

발명의 설명

발명의 명칭: 무세포 진피 기질을 포 함하는 저압출 조성물 및 그 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 무세포 진피 기질(Acellular dermal matrix, ADM)을 포함하는 저압출 조성물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 무세포 진피 기질은 주사 가능한 생물학적 조직 대체제 중의 하나로, 기존 조직의 재생을 촉진하여 결손부위를 복구함으로써 창상 치유뿐 아니라 연조직 보강에 사용되고 있다. 이러한 무세포 진피 기질은 주사제, 피복재, 접착제, 수술용 및 의료용 장치, 인공피부, 봉대, 발포제, 필름, 흡착방지제 또는 이식재 등 다양한 형태로 창상 치료용으로 적용된다.
- [3] 한편, 무세포 진피 기질을 주사제 형태로 사용하는 경우, 압출력이 높아 시술자가 컨트롤하기 어려우며 환자의 고통이 증가하여 순간적인 쇼크로 이어지는 문제점이 있었다. 이에 히알루론산과 같은 윤활제를 첨가하여 압출력을 낮추려는 시도가 있었으나 윤활제 성분으로 인해 사용에 제한이 따라 다양하게 적용하지 못하고 있다.
- [4] 따라서 기존에 사용되고 있는 윤활제를 대체하면서도 압출력을 감소시킬 수 있는 성분의 개발이 절실한 실정이다.

발명의 내용

기술적 과제

- [5] 본 발명의 목적은 상술한 바와 같은 문제를 해결하기 위해 도출된 것으로, 말티톨을 적용하여 기존 대비 압출력 특성을 감소시킨 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물 및 그 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [6] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명의 일 실시예에 따른 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물은 무세포 진피 기질 100중량부, 물 100~3000중량부 및 말티톨 1~1000중량부를 포함한다.
- [7] 본 발명의 다른 실시예에 따른 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조방법은 (a) 탈표피, 탈지방 및 탈세포화된 인체 유래 무세포 진피 기질을 제조하는 단계, (b) 상기 무세포 진피 기질에 말티톨 용액을 첨가하여 침투시키는 단계, (c) 상기 침투가 완료된 무세포 진피 기질을 동결건조한 후 분쇄하는 단계 및 (d) 상기 분쇄된 무세포 진피 기질에 물을 부가하여 수화 및 페이스트화하는 단계를 포함한다.

발명의 효과

- [8] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물은 말티톨을 1~1000중량부로 적용함으로써 평균 압출력을 낮춰 기술의 편리성 및 안전성을 향상시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [9] 도 1 및 도 2는 본 발명의 다른 실시예에 따른 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조방법을 설명하기 위한 공정도이다.
- [10] 도 3은 실험예 1에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.
- [11] 도 4 내지 도 6은 실험예 2에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.
- [12] 도 7은 ADM과 정제수의 혼합물을 나타낸 사진이고, 도 8은 실험예 3에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [13] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현 예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허 청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.
- [14] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(Terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로써, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 “포함”한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [15] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 '%'는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 %(w/w), 고체/액체는 %(w/v), 그리고 액체/액체는 %(v/v)이다.
- [16]
- [17] 이하, 본 발명의 일 실시예에 따른 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물을 상세하게 설명한다.
- [18] 본 실시예의 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물은 무세포 진피 기질, 물 및 말티톨을 포함한다. 본 실시예에서는 100N 이상으로 비교적 높던 압출력을 본 발명에서 윤활유 역할의 말티톨을 적용함으로써 압출력을 20N 이하로 낮춰 기술의 편리성과 안전성을 향상시켰다. 즉, 사람 개인별 차이가 발생할 수 있으나 본 발명은 일반적으로 막힘없이 주입이 가능한 수준 인 압출력 20N 이하를 달성할 수 있었다.

- [19] 무세포 진피 기질(Acellular dermal matrix, ADM)은 기존 동물유래 제품에 비해 높은 세포부착 능력과 낮은 면역반응으로 생체적 합성이 뛰어나 성형외과 및 정형외과에서 피부, 건, 인대의 재건 및 재생, 강화 목적으로 널리 사용하는 성분이다. 이러한 무세포 진피 기질은 100중량부로 포함될 수 있다.
- [20] 물은 수화를 위해 첨가하는 성분으로, 무세포 진피 기질 100중량부에 대해 100~3000중량부로 포함될 수 있는데, 이는 물이 100중량부 미만이면, 무세포 진피 기질과 말티톨을 수화시키기 어려울 수 있고, 3000중량부를 초과하면, 필요 이상의 사용으로 원하는 제형 구현이 어려울 수 있다.
- [21] 말티톨(Maltitol)은 윤활제 역할을 하는 성분으로 실린지 내의 압출력 감소 및 조직의 갈변 현상을 방지하며, 무세포 진피 기질 100중량부에 대해 1~1000중량부로 포함될 수 있는데, 이는 말티톨이 1중량부 미만이면 압출력 감소에 미치는 영향이 미미할 수 있고, 1000중량부를 초과하면, 필요 이상의 첨가로 인한 압출력 감소 효과는 그다지 크지 않을 수 있다.
- [22] 본 실시예에서는 저장성 용액, 등장성 용액, 완충용액, 계면활성제, 글리세롤 및 프로필렌 글리콜 중에서 선택되는 하나 이상의 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 첨가제는 탈세포 시약으로 50ppm이하로 관리되는 것이 바람직하기 때문에 무세포 진피 기질 100중량부에 대해 0.00001~0.00125중량부로 포함될 수 있다.
- [23] 본 실시예에서 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물은 주사제, 피복재, 접착제, 수술용 및 의료용 장치, 인공피부, 붕대, 발포제, 필름, 흡착방지제 또는 이식재로 사용할 수 있음은 물론이다.
- [24] 한편, 본 발명의 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물을 체내에 주입하게 되면 지지대(Scaffold) 역할을 함으로써 몸 속 세포와 성장인자를 활성화시켜 연부조직의 재생뿐 아니라 회복 및 강화를 돕기 때문에 내·외과적 처치 및 수술 시 결손 또는 손상된 근육, 생체막, 인대, 건의 회복과 재생 목적으로 사용 가능하다. 여기서, 연부조직(soft tissue)이라 함은 근육, 인대, 지방, 혈관, 신경, 힘줄, 섬유조직, 활막조직 등을 지칭하며, 신체의 결합조직 중에서 딱딱한 조직, 즉 연골(cartilage)과 뼈(bone), 그리고 혈액과 조혈조직(hemopoietic tissue)을 제외한 나머지를 통틀어 일컫는다.
- [25]
- [26] 이하, 본 발명의 다른 실시예에 따른 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조방법을 도면에 따라 상세하게 설명한다.
- [27] 도 1 및 도 2는 본 발명의 다른 실시예에 따른 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조방법을 설명하기 위한 공정도이다.
- [28] 도 1 및 도 2를 참조하면, 우선 탈표피, 탈지방 및 탈세포화된 인체 유래 무세포 진피 기질을 제조한다(S10).
- [29] 무세포 진피 기질은 별도의 탈표피 및 탈지방 공정을 수행하지 않은 인체 유래 피부 조직을 준비하는 단계(S11), 상기 피부 조직을 계면활성제가 포함된 저장성

용액으로 처리하는 단계(S12), 및 상기 처리가 완료된 피부 조직을 등장성 용액으로 세척하는 단계(S13)에 의해 제조될 수 있다.

- [30] 예컨대, 계면활성제는 이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제, 양친성 계면활성제, 비람직하게는 SDS(sodium dodecyl sulfate)일 수 있다. 저장성 용액은 Tris-HCl, EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid) 및 NaOH(sodium hydroxide) 중에서 선택되는 하나 이상, 비람직하게는 0.1~1.5M EDTA를 포함할 수 있으며, 삼투물농도(osmolality)는 270 mOsm/L 이하일 수 있다. 등장성 용액은 Tris-HCl, EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid), NaOH(sodium hydroxide) 및 NaCl(sodium chloride) 중에서 선택되는 하나 이상일 수 있고, 삼투물농도(osmolality)는 270~300 mOsm/L일 수 있다.
- [31] 본 발명에서 삼투물농도(osmolality)라 함은 용액의 부피당 삼투 농도의 표현(mOsm/L)으로 체내 혈장 및 기타 체액 삼투물농도는 270~300 mOsm/L이다.
- [32] 상기 S12단계와 S13단계 사이 및 상기 S13단계 이후에 피부 조직을 완충용액으로 세척하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 이때 완충용액은 PBS(phosphate buffer saline, 인산완충용액), 증류수, 생리 식염수, HBSS(Hank's balanced salt solution), TBS(Tris buffered saline), TAPS(N-Tris(hydroxymethyl)methyl-3-aminopropanesulfonic acid), Bicine(N,N-Bis(2-hydroxyethyl) glycine), HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), TES(NTris(hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid), PIPES(piperazine- N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid), 소듐 카코딜레이트(sodium cacodylate), 칼륨 카코딜레이트(potassium cacodylate), MES(2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid), MEM(Minimum Essential Media), DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Media), RPMI1640, IMDM(Iscove's Modified Dulbecco's Media), Keratinocyte- SFM(without BPE(bovine pituitary extract)), Keratinocyte-SFM(with BPE), KnockOut DMEM, AmnioMAX-II Complete Medium 및 AmnioMAX-C100 Complete Medium 중에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [33]
- [34] 그 다음, 무세포 진피 기질에 말티톨 용액을 첨가하여 침투시킨다(S20).
- [35] 상기 S10단계에서 제조된 무세포 진피 기질 100중량부에 말티톨 용액 20~40중량부로 첨가하여 10~30시간 동안 3~5°C의 저온반응기에서 침투시킬 수 있다. 상기 말티톨 용액이 20중량부 미만으로 첨가되면, 무세포 진피 기질에 침투되는 말티톨의 함량이 낮아져 압출력 감소 효과가 미미할 수 있고, 40중량부를 초과하면, 무세포 진피 기질에 침투되는 말티톨의 함량은 높아지나 그에 따른 압출력 감소 효과가 미미할 수 있다. 상기 침투시간이 10시간 미만이면, 무세포 진피 기질에 말티톨 침투율 개선효과가 미미할 수 있고, 30시간을 초과하면, 초과한 시간에 따른 효과는 그다지 크지 않을 수 있다.
- [36] 본 실시예에서 말티톨 용액은 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 완충용액이 혼합된 혼합용액에 말티톨이 20~40% 농도, 비람직하게는 25~35% 농도로 포함된 것일 수 있다. 상기 언급된 말티톨의 농도는 무세포 진피 기질에 침투되는 말티톨의 함량이 고려된 것일 수 있다. 상기 혼합용액은 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및

완충용액이 1: 0.1~2: 7~9중량비로 혼합된 것일 수 있다. 완충용액에 대해서는 상기에서 구체적으로 설명하였으므로 생략하기로 한다.

[37]

[38] 그리고, 침투가 완료된 무세포 진피 기질을 동결건조한 후 분쇄한다(S30).

[39] 단축과 장축의 비율이 1: 1~2,000인 것의 비율이 70% 이상이 되도록 커팅밀(Cutting mill), 푸드프로세서(Food processor), 마노 분쇄기 및 동결 분쇄기 중에서 선택되는 하나 이상의 분쇄기를 사용하여 섬유화 형태로 분쇄할 수 있다. 본 실시예에서 장축 길이는 10~2,000 μ m 범위일 수 있다. 상기 언급한 단축과 장축의 비율 또는 장축 길이를 벗어나는 경우 하기 후술할 페스트화하였을 때 본 실시예에서 요구되는 점도 및 흐름성 구현이 어려울 수 있다.

[40]

[41] 마지막으로, 분쇄된 무세포 진피 기질에 물을 부가하여 수화 및 페이스트화한다(S40).

[42] 상기 S30단계에서 분쇄된 무세포 진피 기질 100중량부에 물 100~2500중량부를 부가하여 수화 및 페이스트화할 수 있다. 상기 물의 함량이 100중량부 미만이면, 말티톨이 침투되어 있는 무세포 진피 기질을 수화시키기 어려울 수 있고, 2500중량부를 초과하면, 필요이상의 사용으로 원하는 제형 구현이 어려울 수 있다.

[43]

[44] 상기 S40단계 이후에 페이스트화된 무세포 진피 기질에 11~30kGy 범위의 선량으로 방사선(E-beam)을 조사하여 멸균하는 단계(S50)를 더 포함할 수 있다.

[45] 상기 S40단계에서 페이스트화된 무세포 진피 기질을 실린지에 충전한 후 11~30kGy 범위 선량으로 방사선(E-beam)을 조사하여 멸균을 실시할 수 있는데, 상기 선량이 30kGy를 초과하면, 인체조직의 경우 비교적 높은 선량으로 인해 조직의 변성 및 구조가 파괴될 수 있다. 본 실시예에서는 상기 언급한 선량 범위로 방사선을 조사하여 인체조직의 파괴 및 변성은 최소화하면서 균만 사멸할 수 있다.

[46]

[47] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[48]

[49] 제조예 1. 무세포 진피 기질 제조

[50] EURO skin bank, Allosource, CTS로부터 피부 조직을 구입하여 두께가 1 mm 이상인 조직을 선별하고, 피부 조직에 붙어 있는 지방조직을 겸자(Forceps)를 이용하여 제거한 후, 무균수로 3회 세척하였다. 그 다음, 저장성 용액(Tris-Hcl, EDTA, NaOH 및 SDS)에 침지시켜 6시간 동안 처리하였다. 그리고 피부 조직을 4°C에서 PBS 세척하여 피부조직에 잔존하는 지방, 표피, 세포 및 저장성 용액을 제거하고

overnight한 후, 등장성 용액(Tris-HCl, EDTA, NaCl, NaOH)으로 6시간 동안 세척하여 탈표피, 탈지방 및 탈세포화된 인체 유래 무세포 진피 기질을 제조하였다.

[51]

[52] 제조예 2 내지 7. 말티톨 용액 제조

[53] 글리세롤(Sigma, 미국), 글리콜(Sigma, 미국) 및 인산완충용액(Gibco, 미국)이 1:1:8 중량비로 혼합된 혼합용액에서 말티톨 농도가 하기 표 1의 범위가 되도록 제조하였다.

[54] [표1]

구분	말티톨 농도(%)
제조예 2	0
제조예 3	7.15
제조예 4	14.3
제조예 5	17.9
제조예 6	21.45
제조예 7	25

[55]

[56] 실시예 1 내지 16. 저압출 조성물 제조

[57] 제조예 1에서 제조된 무세포 진피 기질에 말티톨 용액을 첨가하여 4°C의 저온 반응기에서 침투시켰다. 그리고, 타이백(고려신소재, 한국)에 넣고 진공 5 torr인 동결건조기에서 24시간 동안 동결건조시킨 후 커팅밀(Pulverisette19, FRITSCH, 독일)을 사용하여 분쇄하였다. 그 다음 분쇄된 무세포 진피 기질 1g에 증류수 3cc 첨가하여 실온에서 교반기로 혼합하고 실린지에 담아 P.E.T tray 및 타이백 이중 포장 후 11~30kGy 선량으로 방사선(E-beam)을 조사하고 멸균하여 저압출 조성물을 제조하였다(이하, 'ADM 조성물 또는 ADM'이라 함).

[58] [표2]

구분	말티톨 함량	말티톨 침투 시간	멸균 유무
실시예 1	제조예 2	12	O
실시예 2	제조예 3	12	O
실시예 3	제조예 4	12	O
실시예 4	제조예 6	12	O
실시예 5	제조예 2	24	X
실시예 6	제조예 3	24	X
실시예 7	제조예 4	24	X
실시예 8	제조예 5	24	X

실시예 9	제조예 6	24	X
실시예 10	제조예 7	24	X
실시예 11	제조예 2	24	O
실시예 12	제조예 3	24	O
실시예 13	제조예 4	24	O
실시예 14	제조예 5	24	O
실시예 15	제조예 6	24	O
실시예 16	제조예 7	24	O

[59]

[60] 실시예 17 내지 22. 저압출 조성물 제조

[61] 실시예 13에 따른 ADM과 정제수를 하기 표 3에 도시된 중량 비율로 혼합하여 저압출 조성물을 제조하였다(이하, 'ADM 조성물 또는 ADM'이라 함).

[62] [표3]

구분	ADM 1 중량부 당 정제수 함량(중량부)
실시예 17	50
실시예 18	20
실시예 19	10
실시예 20	3
실시예 21	2
실시예 22	1

[63]

[64] 비교예 1: DMSO 처리군

[65] 비교예 2: ADM 0% (only media)

[66]

[67] 실험예 1: 말티톨 정량분석

[68] 실시예 1 내지 16에 따른 ADM 조성물 내 말티톨의 함량을 측정하여 표 4의 말티톨 함량(%)로 나타내었다. 이중 실시예 1 내지 실시예 4에 따른 ADM 조성물의 시료사진 및 검출된 말티톨 함량을 도 3에 나타내었다.

[69] 도 3 및 표 4를 참조하면, 본 발명에 따라 제조된 ADM 조성물은 말티톨 침투 12 시간과 24시간 조건 모두에서 말티톨이 검출됨을 확인할 수 있었다.

[70] 도 3 및 도 4를 참조하면, ADM 조성물 내 말티톨의 농도가 높아짐에 따라 조직 파우더 내 잔류하는 말티톨의 함량이 높아져 압출력에 영향을 주는 것을 확인할 수 있었으며, 실시예 1에서 실시예 4로 갈수록 압출력이 낮아지는 것으로 확인되는 바, 말티톨의 함량에 따라 평균 및 최대 압출력이 낮아지는 것을 알 수 있었다.

[71]

[72] 실험예 2: 말티톨 유/무 및 함량에 따른 압출력 평가

[73] 말티톨 유/무 및 함량에 따른 압출력 특성을 확인하기 위하여 실시예 1 내지 16에 따른 ADM 조성물을 3cc 주사기(Needle: 18G)에 넣고 UTM(Universal Testing Machine)을 이용하여 50 mm/min속도 및 일정한 힘으로 주사기로부터 시약을 압출하였으며, 그 결과는 표 4, 및 도 4 내지 6에 나타내었다. 이때, 평균값은 시약을 연속적으로 압출하는 총 시간 구간에서 나타난 압출력의 평균값으로, 최대값은 시약을 연속적으로 압출하는 총 시간 구간에서 나타난 압출력의 최대값으로 나타내었다.

[74] [표4]

구분	압출력 평균 값/최대값(N)	말티톨 함량 (%)	구분	압출력 평균 값/최대값(N)	말티톨 함량 (%)
실시예 1	55.2/157.3	불검출	실시예 9	2.01/3.85	17.16
실시예 2	4.57/11.44	6.23	실시 예 10	1.85/3.34	19.10
실시예 3	2.86/6.30	9.79	실시 예 11	50.2/139.5	불검출
실시예 4	2.85/6.23	10.68	실시 예 12	3.84/12.50	4.74
실시예 5	2.83/4.18	불검출	실시 예 13	2.02/7.94	7.49
실시예 6	2.20/3.90	4.74	실시 예 14	1.80/4.95	13.74
실시예 7	1.44/3.66	7.49	실시 예 15	1.46/3.48	17.16
실시예 8	1.94/3.90	13.74	실시 예 16	1.16/3.31	19.10

[75] 표 4, 도 4 내지 6을 참조하면, ADM 조성물 내 말티톨의 농도가 높아짐에 따라 조직 파우더 내 잔류하는 말티톨의 함량이 높아져 압출력이 낮아지도록 영향을 주는 것을 확인할 수 있었다.

[76] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 저압출 조성물은 말티톨 용액을 12시간 (overnight) 동안 침투 처리한 경우와 24시간 동안 침투 처리한 경우 모두 압출력이 20N 이하로 나타남을 확인할 수 있었다.

- [77] 또한, 도 5에 도시된 실시예 5 내지 10을 참조하면 멸균 전에는 말티톨 포함 유무에 따라 유의미한 차이가 발생하지 않았으나, 도 6에 도시된 실시예 11 내지 16과 같이 제품화를 위한 멸균 후에는 말티톨 포함 유무에 따라 유의미한 차이가 발생하였음을 확인할 수 있었다. 또한, 말티톨이 포함되지 않는 경우에 해당하는 실시예 5 및 실시예 11을 참조하면 멸균 과정에서 압출력이 급격하게 상승하지만, 말티톨이 포함되는 경우에 해당하는 실시예 6 내지 10 및 실시예 12 내지 16을 참조하면 멸균을 수행한 후에도 압출력이 20N 이하로 유지됨을 확인할 수 있었다.
- [78] 즉, 멸균처리되고 말티톨을 포함하지 않는 실시예 1 및 11의 ADM 조성물은 평균값과 최대값 모두 20N을 초과하는 압출력이 확인되었으나, 멸균처리되고 말티톨을 포함하는 실시예 12 내지 실시예 16의 ADM 조성물은 모두 20N 미만의 압출력이 확인되었다. 즉, 본 발명의 말티톨 용액의 농도가 0% 초과 25% 이하 범위에서 압출력이 유의미하게 낮게 나타남을 확인할 수 있었다.
- [79] 또한, 일반적으로 멸균 과정에서 ADM 조성물의 평균 압출력이 높아지게 되는 데, 실시예 14 내지 실시예 16은 오히려 평균 압출력이 낮아지는 결과를 확인할 수 있었다.
- [80]
- [81] **실험예 3: 창상 치유 평가**
- [82] 본 발명의 실시예에 따라 제조된 ADM의 함량에 따른 창상 치유 효과를 확인하기 위해 실시예 17 내지 실시예 22을 이용하여 피부 섬유아세포(HDF, Human Dermal Fibroblast)의 이동능을 Scratch assay를 통해 평가하였다.
- [83] Scratch를 생성한 후, 20시간의 경과에 따른 Scratch 부위로의 세포 이동을 관찰하였으며, 그 결과는 도 7 및 도 8에 나타내었다.
- [84] 도 7 및 도 8을 참조하면, DMSO 처리군에서는 세포가 죽어 성장하지 않으나 ADM 처리군에서는 창상 치유 효과가 있는 것으로 확인되었다. 즉, 본 발명의 실시예에 따라 제조된 ADM과 정제수 비율이 1:1~50 모든 범위에서 창상 치유 효과가 있는 것으로 확인되었다. 이 중에서도 1:2~50 범위에서 우수한 효과가 확인되었고, 1:3~1:20 범위에서 매우 우수한 효과가 확인되었다.
- [85]
- [86] 이상에서 본 발명의 예시적인 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.
- [87] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 본 발명에 도입된다.

청구범위

- [청구항 1] 무세포 진피 기질 100중량부;
물 100~3000중량부; 및
말티톨 1~1000중량부;를 포함하는, 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출
조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
압출력이 20N 이하인, 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물.
- [청구항 3] (a) 탈표피, 탈지방 및 탈세포화된 인체 유래 무세포 진피 기질을 제조하는
단계;
(b) 상기 무세포 진피 기질에 말티톨 용액을 첨가하여 침투시키는 단계;
(c) 상기 침투가 완료된 무세포 진피 기질을 동결건조한 후 분쇄하는 단계;
및
(d) 상기 분쇄된 무세포 진피 기질에 물을 부가하여 수화 및 페이스트화하
는 단계;를 포함하는, 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조
방법.
- [청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 (b)단계에서 말티톨 용액은 무세포 진피 기질 100중량부에 20~40중
량부로 첨가하는 것이고, 침투는 10~30시간 동안 실시하는, 무세포 진피
기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조방법.
- [청구항 5] 제3항에 있어서,
상기 (b)단계에서 말티톨 용액은 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 완충용액
이 혼합된 혼합용액에 말티톨이 20~40% 농도로 포함된 것인, 무세포 진피
기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조방법.
- [청구항 6] 제3항에 있어서,
상기 (c)단계에서 분쇄는 단축과 장축의 비율이 1: 1~2,000인 것의 비율이
70% 이상 되도록 실시하는 것인, 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조
성물의 제조방법.
- [청구항 7] 제3항에 있어서,
상기 (d)단계에서 물은 분쇄된 무세포 진피 기질 100중량부에 100~2500중
량부로 부가하는 것인, 무세포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물의 제
조방법.
- [청구항 8] 제3항에 있어서,
상기 (d)단계 이후에 (e) 상기 페이스트화된 무세포 진피 기질에 11~30kGy
범위의 선량으로 방사선을 조사하여 멸균하는 단계를 더 포함하는, 무세
포 진피 기질을 포함하는 저압출 조성물의 제조방법.