



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0112230
(43) 공개일자 2016년09월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/48 (2006.01) A61K 47/30 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/48169 (2013.01)
A61K 38/179 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0037520
(22) 출원일자 2015년03월18일
심사청구일자 2015년03월18일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
이상천
서울특별시 동대문구 경희대로 26, 치의학전문대학원 719호 (회기동)
남혜영
경상북도 안동시 북후면 산약길 641-22
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 14 항

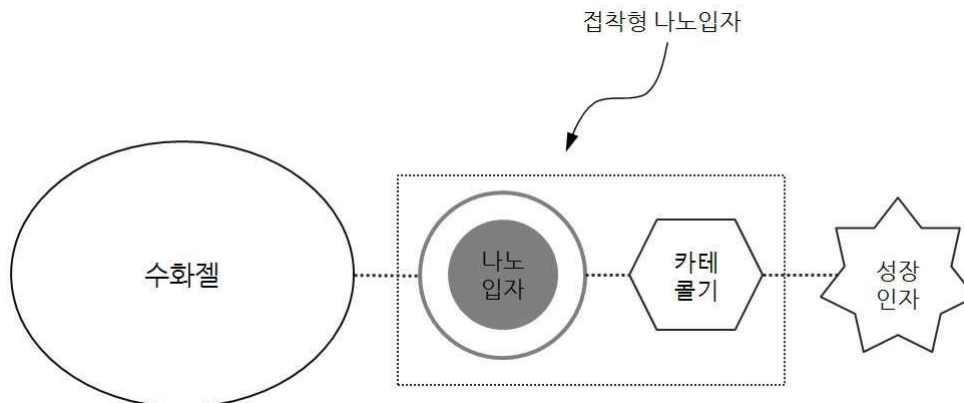
(54) 발명의 명칭 성장인자 서방형 치은 확장기, 및 이의 제조를 위한 성장인자 도입용 치은 확장기

(57) 요약

본 발명은 성장인자 서방형 치은 확장기에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 성장인자와의 결합력이 우수한 고분자 나노입자가 도입되어 성장인자를 안정적으로 방출할 수 있는 성장인자 서방형 치은 확장기에 관한 것이다.

본 발명에 의한 성장인자 서방형 치은 확장기는 체내 팽윤을 통해 치은 내 공간을 확보하는 수화젤; 상기 수화젤에 도입되고, 표면에 카테콜기를 포함하는 자가조립형 나노입자; 및 상기 나노입자와 결합되는 성장인자;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 47/30 (2013.01)

A61K 9/0002 (2013.01)

(72) 발명자

제갈준호

경상북도 영주시 남간로71번길 46, 101동 1408호
(휴천동, 화성라운빌)

이재원

서울특별시 동대문구 회기로 166, KB빌딩 504호 (회기동)

이홍재

서울특별시 용산구 이촌로87길 21, 106동 1908호
(이촌동, 이촌아파트)

김은철

서울특별시 강남구 영동대로128길 15, 1동 802호
(삼성동, 홍실아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012R1A5A2051388

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 선도연구센터지원사업

연구과제명 나노융합 생체소재 기반 치아와 치주조직 재생 연구

기 여 율 1/2

주관기관 경희대학교

연구기간 2014.09.01 ~ 2015.08.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10043624

부처명 지식경제부

연구관리전문기관 한국산업기술평가관리원

연구사업명 투자자연계형기술개발사업

연구과제명 CAD/CAM 기술을 이용한 비침습적 맞춤형 골증대술 소재 개발

기 여 율 1/2

주관기관 (주)네오바이오텍

연구기간 2014.12.01 ~ 2015.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

체내 팽윤을 통해 치은 내 공간을 확보하는 수화젤; 및
상기 수화젤에 도입되고, 표면에 카테콜기를 포함하는 자가조립형 나노입자; 및
상기 나노입자와 결합되는 성장인자;를 포함하는 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 나노입자는 상기 수화젤 100 중량부당 1 내지 20 중량부의 비율로 포함된 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 3

제1항에 있어서,
상기 나노입자는 성장인자가 결합가능한 제1고분자; 및
상기 제1분자 보다 소수성인 제2고분자;를 포함하는 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 4

제3항에 있어서,
상기 나노입자는 상기 제2고분자로 이루어진 코어; 및 상기 코어의 외주면을 둘러싸는 제1고분자로 이루어진 셀;을 포함하는 코어-셀 구조인 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 5

제3항에 있어서,
상기 제1고분자는 전하를 띠는 이온성 고분자인 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 6

제3항에 있어서,
상기 제1고분자는 히알루론산, 알지네이트, 헤파린, 카라지난, 텍스트란 설페이트, 카르복시메틸 셀룰로오스, 및 키토산으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 7

제3항에 있어서,
상기 제2고분자는 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리- ϵ -카프로락

톤(PCL), 락트산-카프로락톤 공중합체(PLCL), 생분해성 폴리우레탄(biodegradable polyurethane), 및 생분해성 폴리카보네이트(biodegradable polycarbonate)로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 나노입자는 평균 입자 직경이 50 내지 200nm 이고, 표면전하는 +30mV 내지 -30mV, 다분산 지수는 0.2 미만인 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 성장인자는 상기 나노입자 100 중량부당 0.1 내지 1.0 중량부의 비율로 포함된 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 성장인자는 상피세포성장인자(EGF), 골형성 성장인자(bone morphogenetic proteins, BMPs), 섬유아세포 성장인자(fibroblast growth factors, FGFs), 혈소판 유도 성장인자(platelet-derived growth factor, PDGF), 전환 성장인자- β (transforming growth factor- β , TGF- β), 인슐린 유사 성장인자(insulin-like growth factors, I호르몬(parathyroid hormone, PTH)으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 수화젤은 메타크릴레이트(methacrylate) 그룹을 갖는 제1모노머 및 비닐(vinyl) 그룹을 갖는 제2모노머가 가교결합된 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 수화젤은 메틸 메타크릴레이트(MMA) 및 N-비닐-2-피롤리돈(VP)이 6:4 내지 7:3의 중량비로 가교결합된 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기.

청구항 13

체내 팽윤을 통해 치은 내 공간을 확보하는 수화젤; 및

상기 수화젤에 도입되고, 표면에 카테콜기를 포함하는 자가조립형 나노입자; 를 포함하는 것인, 제 1 항에 의한 성장인자 서방형 치은 확장기 제조를 위한 성장인자 도입용 치은 확장기.

청구항 14

제 13 항에 의한 성장인자 도입용 치은 확장기; 및

상기 나노입자에 결합할 성장인자를 포함하는 용액으로 구성되는 것인, 성장인자 서방형 치은 확장기 제조용 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 성장인자 서방형 치은 확장기, 및 이의 제조를 위한 성장인자 도입용 치은 확장기에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 성장인자와의 결합력이 우수한 고분자 나노입자를 포함하여 성장인자가 내부에 포함되어 시술후 안정적으로 성장인자가 방출될 수 있는 성장인자 서방형 치은 확장기 및 이의 제조를 위한 성장인자 도입용 치은 확장기에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 턱뼈 내부에 임플란트를 식립하는 골 내 임플란트에 있어서, 성공적인 시술을 위해서는 성공적인 골 유착과 초기 안정을 위한 전제 조건으로 임플란트 식립체 주위에 적당량의 골이 요구될 수 있다.
- [0003] 임플란트의 식립을 위한 적당량의 골의 양이나 부피가 충족되지 않거나, 임플란트 식립 후에 다양한 이유(염증에 의한 치조골 흡수 등)로 식립체의 일부가 골 외부로 노출되는 경우에 있어서 골 유도 재생술(guided bone regeneration-augmentation: GBR)이 이용된다.
- [0004] 골 유도 재생술은 매식한 인플란트의 주변, 또는 임플란트를 매식할 위치의 골 량이 부족할 때 차단막을 이용하여 차단막 하부에 공간을 형성하고, 상기 공간 하부의 골 결손부 내로 조골세포 (Osteoblast)의 유입을 유도함으로써 골조직 재생을 도모하는 기술이다. 골 유도 재생술에 있어서, 흡수성, 비흡수성 치과용 차단막과 함께 다양한 골 재료(자가골, 동종골, 이종골, 합성골)가 이용된다.
- [0005] 치과용 차단막은 재생력이 우수한 치은 상피가 손상부로 먼저 자라면서 들어가지 못하게 막아주고 공간 유지 능력이 있어 결합 조직의 분화와 골 재생을 보조한다.
- [0006] 한편, 임플란트의 매식에 있어서, 골 량이 부족한 경우에는 치은 퇴축으로 인해 치조골 재생을 위한 공간의 확보가 어려울 수 있다.
- [0007] 상기 문제점을 해결하기 위해, 골 유도 재생술 이전에 수화젤(hydrogel) 기반의 치은 확장기를 이식할 수 있다. 치은 확장기는 팽윤 성질로 인해 퇴축된 치은을 정상상태로 재건시키는데 활용될 수 있다.
- [0008] 기존의 치은 확장기는 N-vinyl-2-pyrrolidone (VP)와 methyl methacrylate (MMA)의 공중합체계 수화젤을 기반으로 개발되고 있었으나, 단순한 팽윤에 의한 공간 확보 기능에만 초점이 맞추어져 있었다.
- [0009] 또한, 치은 조직 재생 기능을 개선하기 위하여 성장인자를 담지하는 경우, 성장인자의 초기 대량 방출로 인하여 치은 조직 재생 효과가 장시간 유지되지 못하는 문제점이 있었다.
- [0010] 따라서, 치은을 포함하는 다양한 조직 재생을 위한 도구로서, 공간 확보 및 우수한 조직 재생력을 보유한 새로운 방식의 치은 확장기 개발이 시급한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명은 전술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여 체내 이식 후 장시간 성장인자를 방출할 수 있는 조직 재생 능력이 우수한 성장인자 서방형 치은 확장기를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 상기 성장인자 서방형 치은 확장기의 제조를 위한 성장인자 도입용 치은 확장기를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명의 일 측면에 따르면, 체내 팽윤을 통해 치은 내 공간을 확보하는 수화젤; 상기 수화젤에 도입되고, 표면에 카테콜기를 포함하는 자가조립형 나노입자; 및 상기 나노입자와 결합되는 성장인자;를 포함하는 성장인자 서방형 치은 확장기가 제공된다.
- [0014] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자는 상기 수화젤 100 중량부 대비 1 내지 20 중량부 포함될 수 있다.
- [0015] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자는 성장인자가 결합가능한 제1고분자; 및 상기 제1분자 보다 소수성인 제2고분자를 포함하는 공중합체가 자가조립된 것일 수 있다.
- [0016] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자는 상기 제2고분자로 이루어진 코어; 및 상기 코어의 외주면을 둘러싸는 제1고분자로 이루어진 셸을 포함하는 코어-셸 구조일 수 있다.
- [0017] 일 실시예에 따르면, 상기 제1고분자는 전하를 띠는 이온성 고분자일 수 있다.
- [0018] 일 실시예에 따르면, 상기 제1고분자는 히알루론산, 알지네이트, 헤파린, 카라지난, 텍스트란 셀레이트, 카르복시메틸 셀룰로오스, 및 키토산으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다.
- [0019] 일 실시예에 따르면, 상기 제2고분자는 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리-ε-카프로락톤(PCL), 락트산-카프로락톤 공중합체(PLCL), 생분해성 폴리우레탄(biodegradable polyurethane), 및 생분해성 폴리카보네이트(biodegradable polycarbonate)로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다.
- [0020] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자의 평균 입자 직경은 50 내지 200nm, 표면전하는 +30mV 내지 -30mV, 다분산 지수는 0.2 미만일 수 있다.
- [0021] 일 실시예에 따르면, 상기 성장인자는 상기 나노입자 100 중량부 대비 0.1 내지 1.0 중량부가 포함될 수 있다.
- [0022] 일 실시예에 따르면, 상기 성장인자는 상피세포성장인자(EGF), 골형성 성장인자(bone morphogenetic proteins, BMPs), 섬유아세포 성장인자(fibroblast growth factors, FGFs), 혈소판 유도 성장인자(platelet-derived growth factor, PDGF), 전환 성장인자-β(transforming growth factor-β, TGF-β), 인슐린 유사 성장인자(insulin-like growth factors, I호르몬(parathyroid hormone, PTH)으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다.
- [0023] 일 실시예에 따르면, 상기 수화젤은 메타크릴레이트(methacrylate) 그룹을 갖는 제1모노머 및 비닐(vinyl) 그룹을 갖는 제2모노머가 가교결합될 수 있다.
- [0024] 일 실시예에 따르면, 상기 수화젤은 메틸 메타크릴레이트(MMA) 및 N-비닐-2-피롤리돈(VP)이 6:4 내지 7:3의 중량비로 가교결합된 것일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 체내 팽윤을 통해 치은 내 공간을 확보하는 수화젤; 및 상기 수화젤에 도입되고, 표면에 카테콜기를 포함하는 자가조립형 나노입자;를 포함하는 본 발명에 의한 성장인자 서방형 치은 확장기 제조를 위한 성장인자 도입용 치은 확장기가 제공된다.
- [0026] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 성장인자 도입용 치은 확장기; 및 상기 나노입자에 결합할 성장인자를 포함하는 용액으로 구성되는 성장인자 서방형 치은 확장기 제조용 키트가 제공된다.

발명의 효과

- [0027] 본 발명에 따르면, 상기 치은 확장기는 치은에 대한 우수한 확장효과와 더불어 성장인자의 지속적인 방출로 인해 조직 재생 능력이 우수하다.
- [0028] 또한, 상기 치은 확장기는 성장인자의 지속적인 방출로 인해 치은 확장 시기를 단축할 수 있으므로, 임플란트 기술에 있어서 유용하게 활용될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 특허청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0030] 도 1은 종래 기술에 따른 치은 확장기를 도식화 한 것이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 치은 확장기의 각 구성을 단순화하여 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 접착형 나노입자의 구조를 도식화 한 것이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 치은 확장기를 도식화 한 것이다.
- 도 5는 종래 기술에 따른 치은 확장기의 시간에 따른 팽윤도를 나타낸 것이다.
- 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 접착형 나노입자가 도입된 치은 확장기의 시간에 따른 팽윤도를 나타낸 것이다.
- 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 접착형 나노입자가 도입된 치은 확장기 및 종래 기술에 따른 치은 확장기에 단일의 성장인자(EGF)를 도입하고, 누적 방출량 비교한 것이다.
- 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 접착형 나노입자가 도입된 치은 확장기에 복수의 성장인자(BMP-2 및 IGF-1)를 도입한 경우, 누적 방출량을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

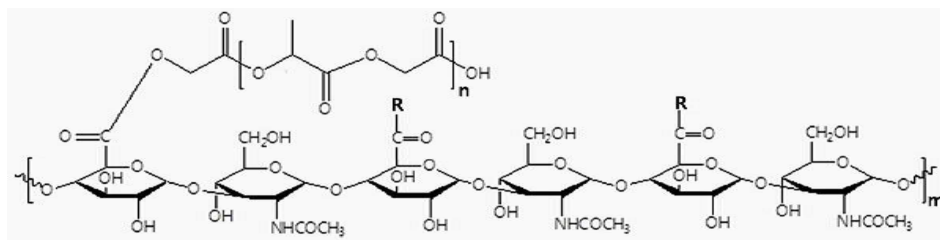
- [0031] 이하에서는 첨부한 도면을 참조하여 본 발명을 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 하기에서 설명하는 실시예로 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 또한, 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략될 수 있다.
- [0033] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 부재를 사이에 두고 "간접적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다. 또한 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 구비할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0034] 이하 도면을 참조하여 본 발명을 더욱 상술한다.
- [0035] 도 1은 종래 기술에 따른 치은 확장기를 도식화 한 것이다.
- [0036] 종래의 치은 확장기는 수화젤 기반의 치은 확장기에 성장인자를 담지시켰으나, 치은에 이식한 경우 성장인자가 초기에 대량 방출되므로 조직 재생 효과가 장시간 유지될 수 없는 문제가 있었다.
- [0037] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 치은 확장기의 각 구성을 단순화하여 나타낸 것이다.
- [0038] 본 발명의 일 측면에 따르면, 체내 팽윤을 통해 치은 내 공간을 확보하는 수화젤; 상기 수화젤에 도입되고, 표면에 카테콜기를 포함하는 자가조립형 나노입자; 및 상기 나노입자와 결합되는 성장인자;를 포함하는 성장인자 서방형 치은 확장기가 제공된다. 본 발명에 의한 치은 확장기는 카테콜기가 결합된 나노입자가 도입되어 담지된 성장인자를 지속적으로 방출할 수 있다.
- [0039] 상기 수화젤은 체액을 흡수하여 체내에서 팽윤을 일으킬 수 있으면 특별히 한정되지 않으나, 바람직하게는 메타크릴레이트(methacrylate) 그룹을 갖는 제1모노머 및 비닐(vinyl) 그룹을 갖는 제2모노머가 가교결합되어 형성될 수 있다.
- [0040] 일 실시예에 따르면, 상기 수화젤은 생체 독성이 낮아 실용화가 용이한 메틸 메타크릴레이트(MMA) 및 N-비닐-2-피롤리돈(VP)가 공중합된 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않으며, 하이드록시에틸 메타크릴레이트(HEMA) 및 N-비닐-2-피롤리돈(VP)이 공중합되거나, n-메타크릴레이트(n=탄소수, 4, 8, 12)와 N-비닐-2-피롤리돈(VP)이 공중합된 것일 수 있다. 상기 메틸 메타크릴레이트(MMA) 및 N-비닐-2-피롤리돈(VP)은 6:4 내지 7:3의 중량비로 가교결합된 것일 수 있다.
- [0041] 상기 수화젤 기반의 치은 확장기는 성장인자의 서방형 방출을 위한 접착형 나노입자를 포함할 수 있다.

- [0042] 본 발명에 따른 나노입자는 성장인자의 서방형 방출을 위해 치은 확장기에 도입되는 것으로, 하기에는 발명의 특징을 강조 또는 설명하기 위해 “나노입자”, “접착형 나노입자”, “자가조립형 나노입자”, 또는 “카테콜기가 도입된 나노입자” 등으로 상호 교환적으로 사용될 수 있다.
- [0043] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 접착형 나노입자의 구조를 도식화 한 것이며, 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 치은 확장을 도식화 한 것이다.
- [0044] 즉, 상기 2이상의 고분자가 공중합되어 형성된 나노입자는 성장인자의 지속적인 방출을 위해 상기 수화젤에 도입될 수 있으며, 상기 성장인자는 상기 나노입자 표면에 도입된 카테콜기에 의해 상기 나노입자와 결합할 수 있다.
- [0045] 상기 치은 확장은 표면에 카테콜기가 도입된 나노입자를 포함하므로, 치은에 이식한 경우라도 담지된 성장인자를 초기에 대량 방출되지 않고 장시간 지속적으로 방출할 수 있다.
- [0046] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자는 성장인자가 결합가능한 제1고분자; 및 상기 제1고분자 보다 소수성인 제2고분자를 포함하는 공중합체가 자가조립된 것일 수 있다.
- [0047] 이 때, 상기 나노입자 중 소수성인 제2고분자는 수용액 중 자가조립시 내부에 위치할 수 있으며, 약물과 결합할 수 있는 제1고분자를 외부에 위치시키는 지지체 역할을 할 수 있다. 또한, 상기 나노입자는 자가조립에 의해 약물이 결합가능한 제1고분자는 외부에 위치하고 카테콜기와 결합하므로 약물의 탑재가 용이하다.
- [0048] 따라서, 상기 나노입자는 상기 제2고분자로 이루어진 코어; 및 상기 코어의 외주면을 둘러싸는 제1고분자로 이루어진 셸을 포함하는 코어-셸 구조를 형성할 수 있다.
- [0049] 상기 나노입자를 구성하는 제1고분자 및 제2고분자의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 상기 제1고분자는 성장인자와 결합가능한 임의의 고분자가 될 수 있고, 상기 제2고분자는 제1고분자보다 소수성이면 족하다.
- [0050] 즉, 상기 나노입자를 형성하는 상기 제2고분자는 소수성으로 인하여 상기 나노입자 내부에 위치하면서 하나 이상의 코어 구조를 형성할 수 있으며, 상기 제2고분자와 연결된 제1고분자는 친수성으로 인하여 이들 코어를 둘러싸며 나노입자의 외부 영역을 구성할 수 있다.
- [0051] 한편, 상기 나노입자의 내부가 다중 코어를 형성하는 경우, 나노입자의 표면은 바람직하게는 제1고분자로만 구성될 수 있다. 이때, 상기 나노입자의 내부에는 응집되어 있는 제2고분자와 더불어 제1고분자의 일부가 포함될 수 있다.
- [0052] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자는 제1고분자로서 히알루론산(hyaluronic acid), 상기 제2고분자로서 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLGA)가 그래프트 중합된 공중합체가 자가조립되어 형성될 수 있으며, 상기 PLGA가 나노입자 내부의 다중 코어를 형성할 수 있다. 상기 제1고분자 및 상기 제2고분자는 직접 또는 링커에 의해 통상의 방법으로 연결될 수 있다.
- [0053] 상기 나노입자를 구성하는 공중합체는 제1고분자 주쇄에 제2고분자가 측쇄로 연결된 그래프트 공중합체일 수 있다. 다만, 상기 공중합체는 상기 제1고분자가 외부에 위치하도록 자가조립될 수 있는 한, 다른 단량체 또는 고분자를 더 포함할 수 있다.
- [0054] 일 실시예에 따르면, 상기 제1고분자는 전하를 띠는 이온성 고분자일 수 있다. 상기 제1고분자는 정전기적 상호작용을 통해 이온성 약물(예컨대, 성장인자)을 쉽게 탑재할 수 있도록, 자유 카르복실기(free carboxylate group) 또는 아민기(amine group)를 포함할 수 있다.
- [0055] 특히, 상기 제1고분자는 자유 카르복실기에 의해 낮은 제타 전위(zeta potential)를 형성할 수 있는 다당류계 고분자일 수 있다. 상기 제1고분자의 종류는 특별히 제한되지 않으나, 히알루론산, 알지네이트, 헤파린, 카라지난, 텍스트란 설페이트, 카르복시메틸 셀룰로오스, 및 키토산으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다.
- [0056] 다만, 상기 제1고분자가 음이온성 다당류인 경우 생리화학적 pH에서 양전하를 나타내는 양이온성 약물(예컨대, BMP-2 또는 IGF-1)과 정전기적 상호작용에 의해 결합될 수 있으며, 양이온성 다당류인 경우 생리화학적 pH에서 음전하를 나타내는 음이온성 약물과 정전기적 상호작용을 통해 결합될 수 있다.
- [0057] 한편, 상기 제2고분자는 생체 내에서 분해되어 물, 이산화탄소 및 메탄 등으로 분해될 수 있는 생분해성 고분자일 수 있다. 상기 제2고분자의 종류는 특별히 제한되지 않으나, 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리-ε-카프로락톤(PCL), 락트산-카프로락톤 공중합체(PLCL), 생분해성 폴리우레탄

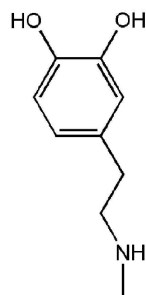
(biodegradable polyurethane), 및 생분해성 폴리카보네이트(biodegradable polycarbonate)로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다.

- [0058] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자는 상기 수화젤 100 중량부 대비 1 내지 20 중량부가 포함될 수 있다. 최종 제품의 가격, 품질, 이식 부위, 도입되는 성장인자의 종류나 성질을 고려하여 도입 비율을 달리할 수 있으나, 상기 나노입자가 상기 수화젤 100 중량부 대비 1 중량부 미만이면 성장인자의 서방출 효과가 적절하게 발휘되지 않을 수 있으며, 20 중량부 초과이면 성장인자의 도입에 따른 경제성이 저하될 수 있으므로 적절한 범위 내로 조정하는 것이 바람직하다.
- [0059] 일 실시예에 따르면, 상기 나노입자의 평균 입자 직경은 50 내지 200nm, 표면전하는 +30mV 내지 -30mV, 다분산 지수는 0.2 미만일 수 있다.
- [0060] 상기 나노입자는 안정적인 서방출 효과가 구현되도록 다분산 지수와 평균 직경을 적절한 범위내로 유지하는 것이 바람직하며, 성장인자를 포함하는 이온성 분자와의 효과적인 결합 및 방출을 위해 표면전하를 +30mV 내지 -30mV의 범위 내로 제어하는 것이 좋다.
- [0061] 한편, 상기 나노입자에 카테콜기를 도입하기 위해 카테콜기를 포함하는 혼합 접착 단백질 유래 도파민(dopamine)을 사용할 수 있다.
- [0062] 구체적으로, 상기 카테콜기는 상기 나노입자 외부 표면에 위치하는 제1고분자의 카르복실기를 활성화시킨 후, 도파민과 반응시켜 연결함으로써, 상기 제1고분자에 도입될 수 있다.
- [0063] 일 실시예에 따르면, 상기 접착형 나노입자는 히알루론산(hyaluronic acid), 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLGA)가 그래프트 중합된 공중합체 표면에 카테콜기가 도입되어 화학식 1로 표시되는 화합물의 기본 구조를 포함할 수 있다.

화학식 1



- [0064]
- [0065] 상기 식에서,
- [0066] n은 10 내지 100의 정수이고,
- [0067] m은 10 내지 100의 정수이고,



- [0068] R은 히드록실기 또는 일 수 있다.

- [0069] 상기 카테콜기가 도입된 나노입자는 수용액 상태로 수화젤에 담지함으로써 용이하게 수화젤에 도입할 수 있으며, 의료 분야에 있어서 폭 넓은 응용이 가능하다.

- [0070] 특히, 상기 나노입자는 표면에 수백 개 이상의 카테콜기가 도입되어 있으므로, 수화젤 및 성장인자와 동시에 결합하여 성장인자의 서방형 방출을 가능하게 한다. 즉, 상기 나노입자는 치은 확장기에 약물을 도입시키는 전달체로서의 역할을 수행할 있으며, 생체 조직 내 삽입 후 약물을 지속적으로 방출시키는 전달체의 역할도 수

행할 수 있다.

- [0071] 일 실시예에 따르면, 상기 히알루론산 및 PLGA 공중합체에 카테콜기를 도입하여 제조된 수용액 상태의 나노입자는 수화젤 기반의 치은 확장기를 담지시킴으로써 도입될 수 있으며, 이어서 성장인자 용액 또는 기타 약물이 상기 접착형 나노입자가 도입된 치은 확장기에 탑재될 수 있다.
- [0072] 한편, 본 발명의 다른 측면에 따르면, 체내 팽윤을 통해 치은 내 공간을 확보하는 수화젤; 및 상기 수화젤에 도입되고, 표면에 카테콜기를 포함하는 자가조립형 나노입자;를 포함하는 성장인자 도입용 치은 확장기가 제공된다.
- [0073] 따라서, 상기 성장인자 도입용 치은 확장은 상기 성장인자 용액 또는 기타 약물이 담지되어 성장인자가 탑재될 수 있으며, 치은 확장을 위한 조직 내로 이식될 수 있다.
- [0074] 또한, 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 성장인자 도입용 치은 확장기; 및 상기 나노입자에 결합할 성장인자를 포함하는 용액으로 구성되는 성장인자 서방형 치은 확장기 제조용 키트가 제공된다.
- [0075] 즉, 상기 성장인자는 치은 확장을 조직 내로 이식하기 직전에 성장인자를 포함하는 용액에 담지하여 도입하는 것이 효과적일 수 있으므로, 상기 접착형 나노입자가 도입된 치은 확장기 및 성장인자 용액을 포함하는 키트형 제품이 제공될 수 있다.
- [0076] 상기 성장인자를 포함하는 용액은 단백질 입체구조의 안정성 측면에서 PBS(phosphate buffered saline), PB(phosphate buffer), 트리스(Tris), 헤페스(Hepes) 버퍼 중에서 선택된 하나 이상의 용매를 사용할 수 있으며, 최종 제품의 특성을 고려하여 0.01-0.5%(w/v)의 농도로 적용할 수 있다.
- [0077] 일 실시예에 따르면, 상기 성장인자는 상기 나노입자 100 중량부 대비 0.1 내지 1.0 중량부가 포함될 수 있다. 최종 제품의 가격이나 품질, 도입되는 성장인자의 종류나 성질을 고려하여 도입 비율을 달리할 수 있으나, 상기 성장인자가 상기 나노입자 100 중량부 대비 0.1 중량부 미만이면 조직 재생 효과가 미흡할 수 있으며, 1.0 중량부 초과이면 초기 방출 속도가 상대적으로 높아져 방출 속도의 제어가 용이하지 않을 수 있으므로 적절한 범위 내로 조정하는 것이 바람직하다.
- [0078] 상기 나노입자는 외부에 위치한 제1고분자를 통해 하나 이상의 성장인자를 탑재할 수 있다. 즉, 상기 나노입자는 하나 이상의 성장인자를 탑재할 수 있으며, 서로 다른 성장인자를 탑재한 2종 이상의 나노입자가 수화젤에 도입될 수 있다.
- [0079] 상기 성장인자의 종류는 필요에 따라 달리할 수 있으며, 예컨대, 상피세포성장인자(EGF), 골형성 성장인자(bone morphogenetic proteins, BMPs), 섬유아세포 성장인자(fibroblast growth factors, FGFs), 혈소판 유도 성장인자(platelet-derived growth factor, PDGF), 전환 성장인자- β (transforming growth factor- β , TGF- β), 인슐린 유사 성장인자(insulin-like growth factors, IGFs), 및 파라티로이드 호르몬(parathyroid hormone, PTH)으로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다.
- [0080] 다만, 상기 접착형 나노입자에는 반드시 성장인자만 탑재될 필요는 없으며, 카테콜기와 결합하여 서방출이 가능한 이온성 분자라면 다양하게 적용 가능하다. 상기 적용 가능한 이온성 분자는 당해 기술 분야에서 널리 사용되는 약물일 수 있으며, 예컨대, 비스포스포네이트계의 에티드로네이트(etidronate), 클로드로네이트(clodronate), 팔미드로네이트(pamidronate), 알렌드로네이트(alendronate), 이반드로네이트(ibandronate), 리세드로네이트(risedronate), 졸레드로네이트(zoledronate), 티루드로네이트(tiludronate), [1-히드록시-2-(이미다조[1,2-a]피리딘-3-일)에틸리덴]-비스포스포산 모노하이드레이트([1-hydroxy-2-(imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)ethylidene]-bisphosphonic acid monohydrate, YH529), 이카드로네이트(icadronate), 올파드로네이트(olpadronate), 네리드로네이트(neridronate) 및 디소듐-1-히드록시-3-(1-피롤리디닐)-프로필리덴-1,1-비스포스포네이트(disodium-1-hydroxy-3-(1-pyrrolidinyl)-propylidene-1,1-bisphosphonate, EB-1053)일 수 있다.
- [0081] 상기 치은 확장은 상기 접착형 나노입자가 도입되어 성장인자의 방출을 적절하게 제어할 수 있으며, 고분자의 중합 비율, 나노입자 또는 카테콜기의 도입 비율 등을 달리하여 성장인자의 방출 속도를 조절할 수 있으므로, 필요에 따라 구성을 변경하여 적용할 수 있다.
- [0082] 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자라면 본 발명의 기재내용에 기초하여 각 구성의 도입 비율이나 중합 비율 등을 변화시켜 적용할 수 있을 것이며, 상기 변형에도 불구하고 동등한 기술적 효과가 구현되는 경우라면, 본

발명의 기술적 사상에 포괄된다고 할 것이다.

[0083] 이하 본 발명의 내용을 실시예를 통해 더욱 구체적으로 설명한다.

[0084] 실시예 1: 수화젤 고분자의 합성

[0085] 정제된 단량체 메틸 메타크릴레이트(MMA)와 N-비닐-2-피롤리돈(VP)이 약 6:4의 질량비가 되도록 하였으며, 2,2'-아조비스이소부틸로니트릴(중합 개시제) 0.8 wt%, 메틸렌비스크릴아마이드(가교제) 0.05 wt%가 되도록 배합한 후, 상기 배합물을 24 시간 동안 60 °C의 온도로 열 중합시켰다.

[0086] 이후 용매 등의 잔유물을 제거하고 가수분해하여 메틸 메타크릴레이트(MMA)와 N-비닐-2-피롤리돈(VP)이 가교결합된 수화젤을 합성하였다.

[0087] 실시예 2: PLGA(Poly(D,L-lactide-co-glycolide))와 히알루론산과의 복합 고분자의 합성

[0088] 탈염된(desalted) 히알루론산 0.2g과 dmPEG(dimethyl ether of poly(ethyleneglycol)) 1.0g을 혼합하고, 동결 건조시켰다. 히알루론산/dmPEG 복합체 혼합물을, 무수 DMSO(dimethyl sulfoxide) 12ml 용액에 첨가하여 80°C에서 2시간 동안 용해시키고, 상온에서 냉각시켰다. 히알루론산의 카르복실기가 활성화되도록, DCC(dicyclohexylcarbodiimide) 206mg(1 mmol)과 DMAP(4-dimethylaminopyridine) 122mg(1 mmol)을 상기 혼합 용액에 첨가하였다.

[0089] 2시간 동안 교반한 후, PLGA 0.26g이 용해되어 있는 DMSO 6ml 용액을 천천히 상기 혼합용액에 첨가하여 반응 혼합물을 제조하였다. 반응 혼합물을 상온에서 2일 동안 교반하였다. 이어서, 상기 반응 혼합물을 멤브레인(분획 분자량(DMSO): 10,000 Da)을 이용하여, 무수 DMSO에 대해 1일 동안 분리(dialyzed)하였으며, 증류수에 대해 3일 동안 분리 및 동결건조시켜 PLGA와 히알루론산과의 복합 고분자 공중합체(HA-PLGA copolymer)를 수득하였다(수율: 90%).

[0090] 실시예 3: 카테콜기가 결합된 히알루론산-PLGA 중합체 나노입자의 제조

[0091] HA-PLGA 공중합체의 자유 카르복실기(free carboxylate group)와 도파민(dopamine)의 1급 아민기(primary amine group)간의 결합을 통하여, 카테콜-히알루론산-PLGA 중합체 및 나노입자를 합성하였다.

[0092] 상기 실시예 2에서 제조된 HA-PLGA 공중합체 60mg 수용액(pH 5.5)을 상온에서 12시간 동안 교반하여, HA-PLGA 공중합체가 자가조립된 나노입자를 준비하였다. 나노입자 표면의 자유 카르복실기가 활성화되도록, EDC·HCl(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride) 9.6mg(0.05 mmol)과 NHS(N-hydroxysuccinimide) 5.8 mg(0.05 mmol)을 상기 나노입자가 형성된 용액에 첨가하였다.

[0093] 2시간 경과 후, 도파민 하이드로클로라이드(dopamine hydrochloride) 6.2 mg(0.033 mmol)을 상기 용액과 혼합시키고 상온에서 12시간 동안 교반하였다. 이어서, 상기 용액을 멤브레인(MWCO: 10,000 Da)을 이용하여 2일 동안 분리 및 동결건조시켜 카테콜기가 결합된 HA-PLGA 나노입자를 수득하였다(수율: 95%).

[0094] 실시예 4: 접착형 나노입자 및 성장인자(EGF)가 함께 도입된 수화젤의 제조

[0095] 상기 실시예 3에서 합성된 접착형 나노입자가 0.5mg 존재하는 PBS 100 μL (pH 4.0)에 상기 실시예 1에서 합성된 수화젤을 넣고 37 °C에서 인큐베이션 시켜 나노입자를 연결시킨 후 팽윤된 수화젤에 EGF가 1μg 포함된 PBS 50 μL (pH 4.0)를 연속적으로 첨가하여 인큐베이션 시켰다. 그 후 상온에서 1일간 건조하여 나노입자와 정전기적 인력으로 EGF가 담지된 수화젤을 제조하였다.

[0096] 실시예 5: 접착형 나노입자 및 성장인자(BMP-2 및 IGF-1)가 함께 도입된 수화젤의 제조

[0097] 상기 실시예 3에서 합성된 접착형 나노입자가 0.5mg 존재하는 PBS 100 μL (pH 4.0)에 상기 실시예 1에서 합성된 수화젤을 넣고 37 °C에서 인큐베이션 시켜 나노입자를 연결시킨 후 팽윤된 수화젤에 BMP-2 및 IGF-1이 각각

1 μ g씩 포함된 PBS 50 μ L (pH 4.0)를 연속적으로 첨가하여 인큐베이션 시켰다. 그 후 상온에서 1일간 건조하여 나노입자와 정전기적 인력으로 BMP-2 및 IGF-1가 담지 된 수화젤을 제조하였다.

[0098] 비교예 1: 성장인자(EGF)가 도입된 수화젤의 제조

[0099] 본 발명에 따른 접착형 나노입자의 존재 유무에 따른 성장인자(EGF)의 방출 패턴 비교를 위하여, 실시예 4와 달리 접착형 나노입자를 포함하지 않는 수화젤을 비교예로서 제조하였다. 먼저, 상기 실시예 1에서 합성된 수화젤을 EGF 0.1 μ g이 포함된 PBS 150 μ L (pH 7.4)에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 인큐베이션 시킨 후 상온에서 1일간 건조하여 EGF가 담지 된 수화젤을 제조하였다.

[0100] 비교예 2: 성장인자(BMP-2 및 IGF-1)가 도입된 수화젤의 제조

[0101] 본 발명에 따른 접착형 나노입자의 존재 유무에 따른 성장인자(BMP-2 및 IGF-1)의 방출 패턴 비교를 위하여, 실시예 5와 달리 접착형 나노입자를 포함하지 않는 수화젤을 비교예로서 제조하였다. 먼저, 상기 실시예 1에서 합성된 수화젤을 BMP-2 및 IGF-1이 각각 0.1 μ g씩 포함된 PBS 150 μ L (pH 7.4)에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 인큐베이션 시킨 후 상온에서 1일간 건조하여 EGF가 담지 된 수화젤을 제조하였다.

[0102] 실험예 1: 수화젤의 팽윤 효과 확인

[0103] 상기 실시예 4에서 제조된 접착형 나노입자 및 성장인자가 도입된 수화젤 및 상기 비교예 1에서 제조된 성장인자만이 도입된 수화젤을 각각 PBS 4 mL(pH 7.4)에 넣고 37 $^{\circ}$ C, 100 rpm으로 40일간 팽윤 실험(in vitro)하였다.

[0104] 도 5 및 도 6에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 접착형 나노입자 담지 유무에 관계없이 일정한 팽윤거동을 보이는 것으로 확인 되었다.

[0105] 양 치은 확장기(실시예 4 및 비교예)의 팽윤도는 700% 이상으로 치은조직 확장에 적합한 팽윤도를 갖는 것으로 확인되었다.

[0106] 실험예 2: 성장인자(EGF) 도입에 따른 서방출 효과 확인

[0107] 성장인자 EGF만을 담지시킨 수화젤(비교예 1)의 경우 초기 성장인자의 방출 거동은 초기 성장인자가 급격히 방출되는 양상을 보였으며 단기간 내에 방출이 종료되었다. 반면, 본 발명에 따른 접착형 나노입자와 EGF를 함께 담지 시킨 수화젤(실시예 4)의 경우 초기 성장인자의 방출양이 현저히 낮아졌으며 장시간 서방형 방출거동을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

[0108] 성장인자의 방출효과를 확인하기 위하여 형광단백질이 표지된 성장인자를 이용하였으며, 성장인자 EGF의 in vitro 방출 프로파일을 pH 7.4의 인산완충식염수 내에서 확인하였다.

[0109] 도 7에 나타난 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 접착형 나노입자를 함께 담지한 경우 성장인자의 초기 burst 방출 및 서방형 방출이 가능하다는 것이 확인되었다.

[0110] 실험예 3: 성장인자(BMP-2 및 IGF-1) 도입에 따른 서방출 효과 확인

[0111] 상기 접착형 나노입자 및 성장인자(BMP-2 및 IGF-1)가 함께 도입된 수화젤(실시예 5)을 인산완충식염수 3 mL에 침지시키고, 150 rpm으로 37 $^{\circ}$ C에서 교반하여 평형시켰다.

[0112] 방출매질은 미리-결정된 시간구간에서 완전히 교체되었으며, 모든 샘플들은 실험동안 -20 $^{\circ}$ C에서 보관되었다. 방출된 BMP-2 및 IGF-1에 대한 매질 상층액을 ELISA 진단 키트를 사용하여, 통상의 방법에 따라 분석하였다.

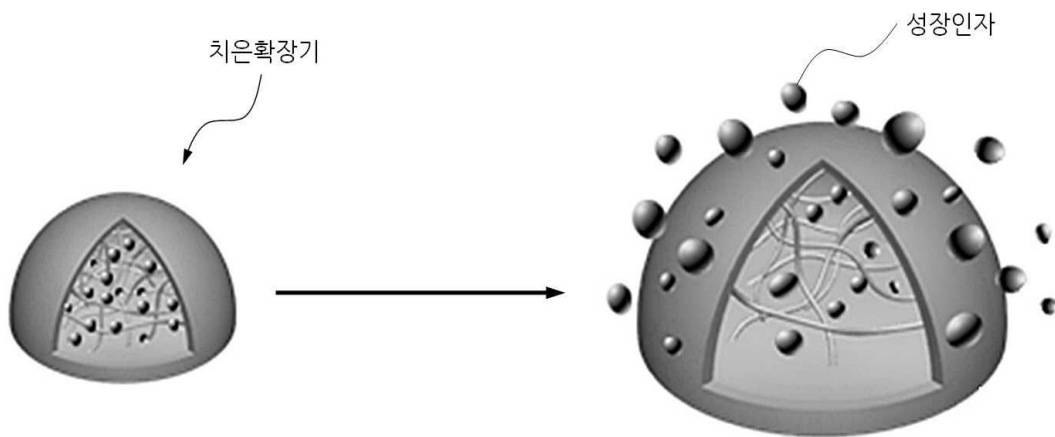
[0113] 도 8에 나타난 바와 같이, 복수의 성장인자(BMP-2 및 IGF-1)는 초기 과도한 방출 없이 30일에 걸쳐 서서히 방출되었다. 이로써, 상기 치은 확장기가 보유한 성장인자 서방출 효과를 확인할 수 있었다.

[0114] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

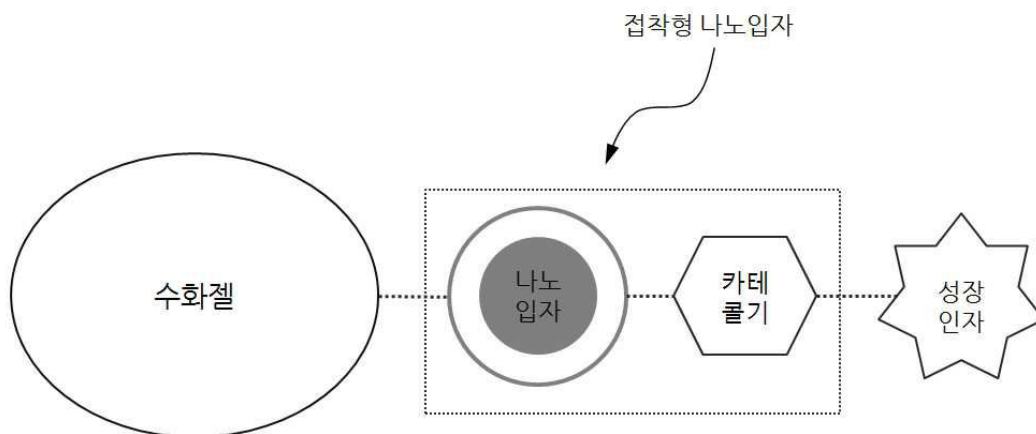
[0115] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

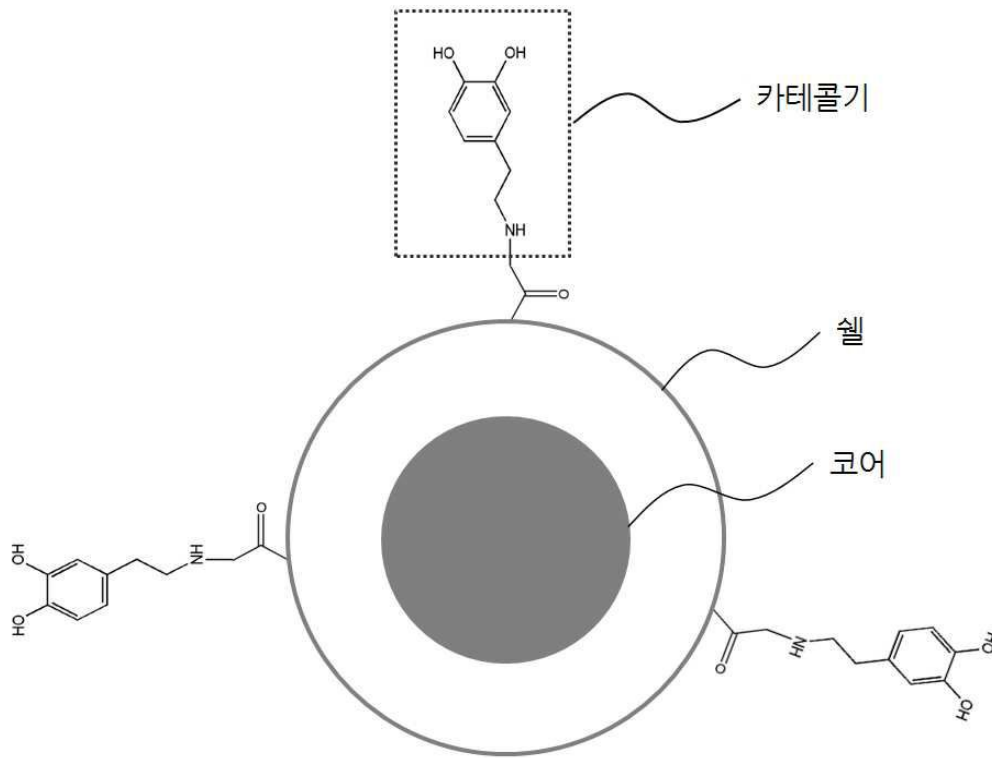
도면1



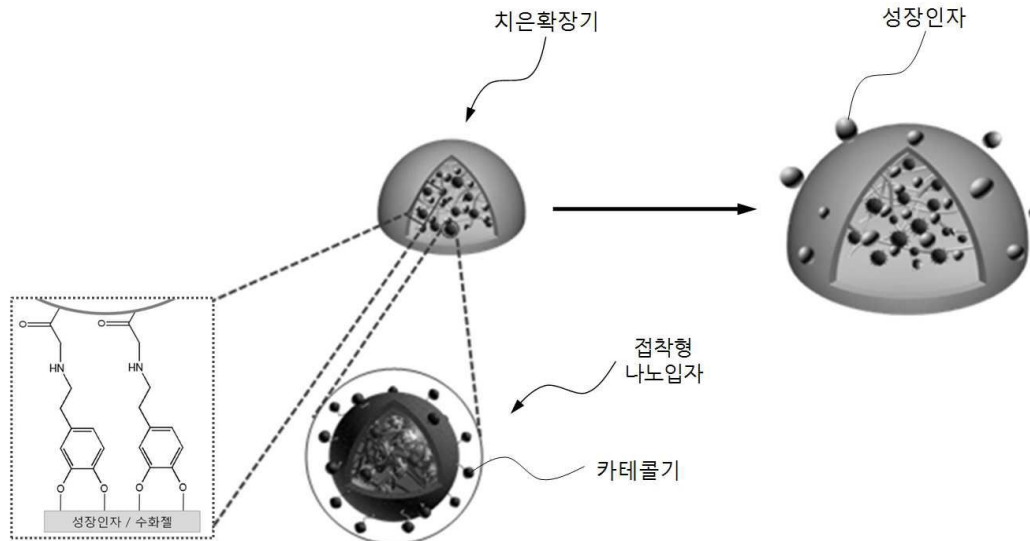
도면2



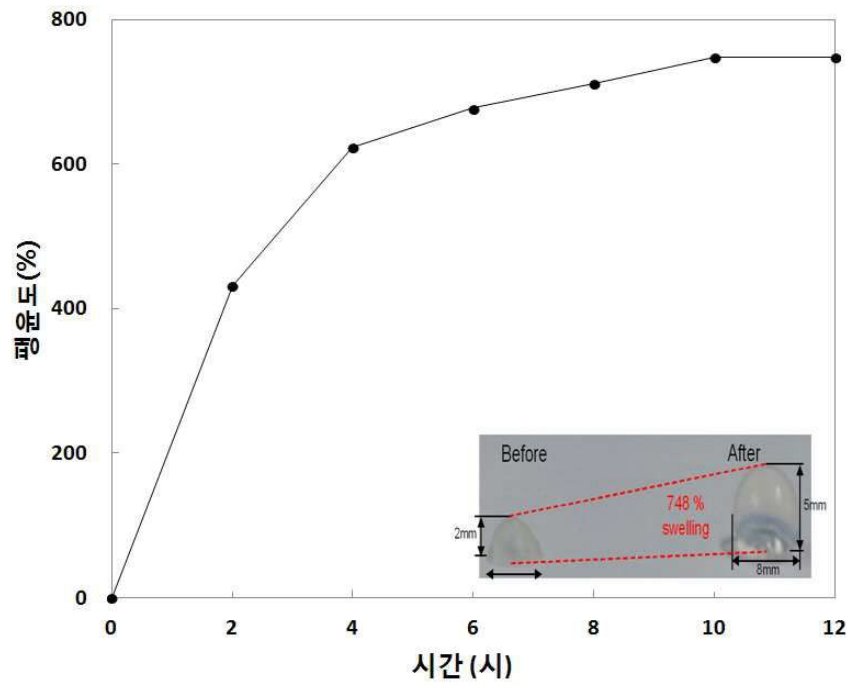
도면3



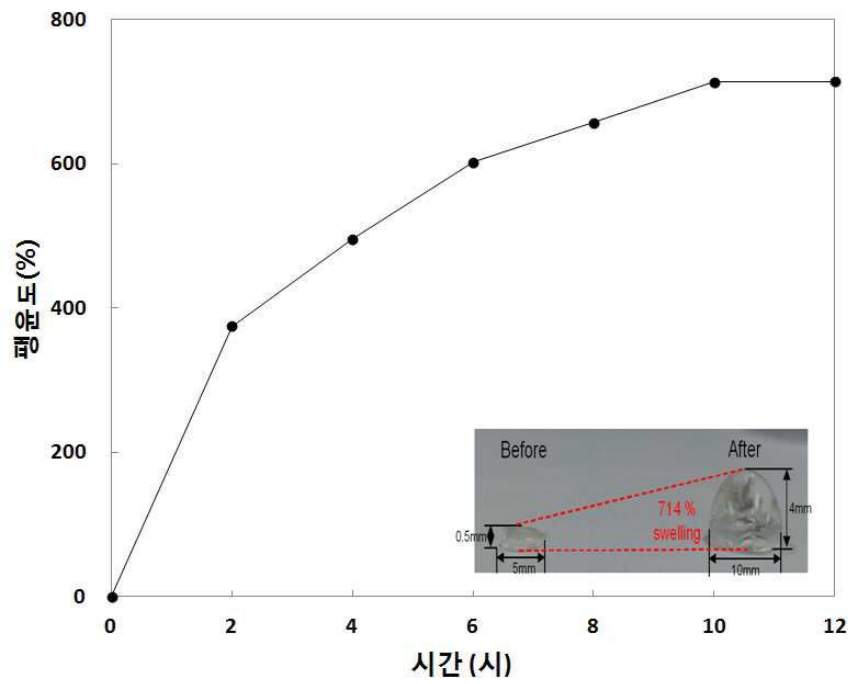
도면4



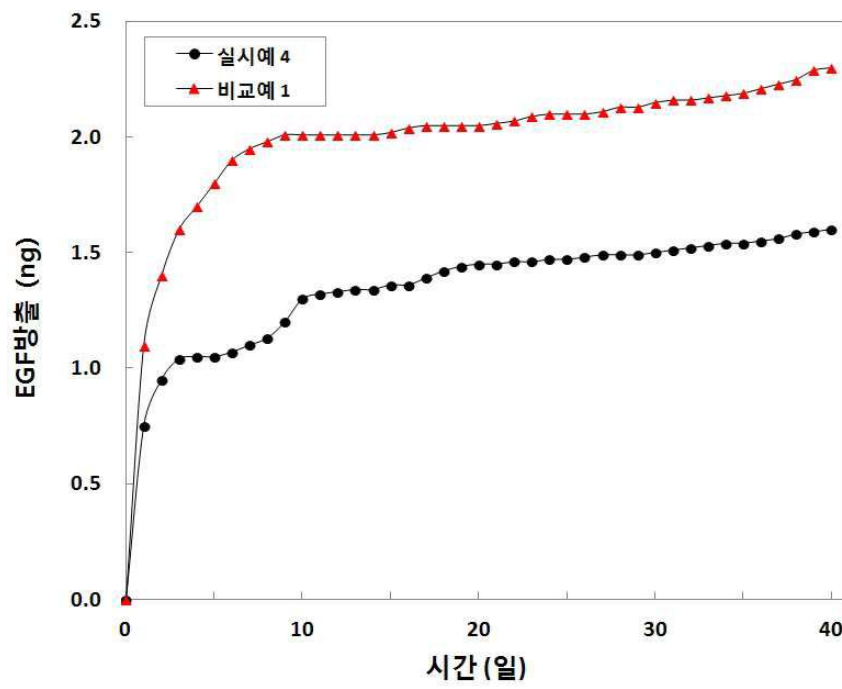
도면5



도면6



도면7



도면8

