2009년 11월 10일)의 이득 및 우선권을 주장하는 바이며, 이들 기초 출원의 전체 개시 내용은 참조로 본 명세서에 포함된다.

[0003] **기술 분야**

[0004] 본 발명은 적어도 1종의 다당류 분해 억제제를 포함하는 다당류 겔 제형 및 그 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 다당류는 비교적 복잡한 탄수화물이다. 다당류는 글루코사이드 결합에 의해 서로 연결된 다수의 단당류로 제조된 중합체이다. 그러므로, 다당류는 큰, 흔히 분지형의 거대분자이다. 다당류, 특히, 히알루론산(hyaluronic acid: HA)은 미용 및 의학 응용에 유용하였다. 이러한 중합체는, 예를 들어, 연조직 증대(soft tissue augmentation)에 있어서 필러로서 사용되어 왔다.

[0006] HA 등과 같은 다당류는 피부, 연골 및 유리체액 등(단, 이들로 제한되지 않음)과 같은 신체의 많은 조직에서 자연스럽게 발견된다. 따라서, 이들 조직을 표적으로 하는 생의학에 상당히 적합하다. HA는 눈 수술(즉, 각막이식, 백내장 수술, 녹내장 수술 및 망막 박리 복원 수술)에 이용될 수 있다. HA는 또한 무릎의 골관절염

을 치료하는데 이용된다. 점성 보충(visco-supplementation)이라 불리는 이러한 치료는 무릎 관절 내로의 주입 과정으로서 투여되고, 관절액의 점성을 보충함으로써, 관절을 윤활시키고, 관절을 완충시키며, 진통 효과를 생성하는 것으로 여겨진다. 또한, HA는 연골 세포에 대한 양성의 생화학 효과를 지니는 것이 제안되어 있다. HA의 경구 이용은, 그의 효과가 입증될 필요가 있지만 최근에 제안된 바 있다. 현재, HA의 경구 투여가 골관절염에 대한 긍정적인 효과를 지니는 것을 제안하는 예비적인 임상 연구가 몇몇 행해져 있다.

[0007] HA는, 그의 높은 생체적합성과 조직의 세포외 매트릭스 내에 그의 통상의 존재로 인해, 조직 공학 연구에 있어서 생체재료 골격으로서 이용될 수 있다. 몇몇 암에 있어서, HA 수준은 악성 종양 및 나쁜 예후와 잘 상관되고 있다. 따라서, HA는 전립선 및 유방 암의 종양 표지자로서 종종 이용된다. 또한, 질환의 진행을 모니터링하는 데도 이용될 수 있다. HA는 또 특별히 백내장 수술 후 조직 치유를 유도하기 위하여 수술후에 이용될 수 있다. 현재의 상처 치유의 모델은, HA의 보다 큰 중합체가 치유의 초기 단계에서 백혈구를 위해 물리적으로 자리를 만들어 면역 반응을 매개하는 것처럼 보이는 것을 제안하고 있다.

[0008] HA는, 세포외 공간에 있으면서, 독특하게 순응성이 있는(malleable) 물리적 특성 및 최상의 생체적합성을 갖는 공간-충전(space-filling), 구조 안정화, 및 세포 보호 분자로서 기능한다. HA 매트릭스는 극히 점탄성인 한편, 높은 수준의 수화(hydration)를 보존한다. 피부 중의 물 함량과 진피 조직(dermal tissue) 중의 HA의 수준 사이에는 강한 상관관계가 있다. 사람의 피부는 노화됨에 따라서, HA의 함량 및 대사가 변화하는 것으로 알려져 있다. 이러한 변화에 의해서, 피부의 기계적 특성이 크게 저하된다. 젊은 피부와 세포간 매트릭스 중의 강한 HA 네트워크의 존재 사이에는 관련성이 있는 것으로 여겨진다.

[0009] HA 등과 같은, 가교된 다당류 사슬뿐만 아니라 비-가교된 다당류 사슬은 다양한 경로(예를 들어, 효소, 자유라디칼)를 통해 분해되며; 따라서 중합체의 생체내 수명이 제한된다. 그러므로, 자연적인 분해의 속도를 감소시키고 제품의 생체내 지속성을 증가시키는 방법 및 조성물을 개발하는 것이 중요하다. 분해에 대해 내성이 있어서 수명이 연장된 다당류 제형에 대한 요구가 여전히 계속되고 있다.

[0010] 부가적으로, 당업계에서는, 이식 후 연장되는 기간 동안 주위 조직에 생물학적 활성제의 제어된 방출을 제공하는 다당류 제형에 대한 오랜 요망이 있었다. 이러한 생활성제는 다당류 제형 자체의 부작용의 일부를 치료하는데 이용될 수 있다.

[0011] 당업계에 있어서 분해 방지를 포함하는 HA 및 HA 제형을 전달하는 방법에 대한 많은 개시 문헌이 있으며, 그 예로는, 미국 특허 공개 제2009/0036403호(cross-linked HA compositions including polyethylene glycol); 미국 특허 공개 제2009/0030367호(needle-free injection device for delivering HA formulations); 및 미국 특허 공개 제2009/0022808호(coated HA particles for soft tissue augmentation)를 들 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

발명의 내용

[0012] 본 명세서에는, 생체 내에서 수명이 연장되고/되거나, 분해 시간이 증가되고/되거나 지속 방출되는 적어도 1종의 생물학적 활성제를 지닌, 연조직 증대 시스템, 일반적으로 다당류 기반 중합체 시스템이 개시되어 있다. 일반적으로, 상기 시스템은 1종 이상의 생물학적 활성제를 하나 이상의 단계, 수준, 기간 및/또는 프로파일로 전달하는 능력을 포함한다.

[0013] 본 명세서에 기재된 연조직 증대 시스템은 다당류 입자들이 내부에 분산되어 있는 다당류 매트릭스(polysaccharide matrix)를 포함하되, 해당 매트릭스 및/또는 입자들은 적어도 1종의 생물학적 활성제를 추가로 포함하고, 상기 매트릭스 및/또는 입자들은 상기 매트릭스 및/또는 상기 입자들로부터 상기 연조직 내로 상기 적어도 1종의 생물학적 활성제의 방출을 제어한다. 상기 시스템은 제1속도에서 생물학적 활성제를 방출시킬 수 있고, 상기 입자들은 제2속도에서 생물학적 활성제를 방출시킨다. 일 실시형태에 있어서, 상기 제1속도는 상기 제2속도보다 빠르다.

[0014] 다른 실시형태에서, 상기 입자들은 상이한 입자들의 모집단(population)을 포함하고, 각 모집단은 다른 입자 모집단과는 다른 방출 속도를 지닌다.

[0015] 또 다른 실시형태에서, 상기 매트릭스 및 상기 입자들은 동일한 생물학적 활성제를 방출하거나 혹은 상이한 생물학적 활성제를 방출한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 생물학적 활성제는 효소 억제제, 마취제, 약용 신경독, 항산화제, 감염 방지제, 항염증제, 자외(UV)광 차단제, 염료, 호르몬, 면역억제제, 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다른 실시형태에 있어서, 억제제는 탄닌산 혹은 콘드로이틴 설페이트

A(chondroitin sulfate A: CSA)이고, 마취제는 리도카인이다.

[0016] 다른 실시형태에서, 매트릭스는 히알루론산(HA), o-황산화 HA(o-sulfated HA), 덱스트란, 덱스트란 설페이트, 셀룰로스, 콘드로이틴 설페이트, 헤파린, 헤파린 설페이트, 알지네이트, 케라틴 설페이트, 키토산 및 셀룰로스로 이루어진 군으로부터 선택된 다당류를 포함한다. 또, 매트릭스는 화학적으로 가교되거나, 물리적으로 가교되거나 혹은 가교되어 있지 않을 수 있다.

[0017] 일 실시형태에서, 상기 입자들은 트라이폴리포스페이트와 물리적으로 가교되고 알지네이트로 피복된 키토산을 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 입자들은 칼슘과 물리적으로 가교되고 키토산으로 안정화된 알지네이트를 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 입자들은 직경이 약 10㎛ 내지 약 100㎛이다.

[0018] 또, 본 명세서에는 가교된 HA 매트릭스에 분산된 CSA-함유, 알지네이트-피복된 키토산 입자들을 포함하는 연조직 증대 시스템이 기재되어 있고, 이때, CSA의 최종 농도는 약 1 ㎎/㎖ 내지 약 10 ㎎/㎖이다.

[0019] 또한, 본 명세서에는 가교된 HA 매트릭스에 분산된 CSA-함유, 알지네이트-피복된 키토산 입자들을 포함하는 연조직 증대 시스템이 기재되어 있고, 이때, CSA의 최종 농도는 약 1 ㎎/㎖ 내지 약 10 ㎎/㎖이며, HA 매트릭스는 탄닌산을 약 1 ㎎/㎖ 내지 약 10 ㎎/㎖ 더 함유한다.

[0020] 또 본 명세서에는, 가교된 HA 매트릭스에 분산된 탄닌산-함유, 알지네이트-피복된 키토산 입자들을 포함하는 연조직 증대 시스템이 기재되어 있고, 이때, 탄닌산의 최종 농도는 약 0.1 ㎎/㎖ 내지 약 2 ㎎/㎖이다.

[0021] 몇몇 실시형태에 있어서, 연조직 증대 시스템은 HA 매트릭스 내에 리도카인을 더 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 비색분석(colorimetric assay)을 사용한 콘드로이틴 설페이트 A(CSA)를 포함하는 다당류 겔의 효소 분해 정도를 나타낸 그래프;

도 2는 비색분석을 사용한 탄닌산(tannic acid: TA)을 포함하는 다당류 겔의 효소 분해 정도를 나타낸 그래프;

도 3은 가용성 HA 분석(soluble HA assay)을 사용한 CSA를 포함하거나 포함하지 않는 다당류 겔 둘 모두의 효소분해 정도를 나타낸 그래프;

도 4는 가용성 HA 분석을 사용한 TA를 포함하거나 포함하지 않는 다당류 겔의 효소 분해 정도를 나타낸 그래프;

도 5는 다당류 겔의 압출력에 대한 CSA의 효과를 나타낸 그래프;

도 6은 CSA 장입된 키토산/알지네이트 입자(좌측) 대 장입되지 않은 키토산/알지네이트 입자(우측)을 예시한 도면;

도 7은 쥬비덤(JUVEDERM)(등록상표) 30 및 쥬비덤(등록상표) 24HV의 양쪽으로부터 시험관내 CSA 방출을 예시한 그래프;

도 8은 쥬비덤(등록상표) 30으로부터 시험관내 TA 방출을 예시한 그래프;

도 9는 키토산/알지네이트 입자들로부터 시험관내 TA 방출을 예시한 그래프;

도 10은 CSA 혹은 TA 입자가 보충된 쥬비덤(등록상표) 30에서의 시간 경과에 따른 HA 분해의 억제를 예시한 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] **용어의 정의**

[0024] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "약"은 대략 혹은 거의를 의미하며, 여기에 기재된 수치 혹은 범위의 맥락에서 인용된 혹은 청구된 수치 혹은 범위의 +/-10%를 의미한다.

[0025] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "담체", "불활성 담체" 및 "허용가능한 담체"는 호환가능하게 이용될 수 있고, 목적으로 하는 조성물을 제공하기 위하여 현재 개시된 시스템과 조합될 수 있는 담체를 의미한다. 당해 기술분야에서 통상의 기술을 가진 자(이하, "당업자"라 약칭함)라면 특정 치료용 약제 및/또는 화장품(혹

은 미용) 조성물을 제조하기 위하여 잘 알려진 수많은 담체를 알고 있을 것이다.

[0026] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "미용품"(혹은 화장품)은 표면의 외관을 향상시키거나 결함을 덮는 보조제이다. 전형적으로, 미용 조성물은 표면의 기능적 측면보다는 미적 측면을 향상시키는데 이용될 수 있다. 가장 통상적으로, 미용 조성물은, 신체의 개인적인 외관, 예를 들어, 피부, 머리카락, 손톱 등의 케라틴질 표면에 영향을 미치기 위하여, 또는 건강 및 미적 처치로서의 응용을 위하여 조제된다.

[0027] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "미용용으로 허용가능한 담체"란 케라틴질 표면 혹은 신체의 다른 부분에 적용하기에 적합한 재료를 의미한다. 적용 시, 미용용으로 허용가능한 담체는 피부 및 기타 케라틴질 표면과의 유해 반응이 실질적으로 없다. 예를 들어, 미용용 담체는 지방 혹은 비지방 크림, 우유 같은 현탁제 혹은 유중 에멀젼 혹은 수중유형, 로션, 겔 혹은 젤리, 콜로이드 혹은 비콜로이드성 수성 혹은 유성 용액, 페이스트, 에어로졸, 가용성 정제 혹은 스틱의 형태를 취할 수 있다.

[0028] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "제형" 및 "조성물"은 호환가능하게 이용될 수 있고, 주어진 목적을 위하여 함께 제공되는 요소들의 조합을 의미한다. 이러한 용어는 당업자에게 충분히 공지되어 있다.

[0029] 본 명세서에서 이용되는 바와 같은 "분자량(M_w)"이란 분자 중의 원자의 원자량의 합계를 의미한다. 예를 들어, 메탄(CH_4)의 분자량은 16.043 g/mol이고, 원자량은 탄소 = 12.011 g/mol, 수소 = 1.008 g/mol이다. 달톤(Da)은 ^{12}O의 질량의 1/12와 같은 질량 단위이며, 1백만 Da은 1 MDa이라 표기될 수 있다.

[0030] **상세한 설명**

[0031] 본 명세서에는 생체 내에서 수명이 연장되고/되거나, 분해 시간이 증가되고/되거나 지속 방출되는 적어도 1종의 생물학적 활성제를 지닌 연조직 증대 시스템 및 조성물이 기재되어 있다. 이러한 분해 시간의 증가는 분해에 대한 억제제로서 작용하는 분자들의 혼입에 의해 제공될 수 있다. 상기 시스템 자체는 일반적으로 다당류에 기반하고 있다. 일반적으로, 상기 시스템은 1종 이상의 생물학적 활성제를 하나 이상의 단계, 수준, 기간 및/또는 프로파일로 전달하는 능력을 포함한다.

[0032] 본 명세서에 기재된 연조직 증대 시스템은 다당류 입자들이 내부에 분산되어 있는 다당류 매트릭스를 포함하되, 상기 매트릭스 및/또는 상기 입자들은 적어도 1종의 생물학적 활성제를 더 포함하고, 상기 매트릭스 및/또는 상기 입자들은 상기 매트릭스 및/또는 상기 입자들로부터 상기 연조직 내로 상기 적어도 1종의 생물학적 활성제의 방출을 제어한다.

[0033] 본 명세서에 기재된 연조직 증대 시스템은 일반적으로 연조직 증대(예컨대, 리프트 및 주름 교정 등)을 제공하고, 각종 생체내 분해 경로(예컨대, 효소, 자유 라디칼 분해 등)에 견디며, (예컨대, 주입 통증, 타박상 및 출혈 등을 완화시키기 위하여) 제어된 약물 전달을 제공하는 새로운 다작용 중합체 시스템에 관한 것이다. 본 명세서에 기재된 시스템의 이들 특성은, 주입 이후 처음 수 주 동안, 낮은 분해 내성, 주입 동안의 림프관 제거 및 일반적인 환자의 불편에 대한 증가된 감수성에 의해 전형적으로 제한되는 현재 시판되고 있는 필러와는 다르다.

[0034] 본 발명의 일 측면은 적어도 1종의 다당류 혹은 다당류 매트릭스를 포함하는연조직 증대 시스템에 관한 것이다. 본 명세서에서 이용되는 바와 같은 "다당류"란 둘 이상의 단당류 분자(이때, 단당류는 동일하거나 상이할 수 있음)의 중합체를 의미한다. 본 명세서에 기재된 매트릭스를 구성하는 다당류는 화학적으로 가교되거나, 물리적으로 가교되거나 혹은 가교되어 있지 않을 수 있다. 본 명세서에서 이용되는 다당류는, HA, 셀룰로스, 키토산, o-황산화 HA, 덱스트란, 덱스트란 설페이트, 콘드로이틴 설페이트, 더마탄 설페이트, 케라틴 설페이트, 헤파린, 헤파린 설페이트 및 알지네이트일 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 상기 시스템은 또한 물리적으로 혹은 화학적으로 가교될 수 있고 중합체 매트릭스 내에 분산 및/또는 포획되는 다당류 입자들을 포함한다.

[0035] 본 명세서에 기재된 다당류는 다당류 및 그들의 유도체를 그들의 하이드록실기를 통해서 가교하는데 적합한 것으로 공지된 가교제를 이용해서 가교될 수 있다. 적절한 가교제로는, 예를 들어, 1,4-뷰탄다이올 다이글라이시딜 에터(또는 1, 4-비스(2,3-에폭시프로폭시)뷰탄 혹은 1,4-비스글라이시딜옥시뷰탄, 이들은 모두 통상 BDDE로서 공지됨), 1,2-비스(2,3-에폭시프로폭시)에틸렌, 1-(2,3-에폭시프로필)-2,3-에폭시사이클로헥산을 들 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 1종 이상의 가교제 혹은 상이한 가교제의 이용은 본 발명의 범위로부터 배제되지 않는다. 일 실시형태에 있어서, 가교제는 BDDE를 포함하거나 이것으로 구성된다.

[0036] 중합체 시스템은 일반적으로 생물학적 활성제 혹은 생활성제의 체적 교정, 제어된 방출을 제공하고 또한 매트

릭스 내에 다당류 입자들을 유지할 수 있도록 설계되어 있다. 다당류 입자는 연조직의 구조, 보다 지속되는 교정 및 활성제의 지속 제어된 방출을 제공하도록 설계된다. 이와 같이, 기재된 시스템은 몇몇 경우에 적어도 2 레벨의 생물학적 활성제 방출을 제공할 수 있다. 이 첫번째 레벨의 방출은 중합체 네트워크(polymer network) 자체로부터 유래될 수 있다. 이 방출은 일반적으로 중합체 네트워크 내에 포획된 생물학적 활성제(들)로부터 유래된다. 두번째 레벨의 방출은 중합체 네트워크와 연관된 중합체 입자들로부터 유래될 수 있다.

[0037] 본 명세서에 기재된 바와 같은 중합체 시스템으로부터의 다수 레벨의 방출을 지니는 하나의 이점은 생활성제 방출 타이밍에 걸친 보다 양호한 제어이다. 예를 들어, 새롭게 이식된 재료는 분해 억제제 및 항산화제의 신속 방출 기전에 의해 효과적으로 싸울 수 있는 면역체계에 의한 공격의 초기 급증을 겪게 된다. 그러나, 시간 경과에 따라, 이식된 재료는 서방성 기전에 의해 더욱 양호하게 교전될 수 있는 보다 온순하지만 지속적인 면역 공격을 받게 된다.

[0038] 따라서, 본 명세서에 기재된 시스템은 초기의 신속한 방출을 제공하도록 설계된 중합체 매트릭스를, 보다 길게 유지되는 지속적인 2차 방출을 제공하는 중합체 입자와 함께 포함한다. 후자는 중합체 입자들의 높은 안정성 및 느린 생분해 프로파일에 의해 달성된다. 일 실시형태에 있어서, 효소 억제제 혹은 분해 억제제(예컨대, 콘드로이틴 설페이트, 탄닌산 등) 등과 같은 생물학적 활성제는 중합체 네트워크와 혼합되고 또한 중합체 입자 내에 혼입되거나 해당 중합체 입자 상에 피복된다. 상기 입자의 내부 및/또는 외부에서의 억제제의 존재는 시스템의 장기 보존 수명을 확실하게 하는 확산 평형을 확립한다.

[0039] 이어서, 이식 시, 중합체 네트워크로부터의 생활성제의 신속한 방출은 예를 들어 염증 반응으로부터의 초기의 보호를 제공할 수 있다. 이 신속 방출은 입자 표면을 따라 농도 구배를 형성함으로써 중합체 입자로부터의 제2단계 방출을 활성화시킨다. 방출은 중합체 입자가 생체내에서 분해됨에 따라서 더욱 전파된다. 보다 느린 제2단계의 방출은 중합체 네트워크로의 생활성제의 보다 긴 공급을 제공한다. 생활성제가 분해 억제제라면, 조성물은 이에 따라서 지속된 분해 보호를 확보하게 될 것이다. 다른 실시형태에 있어서, 효소 억제제는 항산화제(예컨대, 아스코르브산 등) 혹은 약물 분자(예컨대, 리도카인, 에피네프린 등)에 의해 보충되거나 치환된다.

[0040] 다른 실시형태에 있어서, 중합체 입자는 키토산을 트라이폴리포스페이트(TPP)와 연결하는 물리적 가교 과정에 의해 형성되고 또한 알지네이트로 추가로 피복된다. 또 다른 실시형태에 있어서, 중합체 입자는 알지네이트를 칼슘과 연결하는 물리적 가교 과정에 의해 형성되고 또한 키토산에 의해 안정화된다. 얻어진 입자는 진피 필러 조성물(dermal filler composition) 내에의 내포를 위하여 이들을 이상적으로 만드는 특성을 지닌다. 예를 들어, 상기 입자는 생체적합성/생분해성이고, 가요성이며(예컨대, 미세 바늘을 통한 압출을 용이하게 하기 위하여), 독성 가교제 무함유이고, 원활히 조직화되며(예컨대, 생체적합성 증가를 위하여), 조율 가능한 크기이고(예컨대, 림프관 제거 및 이동에 태클을 걸기 위하여), 크고 작은 활성 분자의 유효한 담체이며(예컨대, 탄닌산, 리도카인, 콘드로이틴 설페이트, 에피네프린 등), 우수한 유지 프로파일로 시험관내에서 매우 안정적이고, 또한 (예컨대, 키토산:TPP:알지네이트 비를 조정함으로써) 활성 분자 유지 시간으로 조율가능하다.

[0041] 입자 자체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 중합체 매트릭 내로의 혼입을 위하여 적절한 크기일 수 있고, 또한 본 명세서에 기재된 바와 같은 시스템 내에서 유용할 수 있다. 예를 들어, 이들 입자의 직경은 약 1㎛ 내지 약 1000㎛이다, 다른 실시형태에 있어서, 이들 입자의 직경은 약 10㎛ 내지 약 100㎛ 혹은 약 25㎛ 내지 약 75㎛이다.

[0042] 시스템 내로 혼입되는 생활성제는 억제제, 마취제, 약용 신경독, 항산화제, 감염 방지제, 항염증제, 자외(UV)광 차단제, 염료, 호르몬, 면역억제제, 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0043] 일 실시형태에 있어서, 상기 입자 혹은 중합체 매트릭스는 적어도 1종의 억제제, 예를 들어, 분해 억제제를 더 포함한다. 억제제는 효소 및 자유 라디칼 분해와 같은 특정 분해 기전을 목표로 하여(targeting) 무력화(neutralizing)시킴으로써 작용하는 분자이다. 억제 활성을 나타내는 분자로는 글라이코사미노글라이칸(glycosaminoglycan: GAG)(예컨대, 헤파린, 헤파린 설페이트, 더마탄 설페이트, 콘드로이틴 설페이트, 콘드로이틴 설페이트 A(CSA), o-황산화 HA, 리나마린(linamarin) 및 아미그달린), 항산화제(예컨대, 아스코르브산, 멜라토닌, 비타민 C 및 비타민 E), 단백질(예컨대, 혈청 히알루로니다제 억제제(hyaluronidase inhibitor)) 및 지방산(예컨대, 포화 C_1 내지 C_{22} 지방산)을 들 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0044] 억제제는 전형적으로 가교된 다당류 중합체보다 수 차수(orders of magnitude) 더 작은 분자이다. 이는, 작은 크기 및 보다 고도의 확산성(diffusivity)으로 인하여, 생체 내에서 신속히 흡착되는 경향이 있어 성능이

잠재적으로 제한될 수 있었다. 생체 내에서 이러한 분자의 국소적 반감기(local half-life)를 증가시키는 한 가지 방법은 이들을 다당류 중합체 네트워크에 화학적으로 그래프팅하고 동시에 전달하는 것이다. 이 방법의 한가지 단점은 결합되지 않은 분자와 비교하여 결합된 분자는 상당히 더 낮은 활성을 나타낼 수 있다는 점이다.

[0045] 일 실시형태에 있어서, 입자 혹은 중합체 매트릭스는 적어도 1종의 마취제를 더 포함한다. 적어도 1종의 국소 마취제는 암부카인(ambucaine), 아몰라논(amolanone), 아밀로카인(amylocaine), 베녹시네이트(benoxinate), 벤조카인(benzocaine), 베톡시카인(betoxycaine), 비페나민(biphenamine), 부피바카인(bupivacaine), 부타카인(butacaine), 부탐벤(butamben), 부타닐리카인(butanilicaine), 부테타민(butethamine), 부톡시카인(butoxycaine), 카르티카인(carticaine), 클로로프로카인(chloroprocaine), 코카에틸렌(cocaethylene), 코카인(cocaine), 사이클로메티카인(cyclomethycaine), 다이부카인(dibucaine), 다이메티소퀸(dimethysoquin), 다이메토카인(dimethocaine), 디페로돈(diperodon), 다이사이클로닌(dycyclonine), 에크고니딘(ecgonidine), 에크고닌(ecgonine), 에틸 클로라이드, 에티도카인(etidocaine), 베타-유카인(beta-eucaine), 유프로신(euprocin), 페날코민(fenalcomine), 포르모카인(formocaine), 헥실카인(hexylcaine), 하이드록시테트라카인(hydroxytetracaine), 아이소뷰틸 p-아미노벤조에이트, 류시노카인 메실레이트(leucinocaine mesylate), 레복사드롤(levoxadrol), 리도카인(lidocaine), 메피바카인(mepivacaine), 메프릴카인(meprylcaine), 메타뷰톡시카인(metabutoxycaine), 메틸 클로라이드, 미르테카인(myrtecaine), 나에파인(naepaine), 옥타카인(octacaine), 오쏘카인(orthocaine), 옥세타자인(oxethazaine), 파레톡시카인(parethoxycaine), 페나카인(phenacaine), 페놀, 피페로카인(piperocaine), 피리도카인(piridocaine), 폴리도카놀(polidocanol), 프라목신(pramoxine), 프릴로카인(prilocaine), 프로카인(procaine), 프로파노카인(propanocaine), 프로파라카인(proparacaine), 프로피오카인(propipocaine), 프로폭시카인(propoxycaine), 슈도코카인(psuedococaine), 피로카인(pyrrocaine), 로피바카인(ropivacaine), 살리실 알코올, 테트라카인, 톨릴카인, 트라이메카인(trimecaine), 졸라민(zolamine), 및 이들의 염으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일 실시형태에서, 적어도 1종의 마취제는 리도카인, 예들 들어, 리도카인 HCl의 형태이다. 본 명세서에 기재된 시스템 및 조성물은 리도카인 농도가 조성물의 약 0.1중량% 내지 약 5중량%, 예를 들어, 조성물의 약 0.2중량% 내지 약 1.0중량%일 수 있다. 일 실시형태에서, 조성물은 리도카인 농도가 해당 조성물의 약 0.3중량%(w/w %)이다. 본 명세서에 기재된 조성물 중의 리도카인의 농도는 치료학적으로 효과적일 수 있으며, 이는 환자에게 유해하지 않으면서 치료학적 이점을 제공하기에 적합한 농도를 의미한다.

[0046] 생물학적 활성제의 추가의 예로는, 가려움증 방지제, 셀룰라이트 방지제, 흉터 방지제 및 항염증제를 들 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 가려움증 방지제로는 메틸 설포닐 메탄, 중탄산나트륨, 칼라민, 알란토인, 카올린, 페퍼민트, 티 트리 오일(tea tree oil) 및 이들 조합물을 들 수 있다. 셀룰라이트 방지제로는 포르스콜린(forskolin), 잔틴(xanthine) 화합물, 예를 들어, 이들에 제한되지는 않지만, 카페인, 테오필린(theophylline), 테오브로민(theobromine) 및 아미노필린(aminophylline), 및 이들의 조합물을 들 수 있다. 흉터 방지제로는 IFN-γ, 플루오로유라실, 폴리(락트-코-글라이콜산), 메틸화된 폴리에틸렌 글라이콜, 폴리락트산, 폴리에틸렌 글라이콜 및 이들의 조합물을 포함할 수 있다. 항염제는 덱사메타손, 프레드니솔론, 코르티코스테론, 부데소니드(budesonide), 에스트로겐, 설파살라진(sulfasalazine), 메살라민(mesalamine) 및 이들의 조합물을 들 수 있다.

[0047] 일 실시형태에 있어서, 상기 시스템은 탄닌산 효소 억제제 혹은 콘드로이틴 설페이트 A(CSA) 효소 억제제 및 리도카인을 포함한다. 리도카인 또는 대안적인 마취제는 점성 더마필러(dermafiller)의 주입과 연관된 통증의 일부 혹은 실질적으로 전부를 완화시키기 위하여 주어진 제형에 이용될 수 있다. 마취제의 지속 방출(즉, 서방성)은 주입된 제형으로부터 잔류 통증 완화를 가능하게 하는데 유용할 수 있다.

[0048] 생물학적 활성제는 입자 혹은 매트릭스 중에 혹은 이들 양쪽 모두 중에 약 0.0001중량% 내지 약 99중량%, 약 0.001중량% 내지 약 75중량%, 약 0.01중량% 내지 약 60중량%, 약 1중량% 내지 약 50중량%, 약 1중량% 내지 약 40중량%, 약 1중량% 내지 약 30중량%, 약 1중량% 내지 약 20중량%, 약 10중량% 내지 약 20중량%, 약 20중량% 내지 약 30중량%, 0.0001중량% 내지 약 0.01중량%, 약 0.0001중량% 내지 약 0.1 중량%, 약 0.0001중량% 내지 약 1중량%, 약 0.001중량% 내지 약 1중량%, 약 0.01중량% 내지 약 1중량%, 또는 약 1중량% 내지 약 10중량%의 범위의 농도로 존재할 수 있다.

[0049] 다른 실시형태에 있어서, 입자 혹은 매트릭스 중에 혹은 이들 양쪽 모두 중에 존재하는 생물학적 활성제의 농도는 약 0.001 mg/mℓ 내지 약 100 mg/mℓ, 약 0.01 mg/mℓ 내지 약 10 mg/mℓ, 약 1 mg/mℓ 내지 약 10 mg/mℓ, 약 2 mg/mℓ 내지 약 5 mg/mℓ or 약 0.1 mg/mℓ 내지 약 2 mg/mℓ의 범위이다.

[0050] 일 실시형태에 있어서, 시스템은 1종 이상의 생활성제를 상이한 속도로 방출시킨다. 예를 들어, 매트릭스는 생물학적 활성제를 제1속도에서 방출시키고, 입자들은 생물학적 활성제를 제2속도에서 방출시킨다. 일 실시형태에 있어서, 상기 제1속도는 상기 제2속도보다 빠르다.

[0051] 다른 실시형태에 있어서, 상기 입자들은 상이한 입자들의 모집단을 포함하되, 각 모집단은 다른 입자 모집단과는 상이한 방출 속도를 지닌다. 예를 들어, 상이한 크기 혹은 형상의 입자들은 상이한 방출 속도를 지닐 수 있다.

[0052] 몇몇 실시형태에 있어서, 중합체 매트릭스 및 관련된 입자는 동일한 생물학적 활성제를 방출시킨다. 다른 실시형태에 있어서, 해당 생물학적 활성제는 매트릭스 및 입자와 상이하다.

[0053] 본 발명의 다른 측면은 적어도 하나의 레벨의 생활성제의 전달을 제공하는 능력을 지니는 다당류 제형을 제조하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 다당류를 제공하고 생활성제를 해당 다당류와 연관시킨다.

[0054] 비-가교된 다당류 사슬뿐만 아니라 가교된 다당류 사슬은 다양한 경로(예를 들어, 효소, 자유 라디칼)를 통해 분해를 겪으며 이는 흔히 중합체의 생체내 수명을 제한한다. 그러므로, 자연적인 분해 과정의 속도를 감소시키고 제품의 조직내 지속성을 증가시키는 방법을 개발하는 것이 중요하다.

[0055] 중합체, 예컨대, 다당류 지속성의 증가를 달성하는 한 가지 방법은, 생물학적 활성제, 예컨대, 억제제 분자를 다당류 중합체 네트워크 자체 내에 또는 억제제의 국소적인(주사 부위), 지속된 제어 방출을 가능하게 하는 매트릭스 내의 연관된 입자 내로 캡슐화(encapsulating)하는 것이다. 이는 또한 자연적인 분해 기전의 회피를 가능하게 할 수 있다. 본 캡슐화 방법은 수주의 기간에 걸쳐서 다당류 중합체 네트워크로의 생물학적 활성제, 예를 들어, 분해 억제제의 일정한 공급을 제공한다.

[0056] 다른 실시형태에서, 생활성제의 일정한 공급은 수 개월의 기간에 걸쳐서 제공된다. 캡슐화의 한 가지 방법은 흡착에 의해 또는 캡슐화 과정에 의해 생활성제를 다당류 중합체 네트워크 내로 혼입시키는 것이다. 후자의 경우에, 생활성제는 고도로 수화된 상태에서 다당류 네트워크와 혼합되는 것이 허용되며, 그 후에 네트워크가 탈수되어 방출 동력학(release kinetics)(예를 들어, 중합체의 최종 팽윤 비)이 제어된다. 고도로 수화된 상태는 약 20 ㎎/㎖ 미만인 HA 농도에 대응한다.

[0057] 본 발명의 다른 측면은 다당류 매트릭스 및 해당 매트릭스 내에 분산된 다당류 입자와, 적어도 1종의 생활성제를 포함하고, 또한 생체적합성 혹은 생분해성 베셀(vessel)을 더 포함하는 다당류 제형에 관한 것이며, 여기서, 억제제는 베셀 내에 있거나 그 일부이다. 이러한 베셀은 비공유 결합 또는 공유 결합된 자가-조립(self-assembled) 분자, 예컨대, 리포솜, 마이셀(micelle), 및 중합된 소포로 구성될 수 있다.

[0058] 리포솜은 혼합된 지질 사슬(예를 들어, 난(egg) 포스파티딜에탄올아민)을 지니는 자연적으로 유도된 인지질로 형성되거나, 또는 다이올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE)과 같은 순수한 계면활성제 성분으로 형성된 하나 이상의 이중층 막으로 구성된 소포이다. 리포솜은, 정의에 의한 것이 아니라 통상, 수용액의 코어를 함유하며; 수성 물질을 함유하지 않은 지질 구조체를 마이셀이라 부른다. 마이셀은 액체 콜로이드 중에 분산된 계면활성제 분자의 응집체이다. 수용액 중에서의 전형적인 마이셀은 둘러싼 용매와 접촉하는 친수성 "머리" 영역과 응집체를 형성하며, 소수성 꼬리 영역을 마이셀 중앙에 격리시킨다. 이러한 유형의 마이셀은 정상 마이셀(normal phase micelle)(수중유 마이셀)로 알려져 있다. 역상 마이셀(inverse micelle)은 중심에 머리부를 갖고 꼬리는 밖으로 뻗어있다(유중수 마이셀). 마이셀은 흔히 형상이 대략적으로 구형이지만, 타원형, 원통형 및 이중층과 같은 다른 형태도 가능하다. 마이셀의 형상 및 크기는 계면활성제 분자의 분자 기하형태 및 용액 조건, 예컨대, 계면활성제 농도, 온도, pH, 및 이온 세기의 함수이다. 마이셀을 형성하는 공정은 마이셀화(micellisation)로서 알려져 있으며, 다형성(polymorphism)에 따른 다수의 지질의 상 거동(phase behavior)의 일부를 형성한다.

[0059] 본 발명의 다른 측면은, 1) 다당류를 제공하는 단계, 2) 억제제와 적어도 1종의 생활성제를 생체적합성 또는 생분해성 베셀 내로 혼입시키는 단계, 및 3) 상기 다당류 및 입자들을 제형 내에 조합하는 단계를 포함하는, 분해 및 생활성제 방출이 감소된 다당류 제형의 제조 방법에 관한 것이다. 따라서, 이러한 캡슐화 방법은 다당류와 동시에 전달될 수 있는 생체적합성 및 생분해성 입자 내로 억제제 및 생활성제를 혼입시킨다. 입자들이 베셀들인 경우에, 이들은 비공유 결합 또는 공유 결합된 자가-조립 분자(self-assembled molecule)(예를 들어, 마이셀, 리포솜 및 중합된 소포)로 구성될 수 있다. 자가-조립은 기존의 성분들의 무질서한 시스템이 외부의 지시 없이 성분들 자체 간의 특정한 국소적 상호작용의 결과로서 조직화된 구조 또는 패턴을 형성하는 과정을 설명하기 위하여 본 명세서에서 이용되는 용어이다.

[0060] 제안된 제형의 추가적인 이점은 최종 제품의 리올로지 특성(rheological property)의 증가된 조율 능력(tune-ability)이다. 가교된 다당류 제형은 전형적으로 높은 점도를 지니며 미세한 바늘을 통해 압출하는 데 상당한 힘을 필요로 한다. 비-가교된 다당류는 흔히 이러한 압출 프로세스를 용이하게 하기 위한 윤활제로서 사용된다. 그러나, 특히, HA 진피 필러에 있어서, 비-가교된 HA는 최종 제품의 생체내 지속성에 기여하지 않는다. 사실, 진피 필러의 리올로지 특성을 조율하기 위해 (고정된 총 HA 농도에 대해서) 더 많은 가교된 HA가 비-가교결합된 HA에 의해 대체될수록, 제품의 분해 내성이 더 낮아질 것이다. 이와 같이, 분해 억제제이기도 한 비-가교된 GAG(예컨대, 콘드로이틴 설페이트, o-황산화 히알루론산)는 수명을 연장시키기 위하여, 그리고 최종 제품의 리올로지 특성을 향상시키기 위하여 이들 양쪽 모두에 사용될 수 있다.

[0061] 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 시스템은 중간 정도 내지 심각한 안면 주름 및 깊은 주름(fold), 예를 들어, 비구순주름(nasolabial fold)(코로부터 입가로 뻗어나가는 주름)을 처치하는 데 사용될 수 있는 진피 필러이다. 진피 필러는 매끄럽고 유연한 외관을 제공하는, 피부 탄력성을 지지하는 천연 복합체 당인 HA를 포함하는 겔 임플란트일 수 있다. 이는 생체적합성일 수 있으며, 노화로 인해 대폭 감소될 수 있는 신체의 천연 HA를 보충할 수 있다.

[0062] 진피 필러 혹은 더마필러는 주사기에 의해 안면의 중간 또는 깊은 진피 내로 주사될 수 있다. 진피는 연결조직, 신경 말단, 땀샘 및 기름샘, 및 혈관을 포함하는 표면 아래의 피부층이다. 진피 필러는 처치된 영역에서 주름 및 깊은 주름을 끌어올리고 부피를 가하여 피부 외관을 개선시킬 수 있다.

[0063] 본 발명의 다른 측면은 본 시스템, 미용 캐리어 및 추가의 활성 성분을 포함하는 미용 조성물에 관한 것이다. 미용 활성 성분으로는 항산화제, 비타민 및 보습제를 들 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0064] 본 발명에 기재된 시스템은 임의선택적으로 1종 이상의 제제, 예를 들어, 이에 제한되지는 않지만, 유화제, 습윤제, 감미제 또는 착향제, 장성 조절제(tonicity adjuster), 방부제, 완충제, 항산화제 및 플라보노이드를 포함하는 약학적 조성물의 일부로서 조제될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물에 유용한 장성 조절제로는 염, 예를 들어, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 만니톨 또는 글라이세린 및 기타 약학적으로 허용가능한 장성 조절제를 들 수 있지만 이들로 제한되지 않는다. 본 발명의 약학적 조성물에 유용한 방부제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 클로로뷰탄올, 티메로살, 페닐 수은 아세테이트, 및 페닐 수은 나이트레이트를 들 수 있지만 이들로 제한되지 않는다. 아세테이트 완충제, 시트레이트 완충제, 포스페이트 완충제 및 보레이트 완충제를 포함하지만 이로 한정되지 않는, 다양한 완충제 및 pH 조절 수단이 약학적 조성물을 제조하는 데 사용될 수 있다. 마찬가지로, 약학적 조성물에 유용한 항산화제는 당해 기술 분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 소듐 메타바이설파이트, 소듐 티오설페이트, 아세틸시스테인, 뷰틸화된 하이드록시아니솔 및 뷰틸화된 하이드록시톨루엔을 들 수 있다. 플라보노이드는 식물에서 발견되는 화합물로, 다양한 유익한 생화학적 및 항산화 효과를 지니는 것으로 알려져 있다. 플라보노이드의 하위부류에는 플라본(flavone), 플라보놀(flavonol), 플라바논(flavanone) 및 플라바노놀(flavanonol)이 포함된다. 플라보노이드의 예로는 루테올린(luteolin), 아피게닌(apigenin), 탠저리틴(tangeritin), 쿠어세틴(quercetin), 카엠프페롤(kaempferol), 마이리세틴(myricetin), 피세틴(fisetin), 아이소람네틴(isorhamnetin), 파키포돌(pachypodol), 람나진(rhamnazin), 헤스페레틴(hesperetin), 나린게닌(naringenin), 에리오딕티올(eriodictyol), 헤모에리오딕티올(homoeriodictyol), 탁시폴린(taxifolin), 다이하이드로쿠어세틴, 다이하이드로카엠프페롤, 탄닌산, 탄니스(tannis), 농축 탄니스, 가수분해가능한 탄니스를 들 수 있다. 이들 및 약리학의 분야에서 공지된 기타 물질이 본 발명의 약학적 조성물에 포함될 수 있다.

[0065] 본 시스템의 이점의 일부를, 본 명세서에 기재된 방법에 따른 HA 더마필러 제형의 제조, 종래 기술에 따른 HA 더마필러의 제조 및 이들의 비교를 기재한 실시예들을 이용해서 이하에 설명한다.

[0066] **실시예 1**

[0067] **본 발명에 따른 HA 필링 겔의 제조**

[0068] HA 농도가 24 ㎎/㎖이고, 가교도가 약 6%이며, G'가 약 180인 다당류 필러(쥬비덤(등록상표) 24HV, (미국 캘리포니아주 얼바인시에 소재한 알러간 인크.)) 1 내지 5 그램을, 10 내지 200㎎의 콘드로이틴 설페이트 A(CSA - M_w = 5,000 내지 120,000 Da)로 보충된 1000㎕의 인산염 완충 염수(phosphate buffered saline: PBS) 용액(pH 약 7)과 혼합하였다. 얻어진 혼합물을 기계적으로 균질화하였다.

[0069] **실시예 2**

[0070] **종래 기술의 방법에 의한 HA 필링 겔의 제조**

[0071] HA 농도가 24 mg/mℓ이고, 가교도가 약 6%이며, G'가 약 180 Pa인 다당류 필러(쥬비덤(등록상표) 24HV, (미국 캘리포니아주 얼바인시에 소재한 알러간 인크.)) 1 내지 5 그램을 1000㎕의 PBS와 혼합하여 최종 HA 농도가 실시예 1과 동일하게 되도록 하였다. 얻어진 혼합물을 기계적으로 균질화하였다.

[0072] **실시예 3**

[0073] **본 발명에 따른 히알루론산 필링 겔의 대안적인 제조**

[0074] HA 농도가 24 mg/mℓ이고, 가교도가 약 6%이며, G'가 약 170 Pa인 HA 기반 다당류 필러(쥬비덤(등록상표) 30) 1 내지 5 그램을, 1 내지 20mg의 탄닌산(TA - M_w = 800 내지 4,000 Da)으로 보충된 50㎕의 PBS 용액(pH 약 7)과 혼합하였다. 얻어진 혼합물을 기계적으로 균질화하였다.

[0075] **실시예 4**

[0076] **종래 기술의 방법에 의한 히알루론산 필링 겔의 대안적인 제조**

[0077] HA 농도가 24 mg/mℓ이고, 가교도가 약 6%이며, G'가 약 170 Pa인 HA 기반 다당류 필러(쥬비덤(등록상표) 30) 1 내지 5 그램을 50㎕의 PBS와 혼합하여 최종 HA 농도가 실시예 3과 동일하게 되도록 하였다. 얻어진 혼합물을 기계적으로 균질화하였다.

[0078] **실시예 5**

[0079] **본 발명에 따른 히알루론산 필링 겔의 제조**

[0080] 히알루론산 나트륨 섬유(NaHA, M_w = 0.3 내지 3 MDa) 1 그램을 5 내지 10g의 1% 수산화나트륨 용액과 혼합하고, 얻어진 혼합물을 1 내지 5시간 동안 수화되도록 두었다.

[0081] 50 내지 200mg의 1,4-뷰탄다이올 다이글라이시딜 에터(BDDE)를 NaHA 겔에 첨가하고, 얻어진 혼합물을 기계적으로 균질화하였다.

[0082] 이어서, 상기 혼합물을 40 내지 70℃ 오븐에 1 내지 4시간 동안 넣어 두었다.

[0083] 얻어진 가교된 하이드로겔을 등몰량의 염산(HCl)으로 중화시키고 PBS(pH 약 7) 중에서 팽윤시켰다.

[0084] 10 내지 200mg의 CSA(M_w = 5,000 내지 120,000 Da)를 첨가하고 하이드로겔을 기계적으로 균질화하였다.

[0085] **실시예 6**

[0086] **종래 기술의 방법에 의한 히알루론산(HA) 필링 겔의 제조**

[0087] NaHA(M_w = 0.3 내지 3 MDa) 1 그램을 5 내지 10g의 1% 수산화나트륨 용액과 혼합하고 혼합물을 1 내지 5시간 동안 수화되도록 두었다.

[0088] 50 내지 200mg의 BDDE(HA 대 가교결합제 몰비는 실시예 5에서와 동일함)를 NaHA 겔에 첨가하고, 얻어진 혼합물을 기계적으로 균질화하였다.

[0089] 이어서, 상기 혼합물을 40 내지 70℃ 오븐에 1 내지 4시간 동안 넣어 두었다.

[0090] 얻어진 가교된 하이드로겔을 등몰량의 염산(HCl)으로 중화시키고 PBS(pH 약 7) 중에서 팽윤시켜, 최종 HA 농도가 실시예 5에서와 동일하게 되도록 하였다. 얻어진 하이드로겔을 기계적으로 균질화하였다.

[0091] **실시예 7**

[0092] **효소 분해 연구(비색 시험)**

[0093] 실시예 1 및 실시예 2에서 제조된 HA 필링 겔의 효소 분해에 대한 내성을 모르간-엘슨 비색 분석(Morgan-Elson colorimetric assay)을 사용하여 평가하였다. 이 분석은 HA 사슬의 분자량의 변화를 측정함으로써 효소 분해의 정도를 평가하는 데 적용되었다.

[0094] 히알루로니다제(0.1 내지 10mg)를 각 HA 제형에 첨가하고, 37℃에서 10 내지 250분 동안 인큐베이팅하고 나서, 0.1mℓ의 0.8M 포타슘 테트라보레이트 용액을 첨가하고 100℃에서 10분 동안 가열하였다. 이 샘플을 아세트산 중의 10%(wt) p-다이메틸아미노벤즈알데하이드 용액 3mℓ로 보충하고, 37℃에서 10 내지 120분 동안 인

큐베이팅하였다. 효소 첨가를 생략하고 이 과정을 각 HA 제형에 대해서 반복하여 대조 샘플을 준비하였다. 효소 분해된 샘플과 대조 샘플 간의 585 nm에서의 광학밀도(OD)의 변화를 사용하여 각 제형의 분해 정도를 정량화하였다.

[0095] 본 발명의 방법에 따라 그리고 종래 기술에 따라(도 1) 제조된 필링 겔에 대 행한 측정 결과는, 본 발명의 방법에 의해 제조된 겔(실시예 1: 0.774 내지 25.184 mg/㎖ CSA)의 OD 값이 종래 기술의 방법에 따라 제조된 겔(실시예 2: 0 mg/㎖ CSA)의 OD 값보다 더 낮은 것으로 나타났다. OD 값은 분해의 정도를 나타내므로, 이 결과는 본 발명의 방법에 따라 제조된 겔이 종래 기술에 따라 제조된 겔보다 3 내지 75% 더 높은 효소 분해 내성을 나타낸다는 것을 시사한다. 또, 효소 분해에 대한 내성은 CSA의 농도에 좌우되는 것으로 판명되었다.

[0096] CSA 보충된 겔의 경우와 마찬가지로, 본 발명의 방법에 의해 제조된 TA 보충된 겔(실시예 3: 0.063 내지 1.000mg/㎖ TA)의 OD 값은, 도 2에 나타낸 바와 같이, 종래 기술의 방법에 의해 제조된 겔(실시예 4: 0 mg/㎖ TA)의 OD 값보다 더 낮다. OD 값은 분해 정도를 나타내기 때문에, 이러한 결과는 본 방법에 따라 제조된 겔이 종래 기술에 따라 제조된 겔보다 15 내지 90% 더 높은 효소 분해 내성을 나타낸다는 것을 시사한다. 또, 효소 분해에 대한 내성은 TA의 농도에 좌우되는 것으로 판명되었다. 게다가, 일반적으로 CSA와 동일한 억제를 얻기 위한 TA의 양은 수 차수 더 적기 때문에 TA가 CSA보다 더 높은 억제 활성을 갖는 것을 또한 알 수 있다.

[0097] **실시예 8**

[0098] **효소 분해 연구(가용성 HA 분석)**

[0099] 실시예 1 및 실시예 2에서 제조된 HA 필링 겔의 효소 분해 내성을 추가로 평가하기 위하여, SEC-MALS(Size Exclusion Multi-Angle Light Scattering) 기반 가용성 HA 분석을 사용하였다. 이러한 분석은 각 샘플 내의 가용성 HA 함량(0.2 내지 1.0 ㎛ 필터를 통과할 수 있는 겔의 부분으로서 정의됨)을 평가함으로써 분해를 정량화하는 데 적용되었다. 효소 분해된 샘플과 대조 샘플 간의 가용성 HA 함량의 차이는, 각 HA 제형에 대한 분해 정도를 정량화하는 데 사용되었다.

[0100] 와이어트(Wyatt) 광 산란 및 굴절률 유닛이 구비된 애질런트(Agilent) 크기 배제 크로마토그래피 시스템을 사용하여 SEC-MALS 시험을 수행하였다. 히알루로니다제(0.1 내지 10 mg)를 각 HA 제형에 첨가하고, 37℃에서 10 내지 250분 동안 인큐베이팅하고 나서, 0.1㎖의 0.8M 포타슘 테트라보레이트 용액을 첨가하고, 100℃에서 10분 동안 가열하였다. 샘플을 PBS 중에 희석시키고, 0.2 내지 1.0 ㎛ 필터를 통과시키고 SEC-MALS 시스템에 주사하였다. 효소 첨가를 생략하고 이 과정을 각 HA 제형에 대해서 반복하여 대조 샘플을 준비하였다. 효소 분해된 샘플 및 대조 샘플의 가용성 HA 함량뿐만 아니라, 이들 양자 간의 차이가 도 3에 요약되어 있다.

[0101] 도 3(효소 분해 시험 결과(SEC-MALS 분석))에 나타낸 결과는 효소 분해 후의 가용성 HA 함량의 증가가 CSA 부재 중에서보다 상당히 더 큰 것을 나타내고 있다. 이것은 비색분해 분석에서 얻어진 결과(도 1)와 일치하였으며, 이는 본 발명의 방법에 따라 제조된 겔이 종래 기술에 따라 제조된 겔보다 더 높은 분해 내성을 나타낸다는 것을 시사한다.

[0102] CSA 보충된 겔의 경우와 마찬가지로, 본 발명의 방법에 의해 제조된 TA 보충된 겔(실시예 3: 0.063 내지 1.000mg/㎖ TA)의 가용성 HA 함량의 증가는 종래 기술의 방법에 의해 제조된 겔(실시예 4: 0 mg/㎖ TA)의 함량보다 더 낮았다. 이러한 결과는 비색 분해 분석을 이용해서 얻어진 결과(도 4)와 일치한다. 또한, TA의 억제 활성이 CSA의 억제 활성보다 상당히 높다는 것이 재확인되었다.

[0103] **실시예 9**

[0104] **연속 압출력 시험**

[0105] 실시예 5 및 실시예 6에서 제조된 히알루론산 필링 겔의 리올로지 특성을 평가하기 위하여, 연속 압출력 시험을 이용하였다. 압출력 시험은 HA 제형 중의 CSA의 첨가가 윤활제로서 작용하여 압출 프로세스를 용이하게 할 수 있는지를 결정하는 데 사용되었다.

[0106] 30G 바늘을 구비한 5㎖ 주사기를 사용하여 인스트론(Instron) 장치에서 압출력 시험을 수행하였다. 0.5㎖의 각 샘플을 50 ㎜/분의 일정한 속도로 압출하였다. 기록된 피크 힘은 압출의 용이성을 정량화한다. 두 샘플에 대한 압축 연신(compressive extension)의 함수로서의 압축력(compressive force)이 도 5에 도시되어 있다.

[0107] 도 5의 결과는 본 명세서에 기재된 방법에 의해 제조된 겔에 대해 기록된 압출력이 종래 기술의 방법에 의해 제조된 겔보다 더 낮은 것을 시사한다. 이러한 압출력의 차이는 유동 하에서의 겔 경도의 차이의 특징이며,

본 명세서에 기재된 방법에 의해 제조된 겔 중에 함유된 CSA가 윤활제로서 작용하여 유동을 용이하게 하는 것을 시사한다.

[0108] **실시예 10**

[0109] **본 발명에 따른 CSA 장입된 입자의 제조**

[0110] 균일한 크기의 CSA가 장입된 입자를 다음과 같은 과정에 의해 제조하였다: 10 내지 900mg 키토산, 1 내지 10 ml의 1N HCl 및 1 내지 800mg의 CSA를 20ml의 밀리큐(MilliQ) H_2O와 혼합함으로써 키토산/CSA 용액(용액 A)을 준비하였다. 0.1 내지 10%의 트라이폴리포스페이트(TPP)와 0.1 내지 10%의 알지네이트를 혼합함으로써 적가 용액(용액 B)을 준비하였다. 용액 A를 1회용의 3 내지 5ml 주사기 내에 장입하고, 1 내지 50 ml/분의 속도에서 바늘 선단을 통과하는 기류로 0.1 내지 10ml/분의 유량으로 27G × ½" 바늘을 통해 압출시켰다. 용액 A 1 내지 10ml를 교반 하에 용액 B 5 내지 100ml 내로 분사하였다. 얻어진 입자를 용액 B에서 1 내지 3일간 인큐베이팅하고, 밀리큐 H_2O로 3회 세척하고, 사용할 때까지 PBS(pH= 7.4) 중에서 보존하였다.

[0111] **실시예 11**

[0112] **본 발명에 따른 CSA 입자 장입된 HA 필링 겔의 제조**

[0113] 암컷-대-암컷 루어락(female-to female luer-lock)을 통해서 연결된 2개의 주사기를 이용해서 실시예 10에 따라 제조된 CSA 장입된 입자와 쥬비덤(등록상표) 30을 철저히 혼합하여, 최종 농도가 5mg/ml CSA로 되도록 하였다.

[0114] **실시예 12**

[0115] **종래 기술에 따른 CSA 입자 장입된 HA 필링 겔의 제조**

[0116] 암컷-대-암컷 루어락을 통해서 연결된 2개의 주사기를 이용해서 CSA와 쥬비덤(등록상표) 24HV를 철저히 혼합하여, 최종 농도가 10mg/ml CSA로 되도록 하였다.

[0117] **실시예 13**

[0118] **종래 기술에 따른 CSA 입자 장입된 HA 필링 겔의 대안적인 제조**

[0119] 암컷-대-암컷 루어락을 통해서 연결된 2개의 주사기를 이용해서 CSA와 쥬비덤(등록상표) 30을 철저히 혼합하여, 최종 농도가 10mg/ml CSA로 되도록 하였다.

[0120] **실시예 14**

[0121] **본 발명에 따른 탄닌산(TA) 장입된 입자의 제조**

[0122] 균일한 크기의 CSA가 장입된 입자를 다음과 같은 과정에 의해 제조하였다: 10 내지 900mg의 키토산, 1 내지 10 ml의 1N HCl 및 1 내지 800mg의 탄닌산을 20ml의 밀리큐 H_2O와 혼합함으로써 키토산/TA 용액(용액 C)을 준비하였다. 0.1 내지 10%의 트라이폴리포스페이트(TPP)와 0.1 내지 10%의 알지네이트를 혼합함으로써 적가 용액(용액 D)을 준비하였다. 용액 C를 1회용의 3 내지 5ml 주사기 내에 장입하고, 1 내지 50 ml/분의 속도에서 바늘 선단을 통과하는 기류로 0.1 내지 10ml/분의 유량으로 27G × ½" 바늘을 통해 압출시켰다. 용액 C 1 내지 10ml를 교반 하에 용액 D 5 내지 100ml 내로 분사하였다. 얻어진 입자를 용액 D에서 1 내지 3일간 인큐베이팅하고, 밀리큐 H_2O로 3회 세척하고, 사용할 때까지 PBS(pH= 7.4) 중에서 보존하였다.

[0123] **실시예 15**

[0124] **본 발명에 따른 TA 입자 장입된 HA 필링 겔의 제조**

[0125] 암컷-대-암컷 루어락을 통해서 연결된 2개의 주사기를 이용해서 실시예 14에 따라 제조된 TA 장입된 입자와 쥬비덤(등록상표) 30을 철저히 혼합하여, 최종 농도가 1mg/ml TA로 되도록 하였다.

[0126] **실시예 16**

[0127] **종래 기술에 따른 탄닌산(TA) 장입된 HA 필링 겔의 제조**

[0128] 암컷-대-암컷 루어락을 통해서 연결된 2개의 주사기를 이용해서 TA와 쥬비덤(등록상표) 30을 철저히 혼합하여, 최종 농도가 10mg/ml TA로 되도록 하였다.

[0129] **실시예 17**

[0130] **CSA의 존재 유무에 있어서의 입자들의 시각적 비교**

[0131] CSA 장입된 입자들을 실시예 10에 따라 제조하였다. 비교를 위하여, CSA가 없는 대조 입자들도 동일한 일반적인 절차에 따라서 제조하고 니콘 반전 현미경으로 영상화하였다(도 6). CSA와 키토산 간의 정전기 상호작용에 기인하는 CSA 장입된 입자들(도 6, 좌측)의 보다 높은 혼탁도가 대조 입자(도 6, 우측)에 대한 시각적 대조를 제공하였다. 또한, 입자들의 크기 분포는 기류 및 펌프 속도를 제어함으로써 변화되었다. 10 내지 1000㎛의 직경 범위를 지니는 입자들이 이 수법을 이용해서 성공적으로 제작되었다.

[0132] **실시예 18**

[0133] **HA 필링 겔로부터의 CSA/TA의 시험관내 방출**

[0134] CSA는 히알루론산 분해 속도를 극적으로 저감시킬 수 있는 공지된 히알루로니다제 억제제이다. 이 억제 잠재성을 이용하는 하나의 접근법은 CSA를 HA와 혼합하는 것이다. 이 목적을 위하여, 샘플들을 실시예 12에 따라 제조하였고, 시험관내 CSA 방출 분석을 수행하였다.

[0135] CSA/쥬비덤(등록상표) 30 및 CSA/쥬비덤(등록상표) 24HV 샘플을 50k 투석백 속에 넣고, 각각 교반된 PBS 용액(pH=7.4) 속에 침지하였다. 작은 샘플들이 경우에 따라서 PBS 용액으로부터 빠져나왔고, 방출된 CSA의 양을 결정하기 위하여 SEC-MALS를 이용해서 분석하였다. 이들 결과는 도 7에 요약되어 있다.

[0136] CSA/쥬비덤(등록상표) 30 및 CSA/쥬비덤(등록상표) 24HV 샘플은 양쪽 모두 1주일 내에 CSA의 대략 50%를 방출하였다. 이 신속 방출은 작은 크기의 CSA(~20kDa), CSA와 HA 간의 정전 반발력 및 경미하게 가교된 HA 네트워크 등과 같은 많은 이유에 기인하였으며, 이들은 모두 약한 유지 강도의 결과를 초래하였다. CSA와 HA의 단순한 혼합은 효소 분해에 대한 지속된 보호를 위해 필요로 되는 CSA의 제어된 방출을 제공하는 것이 불가능하였다.

[0137] 탄닌산(TA)은 대안적이고 매우 강력한 히알루로니다제 억제제이다. 이 억제제 잠재력을 이용하는 하나의 간단한 접근법은 TA를 HA와 혼합하는 것이다. 이 목적을 위하여, TA를 실시예 16에 따라 쥬비덤(등록상표) 30과 혼합하고, 100k 투석백 속에 넣고, PBS 완충 용액 속에 침지시켰다. 작은 샘플들이 경우에 따라서 PBS 용액으로부터 빠져나왔고, TA 함량은 흡광도 측정을 이용해서 정량화되었다. 이들 결과는 도 8에 요약되어 있다.

[0138] CSA/쥬비덤(등록상표) 30의 경우에서와 마찬가지로, TA/쥬비덤(등록상표) 30 혼합물로부터의 TA의 신속 방출이 관찰되었고, 이는 작은 분자와 히알루론산 필러 겔 간의 단순한 혼합이 제어된 지속적인 방출 프로파일을 제공할 수 없다는 것을 재확인시켜주었다.

[0139] **실시예 19**

[0140] **키토산 입자들로부터의 CSA/TA의 시험관내 방출**

[0141] CSA 장입된 키토산/알지네이트 입자들을 캡슐화된 CSA의 농도가 5㎎/㎖로 되도록 실시예 10에 따라 제조하였다. 이 샘플을 시험 길이를 위하여 오비탈 쉐이커(orbital shaker) 상에 놓았다. 샘플을 주기적으로 취하여 0.45㎛ 필터를 통해 여과시키고, SEC-MALS 시스템 내에 주입시켰다. 2개월 후 CSA의 방출이 검출되지 않았다. 이 시간 동안, 입자들은 그들의 형상, 크기 및 혼탁도를 유지하였고, 완충 용액은 그의 투명성을 유지하였다.

[0142] 마찬가지로 TA 장입된 키토산/알지네이트 입자들을, 캡슐화된 TA의 농도가 1㎎/㎖로 되도록 실시예 14에 따라 제조하였다. 이 샘플을 시험 길이를 위하여 오비탈 쉐이커 상에 놓았다. 샘플을 PBS 용액으로부터 주기적으로 취하여 흡광도 측정을 이용해서 분석하였다. 314㎚에서의 흡광도는 TA의 양에 관하여 비례하는 것으로 확인되었다. 그 결과는 도 9에 요약되어 있다.

[0143] CSA 장입된 키토산/알지네이트 입자의 경우와 마찬가지로, 키토산/알지네이트 입자들로부터의 TA의 방출은 매우 느렸다. 이것은 본 명세서에 기재된 캡슐화 시스템이 작은 분자들의 느리면서 지속적인 방출 프로파일을 제공할 수 있는 것을 재확인하고 있다. 이 시스템은 우수한 보존 안정성을 유지하면서 생체 내에서 억제제, 항산화제 및 기타 작은 활성 분자들을 전달하는데 이용될 수 있다

[0144] **실시예 20**

[0145] **HA 필링 겔과 혼합된 키토산 입자들로부터의 CSA/TA의 시험관내 방출**

[0146] CSA 장입된 키토산/알지네이트 입자들을 실시예 11에 따라서 쥬비덤(등록상표) 30과 혼합하였다. 이 제형을 암컷-대-암컷 루어락을 통해서 연결된 2개의 주사기를 이용해서 하루 단위로 철저히 혼합하고, 효소 분해 분석을 이용해서 주기적으로 시험하였다: 요약하면, 히알루로니다제(0.1 내지 10㎎)를 상기 제형에 첨가하고, 37℃에서 10 내지 250분간 인큐베이팅하고 나서, 0.8M 포타슘 테트라보레이트 용액을 0.1㎖를 첨가하고 100℃에서 10분간 가열하였다. 이 샘플에 아세트산 중의 10%(wt) p-다이메틸아미노벤즈알데하이드 용액 3㎖를 보충하고 37℃에서 10 내지 120분간 인큐베이팅하였다. 효소 첨가를 생략하고 이 과정을 반복하여 대조 샘플을 제조하였다. 효소 분해된 샘플과 대조 샘플 간의 585㎚에서의 광학 밀도(OD)의 변화는 분해 정도를 정량화하는 데 이용되었다. 이들 결과는 억제제 무함유 제형(쥬비덤(등록상표) 30)의 효소 성능에 대해서 더욱 정규화되었고, 도 10에 요약되어 있다.

[0147] TA 장입된 키토산/알지네이트 입자들을 실시예 15에 따라서 쥬비덤(등록상표) 30과 혼합하였다. 이 샘플을 암컷-대-암컷 루어락을 통해서 연결된 2개의 주사기를 이용해서 하루 단위로 철저히 혼합하고, 위에서 기재된 효소 분해 분석을 이용해서 주기적으로 시험하였다. 그 결과는 도 10에 요약되어 있다.

[0148] 상기 기재된 제형의 억제 활성은 쥬비덤(등록상표) 30 입자 시스템으로부터 방출된 CSA/TA의 양과 직접 관련되며, 이는 해당 제형의 보존 수명을 계측하는데 이용될 수 있다. 거기에서 1개월 보존 후에 억제의 증가는 무시할 수 있는 것으로 결론지어졌고, 이는 키토산/알지네이트 입자 - 쥬비덤(등록상표) 30 시스템으로부터 CSA/TA의 미량 방출을 시사한다. 이것은 실시예 19의 결과와 일치하며 또한 제안된 캡슐화 시스템이 우수한 보존 안정성을 지니는 것을 나타낸다.

[0149] 달리 언급된 경우를 제외하고, 본 명세서 및 특허청구범위에 사용된 성분의 양, 특성, 예컨대, 분자량, 반응 조건 등을 표현하는 모든 수치는 모든 경우에 용어 "약"에 의해 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 반대로 언급된 경우를 제외하고, 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에 기재된 수치 파라미터는 본 발명에 의해 얻고자 하는 원하는 특성에 따라 달라질 수 있는 근사값이다. 최소한, 그리고 본 발명의 범주와 동등하다는 원칙의 적용을 제한하고자 하는 것은 아니나, 각각의 수치 파라미터는 적어도 보고된 유효 숫자의 수의 관점에서, 그리고 통상의 근사법 기술을 적용하여 해석되어야 한다. 본 발명의 넓은 범주를 기술하는 수치 범위 및 파라미터가 근사치라고 하더라도, 특정 실시예를 설명하는 수치 값은 가능한 정확하게 보고된다. 그러나, 어떤 수치 값은 각각의 시험 측정에서 나타나는 표준편차로부터 발생하는 소정의 오차를 필수적으로 고유하게 포함한다.

[0150] 단수형 용어 및 본 발명을 설명하는 문맥에서(특히 하기 특허청구범위의 문맥에서) 사용되는 유사한 용어는 달리 언급되지 않거나 문맥상 분명하게 모순되지 않는다면 단수형 및 복수형을 둘 모두 커버하는 것으로 해석되어야 한다. 본 명세서에서 수치 범위의 기술은 그 범위 내에 속하는 각각의 개별적인 값을 별도로 언급하는 것의 속기 방법으로서의 역할을 할 뿐이다. 본 명세서에서 달리 언급된 경우를 제외하고, 각각의 개별적인 값이 본 명세서에서 별도로 언급된 것처럼 본 명세서에 포함된다. 본 명세서에 기재된 모든 방법은 달리 표시되지 않거나 또는 문맥상 분명하게 모순되는 경우를 제외하고 임의의 적합한 순서로 실시될 수 있다. 본 명세서에 제공되는 임의의, 그리고 모든 예 또는 예시적인 표현(예컨대, "등과 같은")의 사용은 단순히 본 발명을 더 잘 예시하기 위한 것으로, 청구된 본 발명의 범주를 달리 제한하지는 않는다. 본 명세서의 어떠한 표현도 본 발명의 실시에 필수적인 임의의 청구되지 않은 요소를 나타내는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0151] 본 명세서에 개시된 발명의 대안적인 요소들 또는 실시형태들의 그룹화는 제한으로서 해석되어서는 안 된다. 각각의 그룹의 부재는 개별적으로, 또는 그룹의 다른 부재 또는 본 명세서에 나타난 다른 요소와의 임의의 조합으로서 언급되고 청구될 수 있다. 편리함 및/또는 특허가능성의 이유로 그룹의 하나 이상의 부재가 그룹에 포함되거나, 그룹으로부터 삭제될 수 있는 것으로 예상된다. 임의의 이러한 포함 또는 삭제가 일어나는 경우, 본 명세서는 수정된 대로의 그룹을 포함하는 것으로 간주되므로 첨부된 특허청구범위에 사용된 모든 마쿠시(Markush) 그룹의 기재를 만족시킨다.

[0152] 본 발명을 실시하는 데 있어서 본 발명자가 알아낸 최적의 모드를 포함하는 본 발명의 소정 실시형태가 본 명세서에 기재된다. 물론, 이러한 기재된 실시형태의 변형은 이상의 설명을 읽은 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명자들은 당업자가 이러한 변형을 적절히 사용할 것으로 예상하며, 본 발명자들은 본 발명이 본 명세서에 특별히 설명된 것과 달리 실시되게 하고자 한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법률에 의해 허용되는 대로, 첨부된 특허청구범위에 언급된 주제의 모든 수정 및 등가물을 포함한다. 더욱이, 달리 표시되지 않거나 또는 문맥상 분명하게 모순되지 않는다면 모든 가능한 변형에서 상기한 요소의 임의의 조합이 본 발명에 포함

된다.

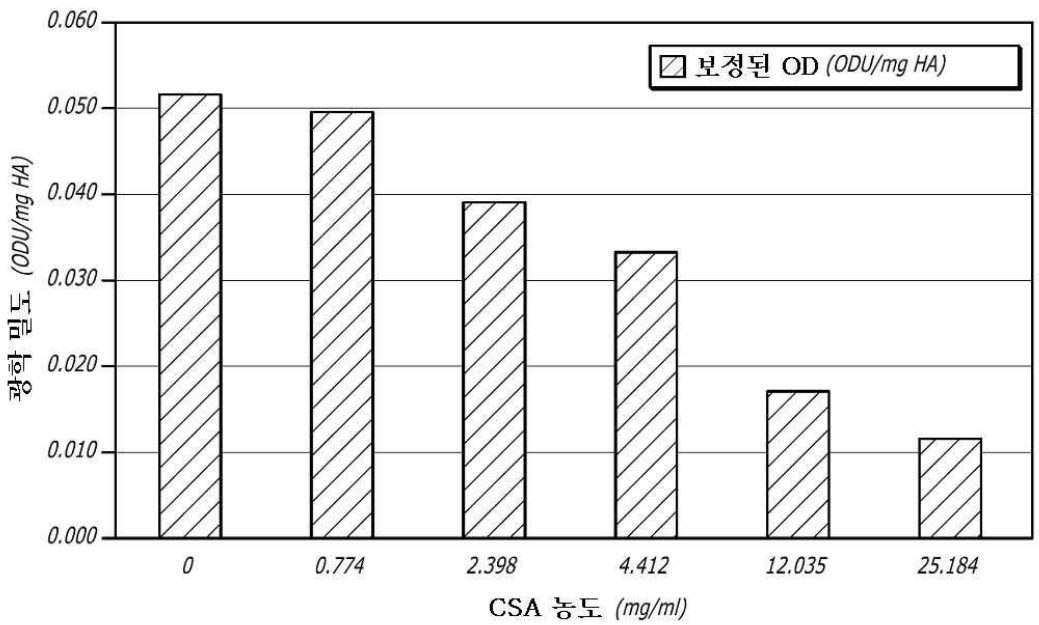
[0153] 게다가, 수많은 참조가 본 명세서를 통해 특허 및 간행물에 대해 이루어져 있다. 각각의 상기 인용된 참조문헌 및 간행물은 개별적으로 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0154] 마지막으로, 본 발명의 실시형태는 본 발명의 원리를 예시하는 것으로 이해되어야 한다. 사용될 수 있는 다른 수정이 본 발명의 범주에 속한다. 따라서, 제한이 아닌 예시의 방식으로, 본 발명의 대안적인 형태가 본 명세서의 교시에 따라 사용될 수 있다. 그러므로, 본 발명은 도시되고 설명된 바와 같은 것으로 엄밀히 제한되지 않는다.

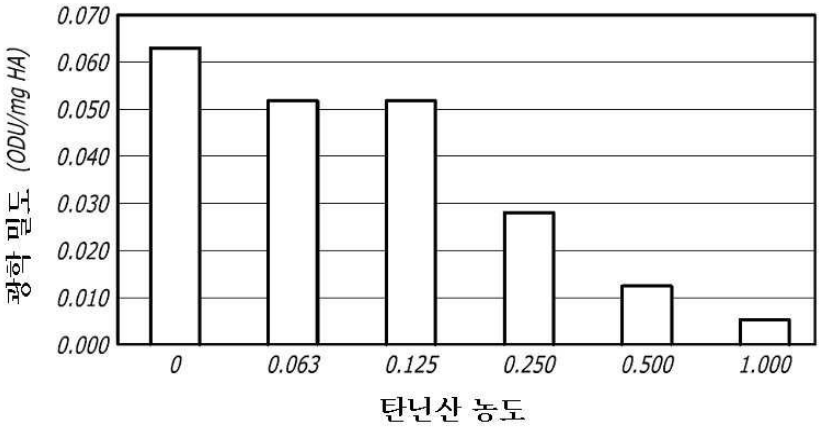
[0155] 본 명세서에 개시된 특정 실시형태는 '로 이루어진' 또는 '본질적으로 이루어진'이라는 말을 사용하여 특허청구범위에서 추가로 제한될 수 있다. 출원된 그대로이든지 보정에 의해 추가되든지, 특허청구범위에서 사용될 때, 전이적 용어 "로 이루어진"은 특허청구범위에 명시되지 않은 임의의 요소, 단계, 또는 성분을 배제한다. 전이적 용어 "본질적으로 이루어진"은 특허청구범위의 범주를 특정 물질 또는 단계, 및 기본적인 신규한 특성(들)에 크게 영향을 미치지 않는 것들로 제한한다. 이렇게 청구된 본 발명의 실시형태는 본 명세서에서 본래 또는 명확히 설명되며 가능하게 된다.

도면

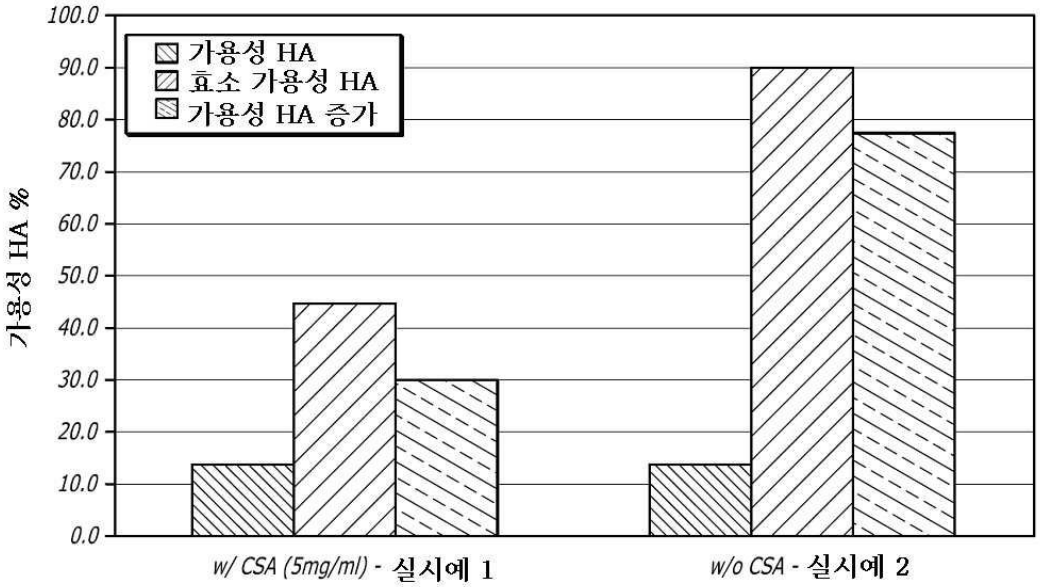
도면1



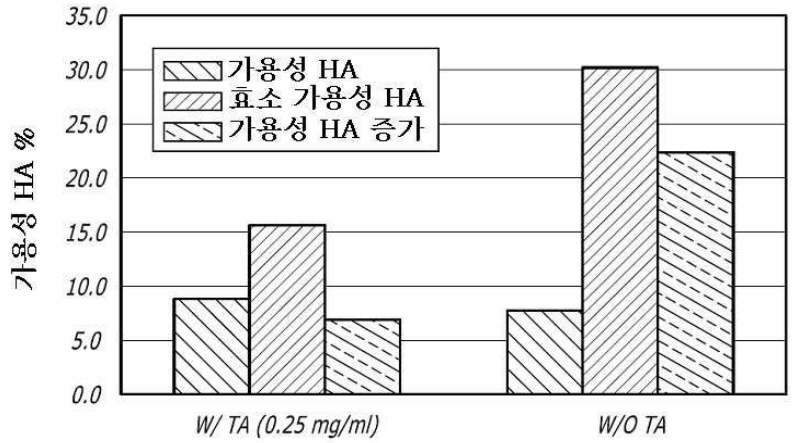
도면2


0.070
0.060
0.050
0.040
0.030
0.020
0.010
0.000
광학 밀도 (ODU/mg HA)
0
0.063
0.125
0.250
0.500
1.000
탄닌산 농도

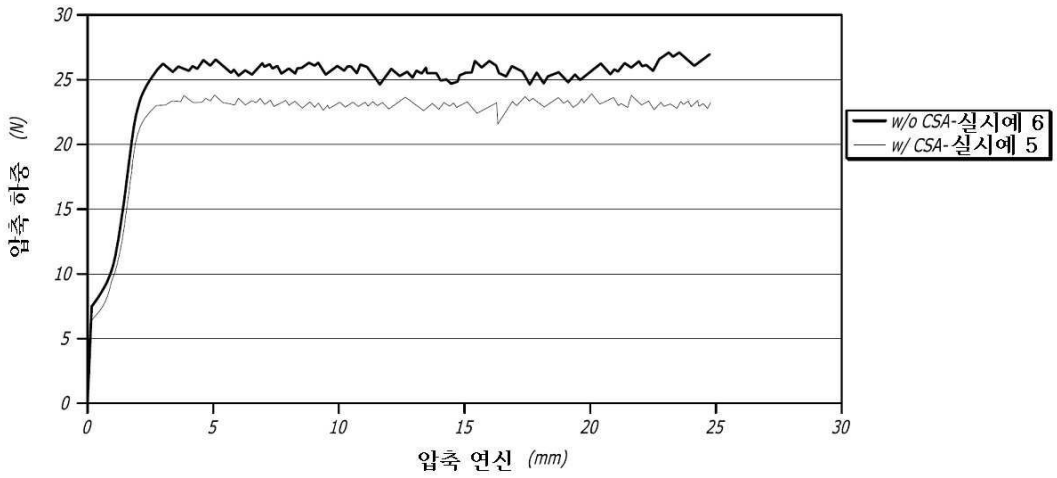
도면3


100.0
90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
가용성 HA %
가용성 HA
효소 가용성 HA
가용성 HA 증가
w/ CSA (5mg/ml) - 실시예 1
w/o CSA - 실시예 2

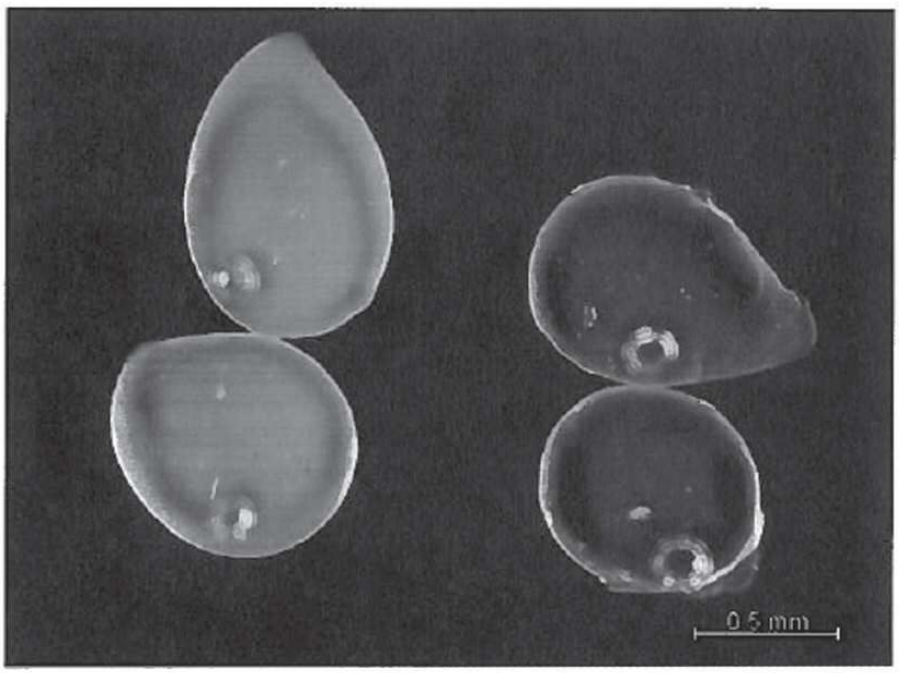
도면4


35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
가용성 HA %
가용성 HA
효소 가용성 HA
가용성 HA 증가
W/ TA (0.25 mg/ml)
W/O TA

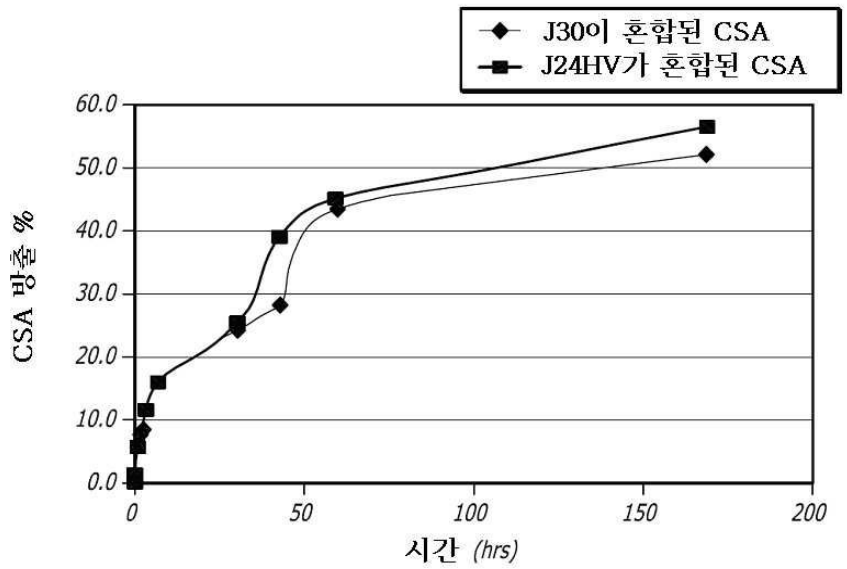
도면5


30
25
20
15
10
5
0
0
5
10
15
20
25
30
압축 하중 (N)
압축 연신 (mm)
w/o CSA-실시예 6
w/ CSA-실시예 5

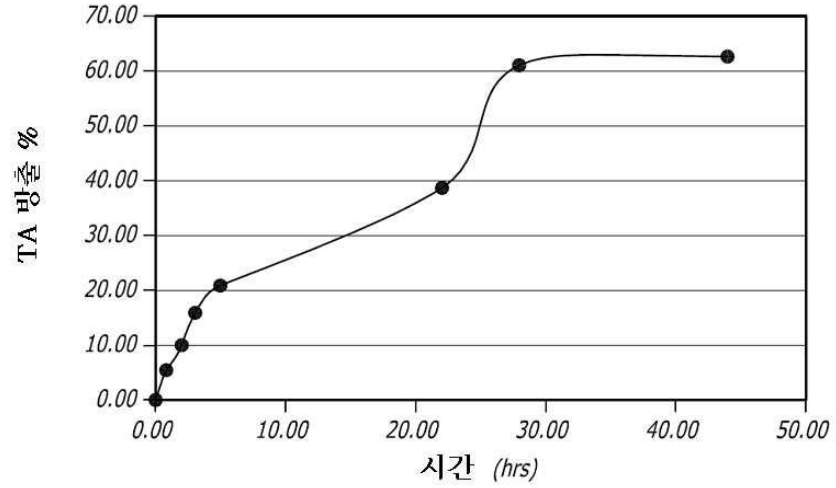
도면6


0.5 mm

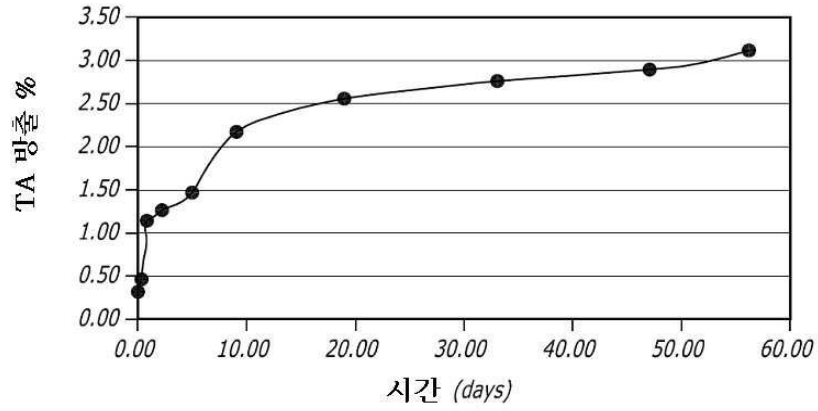
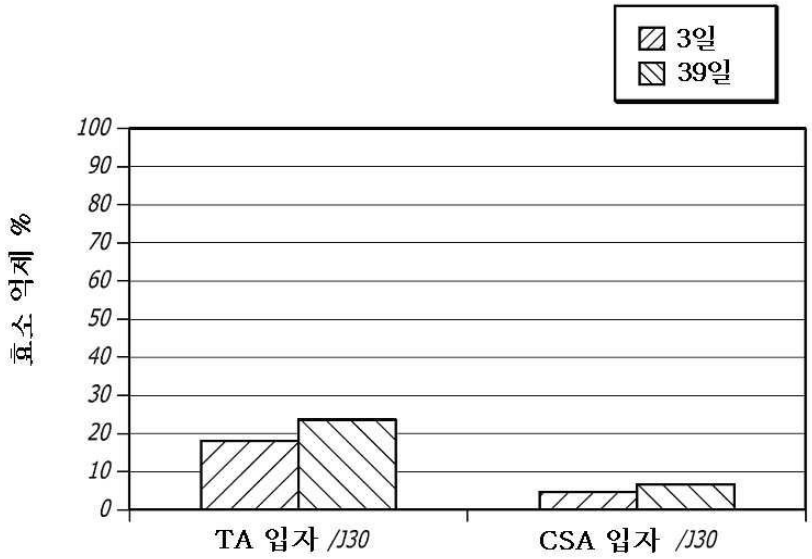
도면7


J30이 혼합된 CSA
J24HV가 혼합된 CSA
CSA 방출 %
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
0
50
100
150
200
시간 (hrs)

도면8


TA 방출 %
70.00
60.00
50.00
40.00
30.00
20.00
10.00
0.00
0.00
10.00
20.00
30.00
40.00
50.00
시간 (hrs)

도면9


TA 방출 %
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
0.00
10.00
20.00
30.00
40.00
50.00
60.00
시간 (days)

도면10