



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0020147

(43) 공개일자 2025년02월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61L 24/10 (2006.01) A61L 24/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61L 24/104 (2013.01)

A61L 24/0015 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0101674

(22) 출원일자 2023년08월03일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

주식회사 엔게인

경기도 화성시 동탄대로21길 10, 비153호, 비162호, 비163호, 비169호, 비173호, 비174호, 비175호(영천동, 더퍼스트타워)

세종대학교산학협력단

서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)

(72) 발명자

이원목

서울시 강남구 선릉로 126길-22, 105동 1102호1504호

도지원

경기도 성남시 분당구 정자일로 121, 101동 3502호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인지담

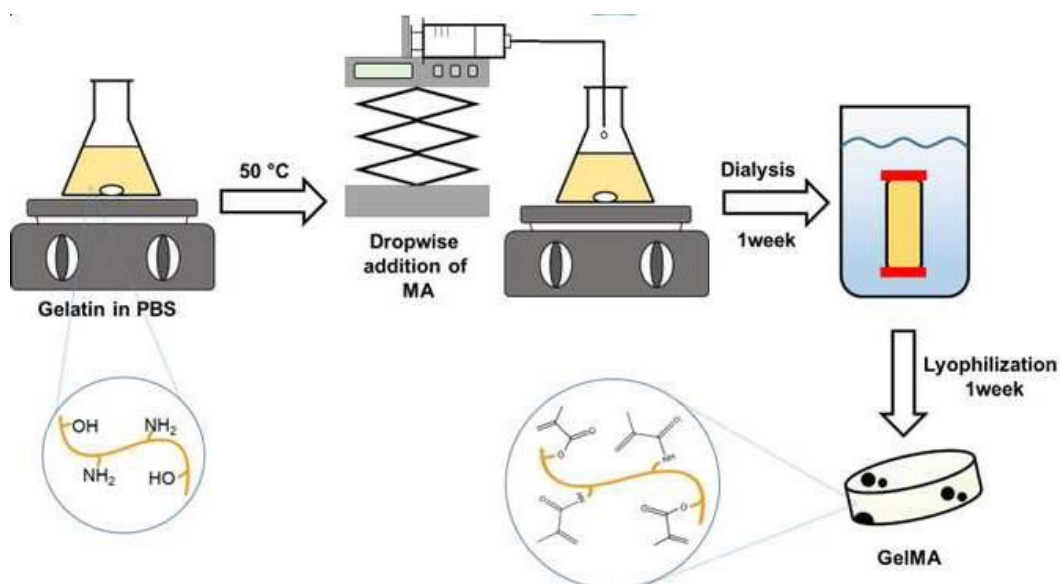
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 마이크로비드를 포함하는 색전술용 조성물

(57) 요약

본 발명은 마이크로비드를 포함하는 색전술용 조성물에 관한 것으로, 색전술 시 안정하면서도 약물 탑재 성능과 약물 방출능이 매우 우수하여 다양한 색전술에 이용될 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61L 24/0042 (2013.01)

A61L 2430/36 (2024.08)

(72) 발명자

수구나 페루말

서울시 광진구 군자로 21 세종대학교 행복기숙사
233호

서재원

경기도 군포시 산본천로 34 주공6단지세종아파트
651동 1103호

고영국

경기도 성남시 분당구 불정로 397, 302동 2201호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1415185642

과제번호 20017903

부처명 산업통상자원부

과제관리(전문)기관명 한국산업기술평가관리원

연구사업명 바이오산업기술개발

연구과제명 간중양 치료를 위한 간동맥화학색전술용 색전입자 능동정밀전달 융복합의료기기 및
색전술 훈련용 시뮬레이터 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 한국마이크로의료로봇연구원

연구기간 2022.04.01 ~ 2026.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

가교 결합된 비드를 포함하는 색전술용 조성물에 있어서,

상기 비드는,

술포프로필 메타크릴레이트 (sulfopropyl methacrylate; SPMA)와 공중합된 생체적합성 고분자를 포함하는 것인, 색전술용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 생체적합성 고분자는 젤라틴 메타크릴로일 (Gelatin methacryloyl; GelMA)인 것인, 색전술용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 비드는 SPMA를 GelMA 100 중량부에 대하여 10 내지 50 중량부로 포함하는 것인, 색전술용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 비드는 50 내지 500 μm 의 입경을 갖는 것인, 색전술용 조성물.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 비드는,

에틸렌 글리콜 디메타아크릴레이트 (Ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA), NHS (N-hydroxysuccinimide), 디알데히드 전분 (dialdehyde starch), 에폭시 화합물 (epoxy compound), 글루타르알데히드 글리옥살, 글리옥살, 2,2-디메톡시-2-페닐아세토 페논, 트리폴리포스페이트 소듐염, 디아세트알데히드 PEG, 스크레르알데히드 (scleraldehyde), 디에틸스쿠아레이트, 에피클로로하이드린, 게니핀 (genipin), 타닌 (tannin), 페닐프로파노이드, 카테킨, 레스베라트롤, 플라보노이드, 포름알데히드 (formaldehyde), 글루타르알데히드 (glutaraldehyde), EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) 및 이소플라보노이드로 이루어진 그룹에서 선택되는 1종 이상의 가교제로 가교된 것인, 색전술용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 하기 수학적 식 1로 표현되는 상기 비드의 팽창율은 75 % 내지 90%인 것인, 색전술용 조성물:

[수학적 식 1]

$$SW\% = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100$$

(여기서 W_s 는 PBS에서 팽창한 비드의 무게이고, W_d 는 건조한 비드의 무게임).

청구항 7

제1항에 있어서, 하기 수학적 식 2로 표현되는 상기 비드의 분해율은 30일 후 10% 미만인 것인, 색전술용 조성물:

[수학적 식 2]

$$Degradation\% = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100$$

(여기서 W_0 와 W_t 는 각각 비드의 초기 무게와 분해 후의 비드의 무게를 나타냄).

청구항 8

제2항에 있어서, 하기 수학적 식 2로 표현되는 상기 비드의 콜라겐 분해효소 존재하에서의 분해율은 30일 이후 20% 이상인 것인, 색전술용 조성물:

[수학적 식 2]

$$Degradation\% = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100$$

(여기서 W_0 와 W_t 는 각각 비드의 초기 무게와 콜라겐 분해효소에 의한 분해 후의 비드의 무게를 나타냄).

청구항 9

제2항에 있어서, 상기 GelMA의 젤라틴은 포유류 유래 젤라틴인 것인, 색전술용 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 조성물은 경동맥 화학 색전술 (Transcatheter arterial chemoembolization; TACE)용 조성물인 것인, 색전술용 조성물.

청구항 11

가교 결합된 비드를 포함하는 색전술용 조성물에 있어서,

상기 비드는 술포프로필 메타크릴레이트 (sulfopropyl methacrylate; SPMA)와 공중합된 생체적합성 고분자를 포함하며,

상기 비드는 항암제를 적재 (loading)하는 것인, 색전술용 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 생체적합성 고분자는 젤라틴 메타크릴로일 (Gelatin methacryloyl; GelMA)인 것인, 색전술용 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 항암제는 독소루비신 (Doxorubicin), 이리노테칸 (Irinotecan), 겐시타빈 (Gemcitabine), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin) 및 도세탁셀 (Docetaxel)로 이루어진 그룹에서 선택된 1종 이상의 항암제인 것인, 색전술용 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 비드는 하기 수학적 식 3으로 표현되는 약물 적재율을 15분에서 40% 이상으로 갖는 것인, 색전술용 조성물:

[수학적 식 3]

$$Absorption\% = \frac{w_0 - w_t}{w_0} \times 100$$

(여기서 w_0 와 w_t 는 각각 약물의 초기 무게와 비드에 탑재된 후의 약물의 무게를 나타냄).

청구항 15

제12항에 있어서, 상기 비드는 SPMA를 GelMA 100 중량부에 대하여 10 내지 50 중량부로 포함하는 것인, 색전술용 조성물.

청구항 16

제11항에 있어서, 상기 조성물은 경동맥 화학 색전술 (Transcatheter arterial chemoembolization; TACE)용 조성물인 것인, 색전술용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 마이크로비드를 포함하는 색전술용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 술포프로필 메타크릴레이트 (sulfopropyl methacrylate; SPMA)와 공중합된 생체적합성 고분자 비드를 포함하는 색전술용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 자연 폴리머 하이드로겔 중 젤라틴은 다양한 동물의 피부와 뼈에서 파생된 가수분해 펩티드이며, 따뜻한 물에 쉽게 용해된다. 제조된 젤라틴은 우수한 생체적합성과 기계적 안정성 때문에 약물 캡슐 재료, 지혈 패드, 종양 또는 암 치료를 위한 색전제의 재료 등 다양한 생물 의학적 용도로 사용되어 왔다.

[0003] 색전술은 종양 조직에 혈액을 공급하는 동맥 또는 정맥을 막는 내혈관 차단술이며, 생체호환성 하이드로겔이 종 종 색전술용 재료로 이용된다. 경동맥 화학 색전술 (Transcatheter arterial chemoembolization; TACE)은 간세포 암 (HCC) 환자를 위한 전형적인 색전술 치료법으로, 통상적 TACE (conventional TACE; cTACE)는 가장 일반적인 기법이다. cTACE에서는 하이드로겔 유형의 엠보리제이션 체제를 항암제와 X-선 추적을 위한 대조 매체와 섞어서 관심 부위에 내혈관 주입하여 색전을 유도한다. 그러나 이 치료법에는 정상 세포로의 색전, 비타겟 조직 진입, 불완전한 색전, 독성 및 종양 세포 인식 제한 등의 부작용이 있다. cTACE의 대부분의 단점은 약물 방출을 제어하는 데 있어서의 부족에서 비롯되기 때문에, 특별히 설계된 약물로드 하이드로겔 비드인 약물 방출 비드-

TACE (DEB-TACE)를 사용함으로써 극복할 수 있다. 이 방법은 약물이 직접적으로 통제 가능한 방식으로 종양 부위에 전달될 수 있다.

[0004] DC 비드는 상업화된 폴리 (비닐 알코올, PVA) 기반 비드 형상의 약물 방출형 색전물질로, 독소루비신 (DOX) 및 이리노테칸과 같은 약물과 함께 DEB-TACE용 엠보리제이션 제제로 사용된다. 한편, 지난 10 년 동안에, GelMA의 성형 가능성, 생분해성, 생체적합성을 이용하여 세포 성장을 위한 2D 및 3D 스캐폴드 등의 많은 응용분야에서 GelMA를 사용하여 왔으나, GelMA 또는 GelMA-포함 하이드로겔은 지금까지 엠보리제이션 재료로서 사용된 적이 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 마이크로비드를 포함하는 색전술용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 발명자들은 술포프로필 메타크릴레이트 (sulfopropyl methacrylate; SPMA)와 공중합된 젤라틴 메타크릴로일 (Gelatin methacryloyl; GelMA) 비드를 제조하였고, 본 발명에 따른 비드는 팽창을 및 분해가 억제되어 안정하며, 약물 탑재시 약물 방출 성능이 우수한 것을 확인하였다.

[0006] 이에, 본 발명의 목적은 색전술용 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 항암제를 담지할 수 있는 색전술용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 색전술용 조성물을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 마이크로 비드의 색전술 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 마이크로비드를 포함하는 색전술용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 색전술용 조성물은 색전술시 안정하면서도 약물 탑재 성능과 약물 방출능이 매우 우수하다.

[0011] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0013] 본 발명의 일 양태는, 가교 결합된 비드를 포함하는 색전술용 조성물에 있어서, 비드는, 술포프로필 메타크릴레이트 (sulfopropyl methacrylate; SPMA)와 공중합된 생체적합성 고분자를 포함하는 것인, 색전술용 조성물이다.

[0014] 본 명세서 상의 용어 “생체적합성 고분자”는 인체 등에 주입되었을 때, 인체 내에서 문제를 일으키지 않는 고분자를 의미하는 것으로, 체내에서 염증을 일으키거나 혈관을 통해 다른 장기로 퍼져서 뇌혈전을 일으킬 수 있는 문제가 발생하지 않는 고분자 일 수 있다. 생체적합성 고분자는 기계적 물성이 뛰어나면서도, 일정 시간 후 체내에서 분해될 수 있는 가교된 생분해성 고분자일 수 있다. 생체적합성 고분자는 가교된 생분해성 고분자일 수 있다. 생체적합성 고분자는 효소분해형 생분해성 고분자 또는 화학 가수분해형 생분해성 고분자일 수 있다. 생체적합성 고분자는 체내 대사시스템에 존재하는 효소에 의해 용이하게 분해되는 효소분해형 생분해성 고분자일 수 있다.

[0015] 본 발명에 있어서, 생체적합성 고분자는 젤라틴을 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 일 구현예에서, 생체적합성 고분자는 젤라틴 메타크릴로일 (Gelatin methacryloyl; GelMA)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 젤라틴 메타크릴로일 (GelMA)는 젤라틴과 메타크릴산 무수물이 반응하여 제조된 생체적합성 고분자로, 성형 가능성, 생분해성, 생체적합성이 우수하다.

[0016] 본 발명의 일 구현예에서, 젤라틴은 수분과 접촉시 일정 시간 고체 상태 내지는 겔 상태를 유지하여 혈류 등의 액체 이동을 막을 수 있는 젤라틴 재질이라면 제한없이 사용될 수 있으며, 예를 들어, 젤라틴은 포유류 유래 젤라틴 또는 어류 유래 젤라틴일 수 있다.

[0017] 젤라틴의 중량 평균 분자량은 15,000 내지 약 400,000일 수 있으며, 예를 들어, 30,000 내지 300,000, 50,000 내지 200,000, 65,000 내지 100,000일 수 있다. 젤라틴은 상대적으로 높은 평균 분자량을 가지는 젤라틴을 상대적으로 낮은 평균 분자량을 가지는 젤라틴보다 더 많이 포함할 수 있다. 이와 같은 경우, 상기 젤라틴이 가교되어 형성되는 색전 시술용 마이크로 비드는 체내에서, 상대적으로 늦게 분해된다.

- [0018] 본 발명에서 사용되는 젤라틴은 포유류의 콜라겐 또는 어류의 콜라겐으로부터 얻을 수도 있으며, 필요에 따라 상업적으로 입수할 수도 있다. 본 발명에 따른 색전용 조성물에서 생체적합성 고분자로 젤라틴 메타크릴로일(GelMA)이 사용되는 경우, GelMA의 젤라틴은 포유류 유래 젤라틴인 것일 수 있으며, 구체적으로는, 돼지 유래의 젤라틴이 사용될 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일 구현예에서, 비드는 SPMA를 GelMA 100 중량부에 대하여 0 내지 100, 0 내지 90, 0 내지 80, 0 내지 70, 0 내지 60, 0 내지 50, 10 내지 90, 10 내지 80, 10 내지 70, 10 내지 60, 10 내지 50, 10 내지 40, 10 내지 30, 20 내지 60, 20 내지 50, 20 내지 40, 30 내지 60, 30 내지 50, 30 내지 40 또는 40 내지 60 중량부로 포함하는 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 비드는 SPMA를 GelMA 100 중량부에 대하여 10 내지 50 중량부로 포함하는 경우, SPMA의 함량이 높은 경우 콜라겐 분해효소가 없는 경우에는 분해 속도가 느려 안정성이 있으며, 콜라겐 분해효소가 있는 조건에서는 적절하게 분해가 가능했으며, SPMA 함량이 높아짐에 따라 약물 적재성 및 서방적으로 방출하는 방출능이 우수함이 확인되었다.
- [0021] 본 발명에서 사용되는 비드는 혈관에 투입하여 신속한 시간에 고형화과 되어 색전을 일으키면서도 일정 기간 후, 또는 효소의 존재하에서 적절하게 분해될 수 있는 입경을 가질 수 있다. 이에, 비드의 입경은 사용 목적 및 색전술의 용도를 고려하여 적절하게 설정될 수 있으며, 예를 들어, 50 내지 500, 70 내지 450, 80 내지 400, 100 내지 400, 100 내지 500, 100 내지 450, 70 내지 150, 100 내지 300, 100 내지 200, 100 내지 150, 100 내지 120, 300 내지 500, 300 내지 400, 200 내지 400 또는 200 내지 300 μm 의 입경을 갖는 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일 구현예에서, 비드는 화학적 가교제에 의해 가교된 것일 수 있다. 이때, 가교제는 에틸렌 글리콜 디메타아크릴레이트 (Ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA), NHS (N-hydroxysuccinimide), 디알데히드 전분 (dialdehyde starch), 에폭시 화합물 (epoxy compound), 글루타르알데히드 글리옥살, 글리옥살, 2,2-디메톡시-2-페닐아세토 페논, 트리폴리포스페이트 소듐염, 디아세트알데히드 PEG, 스크레르알데히드 (scleraldehyde), 디에틸스쿠아레이트, 에피클로로히드린, 게니핀 (genipin), 타닌(tannin), 페닐프로파노이드, 카테킨, 레스베라트롤, 플라보노이드, 포름알데히드 (formaldehyde), 글루타르알데히드 (glutaraldehyde), EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) 및 이소플라보노이드로 이루어진 그룹에서 선택되는 1종 이상의 가교제인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 본 발명에 있어서, 가교 결합은 개시제에 의해서 시작될 수 있으며, SPMA와 생체적합성 고분자, 또는 젤라틴을 포함하는 생체적합성 고분자를 가교 결합할 수 있는 개시제라면 제한없이 사용될 수 있고, 예를 들어, 개시제로 암모늄 퍼설파이트 (ammonium persulfate; APS)가 사용될 수 있다.
- [0024] 본 발명에 있어서, 비드는 일정 수준의 팽창율을 가질 수 있다. 팽창 비율은 물분자를 비드에서 저장하는 능력을 나타내고, 또한 팽창 비율은 약물 로딩과 방출 응용에 중요한 역할을 한다. 이때, 팽창율은 술포프로필 메타크릴레이트 (SPMA)와 생체적합성 고분자의 비율을 적절하게 조정하여 설정될 수 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 팽창율은 하기 수학적 식 1로 표현되는 수식을 통해 계산되었을 때, 60 내지 100%, 65 내지 100%, 70 내지 100%, 75 내지 100%, 80 내지 100%, 85 내지 100%, 60 내지 95%, 65 내지 95%, 70 내지 95%, 75 내지 95%, 80 내지 95%, 85 내지 95%, 60 내지 90%, 65 내지 90%, 70 내지 90%, 75 내지 90% 또는 80 내지 90% 일 수 있고, 예를 들어, 85 내지 90%의 팽창율을 가지는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이때, 상기 팽창율은 PBS의 존재하에서 측정된 것일 수 있다.
- [0025] [수학적 식 1]
- $$SW\% = \frac{w_s - w_d}{w_d} \times 100$$
- [0026]
- [0027] (여기서 w_s 는 PBS에서 팽창한 비드의 무게이고, w_d 는 건조한 비드의 무게임)
- [0028] 본 발명에 따른 비드는 콜라겐 분해효소의 존재 또는 비존재하에서 일정 수준으로 분해될 수 있다. 분해성이 너무 낮은 경우 비드 자체는 안정하나 체내에 오래 잔류하게 되어 원하지 않은 부작용을 일으킬 수 있으며, 분해성이 너무 높은 경우에는 원하는 수준의 색전 효과를 달성하기 전에 분해될 수 있어, 색전술의 효율이 낮을 수 있다. 본 발명에 있어서 비드는 GelMA와 SPMA의 혼합 비율을 적절하게 조정하여 달성될 수 있으며, 예를 들어, 하기 수학적 식 2로 표현되는 비드의 분해율은 콜라겐 분해효소의 존재 없이 30일 경과 후 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% 또는 10% 미만일 수 있다.

[0029] [수학식 2]

$$Degradation\% = \frac{w_0 - w_t}{w_0} \times 100$$

[0030]

[0031] (여기서 w_0 와 w_t 는 각각 비드의 초기 무게와 분해 후의 비드의 무게를 나타냄)

[0032] 또한, 콜라겐 분해효소가 존재하는 경우 본 발명에 따른 비드가 분해될 수 있다. 구체적으로 본 발명에 따른 비드는, 수학식 2에 따라 측정된 분해율에서 30일 경과 후, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% 또는 40% 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 일 구현예에서, 조성물은 경동맥 화학 색전술 (Transcatheter arterial chemoembolization; TACE)용 조성물일 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 암조직으로 가는 동맥으로 항암제를 주입하고 색전 물질을 이용하여 암 조직에 영양 공급을 차단하여 암을 치료하는 색전술에 이용될 수 있다.

[0034] 본 발명의 다른 양태는, 가교 결합된 비드를 포함하는 색전술용 조성물에 있어서, 비드는 술포프로필 메타크릴레이트 (sulfopropyl methacrylate; SPMA)와 공중합된 생체적합성 고분자를 포함하며, 비드는 항암제를 적재 (loading)하는 것인, 색전술용 조성물이다.

[0035] 본 발명에 따른 조성물은 생체적합성 고분자가 포함된 비드를 통해 색전 효과를 나타냄을 동시에 비드에 적재된 항암제를 통해 암세포를 사멸시킬 수 있는 효과를 달성할 수 있다.

[0036] 비드는 적재한 항암제를 초기에 빠르게 방출하면서도 반복되는 색전술이 불필요하도록 지속적으로 항암제를 방출할 필요가 있다. 본 발명에 따른 색전용 조성물의 비드는 많은 항암제를 적재할 수 있는 적재성이 우수하면서도, 약물을 지속적으로 방출하는 것이 가능하다. 구체적으로, 본 발명에 따른 색전용 조성물은 하기 수학식 3으로 표현되는 수식으로 약물 적재율이 계산될 때, 5분에서 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% 또는 55% 이상으로 약물 적재율을 가질 수 있다.

[0037] 또한, 본 발명에 따른 색전용 조성물은 하기 수학식 3으로 표현되는 수식으로 약물 적재율이 계산될 때, 15분에서 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80% 또는 85%이상으로 적재율을 가질 수 있다.

[0038] [수학식 3]

$$Absorption\% = \frac{w_0 - w_t}{w_0} \times 100$$

[0039]

[0040] (여기서 w_0 와 w_t 는 각각 약물의 초기 무게와 비드에 탑재된 후의 약물의 무게를 나타냄)

[0041] 그리고, 본 발명에 따른 색전용 조성물은 수학식 3으로 표현되는 수식으로 약물 적재율이 계산될 때, 60분에서 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95%이상의 적재율을 가질 수 있다. 구체적으로, 일 실시예에서, 본 발명에 따른 비드 (G5SPB)는 15분에서 86%의 독소루비신 (Doxorubicin; DOX)를 흡수할 수 있음이 확인되었다.

[0042] 본 발명에 따른 조성물의 투여량은 환자의 연령, 성별, 체중, 증상의 위중도에 따라 의사가 판단하여 조절할 수 있으며, 예를 들어 적어도 3개월마다 반복 시술이 가능하다. 간동맥과 같이 고형암으로 혈액을 공급하는 동맥을 통해 예를 들어 1회에 5 내지 15ml씩 투여할 수 있다.

[0043] 본 발명의 일 구현예에서, 항암제는 2차, 3차 아민 (amine) 관능기가 포함된 형태인 독소루비신 (Doxorubicin), 이리노테칸 (Irinotecan), 겐시타빈 (Gemcitabine), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin) 및 도세탁셀 (Docetaxel)로 이루어진 그룹에서 선택된 1종 이상의 항암제일 수 있다.

[0044] 본 발명의 또 다른 양태는, 하기 단계를 포함하는 색전술용 조성물의 제조 방법이다:

[0045] 술포프로필 메타크릴레이트 (SPMA)와 생체적합성 고분자를 접촉하여 가교시켜 비드를 형성하는 가교 단계;

[0046] 형성된 비드를 여과하여 정제하는 정제단계.

[0047] 본 발명의 일 구현예에서, 생체적합성 고분자는 젤라틴을 포함하는 것일 수 있다. 젤라틴은 포유류의 콜라겐 또

는 어류의 콜라겐일 수 있으며, 예를 들어, 돼지 유래의 콜라겐일 수 있다.

- [0048] 본 발명의 일 구현예에서, 생체적합성 고분자는 젤라틴 메타크릴로일 (Gelatin methacryloyl; GelMA)인 것일 수 있다.
- [0049] 생체적합성 고분자가 젤라틴 메타크릴로일인 경우, 본 발명에 따른 제조 방법은 젤라틴 메타크릴로일을 제조하는 제조 단계를 포함할 수 있다.
- [0050] 본 발명의 일 구현예에서, 제조 단계는, 젤라틴을 용해하는 용해단계; 메타크릴산 무수물을 첨가하여 혼합하는 혼합 단계 및 혼합물을 투석하는 투석 단계를 포함하는 것일 수 있다.
- [0051] 본 발명의 일 구현예에서, 가교 단계는 화학적 가교제를 통해 SPMA와 생체적합성 고분자를 가교시키는 것일 수 있다. 화학적 가교제는 에틸렌 글리콜 디메타아크릴레이트 (Ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA), NHS (N-hydroxysuccinimide), 디알데히드 전분 (dialdehyde starch), 에폭시 화합물 (epoxy compound), 글루타르알데히드 글리옥살, 글리옥살, 2,2-디메톡시-2-페닐아세토 페논, 트리폴리포스페이트 소듐염, 디아세트알데히드 PEG, 스크레알데히드 (scleraldehyde), 디에틸스쿠아레 이트, 에피클로로히드린, 케니핀 (genipin), 타닌 (tannin), 페닐프로파노이드, 카테킨, 레스베라트롤, 플라보노이드, 포름알데히드 (formaldehyde), 글루타르알데히드 (glutaraldehyde), EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) 및 이소플라보노이드로 이루어진 그룹에서 선택되는 1종 이상의 가교제인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명의 일 구현예에서, 가교 단계는 가교를 위한 개시제를 통해 가교를 수행하는 것일 수 있으며, 개시제는 SPMA와 생체적합성 고분자, 또는 젤라틴을 포함하는 생체적합성 고분자를 가교결합할 수 있는 개시제라면 제한 없이 사용될 수 있고, 예를 들어, 개시제로 암모늄 퍼설페이트 (ammonium persulfate; APS)가 사용될 수 있다.
- [0053] 본 발명의 일 구현예에서, 가교 단계는 술포프로필 메타크릴레이트를 생체 적합성 고분자의 100 중량부에 대하여 0 내지 100, 0 내지 90, 0 내지 80, 0 내지 70, 0 내지 60, 0 내지 50, 10 내지 90, 10 내지 80, 10 내지 70, 10 내지 60, 10 내지 50, 10 내지 40, 10 내지 30, 20 내지 60, 20 내지 50, 20 내지 40, 30 내지 60, 30 내지 50, 30 내지 40 또는 40 내지 60 중량부로 혼합하여 가교시키는 것일 수 있다.
- [0054] 본 발명의 일 구현예에서 가교 단계는 질소 환경에서 수행되는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0055] 본 발명은 마이크로비드를 포함하는 색전술용 조성물에 관한 것으로, 색전술 시 안정하면서도 약물 탑재 성능과 약물 방출능이 매우 우수하여 다양한 색전술에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0056] 도 1은 젤라틴 메타크릴로일 (gelatin methacryloyl)의 합성 과정을 나타낸 도면이다.
- 도 2는 젤라틴 GelMA-SPMA 비드 (gelatin methacryloyl-3-sulfopropyl methacrylate beads; GSPBs)의 제조과정을 나타낸 도면이다.
- 도 3은 GSPB를 이용한 DOX 적재와 방출 과정을 테스트한 절차를 나타낸 도면이다.
- 도 4은 합성된 GelMA의 형태와 조성을 분석한 결과를 나타내는 도면이다. [(a) 광학현미경, (b) SEM 현미경, (c) GelMA 및 젤라틴의 FTIR, (d) XPS 서베이 스펙트럼 (survey spectrum), (e) GelMA의 고해상도 C 1s 스펙트럼]
- 도 5은 젤라틴 GelMA-SPMA 비드의 특성을 분석한 결과를 나타낸 도면이다. [(a) G1SPB 내지 G5SPB의 FTIR 스펙트럼, (b) G1SPB 내지 G5SPB의 서베이 스펙트럼, (c) 수화된 G1SPB의 압축을 보여주는 사진, (d) 각 비드에 대한 파단 시 최대 힘을 나타내는 GSPB의 힘 대 % 압축]
- 도 6은 젤라틴 GelMA-SPMA 비드의 생체적합성을 테스트한 결과를 나타낸 도면이다. [(a) DC 비드(*, $P < 0.05$)와 비교하여 24시간 동안 각 샘플에 노출된 후 HDF 세포의 생존율 (b) 최고 농도 (50mg/mL) 비드의 세포 생존율 (c) 세포의 형광 (위) 및 광학 (아래) 현미경 이미지]
- 도 7은 젤라틴 GelMA-SPMA 비드의 분해성을 평가한 결과를 나타낸 도면이다. [(a) 콜라겐분해효소 존재시의 분해성 (b) 콜라겐분해효소 비 존재시의 분해성]

도 8은 젤라틴 GelMA-SPMA 비드 및 DC 비드의 약물탑재 기능을 나타낸 도면이다. [(a) GSPB와 DOX의 상호작용, (b) DC 비드와 DOX의 상호작용, (c) DOX (노란색원)과 SPMA (파란색원)의 이온 상호작용의 분자구조 및 시뮬레이션 (d) DOX (노란색원)와 ATMA (초록색원)의 이온 상호작용의 분자구조 및 시뮬레이션]

도 9은 GelMA-SPMA 비드의 약물 적재 및 방출 능력 평가한 결과를 나타낸 도면이다. [(a) 시간에 따른 GSPB 비드의 DOX 약물 적재, (b) 상기 (a)와 대응되어 시간에 따른 GSPB의 DOX 약물 적재 도식, (c) GSPB 및 DC 비드의 DOX 적재에 따른 DOX 흡수도 측정 결과, (d) GSPB 및 DC 비드에서의 방출 프로파일, (e) 흡광도 대 농도 플롯의 적합 곡선에 대한 표준 보정 후 DOX의 누적 질량 방출 프로파일]

도 10은 GelMA-SPMA 비드의 약물 방출을 통한 간암세포 제거 기능을 평가한 결과를 나타낸 도면이다. [(a)는 G1SPB, G3SPB, DC 비드에 동일량의 DOX를 적재한 후 수용액상에 남은 DOX의 잔존여부를 확인한 사진, (b)는 G1SPB, G3SPB, DC 비드에 동일량의 DOX를 적재한 후, 각 비드를 세포배양액에 재분산하여 0일, 5일, 10일을 보관한 후 각 비드들을 간암세포 (Huh-7; hepatocyte-derived carcinoma cell)에 동일량 (300uL)으로 뿌려 24시간 후 살아있는 간암세포수를 측정한 세포생존율 비교 그래프, (c)는 G1SPB, G3SPB, G5SPB, DC 비드에 동일량의 DOX를 적재한 후, 각 비드를 세포배양액에 재분산하여 5일 보관한 후 각 비드들을 회수하여 간암세포에 다양한 양 (0~1000uL)으로 뿌려 24시간 후 살아있는 간암세포수를 측정한 세포생존율 그래프, (d)는 (c)와 동일한 방식의 세포생존율을 72시간 후 측정한 그래프, (e)는 (c)와 유사한 방식으로 실험하되 DOX 적재후 5일 보관한 비드에 더해 상층액을 동량으로 회수하여 간암세포에 뿌려 측정한 그래프]

도 11은 DOX 적재된 GSPB의 색전술 시뮬레이션 결과를 나타낸 도면이다. [(a) 혈류 하에서 DOX-로딩된 GSPB의 색전술을 모방하기 위한 테이퍼형 마이크로채널, (b) 높은 압력 하에서 좁은 채널로 압착된 GSPB]

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

실시예 1: 재료 및 방법

1-1. 재료

젤라틴 타입 A 돼지 젤라틴 (260 블룸)은 Sammi-gelatin Inc.에서 구입했으며, 메타크릴산 무수물 (methacrylic anhydride; MA, 94%), 술포프로필메타크릴레이트 칼륨염 (sulfopropylmethacrylate potassium salt; SPMA, 98%), 에틸렌 글리콜 디메타크릴레이트 (ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA, 98%), 독소루비신-염산염 (doxorubicin-hydrochloride; DOX), 그리고 클로스트리듐 히스토리티쿰 (*Clostridium histolyticum*)에서 추출한 콜라겐분해효소는 Sigma Aldrich에서 구입하여 그대로 사용하였다. 투석 막은 Viskase®(MD77, MWCO: 12-14 kDa)에서 구입하였고, 합성된 GelMA를 정제하는 데 사용하였다. 인산염 버퍼용액 (PBS)은 Gibco (pH 7.4)에서 구입하여 그대로 사용하였다. 파라핀 액체와 Duksan Inc.에서 얻은 고순도 암모늄 퍼설페이트 (ammonium persulfate; APS) 및 MC tech Inc.에서 구입한 폴리글리세롤 폴리리시놀레이트 (polyglycerol polyricinolate; PGPR)은 그대로 사용하였다. DC 비드 (300-500 μm)는 Boston Scientific Inc에서 구입하여 그대로 사용하였다. 실험에는 탈이온화된 물 (DI)을 사용하였다. 냉동 보관된 인간 피부 섬유아세포 (human dermal fibroblasts; HDF)는 Gibco (USA)에서 구입하였다. 세포독성 평가를 위해 HDF (passage 10)는 10% 우태아 혈청 (fetal bovine serum; FBS)이 포함된 두블레코의 변형된 이글 중 (DMEM) 고 포도당에서 배양하였다. 항암 효능 테스트를 위해, Huh-7 (Hepatocyte-derived carcinoma cell line)은 DMEM에서 배양되었고, 세포 카운팅을 위한 0.4% 트라이판 블루 (Gibco) 염색이 수행되었다.

1-2. 젤라틴 메타크릴로일 (Gelatin methacryloyl; GelMA) 합성

GelMA는 도 1과 같은 과정을 통해 합성하였다.

9 g의 젤라틴을 50 °에서 1시간 동안 섞어서 PBS 90 mL에 용해하였다. 이후, 메타크릴산 무수물 (18.0 g, 0.11 mol)을 30 mL/h의 속도로 첨가하여 50 °에서 2시간 동안 (700 rpm) 섞었다. 그런 다음, 108 mL PBS를 첨가하였다. 결과물인 혼합물은 1주일 동안 50 °에서 하루에 두 번 탈이온화된 물을 바꾸며 12-14 kDa 셀룰로스 막을 사용하여 투석하였다. 정제된 GelMA 용액을 1주일 간 동결건조하여 흰색 거품 형태로 만들었다.

1-3. 젤라틴 메타크릴로일-3-술포프로필 메타크릴레이트 비드 제조

GeIMA-SPMA 비드 (GSPBs)는 도 2와 같이 준비하였다. 파라핀 액체 50 mL에 0.08 g의 폴리글리세롤 폴리리시놀레이트를 80 ° C에서 세 개의 목이 있는 원통형 바닥 플라스크에 첨가하였다. 이 용액에는 각각의 양 (표 1 참조)의 술포프로필메타크릴레이트 칼륨염 (10~50wt%, 두번째 단량체), 에틸렌 글리콜 디메타아크릴레이트 (Ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA, 62mg, 가교제), 그리고 과황산 암모늄 (Ammonium Persulfate; APS, 10wt%, 개시제)가 탈이온화된 물 (2.5mL, 용매)에 용해된 GeIMA (0.62 g, 첫 번째 단량체)의 혼합 용액이 점적으로 첨가되었다. 이 용액은 라디칼 공중합이 진행되도록 질소 환경에서 80 ° C에서 3시간 동안 섞었다. 3시간 후, 비드는 여과되고 핵산으로 세 번, 탈이온화된 물로 다섯 번 씻겼다. 얻어진 비드는 진공 오븐에서 건조하였고, 추가적인 사용을 위해 저장하였다. 제조된 GSPBs는 각각 SPMA 함유량 10, 20, 30, 40, 50%에 따라 G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB로 명명되었다 (표 1 참조).

표 1

샘플명	G1SPB	G2SPB	G3SPB	G4SPB	G5SPB
SPMA 함량	10%	20%	30%	40%	50%
GeIMA (g)	0.625				
SPMA (g)	6.94×10^{-2}	15.6×10^{-2}	26.78×10^{-2}	41.66×10^{-2}	62.50×10^{-2}
APS (g)	3.50×10^{-2}	3.94×10^{-2}	4.50×10^{-2}	5.24×10^{-2}	6.28×10^{-2}
DW 2.5 ml, EGDMA 6.25×10^{-2} g					

1-4. 팽창율 측정

G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB 각각에 대해 10 mg를 가져와 PBS 1.5 mL를 첨가하고, 37 ° C에서 24시간 동안 부드럽게 흔들었다. 24시간 후, GSPBs는 PBS를 제거하기 위해 15,000 rpm에서 30분 동안 원심분리되었으며, 이후에 탈이온화된 물로 두 번 세척하였다. GSPB의 팽창율은 다음의 방정식을 사용하여 계산하였다.

[수학식 1]

$$SW\% = \frac{w_s - w_d}{w_d} \times 100$$

(여기서 w_s 는 PBS에서 팽창한 GSPBs의 무게이고, w_d 는 건조한 GSPBs의 무게임)

GSPBs의 팽창율은 상업적으로 사용 가능한 DC 비드와 비교되었다.

1-5. DOX 로딩과 방출 테스트

도 3에 나타나 있는 것과 같이, 건조한 GSPBs 10mg를 0.2 mg/mL DOX 용액 1.5mL에 넣고 2시간 동안 보텍스 믹서에서 부드럽게 흔들었다. 초기에는 30분 동안 매 5분마다 초상 용액을 초자외선-가시선 분광광도계(UV-vis 흡광) 측정을 위해 추출했다. 30분 후에는 매 10분마다 용액을 추출했다. 이어서, 추출한 용액에서 482 nm에서의 최대 흡광도를 측정했다. 이때, GSPBs에 로딩된 DOX의 농도는 481 nm에서 DOX 흡광도와 다른 농도의 DOX 사이에 얻어진 표준 곡선을 사용해 계산했다. 로딩된 DOX를 가진 GSPBs는 그대로 방출 테스트에 사용되었다.

GSPBs의 부풀린 비드에 PBS 10mL를 추가하고 37°C에서 10일 동안 부드럽게 흔들었다. 매일 PBS 10mL를 추출하고 동일한 양을 새로운 PBS로 대체했다. 추출된 용액에서는 482 nm에서의 최대 흡광도를 측정했다. DOX의 누적 방출량은 482 nm에서의 흡광도와 다른 농도 사이에 만든 표준 곡선을 사용해 계산했다.

DOX 로딩과 방출 실험 중에, 데이터 포인트는 3회 반복 실험이 진행되어 수집되었다. 얻어진 결과는 상용 DC 비드와 비교되었다.

[0084] 1-6. 분해 테스트

[0085] 클로스트리듐 히스토리티쿰 (*Clostridium histolyticum*) 콜라겐아제의 유무에 따른 GSPBs의 분해성을 연구하였다. GSPBs 10 mg를 10 CDU의 농도를 가진 콜라겐아제 용액 1.5 mL에 첨가하고, 37 ° C에서 800 rpm으로 6일 동안 흔들었다. 특정 시간 간격 후, GSPBs는 원심분리되었고, DI 물로 두 번 세척하였다. 세척된 GSPBs는 진공 오븐에서 하룻밤 동안 건조되었다. 준비된 GSPBs의 분해성은 상업적으로 사용 가능한 DC 비드와 비교되었다. 분해율은 다음의 방정식을 사용하여 계산되었다.

[0086] [수학식 2]

[0087]
$$Degradation\% = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100$$

[0088] (여기서 W0와 Wt는 각각 GSPBs/DC 비드의 초기 무게와 효소에 의한 분해 후의 GSPBs/DC 비드의 무게를 나타냄)

[0090] 1-7. 세포독성 분석

[0091] GSPB는 혈청 없는 DMEM-고 포도당에서 37°C에서 72시간 동안 1, 5, 10, 50 mg/ml로 용해됐다. HDF는 1×10^4 cells/cm²의 밀도로 24구 플레이트에 씨앗을 뿌려서 24시간 동안 배양했다. 배양된 세포들은 PBS (Gibco)로 씻은 후 GSPB (1, 5, 10, 50 mg/ml)로 24시간 동안 처리됐다. 이 세포들은 1시간 동안 세포 계수 키트 (CCK-8, Dojindo, 도쿄, 일본; WST-8라고도 함) 시약으로 처리됐다. 중간매질의 흡광도는 450 nm 파장에서 측정해서 세포독성을 평가했다. 샘플은 또한 HDF에서 37°C에서 20분 동안 LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity Kit (Thermo Fisher Scientific, USA)로 평가됐다. 그리고 이미지는 형광 현미경 (Ts2 FLPH 역전형 현미경, Nikon, 일본)을 사용해 찍었다. 결과는 평균 ± 표준 오차로 표현됐다. 데이터 그룹 간의 통계적 유의성은 일원 분산 분석 (ANOVA) 또는 이원 분산 분석과 본페로니 복수비교 검정을 사용해 결정했다. $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***) 값은 통계적으로 유의하다고 판단했다. 모든 통계 분석은 GraphPad Prism 소프트웨어 (GraphPad Prism software Inc., SanDiego, CA, USA)를 사용했다.

[0093] 1-8. DOX-로딩된 GSPB의 항암 효과 분석

[0094] DOX-로딩된 GSPB는 도 3에서 설명한 절차에 따라 준비하였다. 10mg의 GSPB가 실온에서 50 rpm으로 흔들리는 인큐베이터에서 2시간 동안 0.2 mg/mL DOX 용액에 담겨진 후, 약물-로딩된 비드 300mg가 모아져서 5일 동안 배양 매질 (DMEM, 10% FBS, 1% 항생제, Gibco) 20ml에 재부포됐다. G2SPB, G4SPB, G5SPB가 각각 사용됐다. 배양된 Huh-7는 트라이판 블루 염색을 통해 카운트했고, 50,000 세포/웰에서 6 구 플레이트에 분배한 후 GSPB 적용 전에 추가로 24시간 동안 배양했다. 항암 효과 테스트는 두 가지 다른 방식으로 수행됐다. 첫째, 상등액 없는 여섯 가지 다른 양의 DOX-로딩된 GSPB 두 세트가 HuH-7 세포가 포함된 각 구에 적용됐다. 둘째, GSPB에 DOX 로딩에 사용된 상등액 두 세트가 수집되고, 3가지 다른 농도 (0~100 wt%)로 희석됐다. DOX-로딩된 GSPB와 상등액에 각각 노출된 각 세포 세트는 각각 인큐베이터에서 24시간, 72시간 동안 배양되고, 세포 수를 세었다.

[0096] 1-9. 특성화 분석

[0097] GelMA에서 젤라틴의 대체도는 500 MHz 푸리에 변환-핵자기 공명 (NMR) 분광계 (JNM-ECZ500R, JEOL)를 사용해 계산했다, GelMA의 형태는 필드 방출-주사 전자현미경 (FE-SEM, SU-8010, HITACHI)으로 조사했다, GelMA와 GSPB의 형태는 반사 광학현미경 (BA310, Motic)과 전달 광학현미경 (DM IL LED, Leica)를 각각 사용해 연구했다. 또한, 푸리에 변환-적외선 분광학 (FT-IR, Spectrum 100, Perkin Elmer)을 사용해 GelMA와 GSPB의 기능 그룹을 조사했다. 추가로, GelMA와 GSPB의 화학적 조성을 X선 광전자 분광학 (XPS, Thermo Fisher Nexsa with Al Ka X-ray source)을 사용해 연구했다. UV-Vis 분광학 (Biochrom, Libra S70)은 보정 곡선을 얻고, GSPB에서의 DOX 로딩과 방출 연구에 사용됐다.

[0099] **실시예 2: 젤라틴 메타크릴로일의 특성화**

[0100] GeIMA는 포크린 젤라틴과 메타크릴산 무수물을 반응시켜 준비하였다. 그리고 메타크릴로일 그룹과 함께 기능화된 젤라틴의 정도는 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 확인하고 계산했다. 치환 정도는 82.8과 2.9 ppm 사이에서 나타나는 GeIMA의 리신 프로톤 신호와 젤라틴을 비교해서 86%로 계산했다.

[0101] 합성된 GeIMA의 형태는 광학 현미경과 SEM 측정을 사용해 조사했다 (도 4 참조). 동결 건조된 GeIMA의 광학 이미지는 스펀지 같은 구조를 나타냈다 (도 4 (a)). 큰 구멍이 있는 스펀지 구조는 SEM 이미지로 더 확인됐다 (도 4 (b)). 젤라틴과 GeIMA의 화학 조성은 또한 FT-IR과 XPS를 사용해 검사했다. 젤라틴은 펩티드 결합으로 아미노산이 연결된 단백질로 구성돼 있다. 도 4의 (c)에서 보이는 것처럼, 젤라틴은 특성 아미드 밴드를 가지고 있고, 3700과 3100 cm^{-1} 사이의 넓은 밴드는 O-H와 N-H 스트레칭과 관련된 아미드 A를 나타낸다. 3100과 2800 cm^{-1} 사이의 피크는 C-H 스트레칭을 나타낸다. C=O 스트레칭으로 인해 나타나는 아미드 I 밴드는 대략 1625 cm^{-1} 근처에서 관찰됐다. 두 번째 강한 피크는 대략 1510 cm^{-1} 근처에서 N-H와 C-N 스트레칭의 구부로 인해 발생하는 아미드 II로 인식된다. 1440과 1230 cm^{-1} 사이의 피크는 펩티드 체인의 백본의 대칭적이고 비대칭적인 구부와 관련이 있다. 젤라틴의 아미드 III의 존재는 1200과 700 cm^{-1} 사이의 C-N과 N-H 결합의 진동 평면에서 확인된다.

[0102] GeIMA의 FT-IR 스펙트럼은 젤라틴의 아미드 I, II, III 밴드와 O-H와 N-H 스트레칭과 유사하였다 (도 4 (c)). 그러나, GeIMA의 O-H와 N-H 스트레칭, 아미드 I, 아미드 II 피크는 젤라틴보다 더 높은 파수로 약간 이동했다. O-H와 N-H 스트레칭은 3720과 3120 cm^{-1} 사이에서 관찰되었고, 아미드-I와 아미드-II는 각각 대략 1635와 1520 cm^{-1} 에서 나타났다. 이 이동은 메타크릴로일 그룹과 젤라틴의 공액으로 인해 발생하는 C=O가 아미드 피크와 겹치는 현상 때문이다. 또한, O-H, N-H, C-H 스트레칭, 아미드 I-III 피크의 강도가 젤라틴보다 GeIMA에서 높게 관찰됐다. 피크의 이동과 기능 그룹의 강도 증가는 젤라틴의 메타크릴로일 그룹으로의 변화로 관찰된다.

[0103] GeIMA의 XPS 서베이 스펙트럼 (도 4 (d))은 각각 탄소 (C) 1s, 질소 (N) 1s, 산소 (O) 1s에 대한 286, 401, 그리고 532 eV에서 세 개의 주요 피크를 보여준다. C, N, O의 원자 백분율은 각각 67.24, 15.51, 그리고 17.25%로 결정됐다. C 1s 스펙트럼의 고해상도 분해를 통해, 이는 287.50, 286.0, 그리고 285.0 eV에서의 세 개의 피크를 보여주며, 이들은 각각 기능 그룹, C=O, C-O/C-N, 그리고 C-C/C-H를 나타냈다 (도 4 (e)). N 1s의 고해상도와 O 1s의 중심 피크는 각각 399.50 그리고 531.20 eV에서 C-N/N-H와 C=O/C-O 기능 그룹을 제안한다. 전반적으로, FTIR와 XPS 결과는 O-H, N-H, C=O, C=O, C-O/C-N, 그리고 C-C/C-H 기능 그룹의 존재를 GeIMA에서 나타내었다.

[0105] **실시예 3: GeIMA-SPMA 비드의 특성화**

[0106] 합성된 GeIMA는 GSPB를 만드는 데 사용되었다. GeIMA, SPMA, EGDMA (가교제), APS (개시제)의 수성 혼합물을 폴리글리세롤 기반 계면활성제로 안정화된 파라핀 오일에 분산한 후, 도 2에서 보여지는 대로 GSPB의 열 공중합이 실시되었다. SPMA 양을 각각 10, 20, 30, 40, 50%로 변화시키며 다섯 가지 다른 GSPB가 준비되었다. GSPB 합성 후, 잔존하는 계면활성제는 헥산으로 세척되었고, 반응하지 않은 APS, EGDMA, SPMA, 그리고 GeIMA는 탈이온화된 물로 린스하여 제거되었다. 준비된 GSPB들은 진공 오븐에서 건조시킨 후 추가 연구를 위해 사용되었다.

[0107] 도 5의 (a)는 GSPB의 FT-IR 스펙트럼을 보여주며, 여기서 N-H, O-H, 그리고 C-H의 밴드들이 GeIMA의 것과 비슷한 지역에서 나타났다. 아미드 I-III 결합으로 인해 발생하는 큰 밴드들이 1600에서 1200 cm^{-1} 사이에서 관찰되었다. 약한 밴드가 1710 cm^{-1} 에서 나타나며 아미드 I 주변의 1600 cm^{-1} 과 합쳐져서 SPMA의 C=O의 존재를 암시한다. 에스터 결합의 존재는 약 1150 cm^{-1} 주변의 강한 밴드로부터 명확하며, 약 1037 cm^{-1} 주변에서 나타나는 날카로운 피크는 SO_3 스트레칭의 특성 피크이다. SO_3 스트레칭은 GSPB에 SPMA가 포함되어 있음을 확인하며, 또한 이 피크의 강도는 SPMA 양과 함께 증가한다. 이것은 SPMA의 다양한 양으로 GSPB가 성공적으로 형성되었다는 것을 증명한다.

[0108] GSPB들의 화학 구성은 XPS 연구를 통해 추가로 조사되었다. 도 5의 (b)는 GSPB와 SPMA의 서베이 스펙트럼을 보여준다. 168, 285, 378, 532 eV에서의 주요 피크들은 각각 S 2p, C 1s, N 1s, 그리고 O 1s에 기인한다. 그림 5의 (b)에서 볼 수 있듯이, GSPB에서 나타나는 S 2p를 책임지는 피크는 SPMA에서 나오며, 그 강도는 SPMA 함량이

증가함에 따라 증가한다. SPMA 10%인 G1SPB와 비교해 SPMA 50%인 G5SPB는 S 2p 피크의 더 높은 강도를 보인다. G1SPB에서의 황의 양은 0.2%로서 예상보다 작은 양의 SPMA가 혼합되었음을 나타낸다. 그러나 S%는 각각 G2SPB, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB에 대해 1.03, 1.23, 2.52, 그리고 2.46으로 증가하였다. 또한, GSPB에서 GeIMA와 비교해 증가하는 O%와 감소하는 N%는 SPMA가 GeIMA에 혼합되어 있다는 또 다른 증거이다. XPS 분석에서의 황의 원자 백분율을 기반으로, G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB에서 혼합된 실제 SPMA의 양은 각각 3.6, 12.5, 15.0, 30.7, 그리고 30.0 wt%로 계산되었다, 비록 그들의 단량체 함량이 각각 10, 20, 30, 40, 그리고 50%였다 할지라도. G4SPB에 비해 G5SPB에서의 약간 더 작은 S%는 XPS에 의한 정량화의 오차 범위 내에 있다고 판단되었다. 전반적으로, XPS 결과는 반응 혼합물에서 단량체 함량이 증가함에 따라 GSPB에서 SPMA 함량이 증가하고 있다는 것을 보여주지만, GSPB에서 SPMA의 최대 혼합은 약 30%로 나타난다.

[0109] 더 엄밀한 원소 분석을 위해, 고해상도 XPS 스펙트럼에서 SPMA의 C 1s, O 1s, 그리고 S 2p 레벨은 각각 그림 S3에 나와 있는 것처럼 디컨볼루션되었다. 또한, 고해상도 XPS 스펙트럼에서 G5SPB의 같은 레벨들 (C 1s, O 1s, 그리고 S 2p)에 대한 디컨볼루션이 수행되었다. SPMA에서 나오는 다양한 기능성 그룹들로부터의 디컨볼루션된 C, O, S 신호들의 엄밀한 할당은 GeIMA에서 SPMA의 성공적인 통합을 확인하는데, G5SPB에서 SPMA의 존재를 밝혔다.

[0110] 구형 GSPB들의 크기는 광학 현미경에서 얻은 광학 이미지에서 약 100개의 비드들을 세어 측정되었다. 표 2에서, GSPB들의 평균 지름들이 요약되어 있으며, 이들 중 G1SPB가 다른 GSPB들 중에서 가장 작은 크기로 나타난다. 그리고 G2SPB ~ G5SPB에서의 증가된 SPMA 함량은 크기의 무시할 만한 변화를 초래하였다.

표 2

샘플	크기 (μm)	팽창율 (%)	30% 압축에서의 힘 (N)
G1SPB	180-350	77.9±0.8	0.19±0.03
G2SPB	130-470	85.7±4.7	0.18±0.04
G3SPB	190-430	83.3±0.1	0.14±0.05
G4SPB	90-430	84.7±0.1	0.16±0.00
G5SPB	90-430	83.6±0.6	0.14±0.00
DC bead	100-400	92.1±0.1	0.22

[0114] G1SPB는 약 78%의 팽창 비율을 보였으며, G2SPB ~ G5SPB에 대해서는 83~86%의 범위 안에 있었다. DC 비드는 약 92%의 더 높은 팽창 비율을 보였는데, 이는 더 작은 가교밀도에 기인한다. 생성된 비드 (ref DEECA)의 기계적 강도를 확인하기 위해 GSPBs용 EGDMA 가교제의 함량을 라디칼 중합에 의한 일반적인 하이드로겔 제조 조건보다 상대적으로 높은 GeIMA 10wt%로 고정하였다. 일반적으로, 팽창 비율은 물분자를 소재에서 저장하는 능력을 나타내고, 또한 팽창 비율은 약물 로딩과 방출 응용에 중요한 역할을 한다. 전체적인 결과는 GSPBs에서 SPMA 함량의 증가가 가장 작은 SPMA 함량을 포함하는 G1SPB를 제외하고는 크기와 팽창율 값의 변화가 미미하다는 것을 보여준다.

[0115] 수화된 GSPB들의 탄성을 검사하기 위해, 도 5 (c)에서 보여지는 것처럼 단일 비드를 압축하는 동안의 힘을 측정하였다. 각각의 비드가 압축됨에 따라 약 80~90% 압축에서 파단되어 최대 힘 값을 나타냈다. 표 2에서, 각 비드의 30% 압축에서 측정된 힘이 나타나 있으며, 각 GSPB에 대한 힘 대비 압축의 그래프를 도 5 (d)에 도시하였다. 압축 시험에 사용된 비드 크기 범위는 180±50 μm였다. 압축 측정에서, GSPB에서 SPMA 함량의 증가는 탄성의 감소를 초래함을 발견하였다. 비교하여 비슷한 크기의 DC 비드에 대한 압축 시험을 수행한 결과 탄성이 상대적으로 높았다.

[0117] 실시예 4: GeIMA-SPMA 비드의 생체적합성 평가

[0118] GSPB는 비드의 50wt% 이상이 돼지 젤라틴에서 유래한 GeIMA로 구성되어 있어 생체 적합성 및 생체 분해가 가능하도록 설계되었다. 생체적합성을 확인하기 위해 HDF 세포를 이용하여 GSPBs의 세포독성을 조사하였다. HDF 세포의 생존력은 24시간 동안 다양한 농도 (1, 5, 10 및 50 mg/mL)에서 GSPB의 존재 하에 살아있는 HDF 세포 및 죽은 HDF 세포의 정량화를 사용하여 조사되었다. 도 6의 (a)에서 나타난 바와 같이, GSPB의 농도에 관계없이

100%보다 높은 세포 생존율을 얻었다. 세포생존율 검사에서 비드의 최고농도(50mg/ml)는 통상적인 세포생존율 검사에서 사용하는 농도에 해당한다.

[0119] GSPB들의 존재하에서의 세포 생존율들은 상업적으로 사용 가능한 DC 비드 (도 6 (a))와 비교되었으며, GSPB들과 DC 비드에 대한 유사한 생존율 결과들이 확인되었다. 도 6의 (b) 와 도 6의 (c)는 GSPB들과 DC 비드들의 가장 높은 농도 (50 mg/mL)에서의 HDF 세포 생존율을 보여준다. 도 6의 (c)에 나타난 것처럼, GSPB들의 1, 5, 10 그리고 50 mg/mL의 다른 농도들을 가진 HDF 세포들의 현미경 이미지에서는 HDF 세포들의 균일한 분포가 확인되었고, 이미지들은 GSPB들과 DC 비드들의 전체 농도 범위에서 HDF 세포의 사망이 없음을 나타낸다.

[0121] 실시예 5: Ge1MA-SPMA 비드의 분해성 평가

[0122] 도 7의 (a)에 나타난 것과 같이, 콜라게네이즈와 함께 존재하는 경우 GSPB들의 분해는 DC 비드와 비교했을 때 더욱 명확하였다. G1SPB는 5일 안에 G1SPB의 38%가 분해되어 62%의 질량을 보였고, 30일 후에는 G1SPB의 44%가 분해되었다. 그 후에, GSPB들에서의 SPMA 함량 증가에 따라, G2SPB, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB는 GSPB들과 비슷한 분해 양상을 나타냈다.

[0123] GSPB들은 5일 안에 20%의 GSPB 분해와 함께 약 80%의 질량을 보였다. 30일 후에, G2SPB, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB는 각각 약 30%, 약 30%, 약 25%, 그리고 약 20%의 분해를 보였다. SPMA의 가교는 GSPB들의 분해 속도에서의 차이를 일으킴을 확인하였다. GSPB들에서 더 높은 SPMA는 분해를 느리게 한다. 대조적으로, 콜라게네이즈 없이 GSPB들은 30일 후에 90% 이상의 질량을 보였다 (도 7의 (b)). 이것은 콜라게네이즈 없이 GSPB들의 10% 미만이 분해되었다는 것을 보여주어 준비된 GSPB들의 안정성을 확인한다. GSPB들의 분해 조사는 준비된 GSPB들이 콜라게네이즈의 존재에서 분해될 수 있음을 증명한다. 반면에, DC 비드들은 분해되지 않았다.

[0125] 실시예 6: Ge1MA-SPMA 비드의 약물 적재성 평가

[0126] 세포 생존율과 분해 결과들은 GSPB들이 잠재적인 나노 캐리어가 될 수 있음을 보여준다. 준비된 GSPB들은 혈전 생성 요소로서 사용하기 위해 목표로 설정되었다. 따라서 약물 적재 및 방출 실험을 추진하기 전에 약물 (DOX) 과 GSPB들, 그리고 DOX와 DC 비드 사이의 상호 작용을 시뮬레이션을 사용하여 연구하였다. DOX는 하이드록실, 아민, 당 단위, 그리고 카르복실산 기능 그룹을 가진 안트라퀴논 구조의 잘 알려진 항암 약물이다. 준비된 GSPB 들은 아민, 하이드록실, 메틸 메타크릴레이트, 그리고 황산기 기능 그룹들을 가진 Ge1MA와 SPMA를 가지고 있다. DC 비드들은 폴리비닐 알코올-아크릴아미도-2-메틸프로판 술폰산 (AMPS)으로 구성되어 있다. DC 비드들의 AMPS 에서 온 술포네이트 그룹들은 DOX에 있는 설포네이트 그룹들 사이에서 이온 교환을 통해, DC 비드들이 DOX와 상호 작용한다.

[0127] 도 8의 (a) 및 (b)는 각각 GSPB들과 DC 비드들이 DOX 약물과 함께 있는 도식 설명을 보여준다. DOX, SPMA, 그리고 AMPS의 분자 구조들과 시뮬레이션된 공과 막대 모델들은 도 8의 (c)에 나타나있다. GSPB들과 DOX 사이의 약 -427 kJ/mol의 잠재 에너지가 측정되었다. 반면에, DOX와 AMPS 사이의 상호작용으로 인해 발생하는 잠재 에너지는 -465 kJ/mol로 계산되었다. AMPS와 DOX 사이의 약간 더 높은 에너지는 AMPS의 아미도 단위에서의 -NH 그룹과 술포네이트 그룹의 개입을 설명할 수 있다. 시뮬레이션 결과들은 SPMA와 DOX, 그리고 AMPS와 DOX 사이의 상호작용들이 비슷하다는 것을 제안한다.

[0129] 실시예 7: Ge1MA-SPMA 비드의 약물 적재 및 방출 능력 평가

[0130] 도 9의 (a) 및 (b)에서 확인할 수 있듯이, DOX 적재 전에 GSPB들은 무색이었고, DOX 용액을 GSPB들에 바로 추가한 후 (t=0 min)에는 오직 상층 용액만이 빨간색으로 변했다. 그 후에, 시간이 증가함에 따라, DOX는 GSPB들에 적재하기 시작했다. GSPB들 안의 DOX 양은 시간과 함께 증가하였고 결과적으로, t=15 min에서 GSPB 비드들은 빨간색으로 착색되었다. t>2h 후에, 도 9의 (a)에서 나타난 것처럼, 시간에 따라 DOX가 탑재되어 GSPB들은 빨간색으로 착색되었다.

[0131] DOX가 GSPB들과 DC 비드들에 얼마나 있는지 결정하기 위해, 상층 용액들 (유리 상태의 DOX)이 482 nm에서 흡수도를 측정하였다. 실험 결과, 도 9의 (c)에 나타난 것과 같이 DOX의 GSPB들과 DC 비드들에의 적재는 482 nm 에서의 Dox의 흡수 감소에 의해 확인되었다. GSPB들과 DC 비드들에 대해 DOX의 흡수 강도의 큰 감소들이

관찰되었다. 하지만, DC 비드들, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB의 흡수 강도 감소는 G2SPB와 G1SPB보다 더 컸다. 이것들은 DC 비드, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB에 DOX가 G2SPB와 G1SPB보다 더 많이 적재되었음을 알려준다. 더 나아가, 흡수 강도의 지수적 적합에 의해, 응답 시간들인 τ 는 각각 G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, G5SPB, 그리고 DC 비드에 대해 9.19, 7.14, 6.56, 4.56, 3.54, 그리고 6.78 분으로 계산되었다. 분광 광도 결과들은 명확하게 약물 적재에 필요한 시간이 G3SPB에서와 DC 비드에서 비슷하며, G4SPB와 G5SPB에 대해 더 빠른 DOX 적재 속도들이 달성되었음을 보여준다. 특히, G5SPB의 경우, 비드에 DOX의 80%를 적재하는 데에는 15분 미만이 걸렸다.

[0132]

도 9의 (c)에서 얻어진 흡수 강도를 사용하여, GSPB들과 DC 비드에 적재된 DOX %는 482 nm에서 DOX의 흡수와 다양한 농도들 사이에 얻어진 표준 곡선을 사용하여 계산되었다. 5분에서, 18.5, 29.0, 34.5, 48.5, 58.0, 그리고 32.5%의 DOX가 각각 G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, G5SPB, 그리고 DC 비드에 적재되었다. 15분에서, 적재된 DOX %는 44.5, 63.5, 70.1, 81.3, 86.0, 그리고 68.0%로 각각 G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, G5SPB, 그리고 DC 비드에 증가하였다. 이는 DOX의 80% 이상이 DC 비드(68%)보다 더 많이 G4SPB와 G5SPB에 적재되었음을 나타냈다. 60분에서, 61.5, 79.0, 87.0, 90.5, 92.3, 그리고 88.0%의 DOX가 각각 G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, G5SPB, 그리고 DC 비드에 적재되었다. 120분에서, G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, G5SPB, 그리고 DC 비드에 적재된 DOX는 각각 64, 82.0, 90.0, 93.2, 그리고 90%로 계산되었다. 이 결과는 60분까지 DOX의 90% 이상이 G4SPB와 G5SPB에 적재되었음을 드러낸다. 60분 이후에, 120분까지 DOX 적재에서의 약간의 증가만이 관찰되었다. 흡수 강도 (도 9 (c))에서 나타낸 바와 같이, DC 비드, G5SPB, G4SPB, 그리고 G3SPB에 적재된 DOX %는 G2SPB와 G1SPB보다 더 높았다. GSPB들 사이에서 DOX 적재 효율성의 차이는 GSPB들의 술포네이트 양의 차이 때문으로 예측되었다. 높은 양의 SPMA는 DOX와 더 높은 상호작용을 초래하므로 G5SPB, G4SPB, 그리고 G3SPB는 다른 GSPB들보다 DOX의 더 높은 적재 효율성을 보였다. DC 비드의 적재 효율성은 G3SPB와 거의 동일하였다. GSPB들은 DC 비드들과 보고된 작업들 (80%, 77%)보다 높은 DOX 적재 효율성 (90% 이상)을 보였다. 더욱이, 분해 테스트 결과들은 GSPB들에서 효소 분해가 나타났으나, DC 비드들은 분해되지 않았다.

[0133]

GSPB들과 DC 비드들로부터 방출된 DOX의 양은 상등액에 대한 흡수도 측정을 통해 조사되었다. GSPB들과 DC 비드들로부터의 DOX 방출 거동은 10일 동안 살펴보았다. 도 9의 (d)는 시간에 따른 482 nm에서 DOX에 따른 흡수강도 변화를 보여준다. 모든 샘플에 대해, 첫날에는 흡수도가 최대 강도까지 증가한 후 둘째 날부터 실험이 끝날 때까지 천천히 감소하였다. 이런 강도 증가는 초기에 DOX의 급격한 방출을 나타내며, 이어서 10일 동안 DOX의 지속적인 방출을 보여준다. 내부의 사진 이미지는 각각 하루 후와 열흘 후의 PBS에서 DOX가 적재된 GSPB들을 보여준다. 이는 GSPB들과 PBS 용액의 색상 변화를 보여준다. 하루 후에, 빨간색 용액은 GSPB들과 DC 비드들로부터 PBS 용액으로 DOX가 방출되었음을 증명한다. 열흘 후에는 PBS 용액은 무색이었지만 GSPB들은 색이 있어 DOX의 미비한 방출 양을 나타낸다. 더욱이, GSPB들과 DC 비드들로부터의 DOX의 누적 방출 양을 계산하였다 (도 9의 (e)). 첫날에, G1SPB는 DOX의 초기 급격한 방출을 보여주었고 이어서 G2SPB, G3SPB, G4SPB $\approx$ DC 비드, 그리고 G5SPB가 각각 0.33, 0.28, 0.21, 0.16 $\approx$ 0.17, 0.12 mg의 양을 보였다. 셋째 날에, 각각 G1SPB, G2SPB, G3SPB, G4SPB, G5SPB, 그리고 DC 비드에서 0.57, 0.67, 0.53, 0.41, 0.32, 그리고 0.36 mg의 DOX가 방출되었다. 다섯째 날에, G1SPB와 DC 비드에서의 DOX 방출은 다른 GSPB들에 비해 평형 상태에 이르렀다. 반면에, G2SPB, G3SPB, G4SPB, 그리고 G5SPB에서는 열흘 이후에도 천천히 계속해서 DOX가 방출되었음이, 증가하는 방출 프로파일과 GSPB들의 색상에 의해 확인되었다.

[0134]

방출 프로파일의 차이는 DC 비드의 술포네이트와 아미도기와 DOX 간의 상호작용, 그리고 GSPB들의 술포네이트 기와 DOX 간의 상호작용에 따라 설명할 수 있다. 시뮬레이션 연구는 DC 비드와 DOX 사이에 높은 잠재 에너지를 보여주어, GSPB들에 비해 DC 비드와 DOX 간의 더 나은 상호작용을 보여준다 (도 8 참조). 반면에, GSPB들은 DC 비드보다 더 나은 DOX 방출 효율을 보였다 (도 9의 (d)와 (e)). 이 흥미로운 결과는 술포네이트 그룹 외에 GSPB들의 -NH, -OH, 그리고 -COO 그룹들과 DOX 간의 상호작용을 고려함으로써 설명될 수 있다. 이 효과를 통해, GSPB들은 DOX의 향상된 방출 프로파일을 보여주었다. 또한, GSPB들의 -NH, -OH, 그리고 -COO 그리고 술포네이트 그룹들의 양이 방출 프로파일에 영향을 미칠 수 있다. -NH, -OH, 그리고 -COO 그리고 술포네이트 그룹들의 양이 적은 G1SPB는 DOX와의 약한 상호작용을 가질 것이고, 따라서 다른 GSPB들보다 급격한 방출이 더 높을 것으로 예측되었다. 급격한 방출 후, G1SPB들은 감소하는 방출 프로파일을 보여주었고 둘째 날부터 평형에 접근했다. 방출 효율이 GSPB들과 DOX의 상호작용에 의존하므로, 상호작용이 강할수록 DOX의 느린 방출을 초래할 것이다. 결과적으로, GSPB들로부터의 DOX 방출 효율이 증가하는 순서는 다음과 같다: G5SPB, G4SPB, G3SPB, 그리고 G2SPB. 따라서 제조된 GSPB들은 느리고 안정적인 DOX 약물 방출에 효과적인 후보물질이 될 수 있다.

[0136] 실시예 8: DOX 적재 GelMA-SPMA 비드의 항암 효능 평가

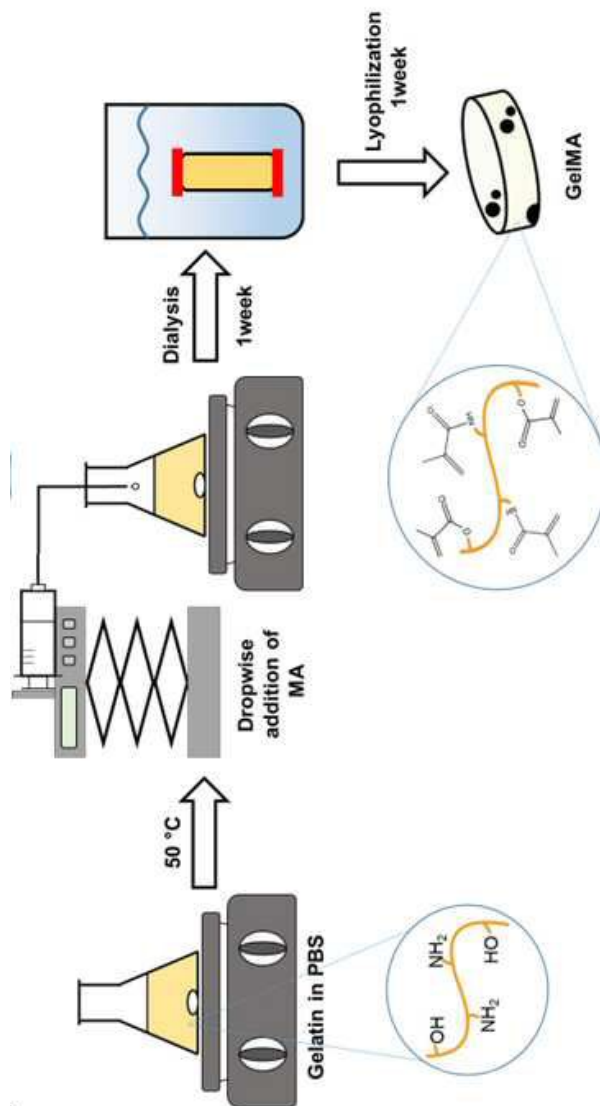
[0137] 간암에 대한 DOX 적재 GSPB의 조절 방출 및 관련 항암 효능을 조사하기 위해, 세 가지 GSPB (G1SPB, G3SPB, G5SPB)와 DC 비드가 선택되었으며, 간세포유래 암세포 (Huh-7)는 5일 동안 DOX를 적재한 GSPB를 함유한 비드와 동량의 과 비드에 각각 노출되었다. 각각의 건조된 GSPB에 2시간 동안 DOX를 적재한 후, 비드들은 세포 배양 매체로 이동되어 1) 주변 매체로의 약물 방출, 그리고 2) DOX 적재 GSPB의 가능한 분해를 조사하기 위해 5일 동안 유지되었다. 이 비드들은 그 후 방출된 약물을 포함한 초자성액에서 분리되었으며, 이들은 적절히 희석되어 24 시간과 72시간 동안 Huh-7에 노출되었다. 평가 결과, 24시간 각 비드에 노출된 암세포의 생존율은 DC 비드 > G5SPB > G1SPB > G3SPB의 순서로 측정되어, 약물방출 평가 결과와 동일한 경향성 (방출량 높을수록 암세포 제거율 높아짐)을 확인하였고, 모든 GSPB들의 암세포 제거능력이 DC 비드보다 높음을 확인하였다.

[0139] 실시예 9: DOX 적재 GelMA-SPMA 비드의 색전술 시뮬레이션

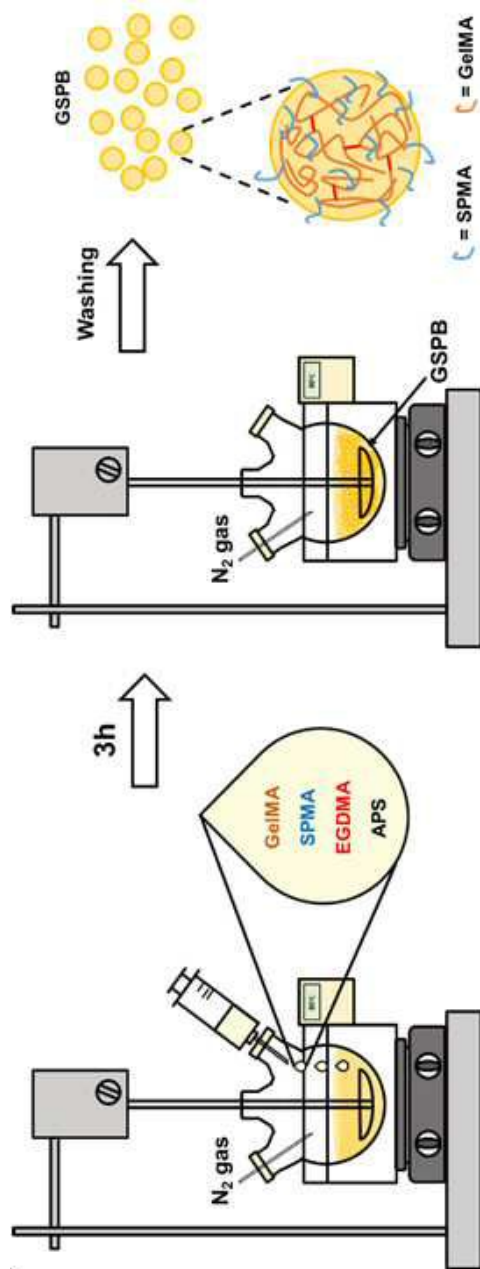
[0140] 제조된 GSPB들은 색전제로 제안되었으므로, GSPB들은 고압과 저압 하의 혈관에서의 GSPB들의 흐름을 모방하기 위해 마이크로 채널을 통과했다. 도 11은 다른 두께의 마이크로 채널들을 보여준다. 고압하의 GSPB의 흐름을 조사하기 위해, 우선 GSPB들을 1.5 mm의 마이크로 채널에 통과시켰다 (도 11의 (a) 및 (b)). 또한, GSPB들의 유연성 때문에, 약 0.5 mm의 마이크로 채널까지 더 작은 마이크로 채널로 통과할 수 있었다. 따라서, GSPB들이 좁은 혈관으로 눌러 넣어질 수 있고, 혈류를 차단할 수 있음을 확인하였으며, 혈류를 차단함으로써 약물은 GSPB들로부터 암 세포로 전달될 수 있었다.

도면

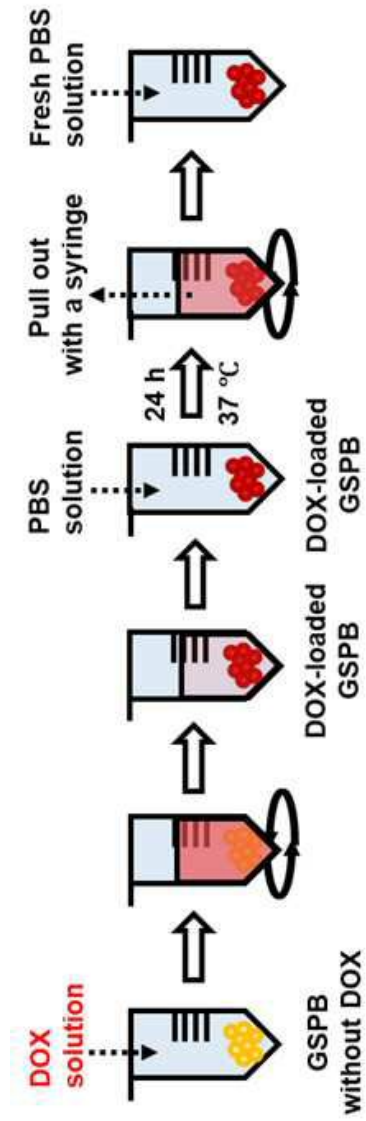
도면1



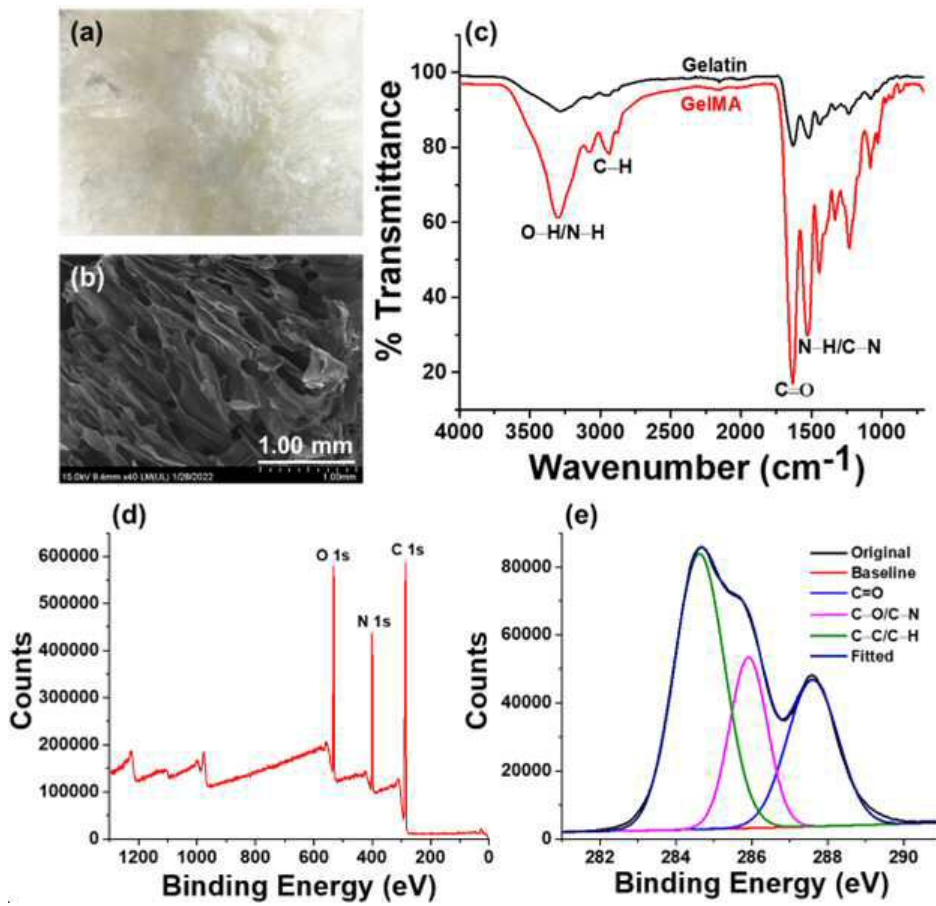
도면2



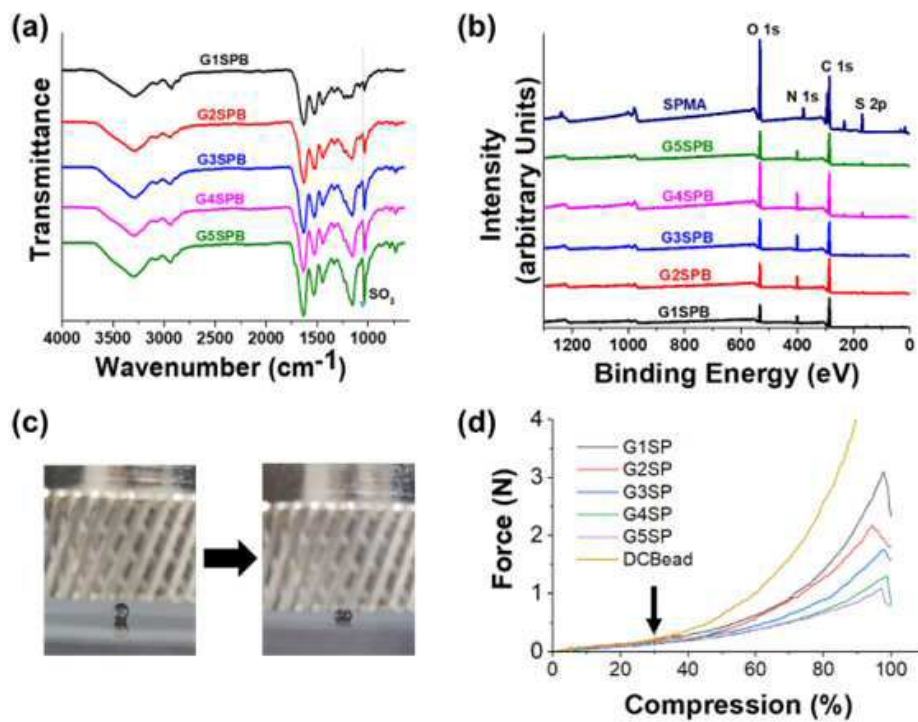
도면3



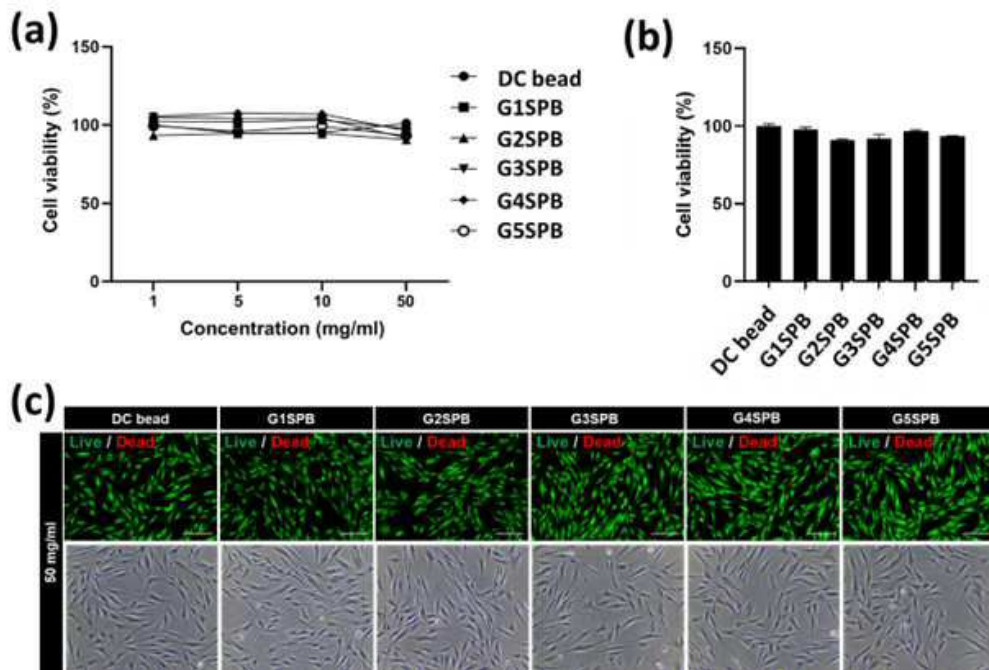
도면4



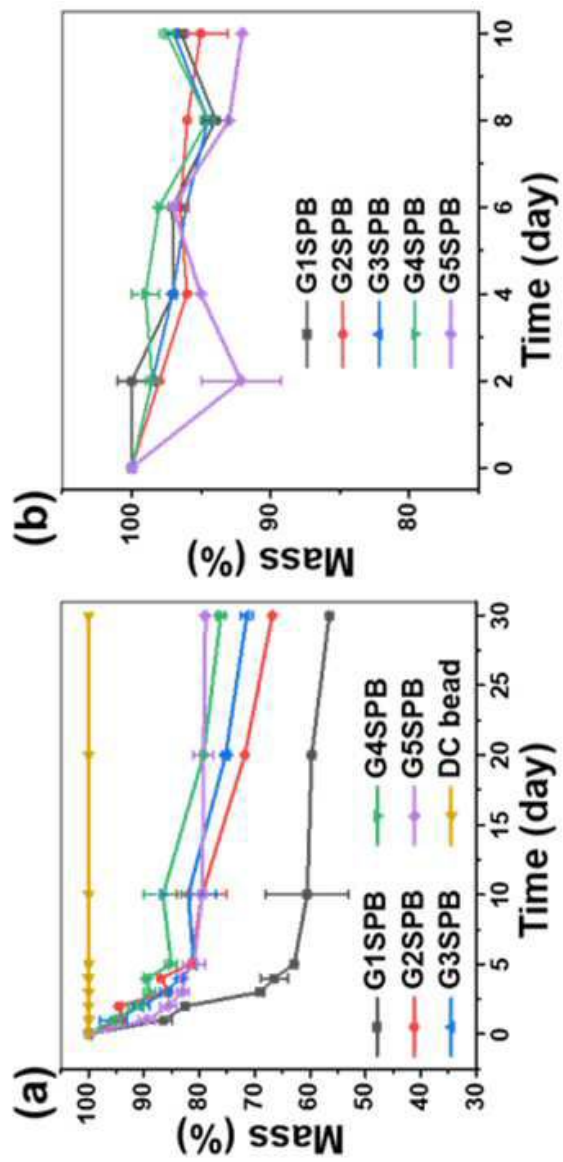
도면5



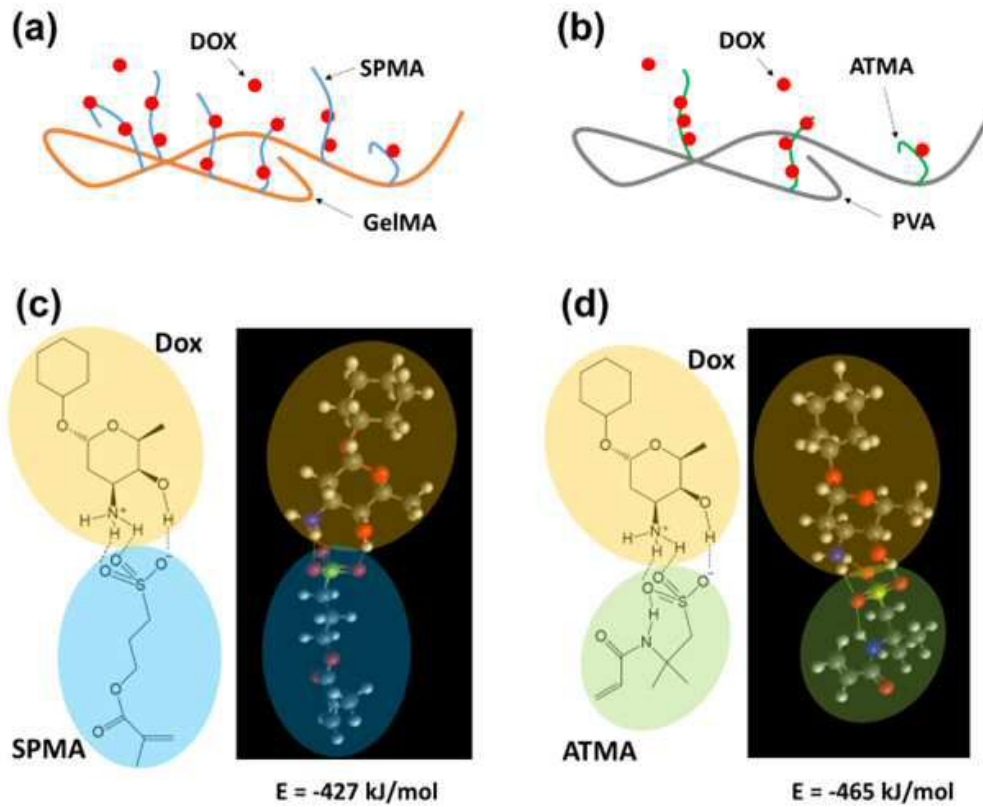
도면6



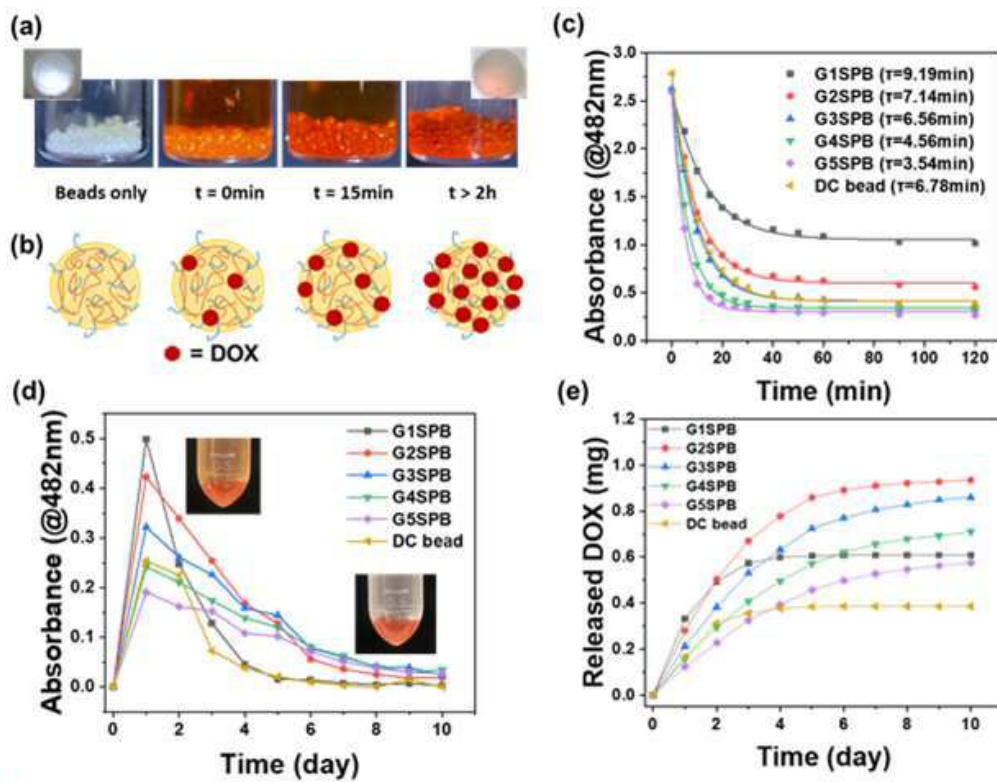
도면7



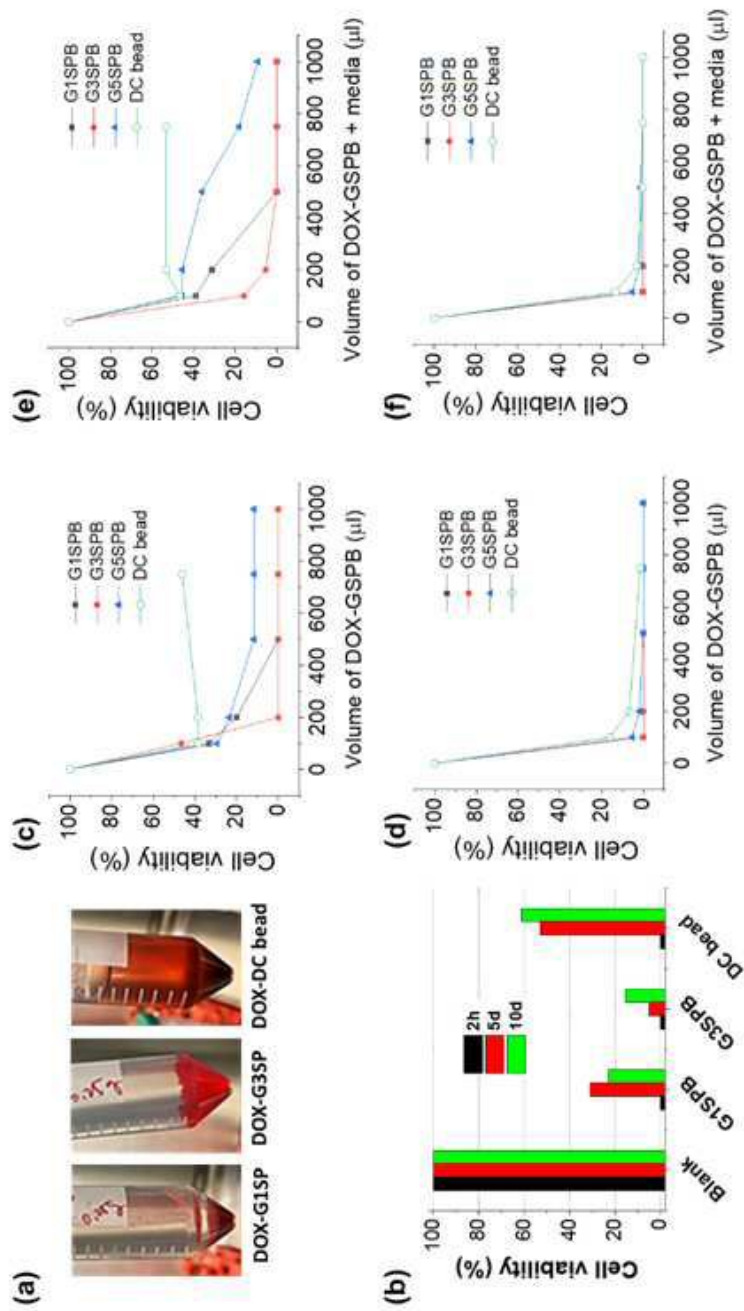
도면8



도면9



도면10



도면11

