



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.

C08G 63/91 (2006.01)
C08G 65/48 (2006.01)
C08G 61/12 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0042159
(43) 공개일자 2007년04월20일

(21) 출원번호 10-2007-7002412

(22) 출원일자 2007년01월30일

심사청구일자 2007년01월30일

번역문 제출일자 2007년01월30일

(86) 국제출원번호 PCT/KR2005/002511

(87) 국제공개번호 WO 2006/014067

국제출원일자 2005년08월01일

국제공개일자 2006년02월09일

(30) 우선권주장 1020040060757 2004년08월02일 대한민국(KR)

(71) 출원인 주식회사 삼양사
서울 종로구 연지동 263번지

(72) 발명자 서민효
대전광역시 서구 둔산2동 909번지 수정타운아파트 2동1008호
김봉오
대전광역시 동구 대2동 125-11
심명섭
서울특별시 서초구 방배 2동 방배우성아파트 106동 503호
이상준
대전 서구 만년동 1-1 초원아파트 108동 410호

(74) 대리인 유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 졸-젤 전이가 가능한 생분해성 다중블록 고분자 조성물 및 이를 함유하는 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 두 개의 폴리에틸렌옥사이드(polyethyleneoxide) 블록 사이에 폴리프로필렌옥사이드(polypropyleneoxide) 또는 폴리부틸렌옥사이드(polybutyleneoxide) 블록을 가지며, 40,000 달톤(Dalton) 이상의 중량 평균 분자량을 갖는 다중블록 공중합체를 형성하기 위해 디카르복실기 링커(dicarboxylic linkage)를 통해 연결된 삼중블록 공중합체를 포함하는 이온성 공중합체 조성물에 관한 것이다. 상기 중량 평균 분자량의 증가는 본 발명의 다중블록 공중합체로부터 형성된 하이드로겔이 수일 이상 젤 상태로 유지할 수 있도록 가능케 한다.

대표도

도 6

특허청구의 범위

청구항 1.

양 말단에 히드록실기 또는 이온기를 포함하고,

생분해성 디카르복실기 링커로 공유결합된 두 개 이상의 ABA-타입의 삼중블록을 포함하며,

상기 A는 폴리에틸렌옥사이드 블록이고, 상기 B는 폴리프로필렌옥사이드 블록, 폴리부틸렌옥사이드 블록, 또는 이들의 복합체인 것인

다중블록 공중합체.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 에틸렌옥사이드, 및 프로필렌옥사이드 블록 또는 부틸렌옥사이드는 각각 2 내지 2000개의 단위 수를 갖는 것인 다중블록 공중합체 조성물.

청구항 3.

제1항에 있어서, 상기 A와 B와의 단위 비율은 0.2:1 내지 40:1인 것인 다중블록 공중합체 조성물.

청구항 4.

제1항에 있어서, 상기 이온기는 1가 또는 $-\text{SO}_3^-$, $-\text{PO}_3^{2-}$, 및 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}^-$ 로 이루어진 2가 금속염으로부터 선택된 것인 다중블록 공중합체 조성물.

청구항 5.

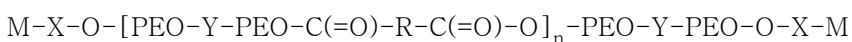
제1항에 있어서, 상기 공중합체의 중량 평균 분자량은 40,000 내지 1,000,000 달톤(Dalton) 범위인 것인 다중블록 공중합체.

청구항 6.

제1항에 있어서, 상기 생분해성 디카르복실기 링커는 옥살산, 말론산, 말릭산, 숙신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜리산, 세바코일산, 수베르산, 도데카노산, 푸마르산, 말레이산, 프탈산, 및 테레프탈산으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 다중블록 공중합체 조성물.

청구항 7.

하기식으로 나타내어지는 다중블록 공중합체:



이때, PEO는 폴리에틸렌옥사이드 블록,

Y는 PPO 또는 PBO, 또는 PPO 및 PBO의 복합체, 이때 상기 PPO는 폴리프로필렌옥사이드 블록이고 PBO는 폴리부틸렌 옥사이드 블록,

X는 H 또는 음이온기,

n은 1 내지 100 사이의 정수,

R은 $-(CH_2)_m-$ 또는 Cm'을 포함하는 아릴, 이때 m은 0 내지 20 사이의 정수, m'은 6 내지 12 사이의 정수, 및 M은 H 또는 양이온기(단, M과 X 모두가 H가 아니고, X가 H일 때 M은 존재하지 않음)임.

청구항 8.

제7항에 있어서, 상기 X는 $-SO_3^-$, $-PO_3^{2-}$, 및 $-C(=O)-R-C(=O)-O-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 음이온기인 다중블록 공중합체.

청구항 9.

제7항에 있어서, 상기 M은 Li, Na, K, Ag, Au, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Co, 및 Ni로 이루어진 군으로부터 선택된 양이온기인 다중블록 공중합체.

청구항 10.

제7항에 있어서, 상기 중량 평균 분자량은 1,000 내지 20,000 달톤(Dalton) 범위인 것인 다중블록 공중합체.

청구항 11.

제7항에 있어서, 상기 PEO와 Y와의 단위 비율은 0.2:1 내지 40:1인 것인 다중블록 공중합체.

청구항 12.

제7항에 있어서, 상기 중량 평균 분자량은 1,000 내지 20,000 달톤(Dalton) 범위인 것인 다중블록 공중합체.

청구항 13.

제7항에 있어서, 상기 Y는 폴록사머(poloxamer)인 것인 다중블록 공중합체.

청구항 14.

제7항에 있어서, 상기 R은 옥살산, 말론산, 말릭산, 숙신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜리산, 세바코일산, 수베르산, 도데카노산, 푸마르산, 말레이산, 프탈산, 및 테레프탈산으로 이루어진 군으로부터 선택된 것으로부터 유도된 생분해성 디카르복실기 링커인 것인 다중블록 공중합체.

청구항 15.

제1항 내지 14항 중 어느 한 항의 다중블록 공중합체를 포함하는 조성물.

청구항 16.

제15항에 있어서, 상기 다중블록 공중합체 조성물은 겔, 마이크로스피어, 나노입자, 스트립, 및 필름으로 이루어진 군으로부터 선택된 형태인 것인 조성물.

청구항 17.

제15항의 조성물 및 생체활성제를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물.

청구항 18.

제17항에 있어서, 상기 생체활성제는 0.01 내지 50%의 농도 범위인 것인 약학적 조성물.

청구항 19.

제17항에 있어서, 상기 생체활성제는 단백질 또는 펩타이드인 것인 약학적 조성물.

청구항 20.

제19항에 있어서, 상기 단백질 또는 펩타이드는 천연형 또는 고분자에 의해 변형된 형태인 것인 약학적 조성물.

청구항 21.

제19항에 있어서, 상기 단백질은 성장호르몬 (growth hormone, GH), 인터페론 (interferon, IFN), 백혈구증식인자 (granulocyte colony stimulation factor, G-CSF), 거대백혈구증식인자 (granulocyte macrophage colony stimulation factor, GM-CSF), 적혈구생성단백질 (erythropoietin, EPO), 인터루킨 (interleukin, IL), 난포생성촉진호르몬 (fibroblast growth factor, follicle stimulating hormone, FSH), 신경성장인자 (nerve growth factor, NGF), 옥트레오타이드 (octreotide), 인슐린, 인슐린유사성장인자 (insulin-like growth factor, IGF), 칼시토닌 (calcitonin), 종양괴사인자 (tumor necrosis factor, TNF), 혈관생성인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 상피세포성장인자 (epidermal growth factor, EGF), 혈소판 성장인자 (platelet-derived growth factor, PDGF), 뼈형성인자 (bone morphogenetic protein, BMP), 혈전용해제 (tissue plasminogen activator, TPA), thrombopoietin(TPO), 조직성장인자 (tissue growth factor, TGF), 및 종양괴사인자 (tumor necrosis factor, TNF)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 약학적 조성물.

청구항 22.

제17항에 있어서, 상기 조성물은 겔, 마이크로스피어, 나노입자, 스트립, 및 필름으로 이루어진 군으로부터 선택된 형태인 것인 약학적 조성물.

청구항 23.

제17항에 있어서, 상기 조성물은 수용액 내에 제17항의 조성물의 0.5 내지 50%를 포함하는 것인 약학적 조성물.

청구항 24.

제17항에 있어서, 상기 조성물은 PEG, 히알루로닉산, 덱스트란, 젤라틴, 콜라겐, 키토산, 폴록사머 407, 폴록사머 188, 메칠셀룰로오스 (MC), 에칠셀룰로오스 (EC), 하이드록시에칠셀룰로오스 (HEC), 메칠히드록시에칠셀룰로오스 (MHEC), 하이드록시메칠셀룰로오스, 하이드록시프로필메칠셀룰로오스 (HPMC), 및 하이드록시프로필셀룰로오스로 이루어진 군 중에서 선택된 적어도 하나를 추가적으로 포함하는 것인 약학적 조성물.

청구항 25.

- 1) 미리 결정된 양의 PEO-Y-PEO를 포함하는 반응액에 PEO-Y-PEO 말단 히드록실기 1 당량의 0.5 내지 1.0 당량의 디카르복시산 디할리드(dihalid)를 천천히 첨가하여 미리 결정된 시간 동안 반응시키는 단계;
- 2) 상기 반응액에 0.1 당량의 PEO-Y-PEO를 추가적으로 첨가하여 반응이 종결될 때까지 반응시키는 단계;
- 3) 생성된 다중블록 공중합체를 에테르 또는 헥산 용매에 침전시키고 에탄올로 상기 침전물을 용해시키는 단계; 및
- 4) 에탄올/에테르 또는 헥산의 부피 비율이 1/1 내지 1/20이 되도록 에테르 또는 헥산을 천천히 가하여 다중블록 공중합체를 침전시키는 단계를 포함하는,

말단에 히드록실기를 갖는 제7항의 다중블록 공중합체의 제조방법.

청구항 26.

- 1) 미리 결정된 양의 PEO-Y-PEO를 포함하는 반응액에 PEO-Y-PEO 말단 히드록실기 1 당량의 0.5 내지 1.0 당량의 디카르복시산 디할리드(dihalid)를 천천히 첨가하여 이미 결정된 시간 동안 반응시키는 단계;
- 2) 상기 반응액에 상기 PEO-Y-PEO 말단 히드록실기 당량을 기준으로 1 당량 이상의 디카르복시산 디할리드(dihalid)를 추가적으로 첨가하여 반응이 종결될 때까지 반응시키는 단계;
- 3) 생성된 다중블록 공중합체를 에테르 또는 헥산 용매에 침전시키고 에탄올로 용해시키는 단계; 및
- 4) 에탄올/에테르 또는 헥산의 부피 비율이 1/1 내지 1/20이 되도록 에테르 또는 헥산을 천천히 가하여 공중합체를 침전시키는 단계를 포함하는,

말단에 카르복실기를 갖는 제7항의 다중블록 공중합체의 제조방법.

청구항 27.

- 1) 제26항으로부터 생성된 다중블록 공중합체를 물과 혼합가능한 용매에 용해시키는 단계, 및
- 2) 상기 다중블록 수용액을 탄산나트륨, 탄산수소나트륨, 염화칼슘, 염화아연, 염화마그네슘, 염화철, 염화구리, 질산은, 염화칼륨, 또는 염화리튬으로 중화시키는 단계를 포함하는,

다중블록 공중합체의 양 말단에 카르복시산 금속염을 갖는 제7항의 다중블록 공중합체의 제조방법.

청구항 28.

1) 제25항의 다중블록 공중합체를 용매에 용해시키고, 이 용액을 설페이트 트리옥사이드 피리딘 복합체 (C₅H₅NSO₃), 또는 포스포러스 옥시클로라이드 (POCl₃)와 반응시키는 단계; 및

2) 상기 고분자 말단에 금속염을 갖는 다중블록 공중합체를 제조하기 위하여 상기 반응액에 선택적으로 탄산나트륨, 탄산수소나트륨, 염화칼슘, 염화아연, 염화마그네슘, 염화철, 염화구리, 질산은, 염화칼륨, 또는 염화리튬으로 중화시키는 단계를 포함하는,

고분자 말단에 황산, 인산, 또는 금속염을 갖는 제7항의 다중블록 공중합체의 제조방법.

청구항 29.

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 PEO-Y-PEO는 폴록사머인 것인 방법.

청구항 30.

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 PEO-Y-PEO는 메틸렌클로라이드에 용해시킨 후 헥산에 침전시키거나 또는 n-propanol/H₂O 용매에서 층 분리하여 정제되는 것인 방법.

명세서

기술분야

본 발명은 다양한 약물의 방출 속도를 조절하여 향상된 방출 패턴을 가진 생분해성 다중블록 공중합체(copolymer)에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 ABA-타입 삼중블록 공중합체를 포함하는 다중블록 공중합체를 제공하며, 이때 상기 A는 폴리에틸렌옥사이드이고, 상기 B는 폴리프로필렌옥사이드 또는 폴리부틸렌옥사이드 블록이며, 이러한 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 블록은 체내에서 가수분해될 수 있는 디카르복실기 링커로 연결되어 있다.

배경기술

하이드로겔(Hydrogel)은 생체적합성으로 인해 약물전달 시스템에 널리 이용되어 왔다. 약물은 교차결합된 하이드로겔 매트릭스에 내포되며, 매트릭스 내 빈 공간을 통해 방출하게 된다.

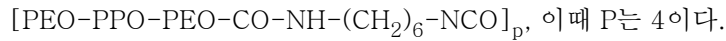
초기의 겔을 이용한 약물전달 시스템은 열가소성 특징을 가지고 있다. 열가소성 시스템(Thermoplastic system)은 용매에서 고분자 용액의 형성을 촉진시켰다. 체내에 주입하기 전 약물은 고분자 용액에 첨가되며, 주입 후 상기 고분자 용액은 체액에 노출되어 겔을 형성하게 된다. 그러나, 초기 약물전달 시스템은 인체에 독성을 유발하고 자극적이며 유기용매를 사용한다는 문제가 있다.

최근, 수용액을 이용한 겔 약물 전달 시스템이 개발되어 왔으며, 이러한 시스템은 폴리에틸렌 옥사이드(polyethylene oxide) 및 폴리프로필렌 옥사이드(polypropylene oxide)로 구성된 블록 공중합체(block copolymer)를 이용한 것으로, 폴리에틸렌 옥사이드와 폴리프로필렌 옥사이드 고분자가 특정 농도와 온도에서 물을 흡수하면 겔을 형성하게 된다(미국특허번호 4,188,373, 4,478,822 및 4,474,751). 상기 고분자의 일례로 폴록사머(poloxamer)가 잘 알려져 있으며, 이미 상용화되고 있다. 폴록사머(Poloxamer)는 PEO-PPO-PEO의 삼중블록 공중합체이며, 이때 PEO는 폴리에틸렌옥사이드 블록이고, PPO는 폴리프로필렌옥사이드 블록이다. 상기 폴록사머는 9,840 내지 14,600 달톤(Dalton) 범위의 분자량을 가지고 있다. 그러나, 폴록사머로 만들어진 겔은 비-생분해성이며, 생리학적 조건에서 상 전이를 나타내기 위해서 18 내지

20% 이상의 농도를 가진 폴록사머 고분자 용액이 필요하다. 그러나, 이러한 농도의 용액은 액상에서 매우 점성이 높아 생체 내에서 바람직하지 않은 반응을 일으킬 수 있다. 또한, 체내에 주입시 빠른 시간 내에 젤 상태로 전환되더라도, 젤 상태가 유지되는 시간이 수시간 내로 매우 짧다는 단점이 있어 의약품 전달체로서 적용하는데 한계가 있다고 알려져 있다.

이와 같은 문제점을 해결하기 위하여, Sosnik 등은 폴록사머 407과 헥사메틸렌다이소시아네이트(hexamethylene diisocyanate)를 반응시켜 우레탄 링커에 의해 연결된 폴록사머 407인 화학식 1의 화합물을 합성하였다 (Winter Symposium & 11th International Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems, 2003 Controlled Release Society, #117)).

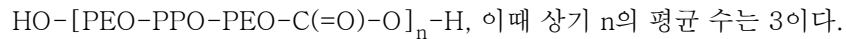
화학식 1



Sosnik은 상기 화학식 1의 화합물은 17% 수용액에서 폴록사머 407에 비하여 점성이 수십 배 이상 높고, 고온에서 젤 상태를 유지하는 시간이 월등히 높음을 공지하였다. 그러나, 이 고분자는 비-생분해성이고, 분자량이 50,000 달톤(Dalton) 이상으로 체외로 배설되는데 어려움이 있다.

X. Zhao 등은 화학식 2의 폴록사머 407을 포함하는 생분해성 고분자 조성물을 공지하였다 (30th annual meeting and exhibition of the controlled release society, Glasgow, Scotland, July 19-23, 2003). 상기 고분자 제조시, 상기 폴록사머 407은 디숙신이미딜 카보네이트(disuccinimidyl carbonate, DSC)와 반응하며, 그로 인해 상기 폴록사머 407은 화학식 2에 나타낸 바와 같이 카보네이트 링커로 연결되었다.

화학식 2



미국특허출원번호 20030187148에서는 폴록사머 407의 양 말단에 poly(hydroxyl carboxylic acid) 블록을 도입한 후 HDI(hexamethylene diisocyanate) 링커를 통해 연장된 5중블록이 공지되었다. 그러나, 상기 고분자는 비-분해성 우레탄 링커를 사용했다는 단점이 있다.

미국특허번호 6,348,558에서는 적어도 2개의 폴리알킬렌옥사이드 올리고머(polyalkylene oxide oligomer)가 가수분해성 카보네이트 링커를 통해 연결된 생분해성 고분자를 공지하였다.

그러나, 상기 공지된 고분자는 말단이 히드록실기를 가지며 겔로부터 약물이 방출되는 속도가 단지 겔의 점성도에 따른 확산 속도에 의존적이기 때문에 약물 방출 속도를 조절하는 것이 불가능하다.

따라서, 저독성, 향상된 방출 패턴, 및 다양한 약물의 방출 속도를 조절할 수 있는 생분해성 고분자 조성물이 필요하다.

<발명의 요약>

본 발명은 ABA-타입 삼중블록 공중합체(copolymer)를 포함하는 다중블록 공중합체를 제공하며, 이때 상기 A는 폴리테트라하이드로푸란옥사이드 블록이고, 상기 B는 폴리프로필렌옥사이드 또는 폴리부틸렌옥사이드 블록이며, 이러한 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 블록은 생분해성 디카르복실기 링커로 연결되어 있다.

또한, 본 발명은 상기 다중블록 공중합체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

또한, 본 발명은 상기 다중블록 공중합체의 제조방법 및 용도를 제공한다.

본 발명의 다중블록 공중합체 조성물은 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 단위의 다중블록 형성을 통해 상기 공중합체의 분자량을 증가시켜 수용액에서 젤 상태 유지를 향상시킬 수 있다. 상기 다중블록 공중합체는 다양한 약물을 서서히 방출시키는 약물 전달체로 이용될 수 있다.

본 발명의 추가적인 특징 및 장점들은 하기에 기재된 본 발명의 실시예 및 이를 설명하는 도면에 의한 상세한 설명에 의해 보다 분명해질 것이다.

발명의 상세한 설명

본 발명의 고분자 조성물, 이의 제조방법 및 용도를 공지 및 설명하기에 앞서, 본 발명에서는 본 발명의 특별한 구성, 진행 절차, 및 물질들이 매우 다양할 수 있기 때문에 본 발명에 공지된 것에 특별히 한정되는 것은 아니며, 또한 본 발명에 사용된 기술은 본 발명의 실시예만을 설명하기 위한 것이며, 이는 본 발명에 첨부된 청구항 및 이와 동등한 것에만 한정되어 있다.

본 발명의 명세서 및 첨부된 청구항에 사용된 "a", "an", 및 "the" 단수 형태는 그 문맥에서 명확하게 다른 것을 지시하지 않는 한 복수의 것으로 간주한다. 예를 들면, "말단기(a terminal group)"를 포함하는 고분자는 둘 또는 그 이상의 작용기(group)로, "소수성 약물(a hydrophobic drug)"은 둘 또는 그 이상의 약물을 포함하는 것으로 간주한다.

본 발명의 상세한 설명 및 청구항에 있어서, 하기에 나오는 용어는 이를 설명하는 용어의 정의에 따라 사용된다.

이때 사용되는 용어로서, "생체활성제(bioactive agent)" 또는 "약물(drug)" 또는 이와 유사한 다른 명사는 바람직한 생물학적 또는 약학적 효능을 나타내며 본 발명에서 사용된 방법 및/또는 종래기술에 이미 공지된 방법으로 주입가능한 화학적 또는 생물학적 물질 또는 화합물을 의미한다. 이러한 효능은 (1) 생물체에서의 질병에 대한 예방 및 감염 예방과 같은 원치않은 생물학적 효능의 예방, (2) 질병 상태의 경감, 예를 들면, 질병에 의해 초래되는 고통 또는 염증의 경감, 및/또는 (3) 생물체로부터 질병 상태의 경감, 감소, 또는 완치를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 효능은 국부적인 마취 효능을 제공하는 국부적, 또는 전신적일 수 있다.

본 발명에 사용된 용어로서, "생분해성(biodegradable)" 또는 "생분해(biodegradation)"는 물질들이 수용성 가수분해, 또는 효소나 생물체의 다른 생성물과 같은 생물학적으로 형성된 물질의 활성에 의하여 덜 복잡한 중간체 또는 최종산물로 전환되는 것을 의미한다.

본 발명에 사용된 용어로서, "생체적합성(biocompatible)"은 생체내에서 어떤 부작용도 없는 수용성 가수분해, 또는 효소나 생물체의 다른 생성물과 같은 생물학적으로 형성된 물질의 활성에 의해 형성된 물질 또는 그 중간체 또는 최종산물을 의미한다.

본 발명에 사용된 용어로서, "유효량(effective amount)"은 의학적 치료에 사용될 수 있는 적당한 위험/효능 비를 가지며 바람직한 국부적 또는 전신적 효능을 제공할 수 있는 충분한 약물의 양을 의미한다.

본 발명에 사용된 용어로서, "투여(administering)" 및 이와 유사한 명사는 조성물이 전신에 순환될 수 있도록 상기 조성물을 개체에 처리하여 전달하는 것을 의미한다. 바람직하게, 본 발명의 조성물은 피하내, 조직내, 피부내, 구강, 점막내, 정맥내, 또는 복강내로 주입할 수 있다. 상기와 같은 용도로 사용되는 주사제는 액상 또는 부유액, 또는 주입시 액상 또는 액체에 부유시킬 수 있는 고상, 또는 에멀전과 같은 통상적인 형태로 준비될 수 있다. 주입을 위해 사용가능한 첨가제로는 예를 들면, 증류수, 식염수, 텍스트로즈, 글리세롤, 에탄올, 및 그의 유사체; 선택적으로는, 습식 또는 에멀절제, 완충액, 및 그의 유사체와 같은 소량의 보조제가 이용될 수 있다. 구강투여를 위해서, 상기 조성물은 액체, 테블릿, 캡슐 등과 같은 형태로 제형화될 수 있다.

상기와 같은 지시사항은 예시적인 예에 불과하며, 본 발명에 사용된 특이적인 용어들 또한 상기와 같이 설명하였다. 그럼에도 불구하고, 본 발명의 범위를 한정하는 경우에는 의도하지 않은 경우이다. 본 발명에서는 변경 또는 좀더 변형된 발명적인 특징, 및 추가적인 발명의 원리가 기재되어 있고, 관련분야의 당업자에 의해서 수행될 수 있으며, 본 발명의 범위내에서 공개된 부분을 소유할 수 있다.

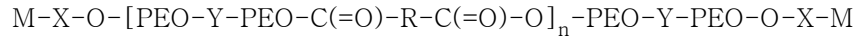
일 측면에서, 본 발명은 저온에서 졸 상태이나 고온에서 젤을 형성하는 이온성 다중블록 공중합체 조성물을 제공한다. 더욱 바람직하게, 본 발명은 다양한 약물의 방출 속도를 조절하여 향상된 방출 특성을 가진 생분해성 다중블록 공중합체를 제공한다. 특히, 본 발명은 양 말단에 히드록실기 또는 이온기를 포함하고 생분해성 디카르복실기 링커로 공유결합된 적어도 두 개의 ABA-타입의 삼중블록 공중합체를 포함하는, 이때 상기 A는 폴리에틸렌옥사이드 블록이고, 상기 B는 폴리프로필렌옥사이드 블록, 폴리부틸렌옥사이드 블록, 또는 이들의 복합체인 다중블록 공중합체를 제공한다.

본 발명의 다중블록 공중합체는 충분한 농도 및/또는 특정 온도에서 하이드로겔을 형성하며 졸-겔 상 전이를 나타내고 생분해성 특징을 가진다. 본 발명의 다중블록 공중합체에 있어서, 상기 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 블록은 향상된 겔의 지속성을 나타낼 수 있도록 높은 분자량을 가진 생분해성 디카르복실기 링커로 연결되어 있다.

아울러, 상기 공중합체의 이온성 말단기는 겔로부터 지연된 약물 방출의 효과를 제공한다.

본 발명의 일 실시태양은 하기의 화학식 3에 의해 나타내어질 수 있는 다중블록 공중합체이다:

화학식 3



이때, PEO는 폴리에틸렌옥사이드 블록, Y는 PPO 또는 PBO 또는 PPO 및 PBO의 복합체, 이때 PPO는 폴리프로필렌옥사이드 블록이고 PBO는 폴리부틸렌옥사이드 블록이고,

X는 H 또는 음이온기이고,

n은 1 내지 100 사이의 정수이고,

R은 $-(CH_2)_m-$ 또는 $C_{m'}$ 을 포함하는 아릴이고,

m은 0 내지 20 사이의 정수이고,

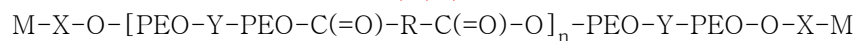
m'은 6 내지 12 사이의 정수이고,

M은 H 또는 양이온기(단, M과 X 모두가 H가 아니고, X가 H인 경우 M은 존재하지 않음)이다.

바람직하게, X는 $-SO_3^-$, $-PO_3^{2-}$, 및 $-C(=O)-R-C(=O)-O^-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 음이온기이고, 및 M은 Li, Na, K, Ag, Au, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Co, 및 Ni로 이루어진 군으로부터 선택된 양이온기이다.

보다 바람직하게, 본 발명의 다중블록 공중합체는 하기의 화학식 4로 나타내어질 수 있다:

화학식 4



이때, PEO는 폴리에틸렌옥사이드, Y는 PPO 또는 PBO 또는 PPO 및 PBO의 복합체, 이때 PPO는 폴리프로필렌옥사이드 블록이고 PBO는 폴리부틸렌옥사이드 블록이고,

X는 $-H$, $-SO_3^-$, $-PO_3^{2-}$, 또는 $-C(=O)-R-C(=O)-O^-$ 이고,

n은 1 내지 100 사이의 정수이고,

R은 $-(CH_2)_m-$ 또는 $C_{m'}$ 을 포함하는 아릴이고,

m은 0 내지 20 사이의 정수이고,

m'은 6 내지 12 사이의 정수이고,

M은 $-H$, 1가 또는 2가 양이온기(단, M과 X 모두가 H가 아니고, X가 H인 경우 M은 존재하지 않음)이다.

상기 다중블록 공중합체에서 폴리에틸렌옥사이드 블록은 약 2 내지 2000, 바람직하게는 약 5 내지 500, 더욱 바람직하게는 약 80 내지 120개의 단위 수를 갖는 에틸렌옥사이드 단위로 구성된다. 상기 화학식 3에서 두 개의 PEO 블록을 구성하는 각 에틸렌옥사이드의 단위 수는 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 폴리프로필렌옥사이드 또는 폴리부틸렌옥사이드 블록에서 프로필렌옥사이드 또는 부틸렌옥사이드의 단위 수는 2 내지 2000, 바람직하게는 약 20 내지 500, 및 더욱 바람직하게는 약 30 내지 250개 범위내에 존재한다.

본 발명의 다중블록 공중합체는 40,000 달톤(Dalton) 내지 1,000,000 달톤(Dalton), 바람직하게는 40,000 달톤(Dalton) 내지 500,000 달톤(Dalton), 더욱 바람직하게는 80,000 달톤(Dalton) 내지 130,000 달톤(Dalton) 범위의 중량 평균 분자량을 가지고 있다.

PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 블록에서 프로필렌옥사이드 또는 부틸렌옥사이드 단위에 대한 에틸렌옥사이드의 단위 비율은 고분자의 다양성을 위하여 조절될 수 있다. 예를 들면, 상기 다중블록 공중합체의 PEO와 PPO 또는 PBO와의 단위 비율은 상기 삼중블록 공중합체 자체의 수용성을 유지하는 범위내에서 다양할 수 있으나, 약 0.2:1 내지 40:1, 바람직하게는 1:1 내지 7.5:1, 및 더욱 바람직하게는 1:1 내지 5:1이며, 상기 PEO 블록은 상기 PEO-PPO (또는 PEO)-PBO 단위의 10 내지 85 중량%, 바람직하게는 40 내지 85 중량%의 양으로 포함된다.

본 발명의 용어인 "다중블록(multi-block)" 공중합체는 폴리에틸렌옥사이드 블록이 폴리프로필렌옥사이드 또는 폴리부틸렌옥사이드 블록에 연결되고, 이어서 폴리에틸렌옥사이드 블록에 연결되어 최종적으로 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 블록이 생분해성 디카르복실기 링커로 연결된 공중합체를 의미한다.

본 발명의 용어인 "디카르복실기 링커(dicarboxylic linkage)"는 PEO-PPO 또는 PBO-PEO 블록의 말단 OH기와 옥살산(oxalic acid), 말론산(malonic acid), 숙신산(succinic acid), 아디프산(adipic acid) 등의 한 분자 내에 2개의 카르복실기를 갖는 알킬 또는 아릴 화합물의 반응에 의하여 형성된 에스테르 결합을 의미한다. 상기 디카르복실기 링커는 옥살산, 말론산, 말릭산, 숙신산, 글루타르산, 아디프산, 피멜리산, 세바코일산, 수베르산, 및 도데카노산으로 구성된 군으로부터 선택된 알킬 디카르복시산에 의해 제공될 수 있다. 또한, 상기 디카르복실기 링커는 푸마르산 또는 말레이산 등의 불포화 디카르복시산, 또는 프탈산, 및 테레프탈산 등의 아릴 디카르복시산에 의해 제공될 수 있다.

앞서 언급한 바와 같이, 상기 디카르복실기 링커는 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO의 양 말단에 존재하는 히드록실기의 에스테르 결합에 의하여 연결될 수 있으며, 이 에스테르 결합은 체내에서 가수분해 또는 효소에 의해서 카르복시산 및 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 단위로 분해될 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체의 양 말단은 히드록실기 또는 이온기이다. 상기 공중합체 말단의 이온기로는 $-SO_3^-$, $-PO_3^{2-}$, $-C(=O)-R-C(=O)-O^-$ 등의 음이온기가 바람직하며, 상기 음이온기에 대응하는 염은 Li, Na, K, Ag, 또는 Au 등의 1가 금속 양이온, 또는 Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Co 또는 Ni 등의 2가 금속 양이온으로 구성된다.

특히, 양 말단에 음이온기를 가지는 본 발명의 한 개 또는 그 이상의 다중블록 공중합체는 2가 양이온 금속과 복합체를 형성하기 때문에 보다 안정한 형태의 겔 상태를 유지하여 겔로부터 약물의 방출을 지속시킬 수 있다. 음이온기를 가진 본 발명의 다중블록 공중합체를 수용액 상에서 양이온성을 띠는 약물과 혼합하는 경우에는 이온 염이 형성되며, 이로 인해 다중블록 공중합체 겔로부터 약물의 초기 방출 속도를 감소시킬 수 있어 약물 방출의 지속성을 향상시킬 수 있다. 말단에 음이온기를 가지는 본 발명의 다중블록 공중합체와 음이온기를 가진 약물의 혼합액에 염화칼슘, 염화아연, 또는 염화마그네슘 등의 2가 양이온성 금속 염을 가하면, 상기 2가 금속 양이온이 약물과 복합체를 형성하여 겔로부터 약물의 방출을 지속시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 다중블록 공중합체는 조절가능한 약물 방출을 위한 비이온성 및 이온성 약물전달체로 이용될 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체 조성물은 통상적으로 이용가능한 폴록사머인 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO일 수 있다. 폴록사머(Poloxamer)는 친수성 블록인 폴리에틸렌옥사이드(PEO)와 소수성 블록인 폴리프로필렌옥사이드(PPO)가 에테르 결합에 의한 삼중블록 PEO-PPO-PEO 형태로 연결된 블록 공중합체로서, 상기 공중합체는 1,000 달톤(Dalton) 내지 20,000 달톤(Dalton)의 중량 평균 분자량 및 말단에 히드록실기를 가지고 있다. 본 발명에 있어서, 폴록사머 188 (Pluronic® F-68), 및 폴록사머 407 (Pluronic® F-127) 등이 사용될 수 있다. 본 발명의 상기 다중블록 공중합체를 제조하기 위해서는 정제되지 않은 또는 정제된 폴록사머를 사용할 수 있으며, 정제된 폴록사머는 본 발명의 큰 분자량의 다중

블록 공중합체를 제조하는데 용이할 수 있다. 폴록사머의 정제는 하기 과정 중 어느 하나의 방법에 의하여 실시될 수 있다: 상기 폴록사머를 메틸렌클로라이드에 녹인 후 핵산에 침전시키는 방법, 또는 본 발명의 참조로서 인용된 미국특허번호 5,800,711에 공지된 바와 같이 n-propanol/H₂O 용매에서의 층 분리 방법으로 정제될 수 있다.

또한, 본 발명은 두 개의 폴리에틸렌옥사이드 블록 사이에 폴리프로필렌옥사이드 또는 폴리부틸렌옥사이드 블록을 가지는 삼중블록 공중합체, 이때 상기 삼중블록 공중합체는 생분해성 디카르복실기 링커로 연결되어 있는 다중블록 고분자 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.

본 발명은 하기 단계를 포함하는 말단에 히드록실기를 포함하는 다중블록 고분자를 제조하는 방법을 제공한다:

- 1) 미리 결정된 양의 PEO-Y-PEO를 포함하는 반응액에 PEO-Y-PEO 말단 히드록실기 1 당량의 0.5 내지 1.0 당량의 디카르복시산 디할리드(dihalid)를 천천히 첨가하여 미리 결정된 시간 동안 반응시키는 단계;
- 2) 상기 반응액에 상기 PEO-Y-PEO 말단 히드록실기 당량을 기준으로 1 당량 이상의 디카르복시산 디할리드(dihalid)를 추가적으로 첨가하여 반응이 종결될 때까지 반응시키는 단계;
- 3) 생성된 다중블록 공중합체를 에테르 또는 헥산 용매에 침전시키고 에탄올로 상기 침전물을 용해시키는 단계; 및
- 4) 에탄올/에테르 또는 헥산의 부피 비율이 1/1 내지 1/20이 되도록 에테르 또는 헥산을 천천히 가하여 상기 다중블록 공중합체를 침전시키는 단계.

본 발명은 하기 단계를 포함하는 말단에 카르복실기를 포함하는 다중블록 고분자를 제조하는 방법을 제공한다:

- 1) 미리 결정된 양의 PEO-Y-PEO를 포함하는 반응액에 PEO-Y-PEO 말단 히드록실기 1 당량의 0.5 내지 1.0 당량의 디카르복시산 디할리드(dihalid)를 천천히 첨가하여 이미 결정된 시간 동안 반응시키는 단계;
- 2) 상기 반응액에 PEO-Y-PEO 말단 카르복실기 당량을 기준으로 1 당량 이상의 디카르복시산 디할리드(dihalid)를 추가적으로 첨가하여 반응이 종결될 때까지 반응시키는 단계;
- 3) 생성된 공중합체를 에테르 또는 헥산 유기용매에 침전시키고 에탄올로 용해시키는 단계; 및
- 4) 에탄올과 에테르 또는 에탄올과 헥산의 부피 비율이 1:1 내지 1:20이 되도록 에테르 또는 헥산을 천천히 가하여 공중합체를 침전시키는 단계.

또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 상기 다중블록 공중합체의 양 말단에 카르복시산 금속염을 포함하는 다중블록 공중합체를 제조하는 방법을 제공한다:

- 1) 양 말단에 카르복실기를 갖는 고분자를 아세트, 아세트니트릴, 또는 다이옥산과 같은 물과 혼합되는 용매에 용해시키는 단계, 및
- 2) 상기 반응액에 탄산나트륨, 탄산수소나트륨, 염화칼슘, 염화아연, 염화 마그네슘, 염화철, 염화구리, 질산은, 염화칼륨, 또는 염화리튬으로 중화시킨 후 투석하는 단계.

선택적으로, 상기 다중블록 공중합체의 양 말단에 카르복시산 나트륨 염 외에 카르복시산 금속염을 갖는 다중블록 공중합체는 하기 단계: 즉, 양 말단에 카르복시산 나트륨을 갖는 고분자에 염화칼슘, 염화아연, 염화마그네슘, 염화철, 염화구리, 질산은, 염화칼륨, 또는 염화리튬 수용액을 처리하는 단계를 포함하는 방법으로 제조될 수 있다.

또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 상기 고분자 말단에 황산, 인산, 또는 그의 금속염을 갖는 다중블록 공중합체를 제조하는 방법을 제공한다:

- 1) 말단에 히드록실기를 갖는 다중블록 고분자를 용매에 용해시키고 설페이트 트리옥사이드 피리딘 복합체 (C₅H₅NSO₃) 또는 포스포러스 옥시클로라이드 (POCl₃)와 반응시키는 단계; 및

2) 상기 고분자 말단에 금속염을 갖는 다중블록 공중합체를 제조하기 위하여 상기 반응액에 선택적으로 탄산나트륨, 탄산수소나트륨, 염화칼슘, 염화아연, 염화마그네슘, 염화철, 염화구리, 질산은, 염화칼륨, 또는 염화리튬으로 처리하여 중화시키는 단계.

상기 다중블록 고분자의 말단이 또 다른 음이온기일 경우에는 통상적인 방법으로 제조될 수 있다.

상기 반응에 있어서, 디카르복시산 디할리드는 디카르복실기 링커로서 직접 반응될 수 있고, 또한 상기 디카르복시산 자체가 출발물질인 경우, 옥살릴 할리드를 사용하여 상기 디카르복시산을 활성화시켜 이를 디카르복시산 디할리드로 전환하여 사용될 수 있다. 상기 반응은 용매 없이 또는 용매를 사용할 수 있으며, 사용가능한 용매로는 디클로로메탄, 클로로포름, 테트라하이드로푸란, 아세토니트릴, 아세톤, 톨루엔, 다이옥산 등을 포함할 수 있다.

상기 공중합체의 평균 분자량을 결정하는 중합반응의 속도 및 정도는 반응하는 온도 및 시간에 따라 조절될 수 있다. 반응 온도는 반응 용매의 끓는점에 따라 변할 수 있으나, 60 내지 120°C 범위가 바람직하며, 반응 시간은 약 12 내지 72 시간 범위가 바람직하다.

상기 반응 속도를 증가시키기 위하여, 티옥토에이트, 염화아연 등을 촉매로 사용할 수 있으며, 또는 피리딘, 디메틸아미노 피리딘, 이미다졸, 트리에틸아민 등의 아민류를 디카르복시산 1 당량의 2배수 당량으로 사용할 수 있다. 그러나, 상기 고분자의 순도를 높이기 위해서는 촉매 또는 아민류를 사용하지 않는 것이 바람직하다.

상기 중합된 고분자는 당 분야에 알려진 방법으로 정제할 수 있으며, 바람직하게 상기 반응물은 가용성 용매로, 반면에 중합된 고분자는 불용성 용매에 침전시켜 정제할 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체를 제조하는 방법 중 하나를 예로 들면 다음과 같다.

먼저, 폴록사머가 들어 있는 반응기에 폴록사머 말단 히드록실기 1 당량의 0.5 내지 1.0 당량의 디카르복시산 디클로라이드를 반응 용매에 희석하여 6시간 이상에 걸쳐서 천천히 가한다. 상기 반응은 12시간 이상 반응시켰고, 반응 온도는 사용된 용매에 따라 변화할 수 있으며, 용매 없이 반응을 실시할 경우에는 반응 온도를 40 내지 120°C 범위의 온도에서, 반응 시간은 24시간 이내로 하는 것이 바람직하다.

반응 후, 본 발명의 말단에 히드록실기를 갖는 다중블록 고분자를 얻기 위하여 상기 반응 용매에 0.1 당량의 폴록사머가 용해된 반응액을 다시 상기 반응 용매에 첨가한 다음, 2시간 이상 반응시킨 후 에테르 용매에 침전시켰다. 상기 침전물을 메탄올에 녹인 후, 메탄올/에테르 혼합 부피 비율이 1/1 내지 1/20, 바람직하게는 1/5 내지 1/10으로 하여 천천히 에테르를 가하여 다시 고분자를 침전시켜 정제하였다. 상기 침전물을 아세톤 수용액에 녹인 후, 음이온 교환수지를 처리하여 카르복실기 말단을 갖는 고분자를 제거하였고, 분자량 컷-오프가 40,000 달톤(Dalton)인 투석 튜브로 투석한 다음, 상기 투석물을 동결 건조하여 말단에 히드록실기를 갖는 다중블록 폴록사머를 수득하였다.

말단에 카르복실기를 갖는 다중블록 공중합체는 다음과 같은 방법으로 수득할 수 있다: 상기 중합 반응 후 폴록사머 말단 히드록실기 당량 수를 기준으로 1 당량 이상의 과량의 디카르복시산 디클로라이드를 가하여 2시간 이상 반응시킨 후, 에테르를 첨가하여 고분자를 침전시켰다. 상기 침전물을 메탄올에 용해시킨 후, 메탄올/에테르 혼합 부피 비율이 1/1 내지 1/20, 바람직하게는 1/5 내지 1/10으로 하여 천천히 에테르를 가하여 다시 고분자를 침전시켜 정제함으로써 말단에 카르복실기를 갖는 다중블록 폴록사머를 생성하였다. 상기 공중합체를 아세톤 수용액에 녹인 후, 탄산나트륨 또는 탄산수소나트륨으로 중화시켜 다중블록 폴록사머의 양 말단에 카르복시산 나트륨 염을 갖는 공중합체를 수득하였다.

양 말단에 카르복시산 나트륨 염을 갖는 상기 다중블록 공중합체를 과량의 염화칼슘, 염화마그네슘, 염화아연, 염화철, 염화구리, 질산은, 염화칼륨, 염화리튬 수용액 등과 혼합한 다음, 투석하여 다중블록 코폴록사머의 말단에 1가 또는 2가 금속염을 갖는 다중블록 코폴록사머를 제조할 수 있다.

다중블록 공중합체 말단에 술페이트기 또는 인산기를 갖는 다중블록 공중합체를 얻기 위하여, 양 말단에 히드록실기를 갖는 다중블록 코폴록사머를 디메틸포름아미드에 용해시킨 후, 설페이트 트리옥사이드 피리딘 복합체 ($C_5H_5NSO_3$) 또는 포스포러스 옥시클로라이드 ($POCl_3$)와 60°C에서 10시간 동안 반응시킨 후, 상기로부터 얻는 생성물을 증류수에 희석하여 투석하였다. 이어, 탄산수소나트륨과 같은 금속염 수용액을 상기 용액에 가하여 중화시킨 다음, 동결 건조하였다.

본 발명의 합성된 다중블록 공중합체의 양 말단은 핵자기 공명법(nuclear magnetic resonance, NMR)으로 확인할 수 있다. 상기 합성된 다중블록 공중합체를 트리메틸아민 존재하에서 트리메틸실릴클로라이드(TMS-Cl)와 반응시킨 후 핵자기 공명법으로 스펙트럼을 측정하였다. 상기 공중합체의 말단기가 히드록실기인 경우에는 트리메틸실릴 프로톤의 신호가 0.12 ppm에서 나타났으며, 말단기가 카르복실기인 경우에는 이 피크가 0.3 ppm에서 관찰되었다. 이러한 측정 방법을 이용하면, 상기 합성된 다중블록 공중합체의 말단기를 결정할 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체는 충분한 농도 및 특정 온도의 수용액에서 하이드로겔을 형성할 수 있다. 본 발명의 용어인 "졸-겔 상 전이(sol-gel phase transition)"는 특정 온도 이하에서는 유동액 상태로 존재하다가 온도가 특정 온도 이상으로 상승하면 겔 상태로 변하며, 상기 온도를 특정 온도 이하로 내리면 가역적으로 유동액 상태로 다시 변하는 것을 의미한다. 상기 겔화 온도는 고분자의 종류 및 분자량, 공중합체 수용액의 농도, 염의 존재 여부, 프로톤 농도 등에 따라 달라지며, 상기 특정 온도의 범위는 5 내지 37℃ 범위이다. 본 발명의 다중블록 공중합체는 증류수에 2 내지 40 중량%로 용해될 수 있고, 겔화 온도는 10 내지 50℃ 범위이다.

본 발명의 다중블록 공중합체는 폴록사머에 비해 약 10%의 낮은 농도에서도 겔 형성이 가능하여 체내 독성을 감소시킬 수 있으며, 겔화 온도 또한 폴록사머에 비하여 높기 때문에 주사시 용이하다. 본 발명의 다중블록 공중합체는 또한 PEO-PPO (또는 PBO)-PEO 단위를 다중블록화하여 분자량을 증가시킴으로써 생체내 또는 수용액에서 장기간 겔 상태를 유지할 수 있다. 그러므로, 본 발명의 다중블록 공중합체를 약물전달체로 이용할 경우, 1회 주사로 24시간 이상 지속적으로 약물을 방출할 수 있기 때문에 약물 방출 유지 기간이 짧은 종래의 폴록사머의 단점을 극복할 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체는 디카르복실기 링커의 에스테르 결합으로 인해 가수분해성이며, 이로 인해 분자량이 작은 PEO-PPO(또는 PBO)-PEO 블록 및 수용성이며 체내에서 쉽게 배출되는 디카르복시산으로 분해될 수 있다. 그러므로, 큰 고분자에 의해 초래되는 체내에서의 부작용을 줄일 수 있다. 상기 다중블록 공중합체의 분해 속도는 디카르복실기 링커의 수에 비례하므로 각 블록의 크기와 수를 조절하여 가수분해 속도 및 가수분해된 산물의 크기를 조절할 수 있다.

또한, 본 발명은 상기 생분해성 다중블록 공중합체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 상기 다중블록 고분자는 약물전달을 위한 전달체로 사용될 수 있다. 본 발명의 다중블록 공중합체의 하이드로겔은 약물전달체, 및 신체에 이식 또는 주사할 수 있으며, 바람직하게는 신체에서 약물을 지속적으로 방출시키기 위하여 사용될 수 있다.

약물을 본 발명의 다중블록 공중합체를 포함하는 용액 또는 혼탁액에 첨가하여 겔화 온도에서 약물을 겔에 내포시킨 후, 저온에서 수용액 상태로 생체내로 주사하였다. 이 후, 체온에서 겔 상태의 약물을 함유한 데포가 형성되고, 다중블록 공중합체의 디카르복실기 링커가 가수분해에 의해 분해되면 겔로부터 약물이 서서히 방출된다. 또한, 본 발명의 다중블록 공중합체를 수용액 또는 유기용매에 있는 약물과 함께 혼합한 다음, 마이크로스피어, 나노입자, 스트립, 필름 등의 형태로 가공하여 체내에 주사하는 약물전달체로 이용할 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체를 이용한 약물전달체로 이용할 수 있는 약물로는 어떤 종류의 약물도 가능하며, 예를 들어 비이온성 및 이온성 약물일 수 있다. 상기 약물은 미립자, 펩타이드, 단백질, 다당류, 뉴클레오티드 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게, 상기 약물은 이온성을 띠는 약물, 특히 자체 분자내에 많은 수의 카르복실기와 아미노이온기를 갖는 펩타이드 또는 단백질일 수 있다. 상기 펩타이드 또는 단백질의 예로는 성장호르몬 (growth hormone, GH), 인터페론 (interferon, IFN), 백혈구증식인자 (granulocyte colony stimulation factor, G-CSF), 거대백혈구증식인자 (granulocyte macrophage colony stimulation factor, GM-CSF), 적혈구생성단백질 (erythropoietin, EPO), 인터루킨 (interleukin, IL), 난포생성촉진호르몬 (fibroblast growth factor, follicle stimulating hormone, FSH), 신경성장인자 (nerve growth factor, NGF), 옥트레오티드 (octreotide), 인슐린, 인슐린 유사성장인자 (insulin-like growth factor, IGF), 칼시토닌 (calcitonin), 종양괴사인자 (tumor necrosis factor, TNF), 혈관생성인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 상피세포성장인자 (epidermal growth factor, EGF), 혈소판 성장인자 (platelet-derived growth factor, PDGF), 뼈형성인자 (bone morphogenetic protein, BMP), 혈전용해제 (tissue plasminogen activator, TPA), thrombopoietin (TPO), 조직성장인자 (tissue growth factor, TGF), 종양괴사인자 (tumor necrosis factor, TNF) 등을 들 수 있다. 상기 펩타이드 및 단백질은 천연, 가공, 자연, 당화 형태, 및 PEG, 생물학적 활성을 가진 단편 및 그의 유사체 등의 고분자를 가진 변형된 형태일 수 있다.

그러므로, 본 발명의 또 다른 실시태양은 본 발명의 다중블록 공중합체 및 약물을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물이다. 상기 약물은 0.01% 내지 50% 범위내로 포함할 수 있고, 상기 다중블록 공중합체 수용액은 상 전이를 보이는 한 약물전달체로 사용할 수 있으며, 바람직하게는 0.5 내지 50% 농도로 사용할 수 있다.

펩타이드 또는 단백질의 약물 전달체를 제조하기 위하여, 본 발명의 다중블록 공중합체를 수용액 상태로 만드는 것이 필요하며, 상기 다중블록 공중합체는 약 25℃ 정도의 상온에서는 잘 녹지 않지만, 약 4℃ 정도의 저온에서는 높은 용해도를 보이므로 상기 다중블록 공중합체를 저온에서 용해시키는 것이 바람직하다. 분자량에 따라 녹일 수 있는 다중블록 고분자의 양은 한정되어 있으나, 분자량 100,000 정도인 다중블록 공중합체의 경우 최대 30%, 바람직하게는 4 내지 20%까지 물에 용해시킬 수 있다. 따라서, 저온에서 펩타이드, 단백질 또는 수용성 약물을 다중블록 공중합체 수용액에 혼합한 후, 피하내 또는 경구로 투여하면 체온에서는 수용액이 하이드로겔 상태로 변하여 상기 펩타이드, 단백질 또는 수용성 약물을 서서히 방출시킬 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체를 이용한 마이크로스피어 또는 나노입자는 통상 알려진 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 상기 고분자를 메틸렌 클로라이드에 녹인 후 상온(37℃)의 물, 생리식염수, PBS 용액, 또는 상기 고분자가 0.1 내지 2% 녹아 있는 수용액에 침전시켜 제조할 수 있다. 또 다른 방법으로, 상기 다중블록 고분자를 동결 건조하여 얻은 고분자를 압출, 압착, 또는 밀착 성형방법으로 스트립 또는 막대를 제조하거나 또는 미리 결정된 온도(60℃ 내지 120℃)로 가열하여 필름 형태로 제조할 수 있다.

본 발명의 다중블록 공중합체에 PEG, 히알루로닉산, 텍스트란, 젤라틴, 콜라겐, 키토산, 폴록사머 407, 폴록사머 188, 메칠셀룰로오스 (MC), 에칠셀룰로오스 (EC), 하이드록시에칠셀룰로오스 (HEC), 메칠히드록시에칠셀룰로오스 (MHEC), 하이드록시메칠셀룰로오스, 하이드록시프로필메칠셀룰로오스 (HPMC), 및 하이드록시프로필셀룰로오스 등을 0.1 내지 50% 양으로 첨가하여 혼합형 졸-겔 데포형(so-gel depot type), 마이크로스피어, 나노스피어, 스트립, 막대, 또는 필름 형태로 제조하여 지속적으로 방출하는 약물전달체로 이용할 수 있다. 상기 혼합형 약물전달체를 제조하는 경우, 상기 고분자의 겔화 온도 또는 겔의 강도를 변화시킬 수 있다.

상기에서 언급한 약물의 체내로의 전달방법 및 투여 양은 약물의 약리활성, 체내 작용부위, 및 물리화학적 성질 등에 따라 달라질 수 있으며, 본 발명의 고분자의 물리화학적 성질 및 약물의 친수성/소수성은 조절 가능하다.

하기 실시예 및 실험예는 본 발명과 관련된 당업자들이 본 발명을 실시할 수 있도록 보다 명확하게 하기 위함으로, 이는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이하 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 또 다른 측면에 있어서, 본 발명은 본 발명과 관련된 당업자들에 의해 자명해 질 수 있다.

실시예

실시예 1. 숙시닐 디클로라이드 링커(succinyl dichloride linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

10g의 Pluronic® F127 (BASF; poloxamer 407)를 100 ml 플라스크에 자석 막대와 같이 넣고, 120℃로 가열한 기름 중탕에서 가열 및 감압(1 torr 이하)하면서 고분자에 포함된 수분을 2시간 동안 제거하였다. 감압을 해제시키고 질소를 흘려 주면서 반응 온도를 100℃로 설정한 다음, 100ml의 아세토니트릴을 플라스크에 첨가하였다. 반응 플라스크에 dean stark 와 냉각기를 설치하여 dean stark를 통해서 증류되어 나오는 20 ml의 아세토니트릴 반응물 내의 수분을 완전히 제거한 다음, dean stark 장치의 reservoir에 96μl(고분자를 기준으로 1 당량에 상응하는)의 숙시닐 디클로라이드를 첨가하여 24시간 반응시켰다. 24시간 반응 후, 합성된 다중블록 폴록사머-407의 말단기를 카르복실기로 치환하기 위하여 다시 dean stark 장치의 reservoir에 96μl의 숙시닐 클로라이드를 첨가하여 24시간 반응시켰다. 합성된 다중블록 폴록사머-407를 1L의 디에틸에테르에 침전시킨 후 여과하여 생성물 (8.2 g)을 수득하였다.

상기에서 수득된 생성물을 16ml의 메탄올에 용해시킨 후 디에틸에테르에 침전 및 여과시켜 2회 정제하고, 진공 건조시켜 분자량 분포가 좁은 다중블록 폴록사머 (5.7 g)을 얻었다.

상기 다중블록 폴록사머의 중량 평균 분자량이 90,700 달톤(Dalton)임을 GPC로 측정하였고, ¹H-NMR로 합성을 확인하였다 (도 1).

실험예 1. 다중블록 고분자의 말단기 분석

상기 실시예 1에서 합성된 다중블록 폴록사머의 말단기가 카르복실기로 치환되었는지 확인하기 위하여, 트리메틸실릴클로라이드 (TMS-Cl)와 상기 합성된 다중블록 폴록사머의 말단기를 반응시켜서 ¹H-NMR로 측정하였다.

(1) 폴록사머-407 디숙시네이트 합성

10g의 Pluronic® F127 (BASF; poloxamer 407)를 100 ml 1-구 둥근 바닥을 가진 플라스크에 자석 막대와 같이 넣고, 120°C로 가열한 기름 중탕에서 가열 및 감압(1 torr 이하)하면서 고분자에 포함된 수분을 2시간 동안 제거하였다. 감압을 해제시키고 질소를 흘려주면서 반응 온도를 50°C로 설정한 다음, 100ml의 아세트니트릴을 플라스크에 첨가하였다. 플라스크 반응기에 5ml의 숙시닐 디클로라이드를 첨가하여 24시간 동안 반응하였다. 생성물은 과량의 핵산에 침전시킨 후 여과하여 2회 정제한 후 진공 건조시켰다.

폴록사머 디숙시네이트는 $^1\text{H-NMR}$ 로 측정하여 확인하였다 (도 2).

(2) 다중블록 고분자의 말단기 분석

20mg의 폴록사머-407과 상기 실험예 (1)에서 합성된 20mg의 폴록사머-407 디숙시네이트를 각각 TMS-Cl (10 ul)와 반응시킨 후 $^1\text{H-NMR}$ 분석을 실시하였다. 이때, 촉매제로서 10ul의 피리딘을 첨가하여 분석하였다.

폴록사머-407의 말단기들은 모두 하이드록실기이므로, 모든 -OH기와 반응한 TMS-Cl의 트리메틸의 피크 위치 (0.12 ppm)를 확인하였다(도 3). 폴록사머-407 디숙시네이트의 말단기들은 모두 카르복실기이므로, -COOH기와 반응한 TMS-Cl의 트리메틸의 피크 위치(0.29 ppm)를 확인하였다 (도 4).

상기 데이터를 근거로 하여, 실시예 1에서 합성된 다중블록 폴록사머를 같은 방법으로 $^1\text{H-NMR}$ 분석을 실시하였다 (도 5). $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼을 보면, TMCS가 -COOH기와 반응하여 나타나는 피크만 보이고, TMCS가 -OH기와 반응하여 나타나는 위치에서는 피크를 관찰할 수 없었다. 상기 결과로부터, 실시예 1에서 합성된 다중블록 폴록사머-407의 말단기들은 모두 카르복실기로 치환되었음을 알 수 있다.

실시예 2. 옥살릴 디클로라이드 링커 (oxalyl dichloride linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

디카르복시산 링커로 옥살릴 디클로라이드를 사용한 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 옥살릴기로 연결된 다중블록 폴록사머를 합성하였다.

이렇게 얻어진 다중블록 폴록사머의 분자량은 91,300 달톤(Dalton)이었다.

실시예 3. 아디포일 디클로라이드 링커 (adipoyl dichloride linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

디카르복시산 링커로 아디포일 디클로라이드를 사용한 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 아디포일기로 연결된 다중블록 폴록사머를 합성하였다.

이렇게 얻어진 다중블록 폴록사머의 분자량은 96,300 달톤(Dalton)이었다.

실시예 4. 수베로일 디클로라이드 링커 (suberoyl dichloride linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

디카르복시산 링커로 수베로일 디클로라이드를 사용한 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 수베로일기로 연결된 다중블록 폴록사머를 합성하였다. 이렇게 얻어진 다중블록 폴록사머의 분자량은 97,800 달톤(Dalton)이었다.

실시예 5. 세바코일 디클로라이드 링커 (sebacoyl dichloride linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

디카르복시산 링커로 세바코일 디클로라이드를 사용한 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 세바코일기로 연결된 다중블록 폴록사머를 합성하였다. 이렇게 얻어진 다중블록 폴록사머의 분자량은 124,000 달톤(Dalton)이었다.

실시예 6. 도데카노일 디클로라이드 링커 (dodecanoyl dichloride linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

디카르복시산 링크로 도데카노일 디클로라이드를 사용한 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 도데카노일기로 연결된 다중블록 폴로사머를 합성하였다. 이렇게 얻어진 다중블록 폴로사머의 분자량은 104,000 달톤(Dalton)이었다.

실시예 7. 테레프탈로일 디클로라이드 링커 (terephthaloyl dichloride linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

디카르복시산 링크로 테레프탈로일 디클로라이드를 사용한 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 테레프탈로일기로 연결된 다중블록 폴로사머를 합성하였다. 이렇게 얻어진 다중블록 공중합체의 분자량은 87,000 달톤(Dalton)이었다.

실시예 8. 푸마르산 링커 (fumaric acid linkage)를 이용한 다중블록 고분자 합성

10g의 푸마르산과 22g의 옥살릴 클로라이드 (푸마르산의 2배 당량)을 50ml의 아세트니트릴과 50℃에서 6시간 동안 반응시켰다. 반응 후, 과량의 옥살릴 클로라이드를 진공 조건에서 푸마로일 클로라이드와 반응시켜 제거하였다. 이렇게 합성된 푸마로일 클로라이드 링커를 사용하여 실시예 1과 동일한 방법으로 푸마르산기가 연결된 다중블록 폴로사머를 합성하였다. 이로부터 수득된 다중블록 고분자의 분자량은 85,400 달톤(Dalton)이었다.

실시예 9. 말레익산 링커 (maleic acid linkae)를 이용한 다중블록 고분자 합성

말레익산을 사용하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 8과 동일한 방법으로 수행하였다. 이렇게 얻어진 다중블록 고분자의 분자량은 82,700 달톤(Dalton)이었다.

실시예 10. 말릭산 링커 (malic acid)를 이용한 다중블록 고분자 합성

말릭산을 사용하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 8과 동일한 방법으로 수행하였다. 이렇게 얻어진 다중블록 고분자의 분자량은 84,000 달톤(Dalton)이었다.

실시예 11. 말단기에 카르복시산 나트륨염기를 갖는 다중블록 고분자 합성

실시예 1에서 합성된 양 말단기에 카르복실기를 갖는 10g의 다중블록 폴로사머를 50ml의 아세트니트릴 용액에 용해시켰다. 여기에 탄산수소나트륨 수용액(1g/ml)을 천천히 첨가하면서 pH가 8이 되도록 중화시켰다. 중화된 용액을 회전증발기(rotary evaporator)를 이용하여 용매를 제거한 후, 남아있는 고분자에 50ml의 메틸렌클로라이드를 첨가하여 다시 용해시켰다.

반응되지 않은 탄산수소나트륨은 침전되고, 침전물은 여과하여 제거하였다. 고분자를 포함하는 여과된 메틸렌클로라이드 용액을 500ml의 디에틸 에테르로 침전시킨 후 여과하여 말단에 카르복시산 나트륨염기(sodium carboxylate salt)를 갖는 다중블록 고분자를 수득하였다.

실시예 12. 말단기에 SO₃Na를 갖는 다중블록 고분자 합성

실시예 1의 중간과정에서 얻어진 말단에 히드록실기를 갖는 10g의 다중블록 고분자를 1-구 플라스크에 넣고, 120℃에서 2시간 동안 진공 건조시켜 수분을 제거하였다. 반응 온도를 60℃로 내리고, 수득된 생성물을 50ml의 아세트니트릴 용액에 용해시켰다. 여기에 0.16 g의 설퍼트리옥사이드 피리딘 복합체를 첨가하여 용해시켰다. 상기 반응물을 자석 막대로 저어 주면서 10시간 동안 반응시킨 후, 얻어진 고분자 용액을 회전증발기(rotary evaporator)를 이용하여 용매를 제거하였고, 남아있는 고분자에 50ml의 메틸렌클로라이드를 첨가하여 용해시켰다.

반응되지 않은 설퍼트리옥사이드 피리딘 복합체는 침전되고, 침전물은 여과하여 제거하였다. 고분자를 포함하는 여과된 설퍼트리옥사이드 피리딘 복합체 용액을 500ml의 디에틸 에테르로 침전시킨 후 여과하여 말단에 SO₃Na기를 갖는 다중블록 고분자를 수득하였다.

실시예 13. 다중블록 고분자의 상 전이 온도 측정

10w/w%, 15w/w%, 및 20w/w% 다중블록 고분자 수용액 3ml을 제조하기 위하여, 3ml의 증류수에 실시예 1의 고분자 176mg, 353mg, 및 529mg을 첨가하고 4℃에서 2시간 동안 완전히 용해시켰다. 상기 다중블록 고분자 수용액의 점도는 Brookfield viscometer (model: RVDV II+)을 이용하여 측정되었고, 이로부터 상기 고분자의 상 전이 온도가 측정되었다 (도 6). 상기 15%의 폴록사머 407 수용액은 체내 온도인 37℃ 이상에서는 겔화되지 않았으며, 25%의 폴록사머 407 수용액은 17℃에서 겔화되었다. 반면, 10%의 다중블록 고분자 (약 100,000 달톤의 분자량을 가진) 수용액은 25.9℃에서, 15% 다중블록 고분자 수용액은 20.5℃에서 겔화되었다.

따라서, 본 발명의 고분자는 폴록사머 407에 비해 상대적으로 낮은 농도에서 겔화가 가능하며 겔화 온도도 높기 때문에 체내 주사시 유용하게 사용될 수 있다.

실시예 14. 생체내에서 15w/w% 다중블록 고분자 용액의 겔로부터 방출되는 인터페론- α

15MIU/ml 인터페론- α 용액 1.2ml에 1mg/ml 아세트산아연(zinc acetate) 용액 0.106ml을 넣고 pH를 5.0 내지 8.0으로 유지하여 인터페론- α -아연 복합체를 형성하였다. 상기 인터페론-아연 복합체 용액에 실시예 1의 다중블록 고분자 (분자량 90,700 달톤) 212mg (15 w/w%)을 넣고 4℃에서 3시간 이상 방치하여 인터페론 다중블록 고분자 용액을 제조하였다.

이 용액은 21℃에 방치하면 굳어져서 주사할 수 없는 형태로 변하였다.

이렇게 준비된 인터페론-다중블록 고분자 용액의 온도를 4℃로 유지하면서 주사기에 0.4ml(30MIU/rat)씩 주입한 후, 실험용 쥐 (SD rat 7 주령, 200~220g)의 피하에 주사하였다. 실험용 쥐의 피부 온도를 25℃로 낮추기 위해 얼음주머니를 약 5~8초 동안 투여 부위에 접촉하였다.

투여 후 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 및 6일에 걸쳐 꼬리정맥에서 400 μ l의 혈액을 채취한 후, 혈장을 분리하여 혈액 내 인터페론- α 의 농도를 ELISA kit를 이용하여 분석하였다. 그 결과, 상기 쥐에 투여한 5w/v% 다중블록 공중합체의 겔로부터 인터페론- α 가 투여 후 5일 이상 서서히 방출되었다 (도 7).

실시예 15. 생체내에서 20w/w% 다중블록 고분자 용액의 겔로부터 방출되는 인터페론- α

15MIU/ml 인터페론- α 용액 1.2ml에 1mg/ml 아세트산아연(zinc acetate) 용액 0.106ml을 넣고 pH를 5.0 내지 8.0으로 유지하여 인터페론-아연 복합체를 형성하였다. 상기 인터페론-아연 복합체 용액에 실시예 1의 다중블록 공중합체 (분자량 90,700 달톤) 300mg을 넣고 4℃에서 4시간 이상 방치하여 인터페론 다중블록 고분자 용액을 제조하였다. 상기 용액은 18℃가 되면 굳어져서 주사할 수 없는 형태로 변하였다. 상기 용액을 실시예 13과 동일한 방법으로 실험용 쥐에 주사하였고, 그 결과, 인터페론 또한 5일 이상 방출됨을 확인하였다 (도 7).

실시예 16. 생체내에서 15w/w% 다중블록 고분자 용액의 겔로부터 방출되는 인간성장호르몬 (HGF)

동결 건조된 2.07mg의 인간성장호르몬(HGF) 분말을 1.66ml의 주사용수에 용해시켜, 1.25mg/ml의 인간성장호르몬 용액을 제조하였다. 상기 인간성장호르몬 용액에 실시예 1의 다중블록 공중합체 (분자량 90,700 달톤) 293mg을 넣고 4℃에서 3시간 동안 방치하여 인간성장호르몬을 함유하는 15 w/w%의 공중합체 용액을 제조하였다. 상기 용액을 0.4ml(6IU/kg)씩 4℃에서 주사기에 넣고, 실험용 쥐 (7 주령, 200~220g) 피하에 실시예 13과 동일한 방법으로 투여하였다. 그 결과, 인간성장 호르몬이 6일 이상 방출됨을 확인하였다 (도 8).

실시예 17. 생체내에서 15w/w% 다중블록 고분자 용액의 겔로부터 방출되는 백혈구증식인자 (G-CSF)

생리식염수 또는 주사용수로 희석하여 100 μ g/ml 농도인 백혈구 증식인자 용액을 제조하였다. 상기 백혈구증식인자 용액에 실시예 1의 다중블록 공중합체 (분자량 90,700 달톤) 176mg을 넣고, 4℃에서 3시간 동안 방치하여 G-CSF를 함유하는 15 w/w%의 고분자 용액을 제조하였다. 상기 용액을 4℃에서 0.4ml씩 주사기에 넣어, 실험용 쥐에 실시예 13과 동일한 방법으로 투여하였다. 그 결과, 백혈구증식인자 (G-CSF)가 6일 동안 방출됨을 확인하였다 (도 9).

실시예 18. 생체내에서 15w/w% 다중블록 고분자 용액의 겔로부터 방출되는 폐길화된 백혈구증식인자 (pegylated G-CSF)

9mg/ml 농도의 PEG-G-CSF를 생리식염수에 희석하여 125 μ g/ml 농도가 되도록 하였다. 상기 용액에 실시예 1의 다중블록 공중합체(분자량 90,700 달톤) 317mg을 넣고, 4℃에서 3시간 동안 방치하여 온도에 따른 겔 전이를 보이는 폐길화된(pegylated) G-CSF 고분자 용액을 제조하였다. 상기 용액을 4℃에서 0.4ml씩 주사기에 넣고, 실시예 13과 동일한 방법으로 실험용 쥐에 투여하였다. 그 결과, 백혈구증식인자(G-CSF)가 8일 동안 방출됨을 확인하였다(도 10).

상기에서 설명된 실시예들은 단지 본 발명의 원리를 적용한 예에 불과하다. 많은 변형과 선택적인 실시예들은 본 발명의 정신 및 범위에 벗어나는 것 없이 유도될 수 있으며 첨부된 청구항은 이러한 변형 및 정렬과 일치한다. 그러므로, 본 발명이 도면에서 보여지듯이, 특히 보다 실용적이며 바람직한 실시예로 간주될 경우 이와 관련하여 보다 자세하게 설명할 경우, 청구항에서 설명하는 본 발명의 원리 및 개념으로부터 벗어나는 것 없이 당업계의 보통의 숙련자들에게 있어서 다양한 변형이 이루어질 수 있음은 자명하다.

도면의 간단한 설명

도 1은 실시예 1에 따른 다중블록 폴록사머(poloxamer)의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼이다.

도 2는 폴록사머 디숙시네이트(disuccinate)의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼이다(실험예 1).

도 3은 폴록사머 + (TMS-Cl/pyridine)의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼 이다(실험예 1).

도 4는 폴록사머 디숙시네이트 + (TMS-Cl/pyridine)의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼이다(실험예 1).

도 5는 다중블록 폴록사머 + (TMS-Cl/pyridine)의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼이다(실험예 1).

도 6은 다중블록 폴록사머의 졸-겔 상 전이 특징을 나타낸 그래프이다(실시예 13).

도 7은 본 발명의 하이드로겔로부터 인터페론- α (interferon- α)가 방출되는 양상을 나타내는 그래프이다(실시예 14 및 15).

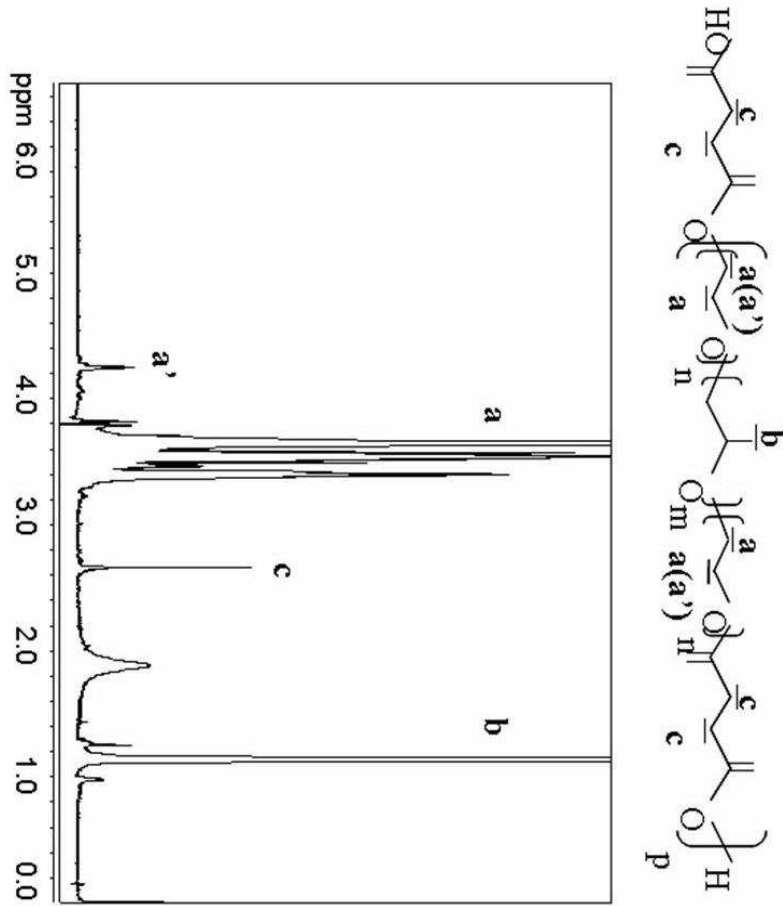
도 8은 본 발명의 하이드로겔로부터 인간성장호르몬(human growth factor)이 방출되는 양상을 나타내는 그래프이다(실시예 16).

도 9는 본 발명의 하이드로겔로부터 G-CSF가 방출되는 양상을 나타내는 그래프이다(실시예 17).

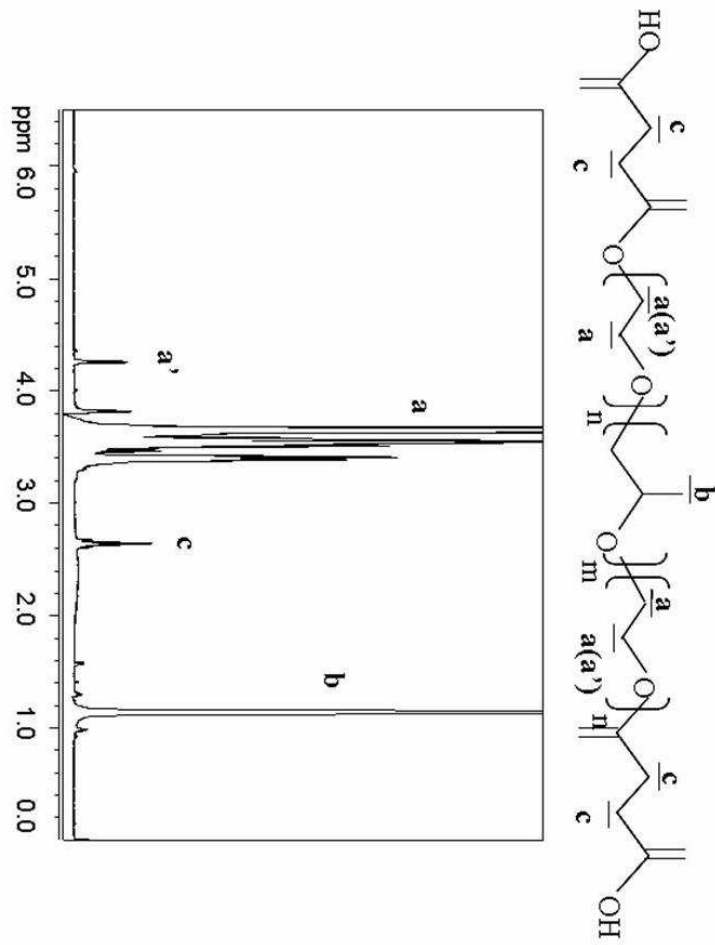
도 10은 본 발명의 하이드로겔로부터 폐길레이티드된 G-CSF(pegylated G-CSF)가 방출되는 양상을 나타내는 그래프이다(실시예 18).

도면

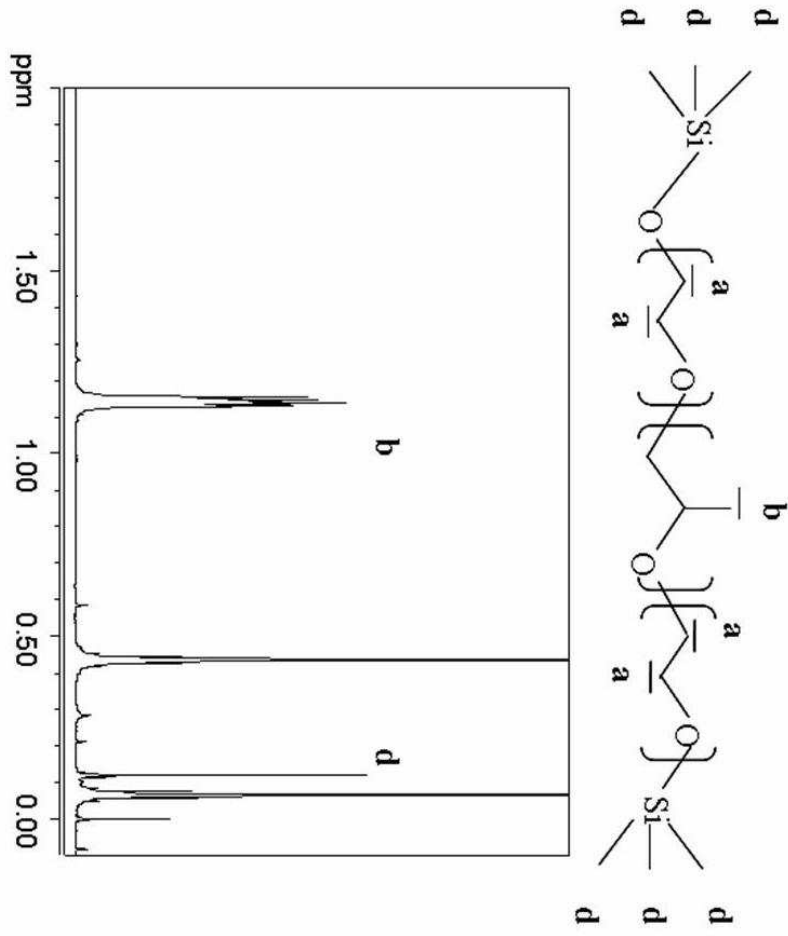
도면1



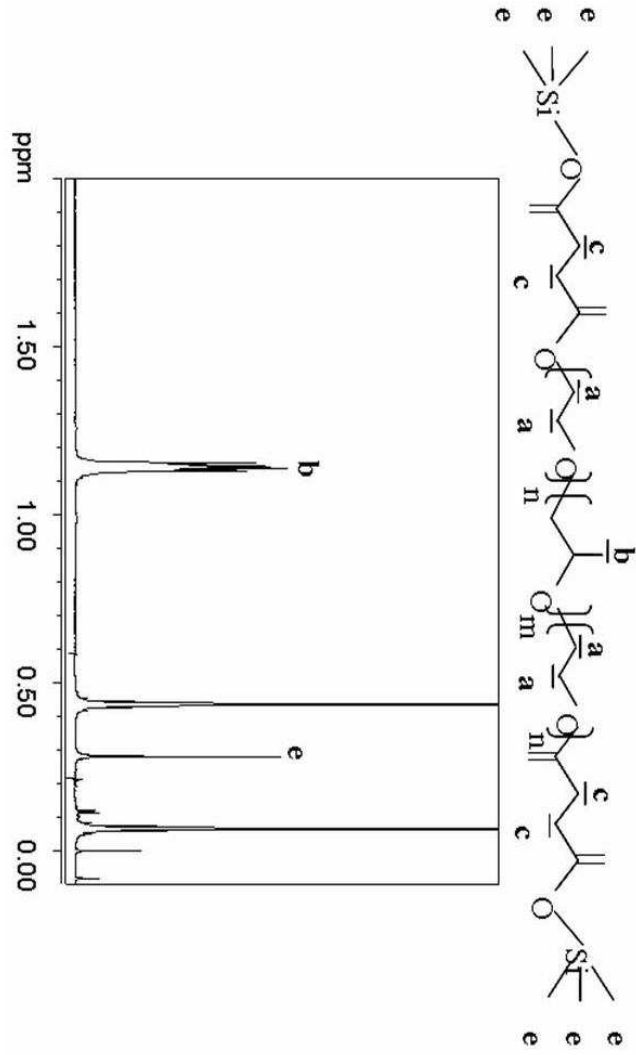
도면2



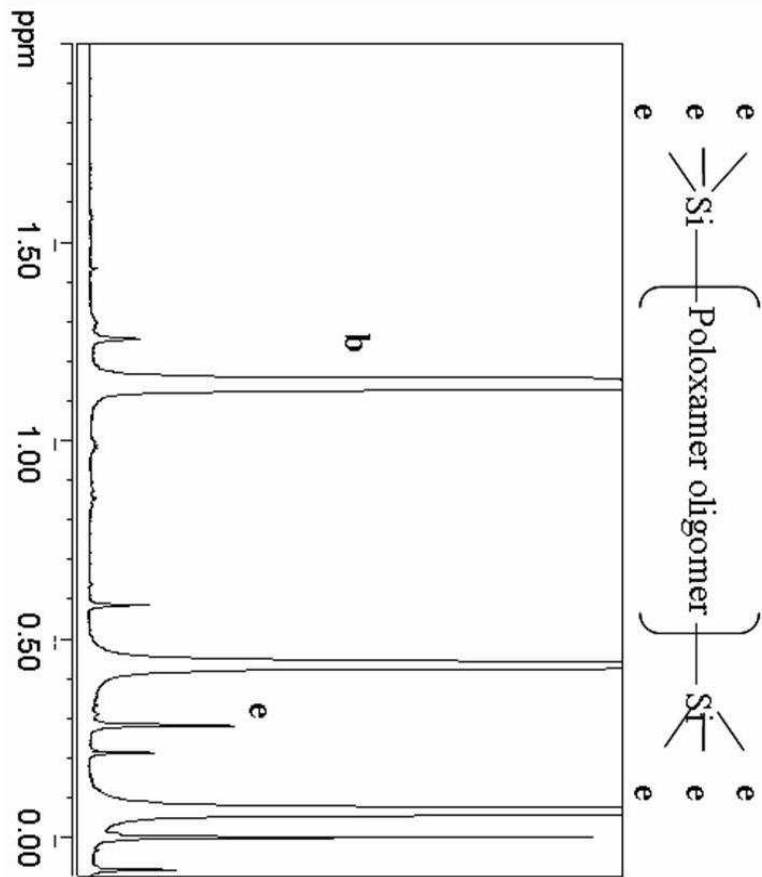
도면3



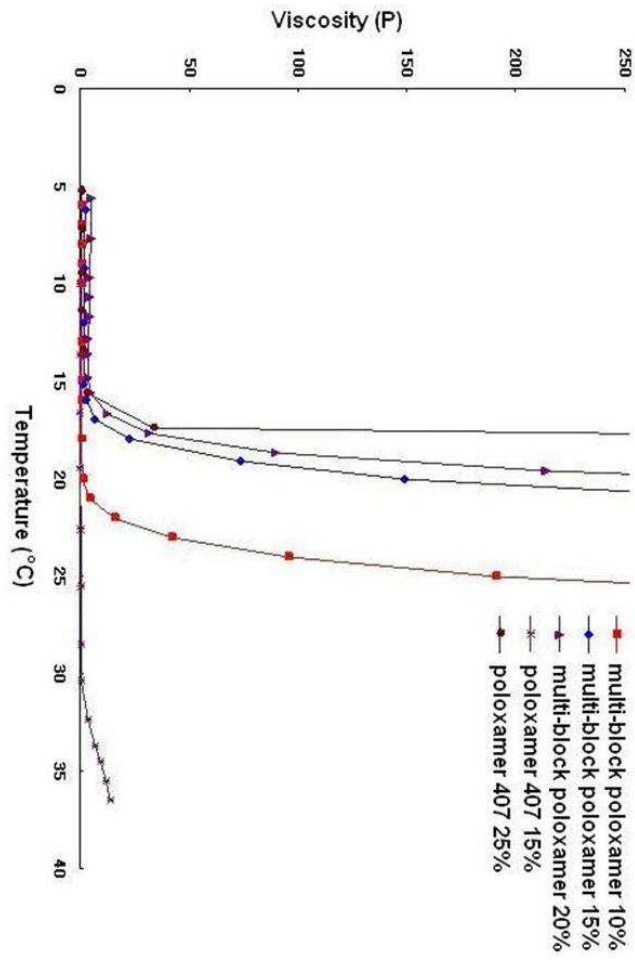
도면4



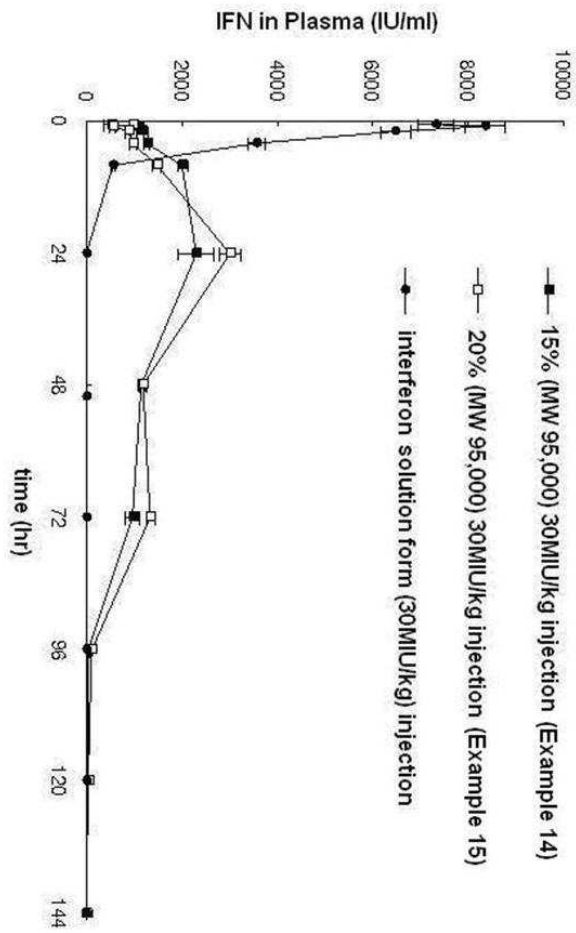
도면5



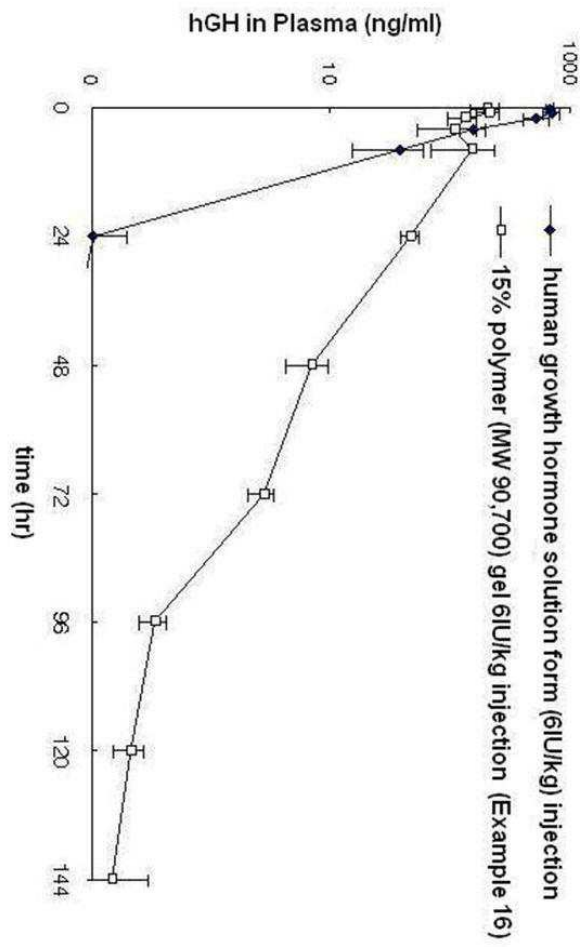
도면6



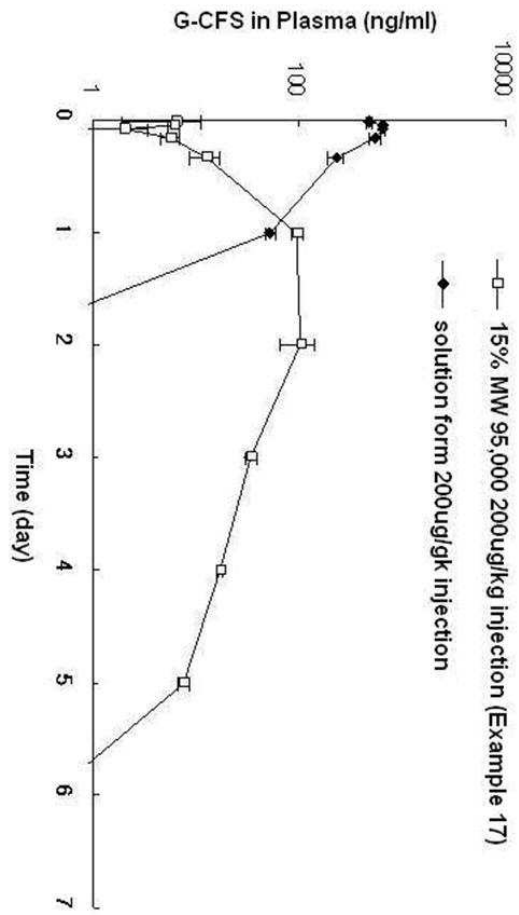
도면7



도면8



도면9



도면10

