



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0122337
(43) 공개일자 2024년08월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61L 27/26 (2006.01) A61F 2/00 (2021.01)
A61L 27/20 (2006.01) A61L 27/24 (2006.01)
A61L 27/52 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61L 27/26 (2013.01)
A61F 2/004 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2024-0013130

(22) 출원일자 2024년01월29일

심사청구일자 2024년01월29일

(30) 우선권주장

1020230014747 2023년02월03일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

홍광대

경기도 안양시 동안구 부림로 13, 605동 301호 (평촌동, 꿈마을현대아파트)

서지훈

서울특별시 성북구 고려대로17가길 64, 107동 1103호 (안암동1가, 래미안 안암)

이준범

충청북도 청주시 청원구 율량로201번길 25-12, 302호 (율량동)

(74) 대리인

특허법인 무한

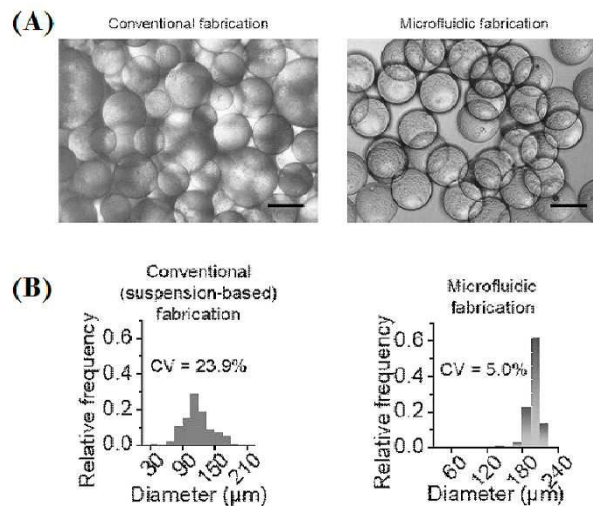
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 주사압을 낮춘 체내 부피 유지 제제 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 capillary-based 미세유체 시스템을 이용하여 주사압이 현저하게 감소된 체내 부피 유지 제제 제조방법과 이의 방법으로 제조된 체내 부피 유지 제제 등에 관한 것으로서, 본 발명의 제공으로 체내 부피 유지 제제 주사에 필요한 주입 압력이 크게 낮아져 시술 정확도가 보다 증가할 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A61F 2/0059 (2013.01)

A61L 27/20 (2013.01)

A61L 27/24 (2013.01)

A61L 27/52 (2013.01)

A61L 2400/06 (2013.01)

A61L 2430/34 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711157519

과제번호 2022R1A2C2009877

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)

연구과제명 골반저 질환 치료를 위한 재생의학 의료기기용 세포막 모방형 체내 부피 유지 제제
의 안전성 및 효용성 실험

과제수행기관명 고려대학교 산학협력단

연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

5% 이하의 산포도를 갖는 폴리디메틸실록산(Polydimethylsiloxane, PDMS) 입자를 포함하는 체내 부피 유지 제제.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 폴리 폴리디메틸실록산 입자는 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)로 둘러싸인 것인, 체내 부피 유지 제제.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 체내 부피 유지 제제는 상온에서 100 내지 1500 cps의 점도를 갖는 것인, 체내 부피 유지 제제.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 체내 부피 유지 제제는 히알루론산 또는 콜라겐을 포함하는 하이드로젤 형태인 것인, 체내 부피 유지 제제.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 양쪽성이온 고분자로 둘러싸인 폴리디메틸실록산은 평균입경은 130~200 μm 이고,

상기 입자의 산포도는 3% 미만인 것인, 체내 부피 유지 제제.

청구항 6

제2항에 있어서,

상기 양쪽성이온 고분자는 MPC(2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)와 BMA(n-butyl methacrylate)가 무작위로 공중합된 poly(MPC-ran-BMA)인 것인, 체내 부피 유지 제제.

청구항 7

하기 (a) 내지 (d) 단계를 포함하는 상기 체내 부피 유지 제제 제조방법:

(a) 양쪽이온성 고분자를 준비하는 단계;

(b) 하기 (i) 내지 (iv) 단계를 포함하는 capillary-based 미세유체 시스템을 이용한 실리콘 마이크로입자를 제조하는 단계;

(i) 폴리비닐알코올(polyvinylalcohol)이 포함된 정제수로 이루어진 연속상(수용액상)과 실리콘 엘라스토머 전구체가 포함된 유기용매로 이루어진 분산상(유기용매상)을 준비하는 단계;

(ii) 상기 연속상과 분산상을 capillary-based 미세유체 시스템에 적용하여 수용액상에 분산된 방울 모양의 유기용매상의 혼합물을 수득하는 단계;

(iii) 상기 혼합물에서 유기용매를 증발시키는 단계;

(iv) 상기 (iii) 단계 후에 혼합물에 상기 (a) 단계의 양쪽이온성 고분자를 첨가하고 실리콘 입자를 경화시키는 단계;

(c) 입자 운반 하이드로젤 제조 단계; 및

(d) 상기 (b) 단계에서 제작한 실리콘 입자와 (c) 단계에서 제작한 하이드로젤을 혼합하고 교반하여 체내 부피 유지 제제를 제조하는 단계.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 (i) 단계에서 연속상은 폴리비닐알코올(polyvinylalcohol)이 2~5 wt%로 포함된 것이고, 상기 분산상은 실리콘 엘라스토머 전구체가 5wt% 포함된 유기용매인 것인, 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 (ii) 단계는 연속상이 주입되는 유리 모세관과 분산상이 주입되는 니들에서 수행되는 것인, 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 (ii) 단계에서 연속상은 1.00 mL/min (Vc)의 유속으로 공급되고, 분산상은 0.05 mL/min (Vd)의 유속으로 공급되며, 연속상과 분산상의 주입 속도비(Vc/Vd)는 20 ± 10 인 것인, 제조방법.

청구항 11

제7항에 있어서,

상기 (iii) 단계는 진탕 배양기에서 400rpm 이하로 수행되는 것인, 제조방법.

청구항 12

제7항에 있어서,

상기 (iv) 단계의 경화는 30~60° C의 온도에서 1~12 시간 동안 수행되는 것인, 제조방법.

청구항 13

제7항에 있어서,

상기 (c) 단계는 정제수에 히알루론산을 첨가하고 BDDE(1,4-Butanediol diglycidyl ether)을 첨가한 후 가열하여 하이드로젤을 형성하여 입자 운반 하이드로젤 제조하는 것인, 제조방법.

청구항 14

제7항에 있어서,

상기 (d) 단계는 (b) 단계에서 제작한 실리콘 입자와 (c) 단계에서 제작한 하이드로젤을 1~9:9~1 중량비율로 혼합하고 교반하여 체내 부피 유지 제제를 제조하는 것인, 제조방법.

청구항 15

제7항 내지 제14항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 체내 부피 유지 제제로서,

상기 체내 부피 유지 제제가 포함하는 입자의 산포도는 5% 이하인 것인, 체내 부피 유지 제제.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 capillary-based 미세유체 시스템을 이용하여 주사압이 현저하게 감소된 체내 부피 유지 제제 제조방

[0001]

법과 이의 방법으로 제조된 체내 부피 유지 제제 등에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 요실금이란 자신의 의지와 무관하게 소변이 누출되는 배뇨이상으로 사회적 또는 위생상의 문제를 일으키는 것이고, 변실금이란 자신의 의지와 무관하게 대변이 나오는 것으로서, 요실금과 변실금은 종양이나 기타 소모성 질환 같이 생명을 위협하지는 않지만 이로 인한 불편함과 수치심을 초래하고 심각한 사회활동의 제약으로 작용하여 환자는 스스로 고립되어 가고 정신적인 장애를 유발할 수 있다.
- [0004] 이러한 요실금과 변실금은 현대 의학이 해결하기 가장 어려운 난치질환의 하나이다. 국내 암환자의 50 % 이상은 완치가 가능한 반면, 요실금 및 변실금을 위한 믿을 만한 치료법이 아직까지 전무한 상태이다. 변실금은 항문직장의 해부생리에 영향을 미치는 항문괄약근, 신경계 이상을 비롯한 다양한 요소의 결과로 발생되기 때문에 치료가 쉽지 않다. 약물, 행동요법, 괄약근 성형술 등 적절히 병합하여 치료하고 있으나, 효과가 미미하고, 그에 대한 과학적 증거 들이 불충분한 상태이다.
- [0005] 현재, 요실금 환자의 치료는 천수신경자극술 등이 국내에서 극히 예외적인 경우에서 시행되는 상황이나, 치료 효과가 시간에 따라 저하되고, 치료기전 또한 명확하지 않다. 또한, 무선주파수 열에너지 치료, 인공괄약근 활동이 많은 환자나 요실금의 치료 요구가 많은 환자들은 결국 말기치료로서 복병에 장루를 달고 평생을 살아야 하며, 관련 합병증을 피할 수 없다.
- [0006] 한편, 항문괄약근에 인공물질 등을 주사하여 괄약근의 두께를 증가시켜 괄약근의 압력을 개선하기 위한 연구는 1993년 이후 시도하여 왔으나, 현재까지 무작위 전향적 연구로 그 효과가 증명된 것은 없으며, 일관된 결과를 확인하지 못하였다.
- [0007] 이러한 주사제로는 실리콘(silicone), 실리콘계 물질(silicone-based agent), 카본이 코팅된 비드(carboncoated beads, Durasphere), 자가 지방(autologous fat), 글루타르알데히드 가교된 콜라겐(glutaraldehyde cross-linked collagen, GAX), 폴리테트라플루오로에틸렌(polytetrafluoroethylene, Polytef) 등이 약화된 항문괄약근에 주입되어 사용되고 있으나, 가격이 고가일 뿐만 아니라, 주입된 재료의 다른 부분으로의 이동에 따른 추가적인 주입 및 재수술이 요구된다. 아울러, 항문괄약근에 주입되는 재료에 의해서 염증반응 등을 보이는 문제가 있었다.
- [0008] 본 발명자들은 체내 주입 시 염증반응 발생의 문제가 없고 주사된 위치에서 부피를 유지하여 다른 기관으로 이동가능성이 낮은 제제를 개발한 바 있다(KR 10-2264957).
- [0009] 한편, 체내 부피 유지 제제(bulking agent)는 피부 필러 중 치료 목적 필러의 일종으로 성공적인 적용을 위해서는 정확한 병변 위치에 주사 및 정량의 주입이 중요하다. 적용 부위나 치료 목적에 따라서 필러의 소재와 필러 소재의 주입용 운할 매질로 사용되는 하이드로젤 소재의 점도 등이 달라지게 되며, 이러한 사용 소재의 특성은 주사압에 영향을 준다. 주사압이 높은 경우 시술자에 의한 정확한 위치에 시술 및 정량 주입이 어렵게 되고 이를 위해서는 높은 숙련도를 요구하게 된다. 이에, 본 발명자들은 기 발명한 체내 부피 유지 제제의 주사압을 낮추어 낮은 압력으로도 정확한 위치에 시술 및 정량 주입이 가능하도록 개발하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0011] (특허문헌 0001) KR 10-2264957

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 capillary-based 미세유체 시스템을 이용하여 주사압이 현저하게 감소된 체내 부피 유지 제제 제조방법과 이의 방법으로 제조된 체내 부피 유지 제제를 제공하는 것이다.

[0013] 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

- [0015] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 5% 이하의 산포도를 갖는 폴리디메틸실록산(Polydimethylsiloxane, PDMS) 입자를 포함하는 체내 부피 유지 제제를 제공한다.
- [0016] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 폴리디메틸실록산 입자는 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)로 둘러싸인 것이다.
- [0017] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 체내 부피 유지 제제는 생체적합성을 가진 물질로서 상온에서 100 내지 1500 cps의 점도를 갖는 것일 수 있고, 보다 구체적으로 히알루론산 또는 콜라겐을 포함하는 하이드로젤일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 양쪽성이온 고분자로 둘러싸인 폴리디메틸실록산은 평균입경이 100~200 μm , 바람직하게는 130~200 μm 일 수 있으며, 상기 입자의 산포도는 3% 미만인 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 양쪽성이온 고분자는 MPC(2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)와 BMA(n-butyl methacrylate)가 무작위로 공중합된 poly(MPC-ran-BMA)일 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명은 하기 (a) 내지 (d) 단계를 포함하는 상기 체내 부피 유지 제제 제조방법을 제공한다:
- [0021] (a) 양쪽이온성 고분자를 준비하는 단계;
- [0022] (b) 하기 (i) 내지 (iv) 단계를 포함하는 capillary-based 미세유체 시스템을 이용한 실리콘 마이크로입자를 제조하는 단계;
- [0023] (i) 폴리비닐알코올(polyvinylalcohol)이 포함된 정제수로 이루어진 연속상(수용액상)과 실리콘 엘라스토머 전구체가 포함된 유기용매로 이루어진 분산상(유기용매상)을 준비하는 단계;
- [0024] (ii) 상기 연속상과 분산상을 capillary-based 미세유체 시스템에 적용하여 수용액상에 분산된 방울 모양의 유기용매상의 혼합물을 수득하는 단계;
- [0025] (iii) 상기 혼합물에서 유기용매를 증발시키는 단계;
- [0026] (iv) 상기 (iii) 단계 후에 혼합물에 상기 (a) 단계의 양쪽이온성 고분자를 첨가하고 실리콘 입자를 경화시키는 단계;
- [0027] (c) 입자 운반 하이드로젤 제조 단계; 및
- [0028] (d) 상기 (b) 단계에서 제작한 실리콘 입자와 (c) 단계에서 제작한 하이드로젤을 혼합하고 교반하여 체내 부피 유지 제제를 제조하는 단계.
- [0029] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 (i) 단계에 있어서 연속상은 폴리비닐알코올(polyvinylalcohol)이 2~5 wt%로 포함됨이 바람직하고, 보다 바람직하게는 3wt%로 포함될 수 있다. 또한, 분산상은 실리콘 엘라스토머 전구체가 5wt% 포함된 유기용매일 수 있으며, 상기 유기용매는 다이클로로메테인(dichloromethane)일 수 있다.
- [0030] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 (ii) 단계는 연속상이 주입되는 유리 모세관과 분산상이 주입되는 니들에서 수행되는 것일 수 있으며, 상기 연속상은 1.00 mL/min (Vc)의 유속으로 공급되는 것일 수 있으며, 상기 분산상은 0.05 mL/min (Vd)의 유속으로 공급되는 것일 수 있다. 또한, 상기 연속상과 분산상의 주입 속도비는 (Vc/Vd)는 20 $\pm$ 10인 것일 수 있다.
- [0031] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 (iii) 단계는 진탕배양기에서 수행되는 것일 수 있으며, 400rpm 이하로 수행되는 것일 수 있다.
- [0032] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 (iv) 단계의 경화는 30~60° C의 온도에서 1~12 시간 동안 수행되는 것일 수 있다.
- [0033] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 (c) 단계는 정제수에 히알루론산을 첨가하고 BDDE(1,4-Butanediol diglycidyl ether)을 첨가한 후 가열하여 하이드로젤을 형성하여 입자 운반 하이드로젤 제조하는 것일 수 있다.

[0034] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 (d) 단계는 (b) 단계에서 제작한 실리콘 입자와 (c) 단계에서 제작한 하이드로젤을 1~9:9~1 중량비율로 혼합하고 교반하여 체내 부피 유지 제제를 제조하는 것일 수 있다.

[0035] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 체내 부피 유지 제제를 제공하며, 상기 방법으로 제조된 체내 부피 유지 제제에 포함된 입자 산포도는 5% 이하일 수 있으며, 바람직하게는 3% 미만 일 수 있다.

발명의 효과

[0037] 본 발명은 현저하게 주사압을 낮춘 체내 부피 유지 제제에 관한 것으로서, 본 발명의 제공으로 체내 부피 유지 제제 주사에 필요한 주입 압력이 크게 낮아져 시술 정확도가 보다 증가할 수 있다. 또한 크기가 균일한 입자로 제작되어 생체 이물 반응을 유발할 수 있는 직경(70 μm 이하)의 입자 비율이 낮으므로 향상된 생체적합성을 기대할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0039] 도 1은 실리콘 마이크로입자 제조 방법과 사진으로 A는 종래 서스펜션 기반의 마이크로입자 제조 방법과 제조예의 사진이며 B는 미세유체 시스템 기반 마이크로입자 제조 방법과 제조예의 사진이다.

도 2a는 1wt% 폴리비닐알코올이 포함된 정제수를 연속상으로 이용하는 경우 실리콘 전구체 액적의 융합을 확인한 사진이다.

도 2b는 실리콘 전구체 액적의 경화 온도를 60° C 이상의 온도에서 수행한 경우에 융합된 실리콘 입자를 확인한 사진이다.

도 2c는 유기용매 증발에서 물리적 충격이 큰 교반방법을 이용한 경우 융합이 발생하여 고르지 못한 입자 형성을 확인한 사진이다.

도 3a는 입자 운반 하이드로젤 없이 양쪽이온성 고분자로 코팅된 실리콘 마이크로 입자만으로는 주사압이 높아져 주사기로 주입이 불가능함을 확인한 사진이다.

도 3b는 입자 운반 하이드로젤에 혼합된 양쪽이온성 고분자로 코팅된 실리콘 마이크로 입자가 주사기로 주사 가능한 체내 부피 유지 제제로 이용될 수 있음을 확인한 사진이다.

도 4는 capillary-based 미세유체 시스템 적용에 있어서 분산상 주입시 이용되는 니들의 내경에 따라 제작되는 입자 크기를 확인한 것으로서, 도 4a는 0.159 μm 내경을 갖는 30G 니들을 이용한 경우의 입자 크기 사진이고, 도 4b는 0.108 μm 내경을 갖는 32G 니들을 이용한 경우의 입자 크기 사진이다.

도 5는 서스펜션 기반으로 제작된 마이크로입자와 미세유체 시스템으로 제작된 마이크로입자의 사진과 입자 직경 및 이의 산포도를 확인한 그래프이다.

도 6은 서스펜션 기반으로 제작된 마이크로입자, 미세유체 시스템으로 제작된 마이크로입자, 및 상기 각 마이크로입자가 양쪽이온성 고분자로 코팅된 입자의 단백질 흡착 테스트 결과이다.

도 7은 서스펜션 기반의 제작된 마이크로입자와 미세유체 시스템으로 제작된 마이크로입자를 포함하는 체내 부피 유지 제제의 주사압을 비교 확인한 것이다.

도 8은 서스펜션 기반으로 제작된 마이크로입자를 포함하는 체내 부피 유지 제제의 주사압을 입자의 평균 직경에 따라 비교 확인한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 낮은 주사압은 시술자에게 주사액을 정확한 위치에 정량의 주입이 용이하도록 한다. 본 발명자들은 기 연구를 통해서 계면활성 특성을 갖는 양쪽성이온 고분자와 이에 둘러싸인 실리콘 입자를 일정 점도를 갖는 용액에 분산 시킴으로서 인체 주입되어 주사 위치에서 유실이 적거나 없고 염증 발생이 낮은 체내 부피 유지 제제를 개발하였다(KR 10-2264957).

[0041] 기 연구에서 체내 부피 유지 제제는 서스펜션 기반으로 체내 부피 유지 제제를 제작하였다(도 1에 A). 본 발명

자들은 미세유체 시스템을 이용함으로써 one-pot 공정으로 기 방법으로 제작된 제제보다도 균일한 크기의 입자를 형성하여 낮은 주사압의 체내 부피 유지 제제 제작이 가능함을 확인하였다(도 1에 B).

[0042] 구체적으로, 기 연구의 체내 부피 유지 제제는 실리콘 입자와 실리콘 입자 표면을 둘러싸는 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)를 포함하는 제1조성 및 일정 점도를 갖는 제2조성을 포함한다.

[0043] 상기 실리콘 입자는 유기 실리콘 화합물로 PDMS(Polydimethylsiloxane) 일 수 있으며, 바람직하게는 친수성으로 개질된 실리콘 입자일 수 있다.

[0044] 상기 양쪽성이온 고분자는 친수성과 소수성을 띠는 계면활성의 특성을 가지며, 양쪽성이온 이온을 갖는 제1단량체와 아크릴산 에스테르를 함유하는 제2단량체를 포함하는 랜덤 공중합체일 수 있다.

[0045] 보다 구체적으로, 제1단량체는 MPC(methacryloyloxyethyl phosphorylcholine), CBMA(Carboxybetaine methacrylate), 및 SBMA(Sulfobetaine methacrylate)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으며, 제2단량체는 BMA(Butyl methacrylate), TRIS(3-[Tris(trimethylsiloxy)silyl]propyl methacrylate) 및 DMA(dodecyl methacrylate)로 이루어진 선택되는 하나 이상일 수 있다. 본 발명의 구체적인 실시예에서 양쪽성 이온 고분자(zwitterionic polymer)는 세포막 모방형 양쪽성이온인 MPC(methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)를 소수성 단량체인 BMA(Butyl methacrylate)와 함께 공중합시킨 2원계 랜덤 공중합체인 PMB (Poly(MPC-ran-BMA))을 이용하였다. 상기 MPC 와 BMA의 몰 분율은 각각 30 내지 70 %, 70 내지 30 % 일 수 있다. 일 예로, 상기 MPC 와 BMA는 1:1 의 몰분율을 첨가하여 합성될 수 있다. 다만, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0046] 상기 제2조성은 적절한 점도를 가짐으로써 제1조성의 입자가 가라앉지 않고 균일하게 분산되어 주사액으로 이용될 때 제1조성이 체내에 일정량 주입되도록 한다. 구체적으로, 제2조성은 생체적합성 점성 물질을 포함할 수 있으며, 상기 생체적합성 점성 물질은 히알루론산(Hyaluronic acid, HA) 또는 콜라겐(Collagen)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] [체내 부피 유지 제제의 제조]

[0049] 구체적으로, 미세유체 시스템을 이용한 체내 부피 유지 제제의 제조는 아래와 같이 진행하였다.

[0050] (1) 양쪽이온성 고분자의 합성

[0051] 2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC, 738.2 mg) 및 n-butyl methacrylate (BMA, 355.5 mg)을 에탄올 (5 mL)에 혼합하고 밀봉한 후 10분 동안 비활성기체로 퍼징(purging)하였다. 이어서, Azobisisobutyronitrile (AIBN; 4.1 mg) 중합 개시제를 첨가한 뒤 60 ° C로 12시간 동안 가열하여 고분자를 중합하였다. 반응이 끝난 중합체를 다이에틸 에터(Diethyl ether)에 첨가하여 파우더 형태로 수득하였다.

[0052] (2) 마이크로입자(제1조성) 제작

[0053] 2-1) 연속상 및 분산상 제조

[0054] 3wt% 폴리비닐알코올(polyvinylalcohol)이 용해된 정제수를 연속상으로 이용하였다.

[0055] 분산상은 다이클로로메테인(dichloromethane, DCM)에 5 wt%의 실리콘 엘라스토머 전구체(e.g., Corning사 Sylgard 184로서 주제 및 가교제의 10:1 혼합물)를 용해하여 준비하였다.

[0056] 2-2) 미세유체 시스템을 이용한 입자 제조

[0057] 주사기용 니들(30 내지 32 gauge) 일 말단에 작은 유리 모세관(외경 0.95 mm)을 삽관한 뒤 실리콘 튜브 안에(내경 0.79 mm)에 연결하였다. 실린지 펌프를 통해 니들 쪽에는 유기용매상을 0.05 mL/min (Vd), 유리 모세관에는 수용액상을 1.00 mL/min (Vc)의 일정한 유속으로 공급하였다. 이때 두 상의 주입 속도 비(Vc/Vd ~ 20±10)를 조절하여 방울 모양 유기용매 분산상 크기(400 μm)와 생산 빈도(frequency)를 결정하였다. 반대편에는 유연한 실리콘 튜브를 수기(500-mL receiving flask)에 연결하여 수용액상에 유기용매상의 방울이 분산되어 있는 혼합물을 수득하였다.

[0058] 수득된 혼합물을 40° C 환경에서 100 rpm 교반 배양(진탕배양기)을 2일 동안 진행하여 방울 모양의 분산상에서 유기용매를 증발시켜 적절한 크기로 안정화되도록(200 μm 내외) 실리콘 전구체가 가교되어 경화되도록 유도하였다. 경화가 완료되기 전에 1 mg/mL의 양쪽이온성 고분자를 첨가하여 표면 개질을 유도하고 60° C에서 6 h 동

안 경화시켰다. 이어서, 수용액(연속상)을 버리고 정제수로 3회 세척 후 건조하여 입자를 제조하였다.

[0059] (3) 입자 운반 하이드로젤(제2조성) 제작

[0060] 히알루론산(100 mg)을 정제수(1 mL)에 첨가하고 pH를 약 13으로 조절하여 용해하였다. 이어서, 1,4-Butanediol diglycidyl ether (BDDE, 15 μ L)를 용해물에 첨가한 뒤 50° C로 3시간 가열하여 가교체인 하이드로젤을 형성하였다. 그리고, 형성된 하이드로젤을 투석막으로 옮겨 인산완충식염수(PBS)에서 7일 간 투석을 진행하였다.

[0061] (4) 체내 부피 유지 제제 제작

[0062] 제작된 마이크로입자와 하이드로젤을 2:3 중량비로 혼합하여 교반하여 주사 제제를 제조하였다.

[0064] 상술한 체내 부피 유지 제제 제조에 있어서, 2-1)의 연속상의 폴리비닐알코올 농도는 2~5 wt% 임이 바람직하다. 이보다 낮은 경우 미세유체 시스템에 적용 시 입자의 액적(droplet)가 융합(fusion)되는 현상이 발생하는 바, 균일한 크기의 입자 제작이 어렵다(도 2a)

[0065] 또한, 2-2)에서 미세유체 시스템을 통해 제작된 입자의 경화는 30~60° C의 온도에서 수행됨이 바람직하고, 60° C를 초과하는 고온의 환경에 노출되지 않는 것이 중요하다. 경화 온도 조건이 60° C를 초과하는 경우 연속상 및 분산상(별칭제 필러 입자) 간의 계면에 불안정해지고 액적이 융합되는 현상이 발생한다(도 2b)

[0066] 나아가, 2-2)에서 방울 모양의 분산상에서 유기용매의 증발을 위한 교반은 물리적 충격이 크지 않도록 적절한 방법에 의해 수행되어야 하며, 바람직하게는 진탕배양기를 이용한 기계적 교반을 통해 수행될 수 있다. 진탕배양기를 이용한 기계적 교반에 있어서도 형성된 입자에 강한 외력이 작용하는 것은 배제되어야 하며, 가령 진탕배양기 사용 시 400rpm 초과的高速 교반을 수행하는 경우 액적의 융합 현상이 발생할 수 있다. 마찬가지로 상기 유기용매의 증발 시 자력교반자, 회전농축증발기 등의 물리적 충격이 큰 교반 방법을 이용하는 경우 입자의 융합 현상이 발생할 수 있다(도 2c).

[0067] 한편, 주사기에 주입되어 니들을 통해 주사되기 위해서는 압축력이 사람의 손가락 악력(약61.8 N; Choi, 2015; *Procedia Manufacturing* 3:5326) 이하여야 한다. 체내 부피 유지 제제에 있어서 양쪽이온성 고분자로 표면개질된 실리콘 입자 자체는 압축력이 61.8N을 초과하여 주사성(injectability)이 없다(도 3a). 따라서, 체내 부피 유지 제제는 상기 입자의 운반을 위한 하이드로젤과 함께 제공되어야 하며, 이때, 하이드로젤과 상기 입자의 혼합 비는 1~9:9~1일 수 있고, 본 명세서에서 구체적인 실험에 이용한 혼합 질량비는 2:3 이다(도 3b).

[0068] 한편, 양쪽이온성 고분자가 코팅된 입자의 크기는 실리콘 액적의 크기에 비례하고, 실리콘 액적의 크기는 액적 제작시 1차 토출 주사기용 니들의 직경에 의해 결정된다. 0.159 μ m 내경을 갖는 30G 니들을 이용한 경우 200 μ m 이상의 직경을 갖는 입자가 제작되고(도 4a), 0.108 μ m 내경을 갖는 32G 니들을 이용한 경우 200 μ m 미만의 직경을 갖는 입자가 제작된다(도 4b).

[0069] 상술한 (1) 및 (2)의 방법으로 제작된 실리콘 마이크로입자는 매우 균일한 크기를 갖는다(도 5). 이렇게 제작된 5% 이하의 산포도를 갖는 입자 집단은 23% 이상의 산포도를 갖는 종래 서스펜션 기반으로 제작된 입자와 비교하여 하이드로젤에 포함되어 현저하게 낮은 주사압을 나타내었다(도 7). 낮은 주사압과 함께 양쪽이온성 고분자 코팅으로 단백질 흡착능은 기존과 동일한 수준으로 감소시킬 수 있음을 확인하였다.

[0070] 상기를 통해, 평균크기가 동일한 입자 집단에 있어서 입자 크기가 균일한 경우에 단백질 흡착능에 영향이 없이 보다 낮은 주사압을 제공함을 알 수 있었다.

[0071] 이에, 본 발명자들은 입자의 산포도가 5% 이하인 체내 부피 유지 제제를 제공함으로써 현저하게 낮은 주사압을 갖는 주사제를 제공한다.

[0072] 또한, 본 발명은 특히 capillary-based 미세유체 시스템을 이용하여 주사압이 현저하게 감소된 체내 부피 유지 제제 제조방법을 제공한다.

[0073] 상기 제조방법은 하기 단계를 포함한다:

[0074] (a) 양쪽이온성 고분자를 준비하는 단계;

[0075] (b) 하기 (i) 내지 (iv) 단계를 포함하는 capillary-based 미세유체 시스템을 이용한 실리콘 마이크로입자를 제조하는 단계;

- [0076] (i) 폴리비닐알코올(polyvinylalcohol)이 포함된 정제수로 이루어진 연속상(수용액상)과 실리콘 엘라스토머 전구체가 포함된 유기용매로 이루어진 분산상(유기용매상)을 준비하는 단계;
- [0077] (ii) 상기 연속상과 분산상을 capillary-based 미세유체 시스템에 적용하여 수용액상에 분산된 방울 모양의 유기용매상의 혼합물을 수득하는 단계;
- [0078] (iii) 상기 혼합물에서 유기용매를 증발시키는 단계;
- [0079] (iv) 상기 (iii) 단계 후에 혼합물에 상기 (a) 단계의 양쪽이온성 고분자를 첨가하고 실리콘 입자를 경화시키는 단계;
- [0080] (c) 입자 운반 하이드로젤 제조 단계; 및
- [0081] (d) 상기 (b) 단계에서 제작한 실리콘 입자와 (c) 단계에서 제작한 하이드로젤을 혼합하고 교반하여 체내 부피 유지 체제를 제조하는 단계.
- [0083] 본 명세서에서 "체내 부피 유지 체제"란 개체의 체내에서 소정 부피를 유지할 수 있는 Bulking agent 로, 일종의 충전제 또는 보형물을 의미한다.
- [0084] 본 명세서에서 "양쪽성이온 고분자"는 두 개 또는 그 이상의 반대 전하를 띠는 작용기(functional group)을 갖는 고분자를 의미할 수 있다. 이때, 작용기는 적어도 하나는 양전하(positive electrical charge)를 띠고, 나머지 하나는 음전하(negative electrical charge)를 띠어서 순 전하(net charge)는 영(zero)이 된다. 한편, 본 발명에 따른 양쪽성 이온 고분자는 서로 반대되는 전하를 띠고 있으며, 계면활성의 특성을 갖고 있을 수 있다. 보다 상세하게는, 친수성기를 갖는 단량체와 소수성기를 갖는 단량체를 포함하는 공중합체일 수 있다.
- [0086] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.
- [0088] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.
- [0090] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0092] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0094] **[실시예]**
- [0095] **실시예 1. 제조방법에 따른 마이크로입자의 직경과 분포 확인**
- [0096] 미세유체 시스템을 이용한 마이크로입자는 상술한 [체내 부피 유지 체제의 제조]의 (1) 및 (2)와 같다. 비교를

위한 서스펜션 기반의 마이크로입자의 제조는 KR 10-2264957에 기술된 바와 동일하게 진행하였다.

[0097] 도 5는 제작된 실리콘 마이크로입자의 사진(A)과 이의 입자 직경 분포 그래프(B)이다.

[0098] 도 5에 (A) 사진으로도 확인할 수 있는 바와 같이 종래의 서스펜션 기반으로 제작된 마이크로입자의 크기는 균일하지 않았으나(좌), 미세유체 시스템을 이용하여 제작된 마이크로입자의 크기는 균일하였다(우).

[0099] 이의 입자 크기 분포를 정량적으로 확인한 하교 입자의 산포도(coefficient of variation, CV)를 계산하였다. 그 결과, 도 5에 (B)에 나타난 바와 같이 종래의 방법으로 제작된 입자의 산포도는 23.9% 였으나, 미세유체 시스템을 이용하여 제작된 입자의 산포도는 5% 이하였다.

[0101] 실시예 2. 제조방법에 따른 마이크로입자의 표면 단백질 흡착 특성 분석

[0102] 미세유체 시스템을 이용하여 제작된 PMB 고분자로 표면개질된 실리콘 입자 생체적합성을 in vitro에서 간접적으로 확인하기 위하여, 형광표식된 단백질의 흡착 강도를 평가하였다. 비교를 위하여 서스펜션 기반으로 제작된 PMB 고분자로 표면개질된 실리콘 입자를 이용하였다(KR 10-2264957).

[0103] 그 결과, 생체적합성 소재 zwitterion 코팅 시 단백질(FITC-conjugated bovine serum albumin, 녹색 형광) 흡착을 약 60% 줄일 수 있으며 이는 미세유체 시스템을 이용하여 제작된 입자에서도 동일한 결과로 나타났다(도 6).

[0105] 실시예 3. 제조방법에 따른 체내 부피 유지 제제의 주사압 확인

[0106] 미세유체 시스템을 이용하여 제작한 입자를 하이드로젤에 분산시킨 체내 부피 유지 제제와 서스펜션 기반으로 제작된 입자를 하이드로젤에 분산시킨 체내 부피 유지 제제의 주사압을 Mecmesin사의 MultiTest2.5를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 미세유체 시스템을 이용하여 제작된 균일한 크기의 입자가 포함된 제제의 경우 높은 산포도의 입자가 포함된 제제보다도 낮은 주사압을 나타내었다. 구체적으로 낮은 산포도의 입자를 포함하는 제제는 서스펜션 기반으로 제작된 제제보다 약 15배 낮은 주사 요구 압력을 나타내었다(도 7).

[0108] 실시예 4. 마이크로젤입자의 크기에 따른 체내 부피 유지 제제의 주사압 확인

[0109] 서스펜션 기반으로 교반속도를 조절하여 마이크로젤 입자의 크기(직경)를 평균±표준편차로서 (129.2 ± 27.3) μm 및 (226.9 ± 77.1) μm 으로 달리하여 제작한 입자를 하이드로젤에 분산시켜 체내 부피 유지 제제를 제작하였다. 이를 각각 제조예 2 및 제조예 3으로 명명한다. 제작된 체내 부피 유지 제제의 주사압을 다른 두 내경의 바늘을 장착하여 Mecmesin사의 MultiTest2.5를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 0.838 mm의 내경을 가진 18 gauge 바늘 장착 시 (129.2 ± 27.3) μm 의 직경을 가진 제조예 2 및 (226.9 ± 77.1) μm 의 직경을 가진 제조예 3 각각 0.5 N, 0.8 N의 평균 주사압과 0.9 N, 2.3 N의 최대 주사압으로 낮은 주사압을 보였다. 한편, 0.603 mm의 내경을 가진 20 gauge 바늘 장착 시 제조예 2의 경우 평균 0.6 N, 최대 1.2 N의 주사압을 보인 반면 제조예 3의 경우 평균 12.7 N, 최대 46.9 N의 주사압을 보여 주사압이 크게 증가하였다(도 8).

[0110] 실시예 3 및 4를 통하여 제작한 마이크로의 입자의 산포도 및 크기(직경)이 주사압에 현저한 영향을 가짐을 알 수 있으며, 20 gauge 바늘을 사용하는 응용 분야에서 상기 과제 해결하기 위하여, 본 발명은 130 μm 내지 200 μm 의 입자 크기(직경)을 갖는 폴리디메틸실록산(Polydimethylsiloxane, PDMS) 입자를 포함하는 체내 부피 유지 제제를 제공할 수 있다.

[0112] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

[0113] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

[0115] [약어]

[0116] ZcPH : zwitterion-coated PDMS-hyaluronic acid solution

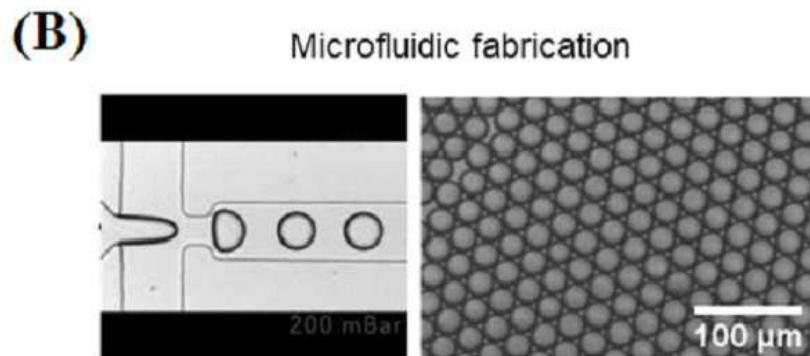
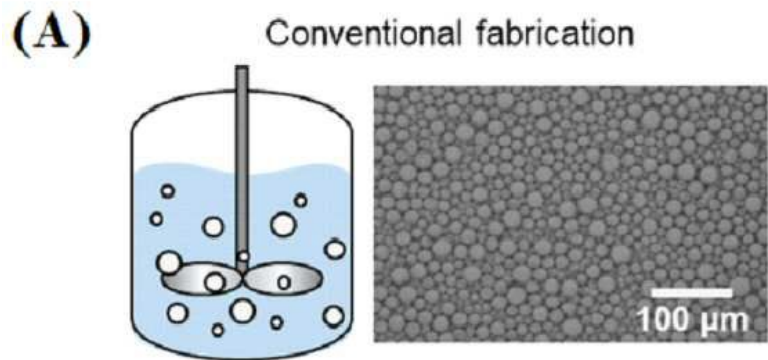
[0117] UcPH : Uncoated PDMS-hyaluronic acid solution

[0118] ZcPH-MF : microfluidically fabricated zwitterion-coated PDMS-hyaluronic acid solution

[0119] UcPH-MF : microfluidically fabricated uncoated PDMS-hyaluronic acid solution.

도면

도면1



도면2a



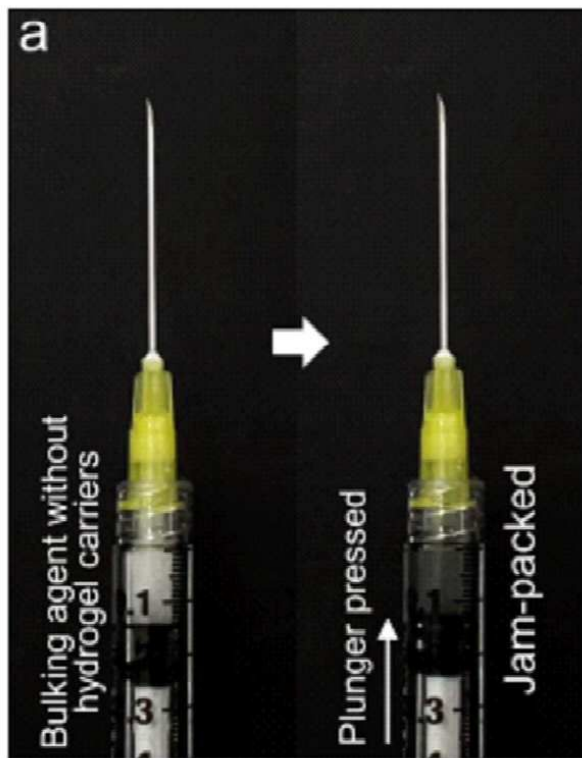
도면2b



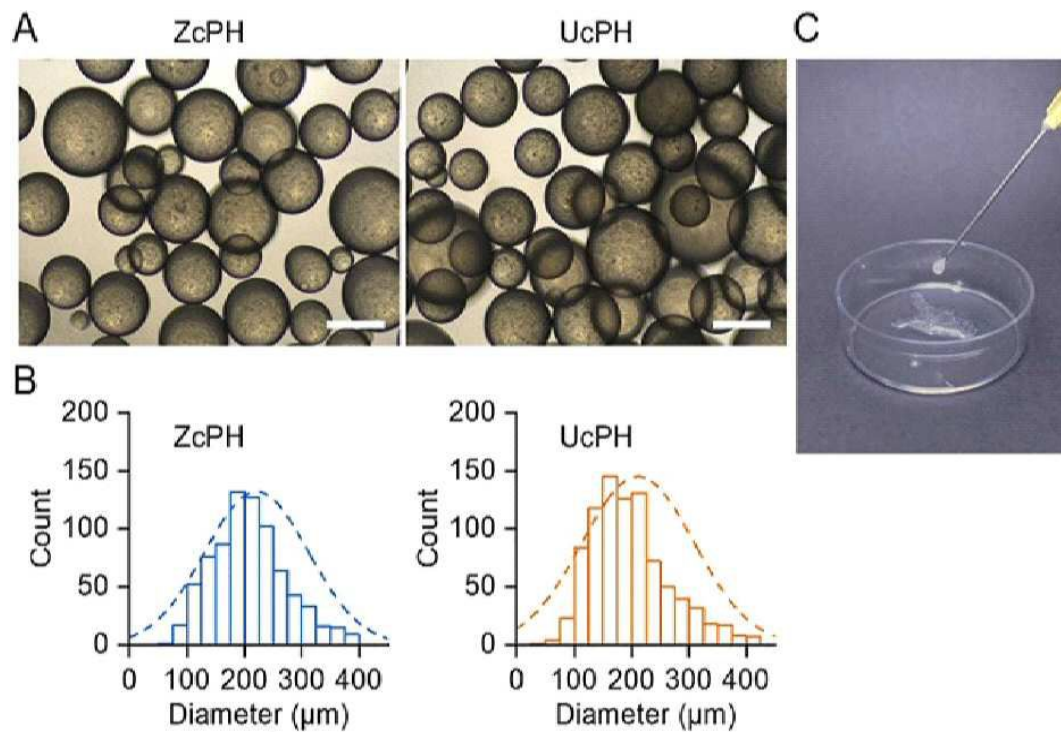
도면2c



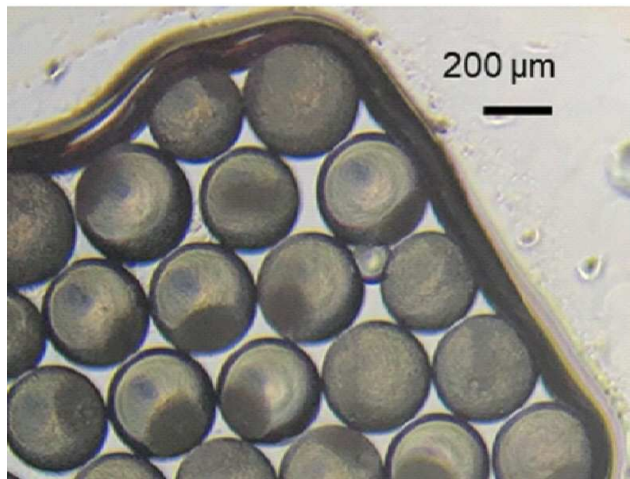
도면3a



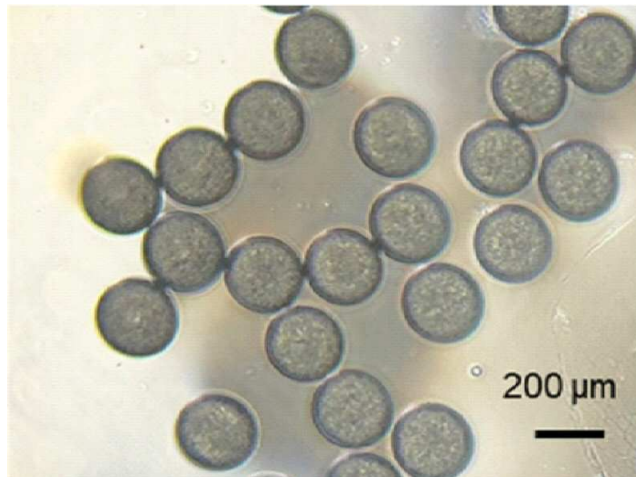
도면3b



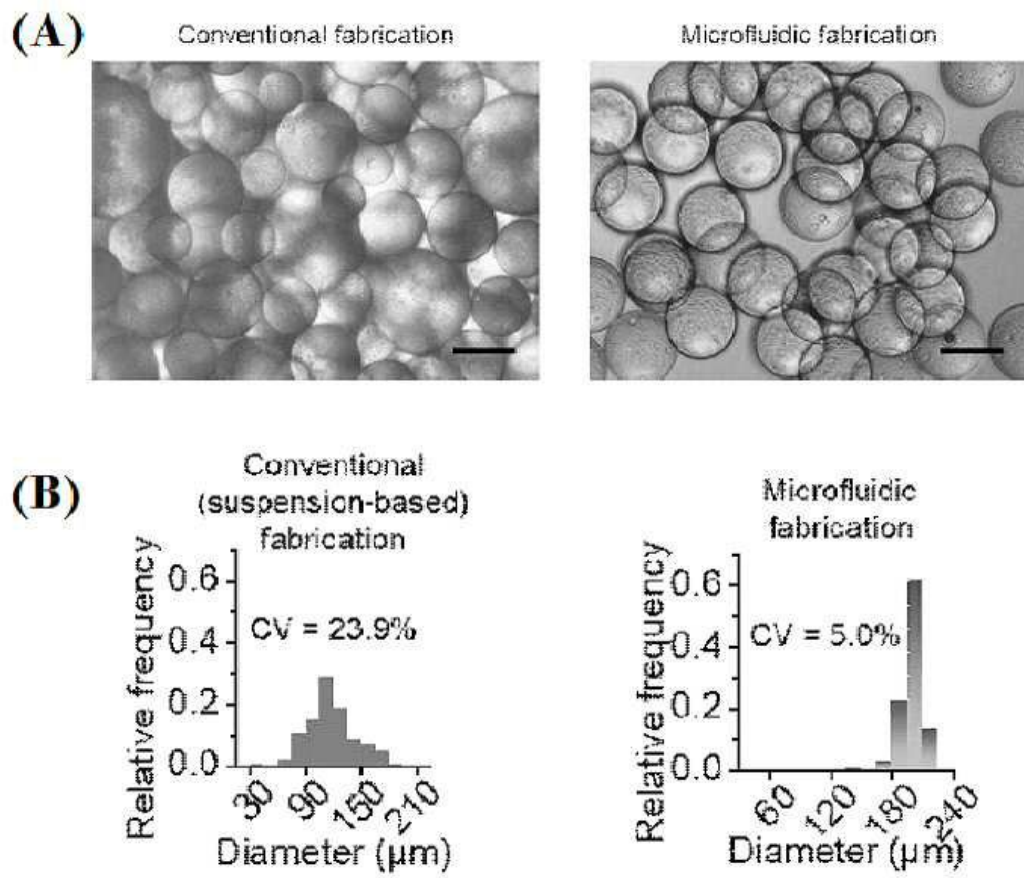
도면4a



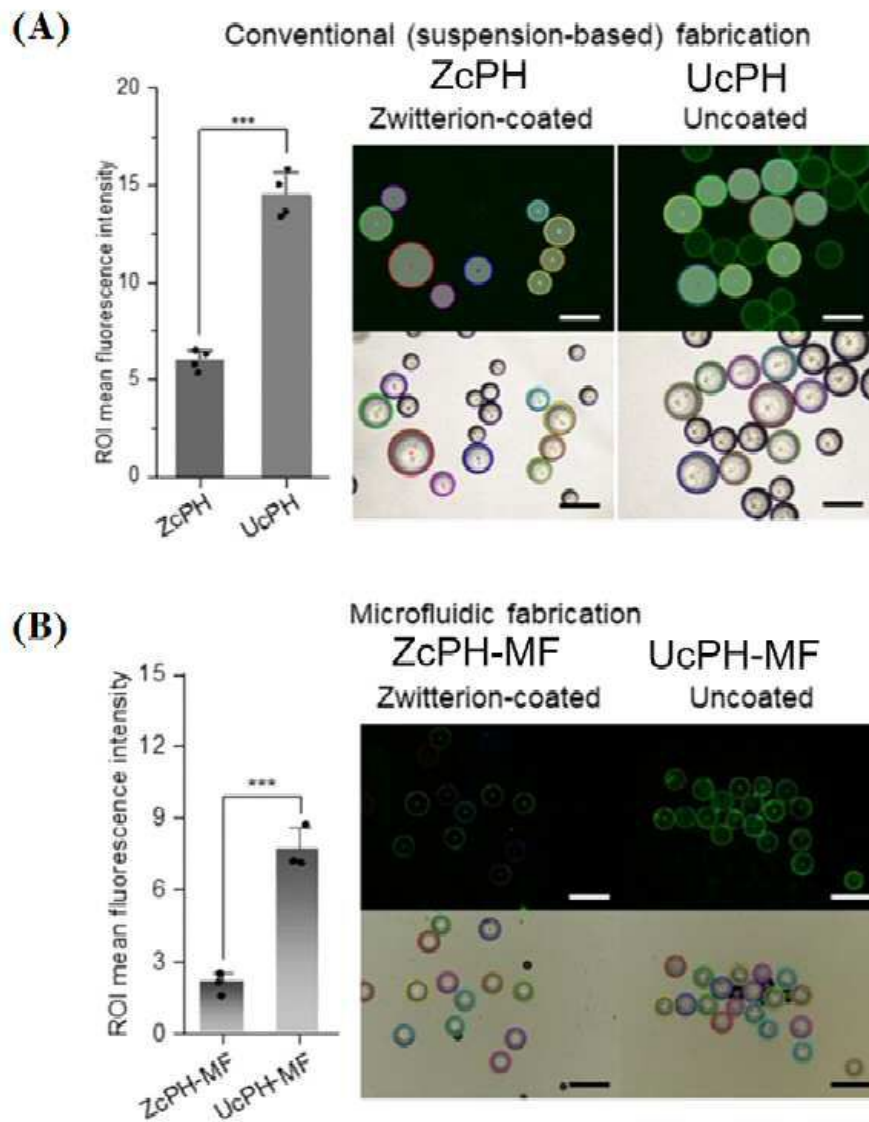
도면4b



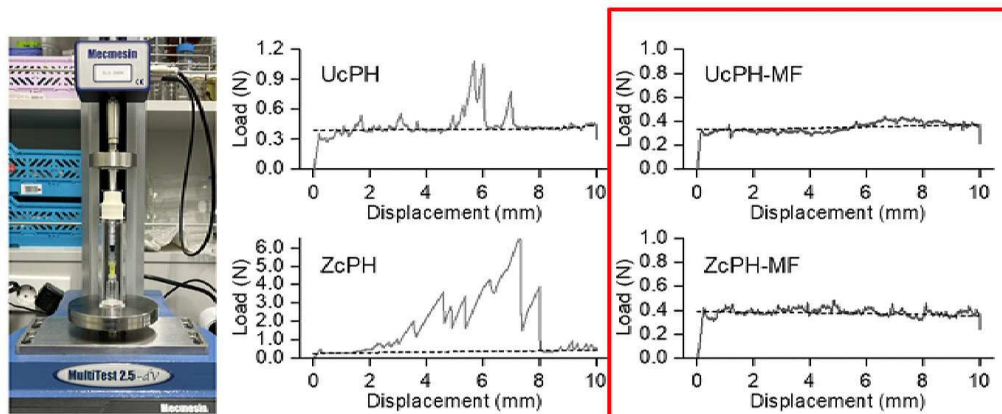
도면5



도면6



도면7



도면8

