



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0000944  
(43) 공개일자 2021년01월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/51 (2006.01) A61K 41/00 (2020.01)  
A61K 47/20 (2017.01) A61K 47/34 (2017.01)  
A61K 9/06 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/5146 (2013.01)  
A61K 41/0057 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0076252

(22) 출원일자 2019년06월26일  
심사청구일자 2019년06월26일

(71) 출원인

울산과학기술원

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

권태혁

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

이채규

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

김병수

서울특별시 서대문구 수색로6길 43, 106동 403호  
(남가좌동, 래미안남가좌2차아파트)

(74) 대리인

특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 11 항

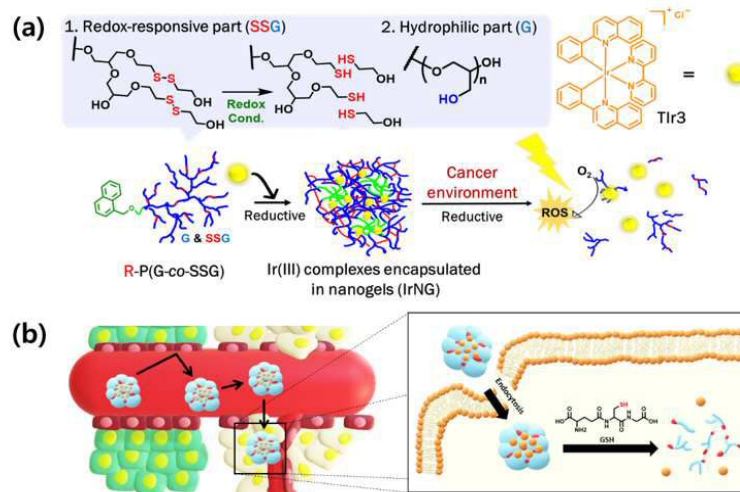
(54) 발명의 명칭 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤

(57) 요약

본 발명은 광역동 치료용 물질에 관한 것으로서, 본 발명의 일 측면에 따르는 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤은, 브랜치드 카본 체인 골격 구조의 화합물을 포함하고, 상기 브랜치드 카본 체인은, 주사슬 내에 다이설파이드 및 에터 작용기를 포함하고, 각각의 가지사슬 내에 에터 작용기를 포함하며, 골격 구조의 말단에 C<sub>6</sub>-C<sub>50</sub>의 방향족 탄소고리 또는 하이드록시기를 포함한다.

본 발명을 통해 제안된 광역동 치료용 물질을 이용할 경우, 어두운 환경에서 세포생존율이 증가하고, 방향족 탄소고리의 소수성 조절을 통한 이리듐 복합체의 적재량이 조절 가능해지는 이점이 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 47/20* (2013.01)

*A61K 47/34* (2013.01)

*A61K 9/06* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

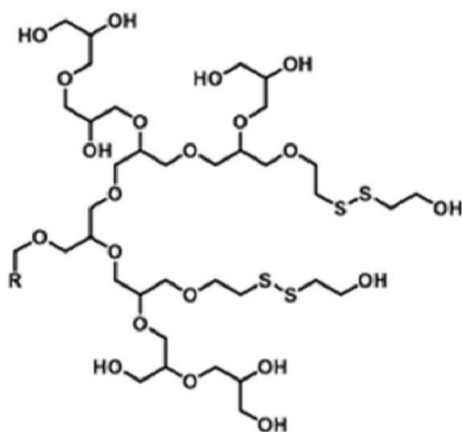
브랜치드 카본 체인 골격 구조의 화합물을 포함하고,  
상기 브랜치드 카본 체인은,  
주사슬 내에 다이설파이드 및 에터 작용기를 포함하고,  
각각의 가지사슬 내에 에터 작용기를 포함하며,  
골격 구조의 말단에 C<sub>6</sub>-C<sub>50</sub>의 방향족 탄소고리 또는 하이드록시기를 포함하는,  
광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,  
상기 화합물은 폴리글리세롤 작용기를 포함하는 것인,  
광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤.

#### 청구항 3

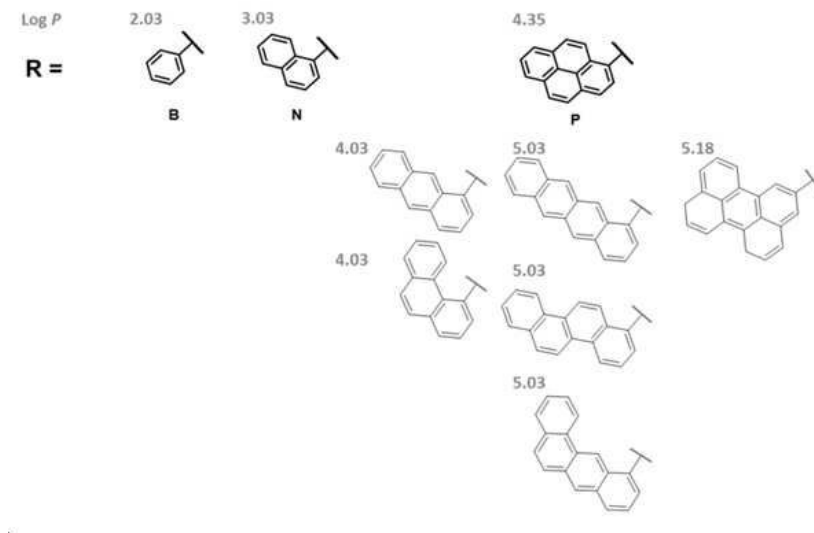
제1항에 있어서,  
상기 화합물은, 하기 화학식 1을 포함하는 것인,  
광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 화합물.  
[화학식 1]



R: 방향족 탄소 고리

#### 청구항 4

제1항에 있어서,  
 상기 방향족 탄소 고리(R)는,  
 하기 화학식 2에서 선택되는 하나인 것인,  
 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 화합물.  
 [화학식 2]



#### 청구항 5

제1항에 있어서,  
 상기 나노젤은, 20 nm 내지 60 nm 크기의 유체역학적 직경이 형성된,  
 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,  
 상기 나노젤은 10 중량% 이상의 담지 용량을 가지는 것인,  
 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤.

#### 청구항 7

제1항에 있어서,  
 상기 나노젤은 25 중량% 이상의 담지 용량을 가지는 것인,  
 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤.

#### 청구항 8

제1항에 있어서,  
 상기 나노젤은 글루타티온(Glutathione)에 의해 완전 분해되는 것인,

광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤.

## 청구항 9

광역동 치료를 위한 이리듐 복합체; 및  
상기 이리듐 복합체를 둘러싸고 형성된 제1항의 나노젤;을 포함하는,  
이리듐 복합체가 담지된 광역동 치료제 입자.

## 청구항 10

제9항에 있어서,  
상기 나노젤은 3차원 네트워크 구조를 형성하면서 얇힌 구조 사이에 상기 이리듐 복합체를 포함하는 것인,  
이리듐 복합체가 담지된 광역동 치료제 입자.

## 청구항 11

제9항에 있어서,  
상기 광역동 치료제 입자는,  
100 nm 이하의 크기를 가지는 것인,  
이리듐 복합체가 담지된 광역동 치료제 입자.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 광역동 치료에 이용가능한 물질에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 광역동 치료에서 이용되는 이리듐 복합체를 담지하기 위한 담체와 그에 담지된 이리듐 복합체 등에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 하이퍼브랜치드 폴리글리세롤(hyperbranched polyglycerol; PG)은 많은 하이드록실기를 갖는 폴리에테르 골격으로 이루어진 구상형의 고분지형 중합체이다. PG는 단량체로서 상대적으로 좁은 다중분산도를 갖는 광범위한 분자량의 글리올 개환 다중분지 중합반응시켜 합성된다. 폴리에테르 유사체인 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 유사하게, PG는 탁월한 생체적합성, 면역원성, 및 낮은 독성을 나타낸다. 또한, PG는 합성 용이성, 다양한 구조에의 접근 용이성 및 다양한 작용기의 부착 용이성으로 인해, 약물 운반 시스템, 중합체 치료제, 프로테오믹스(proteomics), 및 인간 혈청 알부민 대체물과 같은 생물의학 분야에서 유망 물질로서 큰 관심을 끌고 있다.

[0004] PG는 길고 제어가능한 생체내 순환 반감기를 가지고 있어, 치료 효능이 우수하다. 예를 들어, 분자량이 100 kg/mol 및 500 kg/mol인 PG는 각각 32시간 및 57시간의 순환 반감기를 갖는다. 그러나, 최근 연구에 따르면, 500 kg/mol의 PG의 경우 주사된 투여량의 대략 10% 정도가 간과 같은 기관에 축적되며, 이 축적량은 중합체의 분자량이 높을수록 더 큰 것으로 나타났다. 따라서, 생리학적 조건 하에서 생체적합성이며 분해성인 중합체를 개발하는 것이 필요하다.

[0006] 생물학적 시스템에서, 다이설파이드 결합은 세포의 유체에서의 글루타치온 농도(<[0005] 10  $\mu$ M) 대비 세포질에서의 글루타치온의 고농도(2-10 mM)에 의해 주로 생성되는 환원 포텐셜에 반응하여 티올로 분해된다. 대조적으

로, 다이설파이드는 세포 외부의 산화적 환경에서 안정한데, 시스테인 및 환원된 글루타치온보다 시스틴의 농도가 더 높기 때문이다. 세포내 환경과 세포외 환경 사이에 커다란 농도 구배는 세포 흡수 후에 특이적으로 분해되는 중합체의 개발을 위한 새로운 수단을 제공한다. PEG- 및 PG-함유 물질의 분해에 다이설파이드 결합을 이용하는 기술이 보고된 바 있으나(Ko, N. R. et al., Biomacromolecules 2014, 15, 3180-3189; Chen, W. et al., Macromolecules 2013, 46, 699-707; 및 Lee, Y. et al., Biomacromolecules 2005, 6, 24-26), 이들은 중합체와 약물간의 접합 링커(conjugation linker) 또는 나노젤에 대한 가교제로 한정되어 있어, PG 골격 내에 다이설파이드 결합을 사용한 것은 보고된 바 없다.

## 발명의 내용

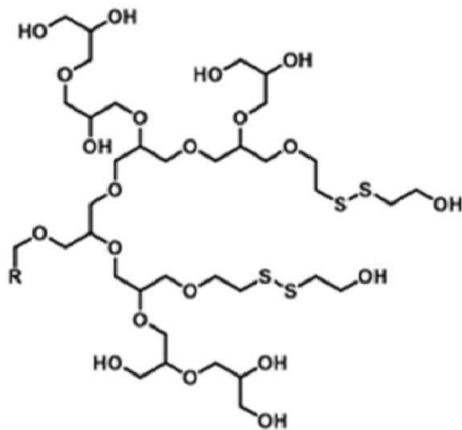
### 해결하려는 과제

- [0008] 본 발명은 상술한 것과 같이 다이설파이드 결합으로 이루어지는 하이퍼브랜치드 폴리글리세롤을 이용하여, 광역동 치료에서 이용되는 이리듐 복합체를 인캡슐레이팅 할 수 있는 나노젤을 제공하기 위함이다.
- [0009] 본 발명의 목적은, 이리듐 복합체의 세포에 대한 독성을 완화시키고, 암선택성을 증진시키고자 하는 매개를 제공하기 위함이며, 또한 높은 생체적합성을 가지면서도 어두운 조건에서 이리듐 복합체의 세포독성을 크게 줄일 수 있고, 암세포의 특정 환경인 과발현된 글루타치온 환경에서 완전히 분해 가능한 물질을 제안하기 위한 것이다.
- [0010] 또한, 본 발명의 목적은 일반적으로 이용되는 선형고분자들 대비 많은 빈공간을 가지는 하이퍼브랜치드 고분자에 이리듐 복합체와의 소수성 상호작용을 유도하는 방향족 탄소고리를 포함하여, 이리듐 복합체 적재 용량의 조절이 가능한 나노젤을 제공함으로써 효율적인 담체로서 이용 가능한 나노젤 및 이리듐-나노젤 복합체를 제안하기 위함이다.
- [0011] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명의 일 측면에 따르는 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤은, 브랜치드 카본 체인 골격 구조의 화합물을 포함하고, 상기 브랜치드 카본 체인은, 주사슬 내에 다이설파이드 및 에터 작용기를 포함하고, 각각의 가지사슬 내에 에터 작용기를 포함하며, 골격 구조의 말단에 C<sub>6</sub>-C<sub>50</sub>의 방향족 탄소고리 또는 하이드록시기를 포함한다.
- [0014] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 화합물은 폴리글리세롤 작용기를 포함하는 것일 수 있다.
- [0015] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 화합물은, 하기 화학식 1을 포함하는 것일 수 있다.

[0016] [화학식 1]

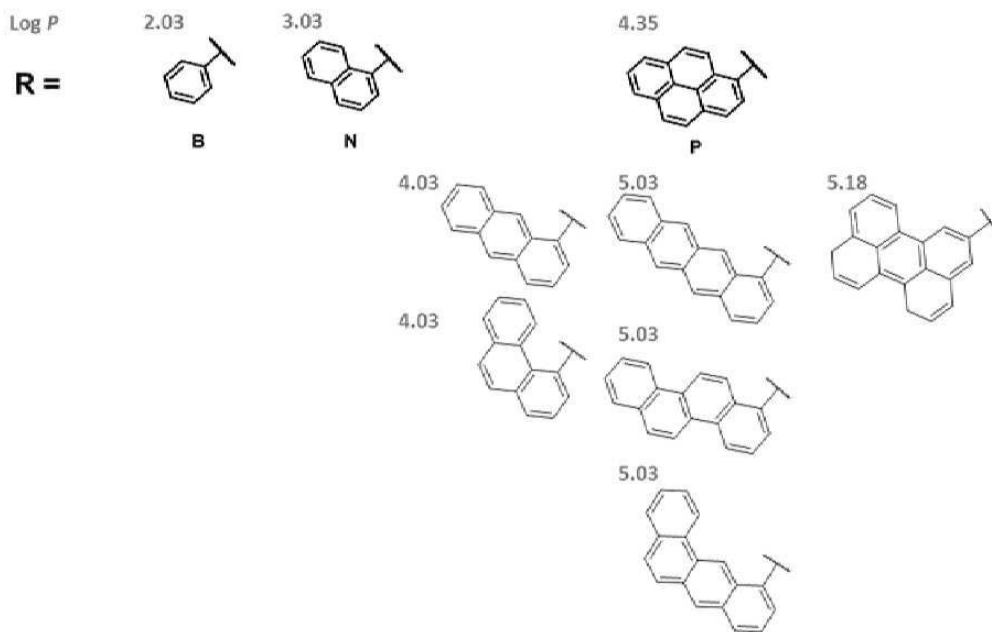


[0017]

[0018] R: 방향족 탄소고리.

[0019] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 방향족 탄소고리는, 하기 화학식 2에서 선택되는 하나인 것일 수 있다.

[0020] [화학식 2]



[0021]

[0022] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 20 nm 내지 60 nm 크기의 유체역학적 직경이 형성된 것일 수 있다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 10 중량% 이상의 담지 용량을 가지는 것일 수 있다.

[0024] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 25 중량% 이상의 담지 용량을 가지는 것일 수 있다.

[0025] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 글루타티온(Glutathione)에 의해 완전 분해되는 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 다른 일 측에 따르는 이리듐 복합체가 담지된 광역동 치료제 입자는, 광역동 치료를 위한 이리듐 복합체; 및 상기 이리듐 복합체를 둘러싸고 형성된 본 발명의 일 실시예에 따르는 나노젤;을 포함한다.

[0028] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 3차원 네트워크 구조를 형성하면서 얇힌 구조 사이에 상기 이리듐 복합체를 포함하는 것일 수 있다.

[0029] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 광역동 치료제 입자는, 100 nm 이하의 크기를 가지는 것일 수 있다.

### 발명의 효과

[0031] 본 발명의 일 실시예에 따르는 나노젤은 다이설파이드 결합을 포함하는 하이퍼브랜치드 폴리글리세롤을 이용하여, 광역동 치료에서 이용되는 이리듐 복합체를 인캡슐레이팅 할 수 있는 새로운 나노젤을 제공할 수 있다.

[0032] 일 실시예에 따르는 나노젤은, 이리듐 복합체의 세포에 대한 독성을 완화시키고, 암선택성을 증진시키고자 하는 매개로서 작용할 수 있다. 또한, 상기 나노젤은 높은 생체적합성을 가지면서도 어두운 조건에서 이리듐 복합체의 세포독성을 크게 줄일 수 있고, 암세포의 특정 환경인 과발현된 글루타티온 환경에서 완전히 분해 가능한 효과가 있다.

[0033] 또한, 본 발명에서 제안되는 나노젤은 선형고분자들 대비 높은 적재 용량을 가지며 방향족 탄화수소의 소수성세기를 조절함으로써 적재 용량을 조절함에 따라 이리듐 복합체에 대한 효율적인 담체로서 이용 가능한 효과가 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은, 본 발명의 실시예를 설명하기 위한 개념도로서, 도 1(a)는, IrNG 합성과정을 나타내는 것이며 도 1(b)는 EPR 효과에 의한 IrNG의 암선택성과 암세포 내 과발현된 글루타티온 (Glutathione, GSH)에 의한 나노젤 분해 및 이리듐 복합체 방출 과정에 대하여 개략적으로 설명하고 있다.

도 2는, 음이온 개환 중합을 통한 본 발명의 일 실시예에 따르는 하이퍼브랜치드 폴리글리세롤의 합성 과정을 도시하고 있는 화학식이다.

도 3은, 이리듐 복합체-나노젤 입자(IrNG)의 사이즈 분석 실험 결과를 나타내는 이미지로서 도 3(a)는 동적 레이저 산란 (DLS, Dynamic laser scattering)에 의한 유체역학적 직경을 나타내며 도 3(b)는 B-IrNG, 도 3(c)는 N-IrNG, 도 3(d)는 P-IrNG의 TEM 이미지를 나타내고 있다.

도 4(a)는 IrNG의 STEM 이미지이며, 도 4(b)는 C, 도 4(c)는 O, 도 4(d)는 S, 도 4(e)는 Ir의 원소 분석 이미지를 나타내며, 우측의 표는 (+) 에서의 각 원자의 질량 비율을 나타내는 값이다.

도 5(a)는 PBS 조건과 10 mM GSH 조건의 시간에 따른 나노젤로부터의 이리듐 복합체의 방출량을 분석한 그래프이며, 도 5(b)는 GSH에 노출되기 전의 N-IrNG의 TEM 이미지이고, 도 5(c)는 GSH에 24시간 노출되며 투석한 후의 N-IrNG의 TEM 이미지이다.

도 6(a)는 정상 조건(37 ° C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 배양한 HeLa 세포와, (b-c) 생체에너지(ATP)에 의한 세포 내 내재화 경로를 억제하는 조건인 (b) 100 mM의 아지드화 나트륨과 (c) 4 ° C에서 배양한 HeLa 세포 내의 이리듐 복합체의 공초점 이미지이다.

도 7은 N-NG, N-IrNG, TIR3를 투여한 후 어두운 조건과 12 J/cm<sup>2</sup> (100 mW/cm<sup>2</sup> x 120 s)의 빛을 준 조건에서의 (a) HeLa 세포와 (b) A549 세포의 생존률을 나타내는 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다.

[0037] 아래 설명하는 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있다. 아래 설명하는 실시예들은 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 이들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0038] 실시예에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 실시예를 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 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.



- [0039] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0040] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조 부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0042] 본 발명은 비수술적 암치료인 광역동치료의 생체내 부작용을 최소화하기 위해 약물전달시스템과 광역동치료를 결합하여 환원환경에 반응하는 높은 생체적합성을 가진 나노젤에 감싸진 이리듐 복합체 시스템을 개발하고자 한 연구의 결과물로서 제시되는 것이다. 본 발명의 기반이 된 연구 과정에서는, 기존 연구에 사용된 고분자 개시제 TMP(Trimethylolpropane)의 한계인 낮은 약물 수용량(0.81 wt%)을 보완하기 위해 소수성 방향족 코어를 도입하여 나노젤을 제조하였다.
- [0043] 본 발명자는 도입된 코어를 포함하는 나노젤과 이리듐 복합체와의 소수성 상호작용을 이용하면 높은 약물 캡슐화가 가능하다는 장점(실시예들에 따르면 28.73 wt% 수준)이 생긴다는 것을 확인하고 본 발명의 나노젤을 제안한다.
- [0045] 본 발명에서 약물로 사용된 이리듐 복합체는 Tlr3로, 본 발명자의 기존 연구에서 상기 Tlr3는 광역동 치료제로서의 효험성을 보여준 바가 있다(J. Am. Chem. Soc. 2016, 138, 10968-10977). 광역동 치료란, 광화학 반응을 이용하여 암 환자의 고통을 최소한으로 줄일 수 있는 치료법으로, 광감각제를 환자에 투여 후 빛을 암 조직에 조사하여 광감각제가 광화학 반응을 통해 활성산소종(Reactive oxygen species)을 생성함으로써 암세포의 생체 분자를 산화시켜 사멸시키는 방법이다.
- [0046] 이와 같은 광역동 치료법을 이용할 경우, 기존의 항암 치료 방식에 비해 환자의 체력적 부담이 적어 1개월 내 재치료가 가능해지는 이점이 있다. 또한, 기존의 암 치료법과 병행하는 것 또한 가능하다.
- [0047] 하지만 일반적으로 실제 광역동 치료에 사용되는 광감각제인 'Photofrin\*?' 과 'Radachlorin\*' 는 수계에서 활성산소종 생산 효율이 현저히 낮으므로 광역동 치료를 위해서 매우 강한 빛 에너지(> 200-300 J/cm<sup>2</sup>)를 가해야 하는 문제가 발생한다.
- [0048] 따라서, 강한 빛 에너지에 의한 부작용, 레이저 조사시간을 최소화하기 위해서 수계에서 매우 높은 활성산소종 생산 효율을 보이는 이리듐 복합체에 대해서 다양한 연구가 수행되고 있다. 그러나 이리듐 복합체는 자체적인 독성과 암선택성의 부족으로 인해 생체 내 실험을 진행하기에 무리가 있다.
- [0049] 이에 따라, 본 발명에서는 이리듐 복합체의 세포에 대한 독성을 완화시키고 암선택성을 증진시키는 목적으로, 다이설파이드 결합에 의해 자가가교결합을 하는 높은 생체적합성의 폴리글리세롤 기반 나노젤을 이리듐 복합체에 도입하는 방안을 개발하였다.
- [0050] 상기 나노젤은 수동적 암표적 방법인 EPR 효과(Enhanced permeability and retention effect)에 적합한 10 - 100 nm의 크기를 가지며, 어두운 조건에서 이리듐 복합체의 세포 독성이 현저히 줄어드는 현상을 유도할 수 있음을 관찰하였다.
- [0051] 또한 상기 나노젤은 초분기 고분자의 선형고분자 대비 많은 빈공간과 소수성 코어를 가지고 있기 때문에, 이리듐 복합체와의 소수성 상호작용을 가능하게 한다.
- [0052] 본 발명에서 제안하는 이리듐 복합체-나노젤 시스템(IrNG)은 기존의 광감각제를 담지하던 나노입자들의 약물 적재 용량(<10 wt%, Chem. Rev. 2015, 115, 1990)에 대비하여, 실시예들에서 약 2 배 이상 높은 28.73 wt% 수준의 적재 용량을 보임을 확인하였다.
- [0053] 또한, 본 발명에서 제안하는 나노젤의 실시예들은 은 암세포의 특정 환경인 과발현된 글루타티온 환경에서 완전히 분해되었고, 이에 따라 나노젤로부터 이리듐 복합체의 100% 방출이 구현됨을 확인하였다.

[0055] 결론적으로, 본 발명을 통해 제안된 광역동 치료용 물질을 이용할 경우, 어두운 환경에서 세포생존율이 증가하고, 방향족 탄소고리의 소수성 조절을 통한 이리듐 복합체의 적재량이 조절 가능해지는 이점이 있음을 확인하였다. 이와 관련하여 아래에서 그 실시예 및 작용 효과에 대하여 상세히 설명한다.

[0057] 도 1은, 본 발명의 실시예를 설명하기 위한 개념도로서, 도 1(a)는, IrNG 합성과정을 나타내는 것이며 도 1(b)는 EPR 효과에 의한 IrNG의 암선택성과 암세포 내 과발현된 글루타티온 (Glutathione, GSH)에 의한 나노젤 분해 및 이리듐 복합체 방출 과정에 대하여 개략적으로 설명하고 있다.

[0059] 도 2는, 음이온 개환 중합을 통한 본 발명의 일 실시예에 따르는 나노젤의 합성 과정을 도시하고 있는 화학식이다.

[0060] 아래에서는 상기 도 1 및 도 2를 참고하여 본 발명에서 제안하는 나노젤 및 그 제조방법, 제조된 나노젤을 이용하여 이리듐 복합체를 담지할 경우에 나타나는 특징들에 대하여 상세히 설명한다.

[0062] 본 발명의 일 측에 따르는 광역동 치료용 이리듐 복합체의 담지를 위한 나노젤 은, 브랜치드 카본 체인 골격 구조의 화합물을 포함하고, 상기 브랜치드 카본 체인은, 주사슬 내에 다이설파이드 및 에터 작용기를 포함하고, 각각의 가지사슬 내에 에터 작용기를 포함하며, 골격 구조의 말단에 C<sub>6</sub>-C<sub>50</sub>의 방향족 탄소고리 또는 하이드록시기를 포함한다.

[0063] 상기 방향족 탄소고리는 상기 나노젤의 코어 역할을 수행하는 소수성 물질일 수 있으며, 벤젠 링이 1개 또는 복수 개의 방향족 알킬기일 수 있다.

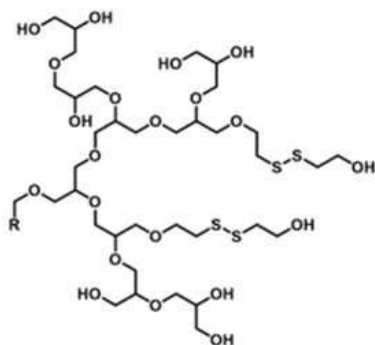
[0065] 일 실시예에 따르면, 주사슬 및/또는 가지사슬에 다이설파이드 결합을 갖는 하이퍼브랜치드(고분지형) 폴리글리세롤(hyperbranched polyglycerol)의 나노젤이 제공될 수 있다.

[0066] 종래 '하이퍼브랜치드 폴리글리세롤'은 폴리에테르 주쇄, 폴리에테르 분지쇄 및 다수의 하이드록실기로 구성된 중합체인 반면, 본 발명의 일 실시예에 따르는 고분지형 폴리글리세롤은 주쇄 및/또는 분지쇄에 다이설파이드 결합을 추가로 갖는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0068] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 화합물은 폴리글리세롤 작용기를 포함하는 것일 수 있다.

[0069] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 화합물은, 하기 화학식 1을 포함하는 것일 수 있다.

[0070] [화학식 1]

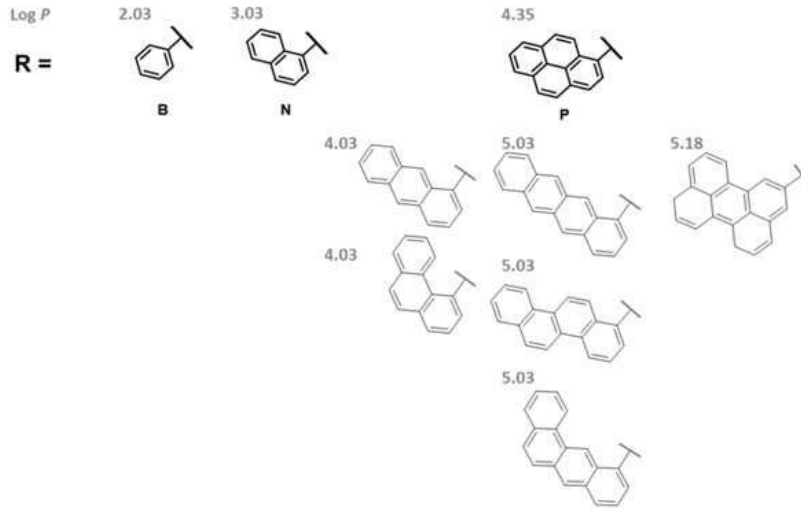


[0071]

[0072] R: 방향족 탄소 고리

[0074] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 방향족 탄소고리는, 하기 화학식 2에서 선택되는 하나인 것일 수 있다.

[0075] [화학식 2]



[0076]

[0077] 상기 화학식 2에 열거된 화합물들에 표시되어 있는 숫자는 Log P 값으로서, 해당 값이 클수록 높은 소수성을 가짐을 의미한다. 본 발명의 일 실시예에서는 소수성이 높아질수록 이리듐 복합체의 적재량이 증가하는 점을 확인하였다(표 2 참조). 이를 이용하여 본 발명에서는 R에 포함될 수 있는 방향족 탄소 고리를 선택적으로 결정할 수 있다.

[0078] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 20 nm 내지 45 nm 크기의 유체역학적 직경이 형성된 것일 수 있다.

[0079] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 10 중량% 이상의 담지 용량을 가지는 것일 수 있다.

[0080] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 25 중량% 이상의 담지 용량을 가지는 것일 수 있다.

[0081] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 글루타티온(Glutathione)에 의해 완전 분해되는 것일 수 있다.

[0083] 본 발명의 다른 일 측에 따르는 이리듐 복합체가 담지된 광역동 치료제 입자는, 광역동 치료를 위한 이리듐 복합체; 및 상기 이리듐 복합체를 둘러싸고 형성된 본 발명의 일 실시예에 따르는 나노젤;을 포함한다.

[0084] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 나노젤은 3차원 네트워크 구조를 형성하면서 얇은 구조 사이에 상기 이리듐 복합체를 포함하는 것일 수 있다.

[0085] 일 실시예에 따르면 상기 나노젤은 3차원 네트워크 구조를 형성하여 이리듐 복합체를 담지할 수 있다. 종래에 이용되던 담지체의 경우 마이셀 구조나 중공형 구조를 띄는 것이 일반적이다.

[0087] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 광역동 치료제 입자는, 100 nm 이하의 크기를 가지는 것일 수 있다.

[0088] 상기 광역동 치료제 입자는 이리듐 복합체를 포함하였을 때, EPR 효과에 적합하도록 100 nm 이하의 크기를 가지도록 형성될 수 있다. 정상세포 대비 빠른 분열속도를 가지는 암세포의 혈관은 불규칙하고 100-800 nm의 구멍을 갖고 있도록 형성된다. 본 발명의 실시예에 따르면, 상기 입자는 10-100nm정도의 나노 사이즈로 형성되어 선택적으로 암세포에만 들어갈 수 있게 된다(Enhanced permeability and retention효과).

[0090] 실시예

- [0091] 하이퍼브랜치드 폴리글리세롤의 합성 및 분석
- [0092] 본 발명의 실시예에서 하이퍼브랜치드 폴리글리세롤은 Macromol. Chem. Phys. 2016, 217, 22522261 논문에 게재된 방식과 유사한 방식으로 합성되었다.
- [0093] 구체적으로는, 이리듐 복합체와의 소수성 상호작용을 위해 Benzylalcohol(CAS: 100-51-6), 1-Naphthalene methanol(CAS: 4780-79-4), 1-pyrenemethanol(CAS: 24463-15-8) 각각을 개시제로 사용하고 강염기인 수소화 나트륨으로 음이온 개환 중합을 개시하여 B-PGSSG, N-PGSSG, P-PGSSG를 합성하였다.
- [0094] 사용된 이리듐 복합체인 TIr3는 앞선 연구에서 보고된 바(J. Am. Chem. Soc., 2016, 138(34), 10968-10977)와 동일한 방법으로 합성되었다.
- [0095] 이리듐 복합체-나노젤 입자(IrNG)는 고분자-고분자 간 혹은 고분자 내부의 라디칼 교환에 의한 자기가교결합을 통해 합성되었다.
- [0096] 구체적으로는, 고분자 주사슬의 다이설파이드 결합에 대해 10 몰%의 DTT (dithiothreitol)를 첨가함으로써 부분적으로 다이설파이드를 환원시켜 티올기를 형성하였다. 이를 통해 형성된 티올기는 주변의 다이설파이드와의 라디칼 교환을 통해 새로운 다이설파이드 결합을 형성함으로써 고분자 간 자기가교결합을 야기시켰다. DTT에 의한 환원 반응 중에 이리듐 복합체를 넣었고, 나노젤 형성과정에서 이리듐 복합체는 캡슐화되었다. 24시간 뒤 공기 산화에 의해 환원 반응이 종결된 후, 형성된 이리듐 복합체-나노젤 입자를 제외한 DTT 및 나노젤로 형성되지 않은 고분자는 투석을 통해 제거하였다.
- [0097] 이리듐 복합체를 담지한 나노젤 고분자
- [0098] 도 3은, 이리듐 복합체-나노젤 입자(IrNG)의 사이즈 분석 실험 결과를 나타내는 이미지로서 도 3(a)는 동적 레이저 산란 (DLS, Dynamic laser scattering)에 의한 유체역학적 직경을 나타내며 도 3(b)는 B-IrNG, 도 3(c)는 N-IrNG, 도 3(d)는 P-IrNG의 TEM 이미지를 나타내고 있다.
- [0099] 상기 합성된 B-PGSSG, N-PGSSG, P-PGSSG 나노젤 각각을 이용하여 이리듐 복합체를 담지한 B-IrNG, N-IrNG, P-IrNG의 경우 각각 30.63 nm, 36.42 nm, 36.47 nm의 평균 유체역학적 직경을 보여주었다. 이는 TEM이미지를 통해서 재확인되었다.

**표 1**

[0101]	Code	Polymer composition <sup>a)</sup>	M <sub>n</sub> , NMR	% SSG <sup>a)</sup>	M <sub>n</sub> , GPC <sup>b)</sup>	M <sub>w</sub> /M <sub>n</sub> <sup>b)</sup>
	B-PGSSG	P(G <sub>34</sub> -co-SSG <sub>16</sub> )	5884 g/mol	32.0%	2818 g/mol	1.83
	N-PGSSG	P(G <sub>35</sub> -co-SSG <sub>18</sub> )	6378 g/mol	33.9%	4703 g/mol	1.63
	P-PGSSG	P(G <sub>22</sub> -co-SSG <sub>10</sub> )	3733 g/mol	31.3%	2397 g/mol	1.45

[0102] a) <sup>1</sup>H-NMR을 통해 분석되었다. b) PMMA를 기준으로하는 DMF-GPC-RI를 통해 측정되었다.

[0104] 상기 표 1은 상술한 실시예를 통해 합성된 B-PGSSG, N-PGSSG, P-PGSSG 나노젤 각각의 고분자의 특성을 분석한 것이다.

[0106] 약물 적재 용량 및 이리듐-나노젤 시스템의 원소분석

[0107] 한편, 하기 표 2는 이리듐 복합체-나노젤(IrNG) 입자 각각의 약물 적재 용량을 분석한 것이다.

표 2

Nanogel Code	LogP <sup>a)</sup>	Weight of Nanogel	Loaded Ir Complex	Drug Loading Capacity <sup>b)</sup>
B-IrNG	-0.18	3.39 mg	372.8 $\mu$ g	11.0 wt%
N-IrNG	-0.01	2.50 mg	454.6 $\mu$ g	18.1 wt%
P-IrNG	0.25	2.42 mg	629.5 $\mu$ g	26.0 wt%

a) 컴퓨터 모델인 ALOGPS 2.1를 통해 예측된 각 고분자의 소수성 지수, Log *P*는 [Log(옥탄올에 대한 용해도) / Log(물에 대한 용해도)]로 값이 높을수록 물질이 높은 소수성을 가짐을 나타낸다. b) 약물 적재량은 나노젤 속 약물의 무게를 나노젤의 무게로 나눔으로써 계산된다.

종래 평균적인 광감각제의 나노캐리어 속 적재용량은 10 wt% 미만으로 낮은 약물 전달 효과가 광역동 치료에서의 문제가 되어왔다.

그러나 상기 실시예에 따르는 이리듐 복합체-나노젤 입자의 경우, 20 wt% 이상의 높은 약물 적재 용량을 갖고 있었으며, 이는 적은 양의 이리듐 복합체-나노젤 입자(IrNG)의 양으로도 충분한 이리듐 복합체를 암세포로 전달할 수 있다는 장점을 가지게 됨을 확인하였다.

도4(a)는 IrNG의 STEM 이미지이며, 도 4(b)는 C, 도 4(c)는 O, 도 4(d)는 S, 도 4(e)는 Ir의 원소 분석 이미지를 나타내며, 우측의 표는 (+) 에서의 각 원자의 질량 비율을 나타내는 값이다.

이를 통해 나노젤 속 이리듐 복합체가 캡슐화되었다는 것을 원소분석을 통해 관측되었다.

10 mM 글루타티온에 의한 나노젤의 분해 및 이리듐 복합체 방출 실험

나노캐리어는 많은 양의 약물을 암세포까지 전달하는 기능 뿐만 아니라 전달 후에 생체에 영향을 미치지 않기 위해 암환경에서 쉽게 분해되고 그의 생체적합성 또한 뛰어나야 한다. 본 이리듐 복합체-나노젤 입자는 다이실라이드 결합을 고분자 백본에 포함하고 있어 암세포에 과 발현된 싸이올(-SH)기를 가진 트라이펩타이드인 글루타티온(GSH, Glutathione)에 의해 쉽게 분해됨을 확인하였다.

도 5(a)는 PBS 조건과 10 mM GSH 조건의 시간에 따른 나노젤로부터의 이리듐 복합체의 방출량을 분석한 그래프이며, 도 5(b)는 GSH에 노출되기 전의 N-IrNG의 TEM 이미지이고, 도 5(c)는 GSH에 24시간 노출되며 투석한 후의 N-IrNG의 TEM 이미지이다.

UV-vis 흡광계를 이용하여 캡슐화된 이리듐 복합체의 농도 변화 측정을 통해 본 물질이 높은 농도의 GSH 환경에서 더 빨리 이리듐 복합체를 방출시키는 것을 확인하였다(도 5a 참고). 또한 물질의 GSH에 의한 분해 전후의 상태를 TEM이미지를 통해 확인하였다(그림 5b 참고).

IrNG의 세포 내 내재화 실험

도 6(a)는 정상 조건 (37 ° C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 배양한 HeLa 세포와, (b-c) 생체에너지(ATP)에 의한 세포 내 내재화 경로를 억제하는 조건인 (b) 100 mM의 아지드화 나트륨과 (c) 4 ° C에서 배양한 HeLa 세포 내의 이리듐 복합체의 공초점 이미지이다.

이리듐 복합체-나노젤 입자(IrNG)가 세포 내에 어떠한 메커니즘을 통해 세포내 흡수가 되는지를 확인하기 위해 공초점 이미지를 통해 확인하였다.

이리듐 복합체-나노젤 입자(IrNG)의 경우, 정상조건 하에선 빠른 세포내 흡수를 보여주는 반면, ATP 의존성 내재화 경로가 억제된 고농도의 수소화 나트륨 또는 차가운 환경에선 대부분의 흡수가 억제되는 것을 보여줌에 따



라 본 물질은 ATP에 의존하는 세포내 흡수를 통해 암세포 속으로 내재화되는 것을 알 수 있다(도 6 참조).

[0130] 어두운 환경 및 밝은 환경에서의 세포독성

[0131] 이리듐 복합체의 기존 한계는 어두운 환경에서의 세포독성에 관한 것이었다.

[0133] 도 7은 N-NG, N-IrNG, TlIr3를 투여한 후 어두운 조건과 12 J/cm<sup>2</sup> (100 mW/cm<sup>2</sup> x 120 s)의 빛을 준 조건에서의 (a) HeLa 세포와 (b) A549 세포의 생존률을 나타내는 그래프이다.

[0134] 본 실시예에서는 이리듐 복합체가 나노젤에 캡슐화 되면서 어두운 환경에서의 세포독성이 극적으로 완화되는 것을 HeLa 세포와 A549 세포의 MTT 분석을 통해 확인하였다(도 7 참조).

[0135] HeLa 세포에 10 μM의 높은 농도의 이리듐 복합체를 넣었을 때, 어두운 조건에서 44.45%였던 TlIr3 (이리듐 복합체)의 세포생존률이 약 1.84배인 81.77%의 값을 보여줌(Dark-IrNG)에 따라 기존의 한계인 낮은 생체적합성을 뛰어넘었다는 것을 HeLa 세포와 A549 세포 두 세포종에 대해 확인하였다.

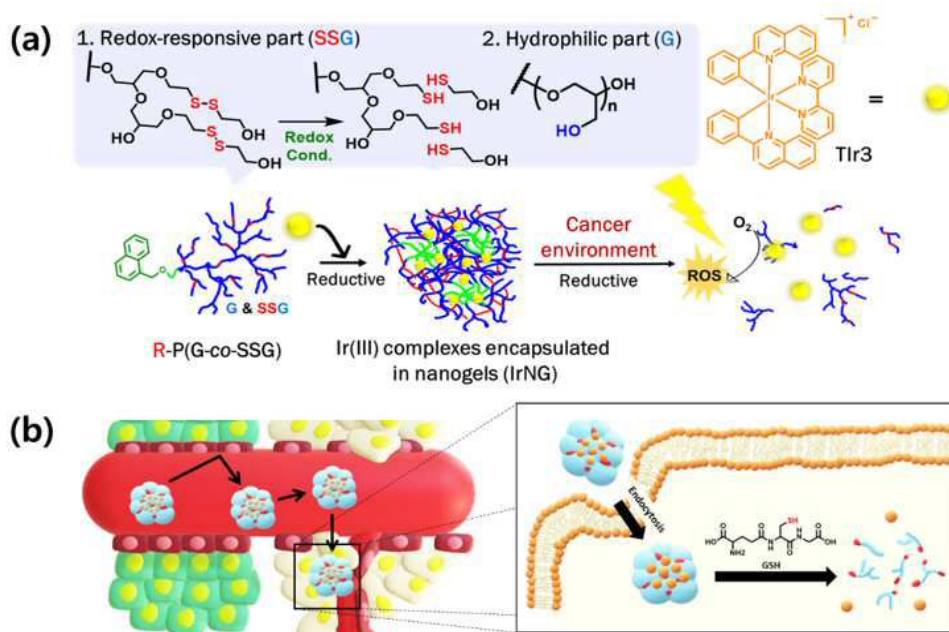
[0137] 이상과 같이, 본 발명을 통해 제안된 광역동 치료용 물질을 이용할 경우, 어두운 환경에서 세포생존율이 증가하고, 방향족 탄소고리의 소수성 조절을 통한 이리듐 복합체의 적재량이 조절 가능해지는 이점이 있음을 확인하였다.

[0139] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 실시예와 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기의 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

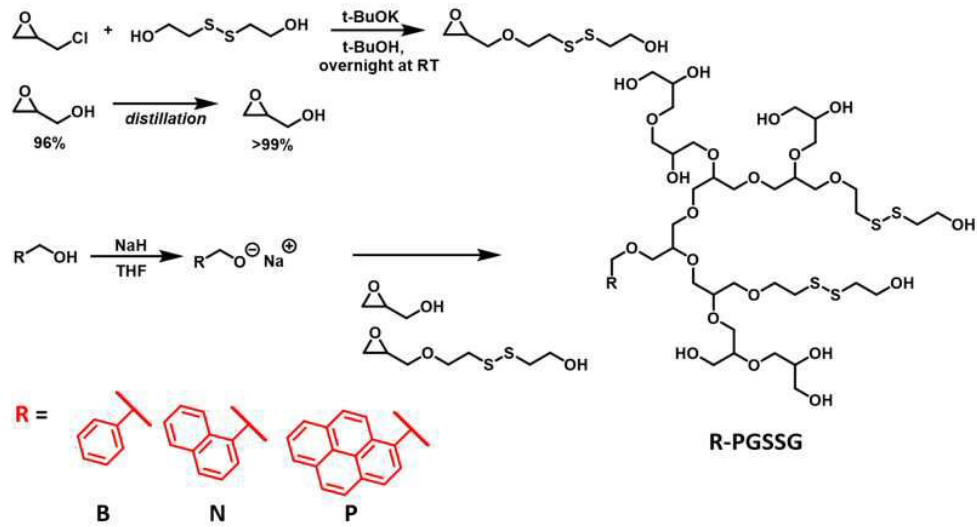
[0140] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 특허청구범위의 범위에 속한다.

## 도면

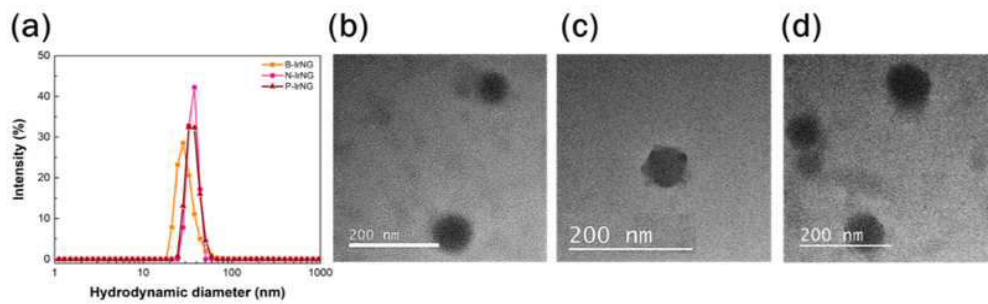
### 도면1



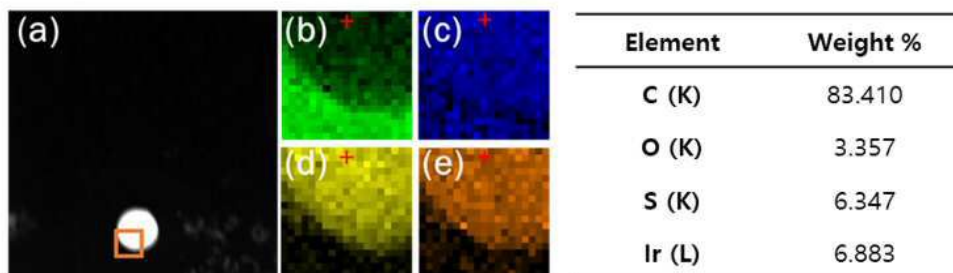
도면2



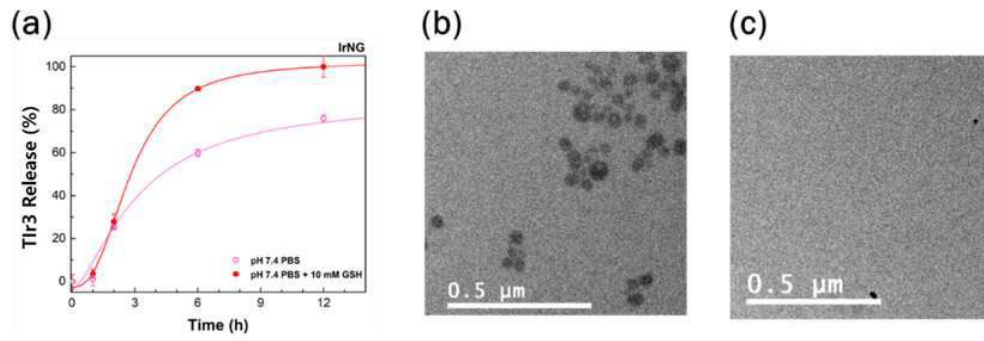
도면3



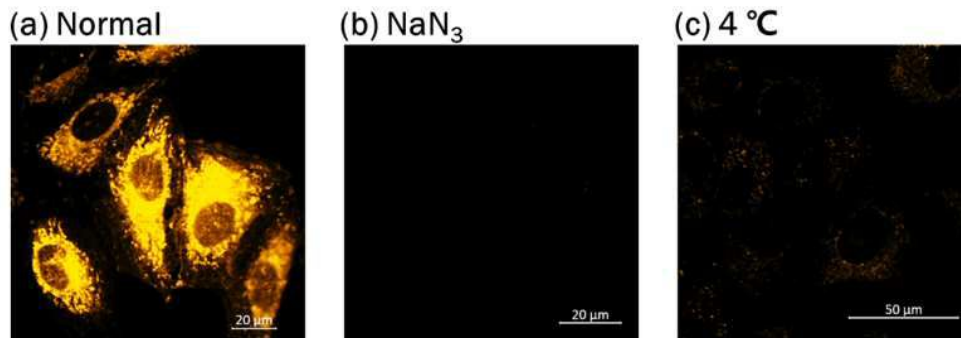
도면4



도면5



도면6



도면7

