(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0000794
(43) 공개일자 2021년01월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/26 (2006.01) *A61L 27/20* (2006.01)
A61L 27/24 (2006.01) *A61L 27/48* (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/26 (2013.01)
A61F 2/0036 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0075727
(22) 출원일자 2019년06월25일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
홍광대
서울특별시 구로구 신도림로11가길 36 6동 305호 (신도림동,미성아파트)
서지훈
서울특별시 성북구 고려대로17가길 64(안암동1가, 래미안 안암), 107-1103
이준범
충청북도 청주시 청원구 율량로201번길 25-12, 302
(74) 대리인
특허법인 다해

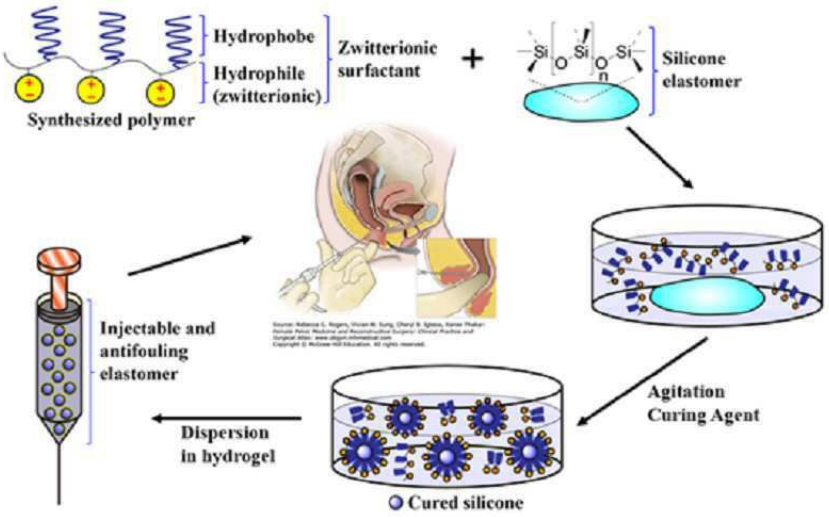
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **체내 부피 유지 제제 및 이를 포함하는 주사제**

(57) 요 약

본 발명은 요실금 질환, 변실금 및 식도관 역류로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료의 약제, 또는 성형 시술용 충진제의 용도로 사용할 수 있는 체내 부피 유지 제제 및 이를 포함하는 주사제에 관한 것으로, 상기 체내 부피 유지 제제는 체내에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있으며, 특히, 실리콘 입자에 계면활성의 특성을 갖는 양쪽성이온 고분자가 코팅된 제1조성을 제2조성에 도입함으로써, 생체적합성이 우수하여 체내에서 염증 반응 등을 억제할 수 있는 효과가 있다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61F 2/0059 (2013.01)
A61L 27/20 (2013.01)
A61L 27/24 (2013.01)
A61L 27/48 (2013.01)
A61L 27/54 (2013.01)
A61L 2400/06 (2013.01)
A61L 2430/34 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

실리콘 입자 및 실리콘 입자 표면을 둘러싸는 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)를 포함하는 제1조성; 및

상온에서 100 내지 1500 cps 의 점도를 갖는 제2조성; 을 포함하며,

상기 제1조성의 양쪽성이온 고분자는 계면활성의 특성을 갖는 체내 부피 유지 제제로,

상기 제제는, 요실금 질환, 변실금, 식도관 역류 및 방광요관역류로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료용의 약제; 또는 성형 시술용 충진제의 용도인 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제.

청구항 2

제1항에 있어서,

체내 부피 유지 제제는, 하기 수학식 1을 만족하는 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제:

[수학식 1]

$|V_2-V_1| \times 1/100 \leq 0.1$

여기서, V_1 은 체내 부피 유지 제제를 개체에 주입하였을 때의 상기 체내 부피 유지 제제가 차지하는 부피를 의미하며,

V_2는 체내 부피 유지 제제를 개체에 주입하고 4주 후에 생체 내에서 상기 체내 부피 유지 제제가 차지하는 부피를 의미한다.

청구항 3

제1항에 있어서,

제1조성은, 평균 입경이 50 내지 500㎛ 범위의 입자 형태인 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제.

청구항 4

제1항에 있어서,

실리콘 입자는, PDMS(Polydimethylsiloxane) 의 유기 실리콘 화합물인 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제.

청구항 5

제1항에 있어서,

양쪽성이온 고분자는, 양쪽성이온 이온을 갖는 제1단량체와 아크릴산 에스테르를 함유하는 제2단량체를 포함하는 랜덤 공중합체인 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제.

청구항 6

제5항에 있어서,

제1단량체는, MPC(methacryloyloxyethyl phosphorylcholine), CBMA(Carboxybetaine methacrylate) 및 SBMA(Sulfobetaine methacrylate)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 체내 부피 유지 제제.

청구항 7

제5항에 있어서,

제2단량체는, BMA(Butyl methacrylate), TRIS(3-[Tris(trimethylsiloxy)silyl]propyl methacrylate) 및 DMA(dodecyl methacrylate) 로 이루어진 선택되는 하나 이상인 체내 부피 유지 제제.

청구항 8

제1항에 있어서,

제2조성은, 히알루론산(Hyaluronic acid; HA) 또는 콜라겐인 체내 부피 유지 제제.

청구항 9

제1항에 있어서,

제2조성은, 전체 체내 부피 유지 제제에 대하여 55 내지 65 %(v/v) 포함되는 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 체내 부피 유지 제제를 포함하는 주사제.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 체내 부피 유지 제제 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 체내에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있으며, 요실금 질환, 변실금 및 식도관 역류로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료의 약제, 또는 성형 시술용 충진제의 용도로 사용할 수 있는 체내 부피 유지 제제 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 요실금이란, 자신의 의지와 무관하게 소변이 누출되는 배뇨이상으로 사회적 또는 위생상의 문제를 일으키는 것으로 국제요실금학회에서 정의를 내리고 있다.

[0004] 요실금의 발생빈도는 우리나라의 경우 중년기 여성인구의 30% 정도에서 요실금을 호소한다고 하며, 노인층에서의 발생빈도는 훨씬 더 높아서 보호시설에 수용되어 있는 경우 40% 이상의 높은 빈도를 나타낸다고 보고되고 있다. 요실금은 종양이나 기타 소모성 질환같이 생명을 위협하지는 않지만 요실금으로 인한 불편함과 수치심, 이로 인한 사회활동의 제약으로 점차 고립되어 가고 정신적인 장애를 유발할 수 있다.

[0005] 이러한 요실금은 현대 의학이 해결하기 가장 어려운 난치질환의 하나이다. 국내 암환자의 50 % 이상은 완치 가능한 반면, 대변실금을 위한 믿을 만한 치료법이 아직까지 전무한 상태이다. 요실금은 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 증거들이 불충분한 상태이다.

[0006] 현재, 요실금 환자의 치료는 천수신경자극술 등이 국내에서 극히 예외적인 경우에서 시행되는 상황이나, 치료효과가 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.

[0007] 하편, 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.

[0008] 이러한 주사제로는 실리콘(silicone), 실리콘계 물질(silicone-based agent), 카본이 코팅된 비드(carbon-coated beads, Durasphere), 자가 지방(autologous fat), 글루타르알데히드 가교된 콜라겐(glutaraldegyde cross-linked collagen, GAX), 포리테트라플루오로에틸렌(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.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 일본 공개특허 제2009-45221호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 전술한 문제점을 해결하기 위한 것으로, 체내에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있으며, 체내에서 염증 반응 등을 저하시킬 수 있는 체내 부피 유지 제제 및 이의 제조방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0014] 본 발명은 일 실시예에서,

[0015] 실리콘 입자 및 실리콘 입자 표면을 둘러싸는 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)를 포함하는 제1조성; 및

[0016] 상온에서 100 내지 1500 cps 의 점도를 갖는 제2조성; 을 포함하며,

[0017] 상기 제1조성의 양쪽성이온 고분자는 계면활성의 특성을 갖고,

[0018] 요실금 질환, 변실금, 식도관 역류 및 방광요관역류로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료의 약제; 또는 성형 시술용 충진제의 용도인 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제를 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 일 실시예에서,

[0021] 체내 부피 유지 제제를 포함하는 주사제를 제공한다.

발명의 효과

[0023] 본 발명의 일 실시예에 따른 체내 부피 유지 제제는 실리콘 입자에 계면활성의 특성을 갖는 양쪽성이온 고분자가 코팅된 제1조성을 제2조성에 도입함으로써, 체내에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있으며, 생체적합성이 우수하여 체내에서 염증 반응 등을 억제할 수 있는 효과가 있다.

[0024] 나아가, 본 발명에 따른 체내 부피 유지 제제는 대변실금, 요실금, 식도관 역류, 방광요관 역류, 및 미용 성형 충진제(보형물) 등을 포함하는 체내에서 부피 유지가 필요한 다양한 용도에 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1 은 본 발명에 따른 체내 부피 유지 제제 제조방법의 순서도이다.

도 2는 실시예 1의 체내 부피 유지 제제 제조과정을 모식적으로 나타낸 도면이다.

도 3(a) 는 PMB 계면활성 고분자 용액에서 제조된 실리콘 마이크로 입자의 주사형 보형물 성상을 나타낸 도면이며, 도 3(b)는 상기 입자의 표면 단백질 흡착 특성을 분석한 결과를 나타내는 도면이다.

도 4는 실험예 1에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 1주 후에 항문조직을 H&E 염색 후 광학 현미경으로 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교에 1, (c) 비교예 2).

도 5는 실험예 1에서 실시예 1의 주사제를 주입한 그룹1의 1주 후에 전신조직을 H&E 염색 후 광학 현미경으로 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 폐 1, (b) 간, (c) 신장), (d) 림프절).

도 6 은 실험예 2에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 4주 후에 항문조직을 H&E 염색 후 광학 현미경으로 각각 40배, 100배, 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교에 1, (c) 비교예 2).

도 7 은 실험예 2에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 4주 후에 항문조직에 MT stain 염색후 광학 현미경으로 40배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교에 1, (c) 비교예 2).

도 8 은 실험예 2에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 4주 후에 항문조직에 TNF-α 염색후 광학 현미경으로 40배, 100배, 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교에 1, (c) 비교예 2).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 본 발명은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다.

[0028] 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 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.

[0029] 본 출원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다.

[0030] 본 발명에서, "포함한다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0031] 본 발명은 체내에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있는 체내 부피 유지 제제 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[0032] 특히, 본 발명에 따른 체내 부피 유지 제제는 실리콘 입자에 계면활성의 특성을 갖는 양쪽성이온 고분자가 코팅된 제1조성을 제2조성에 도입함으로써, 체내에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있으며, 생체적합성이 우수하여 체내에서 염증 반응 등을 억제할 수 있는 효과가 있다.

[0034] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0035] 본 발명은 일 실시예에서,

[0036] 실리콘 입자 및 실리콘 입자 표면을 둘러싸는 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)를 포함하는 제1조성; 및

[0037] 상온에서 100 내지 1500 cps 의 점도를 갖는 제2조성; 을 포함하며,

[0038] 상기 제1조성의 양쪽성이온 고분자는 계면활성의 특성을 갖고,

[0039] 요실금 질환, 변실금, 식도관 역류 및 방광요관역류로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료의 약제; 또는 성형 시술용 충진제의 용도인 것을 특징으로 하는 체내 부피 유지 제제를 제공한다.

[0040] 종래의 체내 부피 유지 제제는 체내에 주입된 재료가 림프액이나 혈관을 따라 타장기로 이동에 따른 추가적인 주입 및 재수술이 요구되어 왔으며, 체내에 주입되는 재료에 의해서 염증반응 등을 보이는 문제가 있었다.

[0041] 따라서, 본 발명은 상술한 문제점을 해결하기 위한 것으로, 실리콘 입자에 계면활성의 특성을 갖는 양쪽성이온 고분자가 코팅된 제1조성을 제2조성에 도입함으로써, 체내에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있으며, 생체적합성이 우수하여 체내에서 염증 반응 등을 억제할 수 있는 체내 부피 유지 제제를 제공한다.

[0043] 설명에 앞서, 본 발명에서 사용하는 용어들 중 "체내 부피 유지 제제"란, 개체의 체내에서 소정 부피를 유지할 수 있는 Bulking agent 로, 일종의 충진제 또는 보형물을 의미할 수 있다.

[0044] 아울러, 본 발명에서 사용하는 용어들 중 "대상", "개체" 또는 "환자" 는 치료, 관찰 또는 실험의 대상일 수 있으며, 척추동물일 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 척추동물은 포유동물이다. 상기 포유동물은, 비제한적으로, 농장 동물(예컨대, 소), 스포츠 동물, 애완 동물(예컨대, 기니아 피그, 고양이, 개, 토기 및 말), 영장류, 마우스 및 래트(rat)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 포유동물은 인간일 수 있으며, 체내 부피 유지 제제를 투여하는 것을 포함하는 실시양태에서, 상기 개체는 전형적으로 이러한 투여를 필요로 하는 환자일 수 있다.

[0045] 나아가, 본 발명에서 사용하는 용어들 중 "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 있따. 보다 상세하게는, 친수성기를 갖는 단량체와 소수성기를 갖는 단량체를 포함하는 공중합체일 수 있다.

[0047] 먼저, 이하에서는 본 발명의 제1조성에 대해서 상세히 설명하도록 한다.

[0048] 본 발명의 일 실시예에서 제1조성은 실리콘 입자 및 실리콘 입자 표면을 둘러싸는 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)를 포함할 수 있다.

[0049] 제1조성은 체내에 주사 주입되는 것이 바람직한 바, 이를 위해 주사주입이 가장 용이한 형태인 구형으로 존재하는 것이 체내 주입의 효율을 고려할 때 가장 양호하다고 할 수 있다. 상기 구형의 미세입자의 평균 입경은 체내 주입, 및 생리활성물질 도입의 용이성 등을 고려하여 50 내지 500㎛ 일 수 있으며, 또는 100 내지 200㎛ 일 수 있다. 만일, 상기 제1조성의 평균 직경이 50 ㎛ 미만인 경우, 생체현상에 의한 체내 이동(유실)이 발생할 수 있으며, 상기 제1조성의 평균 직경이 500 ㎛ 를 초과하는 경우, 상기 제1조성의 직경이 너무 커서 후술하게 되는 제2조성에 분산되기 어려울 수 있으며, 주사제로 사용할 때, 주사 바늘 내경에 막히게 되어, 주사용제제로 사용하기 어려울 수 있다.

[0051] 실리콘 입자는 유기 실리콘 화합물로, PDMS(Polydimethylsiloxane) 일 수 있으며, 바람직하게는 친수성으로 개질된 실리콘 입자일 수 있다.

[0052] 아울러, 양쪽성이온 고분자는 친수성과 소수성을 띠는 계면활성의 특성을 갖을 수 있으며, 양쪽성이온 이온을 갖는 제1단량체와 아크릴산 에스테르를 함유하는 제2단량체를 포함하는 랜덤 공중합체일 수 있다. 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. 일 예로, 양쪽성이온 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) 일 수 있다. 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.

[0053] 한편, 상기 MPC(methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)는 양이온 및 음이온을 한 분자 내에 동시에 가지고 있는 이른바, 쌍성이온(zwitterion) 구조를 지니고 있으며, 이러한 화학그룹은 극성이 높고, 전기적으로 중성이며, 수소결합 억셉터이자 비수소결합 도너로 일찍부터 생체적합성을 확보하기에 이상적인 분자구조로 알려져 있다. 이러한 이유로, MPC 는 인공혈관 및 인공심장, 인공관절 등 생체환경에서 사용되는 다양한 임플란트 소재 표면에 부여할 목적으로 사용되어 왔으며, 그 안정성 역시 검증되어 FDA 승인을 받은 대표적인 합성물질이다.

[0054] 본 발명의 일 실시예에서 상기 실리콘 입자의 표면에 코팅한 PMB 고분자는 소수성의 실리콘 입자와 상호작용을 할 수 있는 butyl 그룹을 함유한 BMA 로 이루어져 있으며, BMA 의 실리콘 입자의 강한 상호작용으로 인하여 수중에서 안정적으로 친수성 MPC 성분을 실리콘 입자 표면에 흡착시킬 수 있다.

[0055] 만일, 상기 PMB 고분자에서 MPC 의 몰비율 상기 범위 미만인 경우 또는 BMA 의 몰비율이 상기 범위를 초과하는 경우, 체내 부피 유지 제제에서 생체적합성을 확보하기 어려울 수 있으며, MPC 의 몰비율이 상기 범위를 초과하는 경우 또는 또는 BMA 의 몰비율이 상기 범위를 미만인 경우, MPC 대비 BMA 의 양이 적어, 수중에서 안정적으로 친수성 MPC 성분을 실리콘 입자 표면에 흡착시키기 어려울 수 있다.

[0056] 즉, 본 발명의 체내 부피 유지 제제는 실리콘 입자에 계면활성의 특성을 갖는 양쪽성이온 고분자가 코팅됨으로써, 생체적합성이 우수하여 체내에서 염증 반응 등을 억제할 수 있는 효과가 있다.

[0058] 다음으로, 이하에서는 본 발명의 일실시예에 따른 제2조성에 대해서 상세히 설명하도록 한다.

[0059] 제2조성은 소정의 점도를 갖는 점성물질로, 상온에서 100 내지 1500 cps 의 점도를 갖는 것을 특징으로 한다.

[0060] 특히, 제2조성은 소정의 점도를 갖고 있어, 체내 부피 유지 제제에 추가함으로써 제1조성의 입자가 빠르게 가라앉는 문제를 해결할 수 있으며, 이에 따라 일정한 양의 제1조성이 체내에 주사될 수 있는 효과가 있다.

[0061] 상기 제2조성의 분자량은 500,000 내지 3,000,000 Da 일 수 있으며, 700,000 내지 2,000,000 Da, 800,000 내지 1,500,000 Da 또는 1,000,000 Da 일 수 있다. 제2조성은 비교적 작은 분자량과 소정의 점도를 가지고 있어, 제1조성에 포함되는 입자가 빠르게 가라앉는 문제를 해결할 수 있다.

[0062] 아울러, 제2조성은 상온에서 100 내지 1500cps 의 점도를 갖을 수 있으며, 100 내지 900cps를 갖을 수 있으며, 바람직하게는 100 내지 350cps 의 점도를 갖을 수 있다.

[0063] 보다 구체적으로, 상온에서 제2조성의 점도가 100 cps 미만인 경우에는 점도가 작아서, 제1조성에 포함되는 입자가 빠르게 가라앉는 문제를 해결할 수 없으며, 1500cps 를 초과하는 경우에는 점도가 매우 높아, 조직에 주사시 높은 압력에 의해서 주사가 힘들어지는 어려움을 겪을 수 있다.

[0064] 본 발명의 일실시예에 있어서, 제2조성은 생체적합성 점성 물질을 포함할 수 있으며, 상기 생체적합성 점성 물질은 히알루론산(Hyaluronic acid, HA) 또는 콜라겐일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0065] 바람직하게는 상기 생체적합성 점성 물질은 히알루론산일 수 있다.

[0066] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 제2조성은 전체 체내 부피 유지 제제에 대하여 55 %(v/v) 내지 65 %(v/v) 로 첨가될 수 있다.

[0067] 보다 구체적으로, 제2조성이 전체 체내 부피 유지 제제에 대하여, 55%(v/v) 미만으로 포함되는 경우, 체내 부피 유지 제제의 현탁성 유지 시간이 짧아 제1조성의 입자가 빠르게 가라앉아 조직에 일정한 양으로 주사시키기 어

려울 수 있으며, 특히, 조직 내 주사시 한꺼번에 과량이 주사되거나 주변으로 너무 빨리 퍼지는 문제가 발생할 수 있다.

[0068] 또한, 전체 체내 부피 유지 제제에 대하여, 상기 제2조성이 65%(v/v)를 초과하게 되면, 제2조성의 농도에 의하여 점도가 높아져 주사시 높은 압력이 가해져 맨손으로는 주사하기 어려울 수 있다.

[0069] 하나의 양태로서, 체내 부피 유지 제제의 제2조성은 18 내지 26G 바늘을 포함하는 주사기에 담지된 상태에서 평균 60 %(v/v) 로 첨가될 수 있다.

[0071] 한편, 본 발명의 일 실시예에 따른 체내 부피 유지 제제는, 하기 수학식 1을 만족하는 것을 특징으로 한다:

[0072] [수학식 1]

[0073] $|V_2-V_1| \times 1/100 \leq 0.1$

[0074] 여기서, V_1 은 체내 부피 유지 제제를 개체에 주입하였을 때의 상기 체내 부피 유지 제제가 차지하는 부피를 의미하며,

[0075] V_2는 체내 부피 유지 제제를 개체에 주입하고 4주 후에 생체 내에서 상기 체내 부피 유지 제제가 차지하는 부피를 의미한다.

[0077] 바람직하게는, 본 발명의 일 실시예에 따른 체내 부피 유지 제제는 하기 수학식 2를 만족할 수 있다:

[0079] [수학식 2]

[0080] $|V_2-V_1| \times 1/100 \leq 0.05$

[0081] 즉, 본 발명의 일 실시예에 따른 체내 부피 유지 제제는 개체에 주입한 후 소정의 시간이 지나도 부피를 유지할 수 있으며, 개체에 처음 주입시 90% 이상의 부피를 유지할 수 있음을 나타낸다.

[0083] 뿐만 아니라, 본 발명의 체내 부피 유지 제제는 개체 내에서 단백질 흡착을 억제할 수 있으며, 염증 생성 등을 억제할 수 있는 효과가 있다.

[0085] 본 발명의 일 실시예에 따르면,

[0086] 실리콘 입자와 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)를 혼합하여, 실리콘 입자 표면에 양쪽성이온 고분자(zwitterionic polymer)가 둘러싸여 있는 제1조성을 제조하는 단계(S100); 및

[0087] 상온에서 100 내지 1500 cps 의 점도를 갖는 제2조성에 제1조성을 분산시키는 단계(S200); 를 포함하는 체내 부피 유지 제제의 제조방법을 제공한다(도 1 참조).

[0088] 먼저, 제1조성을 제조하는 단계는, 실리콘 입자 및 양쪽성이온 고분자를 용매에 첨가하여 혼합용액을 준비하는 단계(S110); 혼합용액을 초음파 처리하여 상기 용매에 실리콘 입자 및 양쪽성이온 고분자를 분산시키는 단계(S120); 및 초음파 처리한 혼합용액을 원심분리한 후 분말을 수득하는 단계(S130); 를 포함한다.

[0089] 이때, 용매는 실리콘 입자 및 양쪽성 고분자를 분산시킬 수 있는 용매라면 어떠한 물질이여도 무관하다. 상기 용매는 정제수, 메틸알코올, 에틸알코올, 이소프로필알코올, 디메틸설폭사이드 등을 사용할 수 있으며, 일 예로 정제수일 수 있다.

[0090] 아울러, 상기 실리콘 입자는 유기 실리콘 화합물로, PDMS(Polydimethylsiloxane) 일 수 있으며, 바람직하게는 친수성으로 개질된 실리콘 입자일 수 있다.

[0091] 아울러, 양쪽성이온 고분자는 친수성과 소수성을 띠는 계면활성의 특성을 갖을 수 있으며, 양쪽성이온 이온을 갖는 제1단량체와 아크릴산 에스테르를 함유하는 제2단량체를 포함하는 랜덤 공중합체일 수 있다. 보다 구체적

으로, 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. 일 예로, 양쪽성이온 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) 일 수 있다. 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.

[0092] 한편, 상기 혼합용액에는 실리콘 입자 100 중량부에 대하여, 양쪽성이온 고분자는 0.1 내지 5 중량부를 포함할 수 있으며, 보다 상세하게는 실리콘 입자 100 중량부에 대하여, 양쪽성이온 고분자는 0.3 내지 4 중량부, 0.5 내지 3 중량부, 0.8 내지 2 중량부 또는 1 중량부일 수 있다. 만일, 용매에 첨가되는 실리콘 입자 대비 양쪽성이온 고분자의 첨가량이 상기 범위 미만인 경우, 양쪽성이온 고분자의 양이 너무 적어, 실리콘 입자를 용이하게 코팅할 수 없으며, 용매에 첨가되는 실리콘 입자 대비 양쪽성이온 고분자의 첨가량이 상기 범위 초과하는 경우, 매질의 계면특성 변화로 인하여 PDMS 의 모양 또는 입도에 영향을 끼칠 수 있다. 따라서, 상기 범위가 바람직할 수 있다. 일 예로, 정제수 10 mL 에 PDMS 1.1 g, PMB 10 mg 를 첨가하여 혼합할 수 있다.

[0093] 이때, 상기 용매에는 분산제를 더 첨가할 수 있다. 구체적으로, 분산제는 PVP(poly vinyl pyrrolidone), CTAB(cetyltrimethyl ammonium bromide) 또는 PEG(polyethylene glycol)일 수 있으며, 일 예로, 상기 분산제는 PVP(poly vinyl pyrrolidone) 일 수 있다. 상기 분산제는 실리콘 입자 100 중량부 기준으로, 10 내지 35 중량부를 첨가할 수 있다. 일 예로, 상기 혼합용액에 PVP 로 250 mg 를 첨가할 수 있다.

[0094] 그리고, 상기 혼합용액에 초음파를 인가하여 상기 용매에 실리콘 입자 및 양쪽성이온 고분자를 분산시킬 수 있다. 일 예로, 혼합용액에 초음파 발생기로 초음파를 발생시켜 5분 간 실리콘 입자를 분산시킨 후 다시 5분 간 보텍스(vortex)하여 재분산 시킬 수 있다.

[0095] 다음으로, 초음파 처리한 용액을 1000 내지 2000 rpm 의 회전속도 또는 1500 rpm 으로 상온에서 교반하는 과정을 거칠 수 있다. 상기와 같이, 혼합용액을 교반하는 과정을 거치면, 실리콘 입자가 분산된 채 경화된 혼합물을 수득할 수 있다. 그리고, 저속 원심분리를 실시할 수 있다. 구체적으로, 저속 원심분리-상등액 제거-정제수 재분산의 과정을 여러번 반복할 수 있다.

[0096] 이때, 평균 입자크기가 50 ㎛ 미만의 입자는 제거할 수 있다. 그리고, 고속 원심분리 후 상등액 제거, 동결건조를 통해 응집된 형태의 실리콘 입자를 회수할 수 있다. 이에 따라, 양쪽성이온 고분자가 코팅된 실리콘 입자(제1조성)를 제조할 수 있다.

[0097] 제1조성은 구형의 입자일 수 있으며, 상기 구형의 미세입자의 평균 입경은 체내 주입, 및 생리활성물질 도입의 용이성 등을 고려하여 50 내지 500㎛ 일 수 있으며, 또는 100 내지 200㎛ 일 수 있다. 만일, 상기 제1조성의 평균 직경이 50 ㎛ 미만인 경우, 생체현상에 의한 체내 이동(유실)이 발생할 수 있으며, 상기 제1조성의 평균 직경이 500 ㎛ 를 초과하는 경우, 상기 제1조성의 직경이 너무 커서 후술하게 되는 제2조성에 분산되기 어려울 수 있으며, 주사제로 사용할 때, 주사 바늘 내경에 막히게 되어, 주사용제제로 사용하기 어려울 수 있다.

[0099] 다음으로, 상온에서 100 내지 1500 cps 의 점도를 갖는 제2조성에 제1조성을 분산시키는 단계(S200)를 포함한다.

[0100] 구체적으로, 제2조성은 소정의 점도를 갖고 있어, 체내 부피 유지 제제에 추가함으로써 제1조성의 입자가 빠르게 가라앉는 문제를 해결할 수 있으며, 이에 따라 일정한 양의 제1조성이 체내에 주사될 수 있는 효과가 있다.

[0101] 상기 제2조성의 분자량은 500,000 내지 3,000,000 Da 일 수 있으며, 700,000 내지 2,000,000 Da, 800,000 내지 1,500,000 Da 또는 1,000,000 Da 일 수 있다. 제2조성은 비교적 작은 분자량과 소정의 점도를 가지고 있어, 제1조성에 포함되는 입자가 빠르게 가라앉는 문제를 해결할 수 있다.

[0102] 아울러, 제2조성은 상온에서 100 내지 1500cps 의 점도를 갖을 수 있으며, 100 내지 900cps를 갖을 수 있으며, 바람직하게는 100 내지 350cps 의 점도를 갖을 수 있다.

[0103] 보다 구체적으로, 상온에서 제2조성의 점도가 100 cps 미만인 경우에는 점도가 작아서, 제1조성에 포함되는 입자가 빠르게 가라앉는 문제를 해결할 수 없으며, 1500cps 를 초과하는 경우에는 점도가 매우 높아, 조직에 주사

시 높은 압력에 의해서 주사가 힘들어지는 어려움을 겪을 수 있다.

[0104] 본 발명의 일실시예에 있어서, 제2조성은 생체적합성 점성 물질을 포함할 수 있으며, 상기 생체적합성 점성 물질은 히알루론산(Hyaluronic acid, HA) 또는 콜라겐일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0105] 바람직하게는 상기 생체적합성 점성 물질은 히알루론산일 수 있다.

[0106] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 제2조성은 전체 체내 부피 유지 제제에 대하여 55 %(v/v) 내지 65 %(v/v) 로 첨가될 수 있다.

[0107] 보다 구체적으로, 제2조성이 전체 체내 부피 유지 제제에 대하여, 55%(v/v) 미만으로 포함되는 경우, 체내 부피 유지 제제의 현탁성 유지 시간이 짧아 제1조성의 입자가 빠르게 가라앉아 조직에 일정한 양으로 주사시키기 어려울 수 있으며, 특히, 조직 내 주사시 한꺼번에 과량이 주사되거나 주변으로 너무 빨리 퍼지는 문제가 발생할 수 있다.

[0108] 또한, 전체 체내 부피 유지 제제에 대하여, 상기 제2조성이 65%(v/v)를 초과하게 되면, 제2조성의 농도에 의하여 점도가 높아져 주사시 높은 압력이 가해져 맨손으로는 주사하기 어려울 수 있다.

[0109] 예를 들면, 제1조성과 제2조성의 첨가되는 부피비는 약 4:6 의 비율로 혼합될 수 있다.

[0111] 또한, 본 발명은 일 실시예에서,

[0112] 상기 체내 부피 유지 제제를 포함하는 주사제를 제공한다.

[0113] 보다 구체적으로, 본 발명에 따른 체내 부피 유지 제제는 변실금, 대변실금, 식도관 역류, 요실금 질환, 및 방광요관 역 류로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료의 약제; 및 미용 성형 충진제 등 체내 에 주입되어 부피 유지 효과(bulking effect)를 발휘할 수 있는 다양한 용도에 사용 가능하며, 상기 열거된 질환들은 그 예시일 뿐, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0114] 여기서, 상기 변실금 질환은 고령, 요실금, 치매, 정신과적 질환, 분만 중 괄약근 손상, 암 제거 수술에 의한 괄약근 손 상, 만성 변비 등을 가진 인구에서 주로 발생되며, 당뇨, 파킨슨병, 중풍, 척수손상, 직장탈출증 이나, 염증성 장질환, 방사선 관련 직장염, 선천성 항문기형으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나, 이에 한정 되지 않는다.

[0116] 이하, 하기 실시예를 통하여 본 발명에 대해 설명하고자 한다. 다만, 실시예는 본 발명을 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위를 하기 실시예로 한정하는 것은 아니다.

[0118] **<제조예>**

[0119] PMB(Poly(MPC-ran-BMA) 고분자 합성

[0120] 세포막 모방형 쌍성이온인 MPC(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine, KCI)를 소수성 모노머인 BMA(butyl methacrylate, TCI)와 함께 공중합시켜 랜덤 공중합체인 PMB 를 합성하였다.

[0121] PMB(Poly(MPC-ran-BMA) 고분자를 합성하기 위하여, 반응물을 하기의 투입비로 다음과 같이 합성하였다(표 1 참조).

표 1

[0123]

	MPC (mmol)	BMA (mmol)	Etnanol	Toluene	AIBN (mmol)
제조예	738.2 mg(2.5 mmol)	355.5 mg (2.5 mmol)	2500 μL	2500 μL	4.1 mg (0.025 mmol)

[0124] 에틸알코올 2500 μL 및 2500 μL 톨루엔 혼합 용매에 MPC 738.2 mg, BMA 355.5 mg, AIBN 4.1 mg을 첨가하였다. 상기혼합물에 고순도 알곤 기체를 10분 간 주입 후 반응기를 밀봉한 후 혼합물을 60 ℃ 실리콘 오일조에서 24시간 자력 교반하였다. 교반 후의 혼합물을 혼합물의 약 50배의 과량의 아세톤에 적가 후 여과하여 백색 가루를 수득한 뒤 이를 수용액에 분산 또는 용해시킨 후 동결 건조를 통해 다시 회수하였다.

[0126] 히알루론산(HA) 겔 제형 주사제 준비

[0127] 히알루론산 겔 제형을 조제하기 위하여, 반응물을 다음의 표 2와 같이 첨가하여 조제하였다(표 3 참조).

표 2

[0129]

	정제수	1N NaOH 수용액	HA(1,000,000 Da)	BDDE
제조예	750 ㎕	250 ㎕	100 mg	20 ㎕

[0130] 구체적으로, 정제수 750 ul에 1 N NaOH 수용액 250 ㎕, 수평균 분자량 1,000,000 Da로서 히알루론산(HA) 100 mg(hyaluronic acid, HA, Alfa Aesar)을 첨가하였다. 스페출러로 교반하여 HA를 완전히 용해시킨 후, 가교제로서 BDDE 20 ㎕을 첨가 후 혼합 및 밀봉 후 50 ℃의 수조에서 3시간 반응을 진행하여 겔 제형 혼합물을 수득하였다(HA 10% (w/v), 가교제 2% (w/v)). 정제수에 6시간 침적하여 팽윤된 겔을 35 ℃ 인산염완충식염수(PBS) 800 mL에 3일간 투석하여 산도가 중화된 겔을 회수하였다.

[0132] **<실시예>**

[0133] **실시예 1. 체내 부피 유지 제제 제조**

[0134] 실리콘 입자에 PMB 고분자 코팅

[0135] 실리콘 마이크로 입자의 표면에 PMB 를 코팅하기 위하여, 반응물을 다음의 표 2와 같이 첨가하여 조제하였다(표 3 참조).

[0136] 보다 구체적으로, 실리콘 소재로서 PDMS 1.1 g (주제로서 1.0 g, 경화제로서 0.1 g의 혼합물)을 상온의 진공 하에서 30분 간 탈포하였다. 상기 탈포된 실리콘 1.1 g에 정제수 10 mL, 분산제로서 PVP 250 mg, 생적합성 향상 코팅 물질로서 PMB 10 mg을 첨가하였다(PDMS 10% (w/v), PVP (polyvinylpyrrolidone) 2.5% (w/v), PMB 0.1% (w/v)).

표 3

[0138]

	PDMS	정제수	PVP	PMB
실시예	1.1 g	10 mL	250 mg	10 mg

[0139] 상기 혼합물에 초음파 발생기로 초음파를 발생시켜 5분 간 실리콘 입자를 분산시킨 후 다시 5분 간 보텍스(vortex)하여 재분산 시켰다. 반응기 직경의 75% 이상의 길이를 갖는 자력 교반막대를 넣어 1500 rpm의 회전속도로 상온에서 4일 간 교반하여 실리콘 입자가 분산된 채 경화된 혼합물을 수득하였다. 저속 원심분리-상등액 제거-정제수 재분산의 과정을 세 번 반복하여 50 ㎛ 미만의 크기를 갖는 입자를 제거하였다. 고속 원심분리 후 상등액 제거, 동결건조를 통해 응집된 형태의 실리콘 입자를 회수하였다(도 2 참조).

[0141] 체내 부피 유지 제제

[0142] 상기 조제된 겔 600 mL에 실리콘 마이크로입자 400 mL을 첨가하여 압착 및 교반하여 응집된 실리콘 마이크로입자가 풀어주는 동시에 겔을 적당한 크기로 으깨어 겔 내에 마이크로 입자를 분산시켜 주사용 체내 부피 유지 제

제를 제조하였다.

[0144] **<비교예>**

[0145] **비교예 1. PDMS 에 표면처리 안함**

[0146] PMB 고분자를 실리콘 입자에 코팅한 것을 제외하곤, 실시예 1과 동일한 체내 부피 유지 제제를 준비하였다.

[0148] **비교예 2. 히알루론산 필러 주입**

[0149] 성형시술에 사용되는 히알루론산 필러(dexsol, contackorea)를 준비하였다.

[0151] **<실험예>**

[0152] **실험예 1. 표면 단백질 흡착 특성 분석**

[0153] 실시예에서 제조한 PMB 고분자를 코팅한 실리콘 입자의 생체적합성을 in vitro 에서 간접적으로 확인하기 위하여, 형광표식된 단백질의 흡착 강도를 평가하였다. 실시예 1에서 PMB 고분자를 코팅한 실리콘 입자와 비교예 1의 실리콘 입자의 단백질 흡착 특성을 분석하였다. 그리고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0154] 도 3(a) 는 PMB 계면활성 고분자 용액에서 제조된 실리콘 마이크로 입자의 주사형 보형물 성상을 나타낸 도면이며, 도 3(b)는 상기 입자의 표면 단백질 흡착 특성을 분석한 결과를 나타내는 도면이다.

[0155] 도 3을 참조하면, PMB가 코팅되지 않은 실리콘 입자의 경우 많은 양의 단백질이 흡착된 것에 비해, PMB 용액에서 one-pot으로 제조된 실리콘 입자의 경우 표면에 단백질이 거의 흡착되지 않은 것을 확인할 수 있었다.

[0156] 이에 따라, 실시예 1에서 제조한 PMB 고분자를 코팅한 실리콘 입자는 생체적합성이 우수한 것으로 판단된다.

[0158] **실험예 2. 기간 내 부피변화 측정(주사주입 후 1주일 후)**

[0159] 실험동물

[0160] 본 실험에서는 생후 30일 이상된 무게 150-200 g 의 10마리의 rat을 사용하였으며, 실험동물 선정 및 관리 외과적 처치 등을 비롯한 모든 실험절차는 고려대학교 의료원 동물실험윤리위원회의 지침에 따라 시행하였다.

[0161] 사료 및 생활 조건이 일정하도록 하며, 동물실험실에서 1주일의 순응 과정을 거쳐 이상 징후가 없음을 확인한 후 실험을 진행하였다.

[0163] 실험 동물의 외과적 처치

[0164] 먼저, 각각의 rat에 알팍살론(alfaxalone)과 자일라진(Xylazine, Bayer Korea)을 근육주사하여 전신마취를 유도하였다. 그리고, 항생제인 엔프로락신(Enfloxacin) 과 진통제인 케토프로펜(Ketoprofen) 을 근육 내로 주사하였다.

[0166] 실험군의 설정

[0167] 실험동물을 하기와 같이 3 개의 그룹으로 나누어 처리하였다.

[0168] 그룹 1: 실시예 1의 체내 부피 유지 제제를 넣은 군(PDMS 에 PMPC 표면처리)

[0169] 그룹 2: 비교예 1의 체내 부피 유지 제제를 넣은 군(PDMS 에 표면처리 X)

[0170] 그룹 3: 실시예 2의 체내 부피 유지 제제를 넣은 군(히알루론산 필러)

[0172] 주사주입

[0173] 외과적 처치한 실험 동물에 18 gauge needle을 이용하여 주사제를 0.2 cc씩 주입하였다. 구체적으로, rat 의 항문 7시 방향에 관약근 내 5㎜ 깊이로 needle 을 삽입하였다. 천천히 주사 주입하여 주입 완료 후 30 초간 needle 을 빼지 않음으로써 주사제가 needle tract 를 따라 새는 것을 방지하였다.

[0175] 조직의 채취

[0176] 팽창성 제제 주사 주입 후 1주 후 rat을 CO_2 chamber에서 안락사 시켰다. 세 그룹에서 각각 2마리씩 조직 적출을 하였다. 구체적으로, 항문관과 전신장기(간, 폐, 신장, 림프절)의 조직을 적출하였다.

[0178] 항문 조직의 상태 분석

[0179] 팽창성 제제 주사 주입 후 1주 후 rat의 항문 조직의 상태를 분석하기 위하여 헤마토실린-에오신 염색법(hematoxylin-eosin staining; H&E staining)으로 조직학적 염색을 실시하였다.

[0180] 보다 구체적으로, 채취한 조직을 4% 파라포름알데하이드 고정액에 담가 24시간 동안 상온에서 고정하였다. 고정한 조직을 수세 후 디칼시피케이션 과정과 투명화 및 탈수화 과정을 거친 후 파라핀에 포매 하였다. 4 ㎛의 두께로 조직절편을 제작 한 후 60℃ 가열블락(Heating block)에 45분간 놓아 두어 탈파라핀화 하였다. Xylene 5분씩 3회, 100% Ethanol 5분씩 3회, 95% Ethanol 2분씩 2회, 70% Ethanol 2분씩 2회, 증류수로 2분씩 2회 과정을 순차적으로 시행하였다. 수화(hydration) 과정을 마친 조직절편을 1% 헤마톡실린용액 30초, 증류수 세척, 0.25% 염화수소 1초, 증류수 세척, 리튬카보네이트 발색을 순차적으로 진행하여 핵을 염색하였다. 에오신을 2초간 처리하여 세포질을 염색한 뒤 탈수와 투명화 후 봉입(mounting) 하여 현미경으로 관찰하였다. 아울러, 염증인자인 TNF-α 와 Masson's trichrome staining 를 처리하였다.

[0181] 그리고, 그 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4는 실험예 2에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 1주 후에 항문조직을 H&E 염색 후 광학 현미경으로 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교예 1, (c) 비교예 2).

[0183] 도 4를 참조하면, 실시예 1은 PDMS 에 PMPC 표면처리를 한 제제로써, 입자 크기가 200um 로 보존되며 전체 부피 변화를 보이지 않아 조직 내 흡수가 미약함을 확인였다. 그리고, 육아종성염증(granulomatous inflammation)은 거의 관찰되지 않았다(도 4(a)).

[0184] 비교예 1은 PDMS 에 표면처리를 하지 않은 제제로써, 입자 크기가 매우 감소하였으며, 전체 부피도 실시예 1을 주입한 군에 비해 20% 정도만 남아있어 주사제가 조직내 흡수가 많이 됨을 확인하였다. 주변 염증반응(multinucleated giant cell, lymphocyte, macrophage 등) 도 4(a)에 비해 더 많이 관찰되었다(도 4(b)).

[0185] 비교예 2는 성형시술에 쓰이는 필러 제제로써, 전체 부피가 실시예 1을 주입한 군에 비해 절반정도 감소하여 조직내 흡수가 실시예 1에 비해 많이 일어나지만 실시예 2 보다는 덜 일어났다. 아울러, 주변 염증 반응이 매우 심한 것을 확인할 수 있었다(도 4(c)).

[0187] 결론적으로, 실시예 1의 제제가 주변 염증 반응이 적고, 조직내 흡수가 거의 일어나지 않으며 입자 크기 변화도 적음을 확인할 수 있었다.

[0189] 전신장기 조직의 상태 분석

[0190] 실시예 1의 체내 부피 유지 제제를 넣은 그룹 1에 대하여 전시장기 조직의 상태 분석을 실시하였다.

[0191] 항문 조직의 상태 분석시 동일한 헤마토실린-에오신 염색법(hematoxylin-eosin staining; H&E staining)으로 전신장기(간, 폐, 신장 조직, 림프절) 조직학적 염색을 실시하였다.

[0192] 그리고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0193] 도 5는 실험예 2에서 실시예 1의 주사제를 주입한 그룹1의 1주 후에 전신조직을 H&E 염색 후 광학 현미경으로 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 폐 1, (b) 간, (c) 신장), (d) 림프절)

[0194] 도 5를 참조하면, 전신 장기에 고분자 화합물 관찰되지 않았으며, 미세한 염증반응도 관찰되지 않았다.

[0195] 이는, 실시예 1의 제제는 림프액이나 혈관을 따라 타장기로 이동하지 않는 것으로 판단된다.

[0197] **실험예 3. 기간 내 부피변화 측정(주사주입 후 4주일 후)**

[0198] 항문 조직의 상태 분석(H&E stain)

[0199] 동물실험실에서 4주일의 순응 과정을 거쳐 이상 징후가 없음을 확인한 후 실험을 진행하였으며, 실험예 1과 동일한 과정으로 실험을 진행하였다.

[0200] 팽창성 제제 주사 주입 후 4주 후 rat의 항문 조직의 상태를 분석하기 위하여 실험예 2에서와 동일한 방법으로 실험군의 항문 조직에 헤마토실린-에오신 염색법(hematoxylin-eosin staining; H&E staining)으로 조직학적 염색을 실시하였다.

[0201] 그리고, 그 결과를 도 6에 나타내었다. 도 6 은 실험예 3에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 4주 후에 항문조직을 H&E 염색 후 광학 현미경으로 각각 40배, 100배, 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교에 1, (c) 비교예 2).

[0203] 도 6(a)을 참조하면, 실시예 1은 PDMS 에 PMPC 표면처리를 한 제제로써, 전체 부피변화가 실험예 2의 결과(1 주차)와 차이가 없어 조직 내 흡수가 미약함을 확인하였다. 그리고, 육아종성염증(Granulomatous inflammation)은 거의 관찰되지 않았다.

[0204] 비교예 1은 PDMS 에 표면처리를 하지 않은 제제로써, 전체 부피도 실시예 1을 주입한 군에 비해 10% 정도만 남아있어, 주사제가 조직내로 흡수가 많이 됨을 확인하였다. 또한, 주변 염증반응 (multinucleated giant cell, lymphocyte, macrophage 등) 도 6(a) 에 비해 더 많이 관찰되었다(도 6(b)).

[0205] 비교예 2는 성형시술에 쓰이는 필러 제제로써, 전체 부피가 실시에 1을 주입한 군에 비해 10% 정도만 남아있어 조직 내 흡수가 많이 됨을 확인하였다. 아울러, 주변 염증세포 침착과 섬유 형성(fibrosis)이 매우 심한 것을 확인할 수 있었다(도 6(c)).

[0207] 결론적으로, PDMS 에 PMPC 표면처리를 한 제제(실시예 1)를 주입한 실험군은 1주차와 비교해서 부피 변화가 없어 조직내 흡수가 거의 일어나지 않으며 염증 반응도 PDMS 에 표면처리를 하지 않은 제제(비교예 1)에 비해 적음을 확인할 수 있었다. 성형 시술에 쓰이는 필러 제제는 매우 심한 염증세포들이 관찰되었다.

[0209] 항문 조직의 상태 분석(MT stain)

[0210] 실험군의 적출된 조직을 Masson's trichrome(MT) 염색법으로 염색하였다. 그리고, 광학현미경으로 관찰하였다. 그 결과를 도 7에 나타내었다. 도 7 은 실험예 3에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 4주 후에 항문조직에 MT stain 염색후 광학 현미경으로 40배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교에 1, (c) 비교예 2)

[0211] 도 7을 참조하면, 도 7(a)와 (b)는 섬유 형성(fibrosis) 차이가 작으나, 도 7(c) 에선 입자주위로 두꺼운 섬유막(fibrotic band)이 형성됨을 확인하였다.

[0213] 항문 조직의 상태 분석(TNF-α 면역염색)

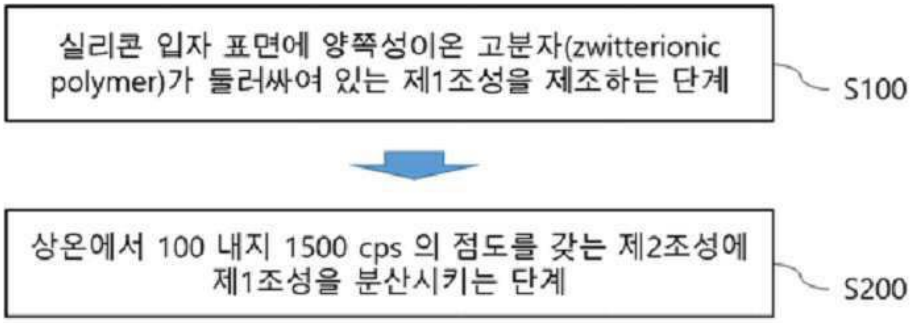
[0214] 실험군에서 발현되는 염증성 사이카인을 발현하는 세포를 분석하기 위하여 TNF-α 염색을 수행하였으며, 광학현미경으로 관찰하였다. 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0215] 도 8 은 실험예 3에서 3개의 그룹에 주사제를 주입하고 4주 후에 항문조직에 TNF-α 염색후 광학 현미경으로 40배, 100배, 100배 확대한 결과를 나타낸 도면이다((a) 실시예 1, (b) 비교예 1, (c) 비교예 2).

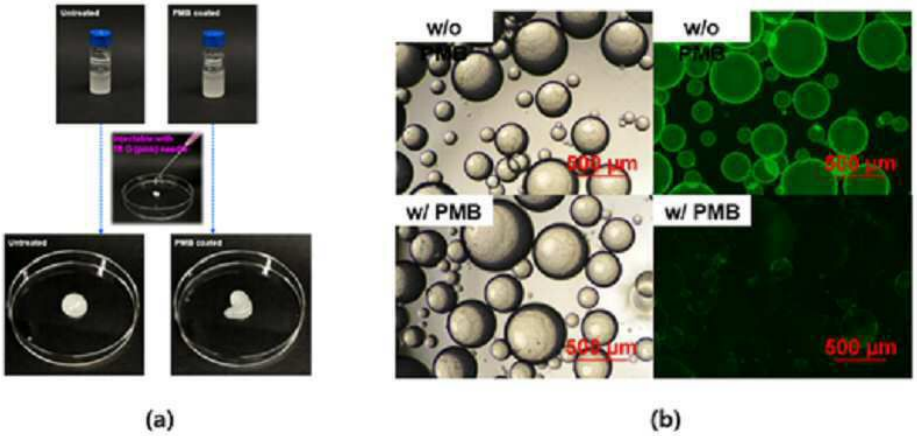
[0217] 도 8을 참조하면, 전체적으로 염색이 잘 안되는 경향을 보이나, 비교예에선 2를 주입한 실험군에서 강한 염색반응을 보이는 것을 확인하였다.

도면

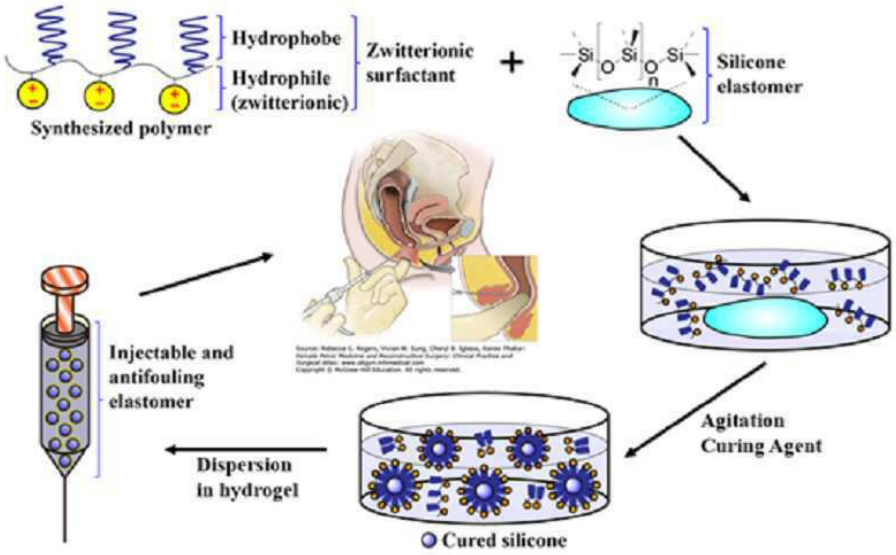
도면1



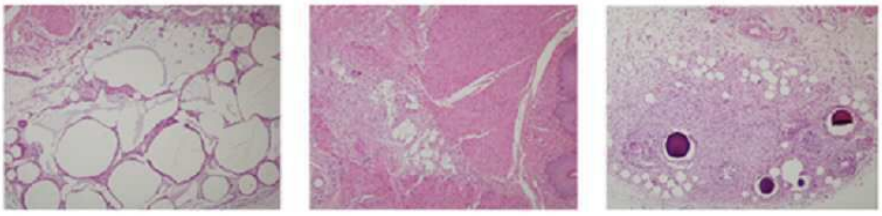
도면2



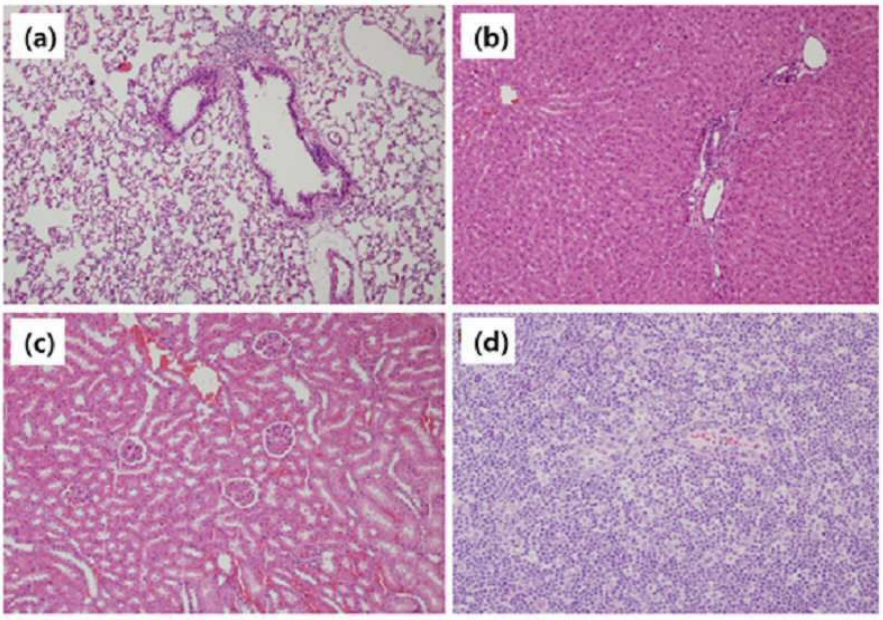
도면3


Hydrophobe
Hydrophile
(zwitterionic)
Zwitterionic
surfactant
Synthesized polymer
Silicone
elastomer
Injectable and
antifouling
elastomer
Dispersion
in hydrogel
Agitation
Curing Agent
Cured silicone

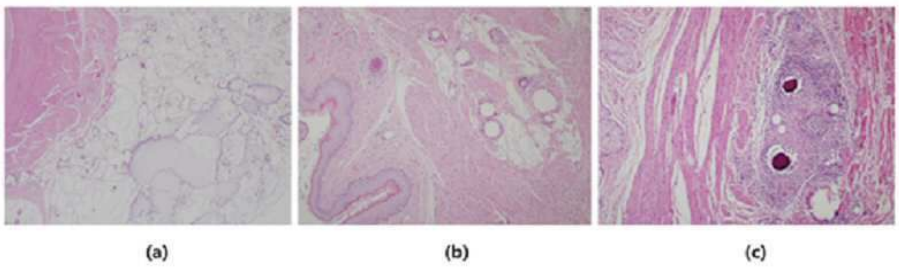
도면4


(a)
(b)
(c)

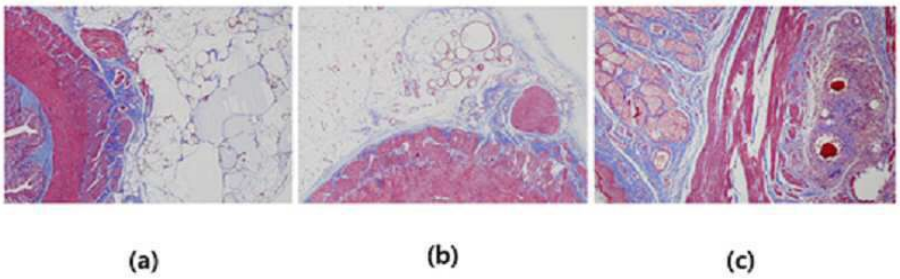
도면5


(a)
(b)
(c)
(d)

도면6



도면7



도면8

