(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0075051
(43) 공개일자 2021년06월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/36 (2006.01) *A61K 31/728* (2006.01)
A61K 38/18 (2006.01) *A61K 38/39* (2019.01)
A61K 8/02 (2006.01) *A61K 8/04* (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01) *A61K 9/06* (2006.01)
A61K 9/70 (2006.01) *A61P 17/02* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/363 (2013.01)
A61K 31/728 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0076868(분할)
(22) 출원일자 2021년06월14일
심사청구일자 2021년06월14일
(62) 원출원 특허 10-2019-0113022
원출원일자 2019년09월11일
심사청구일자 2019년09월11일
(30) 우선권주장
1020180108521 2018년09월11일 대한민국(KR)

(71) 출원인
주식회사 슈파인세라퓨틱스
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (스템셀연구동105동220호(울산과학기술원))
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
김정범
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(74) 대리인
특허법인더웨이브

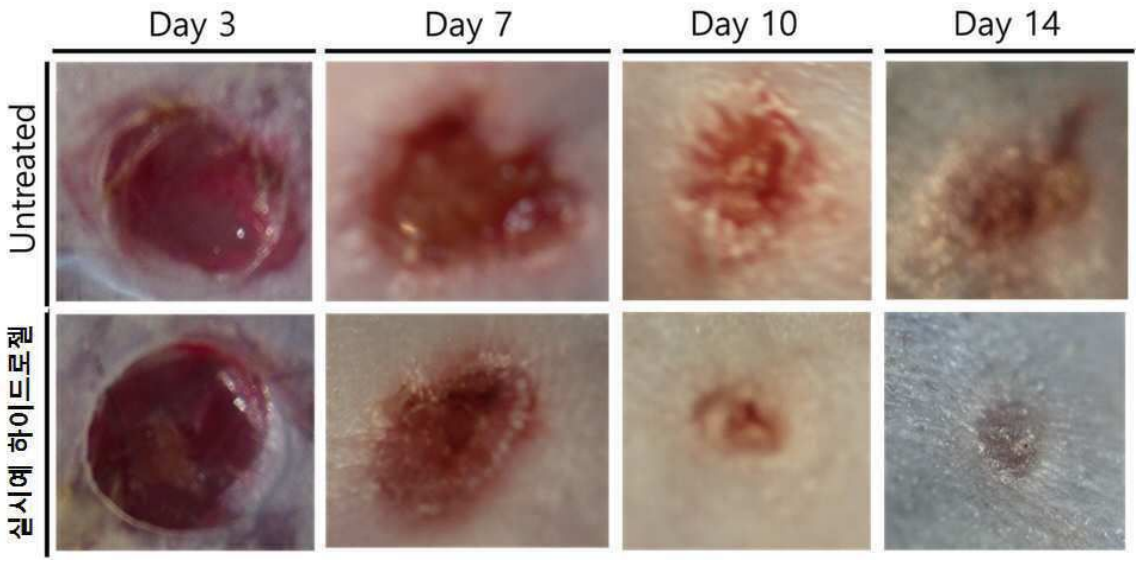
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **하이드로젤 패치를 포함하는 상처 또는 흉터 치료용 조성물**

(57) 요 약

하이드로젤 패치를 포함하는 상처 또는 흉터 치료용 조성물에 관한 것으로, 일 양상에 따른 조성물 또는 하이드로젤에 의하면, 섬유아세포와 케라틴 세포의 상처 부위에의 이동 및 증식을 유도하여 상처의 조기 닫힘을 유도하고, 피부층의 구조 재건을 유도하여 피부 상처 또는 흉터의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 38/18 (2013.01)
A61K 38/39 (2013.01)
A61K 8/0208 (2013.01)
A61K 8/042 (2013.01)
A61K 8/64 (2013.01)
A61K 9/06 (2013.01)
A61K 9/7023 (2013.01)
A61P 17/02 (2018.01)
A61Q 19/00 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

피브린 또는, 피브린 및 피브리노겐;

라미닌; 및

히알루론산 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 피부 상처 또는 흉터의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치인 것인 약학적 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 피브린 또는 피브리노겐을 0.5 내지 25 mg/ml의 농도, 라미닌을 1 내지 100 ㎍/ml의 농도, 또는 히알루론산 10 ㎍/ml 내지 10 mg/ml의 농도로 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 세포 성장인자를 더 포함하는 것인 약학적 조성물

청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 세포 성장인자는 신경세포 성장인자, 혈관내피세포 성장인자, 섬유아세포 성장인자, 골 형성 단백질 (bone morphogenetic protein), 상피세포 성장인자 (epidermal growth factor), 간세포 성장인자, 형질전환 성장인자 또는 그들의 조합인 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

청구항 2에 있어서, 상기 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치는 세포를 포함하지 않는 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

청구항 2에 있어서, 상기 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치는 표면에 다공성을 갖는 것인, 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 2에 있어서, 상기 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치는 온도에 따라 고체, 반고체, 또는 액체 상태로 가역적인 상전이가 일어나는 것인, 약학적 조성물.

청구항 9

청구항 2에 있어서, 상기 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치는 상처 부위에 도포되어 상처 부위의 형태에 맞추어 형태가 변형되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 상기 상처는 만성 상처, 급성 상처, 외과수술 상처, 정형외과 상처, 외상 상처, 전투 상처 또는 그의 조합인 것인 약학적 조성물.

청구항 11

청구항 1에 있어서, 상기 상처는 섬유증, 당뇨병, 당뇨성 궤양, 자가면역성 피부 질환, 찰과상, 열상, 절개, 좌상, 타박상, 천자, 박리, 화상, 궤양, 욕창, 또는 그의 조합에 의한 상처인 것인 약학적 조성물.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 상기 흉터는 과증식성 흉터(hypertrophic scar), 켈로이드 흉터(keloid scar), 위축성 흉터(atrophic scar), 스트레칭 마크(stretch marks) 또는 그의 조합인 것인 약학적 조성물.

청구항 13

피브린 또는, 피브린 및 피브리노겐;

라미닌; 및

히알루론산 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 상처 또는 흉터의 예방 또는 개선을 위한 피부 외용제 조성물.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 상기 조성물은 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치인 것인 피부 외용제 조성물.

청구항 15

피브린 또는, 피브린 및 피브리노겐;

라미닌; 및

히알루론산 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 상처 또는 흉터의 예방 또는 개선을 위한 화장료 조성물.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 상기 조성물은 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치인 것인 화장료 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 하이드로젤 패치를 포함하는 상처 또는 흉터 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 피부는 외부로부터 신체를 보호하는 방어막으로서 역할을 한다. 피부에 상처가 생기면 생체의 자연 치유 작용에 의해 상처자리를 혈액이 채우게 되고 혈소판의 과립감소와 하게만 인자 (hageman factor)의 활성화가 시작되어 상처 치유 과정이 진행된다. 혈액의 응고는 임시 방어 작용으로서, 노출된 상처 조직들을 보호하고 치유 과정 동안 세포들이 이동할 수 있는 기반을 제공한다.

[0003] 상처 치유는 반흔을 최소화시키고, 가능한 초기에 상처가 아물게 하는 것을 목적으로 한다. 상처의 정도에 따라서 상처 치유에 관여하는 기전은 차이가 생기게 되는데, 상피 세포의 증식으로 상처가 아물게 되는 부분 피부 손상과 콜라겐의 합성 및 분해와 대식세포의 복합 작용이 요구되는 진피층 피부 손상으로 나뉘게 된다. 피부 손상이 일어나게 되면 염증 반응 과정을 거쳐 새로운 혈관과 콜라겐이 형성되고, 이후 상처부위가 아물면서 새로운 상피세포의 이동이 일어나 상처가 봉합되는 과정이 일어난다.

[0004] 현재 상처 치유제로서, 표피 성장인자 (epidermal growth factor), 시토킨 (cytokine), 인터루킨 (interluckin), 형질전환 성장인자-β (transforming growth factor-beta) 등과 같은 단백질과 마데카솔 (madecasol; 아시아티코시드; asiaticoside) 등이 사용되어 오고 있으나, 단백질의 경우 값이 매우 비싸고, 또 불안정하여 상처 치유제로 널리 사용되지 못하고 있으며, 마데카솔의 경우 효과가 미약하고, 접촉성 피부염 같은 부작용을 유발하므로, 부작용의 위험이 낮고 치료 효능 및 안전성이 높은 상처 치료제에 대한 요구가 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 일 양상은, 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드 또는 단백질; 및/또는 히알루론산 또

는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 상처 또는 흉터의 예방, 개선 또는 치료를 위한 조성물, 예를 들면, 약학적 조성물, 피부 외용제 조성물, 또는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 또 다른 양상은, 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드 또는 단백질; 및/또는 히알루론산 또는 그의 염을 포함하는 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치를 유효성분으로 포함하는 상처 또는 흉터의 예방, 개선 또는 치료를 위한 조성물, 예를 들면, 약학적 조성물, 피부 외용제 조성물, 또는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 일 양상은, 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드 또는 단백질; 및/또는 히알루론산 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 상처 또는 흉터의 예방, 개선 또는 치료를 위한 조성물, 예를 들면, 약학적 조성물, 피부 외용제 조성물, 또는 화장료 조성물을 제공한다.

[0008] 또 다른 양상은, 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드 또는 단백질; 및/또는 히알루론산 또는 그의 염을 포함하는 하이드로젤 또는 하이드로젤 패치를 유효성분으로 포함하는 상처 또는 흉터의 예방, 개선 또는 치료를 위한 조성물, 예를 들면, 약학적 조성물, 피부 외용제 조성물, 또는 화장료 조성물을 제공한다.

[0009] 또 다른 양상은 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 상처 또는 흉터의 예방, 개선 또는 치료 방법을 제공한다.

[0010] 또 다른 양상은 상기 하이드로젤, 하이드로젤 패치 또는 조성물을 질병의 치료제의 제조에 사용하기 위한 용도를 제공한다.

[0011] 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드 또는 단백질; 및/또는 히알루론산 또는 그의 염을 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드 또는 단백질; 및 히알루론산 또는 그의 염을 포함할 수 있다.

[0012] 본 명세서에서 용어 "치료 (treat)"는 자연 치유에 비하여 단축된 시간에 상처가 치유되는 것을 의미할 수 있다. 상기 치료는 상처 또는 흉터의 개선 및/또는 완화를 포함할 수 있다. 또한, 상기 치료는 상처 및/또는 상처와 관련된 질환의 치료를 모두 포함하는 것일 수 있다. 상기 치료는 상처로부터 유발되는 손상된 조직의 치유 및/또는 재생을 의미할 수 있다. 상기 상처 치료는 피부 재생의 의미를 포함할 수 있다. 또한, 상기 치료는 상기 손상된 조직의 원래 조성을 유지하는 것일 수 있다. 또한, 상기 치료는 상처와 관련된 질환의 합병증 및/또는 흉터를 최소화하면서 상기 손상된 조직을 치유 및/또는 재생을 촉진하는 것일 수 있다.

[0013] 본 명세서에서 용어 "약제학적 유효량"은 질환, 장애 또는 병태, 또는 그의 하나 이상의 증상의 경감, 진행 억제 또는 예방에 충분한 본원에서 제공되는 발명을 실시하는 과정에서 이용되는 조성물의 임의의 양을 의미할 수 있다.

[0014] 용어, "투여하는," "도포하는", "도입하는" 및 "이식하는"은 상호교환적으로 사용되고 일 구체예에 따른 패치 또는 조성물의 원하는 부위로의 적어도 부분적 국소화를 초래하는 방법 또는 경로에 의한 개체내로의 일 구체예에 따른 패치 또는 조성물의 배치를 의미할 수 있다.

[0015] 본 명세서에서, 용어 "패치 (patch)"는 일정 형상을 갖고, 목적 부위에 도포, 부착, 또는 접촉될 수 있는 수단을 의미할 수 있다.

[0016] 일 구체예에 있어서, 하이드로젤 패치 또는 조성물은 고체와 액체의 중간 성질을 갖는 것일 수 있다. 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은, 무정형, 구형, 반구형, 원반형, 또는 원기둥형일 수 있다. 또한, 예를 들면, 상기 하이드로젤 패치의 직경은 0.05 ㎜ 내지 10 ㎝, 0.1 ㎜ 내지 5 ㎝, 0.1 ㎜ 내지 3 ㎝, 또는 0.2 ㎜ 내지 1.5 ㎝ 일 수 있고, 그러한 크기 또는 형태로 제공될 수 있다. 또한, 상기 하이드로젤 패치는 목적 부위(예를 들면, 조직 손상 부위)에 도포, 이식, 부착, 또는 접촉되어 손상 부위의 형태에 맞추어 형태가 변형되는 것일 수 있다.

[0017] 또 다른 구체예에 있어서, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 고체(파우더 포함), 반고체, 또는 액체일 수 있다. 또한, 예를 들면, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 고체(파우더 포함), 반고체, 또는 액체 상태로 가역적인 상전이(예를 들면, 온도 변화에 따라)가 일어날 수 있다. 상기 하이드로젤 패치는 온도 조건 등 주변 상황에 따라 가역적인 상전이가 일어날 수 있으므로, 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치는 고체(파우더 포함), 또는

액체 상태로 생산, 제공된 후, 목적 부위에 투여 전, 투여 시, 또는 투여 후에 하이드로젤 패치로 전환되어 사용될 수 있다. 예를 들면, 상기 하이드로젤 패치는 피브리노겐, 라미닌, 및 히알루론산을 포함하는 졸 (sol) 상태로 제공되어, 사용자가 피브리노겐을 피브린으로 전환시킨 수 있는 물질(예를 들면, 트롬빈)을 사용함으로써, 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치를 제작하여 사용할 수 있다. 따라서, 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치는 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌; 및/또는 히알루론산을 포함하는 조성물, 예를 들면, 고체(파우더), 액체(졸), 또는 반고체 조성물의 전구 약물의 형태로 제공될 수 있다. 전구 약물의 형태로 제공된 조성물은 생체 내에서 하이드로젤 패치로 제조, 또는 변형되어 작용할 수 있다. 또한, 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치는 트롬빈을 더 포함하거나, 트롬빈이 키트로서 함께 제공될 수 있다.

[0018] 또 다른 구체예에 있어서, 하이드로젤 패치 또는 조성물은 다공성일 수 있다. 상세하게는 하이드로젤 패치의 표면에 다공성(미세공)을 갖는 것일 수 있다. 특정 이론에 제한됨이 없이, 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치는 다공성을 가짐으로 인해, 활성 물질간의 상호작용을 증진시킬 수 있다.

[0019] 일 구체예에 있어서, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 피브린 및/또는 피브리노겐을 포함할 수 있다. 생체 내에서 작용하는 최종 약리학적 물질에는 피브린을 포함하나, 전구 약물의 형태로서 피브리노겐을 피브린 대신 사용할 수 있다. 또한, 피브린을 피브리노겐으로 전환시키는 물질의 양에 따라, 일 구체예에 따른 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물에는 피브리노겐 또는 트롬빈이 일부 포함될 수 있다. 따라서, 본 명세서는 피브리노겐; 라미닌; 및/또는 히알루론산을 포함하는 전구 약물을 추가적으로 제공할 수 있다. 상기 피브린 또는 피브리노겐은 0.5 내지 25 mg/ml, 1 내지 25 mg/ml, 1 내지 20 mg/ml, 1 내지 15 mg/ml, 0.5 내지 8 mg/ml, 2 내지 8 mg/ml, 3 내지 12 mg/ml, 4 내지 12 mg/ml, 8 내지 12 mg/ml 또는 1 내지 4 mg/ml의 농도로 포함될 수 있다.

[0020] 상기 피브리노겐 (Fibrinogen) 당단백질은 간의 간세포에서 만들어지는 용해성의 α, β, 및 γ 서브유닛으로 이루어진 헥사머 (hexamer)이다. 피브리노겐은 트롬빈 (Thrombin) 효소와 반응하여 용해성에서 불용해성의 피브린 (fibrin) 폴리머 (polymer) 섬유질 (fiber)로 상전이하게 된다.

[0021] 상기 트롬빈 (Thrombin) 효소는 세린 단백질 가수분해효소 (Serine protease)이며 용해성 피브리노겐을 불용해성 피브린으로 형질변화 시켜주는 효소이다. 상기 트롬빈은 피브리노겐을 피브린으로 변화시켜서, 졸 상태의 하이드로젤을 젤화시키는 역할을 할 수 있다.

[0022] 본 명세서에서 용어 "라미닌 (laminin)"은 기저판 (Basal lamina)을 구성하는 세포외기질 단백질로 α, β, 및 γ 서브유닛으로 이루어진 헤테로트라이메릭 (Heterotrimeric) 단백질을 의미할 수 있다. 따라서, 상기 라미닌은 라미닌 전장 단백질 뿐만 아니라 라미닌 유래 펩타이드 또는 단백질을 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 라미닌은 라미닌-1, 라미닌-2, 라미닌-3, 라미닌-4, 라미닌-5A, 라미닌-5B, 라미닌-6, 라미닌-7, 라미닌-8, 라미닌-9, 라미닌-10, 라미닌-11, 라미닌-12, 라미닌-14, 또는 라미닌-15일 수 있다. 또한, 상기 라미닌 유래 펩타이드는 α 사슬, γ 사슬, 또는 β 사슬일 수 있다. 상기 라미닌은 1 내지 100 μg/ml, 2 내지 80 μg/ml, 2 내지 40 μg/ml, 5 내지 40 μg/ml, 15 내지 25 μg/ml, 8 내지 25 μg/ml, 15 내지 35 μg/ml, 8 내지 30 μg/ml, 또는 8 내지 40 μg/ml의 농도로 포함될 수 있다.

[0023] 상기 히알루론산 (Hyaluronic acid) 글라이코스아미노글리칸 (glycosaminoglycan)은 D-glucuronic acid와 N-acetyl-D-glucosamine가 β-(1→4)와 β-(1→3)의 변화를 가지는 배당 결합 (glycosidic bonds)으로 이루어지는 이당 결합의 다당류이며 이당 결합의 길이에 따라 다양한 분자량을 가지고 있다. 일 구체예에 있어서, 히알루론산의 분자량은 5,000 내지 20,000,000 Da 일 수 있다. 더욱 상세하게는, 히알루론산의 분자량은, 0.5 내지 4.0 x 10^6 Da, 1.0 내지 2.0 x 10^6 Da, 또는 1.5 내지 1.8 x 10^6 Da 일 수 있다. 상기 히알루론산은 10 μg/ml 내지 10 mg/ml, 10 μg/ml 내지 5 mg/ml, 100 μg/ml 내지 3 mg/ml, 500 μg/ml 내지 5 mg/ml, 500 μg/ml 내지 8 mg/ml, 500 μg/ml 내지 4 mg/ml, 500 μg/ml 내지 2mg/ml, 200 μg/ml 내지 2 mg/ml, 1 mg/ml 내지 8 mg/ml, 또는 1 mg/ml 내지 5 mg/ml의 농도로 포함될 수 있다.

[0024] 다른 구체예에 있어서, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 세포 성장인자를 더 포함할 수 있다. 상기 세포 성장인자는 신경세포 성장인자, 혈관내피세포 성장인자, 섬유아세포 성장인자, 골 형성 단백질 (bone morphogenetic protein), 상피세포 성장인자 (epidermal growth factor), 간세포 성장인자, 형질전환 성장인자 또는 그들의 조합일 수 있다. 더욱 상세하게는 상기 성장인자는 태반 성장 인자, 대식세포 콜로니 자극 인자, 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자, 뉴로필린, 섬유아세포 성장인자(FGF)-1, FGF-2 (bFGF), FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, 에리쓰로포이에틴, BMP-2, BMP-4, BMP-7, TGF-베타, IGF-1, 오스테오폰틴, 플레이오트로핀, 액티빈, 엔도쎌린-1 및 그의 조합을 포함할 수 있다. 상기 신경세포 성장인자는 BDNF (Brain-derived neurotropic factor), GDNF (Glial cell derived neurotropic factor), CNTF (Ciliary neurotropic factor),

bFGF (basic fibroblast growth factor), cAMP (cyclic adenocyne monophosphate), NT (Neurotropin), NT3 (Neurotropin-3), NT4(Neurotropin-4), T3 (Triiodo-L-Thyronine), SHH (Sonic hedgehog), 및 PDGF (Platelet-derived growth factor)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것일 수 있다. 상기 혈관 내피세포 성장인자는 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)-A, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, 또는 VEGF-E를 포함할 수 있다. 상기 세포 성장인자는 성장인자의 종류에 따라 하이드로젤 패치 또는 조성물에 포함되는 농도가 상이할 수 있으나, 일반적으로 1 ng/ml 내지 1,000 ng/ml 또는 0.1 μM 내지 100 μM 의 농도로 포함될 수 있다. 상기 세포 성장인자는 피브린, 라미닌, 및 히알루론산을 포함하는 하이드로젤 패치, 또는 조성물의 조직 손상 회복 효과를 상승시키는 역할을 할 수 있다.

[0025] 다른 구체예에 있어서, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 콜라겐을 포함하거나 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 특정 이론에 제한됨이 없이, 상기 콜라겐은 조성물의 구성 성분으로 포함되거나 실질적으로 포함되지 않을 수 있으나, 포함되지 않는 것이 포함되는 것보다 일 측면에 따라서는 더 유리한 경우가 있을 수 있다.

[0026] 또한, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 세포를 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 본 명세서에서 "실질적으로 포함하지 않다 (substantially does not comprise)"는 콜라겐 또는 세포가 하이드로젤 패치 또는 조성물의 활성, 또는 약리적 활성에 영향을 미치지 않을 정도로 포함되거나 전혀 포함되지 않는 것을 의미한다. 일 구체예에 따른 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 세포를 실질적으로 포함하지 않음으로써, 일반적으로 손상된 조직의 재생에 사용되는 세포치료제와는 구분된 것일 수 있다.

[0027] 일 구체예에 있어서, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드; 및 히알루론산 또는 그의 염으로 구성된 것일 수 있다. 또한 이외에도, 본 명세서에서 언급된 성분 중 1 종 이상이 추가적으로 포함되어 구성될 수 있다. 예를 들면, 상기 하이드로젤 패치 또는 조성물은 피브린 및/또는 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩티드; 히알루론산 또는 그의 염; 선택적으로 트롬빈; 선택적으로 콜라겐; 및 선택적으로 세포 성장인자로 구성된 것일 수 있다.

[0028] 용어 "상처 (wound)"는 조직이 잘려지거나 (cut), 찢어지거나 (torn), 부서지거나 (broken), 타거나 (burned), 또는 외상을 입거나 (traumatized), 또는 이러한 손상을 유발하는 장애 또는 질환으로부터 발생된 인체에 대한 손상 (injury)을 의미한다. 상기 상처는 표면이 개방된 상처 (open wound), 또는 표면이 개방되지 않은 폐쇄된 상처 (closed wound)일 수 있다.

[0029] 상기 상처의 일 예는 피부의 표피 (epidermis); 진피 (dermis); 표피 및 진피; 또는 표피, 진피 및 피하지방층이 손상된 상처일 수 있다.

[0030] 또한, 상기 상처의 예는 베임 (cut), 절개 (incisions) (예, 수술적 절개), 찰과상 (abrasions), 열상 또는 찢김 (lacerations), 골절 (fracture), 타박상 (contusions), 화상 (burns), 또는 절단 (amputations)을 포함할 수 있다.

[0031] 상기 상처는 만성 상처, 급성 상처, 외과수술 상처, 정형외과 상처, 외상 상처, 전투 상처 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있다.

[0032] 또한 상기 상처는 다른 질병에 의해 발생한 상처일 수 있다. 예를 들면, 상기 상처는 섬유증, 당뇨병, 당뇨성 궤양, 자가면역성 피부 질환, 찰과상, 열상, 절개, 좌상, 타박상, 천자, 박리, 화상, 궤양, 욕창, 또는 그의 조합에 의한 상처인 것일 수 있다.

[0033] 상기 당뇨병은 I형 또는 II형 당뇨병일 수 있다. 당뇨병 또는 그의 합병증, 예를 들면, 당뇨성 궤양을 갖는 환자에서는 다양한 원인에 의해 상처 치료의 지연이 발생하게 된다고 알려져 있다(Falanga V: Wound healing and its impairment in the diabetic foot. Lancet 366:1736-43, 2005). 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치 또는 조성물은 상피 세포의 이동능을 촉진하며, 섬유아세포와 케라틴 세포의 창상 부위에의 이동 및 증식을 유도하여 창상의 조기 닫힘을 유도하거나, 피부의 층의 구조 재건을 유도하여 당뇨병 상처, 또는 당뇨성 궤양(당뇨성 피부 궤양 또는 당뇨성 족부 궤양)에 대해서도 효과적으로 사용할 수 있다.

[0034] 본 명세서에서, "흉터 (scar)"는 상해 또는 질환에 의해 파괴된 정상 조직을 대체하는 섬유 조직을 의미할 수 있다. 피부 외층의 손상은 조직을 재구축함으로써 치유되며, 이러한 경우, 흉터 형성은 미미할 수 있다. 그러나, 피부 아래의 조직의 두꺼운 층이 손상되는 경우, 재구축은 더욱 복잡해진다. 신체는 콜라겐 섬유(신체에 의해 자연적으로 생성되는 단백질)를 축적하고, 이는 일반적으로 뚜렷한 흉터를 발생시킨다.

[0035] 상기 흉터는 과증식성 흉터 (hypertrophic scar), 켈로이드 흉터 (keloid scar), 위축성 흉터 (atrophic

scar), 스트레칭 마크 (stretch marks) 또는 이들의 조합인 것일 수 있다.

[0036] 과증식성 흉터는 원래 병변의 경계 내에 남아있는 융기 흉터이며, 일반적으로 초기 상해 후 자연스럽게 퇴화될 수 있다. 과증식성 흉터는 단단하며, 융기되어 있고, 적색이며, 가려우며 압통이 있으며 수축된다. 이들은 전형적으로 몸통 및 팔다리 화상 상해 후 발생한다. 임상적으로 및 조직학적으로, 과증식성 흉터 및 켈로이드 흉터는 매우 유사하나, 켈로이드와 달리, 과증식성 흉터는 흉터 경계부를 밀어서 확대되는 반면, 켈로이드는 주위 조직을 침윤한다. 과증식성 흉터는 시간에 걸쳐 성숙해지고 편평해진다. 과증식성 흉터는 켈로이드로서 콜라겐의 동일한 윤체형 유리질 다발을 나타내며, 일반적인 흉터보다 더 많은 맥관 및 세포를 지닌다.

[0037] 켈로이드 흉터는 피부 외상 후 발생하는 진피의 양성 섬유 증식물이다. 이것은 피부 표면 위로 돌출되며 원래 환부의 경계를 넘어 확장된다. 이들 흉터는 영구적이며, 시간에 따라 퇴보되지 않는다. 켈로이드는 종종 미용적으로 흉하며 통증을 수반할 수 있다.

[0038] 위축성 흉터는 편평하며 주위 피부 아래로 눌려진다. 이것은 일반적으로 작으며 종종 톱니형 또는 역 중심(inverted center)을 갖는 둥근형이다. 위축성 흉터형성은 수술, 외상, 여드름 및 수두로서의 결과일 수 있다.

[0039] 스트레칭 마크는 외과적 흉터의 미세 선이 점차적으로 스트레칭되고 넓어지게 되는 경우, 이는 일반적으로 수술 후 3주 내에 발생한다. 이것은 전형적으로, 무릎 또는 어깨 수술 후 종종 보이는 편평하고 희미하고 부드러운 무증상 흉터이다.

[0040] 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치 또는 조성물은 피부를 구성하고 있는 세포인 섬유아세포와 케라틴 세포의 창상 부위에의 이동 및 증식을 유도하여 창상의 조기 닫힘을 유도하는 것일 수 있다. 또한, 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치 또는 조성물은 피부층의 구조 재건을 유도하여 흉터 생성을 저해하는 것일 수 있다. 또한, 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치 또는 조성물은 상처로 상실된 혈관 및 모낭의 재생을 유도하여 조기에 피부의 본래 구조로의 재생을 유도하는 것일 수 있다.

[0041] 따라서, 상기 조성물은 상기의 효과를 가짐으로써, 상처의 치료, 흉터의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0042] 일 구체예 따른 상기 조성물의 투여 용량은 0.01 mg 내지 10,000 mg, 0.1 mg 내지 1000 mg, 1 mg 내지 100 mg, 0.01 mg 내지 1000 mg, 0.01 mg 내지 100 mg, 0.01 mg 내지 10 mg, 또는 0.01 mg 내지 1 mg일 수 있다. 다만, 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성별, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있고, 당업자라면 이러한 요인들을 고려하여 투여량을 적절히 조절할 수 있다. 투여 횟수는 1회 또는 임상적으로 용인가능한 부작용의 범위 내에서 2회 이상이 가능하고, 투여 부위에 대해서도 1개소 또는 2개소 이상에 투여할 수 있다. 인간 이외의 동물에 대해서도, kg당 인간과 동일한 투여량으로 하거나, 또는 예를 들면 목적의 동물과 인간과의 기관(심장 등)의 용적비(예를 들면, 평균값) 등으로 상기의 투여량을 환산한 양을 투여할 수 있다. 가능한 투여 경로에는 경구, 설하, 비경구(예를 들어, 피하, 근육내, 동맥내, 복강내, 경막내, 또는 정맥내), 직장, 국소(경피 포함), 흡입, 및 주사, 또는 이식성 장치 또는 물질의 삽입을 포함할 수 있다. 일 구체예에 따른 치료의 대상 동물로서는, 인간 및 그 밖의 목적으로 하는 포유동물을 예로 들 수 있고, 구체적으로는 인간, 원숭이, 마우스, 래트, 토끼, 양, 소, 개, 말, 돼지 등이 포함된다.

[0043] 일 구체예에 따른 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체 및/또는 첨가물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 멸균수, 생리식염수, 관용의 완충제(인산, 구연산, 그 밖의 유기산 등), 안정제, 염, 산화방지제(아스코르브산 등), 계면활성제, 현탁제, 등장화제, 또는 보존제 등을 포함할 수 있다. 국소 투여를 위해, 생체고분자(biopolymer) 등의 유기물, 하이드록시아파타이트 등의 무기물, 구체적으로는 콜라겐 매트릭스, 폴리락트산 중합체 또는 공중합체, 폴리에틸렌글리콜 중합체 또는 공중합체 및 그의 화학적 유도체 등과 조합시키는 것도 포함할 수 있다.

[0044] 일 구체예에 따른 약학적 조성물은 그 투여 방법이나 제형에 따라 필요한 경우, 현탁제, 용해 보조제, 안정화제, 등장화제, 보존제, 흡착 방지제, 계면활성화제, 희석제, 부형제, pH 조정제, 무통화제, 완충제, 환원제, 산화 방지제 등을 적절히 포함할 수 있다. 상기에 예시된 것들을 비롯하여 본 발명에 적합한 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., 1995]에 상세히 기재되어 있다. 일 구체예에 따른 약학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질 중의 용

액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 분말, 과립, 정제 또는 캡슐 형태일 수 있다.

[0045] 상기 조성물은 경구 또는 비경구 투여 제형으로 제형화될 수 있다. 경구 투여 제형은 과립제, 산제, 액제, 정제, 캅셀제, 건조 시럽제, 또는 그 조합일 수 있다. 비경구 투여 제형은 주사제, 또는 피부 외용제일 수 있다.

[0046] 피부 외용제는 크림, 겔, 연고, 피부 유화제, 피부 현탁액, 경피 전달성 패치, 약물 함유 붕대, 로션, 또는 그 조합일 수 있다. 상기 피부 외용제는 통상 화장품이나 의약품, 의약외품 등의 피부 외용제에 사용되는 성분, 예를 들면 수성 성분, 유성 성분, 분말 성분, 알코올류, 보습제, 증점제, 자외선 흡수제, 미백제, 방부제, 산화방지제, 계면활성제, 향료, 색제, 각종 피부 영양제, 또는 이들의 조합과 필요에 따라서 적절하게 배합될 수 있다. 상기 피부 외용제는, 에데트산이나트륨, 에데트산삼나트륨, 시트르산나트륨, 폴리인산나트륨, 메타인산나트륨, 글루콘산 등의 금속봉쇄제, 카페인, 탄닌, 벨라파밀, 감초추출물, 글라블리딘, 칼린의 과실의 열수 추출물, 각종 생약, 아세트산토코페롤, 글리틸리틴산, 트라넥삼산 및 그 유도체 또는 그 염등의 약제, 비타민 C, 아스코르브산인산마그네슘, 아스코르브산글루코시드, 알부틴, 코지산, 글루코스, 프룩토스, 트레할로스 등의 당류등도 적절하게 배합할 수 있다.

[0047] 또한, 상기 조성물은 의약외품 조성물일 수 있다. 용어 "의약외품"은 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것, 감염 예방을 위하여 살균, 살충 및 이와 유사한 용도로 사용되는 제제 중 하나에 해당하는 물품으로서, 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것 및 사람이나 동물의 구조와 기능에 약리학적 영향을 줄 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것을 제외한 물품을 의미하며, 피부 외용제 및 개인 위생 용품도 포함할 수 있다. 상기 하이드로젤, 하이드로젤 패치 또는 조성물을 상처 또는 흉터의 예방 또는 개선을 목적으로 의약외품 조성물에 첨가할 경우, 상기 하이드로젤, 하이드로젤 패치 또는 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 상기 의약외품 조성물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 개인 위생 용품, 피부 외용제, 소독 청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가습기 충진제, 마스크, 연고제 또는 필터 충진제을 포함한다. 상기 피부 외용제는 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 연고제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 크림제, 산제, 현탁제, 겔제 또는 젤의 형태로 제조되어 사용될 수 있다. 상기 개인 위생 용품은 비누, 물티슈, 휴지, 샴푸, 치약, 모발 손질 제품, 에어프레쉬너 겔 또는 세정 겔일 수 있다.

[0048] 상기 조성물은 상처, 또는 흉터를 개선 또는 완화하기 위한 화장료 조성물일 수 있다. 본 발명의 조성물이 화장료 조성물인 경우 다양한 형태로 제조될 수 있는데, 예컨대, 에멀젼, 로션, 크림(수중유적형, 유중수적형, 다중상), 용액, 현탁액(무수 및 수계), 무수 생성물(오일 및 글리콜계), 젤, 마스크, 팩, 분말 등의 제형으로 제조될 수 있다. 또한, 본 명세서의 화장료 조성물은 화장품 제제에 있어서 수용가능한 담체를 포함할 수 있다. 여기서, "화장품 제제에 있어서 수용가능한 담체"란 화장품 제제에 포함될 수 있는 이미 공지되어 사용되고 있는 화합물 또는 조성물이거나 앞으로 개발될 화합물 또는 조성물로서 피부와의 접촉시 인체가 적응 가능한 이상의 독성, 불안정성 또는 자극성이 없는 것을 말한다. 상기 담체는 본 명세서의 화장료 조성물에 그것의 전체 중량에 대하여 약 1 중량% 내지 약 99.99 중량%, 바람직하게는 조성물의 중량의 약 90 중량% 내지 약 99.99 중량%로 포함될 수 있다. 상기 담체로서는 알코올, 오일, 계면활성제, 지방산, 실리콘 오일, 습윤제, 보습제, 점성 변형제, 유제, 안정제, 자외선 차단제, 발색제, 향료 등이 예시될 수 있다.

[0049] 또 다른 양상은 피브리노겐; 라미닌 또는 라미닌 유래 펩타이드; 및 히알루론산 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 졸 (Sol) 상태의 조성물에 대하여 트롬빈을 첨가하여 하이드로젤 패치를 제조하는 방법을 제공한다.

[0050] 상기 방법은 또한, 상기 졸 상태의 조성물에 세포 성장인자를 배합하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0051] 상기 방법은 또한, 트롬빈을 첨가하여 젤화시킨 후, 다시 트롬빈을 첨가하여 2차 젤화시키는 단계를 포함할 수 있다. 상기 젤화는 10 내지 40℃에서 5분 내지 3시간 동안 수행될 수 있다. 상기 하이드로젤 패치는 틀의 모양에 따라서 다양한 형태 또는 크기로 제작할 수 있다.

[0052] 상기 방법은 또한, 하이드로젤 패치를 용액 내에서 4 내지 -210℃로 저온보존 또는 동결 보존하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 용액은 DMSO (Dimethyl sulfoxide)를 포함할 수 있으나, 하이드로젤 패치의 화학적 또는 물리

적 성질을 실질적으로 변화시키지 않는 것이라면 어떠한 것이든 사용될 수 있다. 상기 하이드로젤 패치는 저온 보존 또는 동결 보존되어도 그 형태 또는 활성이 실질적으로 변하지 않는다.

[0053] 상기 하이드로젤 패치, 피브린 및/또는 피브리노겐, 라미닌, 히알루론산 또는 세포 성장인자에 대해서는 상기한 바와 같다.

[0054] 또 다른 양상은 상기 하이드로젤 패치를 용액(예를 들면, DMSO)에서 4 내지 -210℃에서 저온 보전 또는 동결 보존하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0055] 일 양상에 따른 조성물 또는 하이드로젤에 의하면, 섬유아세포와 케라틴 세포의 상처 부위에의 이동 및 증식을 유도하여 상처의 조기 닫힘을 유도하고, 피부층의 구조 재건을 유도하여 피부 상처 또는 흉터의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0056] 도 1은 일 구체예에 따른 하이드로젤의 조성물(피브린, 히알루론산, 및 라미닌)과 이를 처리하지 않은 그룹(none)의 시험관 내 (in vitro) 인간 섬유아세포의 상처 수복 (wound closure)에 대한 영향을 광학현미경을 사용하여 확인한 도면이다;스케일 바는 각 500㎛를 나타낸다.

도 2는 일 구체예에 따른 하이드로젤, 그의 각 구성 성분 단독과, 두개 성분의 조합에 따른 시험관내 (in vitro) 인간 섬유아세포의 상처 수복에 대한 영향을 정량화 하여 나타낸 그래프이다; * $p<0.05$, ** $p<0.005$.

도 3은 일 구체예에 따른 하이드로젤의 상처 및 흉터 치료 효과를 나타낸 사진이다.

도 4는 일 구체예에 따른 하이드로젤의 도포에 따른 상처의 회복율을 나타낸 그래프이다.

도 5a는 일 구체예에 따른 하이드로젤의 피부 구조 재생 효과를 나타낸 사진이다; 전체 부위; n = normal skin, w = wound area.

도 5b는 일 구체예에 따른 하이드로젤의 피부 구조 재생 효과를 나타낸 사진이다; 모낭 부위 확대; Arrow = hair follicles.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0057] 이하, 본 발명을 참고예 및 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단 하기 참고예 및 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 아니 된다.

[0058] **<실시예> 하이드로젤 제작**

[0059] **1-1. 하이드로젤 배합**

[0060] 피브리노겐 (Sigma, F8630)을 20 mg/ml으로 PBS에 졸상태로 용해 하였고, 히알루론산 (Sigma, 53747)을 5 mg/ml으로 PBS에 졸상태로 용해 하였으며, 트롬빈 200 U/ml을 PBS에 졸 상태로 용해하였다. 이후에 졸 상태의 피브리노겐, 라미닌 (Thermofisher, 23017-015), 히알루론산을 각각 5 mg/ml, 20 ㎍/ml, 1 mg/ml으로 배합하여 졸 상태의 하이드로 젤을 제작하였다.

[0061] **1-2. 하이드로젤 패치의 제작**

[0062] 멸균된 파라필름에 원형으로 0.3 에서 0.8 mm의 원틀을 찍어내고 졸 상태의 6.7 U/ml의 트롬빈 (Sigma, T4648)을 분주한 후 실시예 1-1에서 배합한 하이드로젤 15 ㎕를 트롬빈과 섞어 원틀에 맞추어 분주하였다. 이후에, 30분간 37℃에서 경화하여 졸-젤 상전이를 통하여 하이드로젤 패치를 제작하였다.

[0063] **<실험예 1> 시험관 내 상처 치료 개선 효과 확인**

[0064] 상기 실시예에서 제조한 하이드로젤 패치의 시험관 내 상처 치료 효과를 확인하기 위해 일 구체예에 따른 하이드로젤이 비교예 물질 대비 인감 섬유아세포의 증식 및 이동에 미치는 영향을 확인하였다.

[0065] 구체적으로, 0.1% 젤라틴 (sigma, G1890) 코팅된 12 웰 배양 디쉬 (corning, 07-200-82)에서 100% 컨플루언시 (confluency)까지 인간 섬유아세포 (CRL-2097, ATCC) 5.0 x 10^4 개를 배양하였다. 이후에, 공지된 방법 (Guan J

et al. Nat Protoc, 2007)으로 시험관내 상처 분석 기법 (in vitro scratch assay)에 따라 200 μl filter tip으로 상기 인간 섬유아세포에 동일한 상처를 만들었다. 다음으로 상기 실시예와 같은 방법으로 제작한 하이드로젤(피브린 5mg/ml, 라미닌 20 μg/ml 및 히알루론산 1mg/ml)을 도포하고 트롬빈을 첨가하여 하이드로젤이 되도록 하였다.

[0066] 또한, 이외에도 피브린 15 mg/ml, 라미닌 60 μg/ml, 및 히알루론산 3 mg/ml 단독 물질을 처리하였고, 피브린 5 mg/ml과 라미닌 20 μg/ml의 조합, 라미닌 20 μg/ml과 히알루론산 1 mg/ml의 조합, 및 피브린 5 mg/ml과 히알루론산 1 mg/ml의 조합을 처리하였다.

[0067] 이후에, 3시간, 5시간, 10시간, 18시간 24시간 배양 중 광학 현미경 (Leica, DMI3000B)를 사용하여 상처 수복을 촬영하였고, 그 결과를 도 1에 나타내었다. 또한, 광학 현미경으로 관찰한 이미지는 ImageJ (National Institutes of Health)를 사용하여 상처의 면적을 계산하여 상처 수복율을 계산하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다. 모든 통계적 분석은 unpaired two-tailed Student's t-test를 사용하여 수행했고, 유의도는 *P<0.05, 또는 **P<0.005이다.

[0068] 도 1 및 도 2에서 나타낸 바와 같이, 피브린 단독, 히알루론산 단독, 및 피브린과 라미닌의 조합의 경우 수복율이 약 50 내지 60% 정도로 대조군 대비 유의적인 상처 치료 효과가 없는 것을 확인할 수 있었다. 이에 반해, 라미닌 단독, 피브린과 히알루론산 조합, 및 히알루론산과 라미닌 조합의 경우에는 약 70 내지 약 80% 정도의 수복율을 나타내었다. 이에 반해, 피브린, 히알루론산, 및 라미닌의 조합의 경우 상처 수복률이 약 90%까지 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 이는 단독 물질 또는 두 가지 물질의 조합에 비해 약 2배 정도 증가한 수치임을 알 수 있었다. 상기의 결과는 히알루론산과 라미닌의 조합으로 인간 섬유아세포의 증식 및 이동이 상승 효과가 현저하며, 특히 3가지 조성물의 조합은 상승적인 효과를 일으켜 섬유아세포의 증식 및 이동을 증가시켰음을 의미한다.

[0069] 또한, 추가적으로 다양한 농도의 하이드로젤 패치를 제작하여 상처 치료 효과를 확인하였다.

[0070] 구체적으로, 졸 상태의 피브리노겐, 라미닌, 히알루론산 각각 3 mg/ml, 10 μg/ml, 5 mg/ml의 배합(배합 1), 각각 10 mg/ml, 30 μg/ml, 500 μg/ml의 배합(배합 2), 각각 10 mg/ml, 30 μg/ml, 5 mg/ml의 배합(배합 3), 및 각각 3 mg/ml, 10 μg/ml, 500 μg/ml의 배합(배합 4)을 제조하였고, 상기와 동일하게 24시간 후의 상처 치료 효과를 확인하였다. 상기 결과는 아래 표 1에 나타내었다.

표 1

[0071]

	대조군	배합 1	배합 2	배합 3	배합 4
Wound closure	62.03	86.58	88.92	85.66	89.54

[0072] **<실험예 2> 생체 내 상처 치료 및 흉터 개선 효과 확인**

[0073] 상기 실시예에서 제조한 하이드로젤의 상처 치료 및 흉터 개선 효과를 확인하기 위해 동물 모델에서의 피부 구조 재생 여부를 평가하였다.

[0074] 구체적으로, C57BL/6 마우스 (효창사이언스, 대한민국)를 이소플루오린으로 흡입마취한 후, 마우스의 등을 면도와 제모크림으로 제모하였다. 이후에, 포비돈과 70% 에탄올로 제모 부위를 멸균하였다. 다음에 5 mm 생검 펀치로 마우스의 등의 상피 4곳에 상처를 낸 후 소듐 하이포클로라이트와 70% 에탄올에서 멸균한 6mm의 내부 구멍이 있는 15mm의 원형의 실리콘 시트 (sillicone sheet) (0.5-mm-thick) 를 상처부위 위에 순간 접착제로 접착한 후 피부에 봉합하였다. 상처부위에 약 30 ul의 상기 제조한 하이드로젤을 도포한 후, 테가덤(Tegaderm) (3M, 2-3/8 inches X 2-3/4 inches)을 창상부위에 부착하고 압박붕대로 감싸 주었다. 대조군에는 아무런 처리를 하지 않고 테가덤을 창상부위에 부착하고 압박 붕대로 감싸 주었다.

[0075] 이후에, 14일간 매일 상처 부위를 사진으로 찍었고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0076] 또한, 14일간 매일 상처 부위의 상하 및 좌우 크기를 칼리퍼스로 측정하였고, 평균값을 상처 0일차와 환산하여 회복율 (recovery rate)를 측정하였고, 그 결과를 도 4 및 아래 표 2에 나타내었다.

표 2

[0077]

실험동물 수		회복 비율		투여 횟수	회복기간
투여군	미투여군	투여군	미투여군		

15	15	94%	76%	1회	10-14일

[0078] 또한, 창상 부위의 피부 재생의 조직학적 분석을 위하여 상기 실시예의 하이드로젤의 도포 14일 후에 창상 부위의 피부 조직을 적출하였다. 이후에, 적출된 피부조직을 4% 파라포름알데하이드에 하루 동안 보관하고, 50%, 70%, 90%, 100% 에탄올, 자일렌을 순차적으로 처리한 후, 파라핀에 하루 동안 보존하여 파라핀 블록을 제작하였다. 상기 파라핀 블록을 10 um으로 자른 후, H&E 염색을 수행하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0079] 도 3은 일 구체예에 따른 하이드로젤의 상처 및 흉터 치료 효과를 나타낸 사진이다.

[0080] 도 4는 일 구체예에 따른 하이드로젤의 도포에 따른 상처의 회복율을 나타낸 그래프이다.

[0081] 도 5는 일 구체예에 따른 하이드로젤의 피부 구조 재생 효과를 나타낸 사진이다; (a) 전체 부위; (b) 모낭 부위 확대; Arrow = hair follicles, n = normal skin, w = wound area.

[0082] 도 3 및 도 4에 나타낸 바와 같이, 일 구체예에 따른 하이드로젤은 피부를 구성하고 있는 세포인 섬유아세포와 케라틴 세포의 창상 부위에의 이동 및 증식을 유도하여 창상의 조기 닫힘을 유도함을 알 수 있었다.

[0083] 또한, 도 5에 나타낸 바와 같이, 일 구체예에 따른 하이드로젤은 피부층의 구조 재건을 유도하여 흉터 생성을 저해할 수 있음을 알 수 있었다. 또한, 일 구체예에 따른 하이드로젤은 상처로 상실된 혈관 및 모낭의 재생을 유도하여 조기에 피부의 본래 구조로의 재생을 유도함을 알 수 있었다.

[0084] 또한, 추가적으로 당뇨병성 상처 치료 효과를 확인하기 위해, 당뇨병 마우스에서의 상처 치료 효과를 확인하였다. 구체적으로, 수컷 db/db 당뇨병 마우스에 대하여 혈당이 250 mg/dL 이상이 될 때까지 순화한 후, 상기와 동일하게 생체 내 상처 치료 효과를 확인하였다. 대조군과 실험군은 각각 5마리를 사용하였고, 14일간 매일 상처 부위의 상하 및 좌우 크기를 칼리퍼스로 측정하였으며, 평균값을 상처 0일차와 환산하여 회복율 (recovery rate)를 측정하였다. 상기 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0085]

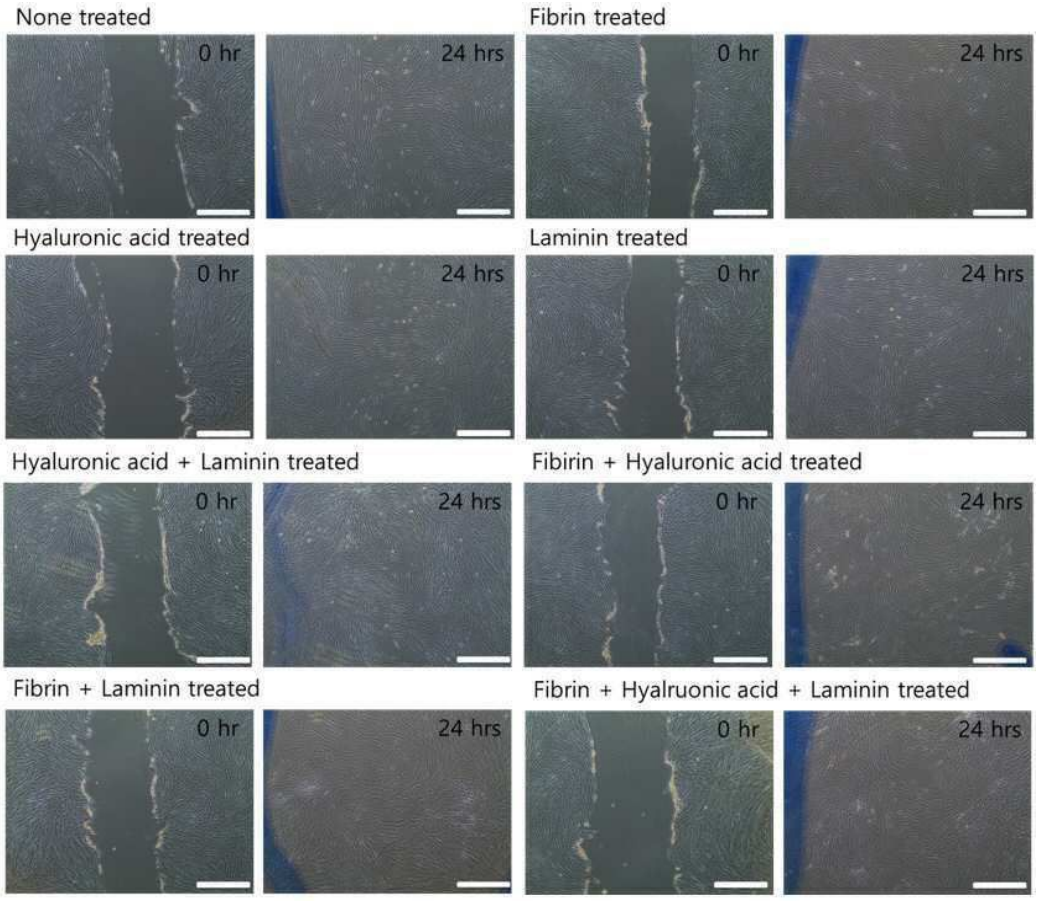
	대조군	실시예 하이드로젤
회복율	62%	90%

[0086] 일반적으로 상처 치료 및 관리에 있어서의 많은 진전에도 불구하고, 당뇨병에서는 상처 치유의 세포성 및 생화학적 과정의 세심히 준비된 일련의 모든 단계가 방해 받기 때문에 상처 치유가 지연된다 (Brown, 1992; Shukla, 1998; Mustoe, 2004). 또한, 당뇨성 피부 궤양의 치유는 손상된 혈관 형성, 불충분한 혈류량, 증가된 염증, 섬유아세포의 감소된 증식, 및 각질 세포에 의한 감소된 재상피화 때문에 지연된다.

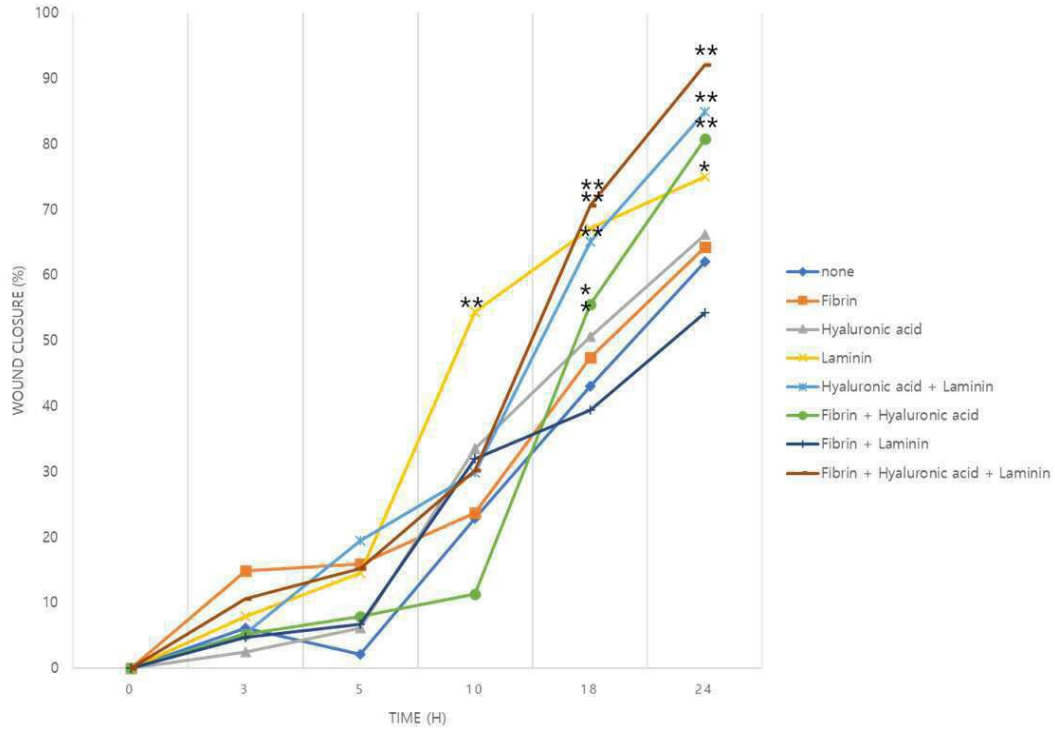
[0087] 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치는 상기 표 3에 나타낸 바와 같이, 당뇨 동물 모델에서도 현저한 상처 치료 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이러한 결과는 일 구체예에 따른 하이드로젤 패치가 당뇨성 피부 궤양, 당뇨성 족부 궤양 등 당뇨성 상처의 치료에 유용하게 사용될 수 있음을 의미한다.

도면

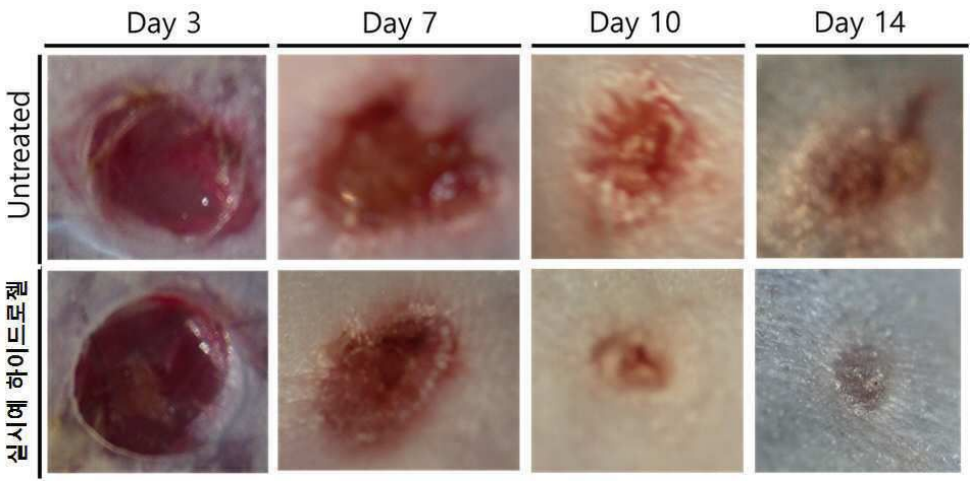
도면1


None treated
0 hr
24 hrs
Fibrin treated
0 hr
24 hrs
Hyaluronic acid treated
0 hr
24 hrs
Laminin treated
0 hr
24 hrs
Hyaluronic acid + Laminin treated
0 hr
24 hrs
Fibirin + Hyaluronic acid treated
0 hr
24 hrs
Fibrin + Laminin treated
0 hr
24 hrs
Fibrin + Hyalruonic acid + Laminin treated
0 hr
24 hrs

도면2


WOUND CLOSURE (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
3
5
10
18
24
TIME (H)
none
Fibrin
Hyaluronic acid
Laminin
Hyaluronic acid + Laminin
Fibrin + Hyaluronic acid
Fibrin + Laminin
Fibrin + Hyaluronic acid + Laminin

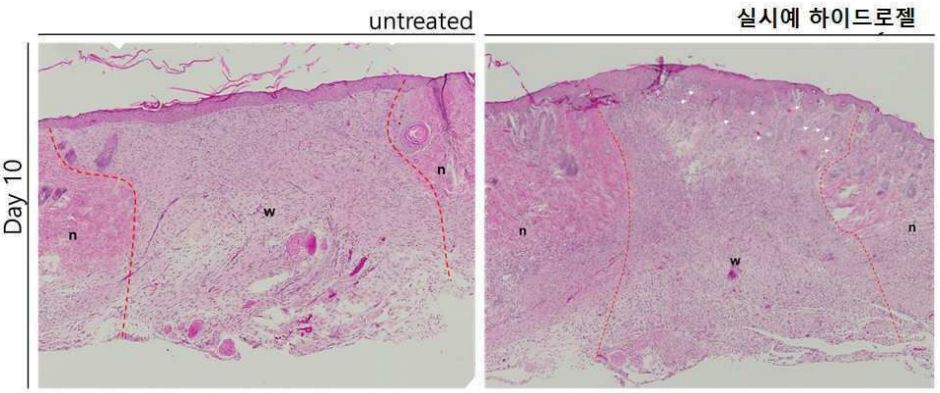
도면3


Day 3
Day 7
Day 10
Day 14
Untreated
실시예 하이드로젤

도면4


Wound healing
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
% REcovered
***
*
*
Day 0
Day 3
Day 6
Day 10
Date
PBS
실시예 하이드로젤

도면5a


untreated
실시예 하이드로젤
Day 10
n
w
n
n
w
n

도면5b

