

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0007071

(43) 공개일자 2021년01월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/70 (2006.01) A61K 31/573 (2021.01)

A61K 38/18 (2006.01) A61K 47/10 (2017.01)

A61K 47/36 (2017.01) C12N 5/071 (2010.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/7023 (2013.01)

A61K 31/573 (2021.01)

(21) 출원번호 10-2019-0082682

(22) 출원일자 2019년07월09일

심사청구일자 2019년07월09일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

조승우

서울특별시 서대문구 연세로 50, 연세대학교 공학원 347호

신지수

서울특별시 서대문구 연세로 50 제2공학관 B533호 (신촌동, 연세대학교)

최수정

서울특별시 서대문구 연세로 50 제2공학관 B533호 (신촌동, 연세대학교)

(74) 대리인

특허법인이름리온

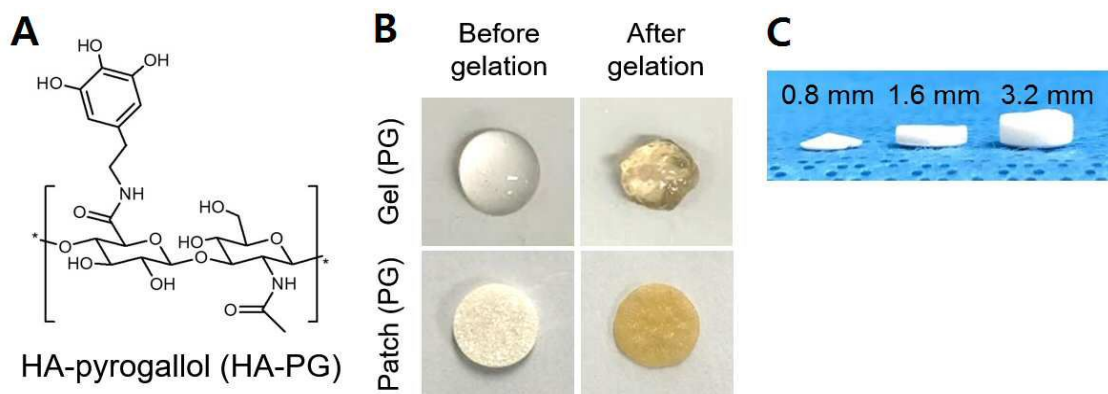
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 세포 이식 및 약물 전달용 하이드로젤 패치

(57) 요약

본 발명은 생체적합성 및 조직 접착력이 우수한 파이로갈롤 수식 생체적합성 고분자 하이드로젤 패치 및 이를 이용한 세포 이식, 조직 재생, 약물 전달 용도에 관한 것이다. 상기 파이로갈롤 수식 생체적합성 고분자 하이드로젤 패치는 용액 기반의 벌크 하이드로젤과 비교하여 현저히 우수한 기계적 물성 및 조직 접착력을 가지므로 체내에서 장기간 세포 및 약물을 담지하여 목적부위로 안전하고 효율적으로 전달할 수 있다. 또한, 별도의 산화제 없이 생체내 환경에서 자연산화되므로 실제 임상에서 간편하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 38/1808 (2013.01)
A61K 38/1866 (2013.01)
A61K 47/10 (2013.01)
A61K 47/36 (2013.01)
A61K 9/7007 (2013.01)
C12N 5/0697 (2013.01)
C12N 2533/30 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017R1A2B3005994
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	삼차원 세포 패터닝 미세자극 기반 심장 및 골격 근육세포 리프로그래밍 효율 증진

연구(2/3)

기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2018.03.01 ~ 2019.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2018M3A9H1021382
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오의료기술개발사업
연구과제명	간 조직 특이적 매트릭스와 마이크로 디바이스를 이용한 간 오가노이드 생산 플랫폼

개발(1/3,1단계)

기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2018.04.01 ~ 2018.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자로 이루어진 하이드로젤 패치.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 생체적합성 고분자는 히알루론산, 헤파린, 셀룰로스, 텍스트란, 알지네이트, 키토산, 키틴, 콜라겐, 젤라틴, 콘드로이틴황산 및 펙틴으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 하이드로젤 패치.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 생체적합성 고분자는 히알루론산인 것인 하이드로젤 패치.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 하이드로젤 패치는 0.05 내지 10.0 mm의 두께를 갖는 것인 하이드로젤 패치.

청구항 5

제1항의 하이드로젤 패치; 및

상기 하이드로젤 패치에 담지된 약물을 포함하는, 약물 전달체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 약물은 혈관내피 성장인자, 표피 성장인자, 각질세포 성장인자, 성장분화인자, 간세포 성장인자, 혈소판유래 성장인자, 형질전환 성장인자, 안지오프이에틴, 에리스로포이에틴, 골형성단백질, 인슐린성 성장인자, 섬유아세포성장인자, 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자, 뇌유래신경영양인자, 신경아교세포-유래 신경영양인자, 신경성장인자, 기저세포-유래 인자-1, 물질 P, 저산소증-유도 인자-1, 디코프-연관 단백질-1, 인터루킨, 켈르카리주맵, 니볼루맵, 아테졸리주맵, 이필리루맵, 블리나투모맵, 트라스투주맵, 세톡시맵 및 베바시주맵으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 약물 전달체.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 약물은 아세트메타신, 아크리바스틴, 알도스테론, 안타졸린, 아스테미졸, 아자타딘, 아젤라스틴, 베클로메타손, 베타메타손, 브로페낙, 부클리진, 카르프로펜, 세티리진, 클로로피릴린, 클로로페니라민, 클레마스틴, 크로몰린, 시클리진, 시프로헵타딘, 텍사메타손, 디아졸린, 디클로페낙, 디펜히드라민, 에바스틴, 에메다스틴, 에피나스틴, 에토돌락, 펜부펜, 페노프로펜, 펙소페나딘, 플루드로코르티손, 플루르비프로펜, 플루로메탈론, 히드록시진, 이부프로펜, 인도메타신, 케토프로펜, 케토롤락 트로메타딘, 케토티펜, 레보카바스틴, 레보세테리진, 로독사미드, 로라타딘, 로테프레드놀, 록소프로펜, 메트리손, 메피바카인, 메퀴타진, 메트딜라진, 메타피릴렌, 나부메톤, 나파졸린, 나프록센, 네도크로밀, 노라스테미졸, 노레바스틴, 올로파타딘, 페니다민, 페닐에프린, 옥사타미드, 옥시메타졸린, 페미롤라스트, 페니라민, 피쿠마스트, 프레드니실론, 프로메타진, 리멕살론, 레피리나스트, 몬테루카스트, 솔린닥, 수프로펜, 자퍼루카스트, 테트

라히도졸린, 테르페나딘, 티아프로펜산, 토메탐, 트라닐라스트, 트리암시놀론, 트리메프라진, 트리프롤리딘, 도네페질, 리바스티그민, 갈란타민, 메만틴, 리도카인, 케타민, 메토틱렉세이트, 사이클로스포린, 시스플라틴, 카페시타빈, 옥살리플라틴, 독소루비신, 미토마이신-C, 다우노마이신, 에피루비신, 타목시펜, 소라페닙, 5-플루오로우라실, 파클리탁셀, 텍시부프로펜, 피록시캄, 약제학적으로 허용되는 이들의 염 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 약물 전달체.

청구항 8

제1항의 하이드로젤 패치에 약물 또는 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는, 목적부위에 약물 또는 세포를 전달하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 약물은 혈관내피 성장인자, 표피 성장인자, 각질세포 성장인자, 성장분화인자, 간세포 성장인자, 혈소판유래 성장인자, 형질전환 성장인자, 안지오프로이에틴, 에리스로포이에틴, 골형성단백질, 인슐린성 성장인자, 섬유아세포성장인자, 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자, 뇌유래신경영양인자, 신경아교세포-유래 신경영양인자, 신경성장인자, 기저세포-유래 인자-1, 물질 P, 저산소증-유도 인자-1, 디코프-연관 단백질-1, 인터루킨, 펩티도글리칸, 니볼루맙, 아테졸리주맙, 이필리루맙, 블리나투맙, 트라스투주맙, 세톡시맙 및 베바시주맙으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 목적부위에 약물 또는 세포를 전달하는 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 약물은 아세트메타신, 아크리바스틴, 알도스테론, 안타졸린, 아스테미졸, 아자타딘, 아젤라스틴, 베클로메타손, 베타메타손, 브로페낙, 부클리진, 카르프로펜, 세티리진, 클로로피릴린, 클로로페니라민, 클레마스틴, 크로몰린, 시클리진, 시프로헵타딘, 텍사메타손, 디아졸린, 디클로페낙, 디펜히드라민, 에바스틴, 에메다스틴, 에피나스틴, 에토돌락, 펜부펜, 페노프로펜, 펙소페나딘, 플루드로코르티손, 플루르비프로펜, 플루로메탈론, 히드록시진, 이부프로펜, 인도메타신, 케토프로펜, 케토롤락 트로메타딘, 케토티펜, 레보카바스틴, 레보세테리진, 로독사미드, 로라타딘, 로테프레드놀, 록소프로펜, 메트리손, 메피마카인, 메퀴타진, 메트딜라진, 메타피릴렌, 나부메톤, 나파졸린, 나프록센, 네도크로밀, 노라스테미졸, 노레바스틴, 올로파타딘, 페니다민, 페닐에프린, 옥사타미드, 옥시메타졸린, 페미롤라스트, 페니라민, 피쿠마스트, 프레드니실론, 프로메타진, 리멕살론, 레피리나스트, 몬테루카스트, 숀린다, 수프로펜, 자퍼루카스트, 테트라히도졸린, 테르페나딘, 티아프로펜산, 토메탐, 트라닐라스트, 트리암시놀론, 트리메프라진, 트리프롤리딘, 도네페질, 리바스티그민, 갈란타민, 메만틴, 리도카인, 케타민, 메토틱렉세이트, 사이클로스포린, 시스플라틴, 카페시타빈, 옥살리플라틴, 독소루비신, 미토마이신-C, 다우노마이신, 에피루비신, 타목시펜, 소라페닙, 5-플루오로우라실, 파클리탁셀, 텍시부프로펜, 피록시캄, 약제학적으로 허용되는 이들의 염 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 목적부위에 약물 또는 세포를 전달하는 방법.

청구항 11

제8항에 있어서, 상기 세포는 줄기세포, 인간혈관내피세포, 골세포, 연골세포, 심근세포, 근육세포, 표피세포, 섬유아세포, 신경세포, 간세포, 장세포, 위세포, 피부세포, 지방세포, 혈액세포, 면역세포, 세포 스펙로이드 및 오가노이드로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 목적부위에 약물 또는 세포를 전달하는 방법.

청구항 12

(a) 일정 형태의 몰드를 제1항의 하이드로젤 패치로 감싸는 단계;

(b) 상기 하이드로젤 패치에 줄기세포를 접촉시키는 단계를 포함하는, 생체 조직을 모사한 구조체 형성 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 (b)의 줄기세포는 성체줄기세포, 배아줄기세포, 유도만능줄기세포, 지방조직 유래 줄기세포, 중간엽 줄기세포 또는 태반 유래 줄기세포인 것인, 생체 조직을 모사한 구조체 형성 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생체적합성 및 조직 접착력이 우수한 파이로갈롤 수식 생체적합성 고분자 하이드로젤 패치 및 이를 이용한 약물 전달 및 세포 이식 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 질병이나 사고에 의하여 손상된 조직 및 장기를 효과적으로 회복시키기 위해서는 생체 내외에 약물 및 세포를 효율적으로 전달할 수 있어야 한다. 이에 따라 약물 및 세포를 전달하기 위한 많은 연구가 진행되어 왔지만 실제 임상에 사용되어 만족할만한 수준의 치료 효과를 보이는 시스템은 아직까지 개발이 부족하다.

[0004] 세포 전달의 경우 기존에는 주로 직접 주사 방법이 사용되었으나, 이 방법은 주사할 때의 압력에 의해 세포가 파괴되고, 조직 손상 및 출혈의 위험성이 존재한다. 이 한계를 극복하기 위해 고분자 패치 기반 세포 전달 기술들이 개발되었으나 패치를 조직 표면 위에 부착시키기 위해서 여전히 봉합사(suture) 혹은 접착제(glue) 등을 추가적으로 사용해야 한다. 또한, 봉합에 의해 조직의 직접적 손상이 일어날 수 있고, 접착제 이용시에는 세포를 탑재한 패치와 조직 사이에 완전한 밀착이 이루어지지 못하여 손상 조직으로 세포 전달 효율이 크게 떨어지는 단점이 존재한다. 추가적인 치료로 인해 시술 시간 또한 길어질 수 있어 이로 인해 치료 효과가 절감되는 경우가 빈번히 발생한다.

[0005] 약물 전달의 경우 경구 투여와 같은 기존의 단순 투여 방식은 약물의 빠른 분해 및 확산으로 인해 약물 체류 시간이 짧은 문제점이 존재하며, 효과적인 치료를 위해서는 많은 양의 약물을 주입하거나 약물 주입 빈도가 높아질 수 밖에 없었다.

[0006] 기존의 약물 및 세포 전달 방법의 문제를 해결하기 위해 하이드로젤을 이용한 전달 방법에 관한 연구가 진행되었으나 대부분이 하이드로젤 용액에 약물 또는 세포를 탑재하고 가교시켜 젤 형성을 유도하는 방식에 관한 연구였다. 그러나 상기 방식은 하이드로젤을 생체에 주입하는 형태로 적용되기 때문에 하이드로젤을 다루는 사용자의 숙련도에 따라 결과가 달라질 가능성이 많고 사용자의 편의성이 크게 떨어지는 문제가 있다. 또한, 주사를 통하여 생체 내로 주입되기 때문에 조직 손상 및 출혈의 위험성이 여전히 존재하고, 기존의 하이드로젤은 물성 및 접착력이 생체 내에서 장기간 유지되기에는 부족한 경우가 많았다.

[0007] 상기 종래 기술의 한계를 극복하기 위하여 본 발명자들은 파이로갈롤로 수식된 히알루론산 유도체를 동결건조시켜 약물 및 세포 전달 효율과 사용자 편의성이 우수하고, 산화제가 불필요하여 임상 적용에 유리한 하이드로젤 패치를 제작하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 생체적합성, 접착력, 기계적 물성 및 사용편의성이 우수한 하이드로젤 패치 및 이를 이용한 세포 이식, 약물 전달 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 양상은 파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자로 이루어진 하이드로젤 패치를 제공한다.
- [0012] 본 명세서에 사용된 용어, "하이드로젤 패치(hydrogel patch)"는 생체적합성 고분자로 이루어진 일정 두께를 갖는 얇은 막 형태의 구조물을 말하며, 원하는 형태로 잘라서 사용할 수 있는 장점이 있다.
- [0013] 본 명세서에 사용된 용어, "파이로갈롤(pyrogallol)"은 히드록시기(-OH) 세 개가 인접 위치한 1,2,3-트리하이드록시벤젠(trihydroxybenzene)으로 산화반응에 의해서 여러가지 작용기(functional group)와 공유 가교(cross-linking)를 형성한다. 특히 빠르게 산화되는 특성으로 인해 인체 내와 같이 산소 농도가 높은 환경에서는 산화제 처리 없이 자연산화가 수 분내로 이루어질 수 있으므로 하이드로젤 패치를 실제 임상에 적용할 때 별도의 산화제 처리 없이 바로 적용이 가능한 장점이 있다.
- [0014] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 생체적합성 고분자는 히알루론산, 헤파린, 셀룰로스, 텍스트란, 알지네이트, 키토산, 키틴, 콜라겐, 젤라틴, 콘드로이틴황산 및 펙틴으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으며, 바람직하게는 히알루론산이다.
- [0015] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자로 이루어진 하이드로젤 패치(이하, 하이드로젤 패치로 기재함)는 파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자로 이루어진 용액 기반 하이드로젤(이하, 벌크 하이드로젤로 기재함)과 비교하여 나노섬유 기반의 다공성 구조를 가지고, 팽윤성이 뛰어나므로 생체내 환경에서도 패치 내에 세포 또는 약물을 효과적으로 담지할 수 있다. 또한, 하이드로젤 패치는 벌크 하이드로젤보다 탄성력, 기계적 물성, 조직 접착력이 우수하므로 생체내 조직에 줄기세포, 오가노이드 등의 세포를 효과적으로 전달할 수 있다.
- [0016] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 하이드로젤 패치는 0.05 내지 10.0 mm의 두께를 가질 수 있으며, 바람직하게는 0.1 내지 5.0 mm의 두께를 가질 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 하이드로젤 패치는 하기 단계로 제조될 수 있다:
- [0018] (a) 평평한 표면에 파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자 용액을 고르게 붓는 단계; 및
- [0019] (b) 상기 용액을 영하 0.5℃ 내지 영하 100℃에서 5시간 내지 48시간 동안 동결시키는 단계.
- [0020] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 (a)는 8 mm 원통 몰드에 HA-PG 용액을 40, 80 또는 160 μ l씩 붓는 방식으로 이루어질 수 있으며, 상기 HA-PG 용액은 0.1 내지 5% 농도, 바람직하게는 0.5 내지 3% 농도로 사용될 수 있다. 상기 HA-PG 용액의 용량은 각각 0.8, 1.6 또는 3.2 mm 두께의 하이드로젤 패치를 만들기 위한 것으로 본 발명의 HA-PG 하이드로젤 패치는 두께를 손쉽게 조절할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 (b)는 파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자 용액을 영하 0.5℃ 내지 영하 100℃에서 5시간 내지 48시간 동안 동결건조시키거나, 바람직하게는 영하 50℃ 내지 영하 100℃에서 12시간 내지 36시간 동안 동결건조시키는 방법으로 이루어질 수 있다. 파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자 용액을 동결건조시키면 용액의 부피가 축소하면서 일정한 두께를 갖는 얇은 막 형태의 패치가 만들어진다.
- [0023] 본 발명의 다른 양상은 상기 하이드로젤 패치 및 하이드로젤 패치에 담지된 약물을 포함하는 약물 전달체를 제공한다.
- [0024] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 약물은 성장인자와 같은 단백질일 수 있으며, 예를 들어 혈관내피 성장인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 표피 성장인자 (epidermal growth factor, EGF), 각질세포 성장인자 (keratinocyte growth factor, KGF), 성장분화인자 (growth and differentiation factor), 간세포 성장인자 (hepatocyte growth factor, HGF), 혈소판유래 성장인자 (platelet-derived growth factor, PDGF), 형질전환 성장인자 (transforming growth factor, TGF), 안지오포이에틴 (angiopoietin), 에리스로포이에틴 (erythropoietin), 골형성단백질 (bone morphogenic protein, BMP), 인슐린성 성장인자 (insulin-like growth factor), 섬유아세포성장인자 (acidic and basic fibroblast growth factor), 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), 뇌유래신경영양인자 (brain-derived neurotrophic factor), 신경아교세포-유래 신경영양인자 (glial cell-derived neurotrophic factor), 신경성장인자 (nerve growth factor), 기저세포-유래 인자-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1), 물질 P (substance P, SP), 저산소증-유도 인자-1 (Hypoxia-inducible factor-1, HIF-1), 디코프-연관 단백질-1

(Dickkopf-related protein-1, DKK-1), 인터루킨 (interleukin), 펌브롤리주맙 (Pembrolizumab; 제품명 키트루다(Keytruda)), 니볼루맙(nivolumab; 제품명 옵디보(Opdivo)), 아테졸리주맙(atezolizumab; 제품명 티센트릭(Tecentriq)), 이필리무맙(Ipilimumab; 제품명 여보이(Yervoy)), 블리나투모맙(blinatumomab; 제품명 블린사이토(Blinicyto)), 트라스투주맙 (trastuzumab; 제품명 허셉틴(Herceptin)), 세톡시맙 (cetuximab; 제품명 얼비투스(Erbitux)) 및 베바시주맙(bevacizumab; 제품명 아바스틴(Avastin))으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0025] 또한, 상기 약물은 아세메타신 (acemethacin), 아크리바스틴 (acrivastine), 알도스테론 (aldosterone), 안타졸린 (antazoline), 아스테미졸 (astemizole), 아자타딘 (azatadine), 아젤라스틴 (azelastine), 베클로메타손 (beclomethasone), 베타메타손 (betamethasone), 브로페낙 (bromfenac), 부클리진 (buclicizine), 카르프로펜 (carprofen), 세티리진 (cetirizine), 클로로피릴린, 클로르페니라민 (chlorpheniramine), 클레마스틴 (clemastine), 크로몰린 (cromolyn), 시클리진 (cyclizine), 시프로헵타딘 (cyproheptadine), 덱사메타손 (dexamethasone), 디아졸린 (diazolinum), 디클로페낙 (diclofenac), 디펜히드라민 (diphenhydramine), 에바스틴 (ebastine), 에메다스틴 (emedastine), 에피나스틴 (epinastine), 에토돌락 (etodolac), 펜부펜 (fenbufen), 페노프로펜 (fenoprofen), 펙소페나딘 (fexofenadine), 플루드로코르티손 (fludrocortisone), 플루르비프로펜 (flurbiprofen), 플루로메탈론 (fluorometholone), 히드록시진 (hydroxyzine), 이부프로펜 (ibuprofen), 인도메타신 (indomethacin), 케토프로펜 (ketoprofen), 케톨락 트로메타민 (ketorolac tromethamine), 케토티펜 (ketotifen), 레보카바스틴 (levocabastine), 레보세티리진 (levocetirizine), 로독사미드 (lodoxamide), 로라타딘 (loratadine), 로테프레드놀 (loteprednol), 록소프로펜 (loxoprofen), 메드리손 (medrysone), 메피바카인 (mepivacaine), 메퀴타진 (mequitazine), 메트딜라진 (methdilazine), 메타피릴렌 (metapyrilene), 나부메톤 (nabumetone), 나파졸린 (naphazoline), 나프록센 (naproxen), 네도크로밀 (nedocromil), 노라스테미졸 (norastemizole), 노레바스틴 (norebastine), 올로파타딘 (olopatadine), 페니다민 (fenidamin), 페닐에프린 (phenylephrine), 옥사토마이드(oxatamide), 옥시메타졸린 (oxymetazoline), 페미롤라스트 (pemirolast), 페니라민 (peniramin), 피쿠마스트 (picumast), 프레드니솔론 (prednisolone), 프로메타진 (promethazine), 리멕솔론 (rimexolone), 레피리나스트 (leprinast), 몬테루카스트 (montelukast), 숀린닥 (sulindac), 수프로펜 (suprofen), 자피루카스트 (zafirlukast), 테트라하이드로졸린 (tetrahydrozoline), 테르페나딘 (terfenadine), 티아프로펜산 (tiaprofenic acid), 토메탐, 트라닐라스트 (tranilast), 트리암시놀론 (triamcinolone), 트리메프라진 (trimeprazine), 트리프로리딘 (triprolidine), 도네페질 (donepezil), 리바스티그민 (rivastigmine), 갈란타민 (galantamine), 메만틴 (memantine), 리도카인 (lidocaine), 케타민 (ketamine), 메토티렉세이트 (methotrexate), 사이클로스포린 (cyclosporine), 시스플라틴 (cisplatinum), 카페시타빈 (capecitabine), 옥살리플라틴 (Oxaliplatin), 독소루비신 (doxorubicin; 제품명 아드리아마이신 (Adriamycin)), 미토마이신-C (mitomycin-C), 다우노마이신 (daunomycin), 에피루비신 (epirubicin), 타목시펜 (tamoxifen), 소라페닙 (sorafenib), 5-플루오로우라실 (5-fluorouracil), 파클리탁셀 (paclitaxel), 덱시부프로펜 (dexibuprofen), 피록시캠 (poroxicam), 약제학적으로 허용되는 이들의 염 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 약물일 수 있다.

[0026] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 하이드로젤 패치에 약물을 담지하는 방법은 파이로갈롤로 수식된 생체적합성 고분자 용액과 약물을 혼합시킨 후 동결건조시켜 하이드로젤 패치를 제조하는 방법을 사용할 수 있다.

[0027] 본 발명자들은 HA-PG 하이드로젤 패치를 사용하여 당뇨가 유발된 마우스의 창상에 PDGF를 도입하고, 상처 치료 효과를 확인하였다. 그 결과, PDGF를 HA-PG 고분자 용액에 미리 혼합하고 동결건조하여 제작한 HA-PG 하이드로젤 패치와 패치 제작 후 PDGF를 가교시킨 HA-PG 하이드로젤 패치 사이에 상처 치료 효과에 차이가 없는 것을 확인하였다. 또한, HA-PG 벌크 하이드로젤과 비교하여 HA-PG 하이드로젤 패치를 이용하여 PDGF를 전달한 경우에 상처 치료 효과가 더 우수한 것을 확인하였다.

[0029] 본 발명의 다른 양상은 상기 하이드로젤 패치에 약물 또는 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 목적부위에 약물 또는 세포를 전달하는 방법을 제공한다:

[0030] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 목적부위에 약물 또는 세포를 전달하는 방법은 i) 목적부위에 하이드로젤 패치를 부착시킨 후 약물 또는 세포를 접촉시키거나, ii) 하이드로젤 패치에 약물 또는 세포를 접촉시킨 후 목적부위에 하이드로젤 패치를 부착시키는 방식으로 이루어질 수 있다.

[0031] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 약물은 약물 전달체에 사용된 것과 동일한 약물을 사용할 수 있으며, 상기 세포는 줄기세포, 인간혈관내피세포, 골세포, 연골세포, 심근세포, 근육세포, 표피세포, 섬유아세포, 신경세포,

간세포, 장세포, 위세포, 피부세포, 지방세포, 혈액세포, 면역세포, 세포 스페로이드 및 오가노이드로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0032] 본 명세서에 사용된 용어, "세포 스페로이드(cell spheroid)"는 다수의 단일세포들이 모여 형성된 구 형태의 3차원 세포집합체를 의미한다.

[0033] 본 명세서에 사용된 용어, "오가노이드(organoid)"는 줄기세포로부터 자가 재생 및 자가 조직화를 통해 형성된 3차원 세포집합체(장기 유사체)를 의미하며, 줄기세포에는 성체줄기세포(adult stem cell, ASC), 배아줄기세포(embryonic stem cell, ESC), 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cell, iPSC), 지방조직 유래 줄기세포(adipose derived stem cell, ADSC), 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC) 또는 태반 유래 줄기세포(placental derived stem cell, PDSC) 등이 사용될 수 있다. 줄기세포를 인체내 환경을 모방하여 3차원으로 배양하므로 인체의 생리활성 기능을 유사하게 재현할 수 있고, 환자의 조직으로부터 장기유사체를 구축함으로써 환자의 유전정보를 기반으로 한 질병 모델링, 약물 스크리닝 등을 가능하게 한다.

[0035] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 약물 전달체, 또는 목적 부위에 약물 또는 세포를 전달하는 방법은 알츠하이머, 뇌졸중 (stroke), 파킨슨병, 뇌전증 (epilepsy), 뇌출혈, 뇌경색, 뇌종양, 뇌수막염, 척수손상, 피부창상, 습진, 아토피, 대상포진, 무좀(피부사상균증), 지루성피부염, 욕창, 건선, 봉소염, 모낭염, 수족구병, 한포진, 사마귀, 티눈, 위장 손상, 위 궤양, 십이지장 궤양, 궤양대장염, 크론병, 골 결손, 골다공증, 연골 파열, 연골 연화증, 근육 손상, 인대/건 손상, 근막염, 골수염유증, 관절염, 그레이브스병 (Grave's disease), 루푸스, 백내장, 녹내장, 황반변성, 망막 손상, 간 경변증, 알코올성 간질환(지방간), 간경화, 신부전, 규폐증(silicosis), 낭종성 폐질환, 폐쇄성 폐질환, 만성 폐질환, 폐렴, 폐섬유증, 낭포성 섬유증, 편도결석, 기관지확장증, 기관협착, 성대/후두 결절, 치주염, 구내염, 구순포진, 고지혈증, 고콜레스테롤혈증, 이상지질혈증, 말초혈관병, 하지허혈, 동맥경화, 심근섬유증, 심근경색, 심근병증, 심부전, 협심증, 담도염, 췌장염, 위염, 역류성 식도염, 식도협착증, 식도게실 (esophagus diverticula), 식도근종, 특발성 식도확장증, 플러머-빈슨증후군 (Plummer-Vinson syndrome), 식도정맥류, 간염, 중이염, 기관지염, 갑상선염, 결막염, 혈관염, 편도선염, 척추염, 신우신염, 방광염, 염좌, 늑막염, 갑상선암, 난소암, 자궁경부암, 폐암, 위암, 간암, 유방암, 다발성골수종, 소화기암, 췌장암, 담석증, 담낭암, 담도암, 대장암, 전립선암, 림프종, 골연부조직암, 두경부암, 혈액암, 식도암, 골육종, 후두암, 당뇨병, 당뇨병 족부궤양, 당뇨병 망막변증, 당뇨병콩팥병증, 당뇨병신경병증 또는 비만의 치료 및 개선에 사용될 수 있다.

[0037] 본 발명의 또 다른 양상은

[0038] (a) 일정 형태의 물드를 제1항의 하이드로젤 패치로 감싸는 단계;

[0039] (b) 상기 하이드로젤 패치에 줄기세포를 접촉시키는 단계를 포함하는, 생체 조직을 모사한 구조체 형성 방법을 제공한다.

[0040] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 생체 조직을 모사한 구조체 형성 방법은 (a) 및 (b)의 단계를 1회 내지 복수회 반복하는 방법일 수 있다.

[0041] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 (b)의 줄기세포는 성체줄기세포, 배아줄기세포, 유도만능줄기세포, 지방조직 유래 줄기세포, 중간엽 줄기세포 또는 태반 유래 줄기세포일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0042] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 (b)는 하이드로젤 패치에 줄기세포를 포함하는 용액을 도포하는 방법으로 이루어질 수 있다.

[0043] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 상기 생체 조직은 혈관, 피부 또는 간일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

발명의 효과

[0045] 본 발명의 파이로갈로로 수식된 생체적합성 고분자 하이드로젤 패치는 용액 기반의 벌크 하이드로젤과 비교하여 현저히 우수한 기계적 물성, 접착력을 가지므로 체내에서 장시간 동안 세포 및 약물을 담지할 수 있고, 조직의 손상 없이 상기 세포 및 약물을 안전하고 효율적으로 체내로 전달할 수 있다. 또한, 파이로갈로로 수식 생체적합

성 고분자 하이드로젤 패치는 일정한 두께의 얇은 막 형태이므로 벌크 하이드로젤과 비교하여 다루기가 용이하고, 원하는 모양으로 자를 수 있어 사용이 편리하며, 별도의 산화제 없이 생체내 환경에서 자연산화되므로 실제 임상에서 간편하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0047]

도 1에서 A는 파이로갈롤로 수식된 히알루론산(HA-PG)의 분자 구조를 보여주고, B는 HA-PG 하이드로젤 패치 및 HA-PG 벌크 하이드로젤을 겔화(gelation)시킨 형태, C는 두께가 상이한 HA-PG 하이드로젤 패치를 보여준다.

도 2는 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG))와 HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG))의 세포독성 여부를 확인한 결과이다.

도 3은 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG))와 HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG))의 팽윤도(A 및 B) 및 히알루론산 분해 효소에 의한 분해 정도(C)를 확인한 결과이다.

도 4는 주사 전자 현미경으로 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG))와 HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG))의 내부 구조를 확인한 결과이다.

도 5는 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG))와 HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG))의 기계적 강도(A 및 B), HA-PG 패치의 두께에 따른 탄성계수(C)를 확인한 결과이다.

도 6은 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG))와 HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG))의 조직 접착력(A 및 B) 및 부착 일(C)을 확인한 결과이다.

도 7은 HA-PG 하이드로젤 패치를 사용하여 소장(A), 간(B), 신장(C) 및 위(D)에 줄기세포를 이식한 후 줄기세포의 생착 여부를 확인한 결과이다.

도 8은 HA-PG 하이드로젤 패치를 사용하여 소장에 형광으로 표지된 오가노이드를 이식하는 개략적인 과정(A), 오가노이드를 이식한 소장(B), 간(C) 및 위(D)에서 오가노이드의 부착 여부를 확인한 결과이다.

도 9는 당뇨병 마우스 창상 모델에 HA-PG 하이드로젤 패치와 인간 지방 유래 줄기세포(human adipose derived stem cell, hADSC)를 적용한 후 시간 경과에 따른 창상의 크기 변화를 확인한 결과이다.

도 10은 당뇨병 마우스 창상 모델에 HA-PG 하이드로젤 패치와 hADSC를 적용한 후 창상 부위의 모낭 재생(A) 및 콜라겐 생성(B 및 C) 수준을 확인한 결과이다.

도 11은 당뇨병 마우스 창상 모델에 HA-PG 하이드로젤 패치와 혈소판유래 성장인자(platelet-derived growth factor, PDGF)를 적용한 후 시간 경과에 따른 창상 치료 효과를 확인한 결과이다.

도 12는 HA-PG 하이드로젤 패치로 생체내 조직과 유사한 다층 구조를 제작한 후 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048]

이하 하나 이상의 구체예를 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0050]

제조예

[0051]

1. HA-PG 하이드로젤 패치 제작

[0052]

파이로갈롤이 수식된 히알루론산(pyrogallol-functionalized hyaluronic acid; 이하, HA-PG로 기재함)을 증류수에 1% 농도로 용해시키고, 8 mm 원통 몰드에 상기 1% HA-PG 용액을 각각 40, 80 또는 160 μ l씩 부은 후 -80°C 에서 하룻밤 동안 동결건조시켜 0.8, 1.6, 3.2 mm 두께의 HA-PG 하이드로젤 패치를 제작하였다. 제작된 HA-PG 하이드로젤 패치는 건조된 상태이므로 보관이 용이하고, 얇은 막 형태이므로 원하는 모양으로 용이하게 자를 수 있어 사용이 간편하다.

[0053]

이전 실험에서, HA-PG의 농도가 1%보다 높은 경우 하이드로젤 패치가 너무 단단하여 세포 및 약물이 하이드로젤 패치 내부로 효과적으로 침투하지 못하였고, 낮은 경우에는 하이드로젤 패치의 구조가 충분히 유지되지 못해 세

포 및 약물이 손실되었다. 또한, 하이드로젤 패치가 지나치게 두꺼우면 세포 및 약물이 패치 내부로 효과적으로 침투하지 못하고, 너무 얇으면 하이드로젤 패치를 다루기 어려우며, 하이드로젤 패치의 구조가 오랜 시간 유지되지 못하는 단점이 있다. 실시예 1 내지 3에서는 1.6 mm 두께의 HA-PG 하이드로젤 패치를 사용하였다.

2. HA-PG 벌크 하이드로젤 제작

HA-PG를 인산완충생리식염수(Phosphate-buffered saline, PBS)에 용해시키고, 이 용액에 과요오드산 나트륨 용액을 첨가(HA-PG 용액:산화제 용액 = 3:1 (v/v))하여 HA-PG 벌크 하이드로젤을 제작하였다. 완성된 HA-PG 벌크 하이드로젤에서 HA-PG의 최종 농도는 1%이며, 제작한 HA-PG 벌크 하이드로젤은 구조 분석에 사용하였다.

세포 이식 및 약물 전달 실험에는 과요오드산 나트륨 용액을 처리하지 않은 HA-PG 벌크 하이드로젤을 사용하여 체내에서 자연산화가 이루어지도록 하였다.

도 1에서 A는 HA-PG의 분자 구조를 보여주고, B는 HA-PG 하이드로젤 패치 및 HA-PG 벌크 하이드로젤을 겔화(gelation)시킨 형태, C는 두께가 상이한 HA-PG 하이드로젤 패치를 보여준다.

실시예 1: HA-PG 하이드로젤 패치의 특성 분석

1-1. 세포독성 확인

6-웰 세포 배양 플레이트의 바닥에 상기 제조예에서 제작한 HA-PG 하이드로젤 패치 또는 HA-PG 벌크 하이드로젤을 놓고 인간 지방 유래 줄기세포(human adipose derived stem cell, hADSC)를 분주하여 7일 동안 배양하였다. 배양 0일, 3일 및 7일 차에 Live/Dead assay (Invitrogen; 미국)를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 세포 생존율을 확인하였다.

그 결과, HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG)) 및 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch (PG)) 모두 세포 독성이 없는 것을 확인할 수 있었다(도 2). 이 결과는 HA-PG 벌크 하이드로젤의 제형을 HA-PG 하이드로젤 패치로 변형하여도 히알루론산의 생체적합성은 그대로 유지됨을 의미한다.

1-2. 팽윤도(swelling) 및 분해 속도 확인

생체내 조건과 유사한 37℃의 PBS에 HA-PG 하이드로젤 패치 또는 HA-PG 벌크 하이드로젤을 7일 동안 담그고, 9시간, 1일, 3일 및 7일 후에 팽윤도를 측정하였다. 측정 결과, HA-PG 하이드로젤 패치의 팽윤도가 HA-PG 벌크 하이드로젤보다 약 2배 정도 낮은 것을 알 수 있었으며(도 3의 A 및 B), 이 결과는 HA-PG 하이드로젤 패치가 HA-PG 벌크 하이드로젤보다 더 조밀한 내부 구조를 가지고 있음을 보여준다.

또한, 실제 생체내 환경은 다양한 분해효소가 존재하므로 37℃의 PBS에 HA-PG 하이드로젤 패치 또는 HA-PG 벌크 하이드로젤을 담그고, 분해될 때까지 히알루론산 분해효소를 처리하였다. 일정 시간마다 HA-PG 하이드로젤 패치 및 HA-PG 벌크 하이드로젤의 무게를 측정하여 시간 경과에 따른 분해 정도를 측정하였다. 측정 결과, HA-PG 벌크 하이드로젤은 히알루론산 분해효소를 처리한 후 빠르게 분해되어 24시간 이전에 완전히 분해되나, HA-PG 하이드로젤 패치는 히알루론산 분해효소 처리 600시간 이후에도 남아 있어 효소에 의한 분해 속도가 느린 것을 알 수 있었다(도 3의 C).

1-3. 내부 구조 확인

주사 전자 현미경을 사용하여 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG)) 및 HA-PG 벌크 하이드로젤 (Gel(PG))의 내부 구조를 확인하였다. 그 결과, HA-PG 벌크 하이드로젤은 마이크로미터(μm) 크기의 다공성 구조를 갖는 반면, HA-PG 하이드로젤 패치는 좀더 조밀한 나노섬유 기반의 다공성 구조를 나타내는 것을 확인할 수 있었다(도 4).

이 결과는 HA-PG 벌크 하이드로젤보다 HA-PG 하이드로젤 패치가 더 조밀한 내부 구조를 형성할 수 있고, 파이로갈룰로 수식된 고분자의 표면적이 크게 증가되어 기계적 물성과 접착능이 우수할 수 있음을 의미한다.

[0073] **1-4. 기계적 강도 측정**

[0074] 레오미터를 사용하여 주파수 0.1 내지 10 Hz 사이에서 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG))와 HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG))의 탄성계수를 측정하였다.

[0075] 측정 결과, HA-PG 하이드로젤 패치와 HA-PG 벌크 하이드로젤 모두 G' 수치가 G'' 수치보다 높은 것으로 나타나 내부 구조가 안정적인 고분자 네트워크로 구성된 것을 확인할 수 있었다(도 5의 A). 또한, HA-PG 벌크 하이드로젤의 평균 탄성계수는 약 1.5 kPa인 반면, HA-PG 하이드로젤 패치의 탄성계수는 약 18 kPa로 나타나 탄성계수가 약 10배 이상 증가한 것을 알 수 있었다(도 5의 B). 상기 제조예 1에서 제작한 두께가 다른 HA-PG 하이드로젤 패치의 탄성계수를 측정한 결과, 패치의 두께가 증가함에 따라 탄성계수가 5 kPa에서 27 및 46 kPa로 현저하게 증가하는 것을 알 수 있었으며(도 5의 C), 탄성계수가 증가하는 것은 기계적 강도가 우수해지는 것을 의미한다.

[0076] 상기 실험 결과는 HA-PG 벌크 하이드로젤과 비교하여 HA-PG 하이드로젤 패치의 기계적 강도가 현저히 우수하고, HA-PG 하이드로젤 패치는 두께를 조절함으로써 기계적 강도를 용이하게 조절할 수 있음을 의미한다.

[0078] **1-5. 조직 접착력 측정**

[0079] 마우스의 등쪽 부위 피부를 절개하여 HA-PG 하이드로젤 패치(Patch(PG)) 또는 HA-PG 벌크 하이드로젤(Gel(PG))을 올린 후 체내 용존 산소로 인한 자연산화 방식으로 패치의 가교(부착)를 유도하였다. 자연산화를 통한 가교가 완전히 진행된 후(약 5분 이내) 피부 조직을 적출하고 택 테스트(Tack test) 방법으로 피부 조직에서 HA-PG 벌크 하이드로젤 또는 HA-PG 하이드로젤 패치를 떼어내는 힘을 측정하여 조직 부착력을 비교하였다.

[0080] 측정 결과, HA-PG 벌크 하이드로젤은 약 1.6 N의 접착력을 가지는 반면, HA-PG 하이드로젤 패치는 약 4 N의 접착력을 보여 조직 접착력이 2.5배 이상 향상되는 것을 알 수 있었다(도 6의 A 및 B).

[0081] 또한, 접착력-인장길이 그래프(도 6의 A)의 면적을 측정하여 피부에 부착된 HA-PG 벌크 하이드로젤 또는 HA-PG 하이드로젤 패치를 분리하는데 필요한 일의 양(부착일)을 계산하였다. 그 결과, HA-PG 하이드로젤 패치의 조직 부착일이 HA-PG 벌크 하이드로젤보다 2.5배 이상 증가하는 것을 알 수 있었다(도 6의 C).

[0083] **실시예 2: HA-PG 하이드로젤 패치의 세포 이식 효능**

[0084] **2-1. 줄기세포 이식**

[0085] 마우스를 마취시킨 후 개복하여 소장, 간, 신장 및 위에 HA-PG 하이드로젤 패치를 올리고, DiI 형광이 표시된 hADSC를 떨어뜨린 후 봉합하였다. 24시간 후 마우스를 희생시켜 신장, 간 및 장을 분리하고, HA-PG 하이드로젤 패치의 부착 여부를 육안으로 확인한 후 hADSC의 생착 여부를 관찰하였다. 그 결과, 24시간 후에도 수분이 많은 장기 표면에 HA-PG 하이드로젤 패치가 잘 부착되어 있는 것을 알 수 있었으며, 조직 염색 결과를 통해서도 소장, 간, 신장 및 위에 HA-PG 하이드로젤 패치가 부착되어 있고, hADSC 또한 부착되어 있는 것을 확인할 수 있었다(도 7).

[0086] 본 결과는 HA-PG 하이드로젤 패치가 수분이 많은 생체내 환경에서 다양한 장기 및 조직에 부착할 수 있으므로 다양한 장기 및 조직에 비침습적 세포 이식이 가능함을 의미한다.

[0088] **2-2. 오가노이드 이식**

[0089] 오가노이드는 조직 재생과 같은 뛰어난 치료 효능에도 불구하고 큰 사이즈 때문에 효과적인 이식 방법이 개발된 것이 없는 실정이다. 따라서 본 발명의 HA-PG 하이드로젤 패치가 오가노이드 이식에 사용될 수 있는지 확인하였다.

[0090] 소장, 간 또는 위에 DiI 형광으로 표시된 오가노이드를 얹고, HA-PG 하이드로젤 패치를 덮은 후 자연산화 방식으로 오가노이드가 각 조직 표면에 고정되도록 하였다(도 8의 A). 24시간 후 오가노이드를 이식한 부위의 조직을 분리하여 염색한 결과, 이식한 오가노이드가 각 조직에 성공적으로 부착하여 기존 조직과 통합된 것을 알 수 있었다(도 8의 B는 소장, C는 간 및 D는 위 조직임).

- [0091] 상기 실험 결과를 통해 HA-PG 하이드로젤 패치는 체내 용존산소에 의한 자연산화 방식으로 가교되므로 HA-PG 하이드로젤 패치와 오가노이드를 목적 부위에 붙이는 원스텝(one-step) 방법으로 목적 부위에 사이즈가 큰 오가노이드를 단단히 고정시키고, 이식할 수 있음을 알 수 있다.
- [0093] **2-3. 창상 치료 효능**
- [0094] 당뇨(diabetes)는 인슐린 분비 감소, 인슐린 내성 등의 원인으로 발생하는 대사성 질환으로 당뇨망막병증, 신부전증 등과 같은 다양한 합병증을 야기한다. 특히, 당뇨성 족부궤양(diabetic foot ulcers) 등과 같은 당뇨성 창상(diabetic wounds)을 유발하는데, 당뇨성 창상은 혈액 순환 장애, 혈액 내 높은 혈당 수준 등으로 인하여 일반 창상에 비해 치료 및 조직 재생이 매우 어렵다. 따라서, 본 발명의 HA-PG 하이드로젤 패치가 당뇨성 창상 치료에 활용될 수 있는지 확인하였다.
- [0095] 마우스를 24시간 동안 절식시키고, 췌장 β -세포를 선택적으로 손상시키는 약물인 스트렙토조토신을 100 mg/kg 농도로 복강에 투여하여 당뇨를 유발시켰다. 2주 경과 후 혈당 변화를 측정하여 혈당이 300 mg/dL 이상인 경우 당뇨가 유발된 것으로 판정하였다.
- [0096] 당뇨가 유발된 마우스의 등 부위에 펀치를 사용해 지름 8 mm의 창상을 만들고, 하기 6개 그룹으로 나누어 hADSC를 분주한 후 피부 재생 및 창상 치료 효과를 확인하였다: 1. 대조군(No treatment); 2. HA-PG 벌크 하이드로젤만 적용(Gel(PG) only); 3. HA-PG 하이드로젤 패치만 적용(Patch (PG) only); 4. hADSC만 직접 적용(hADSC only); 5. HA-PG 벌크 하이드로젤과 hADSC를 혼합한 후 적용(Gel(PG)-hADSC); 및 6. 창상 부위에 HA-PG 하이드로젤 패치를 올리고 hADSC 분주(Patch(PG)-hADSC).
- [0097] 12일 동안 창상의 크기 변화를 관찰한 결과, HA-PG 하이드로젤 패치를 올리고 hADSC를 분주한 그룹(Patch(PG)-hADSC)에서 창상 크기가 가장 빠르게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(도 9).
- [0098] 실험 12일차에 창상 부위의 조직을 분리하여 피부 재생 정도를 확인하였다. 헤마토실린&에오신으로 염색한 결과, HA-PG 하이드로젤 패치를 올리고 hADSC를 분주한 그룹(Patch(PG)-hADSC)에서 모낭이 재생된 것을 확인하여 다른 그룹에 비해 성숙한 조직 재생이 일어난 것을 알 수 있었다(도 10의 A). 또한, Masson's trichrome 염색을 수행한 결과, 콜라겐 재생 또한 Patch(PG)-hADSC 그룹에서 가장 활발하게 일어난 것을 확인할 수 있었다(도 10의 B 및 C).
- [0099] 상기 실험 결과를 통하여 창상 부위에 HA-PG 하이드로젤 패치를 얹으면 산화제 처리 없이 체액 등 체내 산소를 포함한 환경에 의해 자연산화 방식으로 가교되므로 간편하게 세포 이식이 가능함을 알 수 있으며, 산화제에 의한 부작용을 막을 수 있어 HA-PG 패치는 임상 적용에 적합한 제형이라 판단된다. 또한, 일반 창상에 비해 치료 및 회복이 어렵고, 점차 조직 손상이 심해지는 당뇨병성 창상 치료에 본 발명의 HA-PG 하이드로젤 패치가 유용하게 활용될 수 있음을 알 수 있다.

[0101] **실시예 3: HA-PG 하이드로젤 패치를 이용한 약물 전달**

- [0102] 실시예 2-3과 동일한 방법으로 당뇨성 마우스 모델을 제작하였다. 당뇨가 유발된 마우스의 등 부위에 펀치를 사용해 지름 8 mm의 창상을 만들고, 6개 그룹으로 나누어 혈소판유래 성장인자(platelet-derived growth factor, PDGF)를 도포한 후 피부 재생 및 창상 치료 효과를 확인하였다: 대조군(No treatment); HA-PG 벌크 하이드로젤만 적용(Gel(PG) only); HA-PG 하이드로젤 패치만 적용(Patch (PG) only); HA-PG 벌크 하이드로젤에 PDGF 캡슐화(Gel(PG)-PDGF); HA-PG 하이드로젤 패치에 PDGF 캡슐화 (Patch (PG)-PDGF); 및 PDGF와 HA-PG 용액을 함께 동결건조시켜 패치 제작한 후 가교 (Freeze-dried patch; Patch (PG)-PDGF/FD).
- [0103] 10일 동안 창상 크기가 줄어드는 것을 관찰한 결과, HA-PG 하이드로젤 패치를 적용한 Patch(PG)-PDGF 그룹과 Patch(PG)-PDGF/FD 그룹에서는 10일 차에 창상이 약 80% 정도 회복된 반면, HA-PG 벌크 하이드로젤을 적용한 그룹과 대조군에서는 창상이 60% 정도만 회복된 것을 확인할 수 있었다(도 11의 A 및 B). 또한, Patch(PG)-PDGF 그룹과 Patch(PG)-PDGF/FD 그룹은 창상 치료 효능에 유의미한 차이가 없었으며, 이 결과는 HA-PG 하이드로젤 패치에 미리 약물을 탑재한 후 동결건조시켜도 약물의 효과에 큰 차이가 없음을 의미한다.

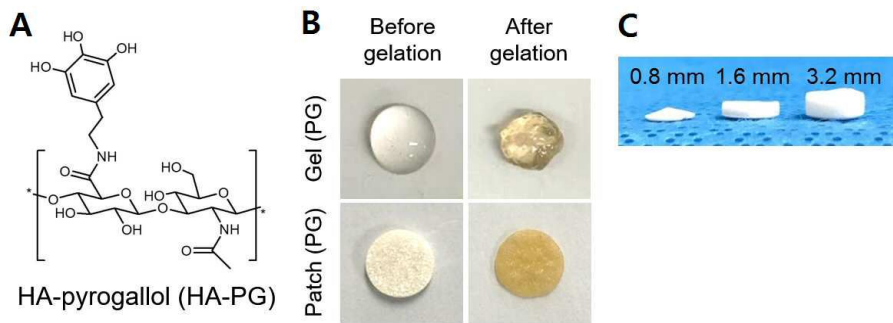
[0105] 실시예 4: HA-PG 하이드로젤 패치를 이용한 다층 구조체 형성

[0106] 피부, 혈관과 같이 생체내 조직은 다층 구조로 이루어져 있으므로 본 발명의 HA-PG 하이드로젤 패치로 생체내 조직과 유사한 다층 구조를 제작하였다.

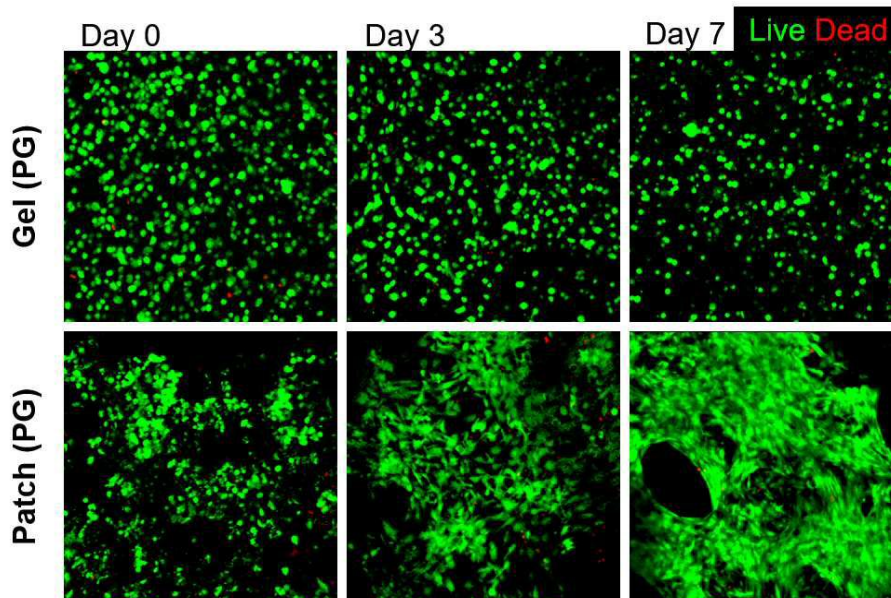
[0107] 컬러 잉크를 사용하여 적색과 녹색의 HA-PG 하이드로젤 패치를 제작하고, 하나의 HA-PG 하이드로젤 패치 위에 다른 HA-PG 하이드로젤 패치를 올려 다층 패치 구조체를 형성시켰다. 이때 별도의 접착제는 사용하지 않고 HA-PG 하이드로젤 패치 자체의 접착성을 이용하였다. 실험 결과, 3층 및 5층으로 이루어진 패치 구조체를 제작할 수 있었다(도 12).

도면

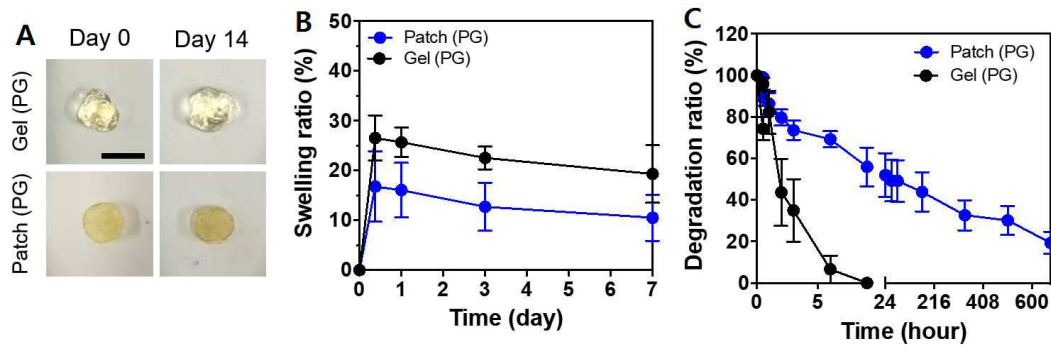
도면1



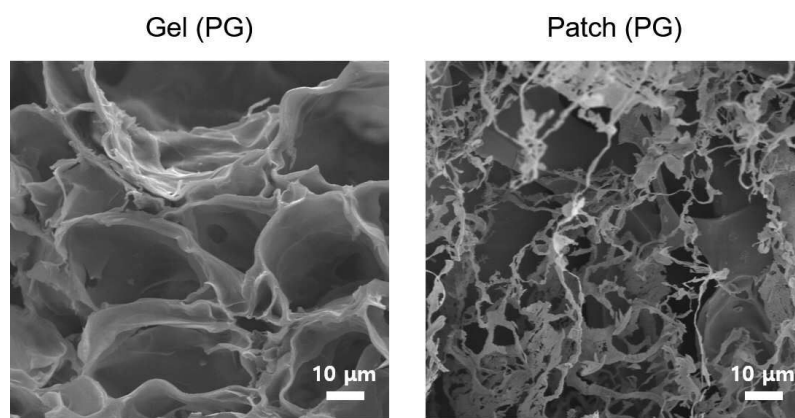
도면2



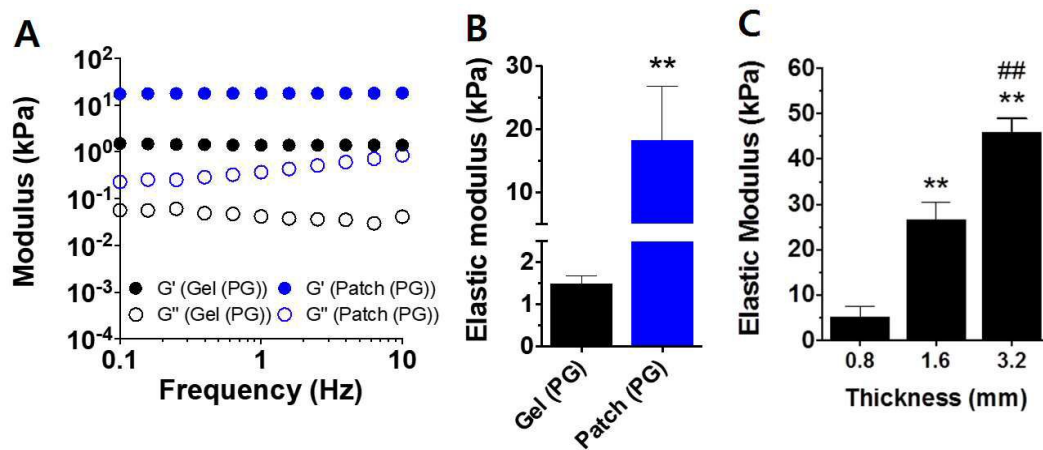
도면3



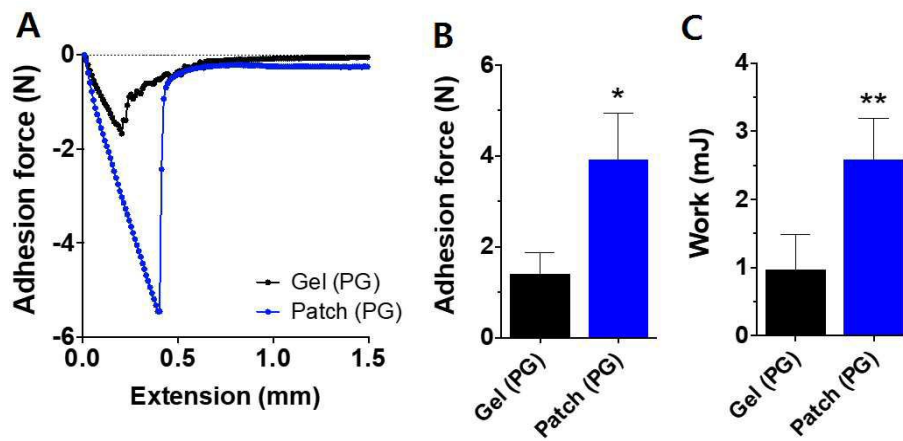
도면4



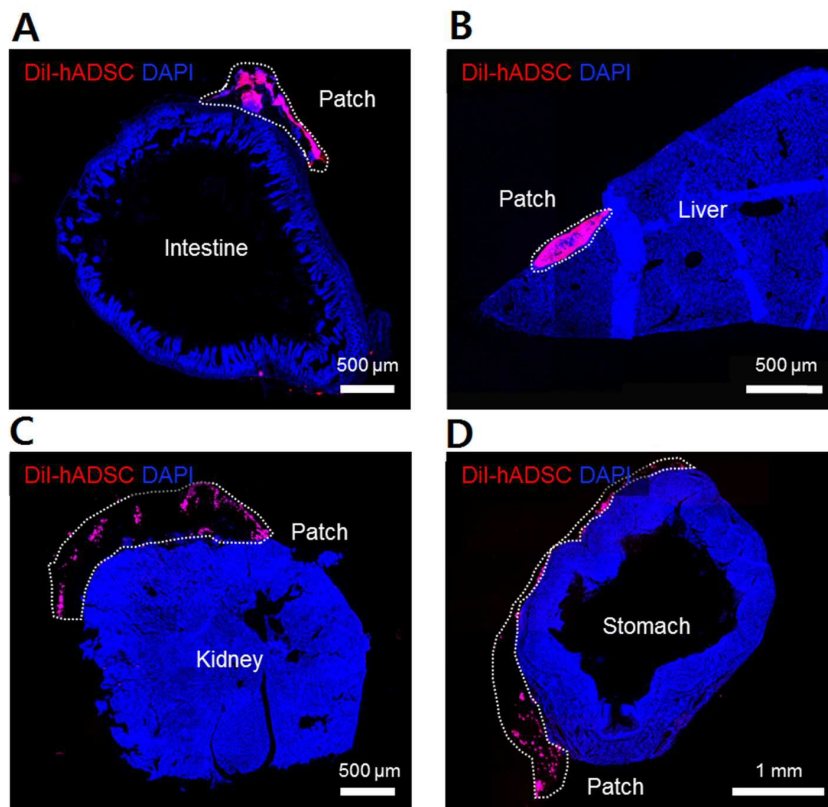
도면5



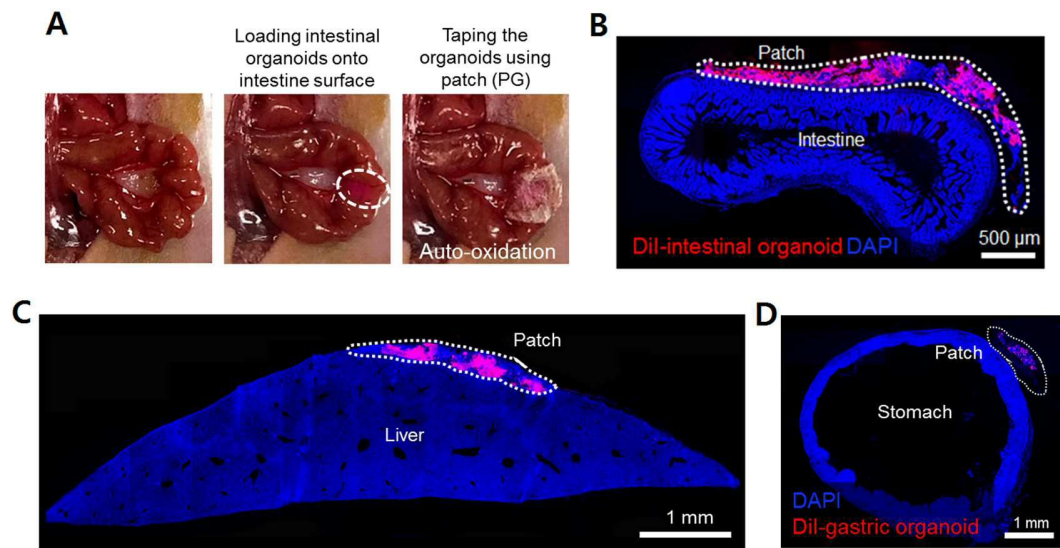
도면6



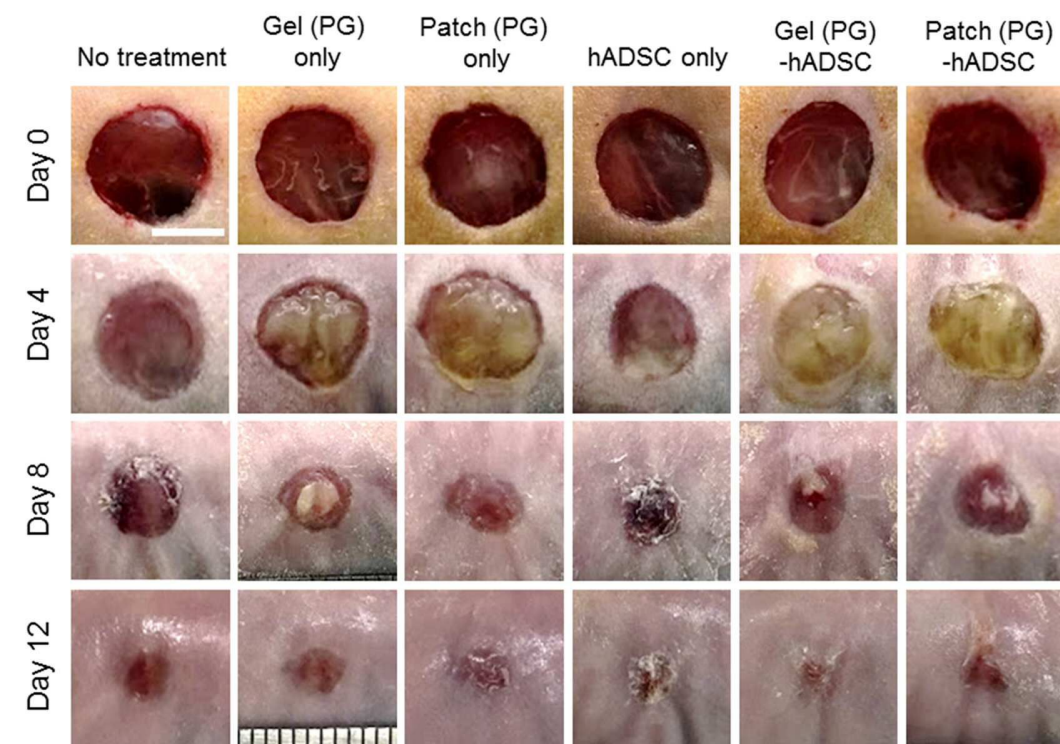
도면7



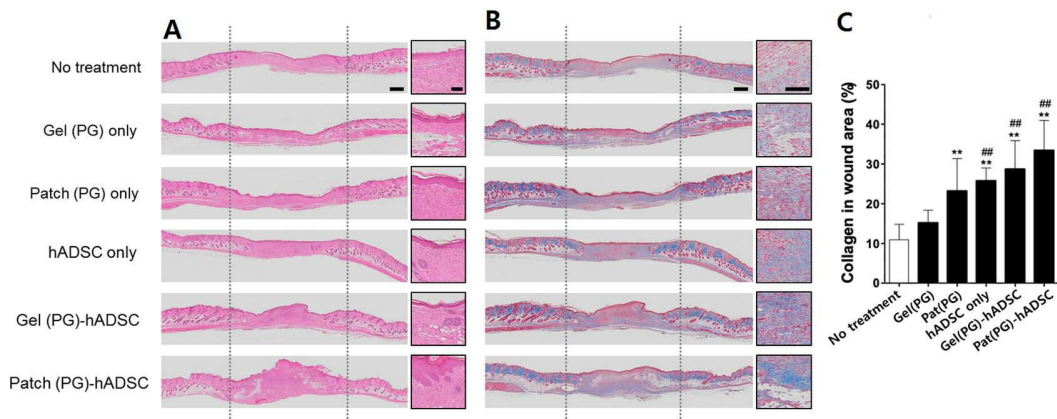
도면8



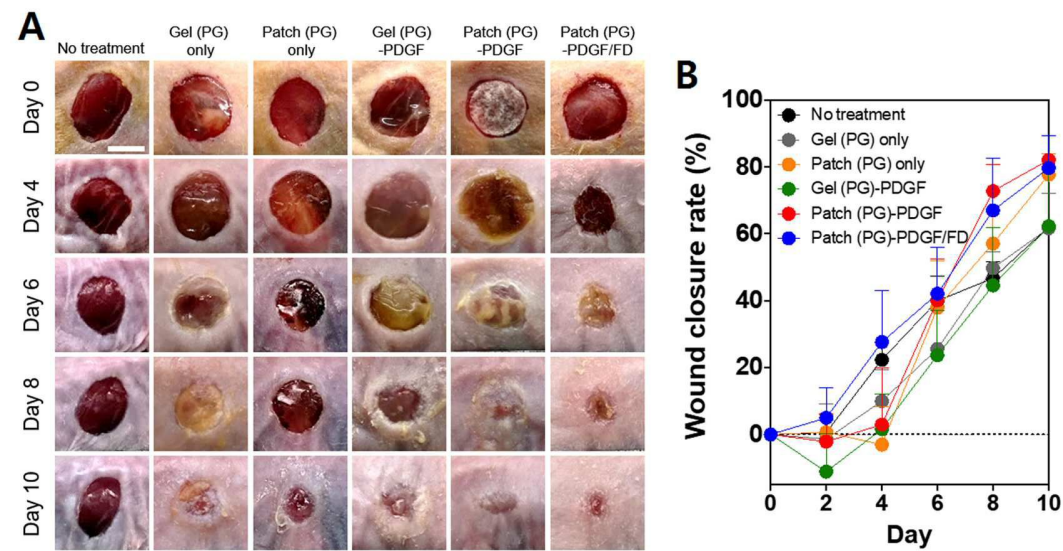
도면9



도면10



도면11



도면12

