(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0160654
(43) 공개일자 2023년11월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/06 (2006.01) *A61K 47/36* (2017.01)
A61P 27/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/06 (2013.01)
A61K 47/36 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0060473
(22) 출원일자 2022년05월17일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
허강무
대전광역시 유성구 어은로 57, 131동 1503호(어은동, 한빛아파트)
레티푹
대전광역시 유성구 궁동로 137번길 21 201호(궁동)
(74) 대리인
특허법인 천지

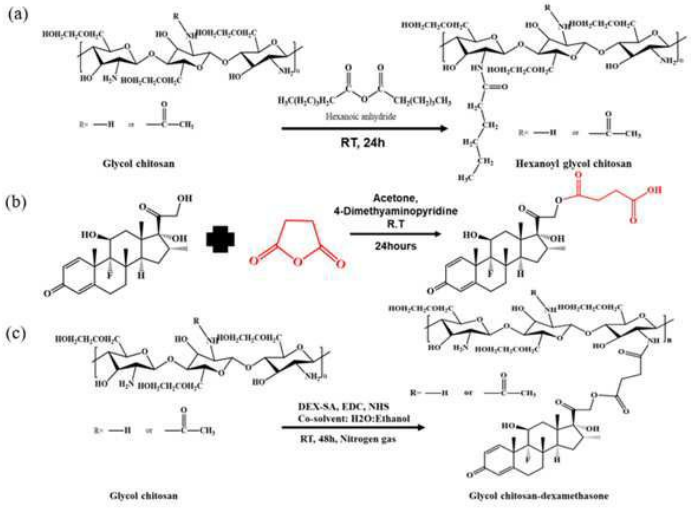
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **약물전달체, 이를 포함하는 귀 질환 치료용 약학적 조성물 및 약물 방출 조절형 제제**

(57) 요 약

높은 약물 로딩량 및 약물 초기 방출량을 효과적으로 제어하는 약물전달체가 제공된다. 본 발명의 일 실시예는 써모겔(thermo gel) 및 측쇄에 치환기를 함유하는 고분자 프로드럭(prodrug)을 포함하고, 상기 치환기는, 소수성 약물유효물질에서 유래되는 분자구조를 포함하는 약물전달체를 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 27/16 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711156630
과제번호 2019M3E5D1A02068573
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 혁신형의사과학자공동연구사업(R&D)
연구과제명 청각기관에 효율적 약물전달을 위한 방출제어형 주입형 약물전달 제형 및 방법 개발
기 여 율 1/2
과제수행기관명 충남대학교산학협력단
연구기간 2019.07.01 ~ 2022.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711174584
과제번호 00040240
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 범부처재생의료기술개발사업단
연구사업명 범부처재생의료기술개발사업
연구과제명 맞춤형 3차원 스페로이드 기반 혈관화 복합 조직체 제작을 통한 골격계 조직 재생 및 분석 기술 개발
기 여 율 1/2
과제수행기관명 한양대학교산학협력단
연구기간 2022.04.01 ~ 2022.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

써모겔(thermo gel); 및

측쇄에 치환기를 함유하는 고분자 프로드럭(prodrug)을 포함하고,

상기 치환기는,

소수성 약물유효물질에서 유래되는 분자구조를 포함하는

약물전달체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 써모겔은,

제1 글리콜 키토산 유도체, 셀룰로오스, 카복시메틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 키틴, 덱스트란, 덱스트린, 젤라틴, 히알루론산, 펙틴, 람노갈락투로난, 자일란 및 이들의 공중합체로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인

약물전달체.

청구항 3

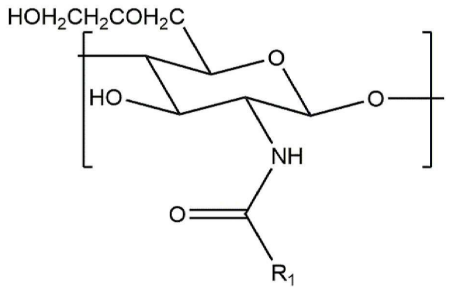
제2항에 있어서,

상기 제1 글리콜 키토산 유도체는

하기 일반식 1로 표시되는 반복단위를 포함하는

약물전달체:

[일반식 1]



상기 일반식 1에서, R_1은 소수성 작용기이다.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 제1 글리콜 키토산 유도체에서 아민기의 아마이드화도는 10 내지 50%인,

약물전달체.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 고분자 프로드럭은,

제2 글리콜 키토산 유도체, 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)(Poly(N-isopropylacrylamide), 폴리에틸렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드-폴리에틸렌옥사이드 코폴리머, 셀룰로오스 유도체 및 키토산-글리세로포스페이트로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인,

약물전달체.

청구항 6

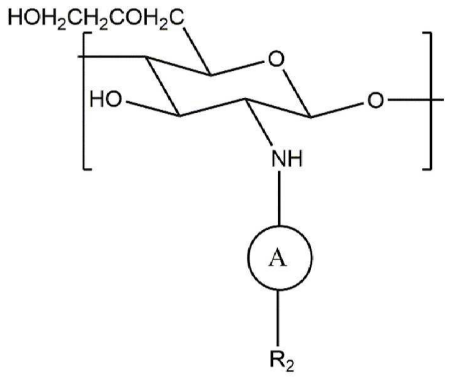
제5항에 있어서,

상기 제2 글리콜 키토산 유도체는,

하기 일반식 2로 표시되는 반복단위를 포함하는

약물전달체:

[일반식 2]



상기 일반식 2에서,

R_2는 상기 소수성 약물유효물질에서 유래되는 분자구조를 포함하고,

A는 생체반응성 링커(linker)에서 유래되는 분자구조를 포함한다.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 제2 글리콜 키토산 유도체에서

상기 소수성 약물유효물질의 치환도(degree of substitution; DS)는 10 내지 30%인,

약물전달체.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 생체반응성 링커는, 고리형 산무수물을 포함하는

약물전달체.

청구항 9

제1항에 있어서,

23 내지 37℃에서 졸-겔 상전이(sol-gel phase transition)가 일어나는

약물전달체.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 써모겔과 상기 고분자 프로드럭의 중량비(써모겔:고분자 프로드럭)는 1:9 내지 9:1인,

약물전달체.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 소수성 약물유효물질은,

항염물질, 항암물질 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 하나인,

약물전달체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 약물전달체를 포함하는 귀 질환 치료용 약학적 조성물.

청구항 13

제12항에 따른 귀 질환 치료용 약학적 조성물을 포함하는 약물 방출 조절형 제제.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 약물전달체에 관한 것으로, 보다 구체적으로 약물전달체, 이를 포함하는 귀 질환 치료용 약학적 조성물 및 약물 방출 조절형 제제에 관한 것이다.

[0002] 또한, 본 발명은 범부처재생의료기술개발사업단으로부터 "맞춤형 3차원 스페로이드 기반 혈관화 복합 조직체 제작을 통한 골격계 조직 재생 및 분석 기술 개발"에 관한 연구과제(과제번호: 22A0105L1-11)를 2022.04.01~2026.12.31동안 지원받은 결과물 중 하나입니다.

배 경 기 술

[0003] 열 가역적 졸-겔 전이 특성(thermo-reversible sol-gel transition properties)을 나타내는 써모겔(thermogel)은 졸 상태로 주사할 수 있고 체내에서 겔화되므로 고실내 약물 전달에 적합하다. 써모겔(thermos gel)은 졸

상태에서 약물과 혼합되어 약물을 담지할 수 있다. 약물과 혼합된 써모겔을 주사하면 체온에 의해 겔로 응고된다. 대표적인 써모겔인 폴록사머(Poloxamer)는 내이로의 약물 전달을 위해 이용되었다. 그러나 폴록사머는 효과적인 열 겔화(thermos gelation)를 위해 고농도(20 wt% 이상)가 필요하고, 생분해성 및 물리적 안전성이 충분하지 않으며, 부작용을 갖는 것으로 보고되었다.

[0004] 한편, 프로드럭(prodrug)은 그 자체로 약효가 없지만 체내의 대사 과정으로 구조가 변하면서 효과가 나타나는 약물을 의미한다. 종래 프로드럭(prodrug)으로 사용되는 온도감응성 하이드로겔(thermo-sensitive hydrogel)은 예를 들어, 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)(Poly(N-isopropylacrylamide)), 폴리에틸렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드-폴리에틸렌옥사이드 코폴리머(PEO-PPO-PEO), 셀룰로오스 유도체(cellulose-derivative), 키토산-글리세로포스페이트(Chitosan-glycerophosphate) 등일 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 졸-겔 전이 특성을 보이면서, 약물 초기 방출량을 효과적으로 제어할 수 있는 약물전달체를 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 우수한 물리적 안정성 및 탄성 회복 특성을 나타내는 약물전달체를 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 또 다른 목적은, 생체적합성이 우수한 약물전달체를 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 다양한 약물유효물질을 체내의 목표하는 위치에 효과적으로 전달할 수 있는 약물전달체를 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 약물전달체를 포함하는 귀 질환 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 귀 질환 치료용 약학적 조성물을 포함하는 약물 방출 조절형 제제를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 목적들은 이상에서 언급한 목적으로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 본 발명의 다른 목적 및 장점들은 하기의 설명에 의해서 이해될 수 있고, 본 발명의 실시예에 의해 보다 분명하게 이해될 것이다. 또한, 본 발명의 목적 및 장점들은 청구범위에 나타낸 수단 및 그 조합에 의해 실현될 수 있음을 쉽게 알 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예는, 써모겔(thermo gel); 및 측쇄에 치환기를 함유하는 고분자 프로드럭(prodrug)을 포함하고, 상기 치환기는,소수성 약물유효물질에서 유래되는 분자구조를 포함하는 약물전달체를 제공한다.

[0013] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 다른 실시예는, 상기 약물전달체를포함하는 귀 질환 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

[0014] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 실시예는, 상기 귀 질환 치료용 약학적 조성물을 포함하는 약물 방출 조절형 제제를 제공할 수 있다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 일 실시예에 따르면 온도의 변화에 따른 졸-겔 전이특성을 가질 뿐만 아니라, 약물 로딩량을 높일 수 있음과 동시에 약물 초기 방출량을 효과적으로 제어할 수 있고, 우수한 물리적 안정성 및 탄성 회복 특성을 나타내며 생체적합성이 우수한 약물전달체를 제공할 수 있다. 이러한 약물전달체를 다양한 염증, 항암 치료에 널리 사용함으로써, 다양한 주입형 약물 방출 조절형 제제를 제공할 수 있다.

[0016] 상술한 효과와 더불어 본 발명의 구체적인 효과는 이하 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용을 설명하면서 함께 기술한다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 약물전달체의 합성과정을 나타낸 반응식이다.

도 2는 GC와 HGC 각각의 ^{1}H NMR 결과(a) 및 ATR-FTIR 결과(b)를 나타낸 것이다.

도 3은 GC, GC-DEX, DEX 및 DEX-SA의 특징(characterization)에 관한 분석결과를 나타낸 것이다.

도 4는 제조예 1에 따른 하이드로겔의 온도에 따른 졸-겔 전이 특성을 나타낸 것이다.

도 5는 제조예 1에 따른 하이드로겔의 유변학적 거동 및 튜브반전방법 분석을 나타낸 것이다.

도 6은 주사용 적용을 위한 제조예 1에 따른 하이드로겔의 전단박화특성 및 요변성 회복 특성을 나타낸 것이다.

도 7은 GC-DEX 내 에스테르 결합의 가수분해 능력 및 제조예 1에 따른 하이드로겔의 물리적 안정성의 평가결과를 나타낸 것이다.

도 8은 제조예 2에 따른 제제의 시험관 내(in vitro) 초기 약물 방출 평가를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 각 구성을 보다 상세히 설명하나, 이는 하나의 예시에 불과할 뿐, 본 발명의 권리범위가 다음 내용에 의해 제한되지 아니한다.

[0019] 본 발명의 일 실시예는 써모겔(thermo gel) 및 측쇄에 치환기를 함유하는 고분자 프로드럭(prodrug)을 포함하고, 상기 치환기는, 소수성 약물유효물질에서 유래되는 분자구조를 포함하는 약물전달체를 제공한다. 본 발명의 일 실시예에 따르면 온도의 변화에 따른 졸-겔 전이특성을 가질 뿐만 아니라, 약물 로딩량을 높일 수 있음과 동시에 약물 초기 방출량을 효과적으로 제어할 수 있고, 우수한 물리적 안정성 및 탄성 회복 특성을 나타내며 생체적합성이 우수한 약물전달체를 제공할 수 있다. 이러한 약물전달체를 다양한 염증, 항암 치료에 널리 사용함으로써, 다양한 주입형 약물 방출 조절형 제제를 제공할 수 있다.

[0020] 이하에서는, 본 발명의 구성을 보다 상세히 설명한다.

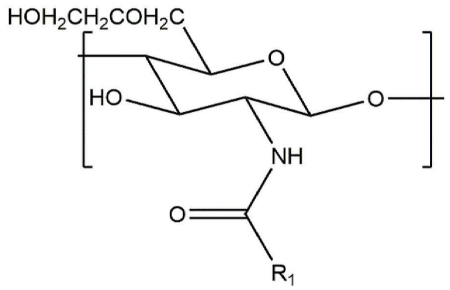
[0021] **1. 약물전달체**

[0022] 본 발명에 따른 약물전달체는 써모겔(thermo gel)을 포함한다. 구체적으로, 상기 써모겔은 후술할 고분자 프로드럭과 혼합되어 특정 온도에서 졸-겔 전이 특성을 보이며 체내에서 겔화되는 특성을 약물전달체에 부여할 수 있다.

[0023] 상기 써모겔(thermo gel)은 예를 들어, 제1 글리콜 키토산 유도체, 셀룰로오스, 카복시메틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 키틴, 덱스트란, 덱스트린, 젤라틴, 히알루론산, 펙틴, 람노갈락투로난, 자일란 및 이들의 공중합체로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있고, 구체적으로 제1 글리콜 키토산 유도체일 수 있다. 상기 제1 글리콜 키토산 유도체는 pH가 중성인 물에 잘 녹고, 독성이 적으며 생체분해성이 우수하고 물리적으로 안정된 특성을 보일 수 있다.

[0024] 상기 제1 글리콜 키토산 유도체는 하기 일반식 1로 표시되는 반복단위를 포함할 수 있다.

[0025] [일반식 1]

[0026] 

[0027] 상기 일반식 1에서 R_1은 소수성 작용기일 수 있고, 구체적으로 탄소 수 1 내지 10의 알킬기일 수 있고, 더욱 구체적으로 탄소 수 4 내지 8의 알킬기일 수 있다. 상기 R_1은 소수성 작용기에 해당함에 따라 후술할 고분자 프로드럭의 소수성 약물유효물질과 소수성 상호작용이 강해질 수 있다. 이에 따라 약물전달체의 우수한 물리적 안정성 및 탄성 회복 특성이 구현될 수 있다.

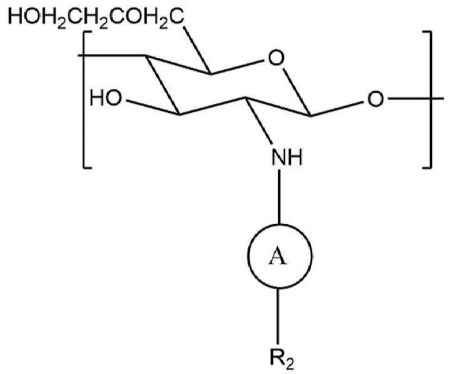
[0028] 상기 제1 글리콜 키토산 유도체에서 아민기의 아마이드화도는 10 내지 50%일 수 있고, 구체적으로 30 내지 45%일 수 있고, 더욱 구체적으로 32 내지 38%일 수 있다. 상기 아민기의 아마이드화도는 글리콜 키토산의 아민기($-NH_2$)가 R_1-C=O기를 함유하는 화합물과 반응하여 아마이드기로 치환되는 정도를 의미하며, ^{1}H NMR 분석법을 통해 글루코피라노실 고리와 R_1-C=O기의 수소원자 피크의 적분값을 비교하여 측정될 수 있다. 상기 아마이드화도의 범위가 상기 수치 범위 내를 만족할 때, 온도 감응성 특성을 가질 수 있다. 다만 상기 아마이드화도의 범위는 소수성 약물유효물질의 종류에 따라 다양하게 달라질 수 있다.

[0029] 본 발명에 약물전달체는 고분자 프로드럭을 포함하며, 상기 고분자 프로드럭은 측쇄에 치환기를 함유한다. 상기 치환기는 소수성 약물유효물질에서 유래되는 분자구조를 포함한다. 상기 고분자 프로드럭은 소수성 약물유효물질과 화학적 결합(예: 공유결합)을 형성하여 생체 반응성 조건에서 화학결합이 분해되어 소수성 유효물질을 체내 목표하는 위치에 효과적으로 전달할 수 있다.

[0030] 상기 고분자 프로드럭은 친수성 고분자 화합물일 수 있고, 예를 들어, 상기 친수성 고분자 화합물은 제2 글리콜 키토산 유도체, 히알루론산, 덱스트란, 펙틴, 콘드로이틴 설페이트, 헤파린, 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)(Poly(N-isopropylacrylamide), 폴리에틸렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드-폴리에틸렌옥사이드 코폴리머, 셀룰로오스 유도체 및 키토산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있고 구체적으로 제2 글리콜 키토산 유도체일 수 있다. 친수성 고분자 화합물과 소수성 약물유효물질이 화학적으로 결합하여 약물을 로딩하는 화학적 로딩(chemical loading) 방법을 수행함에 따라 물리적 로딩(physical loading) 방법 대비, 약물의 보존 시간을 연장시킬 수 있을 뿐만 아니라 초기 방출량과 방출속도를 효과적으로 제어하여 약물 농도가 적정 이상으로 증가하여 약물 중독이 일어나는 것을 효과적으로 방지할 수 있다.

[0031] 상기 제2 글리콜 키토산 유도체는 하기 일반식 2로 표시되는 반복단위를 포함할 수 있다.

[0032] [일반식 2]

[0033] 

[0034] 상기 일반식 2에서, R_2는 상기 소수성 약물유효물질에서 유래되는 분자구조를 포함하고, A는 생체반응성 링커(linker)에서 유래되는 분자구조를 포함한다. 상기 생체반응성 링커는 상기 소수성 약물유효물질과 고분자 프로드럭의 측쇄에 결합된 작용기를 연결할 수 있고 상기 소수성 약물유효물질의 종류에 따라 다양하게 변형될 수 있다. 상기 A는 예를 들어, 탄소 수 1 내지 30의 유기기로 케톤기, 디설파이드기(S-S) 및 디셀레나이드기(Se-Se) 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 상기 생체반응성 링커는 예를 들어 고리형 산무수물을 포함할 수 있고 구체적으로 숙신산 무수물 등을 포함할 수 있다.

[0035] 상기 제2 글리콜 키토산 유도체에서 상기 소수성 약물유효물질의 치환도(degree of substitution; DS)는 10 내지 30%, 구체적으로 10 내지 25%일 수 있고, 더욱 구체적으로 15 내지 20%일 수 있다. 상기 소수성 약물유효물질의 치환도는 ^{1}H NMR 분석법을 통해 글루코피라노실 고리와 소수성 약물유효물질에서 유래된 분자구조의 수소원자 피크의 적분값을 비교하여 측정될 수 있다. 상기 소수성 약물유효물질의 치환도가 상기 수치 범위 내를 만족할 때, 소수성 약물유효물질에서 비롯된 치료효과를 유지할 수 있고, 높은 약물 로딩량 및 약물 초기 방출량을 효과적으로 제어할 수 있고, 우수한 물리적 안정성 및 탄성 회복 특성을 나타내며 생체적합성이 우수한 약물전달체를 제공할 수 있다.

[0036] 본 발명에 따른 소수성 약물유효물질은 예를 들어, 항염물질, 항암물질 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 하나일 수 있고, 구체적으로 스테로이드계 화합물일 수 있고, 더욱 구체적으로 클로베타솔(clobetasol),

할로메타손(halometasone), 덱사메타손(dexamethasone), 디플로라손(diflorasone), 플루오시노나이드(fluocinonide), 할로베타솔(halobetasol), 암신노나이드(amcinonide), 할로시노나이드(halcinonide), 하이드로코르티손(hydrocortisone), 플루티카손(fluticasone), 모메타손(mometasone), 플루오시놀론(fluocinolone), 데소나이드(desonide), 프레드니손(prednisone), 메틸프레드니솔론(methylprednisolone), 프레드니솔론(prednisolone), 이들의 수화물 또는 용매화물, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0037] 상기 소수성 약물은 항염물질, 항암물질로 특별히 제한되지 않으나, 구체적인 예로 파클리탁셀(Paclitaxel), 독소루비신(Doxorubicin), 도세탁셀(Docetaxel), 젬시타빈, 실로리무스, 에토포사이드, 빈블라스틴, 빈카알칼로이드, 시스플라틴, 글리벡, 아드리아마이신, 시클로포스파미드, 테니포사이드, 5-플로오로우라실, 캠토세신, 타목시펜, 아나스테로졸, 플록슈리딘, 류프로리드, 플로타미드, 졸레드로네이트, 빈크리스틴, 스트렙토조토신, 카보플라틴, 토포테칸, 벨로테칸, 이리노테칸, 비노렐빈, 히도록시우레아, 발루비신, 레티노익산(retinoic acid) 계열, 메소트렉세이트, 메클로레타민, 클로람부실, 부술판, 독시플루리딘, 프레드니손, 테스토스테론, 미토산트론, 아스피린, 살리실레이트, 이부프로펜, 나프로센, 페노프로펜, 인도메타신, 페닐부타존, 시클로포스파미드, 메클로에타민, 덱사메타손, 셀레콕시브, 발데콕시브, 니메슐리드, 코르티손, 코르티코스테로이드 및 마이토마이신 C 등으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 또는 둘 이상을 포함하는 것일 수 있다. 상기 소수성 약물은 고분자 프로드럭에 해당하는 친수성 고분자와 화학적 결합을 할 수 있다.

[0038] 본 발명에 따른 약물전달체는 졸-겔 상전이(sol-gel phase transition)가 23 내지 37℃, 구체적으로 24 내지 33℃에서, 더욱 구체적으로 28 내지 33℃에서 일어날 수 있다. 온도의 변화에 따른 상기 졸-겔 상전이는 튜브반전방법(tube inverting method) 또는 유변학적 분석방법(rheological measurement)에 의해 분석될 수 있다. 상기 약물전달체의 졸-겔 상전이가 상기 온도 범위 내에서 일어남에 따라 체온에 의해 겔로 응고되는 과정을 거쳐 약물을 목표하는 위치에 효과적으로 전달할 수 있다.

[0039] 본 발명에 따른 써모겔과 고분자 프로드럭의 중량비(써모겔:고분자 프로드럭)는 1:9 내지 9:1일 수 있고, 구체적으로 2:8 내지 8:2일 수 있고, 5:5 내지 8:2일 수 있다. 상기 써모겔과 상기 고분자 프로드럭의 중량비가 상기 수치 범위 내를 만족할 때 온도 감응성을 보이면서 약물 초기 방출량을 효과적으로 제어할 수 있고, 우수한 물리적 안정성 및 탄성 회복 특성을 나타내며 생체적합성이 우수한 약물전달체를 제공할 수 있다.

[0040] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 약물전달체의 합성과정을 나타낸 반응식이다.

[0041] 도 1을 참고하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 약물전달체는 헥사노일 글리콜 키토산(hexanoyl glycol chitosan; HGC)과 글리콜 키토산-덱사메타손(glycol chitosan-dexamethasone)의 혼합물일 수 있다. 구체적으로, 상기 헥사노일 글리콜 키토산은 써모겔(thermos gel)로서 글리콜 키토산과 헥사노익 안하이드라이드가 반응하여 생성될 수 있다. 상기 글리콜 키토산-덱사메타손은 고분자 프로드럭(prodrug)으로, 글리콜 키토산과, 덱사메타손이 숙신산 무수물과 반응하여 생성된 화합물이 반응하여 생성될 수 있다.

[0042] **2. 귀 질환 치료용 약학적 조성물**

[0043] 본 발명의 또 다른 실시예는 상기 약물전달체를 포함하는 귀 질환 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

[0044] 상기 약물전달체의 함량은 상기 귀 질환 치료용 약학적 조성물의 전체 중량을 기준으로, 0.1 내지 4 중량%, 1 내지 4 중량%, 1.5 내지 4중량%, 2 내지 4 중량%, 2.5 내지 4 중량%, 3 내지 4 중량%, 3.5 내지 4 중량%; 0.1 내지 3.5 중량%, 1 내지 3.5 중량%, 1.5 내지 3.5 중량%, 2 내지 3.5 중량%, 2.5 내지 3.5 중량%, 3 내지 3.5 중량%; 0.1 내지 3 중량%, 1 내지 3 중량%, 1.5 내지 3 중량%, 2 내지 3 중량%, 2.5 내지 3 중량%; 0.1 내지 2.5 중량%, 1 내지 2.5 중량%, 1.5 내지 2.5 중량%, 2 내지 2.5 중량%, 0.1 내지 2 중량%, 1 내지 2 중량%, 1.5 내지 2 중량%; 또는 0.1 내지 1.5 중량%, 0.1 내지 1.2 중량%, 0.1 내지 1 중량%, 0.1 내지 0.5 중량%, 0.1 내지 0.4 중량%일 수 있다.

[0045] 상기 귀 질환은 예를 들어, 메니에르병; 감각신경성 난청; 해열제, 항암제, 항생제 등 약물에 의해 발생하는 이독성 난청; 소음성 난청; 노인성 난청; 이명; 전정 신경염; 청신경 종양; 이경화증; 외림프누공, 미로진탕, 및 측두골골절 등이 원인인 외상성 난청; 자가면역 내이 질환일 수 있으며, 상기 자가면역 내이 질환은 강직성 척추염, 전신 홍반성 루프스(SLE), 쇼그렌 증후군, 코간병, 궤양성 대장염, 베게너 육아종증, 류마티스성 관절염, 경피증, 또는 베체트병이 원인인 것일 수 있다.

[0046] 상기 약학적 조성물은 귀에서 30분 이상, 90분 이상, 3시간 이상, 1일 이상, 2일 이상, 3일 이상, 4일 이상, 5일 이상, 6일 이상, 7일 이상, 8일이상, 9일 이상, 10일 이상, 11일 이상, 또는 12일 이상 잔류할 수 있다.

[0047] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 약학적 조성물은 Na/K ATPase 조절인자, 화학요법제, 콜라겐, 감마-글로불린, 인터페론, 항균제, 항생제, 국소 작용 마취제, 혈소판 활성화 인자 길항제, 귀 보호제, 산화질소 합성효소 억제제, 현기증 억제제, 바소프레신 길항제, 항바이러스제, 제토제, 항-TNF제, 바소프레신 수용체 조절인자, 메토트렉세이트, 시클로포스파미드, 면역억제제, 마크롤라이드, 라타노프로스트, TNF 전환효소 억제제, IKK 억제제, 글루타메이트 수용체 조절인자, 항-아폽토시스제, 신경보호제, 탈리도마이드, c-jun 억제제 화합물, 히알루로니다제, 항산화제, IL-1 베타 조절 인자, ERR-베타 길항제, IGF-조절인자, Toll-유사 수용체, KCNQ 채널 조절인자, 뉴로트로핀 조절인자, ATOH 조절인자 또는 이의 조합을 더 포함할 수 있다.

[0048] 상기 약학적 조성물은 약제의 제조에 통상적으로 사용하는 담체, 부형제, 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 약학적 조성물은 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균주사용액의 형태로 제형화 하여 사용될 수 있다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘스테아레이트 및 광물유일 수 있으나 특별히 한정되는 것은 아니다.

[0049] **3. 약물 방출 조절형 제제**

[0050] 본 발명의 또 다른 실시예는 상기 귀 질환용 약학적 조성물을 포함하는 약물 방출 조절형 제제를 제공할 수 있다. 상기 약물 방출 조절은 귀 내에서 약물의 방출 속도 및 전달 속도를 조절하는 것을 의미할 수 있다.

[0051] 본 발명의 일 실시예에 따른 약물 방출 조절형 제제를 통해 써모겔에 물리적으로 담지된 약물보다 초기 약물 방출 속도를 효과적으로 조절할 수 있고, 체내 목표하는 위치에서 약물 효과를 장기간 동안 유지할 수 있다.

[0052] 본 발명에 따른 약물 방출 조절형 제제는 주입형 제제일 수 있다. 구체적으로 상기 약물 방출 조절형 제제는 온도감응성 특성을 갖기 때문에 주입형 제제가 바람직할 수 있다.

[0053] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시예에 대하여 상세히 설명하나, 이는 하나의 예시에 불과할 뿐, 본 발명의 권리범위가 다음 내용에 의해 제한되지 아니한다.

[0054] **[제조준비예: 재료의 준비]**

표 1

[0055]

재료	특징	구입처
글리콜키토산(glycol chitosan; GC)	아세틸화도=12.33±0.47%/중합도(DP)가 200 이상	WAKO (Japan)
덱사메타손(Dexamethasone; DEX)	-	Farmabios (Italy)
덱사메타손 포스페이트 소듐(dexamethasone phosphate sodium; DSP)	-	Steraloids (USA)

[0057] **[제조예 1: 하이드로겔의 제조]**

[0058] **<실시예 1: 온도감응성 약물전달체의 제조>**

[0059] **1.1 N-헥사노일 글리콜 키토산의 합성**

[0060] 글리콜 키토산(glycol chitosan; 3g; 이하 'GC'라 한다)을 증류수(375ml)에 녹인 후 메탄올(375ml)로 희석된 글리콜 키토산 용액을 제조하였다. 미리 정해진 양(1.1 ml)의 헥사노익 안하이드라이드(hexanoic anhydride)를 격렬하게 교반하면서 상기 글리콜 키토산 용액에 첨가하였다. 상기 헥사노익 안하이드라이드가 첨가된 글리콜 키토산 용액을 상온에서 24시간 동안 계속 교반한 후 생성된 생성물을 아세톤에 침전시켜 수집한 후, 투석막(molecular weight cut-off (MWCO) = 12~14kDa)을 사용하여 증류수에 대해 2일 동안 투석하였다. 이후 그 결과물을 4일 동안 동결건조한 후 분말 형태의 N-헥사노일 글리콜 키토산(이하 'HGC' 라 한다)을 수득하였다.

[0061] **1.2 덱사메타손-숙시네이트의 합성**

[0062] 질소 가스 하 아세톤(160ml)에, 덱사메타손(dexamethasone; DEX; 0.982g), 숙신산 무수물(succinic anhydride; 4.208g) 및 4-디메틸아미노피리딘(4-dimethylaminopyridine; DMAP; 0.318g)이 용해된 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 교반된 결과물에서 아세톤을 증발하여 수득된 백색 결정을 에탄올(50ml)에 용해시킨 다음, 탈이온수(300ml)를 서서히 첨가하여 덱사메타손 숙시네이트 용액을 제조하였다. 상기 덱사메타손 숙시네이트 용액을 4℃에서 2일 동안 유지한 결과, 침전되는 백색 침상 결정을 수득하였다. 상기 침전물을 여과하고 감압 하에 건조하여 덱사메타손-숙시네이트(이하 'DEX-SA'라 한다)를 합성하였다. 이러한 재침전 과정은 두 번 수행되었다.

[0063] **1.3 덱사메타손-글리콜 키토산의 합성**

[0064] 글리콜 키토산(0.5g)을 50ml의 증류수에 녹여 투명한 글리콜 키토산 용액을 제조하였다. 이어서, DEX-SA(0.296g), 상기 DEX-SA에 대해 1.5M 당량인 EDC(N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride) 및 상기 DEX-SA에 대해 1.5M 당량인 NHS(N-hydroxysuccinimide)를 에탄올(100ml)에 용해시킨 후 질소 가스 하에서 30분 동안 반응시켰다. 반응 결과물을 상기 글리콜 키토산 용액에 첨가하여 48시간 동안 반응시켰다. 그 후, 생성된 결과물을 2일 동안 투석한 후, 분말 상태로 동결 건조하여 덱사메타손-글리콜 키토산(이하 'GC-DEX'라 한다)을 합성하였다.

[0065] **1.4 HGC/GC-DEX 블렌드 하이드로겔(약물전달체)의 제조**

[0066] HGC와 GC-DEX를 3:1의 중량비로 혼합하여 HGC/GC-DEX 블렌드를 제조하여 최종적으로 온도감응성 약물전달체를 제조하였다. 상기 HGC 함량 및 GC-DEX의 함량의 합은 상기 HGC/GC-DEX 블렌드의 전체 중량을 기준으로 4 중량%로 조절되었고, 나머지 함량은 탈이온수이다.

[0068] **<실시예 2: 실시예 1과 달리 HGC와 GC-DEX의 중량비가 2:2인 경우>**

[0069] 실시예 1과 동일한 방법으로 약물전달체를 제조하되, 상기 HGC와 GC-DEX의 중량비를 2:2로 변경하였다.

[0071] **<비교예 1: HGC 써모겔의 제조>**

[0072] 글리콜 키토산(3g)을 증류수(375ml)에 녹인 후 메탄올(375ml)로 희석된 글리콜 키토산 용액을 제조하였다. 미리 정해진 양(1.1 ml)의 헥사노익 안하이드라이드(hexanoic anhydride)를 격렬하게 교반하면서 상기 글리콜키토산 용액에 첨가하였다. 상기 헥사노익 안하이드라이드가 첨가된 글리콜키토산 용액을 상온에서 24시간 동안 계속 교반한 후 생성된 생성물을 아세톤에 침전시켜 수집한 후, 투석막(MWCO= 12~14kDa)을 사용하여 증류수에 대해 2일 동안 투석하였다. 이후 그 결과물을 4일 동안 동결건조한 후 분말 형태의 HGC를 수득하였다. 상기 수득된 HGC를 탈이온수에 4중량%의 농도로 혼합하여 HGC 써모겔(thermo gel)을 제조하였다.

[0074] **[실험예 1: GC와 HGC의 분석]**

[0075] 도 2는 GC와 HGC 각각의 ^{1}H NMR 결과(a) 및 ATR-FTIR 결과(b)를 나타낸 것이다.

[0076] 도 2(a)는 GC와 HGC의 ^{1}H NMR 결과를 나타낸 것이다.

[0077] 도 2(a)를 참고하면, 4.85 ppm의 D_2O 피크를 기준 피크로 설정하여 분석했다. 3.2 내지 4.2 ppm에서 나타나는 피크는 글루코피라노실(glucopyranosyl) 고리의 수소원자(H2~ H8)에 해당하고, 2.7 ppm에서 나타나는 피크는 1차 아민 잔기의 수소원자에 기인하며, 이들은 GC 및 HGC의 공통적인 피크이다. HGC의 특징적인 수소원자 피크 중에서 0.8 ppm($-CH_3$)는 메틸기의 수소원자에 해당하고, 1.3 ppm($-CH_2-CH_2-CH_3$), 1.6 ppm($-CO-CH_2-CH_2-$), 2.3 ppm($-CO-CH_2-$)는 각각 헥사노일기의 메틸렌 기의 수소원자에 해당한다. HGC에서 헥사노일화 정도(degree of hexanoylation)는 글루코피라노실 고리와 헥사노일기의 수소원자 피크의 적분값을 비교하여 측정되었으며, 약 36%로 계산되었다. 상기 HGC에서 헥사노일화 정도는 글리콜 키토산의 유도체에서 아민기의 아마이드화도와 대응될 수 있다.

[0078] 도 2(b)는 GC와 HGC의 ATR-FTIR(attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy) 결과를 나타낸 것이다.

[0079] 도 2(b)를 참고하면, GC와 HGC 모두 히드록시기의 신축 진동(stretching vibration)에 해당되는 넓은 피크를 3400 cm^{-1}에서 나타냈으며, 이는 동일 영역의 N-H 신축진동과 중첩되었다. HGC의 특징적인 피크는 2890cm^{-1}에서 나타났는데, 이는 헥사노일기의 메틸 및 메틸렌 그룹의 CH 신축 진동으로부터 기인한다. GC는 아미노 굽힘 진동(bending vibration)에 의한 흡수 피크가 1596 cm^{-1}에서 관찰된 반면, HGC는 각각 카보닐기의 신축 진동 및 아마이드II(amide II)기의 굽힘 진동에 해당하는 1655 cm^{-1} 및 1555 cm^{-1}에서 흡수 피크가 관찰되었으며, 이는 GC의 N-헥사노일화 반응이 성공적으로 수행되었음을 유추할 수 있다.

[0081] **[실험예 2: GC, GC-DEX, DEX 및 DEX-SA의 특징 분석]**

[0082] 도 3은 GC, GC-DEX, DEX 및 DEX-SA의 특징(characterization)에 관한 분석결과를 나타낸 것이다.

[0083] 도 3(a)는 D_2O와 DMSO가 1:1의 부피비로 혼합된 공용매 조건에서 GC와 GC-DEX의 ^{1}H-NMR 분석 결과이다.

[0084] 도 3(a)를 참고하면, GC-DEX의 피크는 6.02, 6.25 및 7.36 ppm에 나타나는 DEX의 특징적인 피크에 의해 확인되었으며, GC의 피크는 3.05~3.98 ppm 사이에 분포되어 있음을 확인할 수 있다. DEX의 치환도(degree of substitution; DS)는 글루코피라노실 고리와 DEX기의 수소원자 피크의 적분값을 비교하여 측정되었으며, 약 17.3%로 계산되었다.

[0085] 도 3(b)는 DEX, DEX-SA, GC 및 GC-DEX의 ATR-FTIR 분석결과를 나타낸 것이다.

[0086] 도 3(b)를 참고하면, DEX-SA의 3484 cm^{-1} 및 3579 cm^{-1}의 흡수 밴드는 -OH 결합의 신축 진동에서 기인하고, 1617, 1660, 1712 및 1733 cm^{-1}에서의 신축 진동은 C=O 결합에서 기인함을 확인할 수 있다. GC의 1649 cm^{-1}에서 신축 진동은 C=O 결합에 해당하고 1559 cm^{-1}에서 흡수 피크는 아미노기의 굽힘 진동으로 인한 것임을 확인할 수 있다. GC-DEX의 경우 1559 cm^{-1}에서 특징적인 아미노기의 밴드가 사라지고 1557 cm^{-1}에서 아마이드 II 밴드가 관찰되어 GC-DEX가 합성되었음을 유추할 수 있었다.

[0087] 도 3(c)는 D_2O와 메탄올(MeOH)이 1:1의 부피비로 혼합된 공용매 내에서 GC, GC-DEX 및 DEX의 UV-Vis 스펙트럼 분석을 나타낸 것이다.

[0088] 도 3(c)를 참고하면, DEX는 242 nm에서 특징적인 흡수 피크를 나타내는 반면, GC는 상응하는 흡수 피크를 나타내지 않았다. 또한, GC-DEX는 DEX에 해당하는 242 nm에서 특징적인 흡수 피크를 나타냈다.

[0090] **[실험예 3: 하이드로겔의 온도에 따른 졸-겔 전이 특성]**

[0091] 도 4는 제조예 1에 따른 하이드로겔의 온도에 따른 졸-겔 전이 특성을 나타낸 것이다.

[0092] 도 4(a)는 수용액 내에서 20℃ 및 37℃에서 제조예 1에 따른 하이드로겔의 사진이고, 도 4(b)는 제조예 1에 따른 하이드로겔의 단면적과 표면에 관한 FE-SEM(field emission scanning electron microscope) 사진이다.

[0093] 도 4(a)를 참고하면, 프로드럭(prodrug)에 해당하는 GC-DEX는 수성 매질에서 HGC와 쉽게 용해됨을 확인할 수 있고, 도 4(b)를 참고하면 비교예 1, 실시예 1 및 2 모두 스펀지 같은 구조를 가짐을 확인할 수 있다. 한편, 실시예 1 및 2는 비교예 1보다 더 높은 다공성 밀도를 가짐을 확인할 수 있으며, GC-DEX의 DEX분자구조가 헥사노일기와의 소수성 상호작용을 촉진할 수 있음을 유추할 수 있었다.

[0095] **[실험예 4: 하이드로겔의 유변학적 거동 분석 및 튜브반전방법 분석]**

[0096] 도 5는 제조예 1에 따른 하이드로겔의 유변학적 거동 및 튜브반전방법 분석을 나타낸 것이다.

[0097] 도 5(a)는 가열(37℃) 및 냉각(4℃)으로 이루어진 열 주기에 따른 실시예 1의 하이드로겔의 탄성계수변화 및 온도의존적 유변학적 거동을 나타낸 것이다.

[0098] 도 5(b)는 10 내지 50℃로 온도가 변화하는 조건에서 비교예 1에 따른 하이드로겔(HGC)의 탄성계수(G') 및 손실

계수(G'')를 나타낸 그래프이다.

[0099] 도 5(c)는 10 내지 50℃로 온도가 변화하는 조건에서 실시예 1에 따른 하이드로겔(HGC/GC-DEX)의 탄성계수(G') 및 손실계수(G'')를 나타낸 그래프이다.

[0100] 도 5(d)는 10 내지 50℃로 온도가 변화하는 조건에서 실시예 2에 따른 하이드로겔(HGC/GC-DEX)의 탄성계수(G') 및 손실계수(G'')를 나타낸 그래프이다.

[0101] 상기 온도의존적 유변학적 거동 실험은 10 내지 50℃, 가열 속도 3℃/min, 주파수 1Hz 및 일정한 응력 10Pa 조건에서 수행되었다.

[0102] 도 5(b) 내지 5(d)를 참고하면, 탄성계수(G')와 손실계수(G")가 교차하는 온도는 졸-겔 전이를 결정할 때 겔화점으로 정의되었고, 비교예 1(HGC), 실시예 1(HGC/GC-DEX(3:1)), 실시예 2(HGC/GC-DEX(2:2))의 각각의 탄성계수(G') 값은 초기에 손실계수(G")보다 지속적으로 낮았지만 탄성계수(G')는 온도가 증가함에 따라 급격히 증가하는 경향성을 보임을 확인할 수 있었다. 실시예 1(HGC/GC-DEX(3:1)) 및 실시예 2(HGC/GC-DEX(2:2))에서 각각의 탄성계수(G') 및 손실계수(G") 값이 교차하는 온도는 비교예 1 (HGC)보다 낮은 온도이고, 이는 튜브반전방법(tube inverting method)과 일치함을 확인할 수 있었다.

[0103] 상기 제조예 1에서 합성된 HGC(또는 HGC 써모겔)와 GC-DEC의 분석 결과를 정리하여 하기 표 2에 나타냈다.

표 2

[0104]

시료	Feed molar ratio [a]	Feed molar ratio [b]	DH (%) [c]	DD (%) [d]	T_{gel} (^{o}C) [e]	수율 (%)
HGC	0.37	-	36.1±0.3	-	33	83.9±2.2
GC-DEX	-	0.3	-	17.3±0.3	-	90.8±3.1

a) GC의 글루코사민기에 대한 헥사노익 안하이드라이드의 몰비
b) GC의 글루코사민기에 대한 DEX-SA의 몰비
c) ^{1}H NMR의 피크 적분에 의해 결정된 헥사노일화 정도
d) ^{1}H NMR의 피크 적분에 의해 결정된 덱사메타손 정도
e) 비교예 1(HGC 써모겔)의 졸-겔 전이온도(sol-gel transition temperature)

[0105] 한편, 온도감응성 특성을 갖는 상기 제조예 1에 따른 하이드로겔에 대하여 튜브반전방법(tube inverting method)과 유변학적 분석방법(rheological measurement)을 수행하였고 그 결과를 정리하여 하기 표 3에 나타냈다.

표 3

[0106]

시료	샘플(Sample)	HGC 함량 (wt%)	GC-DEX 함량 (wt%)	T_{gel}(℃) [1)]	T_{gel}(℃) [2)]
비교예 1	HGC	4	0	31± 0.6	33±0.4
실시예 1	HGC/GC-DEX (3:1)	3	1	29± 0.5	30.4±1.4
실시예 2	HGC/GC-DEX (2:2)	2	2	25± 0.6	28.1±0.8

1) 튜브반전방법(tube inverting method)에 의한 졸-겔 전이(1℃/min 온도 상승 조건)
2) 직경이 40 nm인 평행판 기하학을 가진 HR10 레오미터(TA Instruments, New Castle, DE, USA)를 사용하여 유변학적 분석방법(rheological measurement)에 의한 졸-겔 전이 특성 분석

[0108] **[실험예 5: 주사용 적용을 위한 전단박화특성 및 요변성 회복 특성 분석 결과]**

[0109] 도 6은 주사용 적용을 위한 제조예 1에 따른 하이드로겔의 전단박화특성 및 요변성 회복 특성을 나타낸 것이다.

[0110] 도 6(a)는 전단박화 특성(shear-thinning property)을 보이는 제조예 1에 따른 하이드로겔의 전단율(shear rate; s^{-1})에 따른 점도(Pa.s)를 나타낸 그래프이다. 상기 전단박화 특성은 25℃에서 정적전단 변화율 테스트(steady shear rate sweep test) 방법으로 수행되었다.

[0111] 도 6(a)를 참고하면, 25℃에서 비교예 1(HGC), 실시예 1 및 2에 따른 하이드로겔(HGC/GC-DEX) 모두 전단율이 증

가함에 따라 하이드로겔 용액의 점도가 감소함을 확인할 수 있고, 이에 따라 이들을 주사용으로 주입할 수 있음을 유추할 수 있다. 즉, 비교예 1(HGC), 실시예 1 및 2에 따른 하이드로겔(HGC/GC-DEX) 은 모두 전단율이 증가함에 따라 점도가 감소하면서 바람직한 전단박화 거동을 나타내어 주사용 하이드로겔 매개체로 적용될 수 있다.

[0112] 도 6(b)는 비교예 1(HGC)에 따른 하이드로겔의 요변성 회복 특성(thixotropic recovery property)을 나타낸 것이다.

[0113] 도 6(c)는 실시예 1(HGC/GC-DEX(3:1))에 따른 하이드로겔의 요변성 회복 특성(thixotropic recovery property)을 나타낸 것이다.

[0114] 도 6(d)는 실시예 2(HGC/GC-DEX(2:2))에 따른 하이드로겔의 요변성 회복 특성(thixotropic recovery property)을 나타낸 것이다.

[0115] 도 6(b) 내지 6(d)를 참고하면, 주사하는 동안 주사기의 하이드로겔에 가해지는 힘을 설명하기 위해 100초 동안의 높은 전단율($100s^{-1}$)이 이용되었고, 주입 전 하이드로겔의 상태를 설명하기 위해 200초 동안 0에 가까운 전단율이 이용되었다. 이러한 요변성 회복 실험을 4회 반복한 결과 비교예 1, 실시예 1 및 2에 따른 하이드로겔 모두 우수한 탄성 회복 특성을 나타냈다.

[0117] **[실험예 6: GC-DEX 내 에스테르 결합의 가수분해 능력, 물리적 안정성 및 생체적합성 평가]**

[0118] 도 7은 GC-DEX 내 에스테르 결합의 가수분해 능력 및 제조예 1에 따른 하이드로겔의 물리적 안정성의 평가결과를 나타낸 것이다.

[0119] 도 7(a)는 DPBS(Dulbecco's phosphate-buffered saline) 용액 내에서 GC-DEX의 ^{1}H-NMR을 나타낸 것이다.

[0120] 도 7(b)는 DPBS(Dulbecco's phosphate-buffered saline) 용액 내에서 GC-DEX의 FT-IR을 나타낸 것이다.

[0121] 도 7(a) 및 7(b)를 참고하면, 24시간 후에는 GC-DEX의 에스테르 결합이 가수분해되어 DEX의 관한 피크(peak)가 나타나지 않음을 확인할 수 있다. 이러한 결과는 GC-DEX가 DEX 제형으로 비교적 빠르게 전환되어 목표 부위에 도달할 수 있음을 유추할 수 있다.

[0122] 도 7(c)는 DPBS 내, 제조예 1에 따른 하이드로겔의 일자(day)의 경과에 따른 잔존 무게(residual weight)를 나타낸 것이다.

[0123] 도 7(c)를 참고하면, 비교예 1(HGC)만이 초기 팽윤으로 인해 4일까지는 점진적인 무게 증가를 나타냈고, 5일 이후에는 잔존 무게가 서서히 감소하였다. 한편, 실시예 1 및 2(HGC/GC-DEX) 모두 잔존 무게가 초반에는 약간 증가하여 2일 또는 1일에 각각 피크에 도달했고, 그 이후, 하이드로겔의 질량 손실로 인해 잔류 무게가 급격히 감소하였다. 잔류 무게가 급격히 감소하는 이유는 DEX와 GC 사이의 에스테르 결합이 가수분해되면서 하이드로겔 구조의 손실로 인한 급격한 질량 손실이 발생하기 때문임을 유추할 수 있다. 구조적으로 하이드로겔이 점차적으로 동시에 침식 및 약물 방출을 하게 되어, 환자의 체내에서 장기간 약물전달체 기능을 수행함으로써, 부작용의 우려가 없는 안전한 약물 제형을 체내에 공급할 수 있음을 유추할 수 있다.

[0124] 도 7(d)는 제조예 1에 따른 하이드로겔의 생체적합성 평가를 나타낸 것이다.

[0125] 도 7(d)를 참고하면, 제조예 1에 따른 하이드로겔의 생체적합성을 평가하기 위해 37℃에서 리소자임(lysozyme; 10mg/ml)이 포함된 DPBS 용액에서 상기 하이드로겔 시료를 인큐베이션하였다. 비교예 1(HGC), 실시예 1(HGC/GC-DEX(3:1)) 및 실시예 2(HGC/GC-DEX(2:2))는 1시간 동안 팽윤된 후 모든 하이드로겔이 매우 빠른 용해 거동을 보여 1일 만에 전체 질량 대비 100% 손실이 발생하였음을 확인할 수 있다.

[0127] **[제조예 2: 제제(formulation)의 제조]**

[0128] 초기 약물 방출 평가를 위해, DSP(dexamethasone sodium phosphate) 1은 약물농도가 0.145 중량%로, DSP 2는 약물 농도가 0.290 중량%로 제조되었고, GC-DEX 1은 GC-DEX를 1 중량%(덱사메타손 약물 농도로 0.145 중량%)로, GC-DEX 2는 GC-DEX를 2 중량%(덱사메타손 약물 농도로 0.290 중량%)로 제조되었고, HGC/DSP 1은 HGC 써모겔에 DSP를 0.145 중량%의 농도로, HGC/DSP 2는 HGC 써모겔에 DSP을 0.290 중량%의 농도로 혼합하여 제조되었다.

[0130] **[실험예 7: 제제의 초기 약물 방출 평가]**

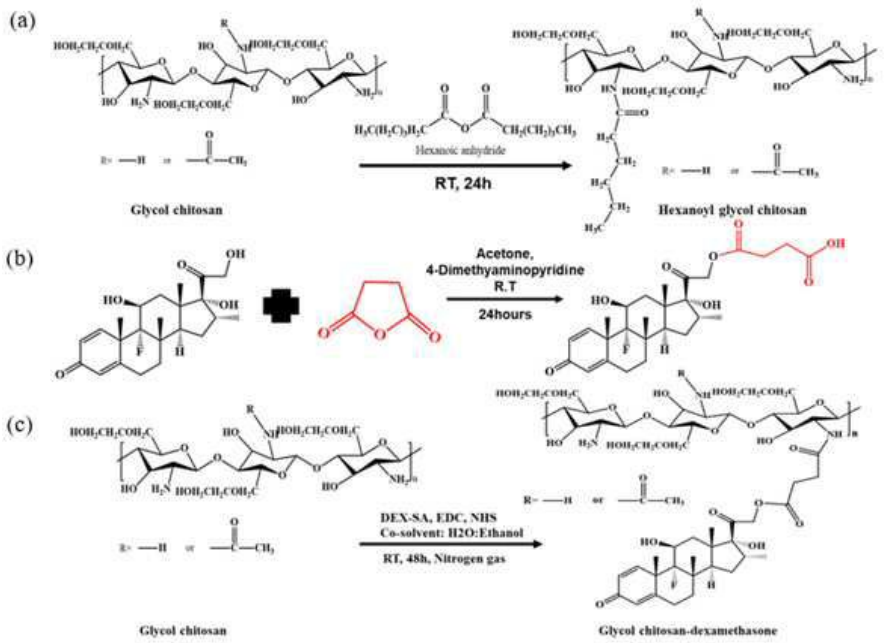
[0131] 도 8은 제조예 2에 따른 제제의 시험관 내(in vitro) 초기 약물 방출 평가를 나타낸 것이다. 구체적으로, HGC/GC-DEX와 GC-DEX 용액의 혼합물을 투석막(MWCO= 12-14kDa, 폭: 10mm)에 주입한 후 상기 투석막을 DPBS(25ml)에 담그고 37℃ 및 100rpm의 진탕 수조(SI-600R, Jeio Tech, Seoul, Korea)에서 배양하였다. 예정된 시점에서 5ml의 방출 배지를 수집하고 나머지 배지를 제거한 후, 새로운 배지로 교체하였다. 수집된 샘플을 UV-Vis 분석법을 사용하여 분석하였고, DEX 방출 프로파일은 242 nm에서 DEX의 UV 흡광도를 측정하여 평가하였다.

[0132] 도 8을 참고하면, DSP(dexamethasone sodium phosphate) 제제와 HGC/DSP 제제는 약물의 농도에 관계없이 약물이 빠르게 방출되었다. 약물의 80%는 3시간 후에 방출되었고, HGC/DSP 제제는 초기에 약간 지연된 약물 방출을 보였지만 높은 수용성을 가진 저분자 약물인 DSP로 인해 초기 방출 속도가 크게 지연되지 않았다. 대조적으로, 실시예 1 및 2에 따른 제제(HGC/GC-DEX)는 큰 분자의 얽힘으로 인해 초기에 지속 방출 및 폭발적인 방출을 나타내지 않았다. 실시예 1 및 2(HGC/GC-DEX)에서 DEX의 방출 속도는 GC와 DEX 사이의 에스테르 결합의 가수분해의 정도에 의존하기 때문에, HGC/GC-DEX 제제는 원하는 약물의 초기 방출 속도를 효과적으로 조절할 수 있음을 확인하였다.

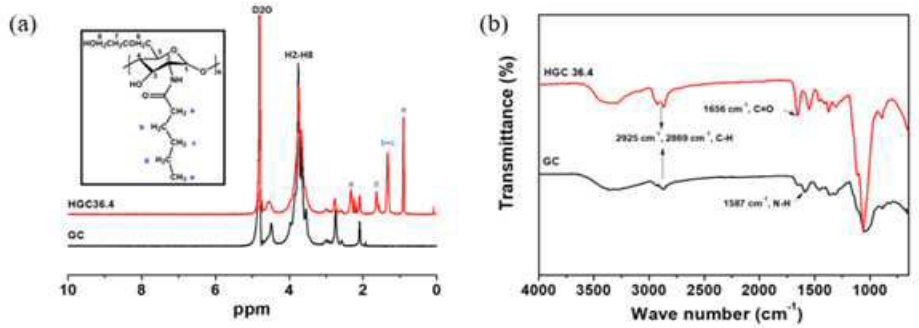
[0133] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예들에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리 범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리 범위에 속하는 것이다.

도면

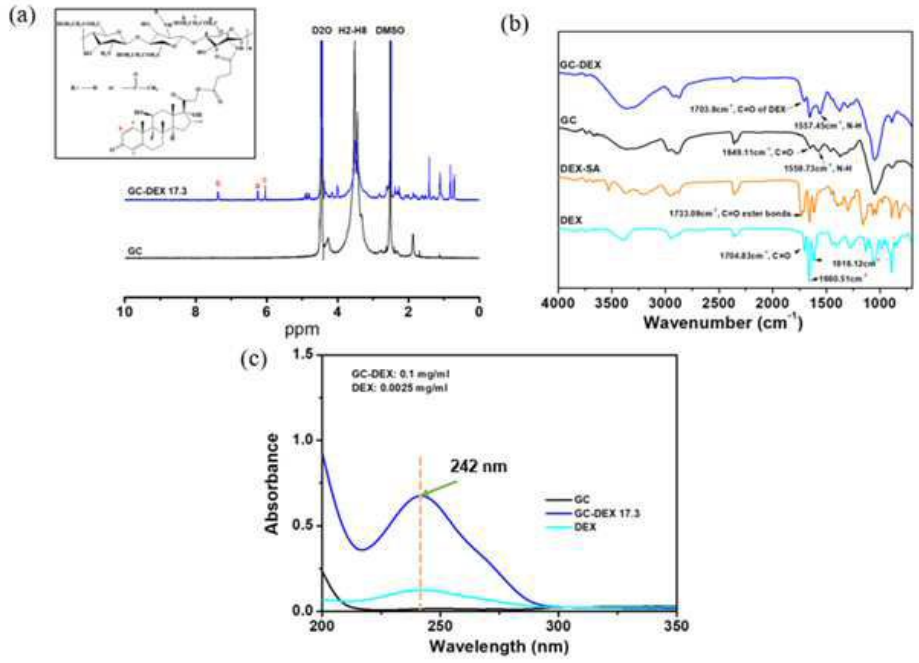
도면1



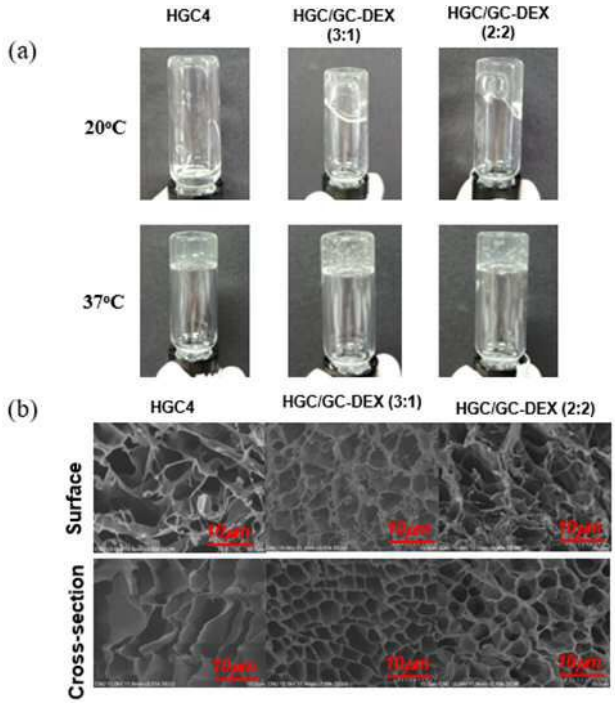
도면2


(a)
D2O
H2-H8
HGC36.4
GC
10
8
6
4
2
0
ppm
(b)
HGC 36.4
GC
Transmittance (%)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Wave number (cm-1)

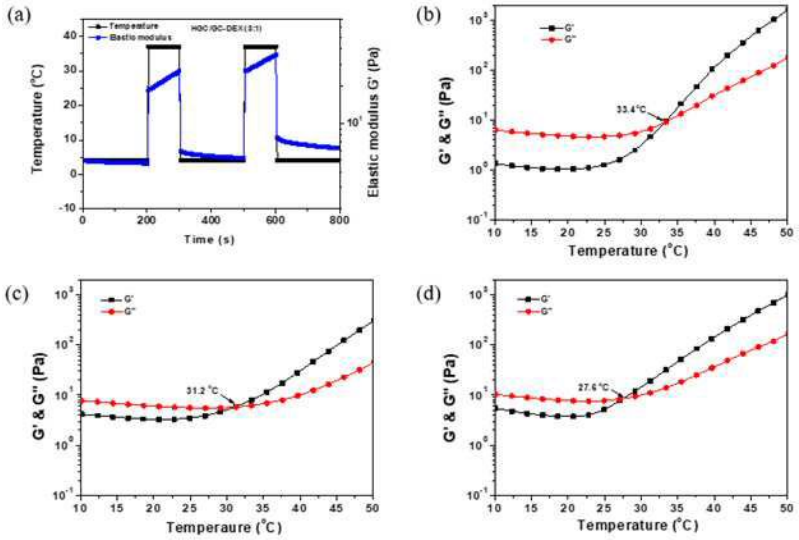
도면3


(a)
D2O
H2-H8
DMSO
GC-DEX 17.3
GC
10
8
6
4
2
0
ppm
(b)
GC-DEX
GC
DEX-SA
DEX
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Wavenumber (cm-1)
(c)
GC-DEX: 0.1 mg/ml
DEX: 0.0025 mg/ml
242 nm
GC
GC-DEX 17.3
DEX
Absorbance
1.5
1.0
0.5
0.0
200
250
300
350
Wavelength (nm)

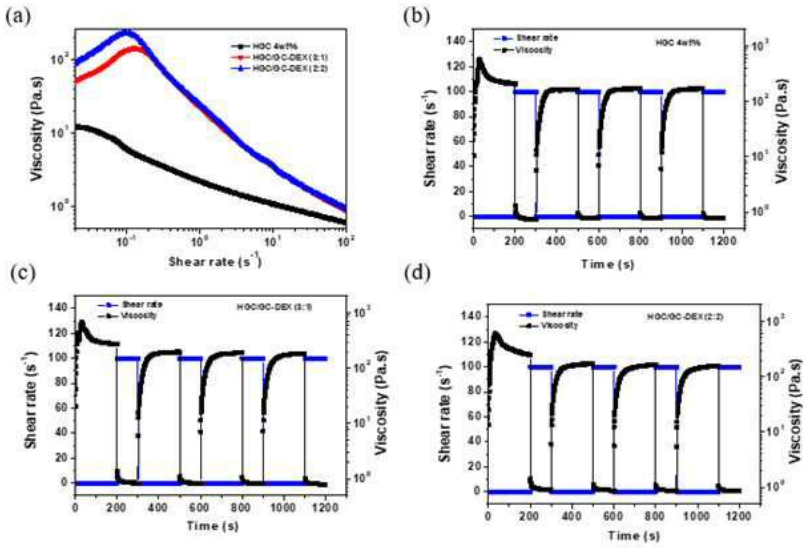
도면4


(a)
HGC4
HGC/GC-DEX (3:1)
HGC/GC-DEX (2:2)
20°C
37°C
(b)
HGC4
HGC/GC-DEX (3:1)
HGC/GC-DEX (2:2)
Surface
Cross-section

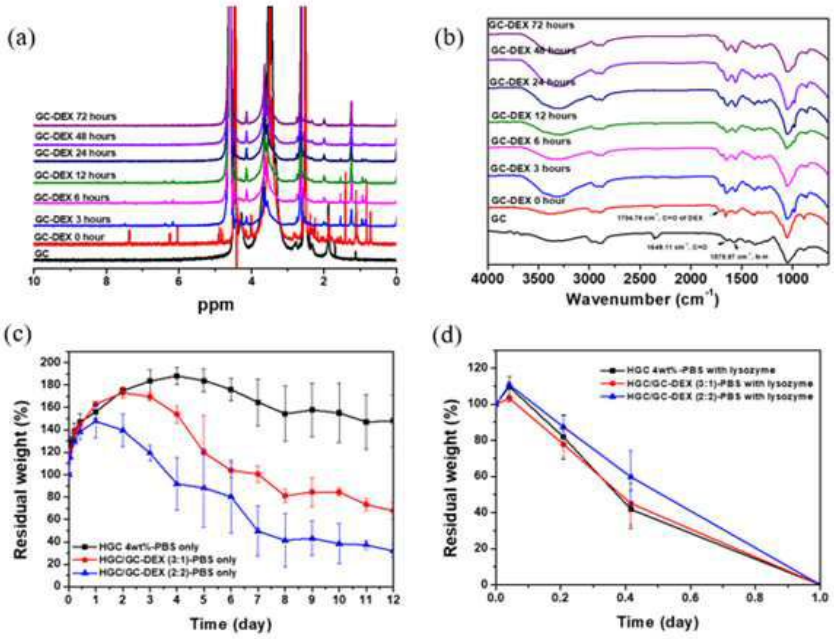
도면5


(a)
Temperature (℃)
Elastic modulus G' (Pa)
Time (s)
(b)
G' & G'' (Pa)
33.4°C
Temperature (°C)
(c)
G' & G'' (Pa)
31.2 °C
Temperaure (°C)
(d)
G' & G'' (Pa)
27.6 °C
Temperature (°C)

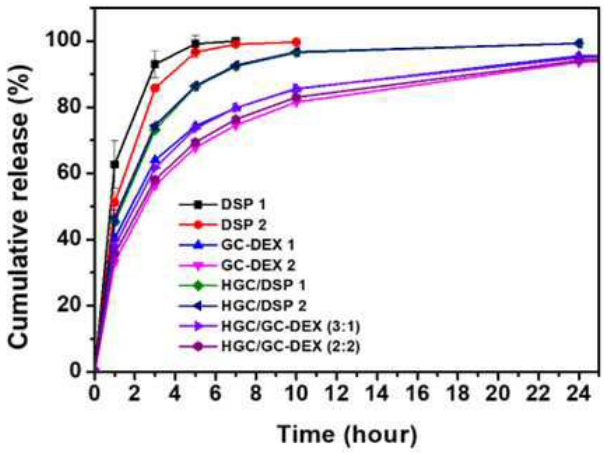
도면6


(a)
Viscosity (Pa.s)
Shear rate (s^{-1})
HGC 4wt%
HGC/GC-DEX (3:1)
HGC/GC-DEX (2:2)
(b)
Shear rate
Viscosity
HGC 4wt%
Shear rate (s^{-1})
Viscosity (Pa.s)
Time (s)
(c)
Shear rate
Viscosity
HGC/GC-DEX (3:1)
Shear rate (s^{-1})
Viscosity (Pa.s)
Time (s)
(d)
Shear rate
Viscosity
HGC/GC-DEX (2:2)
Shear rate (s^{-1})
Viscosity (Pa.s)
Time (s)

도면7


(a)
GC-DEX 72 hours
GC-DEX 48 hours
GC-DEX 24 hours
GC-DEX 12 hours
GC-DEX 6 hours
GC-DEX 3 hours
GC-DEX 0 hour
GC
ppm
(b)
GC-DEX 72 hours
GC-DEX 48 hours
GC-DEX 24 hours
GC-DEX 12 hours
GC-DEX 6 hours
GC-DEX 3 hours
GC-DEX 0 hour
GC
Wavenumber (cm^{-1})
(c)
Residual weight (%)
HGC 4wt%-PBS only
HGC/GC-DEX (3:1)-PBS only
HGC/GC-DEX (2:2)-PBS only
Time (day)
(d)
Residual weight (%)
HGC 4wt%-PBS with lysozyme
HGC/GC-DEX (3:1)-PBS with lysozyme
HGC/GC-DEX (2:2)-PBS with lysozyme
Time (day)

도면8


Cumulative release (%)
Time (hour)
DSP 1
DSP 2
GC-DEX 1
GC-DEX 2
HGC/DSP 1
HGC/DSP 2
HGC/GC-DEX (3:1)
HGC/GC-DEX (2:2)