



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년10월14일
(11) 등록번호 10-2165279
(24) 등록일자 2020년10월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2006.01) A61K 49/00 (2006.01)
C08G 81/00 (2006.01) C08L 71/02 (2006.01)
C08L 79/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/1273 (2013.01)
A61K 49/0086 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-0105095
- (22) 출원일자 2018년09월04일
심사청구일자 2018년09월04일
- (65) 공개번호 10-2019-0028313
- (43) 공개일자 2019년03월18일
- (30) 우선권주장
1020170115229 2017년09월08일 대한민국(KR)
- (56) 선행기술조사문헌
KR101717010 B1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
- (72) 발명자
김현욱
서울특별시 서대문구 연세로 50 연세대학교
양재문
서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세의료원
구민희
서울특별시 서대문구 연세로 50- 1 연세의료원
- (74) 대리인
특허법인 천지

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 한정희

(54) 발명의 명칭 산화 환원 감응 양친성 나노 입자 및 이의 제조 방법

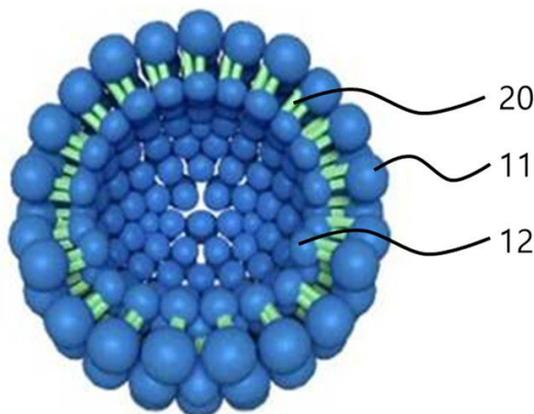
(57) 요약

본 발명은 산화 환원 감응 양친성 나노 입자 및 이의 제조 방법에 관한 것으로서, 상기 양친성 나노 입자는 친수성 고분자를 포함하는 친수성 블록 및 전도성 고분자를 포함하는 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체를 포함하며, 상기 블록 공중합체가 폴리머솜(polymerosome) 또는 마이셀(micelle) 형태로 자기 조립(self-assembly) 또는 자기 응집(self-aggregate)된 것이다.

상기 양친성 나노 입자는 암세포의 특성 조건에 따른 산화 또는 환원에 감응하여 약물 방출이 이루어질 수 있고, 상기 산화 또는 환원에 대한 감응성을 조절하여 정밀한 암 진단 및 치료가 이루어질 수 있도록 한다.

대표도 - 도1

100



(52) CPC특허분류

C08G 81/00 (2013.01)

C08L 71/02 (2013.01)

C08L 79/02 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

친수성 고분자를 포함하는 친수성 블록 및 전도성 고분자를 포함하는 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체를 제조하는 단계, 그리고

상기 블록 공중합체의 자기 조립체(self-assembly) 또는 자기 응집체(self-aggregate)로 이루어진 폴리머솜(polymersome) 또는 마이셀(micelle)을 형성하는 나노 입자 형성 단계를 포함하는 양친성 나노 입자의 제조 방법으로서,

상기 친수성 고분자는 폴리에틸렌글리콜이고,

상기 전도성 고분자는 폴리아닐린(polyaniline), 폴리피롤(polypyrrole) 및 폴리티오펜(polythiophene)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나이고,

상기 양친성 나노 입자는 산화 반응, 환원 반응 및 이 둘 모두로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나에 의하여 상기 전도성 고분자가 부분적으로 벤젠 고리와 퀴논노이드 고리(quinonoid ring)의 전환에 의해 수소 결합에 의한 압축 정도가 변하는 산화 환원 감응성을 가지며,

상기 양친성 나노 입자는 하기 수학적 1에 따라 계산된 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)이 30 내지 60인 상기 블록 공중합체를 포함하는 마이셀 구조이거나, 또는

상기 양친성 나노 입자는 하기 수학적 1에 따라 계산된 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)이 60 내지 75인 상기 블록 공중합체를 포함하는 폴리머솜 구조이고,

상기 전도성 고분자의 질량 분율을 조절하여 상기 양친성 나노 입자의 산화 환원 감응성을 조절하는 것을 특징으로 하는 양친성 나노 입자의 제조 방법.

[수학적 1]

전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction) = 전도성 고분자의 중량평균분자량 / (전도성 고분자의 중량평균분자량 + 친수성 고분자의 중량평균분자량)

청구항 8

제 7 항에 있어서,
 상기 블록 공중합체를 제조하는 단계는,
 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 말단을 토실레이트(tosylate)기로 치환하는 단계,
 상기 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 말단에 치환된 토실레이트(tosylate)기를 아닐린(aniline)기로 변환시키는 단계, 및
 상기 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 아닐린기로 치환된 말단에 아닐린 단량체를 중합시키는 단계를 포함하는 것인 양친성 나노 입자의 제조 방법.

청구항 9

제 7 항에 있어서,
 상기 나노 입자 형성 단계는,
 상기 블록 공중합체를 수용액에 분산시킨 뒤 초음파를 가하는 방법,
 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 과량의 물로 상기 유기 용매를 추출, 증발 또는 투석시키는 방법,
 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 균질기 또는 고압 유회기를 이용하여 상기 유기 용매를 증발시키는 방법, 및
 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 회전 진공 감압 농축기(Rotary vacuum evaporator)를 이용하여 상기 유기 용매를 증발시켜 블록 공중합체 필름을 제조하고, 수화 및 교반시키는 얇은 필름 수화(thin film hydration) 방법
 으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 방법을 이용하여 이루어지는 것인 양친성 나노 입자의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 산화 환원 감응 양친성 나노 입자 및 이의 제조 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 암세포의 특성 조건에 따른 산화 또는 환원에 감응하여 약물을 방출시킬 수 있는 산화 환원 감응 양친성 나노 입자 및 이의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전도성 고분자를 기반으로 하여 나노 전달 시스템을 구성하기 위해서는 다음과 같은 3 단계 과정을 필요로 한다. 첫 번째로 양친성 고분자를 합성하고 전도성 단량체를 담지하여 나노 전달체를 형성하고, 두 번째로 상기 형성된 나노 전달체의 전도성 단량체를 중합하여 전도성 고분자를 형성하고, 마지막으로 상기 형성된 전도성 고분자 기반 나노 전달체에 약물 및 유전자를 담지한다.

[0003] 이러한 과정은 공정이 복잡하고, 생산 단가가 높은 단점이 있어, 이러한 다수의 공정 단계 없이 간단한 공정을 통하여 전도성 고분자 기반 나노 전달체를 제조할 수 있는 기술 개발이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) (특허문헌 0001) 미국 공개특허 제2012-0135070호 (2012.05.31)

(특허문헌 0002) (특허문헌 0002) 미국 공개특허 제2008-0181939호 (2008.07.31)

(특허문헌 0003) (특허문헌 0003) 미국 공개특허 제2005-018264호 (2005.08.25)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 암세포의 특성 조건에 따른 산화 또는 환원에 감응하여 약물을 방출시킬 수 있는 산화 환원 감응 양친성 나노 입자를 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 상기 양친성 나노 입자의 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 친수성 고분자를 포함하는 친수성 블록 및 전도성 고분자를 포함하는 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체를 포함하며, 상기 블록 공중합체의 자기 조립체(self-assembly) 또는 자기 응집체(self-aggregate)로 이루어진 폴리머솜(polymersome) 또는 마이셀(micelle) 구조인 양친성 나노 입자를 제공한다.

[0008] 상기 친수성 고분자는 폴리알킬렌글리콜, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리옥사졸린, 폴리(N-비닐피롤리돈), 폴리비닐알콜, 폴리히드록시에틸메타크릴레이트, 텍스트란, 폴리세린, 폴리트레오닌, 폴리티로신, 폴리 리신, 폴리아르기닌, 폴리히스티딘, 폴리아스파르트산, 폴리글루탐산 및 이들의 공중합체로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나를 포함할 수 있다.

[0009] 상기 전도성 고분자는 폴리아세틸렌(polyacetylene), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리피롤(polypyrrole), 폴리티오펜(polythiophene), 폴리(1,4-페닐렌비닐렌)(poly(1,4-phenylenevinylene)), 폴리(1,4-페닐렌설파이드)(poly(1,4-phenylenesulfide)), 폴리(플루오레닐렌에티닐렌)(poly(fluorenyleneethynylene)) 및 이들의 공중합체로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0010] 상기 양친성 나노 입자는 산화 반응, 환원 반응 및 이 둘 모두로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나에 의하여 수소 결합에 의한 압축 정도가 변하는 산화 환원 감응성을 가지며, 상기 산화 반응은 황산, 질산, 염산, 인산, 염화황산, 도데실벤젠술포산, 및 포름산으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나의 산화제에 의하여 이루어지고, 상기 환원 반응은 수산화나트륨, 수산화칼륨, 및 암모니아로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나의 환원제에 의하여 이루어질 수 있다.

[0011] 상기 양친성 나노 입자는 하기 수학적 1에 따라 계산된 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)이 30 내지 60인 상기 블록 공중합체를 포함하는 마이셀 구조이거나, 또는 상기 양친성 나노 입자는 하기 수학적 1에 따라 계산된 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)이 60 내지 75인 상기 블록 공중합체를 포함하는 폴리머솜 구조일 수 있다.

[0012] [수학적 1]

[0013] 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction) = 전도성 고분자의 중량평균분자량 / (전도성 고분자의 중량평균분자량 + 친수성 고분자의 중량평균분자량)

[0014] 상기 양친성 나노 입자는 형광 물질 또는 약제학적 활성 성분을 더 포함할 수 있다.

[0015] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 친수성 고분자를 포함하는 친수성 블록 및 전도성 고분자를 포함하는 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체를 제조하는 단계, 그리고 상기 블록 공중합체의 자기 조립체(self-assembly) 또는 자기 응집체(self-aggregate)로 이루어진 폴리머솜(polymersome) 또는 마이셀(micelle)을 형성하는 나노 입자 형성 단계를 포함하는 양친성 나노 입자의 제조 방법을 제공한다.

[0016] 상기 블록 공중합체를 제조하는 단계는, 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 말단을 토실레이트(tosylate)기로 치환하는 단계, 상기 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 말단에 치환된 토실레이트(tosylate)기를 아닐린(aniline)기로 변환시키는 단계, 및 상기 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 아닐린기로 치환된 말단에 아닐린 단량체를 중합시키는 단계를 포함할 수 있다.

[0017] 상기 나노 입자 형성 단계는, 상기 블록 공중합체를 수용액에 분산시킨 뒤 초음파를 가하는 방법, 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 과량의 물로 상기 유기 용매를 추출, 증발 또는 투석시키는 방법, 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 균질기 또는 고압 유회기를 이용하여 상기 유기 용매를 증발시키는 방법, 및 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 회전 진공 감압 농축기(Rotary vacuum evaporator)를 이용하여 상기 유기 용매를 증발시켜 블록 공중합체 필름을 제조하고, 수화 및 교반시키는 얇은 필름 수화(thin film hydration) 방법으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 방법을 이용하여 이루어질 수 있다.

발명의 효과

[0018] 본 발명의 양친성 나노 입자는 암세포의 특성 조건에 따른 산화 또는 환원에 감응하여 약물을 방출시킬 수 있고, 상기 산화 또는 환원에 대한 감응성을 조절하여 정밀한 암 진단 및 치료가 이루어질 수 있도록 한다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 양친성 나노 입자를 모식적으로 나타낸 그림이다.
 도 2는 본 발명의 실시예에서 (i) mPEG-NH₂, (ii) 블록 공중합체(mPEG-b-PANI) 및 (iii) 폴리아닐린의 FT-IR 스펙트럼을 측정한 그래프이다.
 도 3은 본 발명의 실시예에서 제조된 양친성 나노 입자를 관찰한 투과 전자 현미경(TEM) 사진이다(스케일 bar = 200 nm).
 도 4 및 도 5는 각각 본 발명의 실시예에서 제조된 양친성 나노 입자와 폴리아닐린의 UV 스펙트럼을 측정한 그래프이다.
 도 6은 본 발명의 실시예에서 제조된 양친성 나노 입자의 약물 방출 실험 결과를 나타내는 그래프이다.
 도 7은 본 발명의 실시예에서 제조된 양친성 나노 입자의 세포 독성 효과를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.
 [0021] 본 발명의 일 실시예에 따른 양친성 나노 입자는 친수성 블록 및 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체를 포함한다.
 [0022] 상기 친수성 블록 및 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체는 소수성 및 친수성 분자들의 균형을 통해 자기 조립체(self-assembly) 또는 자기 응집체(self-aggregate)를 형성한다. 이에 따라, 상기 양친성 나노 입자는 상기 블록 공중합체들의 양친매성 특성을 통해 소수성 코어와 친수성 셸을 갖는 구형 입자 형태의 마이셀(micelle) 구조이거나, 속이 비어 있는 친수성 코어를 소수성 셸과 친수성 셸이 이중으로 둘러싸고 있는 폴리머솜(polymersome) 구조일 수 있다.
 [0023] 도 1은 상기 폴리머솜 구조의 양친성 나노 입자를 도시한 모식도이다. 상기 도 1을 참고하면, 상기 양친성 나노 입자(100)는 폴리머솜 구조로서, 속이 비어 있는 친수성 코어(12)를 소수성 셸(20)과 친수성 셸(11)이 이중으로 둘러싸고 있다.
 [0024] 상기 블록 공중합체는 상기 친수성 블록과 상기 소수성 블록이 화학적 결합된 양친매성 블록 공중합체일 수 있고, 구체적으로, 상기 친수성 블록은 친수성 고분자를 포함하고, 상기 소수성 블록은 전도성 고분자를 포함할 수 있다.
 [0025] 상기 친수성 블록이 포함하는 상기 친수성 고분자는 폴리아킬렌글리콜, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리옥사졸린, 폴리(N-비닐피롤리돈), 폴리비닐알콜, 폴리히드록시에틸메타크릴레이트, 텍스트란, 폴리세린, 폴리트레오닌, 폴리티로신, 폴리 리신, 폴리아르기닌, 폴리히스티딘, 폴리아스파르트산, 폴리글루탐산 및 이들의 공중합체로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.
 [0026] 구체적으로 상기 친수성 고분자는 중량평균분자량이 1000 g/mol 내지 5000 g/mol인 폴리아킬렌글리콜 또는 이의 유도체를 포함할 수 있고, 보다 구체적으로 중량평균분자량이 1000 g/mol 내지 5000 g/mol인 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜을 포함할 수 있다.

- [0027] 상기 소수성 블록이 포함하는 상기 전도성 고분자는 폴리아세틸렌(polyacetylene), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리피롤(polypyrrole), 폴리티오펜(polythiophene), 폴리(1,4-페닐렌비닐렌)(poly(1,4-phenylenevinylene)), 폴리(1,4-페닐렌설파이드)(poly(1,4-phenylenesulfide)), 폴리(플루오레닐렌에티닐렌)(poly(fluorenyleneethynylene)) 및 이들의 공중합체로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나를 포함할 수 있고, 구체적으로 폴리아닐린을 포함할 수 있다.
- [0028] 상기 블록 공중합체가 상기 친수성 블록으로 상기 친수성 고분자를 포함하고, 상기 소수성 블록으로 상기 전도성 고분자를 포함함에 따라, 상기 블록 공중합체의 자기 조립체 또는 자기 응집체로 이루어진 상기 양친성 나노 입자는 산화 반응, 환원 반응 및 이 둘 모두로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나에 의하여 수소 결합에 의한 압축 정도가 변하는 산화 환원 감응성을 가질 수 있다. 구체적으로, 상기 소수성 블록에 포함된 상기 전도성 고분자를 산화시키면 고분자 주사슬에 비편재화된 양전하를 형성하게 되어 p-도핑이 일어나고, 환원시키면 비편재화된 음전하가 형성되어 n-도핑이 일어나기 때문에, 상기 양친성 나노 입자는 산화 반응 또는 환원 반응에 대한 감응성을 가지게 된다.
- [0029] 구체적으로, 상기 양친성 나노 입자는 상기 산화에 의한 압축 정도가 상기 환원에 의한 압축 정도 보다 클 수 있다. 즉, 상기 산화가 이루어질 경우, 상기 전도성 고분자의 벤젠 고리는 부분적으로 퀴논노이드 고리(quinonoid ring)로 이루어지게 되면서 아민-아민 수소 결합력이 강해짐에 따라, 더욱 압축되기 때문에 상기 양친성 나노 입자 내에 담지된 약물 등의 방출을 저해하게 된다. 반면, 상기 환원이 이루어질 경우, 상기 수소 결합력이 약해지기 때문에 상기 전도성 고분자의 결합력이 약해져 상기 약물 등의 방출이 더 빠르게 이루어지게 된다. 따라서, 상기 양친성 나노 입자는 상기 산화 또는 환원 조건에 따라 상기 약물 등의 방출 속도를 조절할 수 있다.
- [0030] 상기 양친성 나노 입자의 상기 산화 반응은 황산, 질산, 염산, 인산, 염화황산, 도데실벤젠설폰산, 및 포름산으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나의 산화제에 의하여, pH 1.0 내지 5.5인 조건 하에서 이루어질 수 있다.
- [0031] 또한, 상기 양친성 나노 입자의 상기 환원 반응은 수산화나트륨, 수산화칼륨, 및 암모니아로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나의 환원제에 의하여, pH 7.4 내지 9.0인 조건 하에서 이루어질 수 있다.
- [0032] 또한, 상기 블록 공중합체의 소수성 블록이 포함하는 상기 전도성 고분자의 질량 분율을 조절함에 따라, 상기 양친성 나노 입자의 상기 산화 반응 또는 환원 반응에 대한 감응성을 조절할 수 있고, 이에 따라 더욱 정밀한 암 진단 및 치료가 이루어질 수 있다.
- [0033] 구체적으로, 상기 양친성 나노 입자가 상기 마이셀 구조인 경우, 상기 양친성 나노 입자는 수학적 식 1에 따라 계산된 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)이 30 내지 60인 상기 블록 공중합체를 포함할 수 있다.
- [0034] 또한, 상기 양친성 나노 입자가 상기 폴리머줌 구조인 경우, 상기 양친성 나노 입자는 수학적 식 1에 따라 계산된 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)이 60 내지 75인 상기 블록 공중합체를 포함할 수 있다.
- [0035] [수학적 식 1]
- [0036] 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)=전도성 고분자의 분자량/(친수성 고분자의 분자량 + 전도성 고분자의 분자량)
- [0037] 상기 마이셀 구조를 가지는 양친성 나노 입자는 속이 빈 소수성 코어 내에 소수성 염료를 담지할 수 있고, 상기 폴리머줌 구조를 가지는 양친성 나노 입자는 속이 빈 친수성 코어 내에 친수성 염료를, 소수성 셸에 소수성 염료를 동시에 담지할 수 있다. 따라서, 상기 양친성 나노 입자는 친수성 및/또는 소수성 약물을 담지할 수 있는 약물 전달체로 사용할 수 있다.
- [0038] 또한, 상기 양친성 나노 입자는 진단을 위한 형광 물질을 추가로 포함할 수도 있다. 상기 형광 물질은 상기 친수성 코어 또는 소수성 코어에 물리화학적 봉입 또는 결합되어 있을 수 있다.
- [0039] 상기 형광 물질은 가시 광선 영역 또는 근적외선의 형광을 발광하는 형광체일 수 있고, 일 예로써, 플루오레신(fluorescein), 보디피(BODIPY), 테트라메틸로르다아민(Trtramethylrhodamine), 알렉사(Alexa), 시아닌(Cyanine), 알로피코시아닌(allopicocyanine) 또는 기타의 형광을 발생시키는 형광 물질이 사용될 수 있다. 한편, 상기 형광 물질은 양자 수득률(quantum yield)이 높은 형광 물질 또는 친수성 또는 소수성 염료일 수도 있다.

- [0040] 또한, 상기 양친성 나노 입자는 질환 치료를 위한 약제학적 활성 성분을 더 포함할 수 있다. 상기 약제학적 활성 성분은 상기 친수성 코어 또는 소수성 코어에 물리화학적 봉입 또는 결합되어 있을 수 있다.
- [0041] 상기 약제학적 활성 성분은 본 발명에서 특별히 제한되지 않으나, 예를 들면 항암제, 항생제, 호르몬, 호르몬길항제, 인터루킨, 인터페론, 성장 인자, 중앙 괴사 인자, 엔도톡신, 림포독시, 유로키나제, 스트렙토키나제, 조직 플라스미노겐 활성제, 프로테아제 저해제, 알킬포스포콜린, 방사선 동위원소로 표시된 성분, 심혈관계 약물, 위장관계 약물, 또는 신경계 약물 등을 사용할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 양친성 나노 입자의 제조 방법은 친수성 고분자를 포함하는 친수성 블록 및 전도성 고분자를 포함하는 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체를 제조하는 단계, 그리고 상기 블록 공중합체의 자기 조립체(self-assembly) 또는 자기 응집체(self-aggregate)로 이루어진 폴리머솜(polymersome) 또는 마이셀(micelle)을 형성하는 나노 입자 형성 단계를 포함한다.
- [0043] 우선, 친수성 고분자를 포함하는 친수성 블록 및 전도성 고분자를 포함하는 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체를 제조한다.
- [0044] 일 예로, 상기 블록 공중합체를 제조하는 단계는, 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 말단을 토실레이트(tosylate)기로 치환하는 단계, 상기 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 말단에 치환된 토실레이트(tosylate)기를 아닐린(aniline)기로 변환시키는 단계, 및 상기 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜의 아닐린기로 치환된 말단에 아닐린 단량체를 중합시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0045] 구체적으로, 상기 아닐린 치환기를 포함하는 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜(mPEG-NH₂)은 공지 기술을 이용하여 적절히 제조할 수 있고, 일 예로, mPEG-OH→mPEG-TsCl→mPEG-N₃→mPEG-NH₂의 변형 과정을 거쳐 mPEG-NH₂의 형태로 제조할 수 있다.
- [0046] 또한, 상기 아닐린 단량체를 중합시키는 단계는 상기 친수성 고분자로 상기 아닐린 치환기를 포함하는 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜(mPEG-NH₂)과 아닐린 단량체에 암모늄 퍼설페이트 등의 산화제를 추가하면서, 상기 아닐린 단량체의 중합을 하여 상기 블록 공중합체를 제조할 수 있다.
- [0047] 다음으로, 상기 블록 공중합체의 자기 조립체(self-assembly) 또는 자기 응집체(self-aggregate)로 이루어진 폴리머솜(polymersome) 또는 마이셀(micelle)을 형성한다.
- [0048] 상기 나노 입자 형성 단계는 상기 블록 공중합체를 수용액에 분산시킨 뒤 초음파를 가하는 방법, 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 과량의 물로 상기 유기 용매를 추출, 증발 또는 투석시키는 방법, 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 균질기 또는 고압 유흥기를 이용하여 상기 유기 용매를 증발시키는 방법, 및 상기 블록 공중합체를 유기 용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 회전 진공 감압 농축기(Rotary vacuum evaporator)를 이용하여 상기 유기 용매를 증발시켜 블록 공중합체 필름을 제조하고, 수화 및 교반시키는 얇은 필름 수화(thin film hydration) 방법으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 방법을 이용하여 이루어질 수 있다.
- [0049] 상기 유기 용매는 클로로포름, 헥산, 헵탄, 메틸렌클로라이드, 벤젠, 톨루엔, 테트라하이드로퓨란, 아세톤 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나를 사용할 수 있으나, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0050] 상기 과정을 거쳐 제조된 양친성 나노 입자는 평균 입경이 200 nm 이하일 수 있고, 구체적으로 50 nm 내지 200 nm일 수 있다.
- [0051] 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 약물/유전자 전달용 조성물 또는 진단용 조성물은 상기 양친성 나노 입자, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다.
- [0052] 상기 약제학적으로 허용 가능한 담체는 의학 분야에서 통상 사용되는 담체 및 비히클을 포함하며, 구체적으로 이온 교환 수지, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질(예, 사람 혈청 알부민), 완충물질(예, 각종 인산염, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분적인 글리세라이드 혼합물), 물, 염 또는 전해질(예, 프로타민 설페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨 및 아연 염), 교질성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈계 기질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸 셀룰로즈, 폴리아릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌 글리콜 또는 양모지 등을 포함할 수 있다.

- [0053] 또한, 상기 조성물들은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 유화제, 현탁제, 또는 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0054] 일 예로서, 상기 조성물들은 비경구 투여를 위한 수용성 용액으로 제조할 수 있으며, 바람직하게는 한스 용액(Hank's solution), 링거 용액(Ringer's solution) 또는 물리적으로 완충된 염수와 같은 완충 용액을 사용할 수 있다. 상기와 같은 수용성 주입(injection) 현탁액은 소듐 카르복시메틸셀룰로즈, 솔비톨 또는 텍스트란과 같이 현탁액의 점도를 증가시킬 수 있는 기질을 첨가할 수 있다.
- [0055] 다른 일 예로서, 상기 조성물들은 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액의 멸균 주사용 제제의 형태일 수 있다. 이러한 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제(예를 들면, 트윈 80) 및 현탁화제를 사용하여 본 발명 분야에 공지된 기술에 따라 제형화할 수 있다. 상기 멸균 주사용 제제는 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사 용액 또는 현탁액(예를 들면, 1,3-부탄디올 중의 용액)일 수 있다. 사용될 수 있는 비히클 및 용매로는 만니톨, 물, 링거용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 비휘발성 오일이 통상적으로 용매 또는 현탁화 매질로서 사용된다. 이러한 목적을 위해 합성 모노 또는 디글리세라이드를 포함하여 자극성이 적은 비휘발성 오일은 그 어느 것도 사용할 수 있다.
- [0056] 또한, 상기 조성물들은 진단 대상에서 분리한 조직 또는 세포에 투여하여 상기 양친성 나노 입자가 발산하는 신호를 감지하여 영상을 획득하는데 이용될 수 있다. 상기 양친성 나노 입자에 의해 발산되는 신호를 감지하기 위해서는 자기 공명 영상 장치(MRI)와 광학 이미징의 이용이 바람직하다. 상기 자기 공명 영상 장치는 강력한 자기장 속에 생체를 넣고 특정 주파수의 전파를 조사하여 생체조직에 있는 수소 등의 원자핵에 에너지를 흡수시켜 에너지가 높은 상태로 만든 후, 상기 전파를 중단하여 상기 수소 등의 원자핵에너지가 방출되게 하고 이 에너지를 신호로 변환하여 컴퓨터로 처리하여 영상화한 장치이다. 자기 또는 전파는 골에 방해를 받지 않기 때문에 단단한 골 주위 또는 뇌나 골수의 종양에 대하여 종단, 횡단, 임의의 각도에서 선명한 입체적인 단층상을 얻을 수 있다. 특히 상기 자기 공명 영상 장치는 T2 스핀-스핀 이완 자기 공명 영상 장치인 것이 바람직하다.
- [0057] 또한, 상기 양친성 나노 입자는 약제학적 활성 성분과 형광 물질의 물리 화학적 봉입 또는 결합을 통해 세포 또는 조직에서 형광을 나타낼 수 있어 자기 공명 및 광학 영상 장치 등을 통해 생체 분자의 분리, 진단 또는 치료 등의 나노 프로브 및 약물 또는 유전자 전달체(delivery vehicle)등에 이용할 수 있다.
- [0058] 상기 양친성 나노 입자를 이용한 생체 진단의 한 대표적인 예로서 분자 자기 공명 영상 진단 또는 자기 이완 센서(magnetic relaxation sensor)를 들 수 있다. 상기 양친성 나노 입자는 그 크기가 커짐에 따라 더 큰 T2 조영 효과를 나타내는데, 이러한 성질을 이용하면 생체 분자를 검출하는 센서로 사용될 수 있다. 즉, 특정한 생체 분자가 양친성 나노 입자의 영김을 유도하게 되면 이에 의해 T2 자기 공명 영상 효과가 증대된다. 이러한 차이를 이용하여 생체 분자를 검출할 수 있다.
- [0059] 또한, 상기 양친성 나노 입자는 종양과 관련된 다양한 질병, 예를 들어 편평상피세포암, 자궁암, 자궁경부암, 전립선암, 두경부암, 췌장암, 뇌종양, 유방암, 간암, 피부암, 식도암, 고환암, 신장암, 대장암, 직장암, 위암, 신장암, 방광암, 난소암, 담관암, 담낭암을 진단 및/또는 치료하는데 이용될 수 있다. 또한, 류마티스 관절염, 골관절염과 같은 염증성 질환과, 치매, 뇌졸중 등을 포함하는 난치성 질환에서의 단백질분해효소를 영상화하는 방법에 이용될 수 있다.
- [0060] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따른 다중 진단 프로브는 상기 양친성 나노 입자 및 영상 관독을 위한 진단 프로브를 포함할 수 있다.
- [0061] 상기 진단 프로브는 T1 자기 공명 영상 진단 프로브, 광학 진단 프로브, CT 진단 프로브, 또는 방사선 동위원소 등을 사용할 수 있다. 상기 다중 진단 프로브는 예를 들면, 단백질 분해 효소에 의해 분해되는 펩타이드에 T1 자기공명 영상 진단 프로브를 결합시키면 T2 자기 공명 영상 및 T1 자기 공명 영상 진단을 동시에 진행할 수 있고, 광학 진단 프로브를 결합시키면 자기 공명 영상과 광학 이미징을 동시에 할 수 있으며, CT 진단 프로브를 결합시키면 자기 공명 영상과 CT 진단을 동시에 할 수 있다. 또한 방사선 동위원소와 결합시키면 자기 공명 영상과 PET, SPECT 진단을 동시에 할 수 있다.
- [0062] 상기 T1 자기 공명 영상 진단 프로브로는 Gd 화합물, 또는 Mn 화합물 등을 포함하며, 광학 진단 프로브로는 유기형광 염료(dye), 양자점, 또는 염료 표지(dye labelled) 무기 지지체(예 SiO₂, Al₂O₃)를 포함하며, CT 진단 프로브로는 I(요오드) 화합물, 또는 금 나노 입자를 포함하고, 방사선 동위 원소로는 In, Tc, 또는 F 등을 포함할 수 있다.

- [0063] 이하 본 발명의 실시예 및 비교예를 기재한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명의 일 실시예 일 뿐 본 발명이 하기한 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] **[실시예 1: 양친성 나노 입자의 제조]**
- [0065] 1) 말단이 토실레이트(tosylate)기로 치환된 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜(mPEG-Ts)을 제조하는 단계
- [0066] 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜(mPEG) 2.0 g과 트리에틸아민 3 mL를 CH_2Cl_2 30 mL에 녹였다. 상기 녹인 용액을 아이스 배쓰(Ice bath)에 넣었다. 여기에 p-톨루엔설폰일클로라이드(p-toluenesulfonylchloride) 0.572 g를 넣어서 녹이고, 아이스 배쓰(Ice bath)에 2 시간 동안 유지한 후, 상온에서 12 시간 동안 반응시켰다. 그 후, 디에틸 에테르(Diethyl ether)에 3 번 침전하였고, 에탄올(Ethanol)로 두 번 재결정하였다.
- [0067] 2) 아닐린(aniline)기로 치환된 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜(mPEG-NH₂)을 제조하는 단계
- [0068] 상기 제조된 mPEG-TS 2.0 g과 p-아미노벤조산(p-aminobenzoic acid) 0.631 g을 DMF 50 mL에 녹였다. 여기에 포타슘 카보네이트(Potassium carbonate) 0.636 g을 넣어서 녹였다. 50 °C에서 24 시간 동안 교반시켰다. 그 후, 디에틸 에테르(Diethyl ether)에 3 번 침전하였고, 에탄올(Ethanol)로 두 번 재결정하였다.
- [0069] 3) 아닐린(aniline)기로 치환된 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜(mPEG-NH₂) 말단에 아닐린 단량체를 중합시켜 블록 공중합체(mPEG-b-PANI)를 제조하는 단계
- [0070] 상기 아닐린기로 치환된 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜(mPEG-NH₂) 1.0 g에 아닐린(Aniline) 45 μl 와 암모늄 퍼설파이트 용액(1.1 M, 0.25 mL, Ammonium Persulfate)을 넣은 후 교반 하였다. 30 초 후에 마그네틱 바를 제거하고, 4 °C에서 24 시간 동안 반응시켰다. 반응물을 클로로포름에 녹인 후, 원심분리(centrifugal method)로 분리하였다.
- [0071] 상기 제조된 블록 공중합체는 상기 수학적 1에 따라 계산된 전도성 고분자의 질량 분율(mass fraction)이 70 이었다.
- [0072] 4) 양친성 나노 입자를 형성하는 단계
- [0073] 상기 제조된 블록 공중합체들을 얇은 필름 수화(Thin film hydration) 방법을 통해 양친성 나노 입자를 형성하였다.
- [0074] 우선, 제조된 블록 공중합체를 유기 용매에 녹인 후, 얇은 블록 공중합체 필름을 제조하기 위해서 회전 진공 감압 농축기(Rotary vacuumevaporator)을 통해 유기 용매를 증발시켰다. 형성된 얇은 필름을 6 시간 동안 수화시킨 후, 6 시간 동안 교반하여 폴리머쥬 구조의 양친성 나노 입자를 형성하였다.
- [0075] 상기 제조된 양친성 나노 입자에 약물 또는 첨가제(agent)를 넣은 후, 투석(MWCO: 2k)하여 최종 입자를 제조하였다.
- [0076] **[실험예: 제조된 양친성 나노 입자의 특성 평가]**
- [0077] 도 2는 (i) mPEG-NH₂, (ii) 블록 공중합체(mPEG-b-PANI) 및 (iii) 폴리아닐린의 FT-IR 스펙트럼을 측정한 그래프이다.
- [0078] 상기 도 2을 참고하면, 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜을 포함하는 친수성 블록 및 폴리아닐린을 포함하는 소수성 블록을 포함하는 블록 공중합체가 합성되었음을 확인할 수 있다(1460 cm^{-1} (C=C stretching of the benzenoid ring), 1300 cm^{-1} (C-N stretching of the benzenoid unit) 및 1130 cm^{-1} (C-N stretching of the quinoid unit))
- [0079] 도 3은 상기 제조된 양친성 나노 입자를 관찰한 투과 전자 현미경(TEM) 사진이다(스케일 bar = 200 nm).
- [0080] 상기 도 3은 상기 제조된 양친성 나노 입자를 TEM 그리드에 2 방울 내지 3 방울 떨어뜨린 후, TEM 장비로 측정 한 결과이다. 그 결과, 폴리머쥬 구조의 나노 입자가 형성되었음을 확인하였다.
- [0081] 도 4 및 도 5는 각각 상기 제조된 양친성 나노 입자와 폴리아닐린의 UV 스펙트럼을 측정 한 그래프이다. 상기 도 4 및 도 5에서는 상기 제조된 양친성 나노 입자와 순수한 폴리아닐린 입자의 pH 별 UV 스펙트럼을 비교하였다.
- [0082] 상기 도 4 및 도 5를 참고하면, 상기 제조된 양친성 나노 입자는 pH 상태에 따라 민감하게 흡수 파장대가 변화

하는 것으로부터 생체 내에서 pH 값에 따라 대사 환경을 평가할 수 있음을 알 수 있다. 즉, 상기 양친성 나노 입자는 생체 내 산화-환원 반응을 용이하게 검출할 수 있어, 조기 진단 및 예후를 효과적으로 판단할 수 있는 바이오 프로브로 이용될 수 있다.

[0083] 도 6은 상기 제조된 양친성 나노 입자의 약물 방출 실험 결과를 나타내는 그래프이다. 상기 도 6에서 환원은 NH₄OH(농도: 1 M)를 0.1 mL의 함량으로 넣고, 산화는 HCl(농도: 1 M)을 0.1 mL의 함량으로 넣어서 산화와 환원이 이루어지는 조건에서 시간에 따른 약물의 방출 양을 확인하였다.

[0084] 상기 도 6을 참고하면, 상기 양친성 나노 입자는 산화되었을 때 약물 방출이 서서히 이루어지며, 환원되었을 때 약물 방출이 급격히 증가됨을 확인하였다.

[0085] 도 7은 상기 제조된 양친성 나노 입자의 세포 독성 효과를 확인한 결과이다. 상기 도 7에서는 DOX(Doxorubicin)가 담지되지 않은 양친성 나노 입자(Free DOX)와 DOX가 담지된 양친성 나노 입자(Dox loaded PANISome)의 약물 치료 성능을 DOX 양으로 MDA-MB-231 cell line에서 확인하였다. IC 50 결과 Free DOX 보다 10 배 이상 약물 치료 성능이 향상됨을 확인하였다.

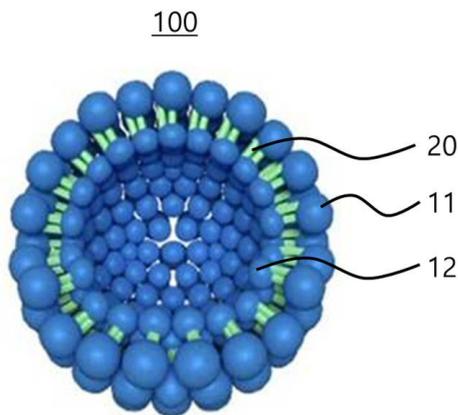
[0086] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

부호의 설명

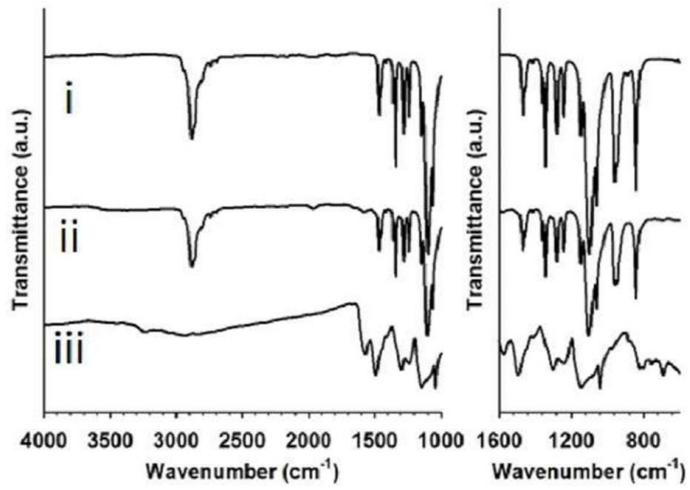
- [0087] 100: 양친성 나노 입자
- 11: 친수성 셸
- 12: 친수성 코어
- 20: 소수성 셸

도면

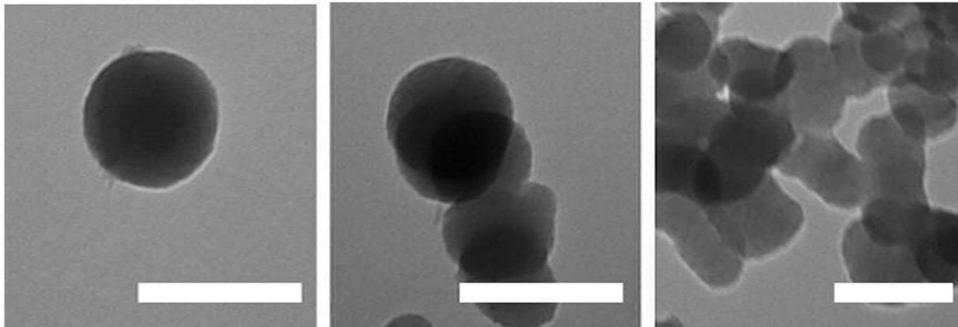
도면1



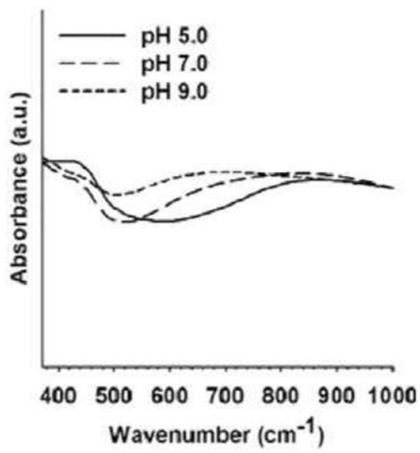
도면2



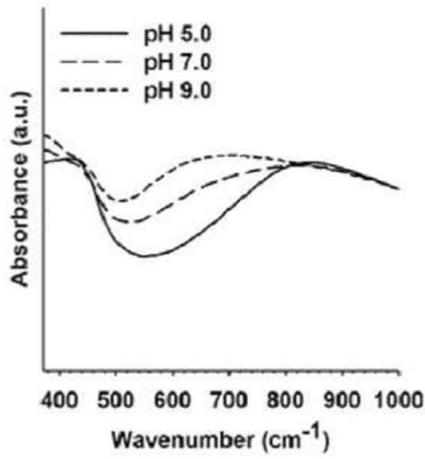
도면3



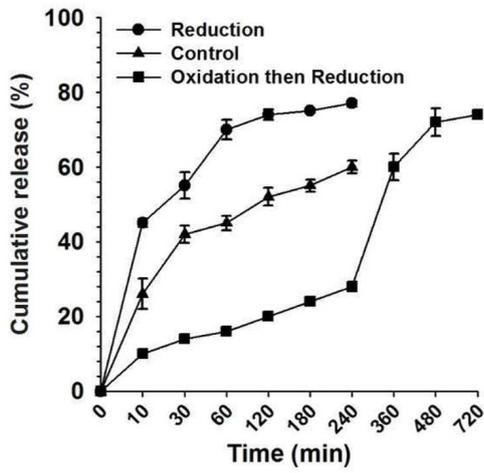
도면4



도면5



도면6



도면7

