(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0110528
(43) 공개일자 2024년07월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/54 (2006.01) *A61F 2/28* (2006.01)
A61L 27/12 (2006.01) *A61L 27/56* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/54 (2013.01)
A61F 2/28 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0083915(분할)
(22) 출원일자 2024년06월26일
심사청구일자 2024년06월26일
(62) 원출원 특허 10-2021-0044194
원출원일자 2021년04월05일
심사청구일자 2021년04월05일
(30) 우선권주장
1020200041382 2020년04월06일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
전상호
서울특별시 강남구 도곡로 404, 102-305 (대치동, 롯데캐슬리베아파트)
(74) 대리인
특허법인 무한

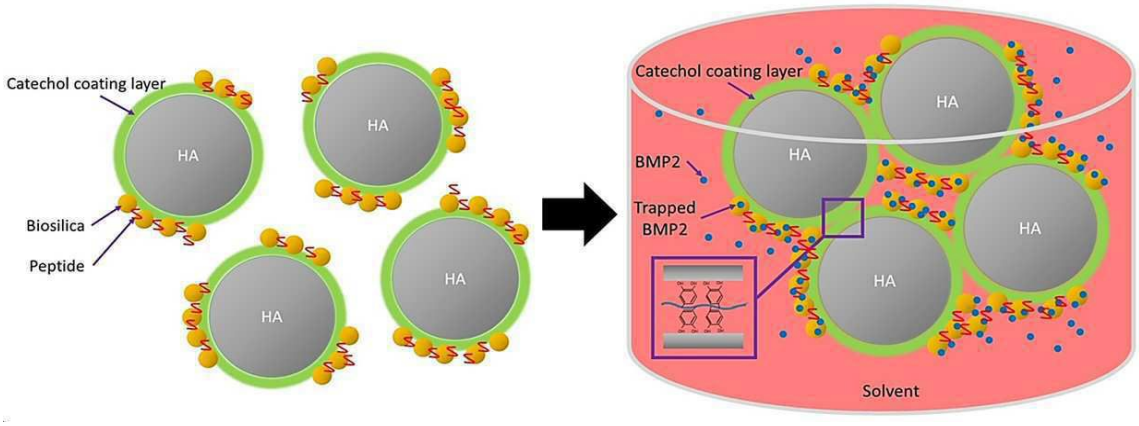
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **카테콜 및 바이오 실리카를 이용한 서방성 약물 전달체 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층; 상기 골 이식재층 위에 코팅되는 카테콜층; 및 상기 카테콜층에 부착된 실리카 형성 펩타이드를 포함하는 약물 전달체 등에 관한 것으로서, 상기 전달체는 카테콜층 및 펩타이드로부터 형성된 실리카층을 포함함으로써, 압축강도가 높고, 의사체액 내에서 응집이 잘 유지되는 바, 약물을 안정적으로 전달할 수 있다. 특히, 골 유도인자인 골 형성 단백질-2(Bone morphogenic protein, BMP)를 담지하는 능력이 뛰어날 뿐만 아니라 천천히 유리시켜 혈액 또는 수분에 의해 상기 BMP-2가 흩어지지 않는다는 점에서, 우수한 골형성 및/또는 골재생재로 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61L 27/12 (2013.01)
A61L 27/56 (2013.01)
A61F 2002/2817 (2013.01)
A61F 2002/2835 (2013.01)
A61F 2310/00293 (2013.01)
A61F 2310/00976 (2013.01)
A61L 2300/414 (2013.01)
A61L 2300/602 (2013.01)
A61L 2430/02 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층; 상기 골 이식재층 위에 코팅되는 카테콜층; 상기 카테콜층에 부착된 실리카 형성 펩타이드; 및 상기 실리카 형성 펩타이드에 담지된 골 유도인자를 포함하는, 약물 서방 출용 약물 전달체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 실리카 형성 펩타이드는 상기 카테콜층 위에 바이오 실리카를 형성하는 것을 특징으로 하는, 전달체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 인산칼슘계 세라믹스 재료는,

모노칼슘 포스페이트 모노하이드레이트(Monocalcium phosphate monohydrate), 모노 칼슘 포스페이트 안하이드로스(Monocalcium phosphate anhydrous), 칼슘 메타포스페이트(Calcium metaphosphate), 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트(Dicalcium phosphate dihydrate), 디칼슘 포스페이트 안하이드로스(Dicalcium phosphate anhydrous), 칼슘 파이로포스페이트(Calcium pyrophosphate), 옥타칼슘 포스페이트(Octacalcium phosphate), 알파-트리칼슘 포스페이트(α-tricalcium phosphate), 베타-트리칼슘 포스페이트(β-tricalcium phosphate), 칼슘 디피시엔트 하이드록시아파타이트(Calcium deficient hydroxyapatite), 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite), 테트라칼슘 포스페이트(Tetracalcium phosphate), 및 아몰포스 칼슘 포스페이트(Amorphous calcium phosphate)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 전달체.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 실리카 형성 펩타이드는 Ect_p1 펩타이드, Ect_p2 펩타이드, RG 펩타이드, Sal_p1 펩타이드, Vol_p1 펩타이드, Vol_p2 펩타이드, 및 Vol_p3 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 전달체.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 골 유도인자는,

골 형성 단백질(Bone morphogenic protein, BMP), 성장 분화 인자(Growth and differentiation factor, GDF), 형질전환 성장 인자-β(Transforming Growth Factor-β, TGF-β), 인슐린형 성장 인자(Insulin like growth factor, IGF), 섬유아세포성장인자(Fibroblast growth factor, FGF), 프로스타글란딘 E 수용체 4(Prostaglandin E receptor 4, EP 4), 혈소판 풍부 혈장(Platelet-rich plasma, PRP), 및 혈소판 유래 성장 인자(Platelet derived growth factor, PDGF)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 전달체.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 골 형성 단백질(Bone morphogenic protein, BMP)은 BMP-1, BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-8, BMP-9. BMP-10, BMP-11, BMP-12, BMP-13 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 전달체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 전달체를 포함하는 골 형성 또는 골 재생재.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 전달체를 포함하는 골 형성 또는 골 재생용 스캐폴드.

청구항 9

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 전달체를 포함하는 골 형성 또는 골 재생용 조성물.

청구항 10

(1) 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층을 카테콜층으로 코팅하는 단계;

(2) 상기 코팅된 골 이식재층에 실리카 형성 펩타이드를 부착하는 단계;

(3) 상기 실리카 형성 펩타이드가 바이오 실리카를 형성하는 단계; 및

(4) 상기 바이오 실리카에 골 유도인자를 담지하는 단계;를 포함하는, 약물 서방출용 약물 전달체의 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 인산칼슘계 세라믹스 재료는,

모노칼슘 포스페이트 모노하이드레이트(Monocalcium phosphate monohydrate), 모노 칼슘 포스페이트 안하이드로스(Monocalcium phosphate anhydrous), 칼슘 메타포스페이트(Calcium metaphosphate), 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트(Dicalcium phosphate dihydrate), 디칼슘 포스페이트 안하이드로스(Dicalcium phosphate anhydrous), 칼슘 파이로포스페이트(Calcium pyrophosphate), 옥타칼슘 포스페이트(Octacalcium phosphate), 알파-트리칼슘 포스페이트(α-tricalcium phosphate), 베타-트리칼슘 포스페이트(β-tricalcium phosphate), 칼슘 디피시엔트 하이드록시아파타이트(Calcium deficient hydroxyapatite), 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite), 테트라칼슘 포스페이트(Tetracalcium phosphate), 및 아몰포스 칼슘 포스페이트(Amorphous calcium phosphate)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 전달체 제조방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 실리카 형성 펩타이드는 Ect_p1 펩타이드, Ect_p2 펩타이드, RG 펩타이드, Sal_p1 펩타이드, Vol_p1 펩타이드, Vol_p2 펩타이드, 및 Vol_p3 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 전달체 제조방

법.

청구항 13

제10항에 있어서,

상기 골 유도인자는,

골 형성 단백질(Bone morphogenic protein, BMP), 성장 분화 인자(Growth and differentiation factor, GDF), 형질전환 성장 인자-β(Transforming Growth Factor-β, TGF-β), 인슐린형 성장 인자(Insulin like growth factor, IGF), 섬유아세포성장인자(Fibroblast growth factor, FGF), 프로스타글란딘 E 수용체 4(Prostaglandin E receptor 4, EP 4), 혈소판 풍부 혈장(Platelet-rich plasma, PRP), 및 혈소판 유래 성장 인자(Platelet derived growth factor, PDGF)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이상인, 전달체 제조방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 골 형성 단백질(Bone morphogenic protein, BMP)은 BMP-1, BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-8, BMP-9. BMP-10, BMP-11, BMP-12, BMP-13 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이상인, 전달체 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층; 상기 골 이식재층 위에 코팅되는 카테콜층; 및 상기 카테콜층에 부착된 실리카 형성 펩타이드를 포함하는, 약물 전달체 등에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 카테콜은 하이드록시기 두 개가 인접 위치한 1,2-디하이드록시벤젠(1,2-dihydroxybenzene)으로, 각종 금속 이온과 킬레이트 착물을 형성하고, 항산화 작용이 강하며, 유기 및 무기표면에 상관없이 여러 가지 재료의 표면에 강하게 접착한다. 예를 들어 홍합은 DOPA(3,4-dihydroxyphenylalanine)라 불리는 카테콜성 아미노산을 만들어 암반과 해저 등 여러 표면에 강하게 접착할 수 있으며, 칠에 쓰이는 옻의 주성분인 우루시올(urushiol)도 카테콜 계통의 분자이다. 이와 같이 카테콜은 우루시올, 카테콜아민(아드레날린, 도파민), 카테킨 등의 폴리페놀을 비롯한 많은 생체물질의 골격에 함유되어 있다. 금속이온 킬레이트성, 항산화성, 및 접착성을 갖는 카테콜을 각종 고분자에 결합하면 고분자의 막형성성, 증점성, 및 다른 기능의 공존성이 더해져 부가가치가 더 큰 재료가 탄생할 것으로 기대된다.

[0003] 종래의 골 형성 단백질-2(Bone morphogenetic protein 2, BMP-2)는 강력한 골 유도인자로 알려지고 개발되었으나 무기질과 직접적으로 결합하지 못해 서방(sustained release)이 이루어지지 못하는 한계가 있었다. 또한, 지금까지 개발된 무기질 결합 BMP-2 골이식재 상품들은 임상적 적용시 작은 입자 형태의 무기질이 혈액 또는 수분에 의해 제자리에 있지 못하고 씻겨져 나가 온전한 결과를 얻기 어렵다는 점이 큰 문제로 지적되고 있다(도 1). 따라서 본 발명자는 입자 형태의 무기질들이 혈액 또는 수분이 있는 상태에서 오랫동안 서로 엉기게 부착할 수 있는 기술에 대해 연구를 계속하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) KR 10-1473059

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층; 상기 골 이식재층 위에 코팅되는 카테콜층; 및 상기 카테콜층에 부착된 실리카 형성 펩타이드를 포함하는, 약물 전달체를 제공하는 것이다.

[0006] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 약물 전달체를 포함하는 골 형성 또는 골재생재, 골 형성 또는 골 재생용 스캐폴드 및 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 약물 전달체의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0008] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층; 상기 골 이식재층 위에 코팅되는 카테콜층; 및 상기 카테콜층에 부착된 실리카 형성 펩타이드를 포함하는, 약물 전달체를 제공한다.

[0010] 본 발명의 일 구현 예로서, 상기 실리카 형성 펩타이드는 상기 카테콜층 위에 바이오 실리카를 형성하는 것일 수 있다.

[0011] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 약물 전달체는 상기 바이오 실리카에 골 유도인자를 담지하는 것일 수 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 약물 전달체는 골 유도인자를 서방형으로 방출하는 것일 수 있다.

[0013] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 인산칼슘계 세라믹스 재료는, 모노칼슘 포스페이트 모노하이드레이트(Monocalcium phosphate monohydrate), 모노 칼슘 포스페이트 안하이드로스(Monocalcium phosphate anhydrous), 칼슘 메타포스페이트(Calcium metaphosphate), 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트(Dicalcium phosphate dihydrate), 디칼슘 포스페이트 안하이드로스(Dicalcium phosphate anhydrous), 칼슘 파이로포스페이트(Calcium pyrophosphate), 옥타칼슘 포스페이트(Octacalcium phosphate), 알파-트리칼슘 포스페이트(α-tricalcium phosphate), 베타-트리칼슘 포스페이트(βphosphate), 칼슘 디피시엔트 하이드록시아파타이트(Calcium deficient hydroxyapatite), 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite), 테트라칼슘 포스페이트(Tetracalcium phosphate), 및 아몰포스 칼슘 포스페이트(Amorphous calcium phosphate)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 실리카 형성 펩타이드는 Ect_p1 펩타이드, Ect_p2 펩타이드, RG 펩타이드, Sal_p1 펩타이드, Vol_p1 펩타이드, Vol_p2 펩타이드, 및 Vol_p3 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0015] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 골 유도인자는, 골 형성 단백질(Bone morphogenic protein, BMP), 성장분화 인자(Growth and differentiation factor, GDF), 형질전환 성장 인자-β(Transforming Growth Factor-β, TGF-β), 인슐린형 성장 인자(Insulin like growth factor, IGF), 섬유아세포성장인자(Fibroblast growth factor, FGF), 프로스타글란딘 E 수용체 4(Prostaglandin E receptor 4, EP 4), 혈소판 풍부 혈장(Platelet-rich plasma, PRP), 및 혈소판 유래 성장 인자(Platelet derived growth factor, PDGF)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0016] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 골 형성 단백질(Bone morphogenic protein, BMP)은 BMP-1, BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-8, BMP-9. BMP-10, BMP-11, BMP-12, BMP-13 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명은 상기 약물 전달체를 포함하는 골 형성 또는 골 재생재를 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기 약물 전달체를 포함하는 골 형성 또는 골 재생용 스캐폴드를 제공한다.

[0021] *또한, 본 발명은 상기 약물 전달체를 포함하는 골 형성 또는 골 재생용 조성물을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명은 상기 약물 전달체를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 골 형성 또는 골 재생 방법을 제공한다.

[0023] 또한, 본 발명은 상기 약물 전달체를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 골질환 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0024] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 골질환은 골절, 골파괴증, 골다공증, 골연화증, 골관절염, 류머티즘 관절염, 및 골형성 장애로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명은 골 형성 또는 골 재생을 위한 상기 약물 전달체의 용도를 제공한다.

[0027] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 상기 약물 전달체의 제조방법을 제공한다.

[0028] (1) 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층을 카테콜층으로 코팅하는 단계;

[0029] (2) 상기 코팅된 골 이식재층에 실리카 형성 펩타이드를 부착하는 단계; 및

[0030] (3) 상기 실리카 형성 펩타이드가 바이오 실리카를 형성하는 단계.

[0031] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 (3) 단계 이후, (4) 상기 바이오 실리카에 골 유도인자를 담지하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0032] 본 발명은 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층; 상기 골 이식재층 위에 코팅되는 카테콜층; 및 상기 카테콜층에 부착된 실리카 형성 펩타이드를 포함하는 약물 전달체 등에 관한 것으로서, 상기 전달체는 카테콜층 및 펩타이드로부터 형성된 실리카층을 포함함으로써, 압축강도가 높고, 의사체액 내에서 응집이 잘 유지되는바, 약물을 안정적으로 전달할 수 있다. 특히, 골 유도인자인 골 형성 단백질-2(Bone morphogenic protein, BMP)를 담지하는 능력이 뛰어날 뿐만 아니라 천천히 유리시켜 혈액 또는 수분에 의해 상기 BMP-2가 흩어지지 않는다는 점에서, 우수한 골형성 및/또는 골재생재 등으로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 Rat 두개골 결손모델에 적용된 종래의 골이식재 모습을 보여주는 micro-CT 이미지이다. 골이식재 입자가 흩어져 골 형성이 잘 안된 경우와 골이식재 입자가 모여 있고 골형성이 잘 된 경우를 도시하였다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 약물 전달체를 제조하는 과정을 나타낸 모식도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 약물 전달체가 하이드록시아파타이트 골이식재층에 카테콜층이 코팅되고, 실리카 형성 펩타이드가 부착되어 바이오 실리카를 형성한 모습(좌)을 나타낸 것이며, 상기 전달체를 BMP-2가 포함된 용매에 담지한 경우(우)를 나타낸 것이다.

도 4는 CMC 전달체 및 Collastat 전달체와 비교하여 본 발명의 카테콜 전달체와 상기 카테콜 전달체를 실리카로 도포한 전달체의 스캐폴드 형태에서 압축 강도를 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 5는 의사체액(Simulated Body Fluid, SBF)에서 상기 CMC 전달체와 Collastat 전달체와 비교하여 본 발명의 카테콜 전달체의 스캐폴드 형태에서 응집 정도를 나타낸 것이다.

도 6은 상기 CMC 전달체와 Collastat 전달체와 비교하여 본 발명의 카테콜 전달체와 카테콜 및 실리카 전달체의 스캐폴드 형태에서 BMP-2 담지 능력을 나타낸 것이다.

도 7은 상기 스캐폴드 형태로 제작한 전달체들에 BMP-2를 담지시킨 후, 방출되는 양을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 본 발명자들은 골 유도인자를 혈액 또는 수분 환경 속에서 효율적으로 전달하는 방법에 대해 예의 연구한 결과, 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층; 상기 골 이식재층 위에 코팅되는 카테콜층; 및 상기 카테콜

층에 부착된 실리카 형성 펩타이드를 포함하는, 약물 전달체가 약물, 바람직하게는 골 유도인자에 대한 담지능력이 우수하고, 상기 골 유도인자를 서방형으로 방출한다는 점을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0035] 보다 구체적으로, 본 발명의 전달체는 실리카 형성 펩타이드를 이용하여 바이오 실리카를 형성하며, 상기 바이오 실리카는 기존 무기물 실리카와는 달리 단백질과의 결합이 용이하고 용액 내에서 골 유도인자를 비롯한 약물을 천천히 유리시킬 수 있다. 또한, 카테콜은 미네랄이나 실리카와 같은 산화층에 강력하면서도 생체친화적 결합을 하므로, 인산칼슘계 세라믹스 재료 및 바이오 실리카 양쪽에 강하게 결합할 수 있다. 따라서, 상기 카테콜층 및 실리카층을 포함하는 본 발명의 약물 전달체는 골 유도인자를 담지하면서도 임상 적용시 입자형 골이식재들이 서로 엉겨 붙는 성질을 갖게 하여 골이식재 자체로도 골재생에 도움을 주는 견고한 구조체 역할을 수행하게 할 수 있다(도 3).

[0037] 본 발명에서, 용어 "약물 전달체"는 표적 세포, 조직, 또는 기관에 활성 성분(예를 들어, 약물)과 화학적 또는 물리적으로 결합된 복합체로서, 상기 활성 성분을 운반 및 전달하기에 적합한 담체 또는 비히클을 의미한다. 상기 화학적 결합은 화학반응을 통한 화학결합을 의미하고, 물리적인 결합은 흡착(adsorption), 응집(coheison), 사슬엉킴(entanglement), 잡힘(entrapment) 등과 같은 물리적 고정뿐만 아니라 반데르 발스 결합과 같은 전기적 상호작용이 그 단독으로 또는 상기 물리적 고정과 함께 작용하여 발생하는 비화학적 고정을 포함하는 개념이다.

[0038] 상기 용어 "약물"은 약리활성을 가지는 것으로서 폴리펩타이드, 단백질, 무기질 등을 포함하며, 본 발명에서는 바람직하게 골 유도인자(bone inducer)를 의미한다. 상기 골 유도인자의 구체적인 예로는 골 형성 단백질(Bone morphogenic protein, BMP), 성장 분화 인자(Growth and differentiation factor, GDF), 형질전환 성장 인자-β(Transforming Growth Factor-β, TGF-β), 인슐린형 성장 인자(Insulin like growth factor, IGF), 섬유아세포성장인자(Fibroblast growth factor, FGF), 프로스타글란딘 E 수용체 4(Prostaglandin E receptor 4, EP4), 혈소판 풍부 혈장(Platelet-rich plasma, PRP), 및 혈소판 유래 성장 인자(Platelet derived growth factor, PDGF) 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 약물은 바람직하게는 입자 형태일 수 있다.

[0040] 본 발명에서, 용어 “골 이식재”는 골조직의 결손이 발생한 경우, 이를 대체하고 신생골의 형성을 촉진시키기 위하여 사용하는 물질을 말하며, 본 발명은 인산칼슘계 세라믹스 재료로 구성되는 골 이식재층을 포함한다. 상기 인산칼슘계 세라믹스 재료는 모노칼슘 포스페이트 모노하이드레이트(Monocalcium phosphate monohydrate), 모노 칼슘 포스페이트 안하이드로스(Monocalcium phosphate anhydrous), 칼슘 메타포스페이트(Calcium metaphosphate), 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트(Dicalcium phosphate dihydrate), 디칼슘 포스페이트 안하이드로스(Dicalcium phosphate anhydrous), 칼슘 파이로포스페이트(Calcium pyrophosphate), 옥타칼슘 포스페이트(Octacalcium phosphate), 알파-트리칼슘 포스페이트(α-tricalcium phosphate), 베타-트리칼슘 포스페이트(βphosphate), 칼슘 디피시엔트 하이드록시아파타이트(Calcium deficient hydroxyapatite), 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite), 테트라칼슘 포스페이트(Tetracalcium phosphate), 및 아몰포스 칼슘 포스페이트(Amorphous calcium phosphate) 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0041] 본 발명에서, 용어 “실리카 형성 펩타이드”는 실리카 전구체와 반응하여 실리카를 합성할 수 있는 모든 펩타이드를 총칭하며, 비제한적인 예로서 하기 표 1의 실리카 형성 펩타이드일 수 있다.

표 1

[0042]

실리카 형성 펩타이드	서열목록	유래	서열번호
Ect_p1	SSRSSSHRRHDHHDHRRGS	*Ectocarpus siliculosus*	1
Ect_p2	SSKKSGERHHRSA	*Ectocarpus siliculosus*	2
RG	RRRRRGCGRRRGGRGGRGRGGCGRRR	*Salpingoeca sp.*	3
Sal_p1	CGRRRGGRGGRGRGGCGRRR	*Salpingoeca sp.*	4
Vol_p1	SGRRRGSRRRGSRRR	*Volvox carteri f.*	5
Vol_p2	SRLRGRRRRLSPGR	*Volvox carteri f.*	6
Vol_p3	SSHRHHHDHHDHHH	*Volvox carteri f.*	7

[0043] 본 발명에서, 용어 “골 형성”은 신생 골조직이 형성되거나 골 성장을 촉진하여 골조직이 형성되는 모든 현상

을 의미하며, 용어 “골 재생”은 손상된 골조직을 골세포가 증식하거나 골아세포가 골세포로 분화하는 등의 과정을 거쳐 골 손상을 치료, 완화, 개선시키는 모든 현상을 의미한다.

[0044] 본 발명에서, 용어 “스캐폴드(scaffold)”는 세포를 이용하여 손상된 조직을 다시 회복하기 위해 세포가 조직의 형상을 이루도록 돕는 뼈대를 의미하며, 조직재생 분야에서 기존 조직과의 연결 및 본래 형태를 복원하는데 매우 중요한 역할을 한다.

[0046] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0048] **실시예 1. 본 발명의 약물 전달체 제조방법**

[0049] 골 이식재층으로서 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite, HA) 50mg과 바인더로서 카테콜 50 μl을 혼합하여 5 mm 정육면체의 약물 전달체를 제조하였다. 이후 상기 전달체를 50 μM의 실리카 형성 펩타이드(Ect_p1 펩타이드, 대한민국 등록특허 10-1473059, 서열번호 1)가 포함된 50 mM phosphate buffer (pH 7.6) 용액에 넣고 1시간동안 반응시켜 상기 실리카 형성 펩타이드가 전달체 표면에 도포되도록 한 후 PBS 용액속에서 100 mM Tetramethyl orthosilicate(TMOS)와 1시간동안 반응시켜 실리카 형성을 유도하였다. 반응 후에는 에탄올과 증류수를 이용하여 잉여물질을 제거하였다.

[0051] 즉, 실험군으로는 상술한 카테콜 바인더로 제작한 전달체와 상기 카테콜 전달체를 실리카로 도포한 전달체를, 비교군으로는 골이식재를 응집시키기 위한 바인더로 흔히 사용되는 carboxymethyl cellulose를 바인더로 하여 제작한 CMC 전달체와 시판용 지혈제품 Collastat을 이용한 전달체를, 5 mm 정육면체의 스캐폴드로 만들어 하기 실험들을 수행하였다.

[0053] **실시예 2. 약물 전달체의 압축강도 측정**

[0054] 상기 카테콜 전달체, 카테콜 및 실리카 전달체, CMC 전달체 및 Collastat 전달체를 스캐폴드로 제작한 후, TW-D102(태원테크)와 200 kgf load cell을 이용하여 1 mm/min으로 압축강도를 측정하였다. 70% strain까지 압축강도를 측정한 결과, 카테콜 및 실리카를 포함하는 전달체는 61.1 N, 카테콜 전달체는 38.3 N, CMC 전달체는 27.6 N, Collastat 전달체는 18.5 N으로 측정되었다(도 4). 즉, 본 발명의 카테콜 전달체와 카테콜 및 실리카 전달체는 비교군에 비하여 압축 강도가 우수하므로, 견고한 골 형성 또는 골 재생재로 활용될 수 있음을 알 수 있다.

[0055]

[0056] **실시예 3. 약물 전달체의 의사체액 내 응집력 분석**

[0057] 상기 카테콜 전달체, CMC 전달체 및 Collastat 전달체를 스캐폴드로 제작한 후, 의사체액(Simulated Body Fluid; SBF)에 넣어서 풀어짐 정도를 비교하였다. 혈액이 응고되는 시간인 30분까지 비교한 결과, CMC 전달체는 10분부터 풀어지는 현상을 보였고, Collastat 전달체와 카테콜 전달체는 30분까지 골이식재의 응집이 유지되었다(도 5). 즉, 본 발명의 카테콜 전달체는 혈액 또는 수분 환경 속에서 카테콜층을 바인더로 하여 응집이 잘 유지되는바, 약물을 안정적으로 전달이 가능함을 알 수 있다.

[0058]

[0059] **실시예 4. 약물 전달체의 BMP-2 담지 능력 및 방출 정도 확인**

[0060] 상기 카테콜 전달체, 카테콜 및 실리카 전달체, CMC 전달체 및 Collastat 전달체를 스캐폴드로 제작하고, 50 μg/ml의 BMP-2 용액에서 2시간동안 담지시킨 후, PBS 용액에 상기 전달체들을 넣어 16시간동안 시간별로 방출되는 BMP-2의 양을 비교하였다. BMP-2의 정량은 BMP-2 ELISA kit(Peprotech)을 사용하였고 450 nm 파장값을 측정

하여 확인하였다.

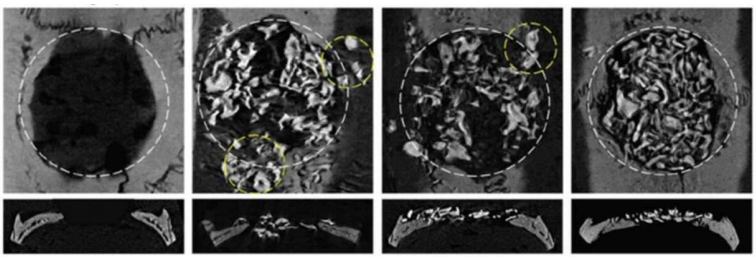
[0061] 그 결과, 골 이식재 응집을 위한 바인더를 사용하지 않고, 골 이식재층으로 이루어진 전달체에 담지된 BMP-2의 양은 5.5 μg으로 가장 낮은 수치를 보였으며, 카테콜 전달체(88.6 μg)와 카테콜 및 실리카 전달체(97.1 μg)는 CMC 전달체(55.1 μg)와 Collastat 전달체(31.7 μg)와 비교하여 높은 BMP-2 담지능력을 보였다(도 6).

[0063] 또한, 상기 스캐폴드로 제작한 전달체들에 BMP-2를 담지시킨 후 방출되는 양을 비교하였다. 골 이식재를 응집시키지 않은 경우(즉, 바인더 없이 골 이식재층으로 이루어진 전달체) 초기에 대부분의 BMP-2가 방출되었고, 바인더를 사용하여 골 이식재를 응집시킨 경우에는 CMC 전달체와 Collastat 전달체보다 카테콜 전달체가 더 느린 방출속도를 보였고, 카테콜 및 실리카 전달체가 가장 느린 방출 속도를 보였다. 16시간 후 방출된 총 BMP-2의 양은 바인더가 없는 경우 99.2%, Collastat 전달체가 67.8%, CMC 전달체가 64.1%, 카테콜 전달체가 48.9%, 카테콜 및 실리카 전달체가 40.2%를 보였다(도 7). 즉, 본 발명의 카테콜 전달체와 카테콜 및 실리카 전달체는 비교군에 비해 더욱 많은 양의 BMP-2를 담지할 뿐만 아니라 BMP-2가 서방형으로 방출되어 혈액 또는 수분에 의해 상대적으로 흩어지지 않아 골 형성이 잘 된다는 점을 알 수 있다.

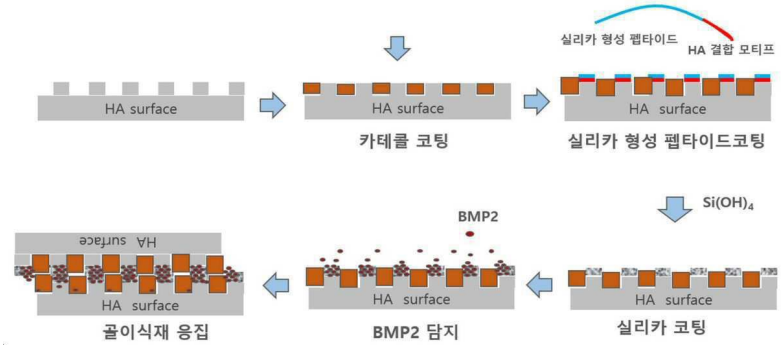
[0065] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

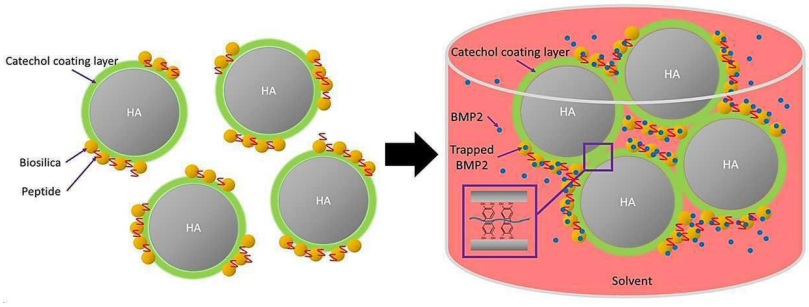
도면1



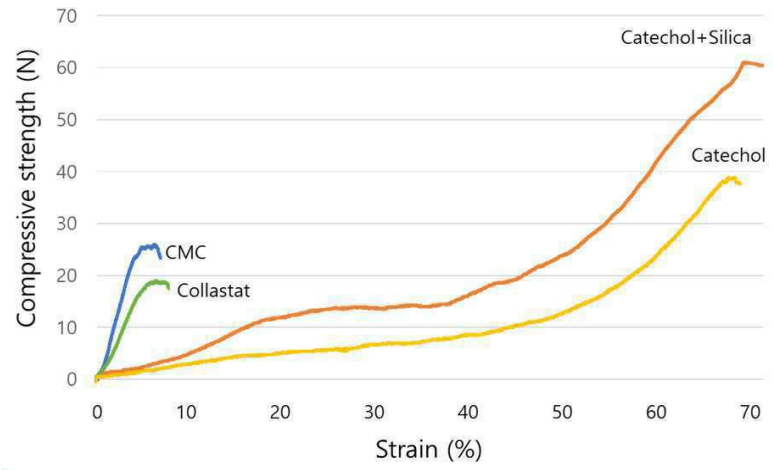
도면2



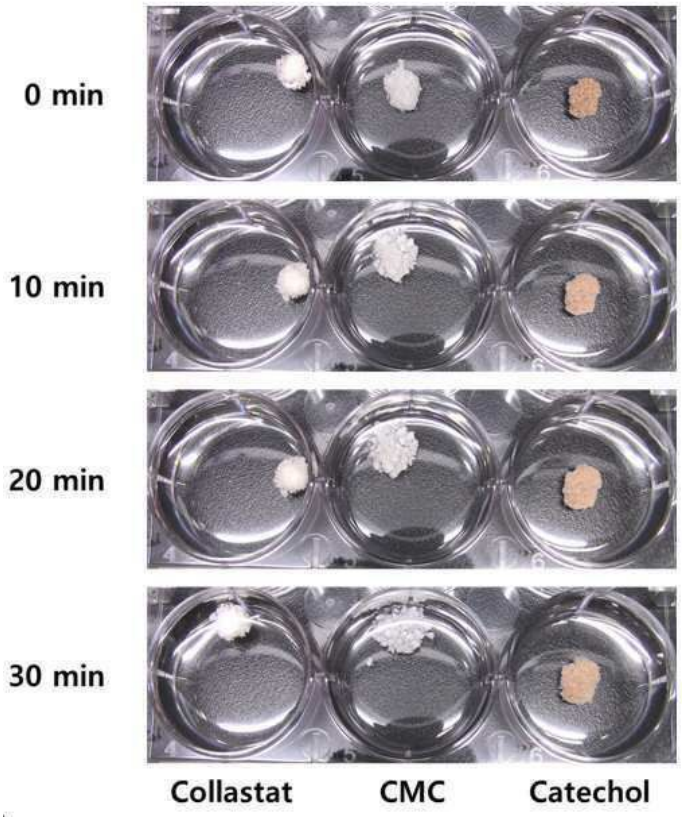
도면3


Catechol coating layer
HA
Biosilica
Peptide
BMP2
Trapped
BMP2
Solvent

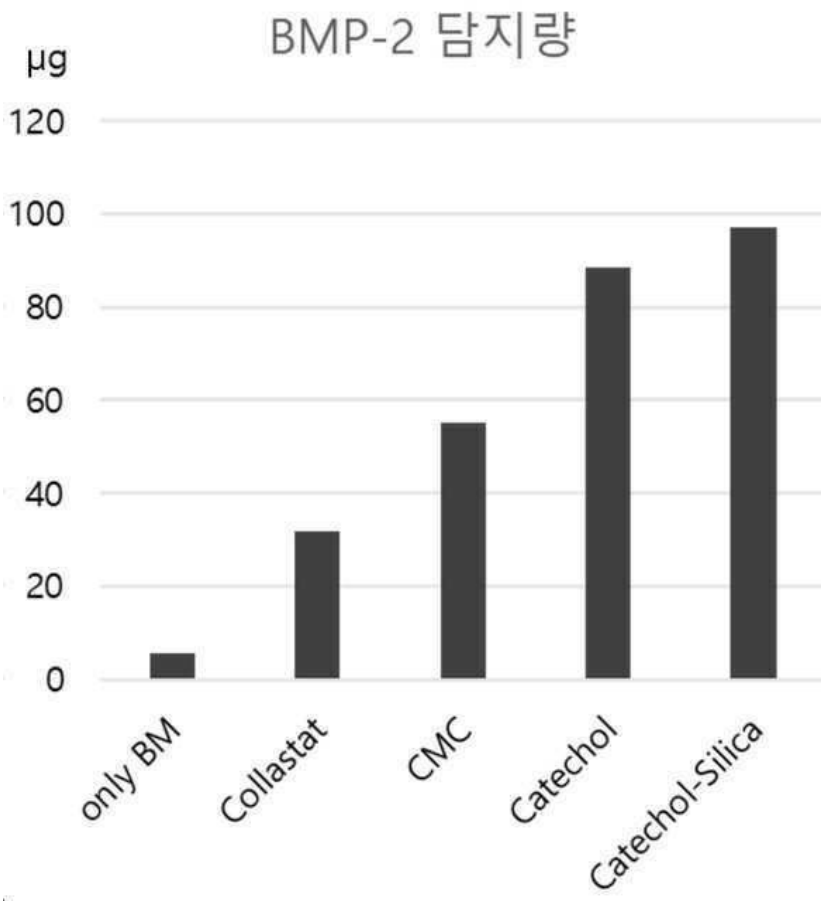
도면4


Compressive strength (N)
Strain (%)
Catechol+Silica
Catechol
CMC
Collastat
0
10
20
30
40
50
60
70

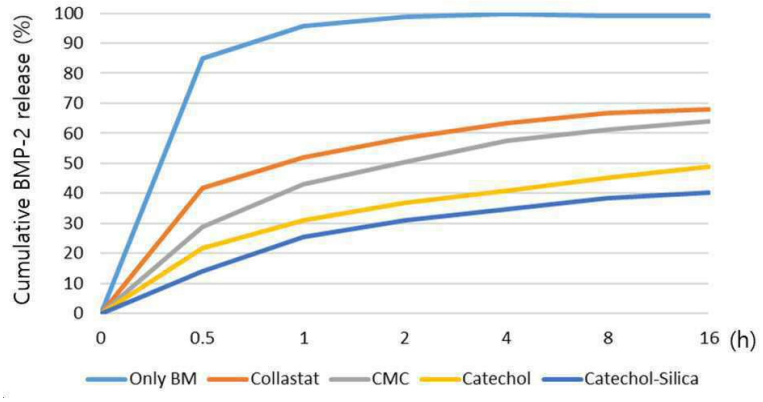
도면5



도면6



도면7



서 열 목 록

<110> Korea University Research and Business Foundation

<120> Sustained releasable drug delivery system using catechol and biosilica and uses thereof

<130> DP-2020-0180P1, DHP20-237P

<150> KR 10-2020-0041382

<151> 2020-04-06

<160> 7

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Ectocarpus siliculosus

<400> 1

Ser Ser Arg Ser Ser Ser His Arg Arg His Asp His His Asp His Arg
1 5 10 15

Arg Gly Ser

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> Ectocarpus siliculosus

<400> 2

Ser Ser Lys Lys Ser Gly Glu Arg His His Arg Ser Ala
1 5 10

<210> 3

<211> 26

<212> PRT

<213> Salpingoeca sp.

<400> 3

Arg Arg Arg Arg Arg Gly Cys Gly Arg Arg Arg Gly Gly Arg Gly Gly
1 5 10 15

Arg Gly Arg Gly Gly Cys Gly Arg Arg Arg
20 25

<210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Salpingoeca sp.

<400> 4

Cys Gly Arg Arg Arg Gly Gly Arg Gly Gly Arg Gly Arg Gly Gly Cys

1 5 10 15

Gly Arg Arg Arg

20

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> Volvox carteri

<400> 5

Ser Gly Arg Arg Arg Gly Ser Arg Arg Arg Gly Ser Arg Arg Arg

1 5 10 15

<210> 6

<211> 14

<212> PRT

<213> Volvox carteri

<400> 6

Ser Arg Leu Arg Gly Arg Arg Arg Arg Leu Ser Pro Gly Arg

1 5 10

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> Volvox carteri

<400> 7

Ser Ser Lys Lys Ser Gly Glu Arg His His Arg Ser Ala

1 5 10