

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구

국제사무국

(43) 국제공개일

2018년 2월 15일 (15.02.2018)



(10) 국제공개번호

WO 2018/030612 A1

(51) 국제특허분류:

A61L 27/58 (2006.01)

A61L 27/44 (2006.01)

A61L 27/56 (2006.01)

A61L 27/54 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2017/004723

(22) 국제출원일:

2017년 5월 4일 (04.05.2017)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2016-0103183 2016년 8월 12일 (12.08.2016) KR

(71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION)

[KR/KR]; 02841 서울시 성북구 안암로 145, Seoul

(KR). (주)오스힐 (ORTHO HEAL CO., LTD.) [KR/KR];

08307 서울시 구로구 가마산로 226, 4층, Seoul (KR).

(72) 발명자: 송해룡 (SONG, Hae-Ryong); 08202 서울시 구

로구 신도림로 87, 105동 102호, Seoul (KR). 이재용

(LEE, Jae Young); 07935 서울시 양천구 오목로19길 1,

103동 202호, Seoul (KR). 김성은 (KIM, Sungeun); 02841

서울시 성북구 인촌로 73, 핵의학과, Seoul (KR). 김학준

(KIM, Hak Jun); 06276 서울시 강남구 선릉로 221, 302

동 1702호, Seoul (KR). 윤영필 (YUN, Young-Pil); 08068

서울시 양천구 신월로10길 23, 301호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 특허법인 충현 (CHUNG HYUN PATENT &

LAW FIRM); 06779 서울시 서초구 동산로 23 베텔회관

8층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국

내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT,

AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,

EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU,

ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA,

LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN,

MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE,

PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE,

SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT,

TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역

내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,

LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,

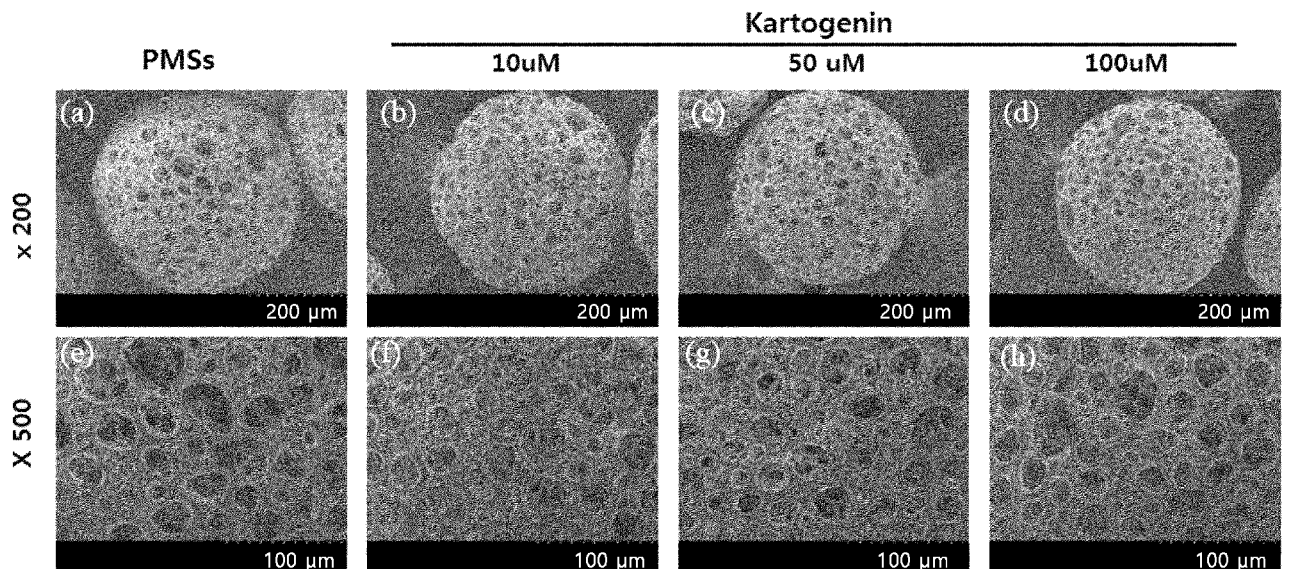
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유

럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,

FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,

(54) Title: POROUS POLYMER MICROSPHERE FOR PREVENTING OR TREATING SOFT TISSUE DISEASES AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 발명의 명칭: 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어 및 이의 제조방법



(57) Abstract: The present invention relates to a porous polymer microsphere for preventing or treating soft tissue diseases and a preparation method therefor, the porous polymer microsphere comprising: a biodegradable polymer support having a three-dimensional network structure, which has a porosity of 60-90% and in which pores having a size of 5-100 μm are connected to each other; and a drug, which is selected from kartogenin, curcumin, ibuprofen or a mixture thereof and included in the network structure of the biodegradable polymer support.

(57) 요약서: 본 발명은 다공도(porosity)가 60 내지 90%이며, 크기가 5 내지 100 μm 인 기공들이 서로 연결되어 있는 3 차원 그물구조의 생분해성 고분자 지지체; 및 상기 생분해성 고분자 지지체의 그물구조 내에 포섭되는 카르토게닌, 커큐민, 이부프로펜 또는 이들의 혼합물 중에서 선택되는 약물;을 포함하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[다음 쪽 계속]

MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어 및 이의 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 연부조직은 뼈나 관절을 둘러싸 있는 연한 부위 또는 그 조직으로, 뼈를 싸고 있는 막, 힘줄, 건, 인대 및 연골을 아우르는 말이다. 이중 연골은 연골세포와 연골기질로 구성된 조직이다. 이러한 연골은 보통 움직임이 비교적 적은 뼈와 뼈 사이에서 연골 관절의 형태를 보이지만, 많은 운동이 필요한 곳이라면 연골면 사이에 윤활액을 두면서 윤활관절의 형태를 띠게 된다. 또한 연골은 탄력성이 높아 주어진 힘에 대해 완충작용을 하고 관절 연골의 마찰 계수는 매우 낮아 마찰이 거의 없는 상태에서 관절이 움직일 수 있도록 도움을 준다.
- [3] 연부조직의 손상은 외부의 충격이나 강한 비틀림, 당김, 압박, 과도한 운동, 장기간의 피로, 노화 또는 상처 등의 원인으로 발생된다. 이러한 연부조직의 손상은 외과적인 수술이나 기계적 장치를 사용하는 것에 의해 치료받을 수 있으나, 완치가 어렵고 보행 장애와 같은 생활에 심각한 불편함을 야기한다. 이러한 외과적 한계점을 극복하기 위해 자가세포나 천연연골의 이식을 통한 수술법이 개발되었으나, 이러한 방법들은 제한된 수의 세포분리, 분리 부위의 병적상태, 분리 세포의 제한된 증식과 같은 문제뿐만 아니라 이식절차를 진행하는 동안 세포의 돌연변이 문제가 발생하는 등의 문제가 있기 때문에 제한이 따르며, 높은 비용이 발생하기 때문에 접근이 용이하지 않는 문제가 있다.
- [4] 연부조직 재생을 위한 방법으로 약물의 경구투여나 환부에 약물을 직접주사하는 방법이 있으나, 약물을 경구투여하는 방법은 재생을 필요로 하는 환부에 전달되는 약물의 양이 극히 일부분에 불과하여 재생효과가 크지 못하며, 환부에 약물을 직접주사하는 방법은 많은 양의 약물이 한번에 주입되기 때문에 부작용의 문제가 있다.
- [5] 이러한 문제점을 개선하기 한 방법으로 생분해성 다공성 고분자 지지체를 이용하는 조직공학적 접근이 대안으로 대두되었다. 생분해성 다공성 고분자 지지체는 천연적인 세포외 매트릭스를 모방하며, 혈관, 힘줄, 연골, 건, 인대 및 골과 같은 조직들의 회복 및 재생에 매우 우호적인 것으로 알려져 있다. 이들은 세포접착성이 높은 장점을 가지지만 기계적 물성이 열악하며, 연골 재생속도가 느리다는 문제점이 있다. 이에 빠른 재생성을 나타내면서 부작용의 문제가 없는 새로운 치료약물의 개발이 요구되고 있다.

- [6] [선행기술문헌]
- [7] [특허문헌]
- [8] 한국등록특허 제10-1105285호
- [9] 한국공개특허 제2014-0147880호

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [10] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 연부조직 질환을 예방 또는 치료할 수 있는 약물이 탑재된 다공성 고분자 마이크로스피어를 제공하는 것이다.
- [11] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 상기 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [12] 상기한 과제를 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 크기가 5 내지 100 μm 인 기공들이 서로 연결되어 있는 3차원 그물구조의 생분해성 고분자 지지체; 및 상기 생분해성 고분자 지지체의 그물구조 내에 포섭되는 연부조직 질환 치료용 약물;을 포함하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어를 제공한다.
- [13] 본 발명에 의하면, 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 상기 약물이 2 내지 30 중량부로 함유된 것일 수 있다.
- [14] 본 발명에 의하면, 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 입자의 크기가 200 내지 1000 μm 일 수 있다.
- [15] 본 발명에 의하면, 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 다공도가 10 내지 90%일 수 있다.
- [16] 본 발명에 의하면, 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 다공도(porosity)가 60 내지 90%이고, 기공의 크기가 10 내지 40 μm 이며, 입자의 크기가 200 내지 500 μm 일 수 있다.
- [17] 본 발명에 의하면, 상기 연부조직 질환 치료용 약물은 형질전환 성장인자, 혈소판유래 성장인자, 염기성 섬유모세포 성장인자, 혈관표시 성장인자, 인슐린 유사 성장인자, 골형성 단백질-7, 항염증활성 펩타이드(anti-inflammatory peptide), 아스피린(Aspirin), 메페남산(mefenamic acid), 디클로페낙(diclofenac sodium), 인도메타신(indomethacin), 나프록센(naproxen), 아세트아미노펜(acetaminophen), 케토프로펜(ketoprofen), 록소프로펜(loxoprofen), 피록시캄(piroxicam), 이부프로펜(ibuprofen), 심바스타틴(simvastatin), 아트로바스타틴(Atrovastatin), 플루바스타틴(Fluvastatin), 로바스타틴(Lovastatin), 카퍼펩타이드(Copper-peptide), 프로스타글란딘(prostaglandin), 트라마돌(tramadol), 세레콕시브(celecoxib), 글루코사민(glucosamine), 콘드로이틴(chondroitin), 디아세린(diacerein), 메토틱렉세이드(methotrexate), 사이클로스포린(cyclosporine), 야누스 키나아제(JAK-3 inhibitor),

리툽시맙(Rituximab), 토실리주맙(tocilizumab), 사라졸설과피리딘(SASP), 브실라민(bucillamine), 레플로노미드(leflunomide), 인플릭시맙(infliximab), 에타넬셉트(etanercept), 아다림맙(adalimumab), 프레드니솔론(prednisolone), 안티프라민 2(antiflammin 2), 커큐민(curcumin), 설과살라진(Sulfasalazine), 락토페린(lactoferin) 및 카르토게닌(kartogenin), 이부프로펜 (ibuprofen) 또는 이들의 혼합물 중에서 선택되는 것일 수 있다.

- [18] 본 발명에 의하면, 상기 생체적합성 고분자는 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA), 폴리카프로락톤(PCL), 폴리아미노산, 폴리락타이트, 폴리포스파진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르, 폴리엔하이드라이드, 폴리오르소에스테르, 폴리히드록시발레이트, 폴리히드록시부티레이트, 히아루론산, 셀룰로오스, 헤파린, 콜라젠, 알지네이트 및 키토산 중에서 선택되는 어느 하나; 이들 둘 이상이 블렌딩된 고분자; 및 이들 둘 이상의 공중합체로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [19] 본 발명에 의하면, 상기 연부조직 질환은 아킬레스 건염, 회전근개 건염, 슬개 건염, 염좌, 인대염, 퇴행성 골관절염 및 염증성 관절염 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [20] 본 발명에 의하면, 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 생체 내에 주입되어 상기 연부조직 질환 치료용 약물을 방출하는 것일 수 있다.
- [21] 또한, 본 발명은, 1) 생체적합성 고분자; 및 연부조직 질환 치료용 약물;을 유기용매에 용해시켜 고분자용액을 제조하는 단계;
- [22] 2) 상기 고분자용액 및 젤라틴(gelatin) 수용액을 첨가하고 균질화하여 에멀전을 제조하는 단계;
- [23] 3) 상기 에멀전을 불연속상(discontinuous phase)으로 사용하고, 폴리비닐알콜 용액을 연속상(continuous phase)로 사용하여 유체 장치(fluidic device)에서 흘려주어 생체적합성 고분자, 약물 및 젤라틴을 포함하는 고분자 미소구체를 제조하는 단계; 및
- [24] 4) 38 내지 50°C의 물에 상기 고분자 미소구체를 넣고 교반하여 고분자 미소구체로부터 젤라틴을 용출시키는 단계;를 포함하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

- [25] 본 발명에 따른 다공성 고분자 마이크로스피어는 손상된 연부조직의 재생에 효과적인 약물을 치료가 요구되는 환부에 직접 주사가 가능하다. 또한, 약물이 천천히 배출되기 때문에 장시간에 걸쳐 원하는 양의 약물을 환부에 전달할 수 있으면서도 우수한 재생효과를 연부조직에서 직접 발현시킬 수 있고, 생분해성 재료로 구성되기 때문에 부작용이 없다. 또한, 본 발명에 따른 다공성 고분자 마이크로스피어는 환부의 상태에 따라 다공도의 조절 및 담지된 약물의

농도조절을 통해 약물이 배출되는 속도 및 배출되는 양을 조절할 수 있으므로 맞춤형 진료를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [26] 도 1은 실시예 1의 다공성 고분자 마이크로스피어의 주사전자현미경 이미지이다.
- [27] 도 2는 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어의 주사전자현미경 이미지이다.
- [28] 도 3은 실시예 3의 다공성 고분자 마이크로스피어의 주사전자현미경 이미지이다.
- [29] 도 4는 약물의 농도에 따른 다공성 고분자 마이크로스피어의 기공크기 변화를 주사전자현미경으로 확인한 결과이다.
- [30] 도 5는 실시예 3의 다공성 고분자 마이크로스피어의 공초점 레이저 현미경이미지이다.
- [31] 도 6은 실시예 1의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 약물 방출 거동 테스트 결과이다.
- [32] 도 7은 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(IBU/PMS)의 약물 방출 거동 테스트 결과이다.
- [33] 도 8은 실시예 3의 다공성 고분자 마이크로스피어(Cur/PMS)의 약물 방출 거동 테스트 결과이다.
- [34] 도 9는 실시예 1의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 염증억제 효과를 확인하기 위하여, 인 비트로 상에서 MMP3, MMP13, COX-2 및 ADAMTS-5의 발현양을 측정한 결과이다.
- [35] 도 10은 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 염증억제 효과를 확인하기 위하여, 인 비트로 상에서 MMP3, MMP13, COX-2, ADAMTS-5, IL-6 및 TNF- α 의 발현양을 측정한 결과이다.
- [36] 도 11은 실시예 3의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 염증억제 효과를 확인하기 위하여, 인 비트로 상에서 MMP3, MMP13, COX-2 및 ADAMTS-5의 발현양을 측정한 결과이다.
- [37] 도 12는 실시예 1의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 연골 분화 발현을 확인하기 위하여 Aggrecan, COL1A1, COL2A1 및 COL10A1의 발현양을 측정한 결과이다.
- [38] 도 13은 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 처리에 따른 연골 생성 정도를 X-선 촬영으로 확인한 결과이다.
- [39] 도 14는 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 처리에 따른 연골 생성 정도를 마이크로-CT 촬영으로 확인한 결과이다.
- [40] 도 15는 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 처리에 따른 연골 생성 정도를 확인하기 위하여 무릎을 적출하여 사진촬영하여 나타낸

결과이다.

- [41] 도 16는 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 처리에 따른 연골 생성 정도를 확인하기 위하여 무릎 절편을 헤마톡실린&에오신(Hematoxylin & eosin, H&E) 염색법으로 염색하여 확인한 결과이다.
- [42] 도 17은 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 처리에 따른 연골 생성 정도를 확인하기 위하여 무릎 절편을 사프란인 O(Safranin O) 염색법으로 염색하여 확인한 결과이다.
- [43] 도 18은 실시예 2의 다공성 고분자 마이크로스피어(KGN/PMS)의 염증억제 효과를 확인하기 위하여, 랫트의 혈액으로부터 MMP3, MMP13, COX-2, ADAMTS-5, IL-6 및 TNF- α 의 발현양을 측정된 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [44] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [45] 본 발명은 크기가 5 내지 100 μm 인 기공들이 서로 연결되어 있는 3차원 그물구조의 생분해성 고분자 지지체; 및 상기 생분해성 고분자 지지체의 그물구조 내에 포섭되는 연부조직 질환 치료용 약물;을 포함하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어를 제공한다.
- [46] 본 발명에 따른 다공성 고분자 마이크로스피어는 생체 내에 주입되어 상기 연부조직 질환 치료용 약물을 방출하는 것일 수 있다. 상기 약물의 방출은 다공성 고분자 마이크로스피어의 기공을 통해 방출되거나 또는 생분해성 고분자 지지체(이하, 고분자 지지체)가 생체 내에서 분해되면서 배출되는 것일 수 있다.
- [47] 상기 약물의 방출은 상기 고분자 지지체를 형성하는 고분자의 종류, 그물구조의 밀도, 다공도 및 기공의 크기에 따라 약물의 방출량 및 방출속도가 조절될 수 있다. 따라서 치료하고자 하는 환부의 중증도에 따라 다공성 고분자 마이크로스피어의 다공도, 기공크기 및 포섭된 약물의 농도를 적절히 조절하여 환자에게 적용할 수 있다.
- [48] 본 발명에 따른 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 상기 약물이 2 내지 30 중량부로 함유될 수 있다. 상기 약물의 함량이 상기범위 미만이면 약물의 양이 너무 적고, 상기 범위를 초과하면 단시간에 방출되는 약물의 양이 너무 많아 바람직하지 않다.
- [49] 본 발명에 따른 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 다공도(porosity)가 10 내지 90%이며, 입자의 크기가 200 내지 1000 μm 일 수 있다. 입자의 크기가 상기 범위 미만이면 담지될 수 있는 약물의 양이 너무 적어 생체 내에서 지속적으로 방출되기 어려워, 약물을 자주 투여해야 하는 불편함이 있고, 입자의 크기가 상기 범위를 초과하면 마이크로스피어의 제조가 용이하지 않다.
- [50] 본 발명에 따른 바람직한 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는

다공도(porosity)가 60 내지 90%이고, 기공의 크기가 10 내지 40 μm 이며, 입자의 크기가 200 내지 500 μm 일 수 있다. 상기 범위인 것이 생체 내에서 약물의 배출이 용이하게 이루어질 수 있다.

- [51] 본 발명에 따른 다공성 고분자 마이크로스피어는 기공의 크기가 5 내지 100 μm 일 수 있다. 기공의 크기가 상기 범위 미만이면 기공의 크기가 너무 작아 약물의 방출이 용이하지 않으며, 기공의 크기가 상기 범위를 초과하면 약물이 한꺼번에 방출되는 문제가 있다. 특히 바람직한 기공의 크기는 10 내지 80 μm 일 수 있다.
- [52] 본 발명에 따른 상기 연부조직 질환 치료용 약물은 형질전환 성장인자, 혈소판유래 성장인자, 염기성 섬유모세포 성장인자, 혈관표시 성장인자, 인슐린 유사 성장인자, 골형성 단백질-7, 항염증활성 펩타이드(anti-inflammatory peptide), 아스피린(Aspirin), 메페남산(mefenamic acid), 디클로페낙(diclofenac sodium), 인도메타신(indomethacin), 나프록센(naproxen), 아세트아미노펜(acetaminophen), 케토프로펜(ketoprofen), 록소프로펜(loxopropen), 피록시캄(piroxicam), 이부프로펜(ibuprofen), 심바스타틴(simvastatin), 아트로바스타틴(Atrovastatin), 플루바스타틴(Fluvastatin), 로바스타틴(Lovastatin), 카퍼펩타이드(Copper-peptide), 프로스타글란딘(prostaglandin), 트라마돌(tramadol), 세레콕시브(celecoxib), 글루코사민(glucosamine), 콘드로이틴(chondroitin), 디아세린(diacerein), 메토틱렉세이드(methotrexate), 사이클로스포린(cyclosporine), 야누스 키나아제(JAK-3 inhibitor), 리툭시맙(Rituximab), 토실리주맙(tocilizumab), 사라졸설파피리딘(SASP), 브실라민(bucillamine), 레플로노미드(lefloxomide), 인플릭시맙(infliximab), 에타넬셉트(etanercept), 아다림맙(adalimumab), 프레드니솔론(prednisolone), 안티프라민 2(antiflammin 2), 커큐민(curcumin), 설파살라진(Sulfasalazine), 락토페린(lactoferin) 및 카르토게닌(kartogenin), 이부프로펜 (ibuprofen) 또는 이들의 혼합물 중에서 선택되는 것일 수 있다.
- [53] 구체적으로, 상기 형질전환성장인자(Transforming growth factor, TGF)는 TGF-alpha, TGF-beta, TGF-beta 1, TGF-beta 2 또는 TGF-beta 3일 수 있으며, 혈소판유래성장인자(Platelet derived growth factor, PDGF)는 PDGFA, PDGFB, PDGFC 또는 PDGFD일 수 있고, 염기성 섬유모세포성장인자(basic fibroblast growth factor, bFGF)는 FGF2 또는 FGF-beta일 수 있고, 혈관표시성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)는 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C 또는 VEGF-D일 수 있으며, 인슐린 유사 성장인자(Insulin like growth factor, IGF)는 IGF-1 또는 IGF-2일 수 있다.
- [54] 본 발명에 따른 상기 다공성 고분자 마이크로스피어의 상기 생체적합성 고분자는 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA), 폴리카프로락톤(PCL), 폴리아미노산, 폴리락타이드, 폴리포스파진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르,

폴리언하이드라이드, 폴리오르소에스테르, 폴리히드록시발레이트, 폴리히드록시부티레이트, 히아루론산, 셀룰로오스, 헤파린, 콜라겐, 알지네이트 및 키토산 중에서 선택되는 어느 하나; 이들 둘 이상이 블렌딩된 고분자; 및 이들 둘 이상의 공중합체로 이루어진 군 중에서 선택되는 것일 수 있다.

[55] 본 발명에 따른 특히, 바람직한 상기 연부조직 질환 치료용 약물은 카르토게닌, 이부프로펜, 커큐민 또는 이들 둘 이상의 혼합물일 수 있다.

[56] 본 발명에 따른 상기 연부조직 질환은 아킬레스 건염, 회전근개 건염, 슬개 건염, 염좌, 인대염, 퇴행성 골관절염 및 염증성 관절염 중에서 선택되는 것일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[57] 본 발명에 있어서, 상기 연부조직 질환의 예방 또는 치료란 연골 등의 연부조직의 재생을 촉진하거나, 염증을 억제하는 것일 수 있다.

[58] 한편, 본 발명에 따른 상기 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어는 1) 생체적합성 고분자; 및 연부조직 질환 치료용 약물;을 유기용매에 용해시켜 고분자용액을 제조하는 단계; 2) 상기 고분자용액 및 젤라틴(gelatin) 수용액을 첨가하고 균질화하여 에멀전을 제조하는 단계; 3) 상기 에멀전을 불연속상(discontinuous phase)으로 사용하고, 폴리비닐알콜 용액을 연속상(continuous phase)로 사용하여 유체 장치(fluidic device)에서 흘려주어 생체적합성 고분자, 약물 및 젤라틴을 포함하는 고분자 미소구체를 제조하는 단계; 및 4) 38 내지 50°C의 물에 상기 고분자 미소구체를 넣고 교반하여 고분자 미소구체로부터 젤라틴을 용출시키는 단계;를 포함하여 수행하는 제조방법에 의해 제조될 수 있다.

[59] 먼저, 생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 상기 약물을 2 내지 30 중량부로 혼합하여 유기용매에 용해시킴으로써 고분자용액을 제조한다.

[60] 상기 유기용매는 디메틸설폭사이드, 디클로로메탄, 테트라하이드로퓨란 및 N,N-디메틸포름아미드 중에서 선택되는 1종 또는 2종 이상일 수 있으나 이제 제한되는 것은 아니다.

[61] 다음으로 제조된 고분자용액과 젤라틴 수용액을 첨가하고 균질화하여 에멀전을 제조한다.

[62] 상기 젤라틴 수용액은 1 내지 10 중량% 젤라틴 수용액일 수 있다. 젤라틴의 함량이 상기 범위 미만이면 젤라틴의 함량이 너무 낮아 마이크로스피어의 기공발달이 용이하지 않고, 상기범위를 초과하면 마이크로스피어의 제조가 용이하지 않다.

[63] 본 발명에 의하면, 상기 균질화에서 에멀전 안정화제를 더 포함할 수 있다. 상기 에멀전 안정화제는 통상적으로 사용되는 에멀전 안정화일 수 있으며, 바람직하게는 폴리비닐알콜일 수 있다.

[64] 본 발명에 의하면, 상기 2) 단계의 균질화는 생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 젤라틴 3 내지 15 중량부를 첨가하는 것일 수 있다. 생체적합성 고분자에 대하여 젤라틴의 함량이 상기 범위 미만이면, 기공의 발달이 용이하지 않고,

목적하는 다공도를 달성하기 어렵다. 상기 범위를 초과하면 기공이 너무 커서 약물의 담지가 용이하지 않다.

[65] 본 발명에 의하면, 상기 생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 에멀전 안정화제 0.5 내지 3 중량부를 첨가하는 것일 수 있다. 에멀전 안정화제의 함량이 상기범위를 벗어나는 경우에는 본 발명에서 목적하고자 하는 크기의 마이크로스피어 형성이 용이하지 않다.

[66] 또한, 상기 생체적합성 고분자의 함량 대비 상기 젤라틴, 상기 약물 또는 이들의 함량을 조절하여 약물의 배출량 및 배출속도를 적절히 조절할 수 있다.

[67] 또한, 상기 균질화는 균질기를 사용하여 8,000 내지 20,000 rpm으로 30초 내지 10분간 균질화하는 것일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[68] 본 발명에 있어서, 상기 생체적합성 고분자 및 연부조직 질환 치료용 약물은 앞에서 제시한 바와 같다.

[69] 다음으로, 상기 에멀전을 불연속상으로 사용하고, 폴리비닐알콜을 연속상으로 사용하여 유체장치에서 흘러넘으로써 목적하는 고분자 미소구체를 제조할 수 있다. 상기 제조된 미소구체는 38 내지 50°C의 물에 넣고 교반하게 되면, 미소구체 내의 젤라틴 성분들이 미소구체로부터 빠져나오게 되면서 젤라틴이 있던 곳에 기공이 형성되므로 다공성 고분자 마이크로스피어가 형성되게 된다.

[70] 이때, 상기 불연속상 및 연속상의 유속은 각각 0.2 내지 1 mL/min일 수 있으며, 바람직하게는 0.5 mL/min일 수 있다. 상기 유속인 것이 다공도의 분산도가 우수하며, 목적하는 크기 및 다공도를 가지는 마이크로스피어의 제조가 가능하다.

[71] 이러한 방법으로 제조된 마이크로스피어는 다공도(porosity)가 10 내지 90%이며, 기공의 크기가 5 내지 100 μm 이고, 입자의 크기가 200 내지 1000 μm 일 수 있으며, 바람직하게는 다공도가 60 내지 90%이며, 형성된 기공의 크기가 10 내지 40 μm 이고, 입자의 크기가 100 내지 400 μm 인 마이크로스피어일 수 있다.

[72] 본 발명에 따른 상기 다공성 고분자 마이크로스피어를 유효량 투여하여 연부조직 질환의 예방 또는 치료할 수 있다.

[73] 여기에서 사용된 용어 "유효량"은 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상가에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 해당 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 유효량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 수 있다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 예방, 치료 또는 개선 방법에 있어서, 성인의 경우, 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.001 g/kg 내지 1 g/kg의 용량으로

투여하는 것이 바람직하다.

- [74] 본 발명에 따른 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 상기 유효 성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 비타민, 착색제, 증진제, 펙트산, 전해질제, 알긴산, 유기산, 탄산화제, 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [75] 상기 다공성 고분자 마이크로스피어는 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [76] 상기 다공성 고분자 마이크로스피어의 제제형태는 통상의 약제학적 조성물의 제제형태이면 특별히 제한은 없으나 바람직하게는 주사 가능한 액제(액상 용액)일 수 있으며, 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.
- [77] 본 발명에 따르면, 상기 다공성 고분자 마이크로스피어에 함유된 약물의 바람직한 농도는 1 ng/ml 내지 500 mg/ml 일 수 있으며, 함유된 약물의 종류에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 상기 약물의 종류가 연골 또는 골의 재생을 위한 것이라면 바람직한 약물의 농도는 1 pg/ml 내지 3 mg/ml 일 수 있으며, 상기 약물의 종류가 염증 억제를 위한 것이라면 바람직한 약물의 농도는 1 μ g/ml 내지 3 mg/ml 일 수 있으나, 환부의 경중에 따라 용이하게 달라질 수 있음은 자명한 사실이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [78] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변형 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허 청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.
- [79]
- [80] 실시예 1. 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조(카르토게닌 함유)
- [81] 디클로로메탄 7g에 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA) 140 mg을 용해시켜 2 중량% PLGA solution을 제조하였다. 750 mg의 젤라틴을 증류수 10 g에 용해시켜 7.5 중량% 젤라틴 수용액을 제조하였다. PLGA:젤라틴을 고형분을 기준으로 7:3 중량비로 혼합하고, 카르토게닌의 함량이 각각 10, 50 및 100 μ M(각각, 0.05, 0.1 및 0.5 중량%)이 함유되도록 디메틸설폭사이드에 용해시킨

카르토게닌을 첨가하여 균질기(homogenizer, Ultra-Turrax T-25 Basic, IKA)를 사용하여 13,500 rpm으로 1분간 균질화하여 에멀전을 제조하였다.

- [82] 유체 장치에서 불연속상으로 상기 에멀전을 이용하고, 연속상으로 0.5 중량% 폴리비닐알콜을 사용하여 0.5 mL/min의 유속으로 흘려주어 미소구체를 제조하였다. 제조된 미소구체에 증류수를 첨가하고 40°C의 증류수에서 교반하여 미소구체 내의 젤라틴을 용출시킴으로써 카르코게닌이 함유된 다공성 고분자 마이크로스피어를 제조하였다.

[83]

- [84] 실시예 2. 다공성 고분자 마이크로스피어 2의 제조(이부프로펜 함유)

- [85] 2 중량% PLGA, 3 중량% 젤라틴 수용액 및 이부프로펜 1, 3 및 5 중량%(in 디클로로메탄)을 사용하였으며, 에멀전 안정화제로 0.5 중량%의 폴리비닐알콜을 더 첨가하고, 균질기(homogenizer, Ultra-Turrax T-25 Basic, IKA)를 사용하여 13,500 rpm으로 1분간 균질화하여 에멀전을 제조하였다.

- [86] 유체 장치에서 불연속상으로 상기 에멀전을 이용하고, 연속상으로 0.5 중량% 폴리비닐알콜을 사용하여 0.5 mL/min의 유속으로 흘려주어 미소구체를 제조하였다. 제조된 미소구체에 증류수를 첨가하고 45°C의 증류수에서 교반하여 미소구체 내의 젤라틴을 용출시킴으로써 이부프로펜이 함유된 다공성 고분자 마이크로스피어를 제조하였다.

[87]

- [88] 실시예 3. 다공성 고분자 마이크로스피어 3의 제조(커큐민 함유)

- [89] 실시예 1과 동일한 방법으로 다공성 고분자 마이크로스피어를 제조하되, 에멀전을 제조과정에서 커큐민 0.5, 2 및 5 중량%를 사용하였다.

[90]

- [91] 시험예 1. 형태분석

- [92] 시험예 1.1. 주사전자현미경 관측

- [93] 실시예 1 내지 3의 방법으로 제조된 다공성 고분자 마이크로스피어의 형태를 확인하기 위하여 주사전자현미경으로 관측하였으며, 이를 하기 도 1 내지 3에 나타내었다.

- [94] 도 1은 실시예 1에 따른 카르토게닌 함유 다공성 고분자 마이크로스피어(이하, '마이크로스피어'라 한다)의 이미지이며, 도 2는 실시예 2에 따른 이부프로펜 함유 마이크로스피어이고, 도 3은 실시예 3에 따른 커큐민 함유 마이크로스피어의 이미지이다. 각 농도별 마이크로스피어의 표면 및 기공의 크기들은 유사한 형태를 나타내었으며, 약물의 농도에 따라서 유의적인 수준의 차이를 나타내었다.

[95]

- [96] 한편, 약물의 농도에 따른 기공크기 변화를 확인하기 위하여 이부프로펜의 농도를 5에서 18%까지 단계적으로 증가시키면서 마이크로스피어를 제조하였으며, 주사전자현미경으로 측정하여 하기 도 4 및 표 1에 나타내었고,

커큐민의 농도에 따른 기공변화를 확인하여 하기 표 2에 나타내었다.

[97] [표1]

구분	이부프로펜 농도(중량%)					
	5	7.5	10	13	15	18
기공너비(μm)	15.42	14.76	22.36	22.50	28.10	23.97
기공높이(μm)	14.30	15.23	23.30	23.11	30.74	27.30

[98] [표2]

구분	커큐민 농도(중량%)			
	0	0.5	2	5
기공너비(μm)	25.08	24.52	25.52	24.72
기공높이(μm)	24.6	24.64	25.44	24.76

[99] 표 1을 참고로 하면, 약물의 농도에 따라 기공의 크기가 증가되는 것을 확인하였으며, 7.5 중량% 이내의 농도에서는 유의적 차이를 보이지 않았다. 한편, 표 1 및 2를 참고로 하면, 마이크로스피어 제조 시, 에멀전 안정화제의 유무 및 젤라틴의 농도가 마이크로스피어의 기공크기 형성에 영향을 미치는 것을 확인하였다.

[100]

[101] 시험예 1.2. 공초점 레이저 현미경(confocal laser scanning microscope) 관측

[102] 실시예 3의 마이크로스피어를 공초점 레이저 현미경으로 확인하였으며, 이를 하기 도 5에 나타내었다. 0.5 중량%의 커큐민이 함유된 마이크로스피어에 비해 5 중량%의 커큐민이 함유된 마이크로스피어에서 팽 찬 내부를 관찰할 수 있었다.

[103]

[104] 시험예 1.3. 입자크기 및 기공도 확인

[105] 실시예 3의 마이크로스피어의 입자크기 및 기공도를 확인하였으며, 이를 하기 표 3에 나타내었다. 입자의 크기는 200 내지 300 μm 였으며, 기공도는 평균 81%를 나타내었다.

[106] [표3]

구분	커큐민 농도 (중량%)			
	0	0.5	2	5
입자크기 (μm)	210.63	215.63	217.51	216.72
기공도 (%)	81.27	81.20	80.82	81.06

[107] 시험예 2. 약물 방출 거동 테스트

[108] 시험예 2.1. 카르토게닌 방출 거동

[109] 실시예 1에서 제조한 마이크로스피어의 약물방출 거동을 확인하였다. 구체적으로, 각각의 마이크로스피어를 1 ml의 PBS 버퍼(pH 7.4)에 넣고, 37 °C에서 100 rpm으로 교반하면서 시간(1시간, 3시간, 6시간, 10시간, 1일, 3일, 5일, 7일, 10일, 14일, 21일 및 28일)에 따른 약물 방출량을 확인하였으며, 측정 후에는 새로운 버퍼로 교환하였다. 방출된 약물은 459 nm에서 흡광도를 측정하여 방출량을 분석하였으며, 이를 하기 도 6에 나타내었다.

[110] 도 6을 참고로 하면, 카르토게닌의 농도에 의존적으로 약물의 방출량이 증가하였다.

[111]

[112] 시험예 2.2. 이부프로펜 방출 거동

[113] 실시예 2에서 제조한 마이크로스피어의 약물 방출 거동을 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 확인하되, 65일차 까지 약물 방출 거동을 살펴보았다. 방출된 약물은 359 nm에서 흡광도를 측정하여 방출량을 분석하였으며, 이를 하기 도 7에 나타내었다.

[114] 마이크로스피어에서 이부프로펜은 초기에는 빠른속도로 방출되다가 시간의 흐름에 따라 방출속도가 느려졌다. 방출속도는 43일 차까지는 농도에 영향을 크게 받지 않는 경향을 보였다. 한편, 낮은 농도(이부프로펜 1중량% 농도)의 약물이 포함된 마이크로스피어에서는 65일 차에 내부의 약물이 대부분 방출되었으나, 높은 농도의 약물이 포함된 마이크로스피어에서는 65일차에 약 35%의 약물이 잔류하는 것을 확인하였다.

[115]

[116] 시험예 2.3. 커큐민 방출 거동

[117] 실시예 3에서 제조한 마이크로스피어의 약물 방출 거동을 확인하였다. 구체적으로, 각각의 마이크로스피어를 1 ml의 PBS 버퍼(pH 7.4)에 넣고, 37 °C에서 80 rpm으로 교반하면서 시간에 따른 약물 방출량을 1시간 후부터 65일 차까지 살펴보았다. 방출된 약물은 420 nm에서 흡광도를 측정하여 방출량을 분석하였으며, 이를 하기 도 8에 나타내었다.

[118] 커큐민은 다른 약물과 마찬가지로 농도의존적으로 방출량이 증가하였으나, 총량대비 방출속도는 농도에 따른 차이는 보였지만 모두 초기(1일차)에 빠른 방출속도를 보이다가 서서히 방출하는 경향을 나타내었다.

[119]

[120] 시험예 3. 염증 억제 효과 검증

[121] 염증이 유도된 세포에 실시예 1 내지 3에 따른 마이크로스피어를 처리하고, 염증마커의 발현량을 측정하여 염증억제 효과를 검증하였다.

[122]

[123] 시험예 3.1 카르토게닌 함유 마이크로스피어

- [124] 실시예 1의 마이크로스피어에 1×10^5 개의 줄기세포를 분주한 후, 염증 유도를 위해 IL-1 β 를 첨가하고 1일 및 3일 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 PBS 버퍼로 세척한 뒤 Tris-EDTA 용액으로 세척하여 마이크로스피어로부터 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 1 분간 13,500 rpm으로 원심분리한 후, 트리졸 시약과 클로로포름을 세포에 주입한 뒤, 5분 동안 반응시켰다. 반응 후, 10분간 13,500 rpm으로 원심분리하였으며, 이중 상층액을 분리하였다. 분리된 상층액과 이소프로판올을 1:1 부피비로 혼합한 뒤, 5분 동안 반응시켰으며, 반응 종료 후 10분간 13,500 rpm으로 원심분리하였다. 생성된 흰색 물질을 에탄올로 세척한 뒤, 상온에서 건조하고, 후 DEPC(diethyl pyrocarbonate) 처리된 water를 이용하여 NanoDrop으로 260/280 nm에서 RNA 농도를 측정하였다. RNA를 분리한 뒤, 분리된 RNA는 AccuPower® RT-PCR PreMix을 이용하여 cDNA 합성 및 실시간 중합효소 연쇄반응(Real-time PCR)으로 분석하였으며, 염증 마커인 MMP3, MMP13, COX-2 및 ADAMTS-5의 발현량을 측정하였다.
- [125] 도 9를 참조로 하면, MMP3, MMP13, COX-2 및 ADAMTS-5의 발현량은 카르토게닌의 농도에 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다.
- [126]
- [127] 시험예 3.2. 이부프로펜 함유 마이크로스피어
- [128] 상기 시험예 3.1과 동일한 방법을 사용하여 실시예 2의 마이크로스피어에 줄기세포를 분주한 후, IL-1 β 를 첨가하여 염증을 유도한 뒤 배양하고, 이의 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA는 AccuPower® RT-PCR PreMix을 이용하여 cDNA 합성 및 실시간 중합효소 연쇄반응(Real-time PCR)으로 분석하였으며, 염증 마커인 MMP3, MMP13, COX-2, ADAMTS-5, IL-6 및 TNF- α 의 발현량을 측정하였다.
- [129] 도 10을 참조로 하면, 염증 마커인 MMP3, MMP13, COX-2, ADAMTS-5, IL-6 및 TNF- α 는 이부프로펜의 농도에 의존적으로 감소하였다.
- [130]
- [131] 시험예 3.3. 커큐민 함유 마이크로스피어
- [132] 상기 시험예 3.1과 동일한 방법을 사용하여 실시예 3의 마이크로스피어에 1×10^5 개의 힘줄세포(tenocyte)를 분주한 후, IL-1 β 를 첨가하여 염증을 유도한 뒤 배양하고, 이의 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA는 AccuPower® RT-PCR PreMix을 이용하여 cDNA 합성 및 실시간 중합효소 연쇄반응(Real-time PCR)으로 분석하였으며, 염증 마커인 MMP3, MMP13, COX-2 및 ADAMTS-5의 발현량을 측정하였다.
- [133] 도 11을 참조로 하면, 연부조직인 힘줄세포에서 염증 마커인 MMP3, MMP13, COX-2 및 ADAMTS-5의 발현량은 커큐민의 농도에 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다.
- [134]
- [135] 시험예 4. 연골 분화 촉진 실험

- [136] 실시예 1의 마이크로스피어에 1×10^5 개의 줄기세포를 분주한 후, 연골분화 버퍼를 첨가하여 21일 동안 배양하였다. 배양 후, 세포를 PBS 버퍼로 세척한 뒤 Tris-EDTA 용액으로 세척하여 마이크로스피어로부터 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 1 분간 13,500 rpm으로 원심분리한 후, 트리졸 시약과 클로로포름을 세포에 주입한 뒤, 5분 동안 반응시켰다. 반응 후, 10분간 13,500 rpm으로 원심분리하였으며, 이중 상층액을 분리하였다. 분리된 상층액과 이소프로판올을 1:1 부피비로 혼합한 뒤, 5분 동안 반응시켰으며, 반응 종료 후 10분간 13,500 rpm으로 원심분리하였다. 생성된 흰색 물질을 에탄올로 세척한 뒤, 상온에서 건조하고, 후 DEPC(diethyl pyrocarbonate) 처리된 water를 이용하여 NanoDrop으로 260/280 nm에서 RNA 농도를 측정하였다. RNA를 분리한 뒤, 분리된 RNA는 AccuPower® RT-PCR PreMix을 이용하여 cDNA 합성 및 실시간 중합효소 연쇄반응(Real-time PCR)으로 분석하였으며, 연골 분화 마커인 Aggrecan, COL1A1, COL2A1 및 COL10A1의 발현량을 측정하였다.
- [137] 도 12에 나타낸 바와 같이, 연골 분화 마커인 Aggrecan, COL1A1, COL2A1 및 COL10A1의 발현량은 카르토게닌의 농도에 의존적으로 증가하였다.
- [138]
- [139] 시험예 5. in-vivo 테스트
- [140] MIA(monosodium iodoacetate) 50 μ l를 주입하여 무릎 연골이 손상된 동물모델을 이용하여 실시예 2의 처리에 따른 연골 재생에 대한 효능을 검증하였다.
- [141] 190-210g 무게의 SPF(Specific Pathogene Free)급 6 주령 랫트 30 마리를 구입하여 1주간 적응기간을 두고 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, $55 \pm 10\%$ 상대습도 및 12 시간 명암주기에서 고형사료와 수돗물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 무작위로 6개 그룹으로 나누었다. 무릎손상 1주일 후부터 8주간 약물을 처리하였다.
- [142]
- [143] 정상군(Normal): 무처리군
- [144] 대조군(Control): 무릎손상 후, 증류수 투여군
- [145] 약물투여군: 무릎손상 후, 이부프로펜함유 마이크로스피어 200 μ L 투여군(이부프로펜 농도 각 0, 1, 3 및 5% 함유)
- [146]
- [147] 시험예 5.1. X-선 및 마이크로 CT 촬영
- [148] 실험 동물의 무릎을 X-선 및 마이크로 CT로 촬영하여 각각 하기 도 13 및 도 14에 나타내었으며, 무릎을 적출하여 사진 촬영을 하여 도 14에 나타내었다.
- [149] a: 정상군, b: 대조군, c-f: 약물투여군(0, 1, 3, 5 중량%)
- [150]
- [151] 도 13 내지 15를 참조로 하면, 대조군(b) 및 마이크로스피어 내 이부프로펜이 함유되지 않은 실험군(c)는 연골의 손상정도가 심각하였으나, 마이크로스피어 내 이부프로펜이 함유된 약물투여군(d-f)는 이부프로펜의 농도에 의존적으로

연골이 생성된 것을 확인할 수 있다.

[152]

[153] 시험예 5.2. 조직학적 검사

[154] 동물을 치사시킨 후 무릎을 적출하여 10% 포르말린으로 2주 동안 고정시키고 파라핀 블록을 만들었다. 절편(5 μ m)을 준비한 뒤, 헤마톡실린&에오신(Hematoxylin & eosin, H&E) 염색법과 사프란인 O(Safranin O)염색법으로 염색하여 각각 하기 도 16 및 도 17에 나타내었다.

[155] a: 정상군, b: 대조군, c-f: 약물투여군(0, 1, 3, 5 중량%)

[156]

[157] 도 16 및 17을 참조로 하면, 대조군(b) 및 마이크로스피어 내 이부프로펜이 함유되지 않은 실험군(c)는 MIA 처리에 의해 연골이 소실되어 산처럼 솟은 것을 확인할 수 있다. 반면, 약물투여군(d-f)에서는 이부프로펜의 농도에 의존적으로 연골이 생성된 것을 확인할 수 있다.

[158]

[159] 연골의 손상정도가 심각하였으나, 마이크로스피어 내 이부프로펜이 함유된 약물 투여군(d-f)는 이부프로펜의 농도에 의존적으로 연골이 생성된 것을 확인할 수 있다.

[160]

[161] 시험예 5.3 혈액 내 염증 마커 발현 농도 검사

[162] 실험동물의 복대동맥으로부터 획득한 혈액을 이용하여 염증성 사이토카인 MMP3, MMP13, COX-2, ADAMTS-5, IL-6 및 TNF- α 의 발현양을 측정하였으며, 이를 하기 도 18에 나타내었다.

[163] 인비트로 상에서와 마찬가지로 염증 마커인 MMP3, MMP13, COX-2, ADAMTS-5, IL-6 및 TNF- α 는 이부프로펜의 농도에 의존적으로 감소하였다.

청구범위

- [청구항 1] 크기가 5 내지 100 μm 인 기공들이 서로 연결되어 있는 3차원 그물구조의 생분해성 고분자 지지체; 및 상기 생분해성 고분자 지지체의 그물구조 내에 포섭되는 연부조직 질환 치료용 약물;을 포함하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 상기 약물이 2 내지 30 중량부로 함유된 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
다공도(porosity)가 10 내지 90%이며, 입자의 크기가 200 내지 1000 μm 인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
다공도(porosity)가 60 내지 90%이고, 기공의 크기가 10 내지 40 μm 이며, 입자의 크기가 200 내지 500 μm 인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 연부조직 질환 치료용 약물은 형질전환 성장인자, 혈소판유래 성장인자, 염기성 섬유모세포 성장인자, 혈관표시 성장인자, 인슐린 유사 성장인자, 골형성 단백질-7, 항염증활성 펩타이드(anti-inflammatory peptide), 아스피린(Aspirin), 메페남산(mefenamic acid), 디클로페낙(diclofenac sodium), 인도메타신(indomethacin), 나프록센(naproxen), 아세트아미노펜(acetaminophen), 케토프로펜(ketoprofen), 록소프로펜(loxoprofen), 피록시캄(piroxicam), 이부프로펜(ibuprofen), 심바스타틴(simvastatin), 아트로바스타틴(Atrovastatin), 플루바스타틴(Fluvastatin), 로바스타틴(Lovastatin), 카퍼펩타이드(Copper-peptide), 프로스타글란딘(prostaglandin), 트라마돌(tramadol), 세레콕시브(celecoxib), 글루코사민(glucosamine), 콘드로이틴(chondroitin), 디아세린(diacerein), 메토틱렉세이드(methotrexate), 사이클로스포린(cyclosporine), 야누스 키나아제(JAK-3 inhibitor), 리툭시맵(Rituximab), 토실리주맵(tocilizumab), 사라줄설파피리딘(SASP), 브실라민(bucillamine), 레플로노미드(leflunomide), 인플릭시맵(infliximab), 에타넬셉트(etanercept), 아다림맵(adalimumab), 프레드니솔론(prednisolone), 안티프라민 2(antiflammin 2), 커큐민(curcumin), 설파살라진(Sulfasalazine), 락토페린(lactoferin) 및

카르토게닌(kartogenin), 이부프로펜(ibuprofen) 또는 이들의 혼합물 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.

[청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 생체적합성 고분자는 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA), 폴리카프로락톤(PCL), 폴리아미노산, 폴리락타이트, 폴리포스파진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르, 폴리엔하이드라이드, 폴리오르소에스테르, 폴리히드록시발레이트, 폴리히드록시부티레이트, 히아루론산, 셀룰로오스, 헤파린, 콜라겐, 알지네이트 및 키토산 중에서 선택되는 어느 하나; 이들 둘 이상이 블렌딩된 고분자; 및 이들 둘 이상의 공중합체로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.

[청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 연부조직 질환은 아킬레스 건염, 회전근개 건염, 슬개 건염, 염좌, 인대염, 퇴행성 골관절염 및 염증성 관절염 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.

[청구항 8] 제1항에 있어서,
생체 내에 주입되어 약물을 방출하는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.

[청구항 9] 제5항에 있어서,
상기 연부조직 질환 치료용 약물은 카르토게닌, 이부프로펜, 커큐민 또는 이들 둘 이상의 혼합물인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어.

[청구항 10] 1) 생체적합성 고분자; 및 연부조직 질환 치료용 약물;을 유기용매에 용해시켜 고분자용액을 제조하는 단계;
2) 상기 고분자용액 및 젤라틴(gelatin) 수용액을 첨가하고 균질화하여 에멀전을 제조하는 단계;
3) 상기 에멀전을 불연속상(discontinuous phase)으로 사용하고, 폴리비닐알콜 용액을 연속상(continuous phase)로 사용하여 유체 장치(fluidic device)에서 흘려주어 생체적합성 고분자, 약물 및 젤라틴을 포함하는 고분자 미소구체를 제조하는 단계; 및
4) 38 내지 50°C의 물에 상기 고분자 미소구체를 넣고 교반하여 고분자 미소구체로부터 젤라틴을 용출시키는 단계;를 포함하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.

[청구항 11] 제10항에 있어서,
상기 생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 상기 약물 2 내지 30

중량부로 함유되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.

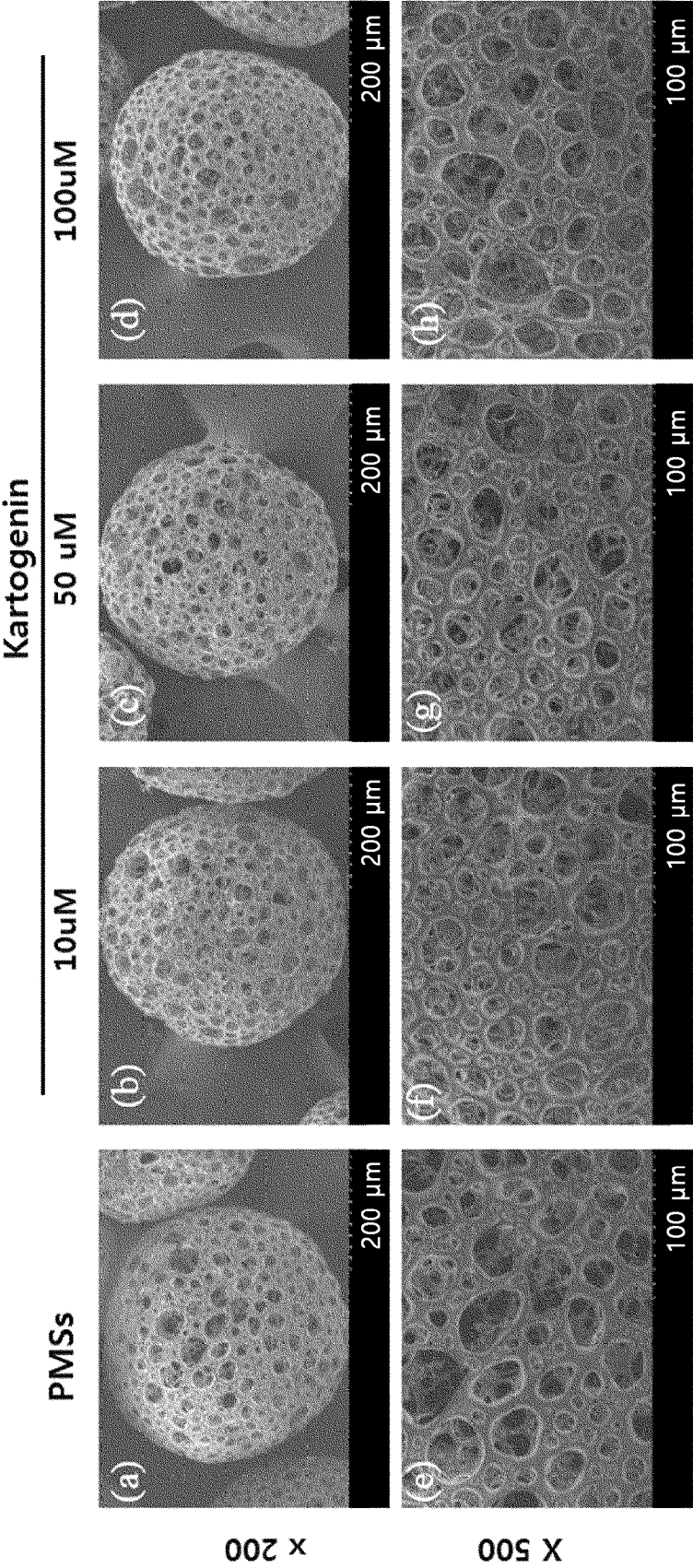
- [청구항 12] 제10항에 있어서,
상기 생체적합성 고분자 10 중량부에 대하여 상기 젤라틴 3 내지 15 중량부를 첨가하여 균질화하는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 13] 제10항에 있어서,
상기 생체적합성 고분자는 폴리글리콜산(PGA), 폴리락트산(PLA), 폴리락타이드-코-글리콜라이드(PLGA), 폴리카프로락톤(PCL), 폴리아미노산, 폴리락타이트, 폴리포스파진, 폴리이미노카보네이트, 폴리포스포에스테르, 폴리엔하이드라이드, 폴리오르소에스테르, 폴리히드록시발레이트, 폴리히드록시부티레이트, 히아루론산, 셀룰로오스, 헤파린, 콜라겐, 알지네이트 및 키토산 중에서 선택되는 어느 하나; 이들 둘 이상이 블렌딩된 고분자; 및 이들 둘 이상의 공중합체로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 14] 제10항에 있어서,
상기 2) 단계는 에멀전 안정화제 0.5 내지 3 중량부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 15] 제10항에 있어서,
다공도(porosity)가 10 내지 90%이며, 기공의 크기가 5 내지 100 μm 이고, 입자의 크기가 200 내지 1000 μm 인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 16] 제10항에 있어서,
다공도(porosity)가 60 내지 90%이며, 기공의 크기가 10 내지 40 μm 이고, 입자의 크기가 100 내지 400 μm 인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 17] 제10항에 있어서,
상기 연부조직 질환은 아킬레스 건염, 회전근개 건염, 슬개 건염, 염좌, 인대염, 퇴행성 골관절염 및 염증성 관절염 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 18] 제10항에 있어서,
상기 2) 단계는 균질기로 8,000 내지 20,000 rpm으로 30초 내지 10분간 균질화하는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 19] 제10항에 있어서,

생체적합성 고분자의 함량 대비 젤라틴, 약물 또는 이들 둘의 함량을 조절하여 약물의 배출량 및 배출속도가 조절되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.

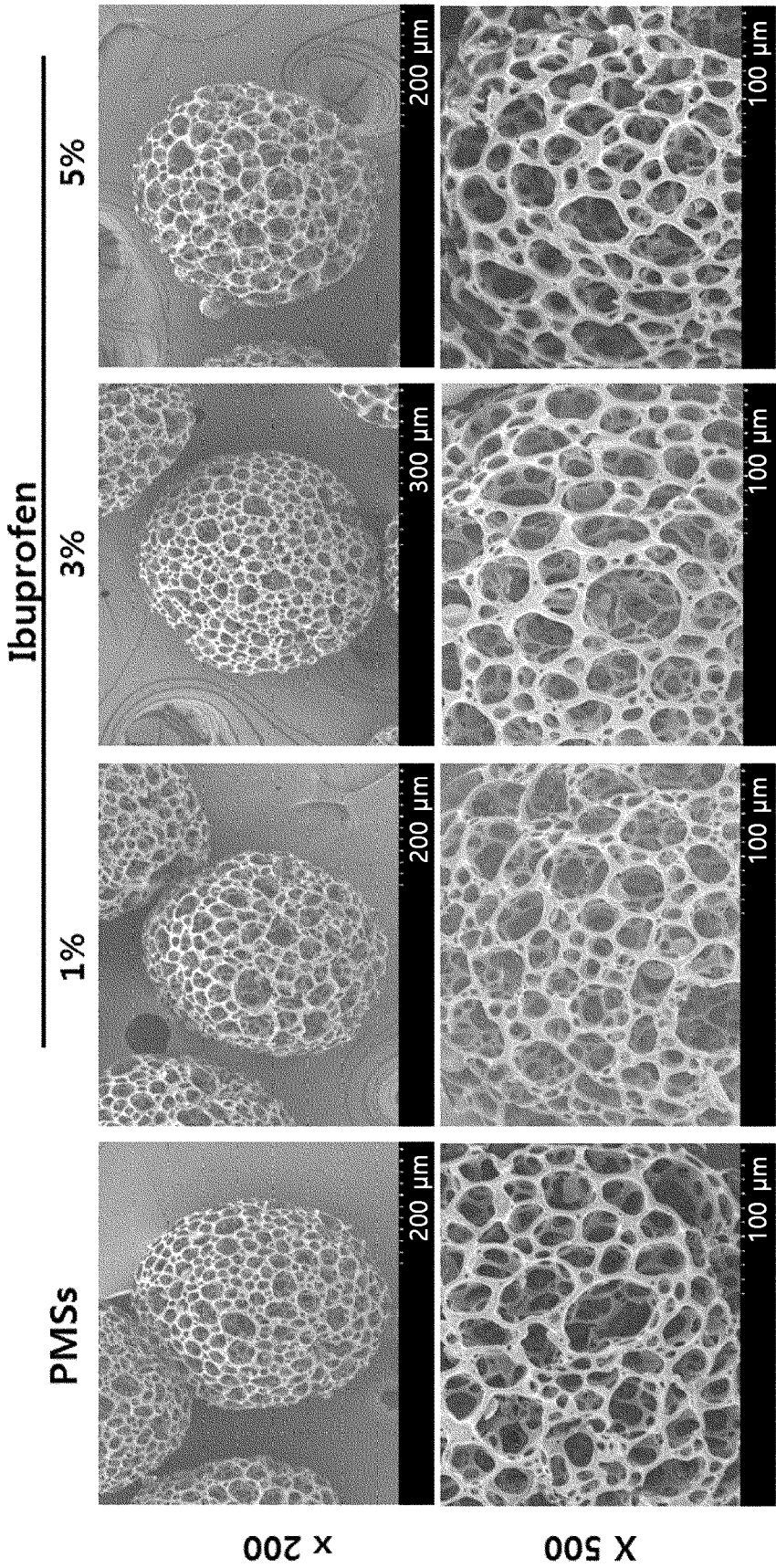
- [청구항 20] 제10항에 있어서,
상기 젤라틴 수용액은 1 내지 10 중량% 젤라틴 수용액인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 21] 제10항에 있어서,
상기 불연속상 및 연속상의 유속은 각각 0.2 내지 1 mL/min인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 22] 제10항에 있어서,
상기 유기용매는 디메틸설폭사이드, 디클로로메탄, 테트라하이드로퓨란 및 N,N-디메틸포름아미드 중에서 선택되는 1종 또는 2종 이상인 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.
- [청구항 23] 제10항에 있어서,
상기 연부조직 질환 치료용 약물은 형질전환 성장인자, 혈소판유래 성장인자, 염기성 섬유모세포 성장인자, 혈관표시 성장인자, 인슐린 유사 성장인자, 골형성 단백질-7, 항염증활성 펩타이드(anti-inflammatory peptide), 아스피린(Aspirin), 메페남산(mefenamic acid), 디클로페낙(diclofenac sodium), 인도메타신(indomethacin), 나프록센(naproxen), 아세트아미노펜(acetaminophen), 케토프로펜(ketoprofen), 록소프로펜(loxoprofen), 피록시캠(piroxicam), 이부프로펜(ibuprofen), 심바스타틴(simvastatin), 아트로바스타틴(Atrovastatin), 플루바스타틴(Fluvastatin), 로바스타틴(Lovastatin), 카퍼펩타이드(Copper-peptide), 프로스타글란딘(prostaglandin), 트라마돌(tramadol), 세레콕시브(celecoxib), 글루코사민(glucosamine), 콘드로이틴(chondroitin), 디아세린(diacerein), 메토틱렉세이드(methotrexate), 사이클로스포린(cyclosporine), 야누스 키나아제(JAK-3 inhibitor), 리툭시맙(Rituximab), 토실리주맙(tocilizumab), 사라졸설파피리딘(SASP), 브실라민(bucillamine), 레플로노미드(leflunomide), 인플릭시맙(infliximab), 에타넬셉트(etanercept), 아다림맙(adalimumab), 프레드니솔론(prednisolone), 안티프라민 2(antiflammin 2), 커큐민(curcumin), 설파살라진(Sulfasalazine), 락토페린(lactoferin) 및 카르토게닌(kartogenin), 이부프로펜(ibuprofen) 또는 이들의 혼합물

중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 연부조직 질환의 예방 또는 치료용 다공성 고분자 마이크로스피어의 제조방법.

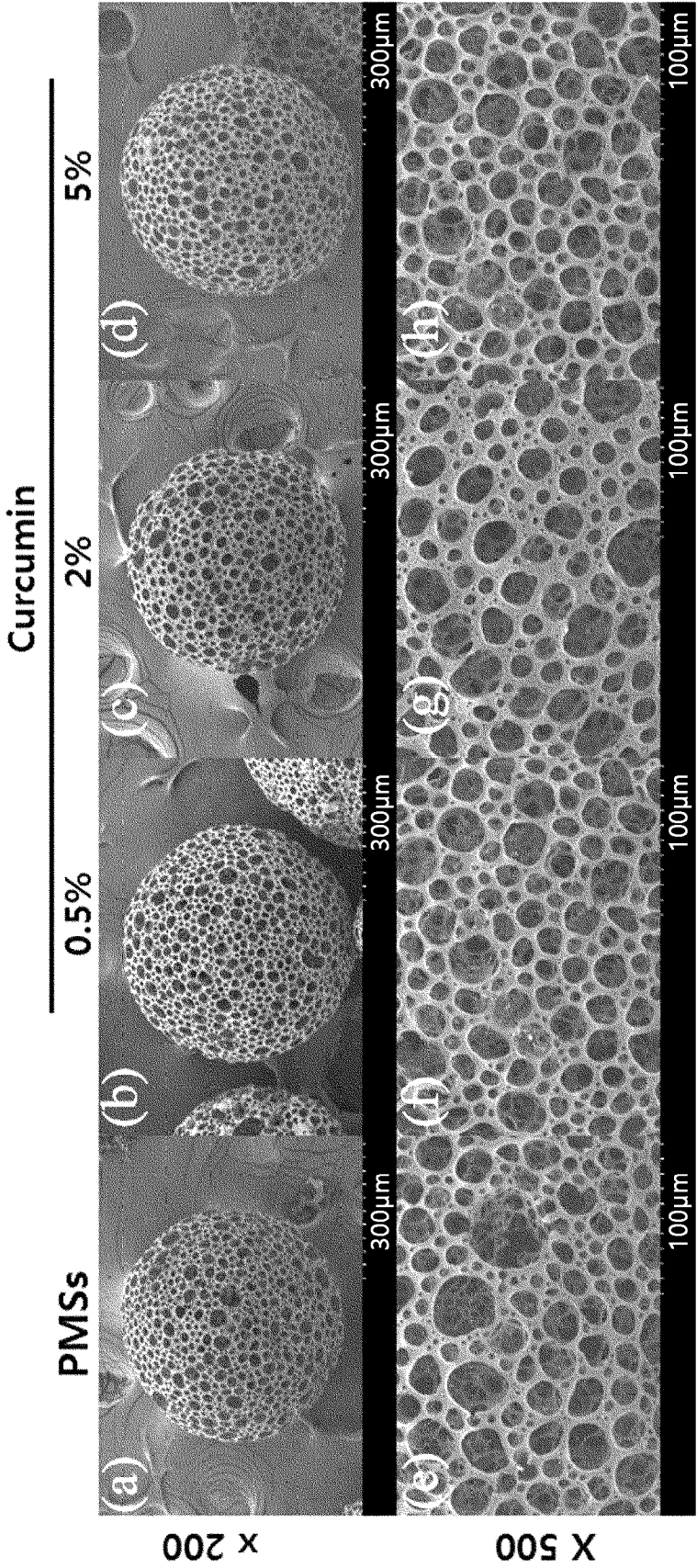
[도1]



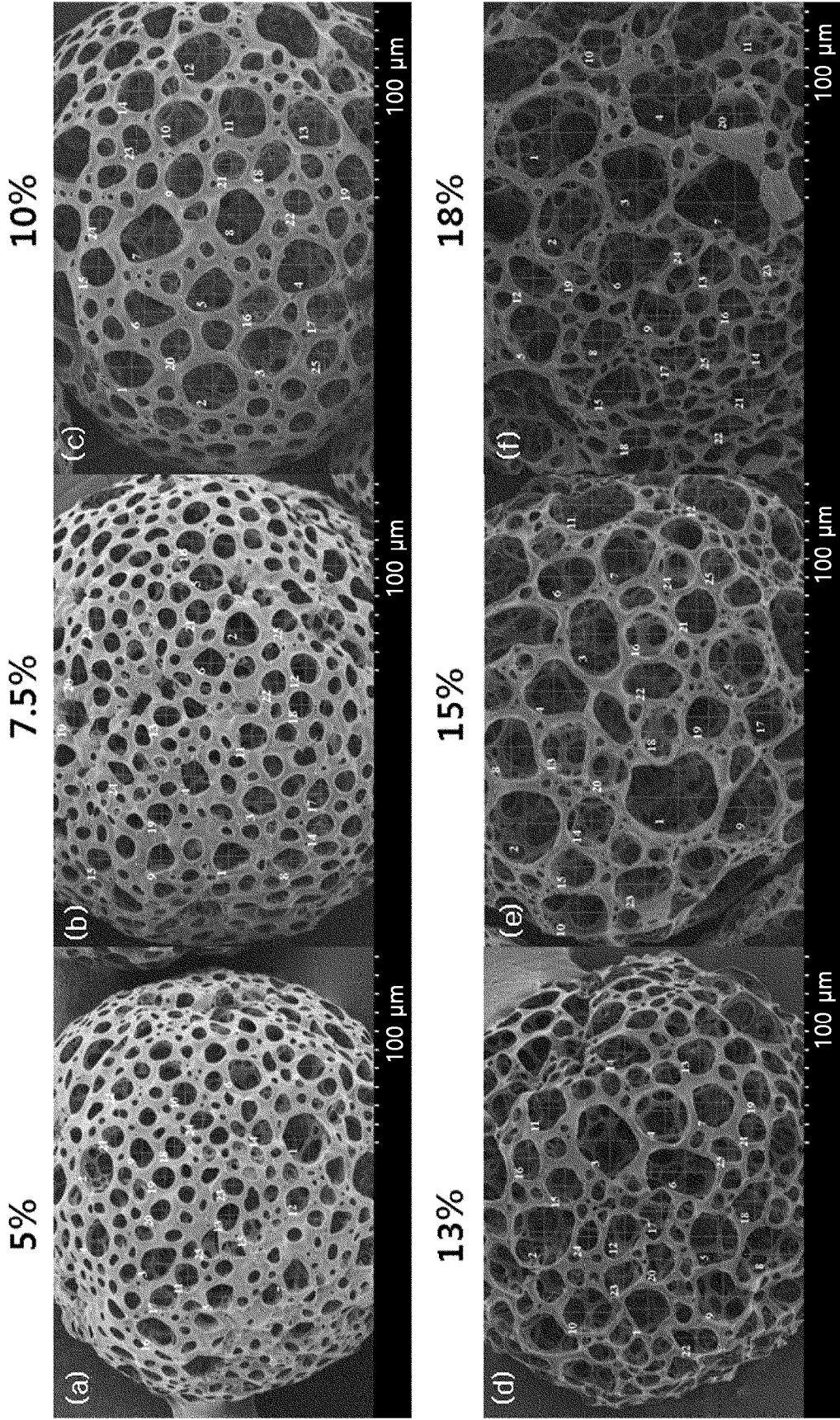
[도2]



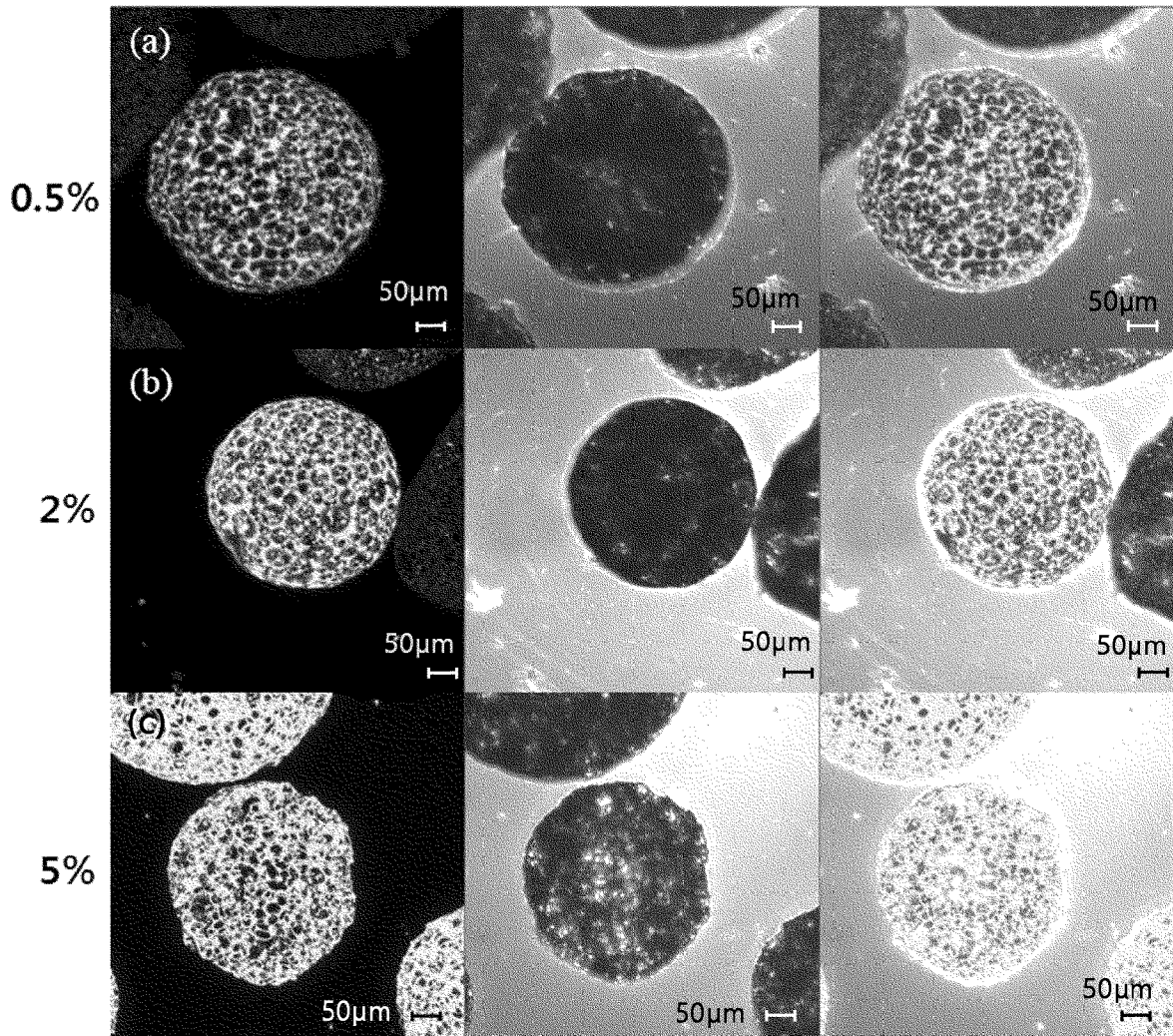
[도3]



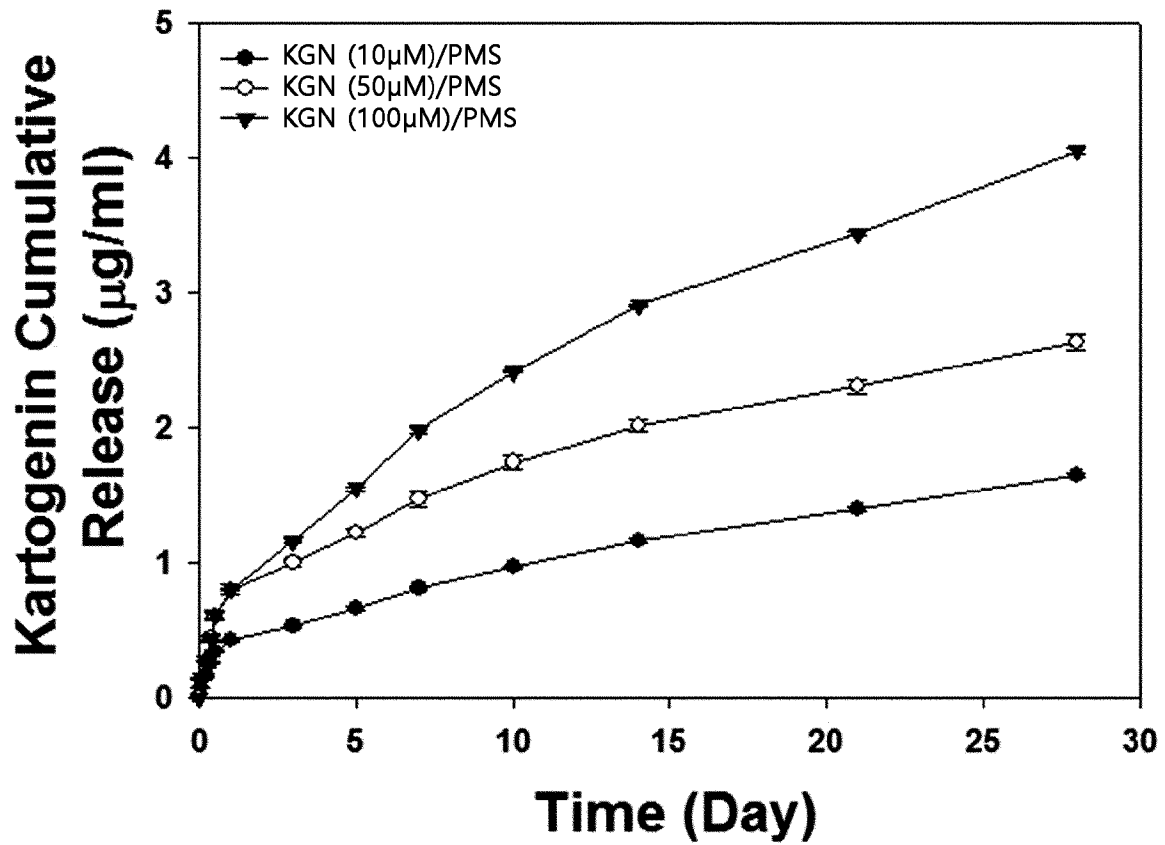
[도4]



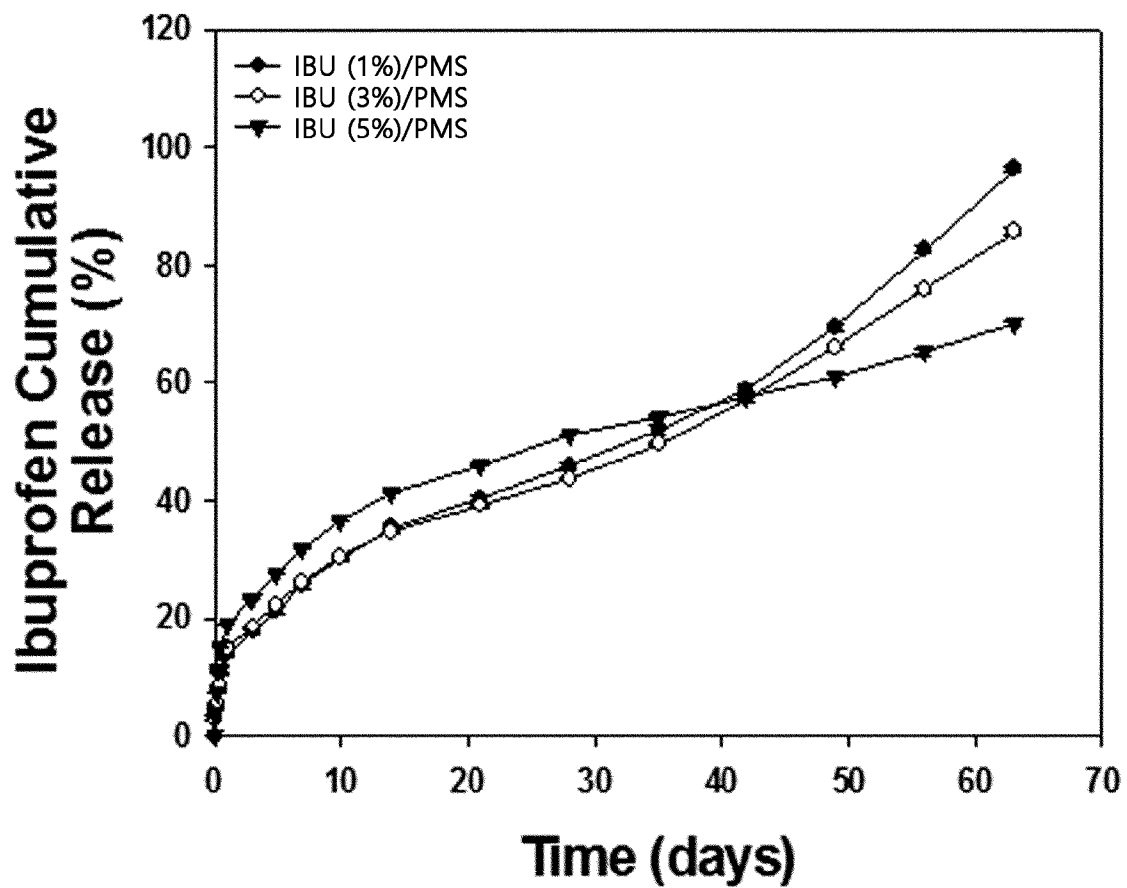
[도5]



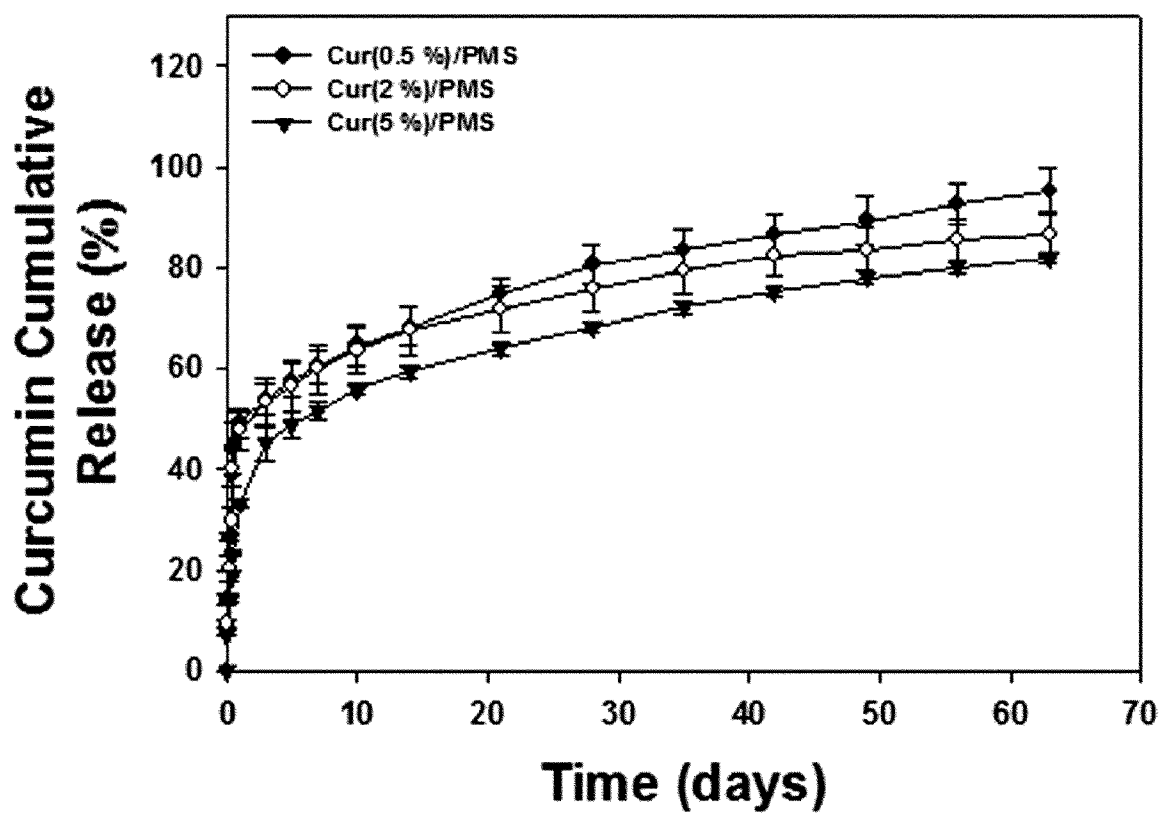
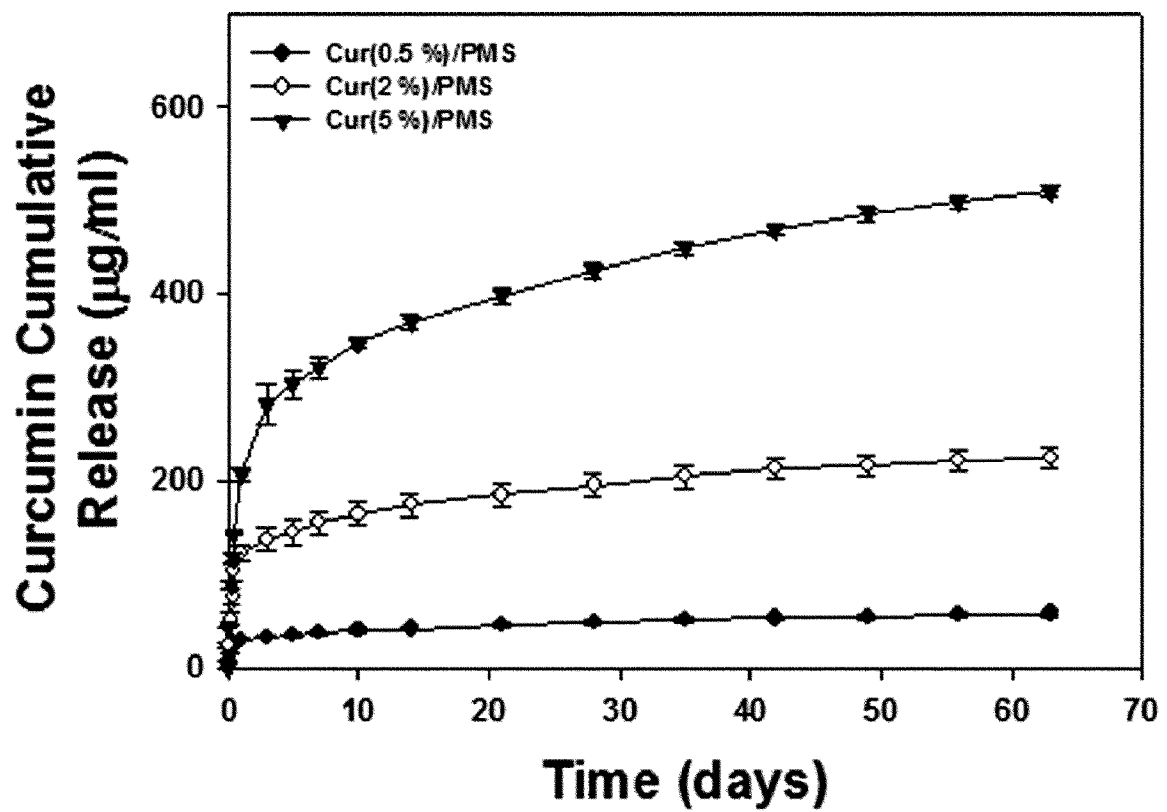
[도6]



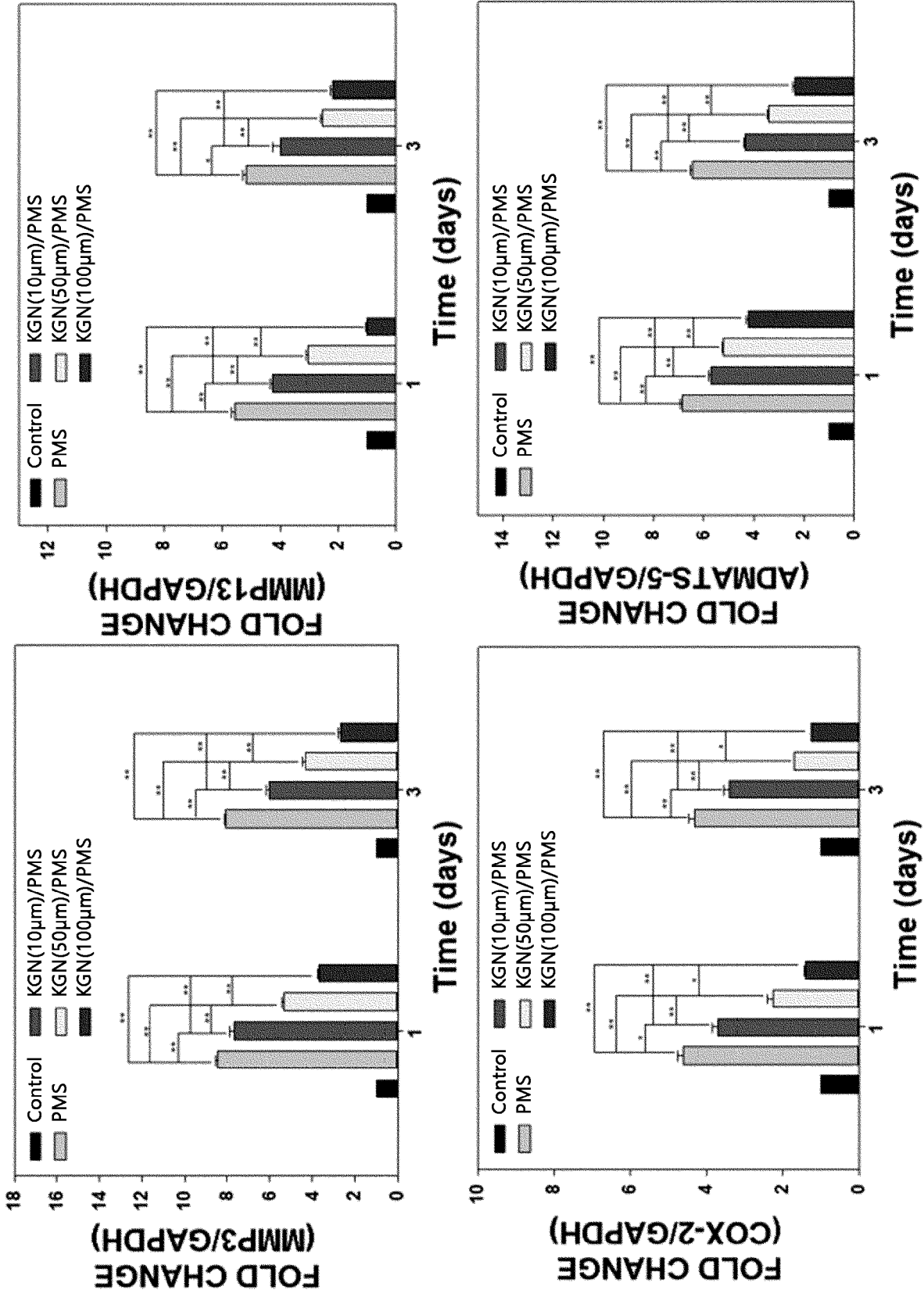
[도7]



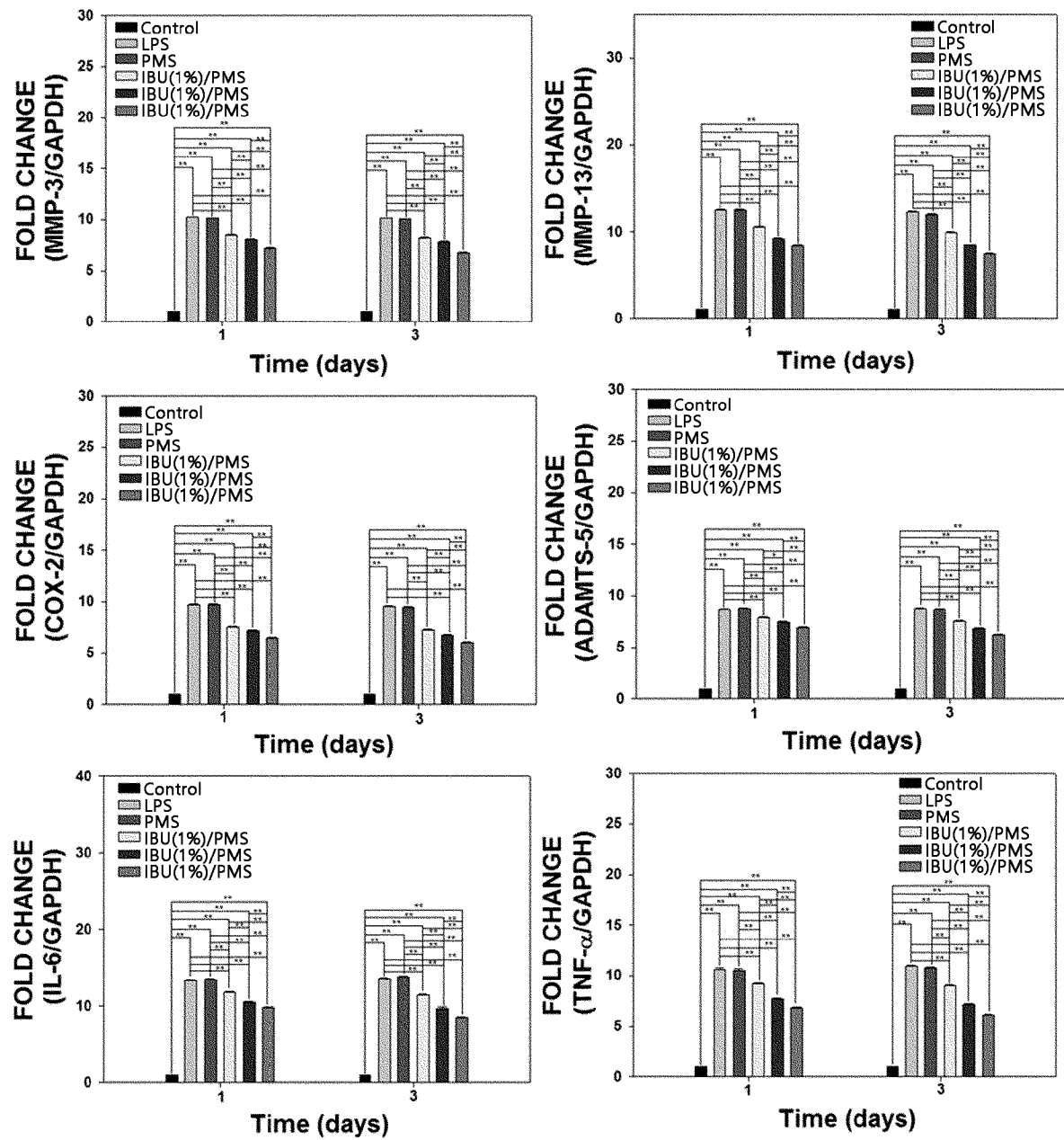
[도8]



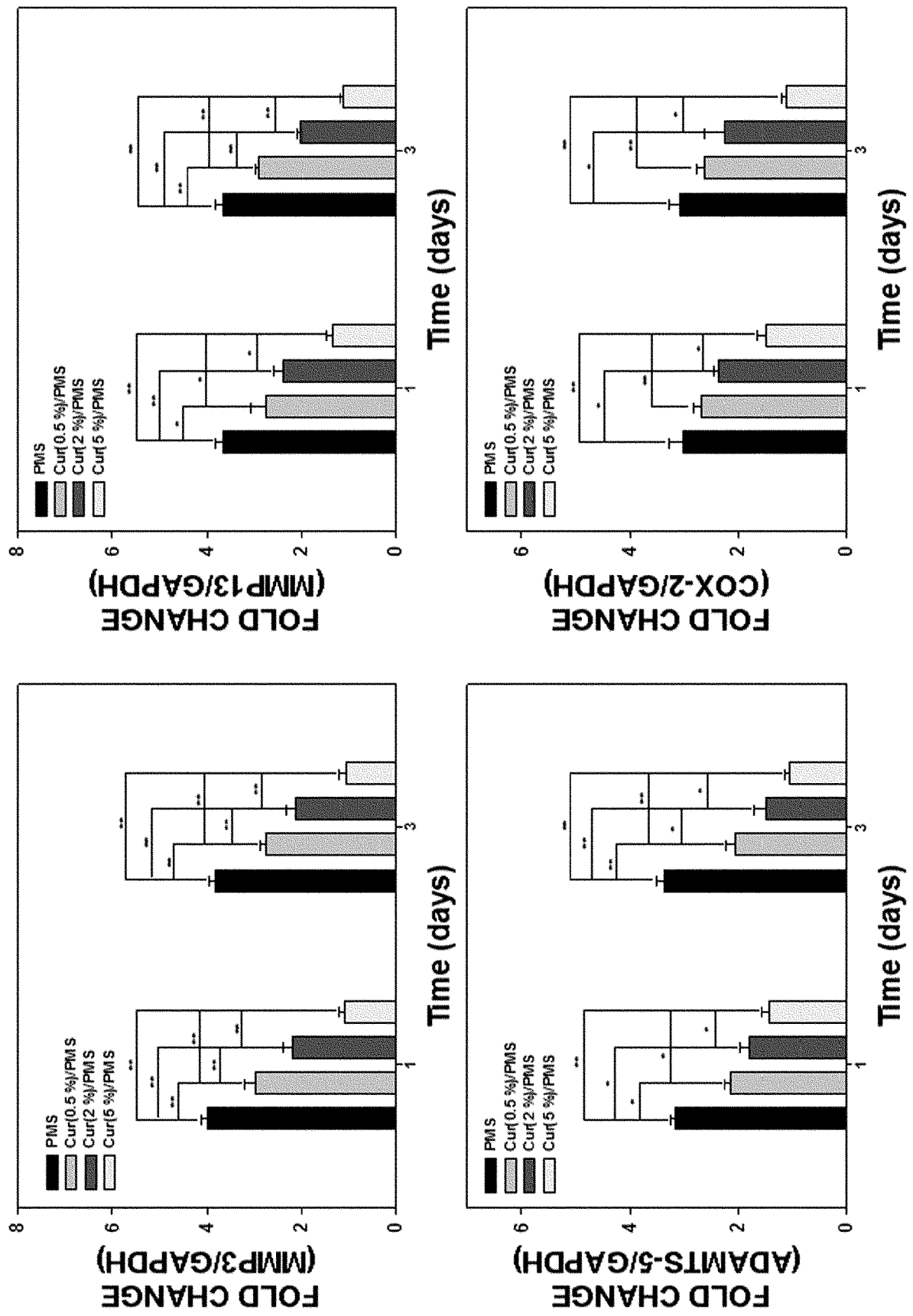
[도9]



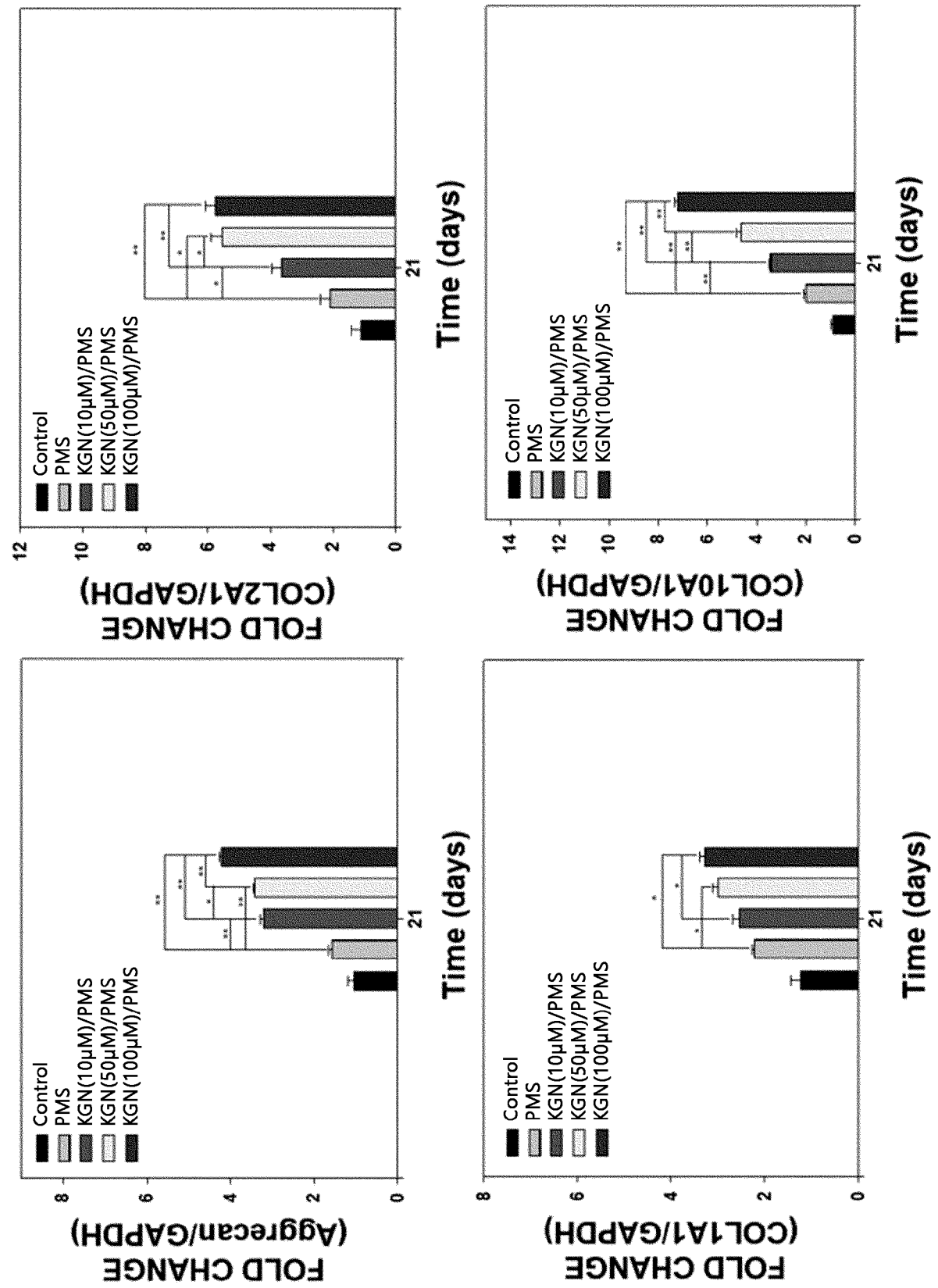
[도10]



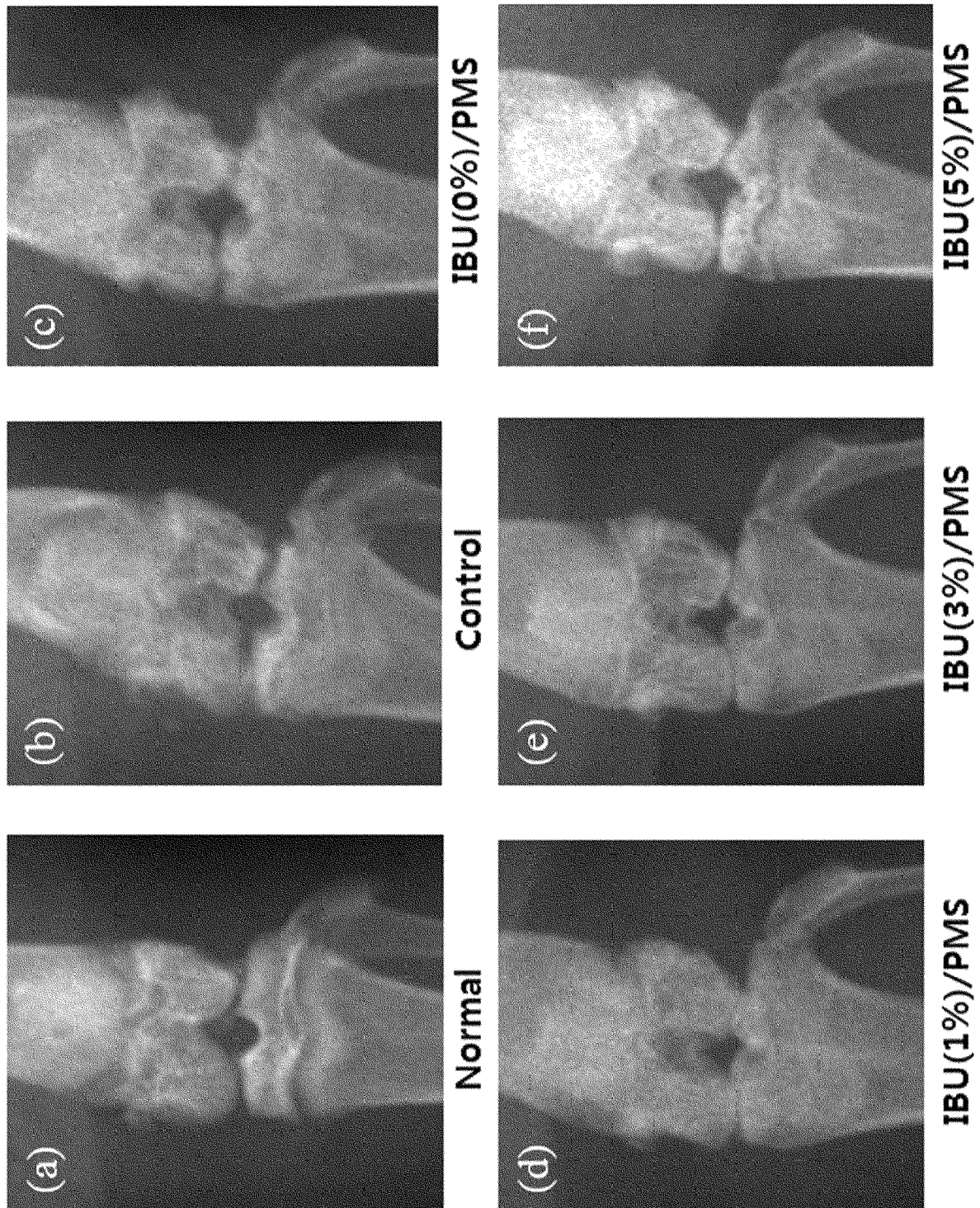
[115]



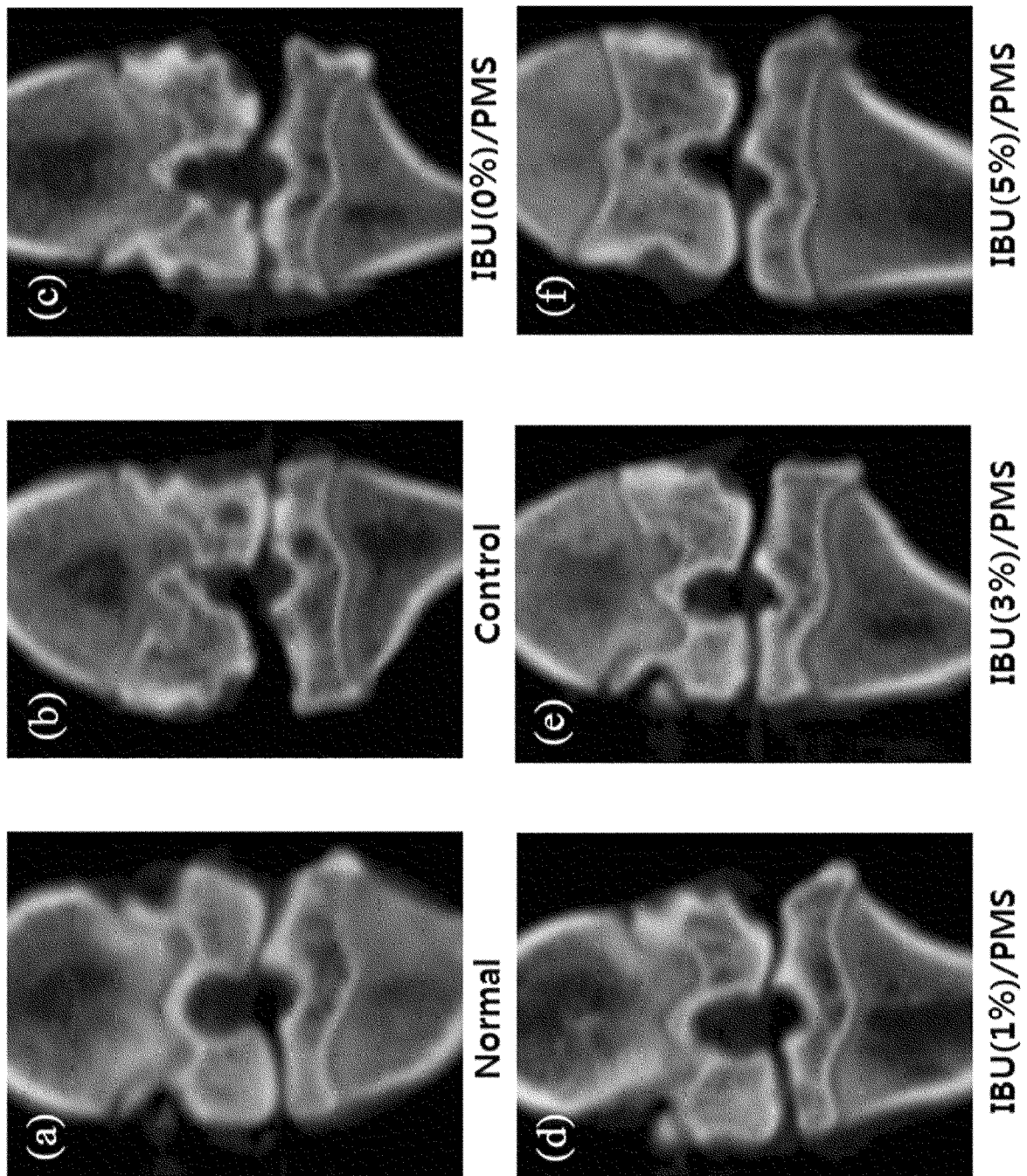
[도12]



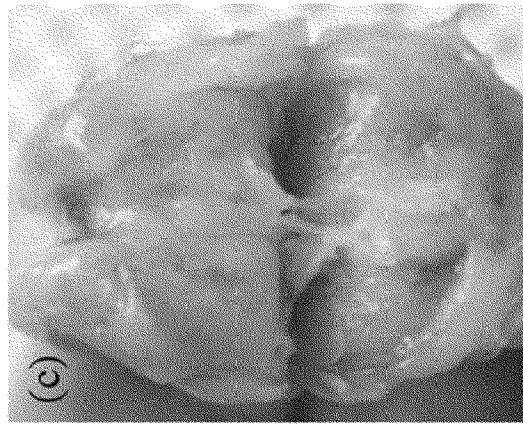
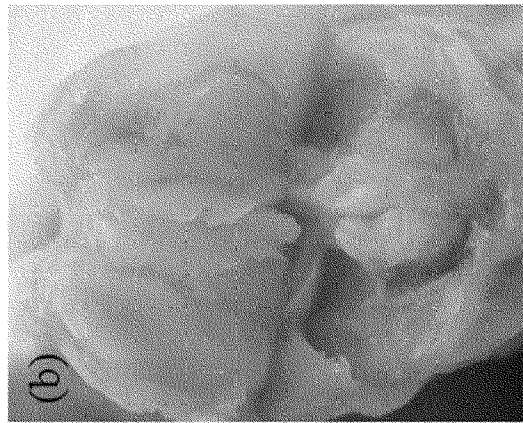
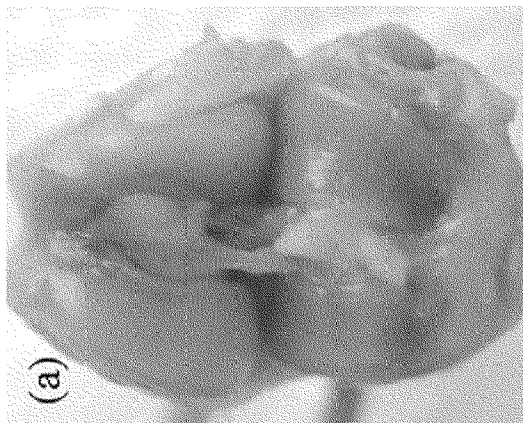
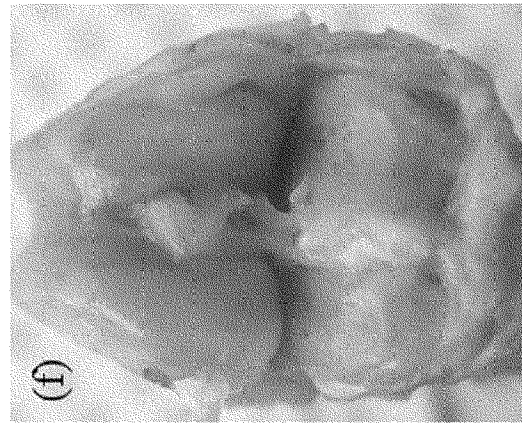
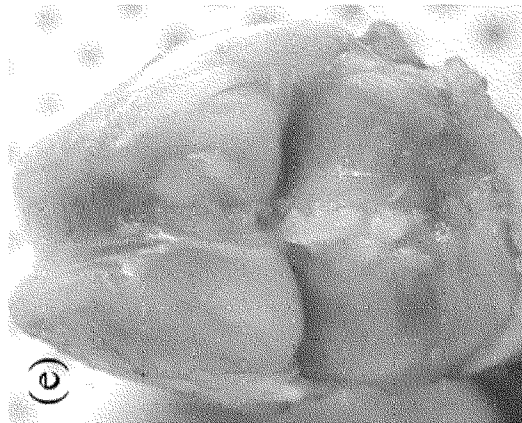
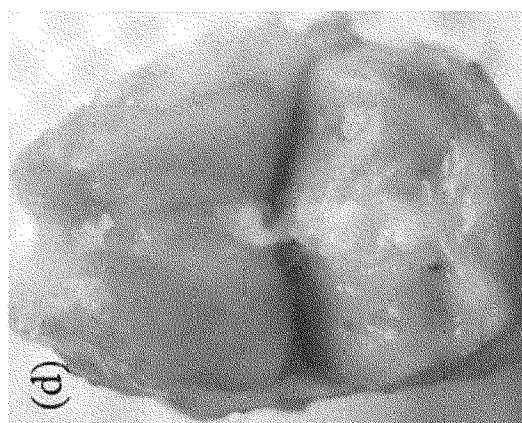
[도13]



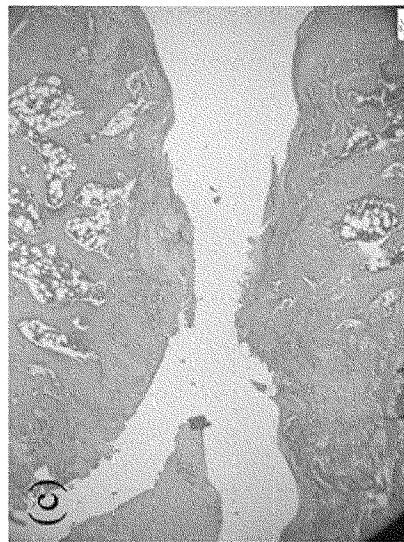
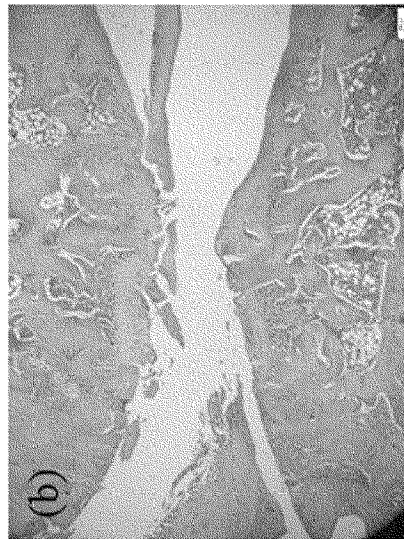
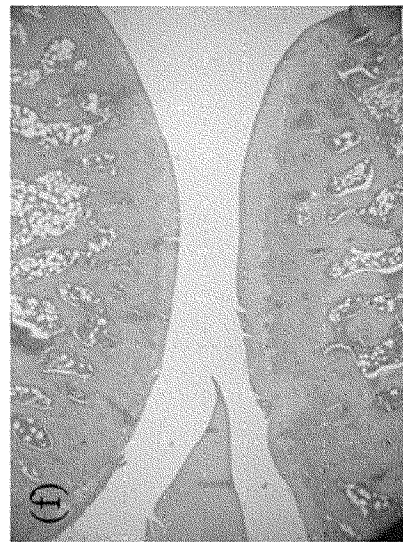
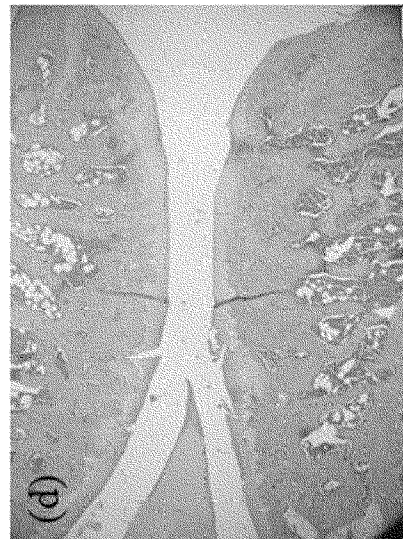
[도14]



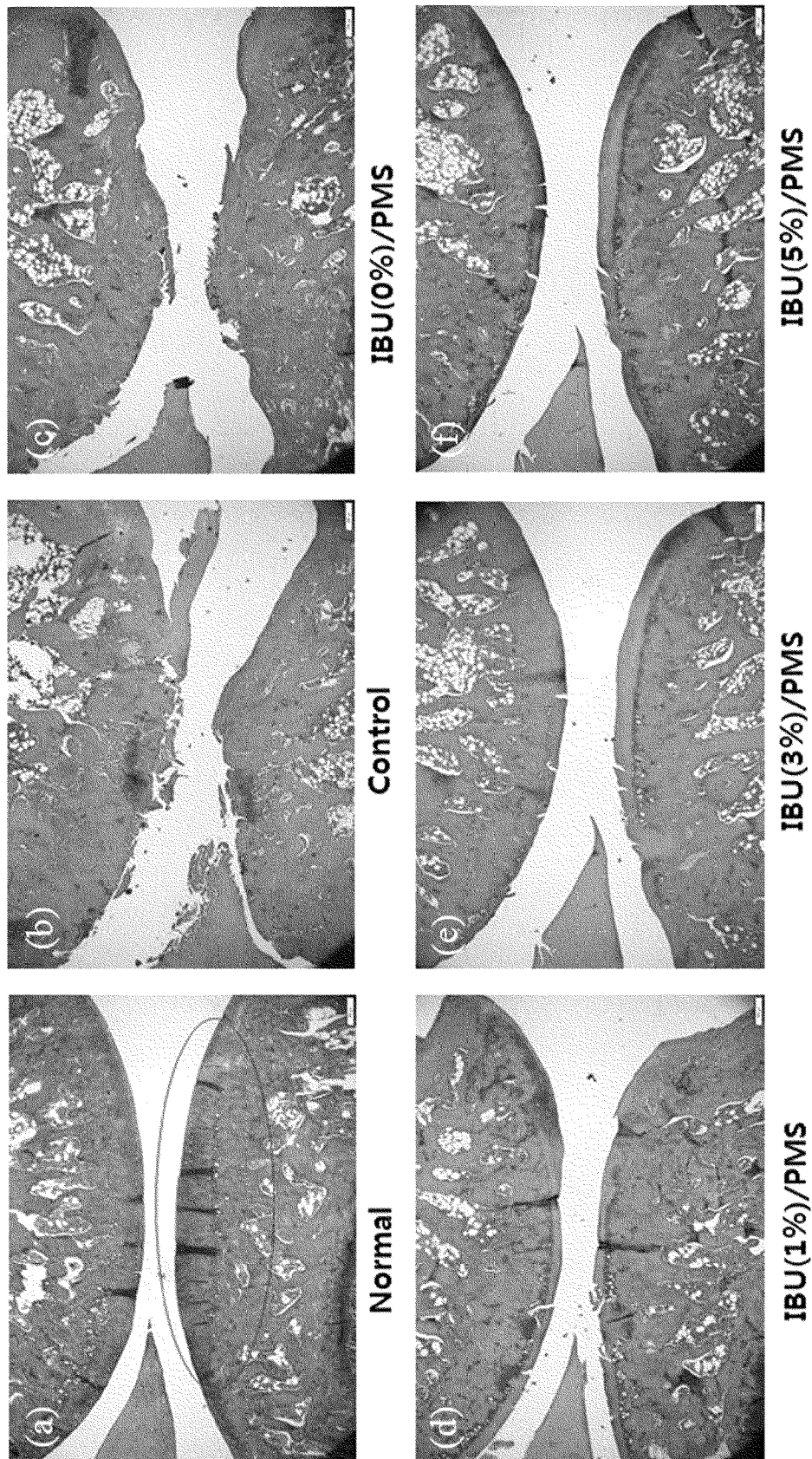
[도15]

**IBU(0%)/PMS****Control****Normal****IBU(5%)/PMS****IBU(3%)/PMS****IBU(1%)/PMS**

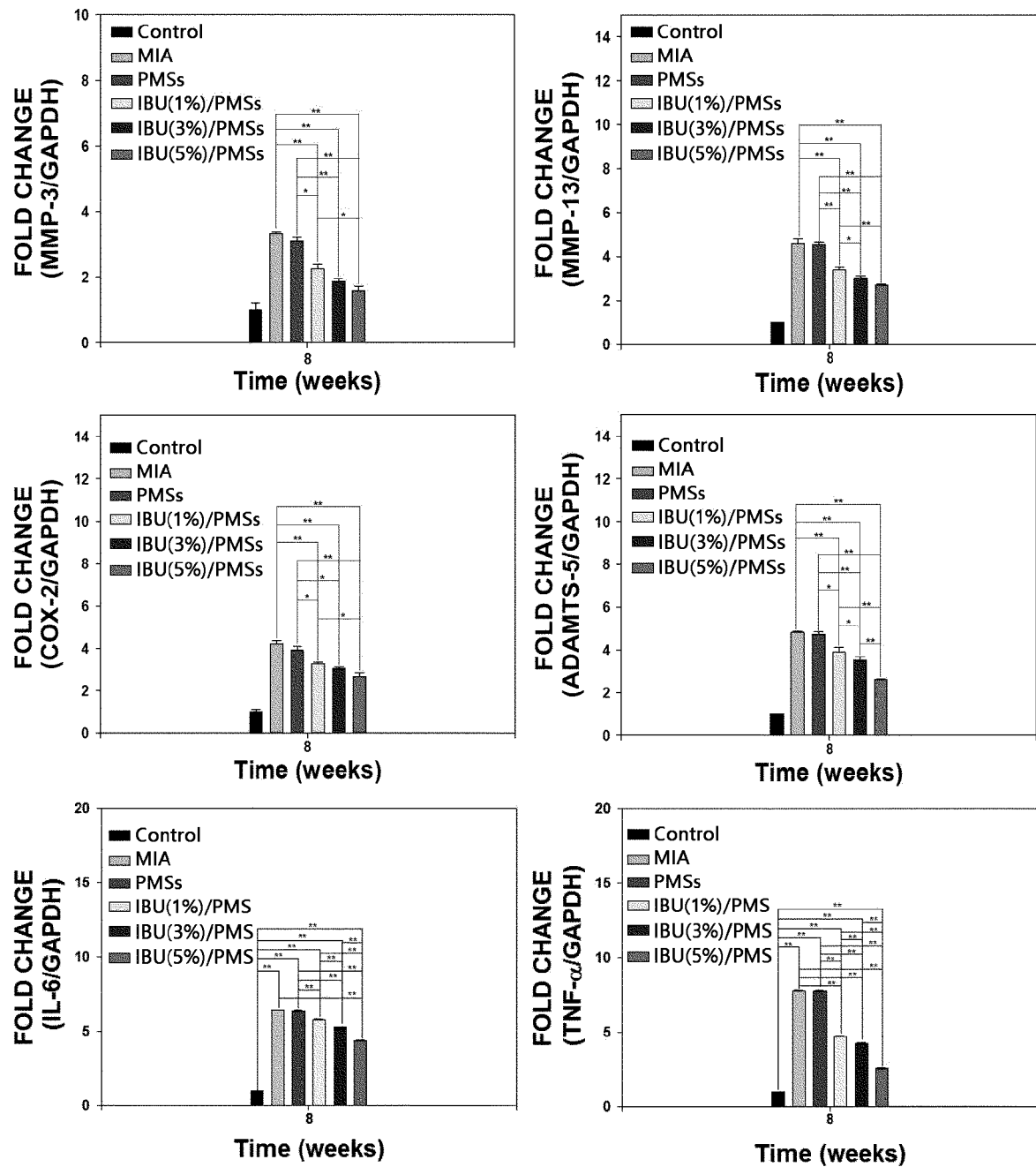
[도16]

**IBU(0%)/PMS****Control****Normal****IBU(5%)/PMS****IBU(3%)/PMS****IBU(1%)/PMS**

[도17]



[도18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2017/004723

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 27/58(2006.01)i, A61L 27/56(2006.01)i, A61L 27/44(2006.01)i, A61L 27/54(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L 27/58; A61F 2/28; A61K 47/34; C08J 3/12; A61L 27/14; C08G 63/08; A61K 9/16; A61K 47/30; A61K 31/66; A61K 9/34; A61L 27/56; A61L 27/44; A61L 27/54

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as aboveElectronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: soft tissue disease, porous polymer, microsphere

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2010-0117948 A (IUCF-HYU (INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION HANYANG UNIVERSITY)) 04 November 2010 See claims 1, 3; figures 1-3.	1-23
A	KR 10-2011-0007672 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, DANKOOK UNIVERSITY) 25 January 2011 See the entire document.	1-23
A	KR 10-2015-0119527 A (THE CATHOLIC UNIVERSITY OF KOREA INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 26 October 2015 See the entire document.	1-23
A	KR 10-2016-0020298 A (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) 23 February 2016 See the entire document.	1-23
A	KR 10-2012-0080267 A (KONGJU NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION) 17 July 2012 See the entire document.	1-23



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 SEPTEMBER 2017 (12.09.2017)

Date of mailing of the international search report

12 SEPTEMBER 2017 (12.09.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Sconsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2017/004723

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2010-0117948 A	04/11/2010	KR 10-1136028 B1	18/04/2012
KR 10-2011-0007672 A	25/01/2011	KR 10-1105285 B1	17/01/2012
KR 10-2015-0119527 A	26/10/2015	KR 10-1609047 B1	05/04/2016
KR 10-2016-0020298 A	23/02/2016	NONE	
KR 10-2012-0080267 A	17/07/2012	KR 10-1222408 B1	17/01/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61L 27/58(2006.01)i, A61L 27/56(2006.01)i, A61L 27/44(2006.01)i, A61L 27/54(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61L 27/58; A61F 2/28; A61K 47/34; C08J 3/12; A61L 27/14; C08G 63/08; A61K 9/16; A61K 47/30; A61K 31/66; A61K 9/34; A61L 27/56; A61L 27/44; A61L 27/54

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 연부조직 질환, 다공성 고분자, 마이크로스피어

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2010-0117948 A (한양대학교 산학협력단) 2010.11.04 청구항 1, 3; 도면 1-3 참조.	1-23
A	KR 10-2011-0007672 A (단국대학교 산학협력단) 2011.01.25 전문 참조.	1-23
A	KR 10-2015-0119527 A (가톨릭대학교 산학협력단) 2015.10.26 전문 참조.	1-23
A	KR 10-2016-0020298 A (고려대학교 산학협력단) 2016.02.23 전문 참조.	1-23
A	KR 10-2012-0080267 A (공주대학교 산학협력단) 2012.07.17 전문 참조.	1-23

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 09월 12일 (12.09.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 09월 12일 (12.09.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이정철

전화번호 +82-42-481-8611



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2010-0117948 A	2010/11/04	KR 10-1136028 B1	2012/04/18
KR 10-2011-0007672 A	2011/01/25	KR 10-1105285 B1	2012/01/17
KR 10-2015-0119527 A	2015/10/26	KR 10-1609047 B1	2016/04/05
KR 10-2016-0020298 A	2016/02/23	없음	
KR 10-2012-0080267 A	2012/07/17	KR 10-1222408 B1	2013/01/17