(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년02월14일
(11) 등록번호 10-1705033
(24) 등록일자 2017년02월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2006.01) *A61K 31/275* (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01) *C08G 81/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/127 (2013.01)
A61K 31/275 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0181627
(22) 출원일자 2015년12월18일
심사청구일자 2015년12월18일
(56) 선행기술조사문헌
Ruchit Trivedi et.al, Nanomedicine (Lond). 2010 April ; 5(3): 485-505*
Kevin Letchford et.al., Volume 65, Issue 3, March 2007, Pages 259-269*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이은지
대전광역시 유성구 동서대로 725 (원신흥동, 어울림하트) 1210-2402
박미경
경기도 평택시 팽성읍 안정로14번길 25-7
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 플러스

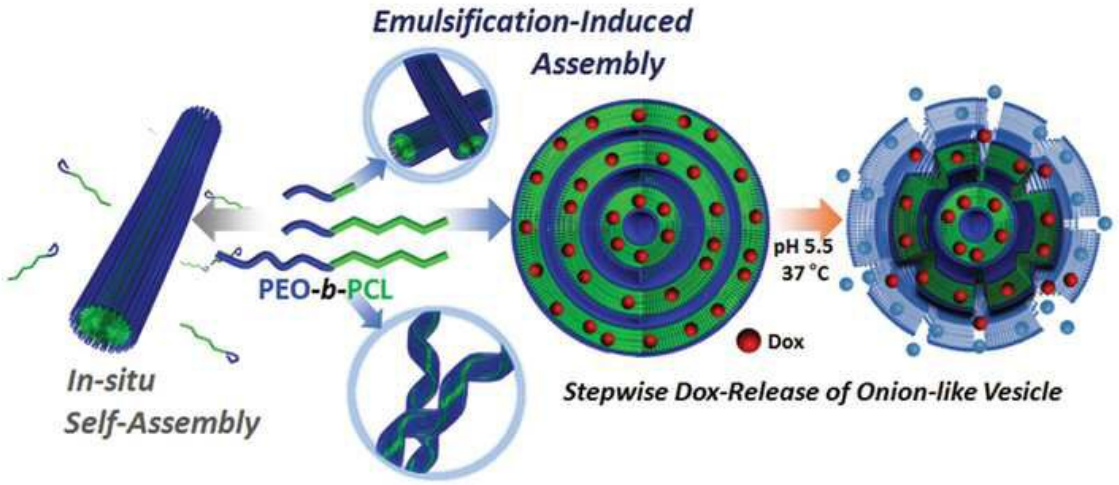
전체 청구항 수 : 총 12 항 심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 **단계적 약물 방출이 가능한 자기 조립 다층 나노소포체 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 단계적 약물 방출이 가능한 자기 조립 다층 나노 약물소포체 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 상세하게는 유화 액적 계면에서 일어나는 화학적 불안정성을 유도하여 한층 이상의 친수성 층과 소수성 층이 교대로 적층된 구조를 가진 생분해성 양친매성 고분자 기반 자기조립 나노소포체(nanovesicle)를 제조하고, 이들 층에 수용성 또는 난용성 약물을 담지한 후, 생리활성 조건에서 분해반응이 진행되도록 유도하여 서방형 약물 전달 시스템(drug delivery system)으로 적용을 도모한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/704 (2013.01)
A61K 9/1277 (2013.01)
C08G 81/00 (2013.01)

(72) 발명자
김인혜
전라북도 군산시 서래안2길 10 (중동)

진선미
전라북도 전주시 덕진구 편운로 54-15 (동산동, 미진우석맨션) 502호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2013R1A1A2061197
부처명 교육부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 일반연구자/기본연구
연구과제명 공액고분자-바인더의 액상 자기조립 구조제어 기반 유무기 이종접합 1D 나노전선 제조
기 여 율 40/100
주관기관 충남대학교 산학협력단
연구기간 2015.11.01 ~ 2016.10.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2013R1A2A2A04015914
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 중견연구자/핵심연구_융합공동
연구과제명 생체인지질 모방 믹토암 고분자를 이용한 맞춤형 세포소기관 표적 나노베시클
기 여 율 40/100
주관기관 충남대학교 산학협력단
연구기간 2013.06.01 ~ 2016.05.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2014-2168-01
부처명 충남대학교
연구관리전문기관 충남대학교 산학협력단
연구사업명 CNU 학술연구과제
연구과제명 PEO-b-PCL 양친매성 고분자의 기능성 나노구조체 개발
기 여 율 20/100
주관기관 충남대학교
연구기간 2014.11.01 ~ 2015.10.31
공지예외적용 : 있음

명 세 서

청구범위

청구항 1

하나 이상의 친수성 블록 및 소수성 블록이 중합된 결정성 양친매성 고분자를 유화 자기조립하여 제조되며 여러 겹의 껍질을 갖는 다층 구조의 나노소포체로서 상기 소수성 블록의 분자량이 친수성 블록의 분자량에 대하여 2배 이상이며,

상기 친수성 블록은 폴리에틸렌옥사이드, 폴리에틸렌이민, 폴리알킬렌옥사이드, 폴리옥사졸린, 폴리비닐피롤리돈, 폴리아크릴아미드, 폴리비닐알콜, 아미노산, 당 및 이들의 단량체에서 선택되는 하나 이상이고, 소수성 블록은 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리(D,L-락티드) (Poly(D,L-Lactide)), 폴리(L-락티드)(Poly(L-lactide)), 폴리(디옥사논), 폴리(글리콜리드), 폴리(무수물) 및 폴리(히드록시알카노에이트)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 자기 조립 다층 나노소포체.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 다층 나노소포체는 3층 이상인 것인 자기 조립 다층 나노소포체.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 소수성 블록은 산성 분위기에서 가수분해되는 것인 자기 조립 다층 나노소포체.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 소수성 층은 pH 2 내지 6, 37 ℃ 이상에서 분해반응이 진행되는 것인 자기 조립 다층 나노소포체.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 소수성 층은 하나 이상의 난용성 피담지체를 포함할 수 있는 자기 조립 다층 나노소포체.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 난용성 피담지체는 파클리탁셀, 케토코나졸, 이트라코나졸, 사이클로 스포린, 시사프라이드, 아세트아미노펜, 아스피린, 아세틸살리실산, 인도메타신, 나프로센, 와파린, 파파베린, 티오아벤 다졸, 미코나졸, 시나리진, 독소루비신, 오메프라졸, 콜레칼시페롤, 멜팔란, 니페디핀, 디곡신, 벤조산 트립토판, 타이로신, 페닐알라닌, 아즈트레오남, 이부프로펜, 펜옥시메틸페니실린, 탈리도마이드, 메틸테스토스테론, 프로클로르페라진, 히드로코티손, 디데옥시퓨린 뉴클레오사이드, 비타민 D2, 술폰아미드, 술포닐우레아, 파라아미노벤조산, 멜라토닌, 벤질페니실린, 클로람뷰실, 디아제핀, 디기톡신, 히드로코티손 뷰레이트, 메트로니다졸 벤조산염, 톨부타마이드, 프로스타 글란딘, 플루드로코티손, 그리세오풀빈, 미코나졸 질산염, 류코트라이엔 비포 억제제, 프로프라놀롤, 테오필린, 플러비 프로펜, 벤조산 나트륨, 벤조산, 리보플라빈, 벤조디아제핀, 페노바비탈, 글리뷰라이드, 설파이아진, 설파에틸티아디아졸, 디클로페낙 나트륨, 피니로인, 히오리다진히드로클로라이드, 브로피리민, 히드로클로로티아지드 및 플로코나졸에서 선택되는 어느 하나 이상인 자기 조립 다층 나노소포체.

청구항 7

a) 하나 이상의 소수성 블록과 친수성 블록을 포함하며 소수성 블록이 친수성 블록의 분자량보다 2배 이상이며 결정성인 양친매성 고분자를 친수성 용매와 소수성 용매의 혼합 용매에 투입하고 교반하여 유화액을 제조하는

단계; 및

b) 상기 유화액을 제조한 후 유기 용매를 제거하는 단계;

를 포함하여 여러 겹의 껍질을 갖는 다층 구조의 나노소포체를 제조하며,

상기 친수성 블록은 폴리에틸렌옥사이드, 폴리에틸렌이민, 폴리알킬렌옥사이드, 폴리옥사졸린, 폴리비닐피롤리돈, 폴리아크릴아미드, 폴리비닐알콜, 아미노산, 당 및 이들의 단량체에서 선택되는 하나 이상이고, 소수성 블록은 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리(D,L-락티드) (Poly(D,L-Lactide)), 폴리(L-락티드)(Poly(L-lactide)), 폴리(디옥사논), 폴리(글리콜리드), 폴리(무수물) 및 폴리(히드록시알카노에이트)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 자기 조립 다층 나노소포체 제조방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

제 7항에 있어서,

상기 친수성 블록의 중량평균분자량은 1,000 내지 50,000인 자기 조립 다층 소포체의 제조방법.

청구항 11

제 7항에 있어서,

상기 친수성 용매는 물, 메탄올, 프로판올, 에틸렌글리콜, 아세톤 및 부탄온에서 선택되는 하나 이상이며, 상기 소수성 용매는 펜탄(pentane), 헥산(hexane), 데칸(decane), 시클로헥산(cyclohexane), 1-펜텐(1-pentene), 이소부틸렌(isobutylene), 벤젠(benzene), 톨루엔(toluene), 자일렌(xylene), 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran), 디옥산(dioxane), 디에틸 설파이드(diethyl sulfide), 디메틸 설폭사이드(dimethyl sulfoxide), 디에틸아민(diethylamine), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 클로로포름(chloroform), 디메틸 포름아미드(dimethyl formamide) 및 피리딘에서 선택되는 하나 이상인 자기 조립 다층 소포체의 제조방법.

청구항 12

제 7항에 있어서,

상기 용매에 친수성 또는 난용성 피담지체를 더 포함할 수 있는 자기 조립 다층 소포체의 제조방법.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 피담지체는 진단조영제, 독소루비신, 파클리탁셀, 케토코나졸, 이트라코나졸, 사이클로 스포린, 시사프라이드, 아세트아미노펜, 아스피린, 아세틸살리실산, 인도메타신, 나프로센, 와파린, 파파베린, 티오아벤 다졸, 미코나졸, 시나리진, 독소루비신, 오메프라졸, 콜레칼시페롤, 멜팔란, 니페디핀, 디곡신, 벤조산 트립토판, 타이로신, 페닐알라닌, 아즈트레오남, 이부프로펜, 펜옥시메틸페니실린, 탈리도마이드, 메틸테스토스테론, 프로클로르페라진, 히드로코티손, 디데옥시퓨린 뉴클레오사이드, 비타민 D2, 술폰아미드, 술포닐우레아, 파라아미노벤조산, 멜라토닌, 벤질페니실린, 클로람뷰실, 디아제핀, 디기톡신, 히드로코티손 뷰레이트, 메트로니다졸 벤조산염, 톨부타마이드, 프로스타 글란딘, 플루드로코티손, 그리세오풀빈, 미코나졸 질산염, 류코트라이엔 비포 억제제, 프로프라놀롤, 테오필린, 플러비 프로펜, 벤조산 나트륨, 벤조산, 리보플라빈, 벤조디아제핀, 페노바비탈, 글리뷰라이드, 설파이아진, 설파에틸티아디아졸, 디클로페낙 나트륨, 피니로인, 히오리다진히드로클로라이드, 브로피리민, 히드로클로로티아지드 및 플로코나졸에서 선택되는 어느 하나 이상인 자기 조립 다층 나노소포체의 제조방법.

청구항 14

제 12항에 있어서,

상기 피담지체는 캠토택신, 염산 독소루비신 및 염산 베라파밀에서 선택되는 어느 하나 이상인 자기 조립 다층 나노소포체의 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 단계적 약물 방출이 가능한 자기 조립 다층 나노 약물소포체 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 상세하게는 유화 액적(emulsion droplet) 계면에서 일어나는 화학적 불안정성을 유도하여 복수의 층이 적층되어 있는 양친매성 고분자 기반 자기조립 나노소포체(nanovesicle)를 제조하고, 이들 층에 수용성 또는 난용성 약물을 담지한 후, 생리활성 조건에서 분해반응이 진행되도록 유도하여 서방형 약물 전달 시스템(drug delivery system)으로의 적용을 도모한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 나노수준의 구조체를 이용한 기능성 소재 개발의 유용성이 대두되면서, 소수성 블록과 친수성 블록을 함께 가지고 있는 양친매성 고분자의 다양한 자기조립 나노구조체의 형성을 제어하고자 하는 연구들이 주목받아 왔다. 수용액 내에 양친매성 고분자는, 소수성 블록이 시스템의 자유에너지를 낮추고자 물을 피해 자기들끼리 회합하고자 하고, 친수성 블록이 수용액 내에서 균일하게 용해되고자 하므로, 수용액 내에서 열역학적으로 안정한 구조체를 유지할 수 있게 된다. 따라서 양친매성 고분자는 분자량, 친수성/소수성 블록비율, 블록의 강직도, 블록간의 친화력, 블록의 분자구조, 친수성 블록의 전하 등을 조절함에 따라 구형, 막대형, 리본형 미셀과 같은 다양한 코어-셸(core-shell)타입의 자기조립 나노 구조체로의 제어가 가능하고, 특정 작용을 나타내는 기능성 블록의 도입을 통해 나노구조체를 기반으로 하는 기능성 재료의 제조가 용이하다.

[0003] 예를 들어, 생체적합성 및 생분해성이 있는 블록을 도입한 양친매성 고분자는 많은 생의학 분야에 잠재적 응용가능성을 가지고 있으며, 형성된 코어-쉘 나노구조체의 표면개질이 블록의 간단한 도입 또는 교체 등을 통해 가능하다는 점에서 난용성 약물의 가용화는 물론 표적지향성 약물전달 시스템, 유전자 전달시스템으로의 응용이 가능하고, 이에 관한 많은 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0004] 수용액상 자기조립 가능한 다양한 나노구조체 중에서, 내부가 비어있는 나노소포체는 친수성 중심과 소수성 막 공간을 가지고 있기 때문에 다양한 표면 성질을 지닌 치료 및 진단제의 담지가 동시에 가능하고 높은 담지 효율을 통해 생기능성 나노약물(nanomedicine)로 적용이 가능하므로 매우 흥미로운 나노구조체이다. 하지만, 예를 들어, FDA 승인을 받은 생체 적합성 생분해성 블록으로 이루어진 양친매성 고분자 PEO-*b*-PCL을 직접적으로 물에 용해하여 형성된 나노구조체의 경우 PCL 블록의 결정성으로 인해 선형 미셀 또는 판형구조가 대부분이며 소포체 형성은 매우 어렵다.

[0005] 또한, 종래의 약물에 있어서 소수성 약물은 그 자체를 수송체에 높은 효율로 담지하는 것이 어려우며, 방출도 즉시 이루어지거나 수송체를 제조하는 과정에서 생리활성물질의 손실이 일어나는 경우가 많았다. 따라서 나노수송체 개발에 있어서, 생리활성물질 또는 약물의 손실을 억제하고, 원하는 환부에 약물을 효과적으로 전달할 수 있으며, 치료 용량의 약물이 장시간 방출될 수 있는 서방형 제제의 개발이 절실히 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2006-0120835 (2006년 11월 28일)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 도출된 것으로, 본 발명의 목적은 하나 이상의 친수성 블록 및 소수성 블록을 포함하는 양친매성 고분자를 기반으로 다수의 층이 적층된 자기조립 다층 나노소포체를 개발하는

것이다.

[0008] 또한 본 발명의 다른 목적은 복수의 친수성과 소수성 층이 특정 조건에서 분해반응이 진행되어 친수성 또는 소수성의 약물을 함유하는 층이 단계적으로 분해되어 그 층 속에 함유되어 있는 약물을 서서히 방출할 수 있는 자기 조립 다층 약물 나노소포체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 일반적인 수용액상 자기조립 제조법과는 달리 유화 액적 계면에서 일어나는 화학적 불안정성을 이용하여 양친매성 고분자의 화학적 개질화 없이 소포체를 제조할 수 있는 자기조립 다층, 좋게는 3층 이상의 다층 약물 나노소포체 용액공정 방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 특정 온도 및 pH에 의해 결합이 파괴될 수 있는 소수성 층을 소수성 성분, 특히 독소루비신(doxorubicin)과 같은 약제와 소수성 상호작용을 통해 담지 또는 결합함으로써, 특정 온도 및 pH를 띄는 환부에서만 약물을 지속적으로 겹겹이 쌓여 있는 소수성층의 분해에 의해 순차적으로 방출할 수 있는 자기 조립 다층 약물 나노소포체 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 복수의 층이 물채널을 형성하며 적층되어 있는 다층 구조를 통해 피담지 성분의 담지량을 획기적으로 높일 수 있는 자기 조립 다층 약물 나노수송체 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 자기 조립 다층 약물 나노소포체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[0013] 본 발명의 일 양태는 하나 이상의 친수성 블록 및 소수성 블록이 중합된 결정성 양친매성 고분자로서 소수성블록의 분자량이 친수성블록의 분자량보다 현저히 큰 양친매성 고분자를 이용하여 자기조립되어 수용액상 분산 가능한 다층 나노소포체를 제조하는 제조방법 및 이로부터 제조되는 친수성층과 소수성층이 복수로 교대로 적층되어 있는 다층 소포체를 제공하는 것이다.

[0014] 또한 본 발명의 다층 소포체는 다층 나노소포체에 관한 것이다.

[0015] 또한 본 발명에서 다층 소포체는 상기 친수성 층 및 소수성 층을 각각 적어도 3층 이상으로 구성할 수 있다. 본 발명의 다층구조는 양친매성 고분자층이 물채널을 매개로 하여 적층되어 형성되는 구조를 가지는 다층 나노소포체 구조를 가지는 것이다.

[0016] 또한 본 발명의 다층 소포체의 상기 소수성 층은 산성 분위기에서 가수분해될 수 있으며, 더 바람직하게는 pH 2 내지 6 이하에서 분해반응이 진행될 수 있다.

[0017] 또한 본 발명의 분해반응은 더 바람직하게는 pH 2 내지 5.5, 37℃이상의 온도에서 분해반응이 진행될 수 있다.

[0018] 본 발명에서 상기 담지 가능한 소수성 성분(예를 들면 약물 등)은 소수성 상호작용을 통해 소수성 층에 담지 또는 결합될 수 있으며, 소수성 층의 크기에 반해 작아야하고, 더 상세하게는 소수성 약물인 독소루비신 또는 표면이 소수성으로 개질화 진단 조영제인 Fe_3O_4 나노입자 일수 있지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0019] 본 발명의 다층 소포체는 소수성 블록과 친수성 블록을 포함하는 양친매성 고분자로서, 소수성부분이 결정성을 가져서 자기조립이 가능하여야 하며, 또한 친수성블록에 대하여 소수성블록의 분자량이 현저히 큰 중합체를 이용하여 제조하는 것으로서, 좋게는 소수성 블록이 친수성 블록에 비하여 2 배이상의 분자량을, 좋게는 3배 이상의 분자량을, 더욱 좋게는 5배 이상의 분자량을 가진다. 상기 분자량은 스티렌표준물질을 이용한 겔 투과 크로마토그래피로 측정하는 중량평균분자량 또는 수평균분자량 모두에 해당할 수 있다.

[0020] 본 발명의 상기 양친매성 고분자를 친수성 용매와 소수성 용매의 혼합 용매에 투입하고 자기조립을 유도하는 것인 자기 조립 다층 나노소포체 제조방법에 관한 것이다.

[0021] 본 발명은 또한 상기 다층 소포체를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[0022] 본 발명의 상기 제조방법은

[0023] a) 하나 이상의 소수성 블록과 친수성 블록을 포함하며 소수성 블럭이 친수성블록의 분자량보다 2배 이상이며 결정성인 양친매성 고분자를 친수성 용매와 소수성 용매의 혼합 용매에 투입하고 교반하여 유화액을 제조하는 단계; 및

[0024] b) 상기 유화액으로부터 유기 용매를 제거하는 단계;

[0025] 를 포함하는 자기 조립 다층 나노소포체 제조방법에 관한 것으로서, 상기 결정성 양친매성고분자는 소수성블럭이 친수성블럭에 대하여 2배, 좋게는 3배 더욱 좋게는 5배 이상의 분자량을 가지는 것이고, 소수성블럭이 pH 6 이하에서 가수분해되는 것을 특징으로 한다.

[0026] 본 발명에서 상기 친수성 블록은 폴리에틸렌옥사이드, 폴리에틸렌이민, 폴리알킬렌옥사이드, 폴리옥사졸린, 폴리비닐피롤리돈, 폴리아크릴아미드, 폴리비닐알콜, 아미노산, 당 및 이들의 단량체에서 선택되는 하나 이상이며, 상기 소수성 블록은 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리(D,L-락티드) (Poly(D,L-Lactide)), 폴리(L-락티드)(Poly(L-lactide)), 폴리(디옥사논), 폴리(글리콜리드), 폴리(무수물) 및 폴리(히드록시알카노에이트)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있지만 이에 반드시 한정되는 것은 아니다.

[0027] 또한 본 발명에서 상기 소수성 블록 또는 친수성 블록의 중량평균분자량은 특별히 제한하는 것은 아니지만, 예를들면 1,000 내지 50,000일 수 있으며, 상기 소수성 블록(Mw_o)과 친수성 블록(Mw_i)의 중량평균분자량비(Mw_o/Mw_i)는 2 내지 20 일 수 있으며, 좋게는 3 내지 15, 더욱 좋게는 5 내지 10이면 좋지만 소수성블럭의 분자량이 친수성블럭의 분자량의 2배 이상의 것이라면 제한하지 않고, 5배 이상일 경우 거의 구형에 가까운 가장 우수한 소포체 형태의 다층구조를 형성하므로 좋다

[0028] 또한 본 발명에서 상기 친수성 용매는 물, 메탄올, 프로판올, 에틸렌글리콜, 아세톤 및 부탄온에서 선택되는 하나 이상이며, 상기 소수성 용매는 펜탄(pentane), 헥산(hexane), 데칸(decane), 시클로헥산(cyclohexane), 1-펜텐(1-pentene), 이소부틸렌(isobutylene), 벤젠(benzene), 톨루엔(toluene), 자일렌(xylene), 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran), 디옥산(dioxane), 디에틸 설파이드(diethyl sulfide), 디메틸 설폭사이드(dimethyl sulfoxide), 디에틸아민(diethylamine), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 클로로포름(chloroform), 디메틸 포름아미드(dimethyl formamide) 및 피리딘에서 선택되는 하나 이상일 수 있지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0029] 또한 본 발명에서 상기 유기 용매에 파클리탁셀, 케토코나졸, 이트라코나졸, 사이클로 스포린, 시사프라이드, 아세트아미노펜, 아스피린, 아세틸살리실산, 인도메타신, 나프로센, 와파린, 파파베린, 티오아벤 다졸, 미코나졸, 시나리진, 독소루비신, 오메프라졸, 콜레칼시페롤, 멜팔란, 니페디핀, 디곡신, 벤조산 트립토판, 타이로신, 페닐알라닌, 아즈트레오남, 이부프로펜, 펜옥시메틸페니실린, 탈리도마이드, 메틸테스토스테론, 프로클로르페라진, 히드로코티손, 디데옥시퓨린 뉴클레오사이드, 비타민 D2, 술폰아미드, 술포닐우레아, 파라아미노벤조산, 멜라토닌, 벤질페니실린, 클로람뷰실, 디아제핀, 디기톡신, 히드로코티손 뷰레이트, 메트로니다졸 벤조산염, 톨부타마이드, 프로스타 글란딘, 플루드로코티손, 그리세오풀빈, 미코나졸 질산염, 류코트라이엔 비포 억제제, 프로프라놀롤, 테오필린, 플러비 프로펜, 벤조산 나트륨, 벤조산, 리보플라빈, 벤조디아제핀, 페노바비탈, 글리뷰라이드, 설파이아진, 설파에틸티아디아졸, 디클로페낙 나트륨, 피니로인, 히오리다진히드로클로라이드, 브로피리민, 히드로클로로티아지드 및 플로코나졸에서 선택되는 어느 하나 이상의 소수성 성분을 더 포함할 수 있지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0030] 이상에 기재한 실시예는 기재된 내용에 국한되는 것이 아니며, 동 분야에 종사하는 업자라면 쉽게 바꿀 수 있는 모든 사항을 포함한다. 일 예로 동일한 기술을 실시할 목적으로 다른 형태의 장치를 사용하는 경우가 있을 수 있다.

발명의 효과

[0031] 본 발명에 따른 자기 조립 다층 소포체는 좋게는 양친매성 고분자가 물채널을 매개로 하여 3층 이상 복수의 층으로 적층되어 있는 형태를 가진다. 따라서 상기 층들에 수용성 또는 난용성 성분(약물)과 상호작용으로 결합됨으로써, 일반적인 단층 소포체에 반해 수용성 또는 난용성 성분(약물)의 담지 효율을 획기적으로 높일 수 있다.

[0032] 즉, 본 발명의 상기 담지된 다층구조의 소포체 형태일 경우 체내에 투입되었을 경우, 환부에서 외층의 소수성층이 적절한 pH조건과 온도 조건에서 분해되면서 담지된 약물이 서서히 방출되고, 이어서 친수성 블록이 체내로 용해된 후, 이어서 내층이 다시 분해되어 약물을 서서히 방출하게 되는 과정을 반복함으로써, 장기적으로 서방형 약물작용을 하게 된다.

[0033] 또한 상기 양친매성층의 소수성 블록은 특정 온도 또는 pH 조건에서 분해되는 성질을 가지고 있으므로, 정상 부위와 온도 및 pH가 다른 환부에서 담지된 상기 성분들이 방출될 수 있도록 상기 성분들을 선택할 수 있다.

[0034] 또한 본 발명에 따른 자기 조립 다층 소포체는 수용성 또는 난용성 피담지체를 포함할 수 있는 다층 구조를 가지고 있으며, 특정 조건에서 최외곽층부터 분해가 일어나므로 치료 용량의 약물이 장시간 지속적으로 방출될 수

있는 서방형 제제로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 자기 조립 다층 나노약물 소포체의 형태 및 피담지체의 단계적 방출원리를 도시한 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 일반적인 자기 조립 나노구조체의 제조방법과 유화 액적 계면에서 일어나는 화학적 불안정성 유도한 다층 소포체 제조 방법을 도시한 것이다.

도 3은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 유화 액적의 유기 용매 증발과정에 따른 소포체 형성 과정을 나타낸 투과전자현미경 이미지를 도시한 것이다.

도 4는 본 발명의 실시예 1에 의해 제조된 나노 소포체의 층 두께 및 층간 거리를 측정한 결과로, a는 소수성 층의 두께, b는 친수성 층의 두께, c는 나노 소포체의 층 구조를 도시한 것이다.

도 5는 실시예에 따라 유화 액적 형태로 제조된 자기 조립 소포체의 3D 구조 등을 도시한 것이다.

도 6은 실시예에 따라 유화 액적 형태로 제조된 자기 조립 소포체에 Nile red, Fe_3O_4 를 담지한 것을 도시한 것으로, a는 Nile red(λ_{ex} = 530㎚)를 포함한 회합체의 형광 현미경 사진이며, b는 Nile red를 포함한 자기 조립 소포체의 투과전자현미경 사진을 도시한 것이며, c는 Nile red를 포함한 회합체의 형광 스펙트럼 그래프를 도시한 것이다.

도 7은 본 발명의 실시예 4에 따라 제조된 나노 소포체의 시간에 따른 독소루비신 방출량을 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 이하 첨부된 도면 및 구체예들을 참조하여 본 발명에 따른 자기 조립 다층 나노 약물소포체 및 이의 제조방법에 대해 상세히 설명한다. 다만 하기 구체예 또는 실시예는 본 발명을 상세히 설명하기 위한 하나의 참조일 뿐 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니며, 여러 형태로 구현될 수 있다.

[0037] 또한 달리 정의되지 않은 한, 모든 기술적 용어 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자 중 하나에 의해 일반적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 설명에 사용되는 용어는 단지 특정 구체예를 효과적으로 기술하기 위함이고 본 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0038] 또한 다음에 소개되는 도면들은 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 예로서 제공되는 것이다. 따라서 본 발명은 이하 제시되는 도면들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 이하 제시되는 도면들은 본 발명의 사상을 명확하게 하기 위해 과장되어 도시될 수 있다. 또한 명세서 전체에 걸쳐서 동일한 참조번호들은 동일한 구성요소들을 나타낸다.

[0039] 또한 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 사용되는 단수 형태는 문맥에서 특별한 지시가 없는 한 복수 형태도 포함하는 것으로 의도할 수 있다.

[0040] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라, 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0041] 본 발명에서 용어 '고분자' 는 하나 이상의 단량체가 결합된 형태로 올리고머를 포함할 수 있다.

[0042] 본 발명에서 용어 '양친매성 고분자' 는 양친매성 블록 공중합체(amphiphilic block copolymer)를 의미하여 소수성 블록(hydrophobic block)과 친수성 블록(hydrophilic block)으로 이루어진 고분자를 뜻한다.

[0043] 본 발명에서 용어 '자기조립 나노구조체(self-assembled nanostructure)' 는 상기 양친매성 고분자의 분자간 또는 블록간 상호작용으로 자기배열에 의해 형성되는 고유의 모폴로지(morphology)를 뜻하는 것으로, 나노미터 수준의 크기를 가지는 미셀(micelle), 리본(ribbon), 소포체(vesicle) 등을 포함할 수 있다.

[0044] 본 발명에서 용어 '나노수송체(nanocarrier)' 는 자기조립 내에 하나 이상의 약물 또는 진단제재를 담지할 수 있으며, 담지된 약물 및 진단제재를 인체 내 원하는 부위로 이송할 수 있는 모든 물질을 의미한다.

[0045] 일반적으로, 약물전달 시스템에 활용되는 나노수송체 기술은 나노 크기의 수송체에 원하는 성분을 담지한 후, 환부에 원하는 속도로 방출하는 기술로써, ① 인체 내에서 사용이 가능하도록 독성이 없어야 하며, ② 약물과 같은 피담지 성분의 담지량이 높아야 하며, ③ 피담지 성분의 방출량을 조절할 수 있어야 하며, ④ 수송체의 크

기를 효과적으로 제어할 수 있어야 한다.

[0046] 양친매성 고분자는 독성이 없는 친수성 블록 및 소수성 블록을 선택적으로 중합함으로써 각 블록 간의 자기조립을 유도하며, 용액 내에서 열역학적으로 안정한 구조체를 유지할 수 있는 장점이 있다. 그러나 폴리카프로락톤과 같은 결정성 고분자를 포함하는 양친매성 블록 공중합체의 경우, 수용액 상에서 높은 결정성 때문에 다양한 형태의 나노구조체 제조가 어려운 단점이 있다.

[0047] 본 발명자는 이러한 문제점을 해결하기 위해 예의 연구를 거듭하던 중, 결정성 양친매성 고분자로서, 소수성 블록이 친수성 블록에 비하여 현저히 큰 분자량을 가지는 경우에 이를 이용하여 유화작용을 통해 소포체를 형성하는 경우, 유도된 고분자의 계면 불안정성을 이용하여 고분자의 결정성을 저하시키고, 양파와 같이(onion-like) 여러 겹의 껍질을 갖는 다층 구조의 소포체가 형성되어 여러 층에 피담지 성분을 담지하여 담지량을 획기적으로 높일 수 있는 것을 발견하였다.

[0048] 또한 특정 조건에서 자기 조립 다층 나노 소포체의 각 층이 순차적으로 분해되어 피담지 성분의 방출량을 조절할 수 있는 것을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

[0049] 본 발명에 따른 자기 조립 다층 나노소포체는 하나 이상의 양친매성 고분자층이 다수 적층되며, 상기 다층구조의 어느 하나의 층에 하나 이상의 수용성 또는 난용성 피담지체를 담지되어 있는 다층 소포체구조체를 제공하는 것이다.

[0050] 도 1은 본 발명에 의해 제조된 소포체의 도면을 형상화한 도면이다. 도 1에서 보듯이, 양친매성고분자가 유화자기 조립조건에서 분리되어 다층구조의 양친매성고분자층이 복수로 형성된 원형의 소포체형태로 형성되며 각층은 파랗게 표시된 바와 같이 물채널을 경계로 층을 형성하고 있다, 각 층에는 수용성 또는 난용성 담지약물들이 담지된 상태를 나타내며, 이러한 소포체가 적정 pH 및 온도에서 분해되어 담지되어 있는 약물이 서서히 방출하고 이러한 과정을 각 층들에서 완전히 수행될 때 까지 계속 누출되는 형태를 가진다.

[0051] 또한 본 발명에 따른 자기조립 다층 나노소포체는 a) 하나 이상의 소수성 블록과 친수성 블록을 포함하며 소수성 블럭이 친수성블록의 분자량보다 2배 이상이며 결정성인 양친매성 고분자를 친수성 용매와 소수성 용매의 혼합 용매에 투입하고 교반하여 유화액을 제조하는 단계; 및 b) 상기 유화액으로부터 유기 용매를 제거하는 단계;를 포함하여 제조할 수 있다.

[0052] 도 2는 본 발명의 다층 소포체 구조체를 제조하는 방법을 도식화한 것이다. 즉, 양친매성 고분자를 용액상으로 제조한 후, 유화제와 물을 투입하여 유화함으로써, 소포체 형태의 다층구조를 가지는 소포체 구조체를 제조하는 방법을 설명하고 있다. 이때 유화제 등을 사용하지 않거나 소수성 블록이 친수성 블록에 대하여 중량평균분자량이 2배 이상 되지 않을 경우에는 구형 형태의 다층구조의 소포체 구조를 형성하기 어렵다.

[0053] 본 발명에서 상기 친수성 층은 양친매성 블록 공중합체의 친수성 블록으로 이루어진 것으로, 상기 친수성 블록은 당업계에서 양친매성 블록 공중합체 블록으로 통상적으로 사용되는 것으로서 수용성을 가지는 고분자라면 종류에 한정하지 않으며, 특히 인체에 독성이 발현되지 않는 것을 사용하는 것이 좋다.

[0054] 본 발명에서 사용할 수 있는 상기 친수성 블록의 일예로는 폴리에틸렌이민, 폴리알킬렌옥사이드, 폴리옥사졸린, 폴리비닐피롤리돈, 폴리아크릴아미드, 폴리비닐알콜, 아미노산, 당 및 이들의 단량체에서 선택되는 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 폴리에틸렌옥사이드를 사용하는 것이 생체 내의 분자들과 반응하지 않아 좋다.

[0055] 본 발명에서 상기 소수성 층은 양친매성 블록 공중합체의 소수성 블록으로 이루어진 것으로, 상기 친수성 블록과 동일하게 인체 내에서 독성을 발현하지 않는 통상적인 소수성 고분자를 사용할 수 있다. 또한 pH 6이하, 좋게는 pH 2 내지 5.5이하에서 가수분해가 발현될 수 있는 물질이 바람직하다.

[0056] 본 발명에서 사용할 수 있는 상기 소수성 블록의 일예로는 결정성을 나타내는 폴리(D,L-락티드) (Poly(D,L-Lactide)), 폴리(L-락티드)(Poly(L-lactide)), 폴리(디옥사논), 폴리(글리콜리드), 폴리(무수물) 및 폴리(히드록시알카노에이트)로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으며, 바람직하게는 폴리카프로락톤(polycaprolactone)을 사용하는 것이 생체 적합성이 우수하며, pH 6이하의 조건에서 분해반응이 잘 진행될 수 있어 바람직하다.

[0057] 본 발명에서 상기 자기조립 다층의 나노구조체의 형태는 양친매성 고분자를 이루는 각각의 블록의 물성, 예를 들어 각 블록의 분자량, 블록의 분자량비, 전체 분자량 등을 조절함으로써 결정할 수 있다.

[0058] 본 발명에 따른 자기조립 나노구조체에서 상기 소수성 블록 또는 친수성 블록의 분자량을 한정하지는 않으나,

1,000 내지 50,000, 바람직하게는 체외배출을 생각할 경우에는 중량평균분자량이 1,000 내지 5,000의 범위라면 좋다. 중량평균분자량이 1,000 미만인 경우 피담지체의 담지량이 줄어들 수 있으며, 50,000 초과인 경우 회합체의 크기가 너무 커져 환부로의 이송성이 크게 떨어지고, 이는 효과적인 측면을 고려할 때 중요요소이지만, 다층구조의 나노소포체를 형성하는 구조적 측면에서는 이와 같이 낮은 분자량으로 할 필요는 없다. 더욱 좋게는 친수성 블록의 분자량이 1,000 내지 5,000이면 체외로 배출되는 것에 문제가 없으므로 더욱 좋고, 친수성 블록의 분자량에 따라서 소수성 블록의 분자량은 2배 이상, 아주 좋게는 5배 이상의 분자량의 것을 선택하는 것이 원형에 가까운 다층구조의 소포체를 형성할 수 있어서 좋다

[0059] 본 발명에 따른 자기조립 나노구조체에서 상기 소수성 블록과 친수성 블록의 중량평균분자량비를 조절할 수 있다. 이를 통해 자기조립을 통해 제조되는 나노구조체의 형태를 결정할 수 있다.

[0060] 더 상세하게 본 발명에서 상기 소수성 블록(M_{wo})과 친수성 블록(M_{wi})의 중량평균분자량비(M_{wo}/M_{wi})는 2 이상, 좋게는 2 내지 30 일 수 있고 더욱 좋게는 3 내지 15, 아주 좋게는 5 내지 10의 범주가 좋다. 상기 범위에서 정교한 나노 구조체를 얻을 수 있으며, 용매 내에서 소수성 블록과 친수성 블록의 계면간 곡률(interfacial curvature)을 줄여 자기조립 나노구조체의 형태를 원통형(cylinder)에서 각 층간에 물채널(water channel)이 유도된 형태, 예를 들어 여러 층의 껍질을 갖는 다층 소포체(vesicle)의 형태를 가질 수 있다.

[0061] 본 발명에서 상기 자기조립 나노 소포체 형태의 구조체의 제조 시 유화반응(emulsification)을 유도하는 경우, 하나 이상의 섞이지 않는 친수성 용매와 소수성 용매를 혼합하는 것이 좋다.

[0062] 본 발명에서 상기 친수성 용매는 양친매성 고분자를 자기조립하여 여러 층의 껍질을 갖는 소포체(vesicle) 형태로 제조할 수 있는 물질이라면 제한하지 않으며, 비 제한적인 일예로 물, 메탄올, 프로판올, 에틸렌글리콜, 아세톤 및 부탄온에서 선택되는 하나 이상, 더 바람직하게는 물을 사용하는 것이 좋다.

[0063] 본 발명에서 상기 소수성 용매는 상기 양친매성 고분자 중 소수성 블록을 용해 또는 분산시킬 수 있는 물질이라면 제한하지 않으며, 비 제한적인 일예로 펜탄(pentane), 헥산(hexane), 데칸(decane), 시클로헥산(cyclohexane), 1-펜텐(1-pentene), 이소부틸렌(isobutylene), 벤젠(benzene), 톨루엔(toluene), 자일렌(xylene), 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran), 디옥산(dioxane), 디에틸 설파이드(diethyl sulfide), 디메틸 설폭사이드(dimethyl sulfoxide), 디에틸아민(diethylamine), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 클로로포름(chloroform), 디메틸 포름아미드(dimethyl formamide) 및 피리딘에서 선택되는 어느 하나 이상, 더 바람직하게는 메틸렌클로라이드 또는 클로로포름 등을 포함하는 것이 좋다.

[0064] 본 발명에서 유화반응을 이용한 자기조립 나노구조체 제조의 경우, 용매와 양친매성 고분자의 혼합비를 한정하지 않으나 본 실시예를 기분으로 하나의 예를 들어보면, 친수성 용매 1㎖에 대하여 1 내지 50 ㎎, 더 바람직하게는 5 내지 20㎎을 포함할 수 있다. 또한 친수성 용매와 소수성 용매를 혼합하는 경우, 이들의 혼합비 또한 본 발명에서 한정하지 않으나 본 발명의 실시예를 기준으로 하나의 예를 들어본다면 소수성 용매 1 부피비에 대해 친수성 용매 1 내지 30 부피비, 더 바람직하게는 소수성 용매 1 부피비에 대해 친수성 용매 5 내지 15 부피비로 혼합하는 것이 좋다.

[0065] 또한 친수성 용매와 소수성 용매를 함께 사용하는 경우, 계면활성제를 더 포함할 수 있다. 상기 계면활성제는 중합체의 혼탁 시 분산제로 작용하는 것으로, 본 발명에서는 종류나 함량을 한정하지 않으나 바람직하게는 폴리비닐알콜(poly vinyl alcohol)을 사용하는 것이 좋다. 하나의 예를 들어본다면 친수성 용매 1㎖에 대하여 1 내지 50㎎, 더 바람직하게는 5 내지 20㎎ 첨가하는 것이 좋다.

[0066] 본 발명에서 상기와 같이 유화액을 이용하여 자기조립 나노구조체를 제조하는 경우, 상기 b) 단계와 같이 얻은 유화액을 액적 형태(emulsion droplet)로 제조한 후 용매를 제거할 수 있다.

[0067] 본 발명에 상기와 같이 유화액을 이용하여 자기조립 나노구조체를 제조하는 경우 다층 나노소포체의 형태를 가진다.

[0068] 상기와 같이 제조된 유화 액적은 공기 중에서 소수성 유기 용매를 증발시킬 수 있으며, 이때 용매의 증발과 동시에 친수성 용매와 소수성 용매의 계면에서 농도가 높아진 고분자로 인해 액적 계면간 불안정성(interfacial instability)이 발생하여 자기 조립 다층 소포체가 형성된다. 이를 더 상세히 설명하면, 도 3과 같이, 소수성 블록의 비율이 큰 양친매성 고분자의 경우 액적 형태를 포함하는 유화액의 소수성 용매가 서서히 증발하면서 계면간 불안정성으로 인해 액적의 표면에서 자기 조립 다층 소포체가 서서히 형성된다(a의 액적의 표면에서 d의 다층구조의 소포체가 형성되어 분리됨). 소수성 용매가 계속 증발하면서 이들 자기 조립 다층 소포체는 액적과

분리되며, 도 3의 d와 같이 내부에 여러 층을 갖는 구형을 띄게 된다.

[0069] 분산된 자기 조립 다층 소포체는 초순수를 이용하여 잔여의 계면활성제 및 소수성 용매를 제거할 수 있다. 이때 제거방법은 본 발명에서 한정하지 않으나, 바람직하게는 분자량별 차단(high molecular weight cut-off) 장치를 이용하여 여과할 수 있다.

[0070] 본 발명에 따라 제조된 자기 조립 다층 소포체는 피담지체의 운송량을 높이기 위해 좋게는 3층 이상으로 구성될 수 있다.

[0071] 본 발명에 따른 자기 조립 다층 소포체는 각층의 어느 하나의 층 또는 모두의 층에 피담지체를 담지하는 구조를 더 포함할 수 있다. 일예로 소수성 성분을 피담지체로 선택하는 경우, 하나 이상의 소수성 블록이 하나 이상의 소수성 성분과 소수성 상호작용으로 결합될 수 있다.

[0072] 본 발명에서 상기 피담지체는 친수성 또는 소수성 성분일 수 있으며, 바람직하게는 물에 용해성이 낮은 난용성 약물(poorly water soluble drug)을 사용하는 것이 상기 자기 조립 다층 소포체의 생체이용률을 높일 수 있어 바람직하다.

[0073] 본 발명에서 상기 친수성 성분 피담지체를 예를 들면, 캠토택신, 염산 독소루비신 및 염산 베라파밀에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0074] 본 발명에서 상기 난용성 성분 피담지체를 예를 들면, 파클리탁셀, 케토코나졸, 이트라코나졸, 사이클로스포린, 시사프라이드, 아세트아미노펜, 아스피린, 아세틸살리실산, 인도메타신, 나프로센, 와파린, 파파베린, 티오아벤 다졸, 미코나졸, 시나리진, 독소루비신, 오메프라졸, 콜레칼시페롤, 멜팔란, 니페디핀, 디곡신, 벤조산 트립토판, 타이로신, 페닐알라닌, 아즈트레오남, 이부프로펜, 펜옥시메틸페니실린, 탈리도마이드, 메틸테스토스테론, 프로클로르페라진, 히드로코티손, 디데옥시퓨린 뉴클레오사이드, 비타민 D2, 술폰아미드, 술포닐우레아, 파라아미노벤조산, 멜라토닌, 벤질페니실린, 클로람뷰실, 디아제핀, 디기톡신, 히드로코티손 뷰레이트, 메트로니다졸 벤조산염, 톨부타마이드, 프로스타 글란딘, 플루드로코티손, 그리세오풀빈, 미코나졸 질산염, 류코트라이엔 비포 억제제, 프로프라놀롤, 테오필린, 플러비 프로펜, 벤조산 나트륨, 벤조산, 리보플라빈, 벤조디아제핀, 페노바비탈, 글리뷰라이드, 설파이아진, 설파에틸티아디아졸, 디클로페낙 나트륨, 피니로인, 히오리다진 히드로클로라이드, 브로피리민, 히드로클로로티아지드 및 플로코나졸에서 선택되는 어느 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니며, 상기 성분 이외에도 또는 상기 성분을 포함하는 마취제(analgesics), 소염진통제(anti-inflammatory agents), 살충제(anthelmintics), 항부정맥약(anti-arrhythmic agents), 페니실린(penicillins)을 포함하는 항생제(antibiotics), 항응고제(anticoagulants), 항우울제(antidepressants), 당뇨병치료제(antidiabetic agents), 항간질제(antiepileptics), 항히스타민제(antihistamines), 항고혈압약(antihypertensive agents), 항암제(antineoplastic agents), 면역억제제(immunosuppressants), 갑상선치료제(antithyroid agents), 항바이러스제(antiviral agents), 진정제(anxiolytic sedatives), 수렴제(astringents), 항무스카린약(antimuscarinic agents), 항진균제(antifungal agents), 항결핵약(antimycobacterial agents), 베타-아드레날린수용체 차단약(beta-adrenoreceptor blocking agents), 심장수축제(cardiac inotropic agents), 조영제(contrasting agents), 코르티코스테로이드(corticosteroids), 진단약(diagnostic agents), 진단조영제(diagnostic imaging agents), 이뇨제(diuretics), 항파킨슨 치료제인 도파민작용약(dopaminergics), 지혈제(hemostatics), 면역질환제(immunological agents), 지방조절제(lipid regulating agents), 근이완제(muscle relaxants), 기침억제제(cough suppressants), 부교감신경흥분제(parasympathomimetics), 부갑상선 calcitonin (parathyroid calcitonin), 프로스타글란딘(prostaglandins), 방사선제(radio-pharmaceuticals), 스테로이드(steroid)를 포함하는 성호르몬제(sex hormones), 항알러지약(anti-allergic agents), 흥분제(stimulants), 식욕억제제(anoretics), 교감신경흥분제(sympathom imetics), 갑상선약(thyroid agents), 혈관확장약(vasodilators), 영양물질(nutritional agents), 잔틴(xanthines) 및 인체내에 투여될 때 생리학적으로 활성을 나타내는 펩타이드(peptides), 단백질(proteins), 탄수화물(carbohydrates), 핵산(nucleic acids), 지질(lipids), 다당류(polysaccharides) 등을 더 포함할 수 있다. 다만, 소포체 소수성 층의 크기보다 약물의 크기가 적은 것이 바람직하다.

[0075] 상기 소수성 성분으로 바람직하게는 독소루비신, 아드리아마이신, Adriamycin)을 포함할 수 있다. 상기 물질은 소수성 층과 소수성 상호작용(hydrophobic interaction)으로 결합될 수 있으며, 특정 조건의 온도 및 pH에서 소수성 PCL 블록 층의 가수분해로 난용성 성분과 분리될 수 있다. 이는 우리 몸의 정상 조직과 온도 및 pH가 다른 환부, 특히 암과 같이 pH 5.5 이하의 산성을 띄며, 37℃ 이상, 더 바람직하게는 37 내지 42℃의 고온을 가지는 조직이 있는 경우, 상기 자기 조립 다층 나노 약물수송체가 다른 정상 조직에서 소수성 성분을 운반하다, 환부

의 pH 조건과 반응하여 소수성 층이 순차적으로 분해되어 우리 몸의 원하는 부위로 약물의 표적 운반을 가능케 할 수 있다.

[0076] 본 발명에서 상기 친수성 또는 소수성 난용성 피담지체를 상기 자기 조립 다층 소포체에 담지시키기 위해 다양한 방법을 적용할 수 있다. 일예로 교반, 가열, 초음파 조사, 유화법(emulsion method)을 이용한 용매증발법, 매트릭스 형성 및 유기 용매를 이용한 투석법 등의 방법을 단독으로 또는 병행하여 사용할 수 있다.

[0077] 상기 방법으로 제조된 자기 조립 다층 소포체는 소포체가 포함된 용액을 여과한 후 수득할 수 있다.

[0078] 본 발명에 따라 제조된 자기 조립 다층 소포체는 상기 친수성 성분 또는 소수성 성분의 난용성 약물을 포함할 수 있다. 이를 통해 환부, 특히 암과 같은 악성 종양에 선택적으로 약물을 전달할 수 있는 의약용 제제로 유용하게 사용될 수 있다.

[0079] 또한, 제조된 자기 조립 다층 소포체는 상기 친수성 성분 또는 소수성 성분의 난용성 MRI 진단 조영제재를 포함할 수 있다. 이를 통해 환부, 특히 암과 같은 악성 종양을 선택적으로 진단하여 치료와 진단이 동시에 가능한 의약용 제재로 유용하게 사용할 수 있다.

[0080] 뿐만 아니라, 본 발명에 따른 자기 조립 다층 소포체는 상기 피담지체를 결합하기 위해 기능기 또는 접착물질 등을 도입할 필요가 없기 때문에 불필요한 공정을 단축할 수 있다.

[0082] 이하, 실시예 및 비교예를 들어 본 발명에 따른 자기 조립 다층 소포체 및 이의 제조방법을 더욱 상세히 설명한다. 다만 하기 실시예 및 비교예는 본 발명을 더욱 상세히 설명하기 위한 하나의 예시일 뿐, 본 발명이 하기 실시예 및 비교예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0083] 실시예 및 비교예에 사용된 원료의 제원, 물성 측정 장비 및 방법 등은 하기와 같다.

[0084] (원료)

[0085] ① 블록공중합체

[0086] 폴리에틸렌옥사이드(PEO)-b-폴리카프로락톤(PCL) 공중합체는 각각 PEO(1k)-b-PCL(1k), PEO(1k)-b-PCL(5k), PEO(5k)-b-PCL(5k)의 세 종류를 준비하였으며, 모두 Polysciences Inc., 제품이다.

[0087] ② 피담지체

[0088] 철 아세틸아세토네이트(Iron(Ⅲ) acetylacetonate)는 Alfa-Aesar, 디페닐 에테르(diphenyl ether)는 대정화학, 독소루비신·염산(doxorubicin hydrochloride)은 보령제약, Nile red 염료는 Acros Organics 제품을 각각 사용하였다.

[0089] ③ 기타

[0090] 폴리비닐알콜(98% hydrolyzed, 중량평균분자량 27000), 1,2-헥사데칸디올, 올레일아민 및 올레일 산은 모두 Sigma-Aldrich 제품을 사용하였다.

[0091] (측정장비)

[0092] 형광 스펙트럼 :FS-2 fluorescence spectrometer(Scinco, Republic of Korea)를 이용하여 측정하였다.

[0093] 형광 현미경 : Eclipse Ti-E microscope(Nikon, Japan)을 이용하여 측정하였다.

[0094] 주사전자현미경 : CX-100S(COXEM, Republic of Korea)을 이용하여 20 kV로 가속된 전자선으로 측정하였다.

[0095] 횡단 절단(cross-sectional) 주사전자현미경 : Helios NanoLab 660(FEI, USA) 및 집속이온빔장치(dual beam focused ion beam(FIB)/SEM system)을 이용하여 측정하였다.

[0096] 투과전자현미경(TEM) : 300 kV(JEM-3011 HR) 및 120 kV(JEM-1400)의 전자선을 이용하여 측정하였다.

[0097] TEM 토모그래피(Tomography) : JEM-2100F(JEOL), 200kV, 137개 이미지로 합성

[0098] (약물 담지 용량 및 약물 담지 효율)

[0099] 하기 실시예를 통해 제조된 자기조립 나노구조체에 10 %(v/v)의 트리톤 X-100으로 처리하였다. 그리고 형광 측정 장치(λ_{ex} = 470 ㎚, 방출 파장 500 ~ 800 ㎚)를 이용하여 측정한 후, 하기 식 1, 2에 대입하였다.

[0100] [식 1]

[0101] 약물 담지 용량(drug loading content, DLC, wt%) = 약물 담지량/자기조립 나노구조체 전체 중량 × 100

[0102] [식 2]

[0103] 약물 담지 효율(drug loading efficiency, DLE, wt%) = 약물 담지량/약물 공급량 × 100

[0105] (실시예 1)

[0106] 양친매성 고분자로 PEO(1k)-b-PCL(5k)(폴리에티렌옥시드와 폴리카프로락톤의 블록공중합체) 10 ㎎/㎖ 농도의 클로로포름 용액을 폴리비닐알콜(10 ㎎/㎖)이 용해된 물에 1/10 부피비의 비율로 혼합하고 이를 교반하였다.

[0107] 교반이 끝난 용액은 유리 박스에 이동하고 클로로포름을 증발시켜 자기조립 나노구조체를 제조하였다. 생성된 자기조립 나노구조체는 분자량별 차단(high molecular weight cut-off MWCO. 14kDa)장치를 통해 초순수로 여과하여 잔존하는 폴리비닐알콜 및 클로로포름을 제거하였다.

[0108] 제조된 형태는 도 4와 같이 다층의 자기조립 나노소포체의 형태를 Cryo-TEM Image에 의해 분석한 결과 소수성 층의 두께는 17.7 ㎚정도이고, 소수성 층 간에 형성된 친수성 층은 16.2 ㎚의 크기를 가지는 것을 알 수 있었다.

[0109] 또한 다층구조를 확인하기 위하여 Electron-tomography기법으로 측정한 3B영상에서는 도 5와 같이 완벽한 다층 나노소포체 구조를 가지는 것을 확인하였다.

[0111] (비교예 1 내지 2)

[0112] 양친매성 고분자로 상기 PEO-*b*-PCL 공중합체를 준비하였다. 각각 PEO(1k)-*b*-PCL(1k)(비교예 1), PEO(5k)-*b*-PCL(5k)(비교예 2)이며, 실시예 1과 동일한 방법으로 자기조립을 유도하였다. 제조된 구조체는 소포체 형태가 아닌 섬유상으로 얻어졌다.

[0113] (실시예 2)

[0114] 실시예 1에서 PEO(1k)-g-PCL(2.5k)를 사용한 것을 제외하고 동일한 실험을 실시한 결과, 다층 소포체 형상으로 형성되었지만, 찌그러진 형태를 가지는 것을 알 수 있었다.

[0115] (실시예 3)

[0116] 실시예 1에서 클로로포름에 용해된 PEO-*b*-PCL 블록 공중합체 100 ㎕에 Fe_3O_4(Nile Red)을 포함하는 헥산 10 ㎕을 혼합한 뒤, 교반한 것을 제외하고는 동일하게 실시하였다. 상기 Fe_3O_4을 포함하는 헥산 10 ㎕의 제조방법은 $Fe(acac)_3$ 2nmol, 페닐에테르 20㎖, 1,2-헥사데칸디올 10mmol, 올레산 6mmol, 및 올레일아민 6mmol을 혼합하고, 교반하면서 200℃에서 30분간, 다시 265℃에서 30분간 반응하였다, 흑갈색의 혼합물을 냉각한 후 에탄올에 침전시키고 침전물을 수거하여 올레산과 올레일아민 각각 0.05㎖ 함유하는 헥산 20㎖에 용해하고 용해되지 않은 것은 필터링하고, 다시 에탄올에 침전한 후 헥산 내에 분산시켜 제조하였다.

[0117] 제조된 다층 소포체를 형광분석한 결과 도 6에서와 같이 형광분석에 의해 나일레드가 담지된 것을 이미지로 확인할 수 있고(a), TEM 이미지 분석 결과 원형의 소포체가 형태를 그대로 유지함을 알 수 있으며(b), 형광스펙트럼분석을 통하여 나일레드가 622㎚로 시프트 하는 것을 보아(c) 본 발명의 소포체가 매우 컴팩트하게 충진되어 있음을 알 수 있다.

[0118] (실시예 4)

[0119] 100㎕의 PEO(1k)-g-PCL(5k)(10mg/㎖) 클로로포름용액과 10㎕의 Doxlubicin(10mg/㎖) 클로로포름용액을 1㎖의 물(PVOH함유)에 투입하였다. 담지되지 않은 Dox 및 PVOH를 제거하기 위하여 투석분리막(MWCO, 14kDa)을 이용하여 48 시간 투석한 후, 원심분리 하였다. 상기 양파껍질과 같은 구조를 가지는 다층 소포체구조를 얻기 위하여 필터링하였다.

[0120] 얻어진 Dox를 담지한 소포체구조체를 이용하여 Drug 방출테스트를 실시하였다. 테스트방법은 37℃에서 100rpm으로 일정하게 흔들어주는 20㎖ 아세테이트 버퍼(50x10-3M, pH 5.5)에 부유하는 투석튜브(1㎖)를 이용하여 투석되어 용출되는 Dox의 함량을 측정하였다. 즉, 투석이 일정시간 동안 진행될 때마다 Triton X-100용액을 나노구조체 용액에 투입하여 형광스펙트럼분석(λ_{ex}=470nm, emission range 500 ~ 800 ㎚)을 실시하여 누적 누출함량을

측정하였다.

[0121] 그 결과 본 발명은 5일에 49%, 10일에 60%, 20일에 81%로 서서히 누출됨을 알 수 있어서 서방형 제제로서 매우 조절이 잘 되는 효과를 가짐을 알 수 있다.

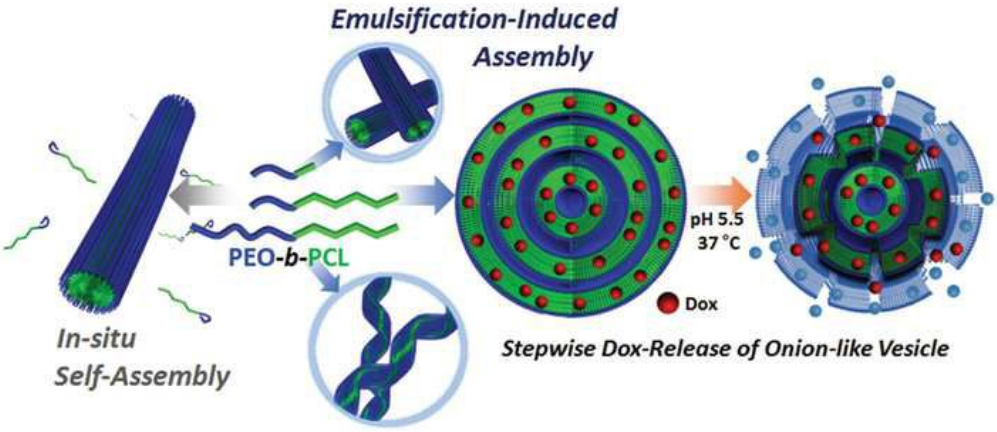
[0122] 도 7은 상기 실시예 4에 따라 제조된 나노 구조체의 시간에 따른 독소루비신 방출량을 나타낸 것으로, 나노 구조체의 투입 후 12시간이 경과할 때까진 독소루비신 방출량이 급격히 증가하는 경향을 보이나, 그 이후 방출량의 증가폭이 갑자기 줄어드는 경향을 보인다. 이는 소수성 층에 담지된 독소루비신이 소수성 층의 적정 분해온도 및 분해 pH를 만나 분해가 진행되면서 독소루비신이 방출되며, 소수성 층의 분해가 끝나면 다음 층인 친수성 층이 분해될 때까지 독소루비신의 방출이 억제되기 때문으로 해석된다.

[0123] 또한 도 4에서 10일, 18일을 전후해 독소루비신의 방출량이 급격히 증가하는 경향을 보이고 있어, 본 발명에 따라 제조된 나노 소포체는 여러 층의 친수성 층 및 소수성 층이 교대로 형성되어 있으며, 소수성 층에 독소루비신이 효율적으로 담지되어 있어 친수성 층 및 소수성 층의 분해에 따라 독소루비신이 방출량이 조절될 수 있으며, 나노 소포체의 투입 후 긴 시간이 지남에도 독소루비신이 지속적으로 방출됨을 확인할 수 있다.

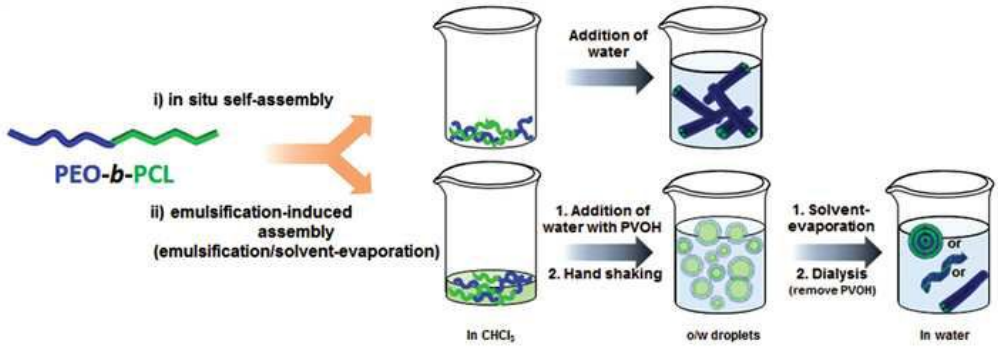
[0125] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

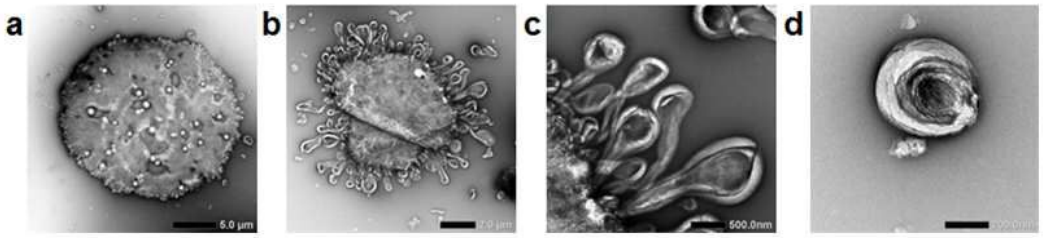
도면1



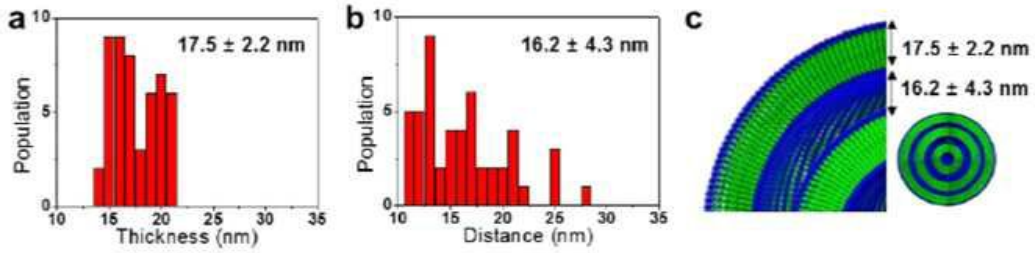
도면2



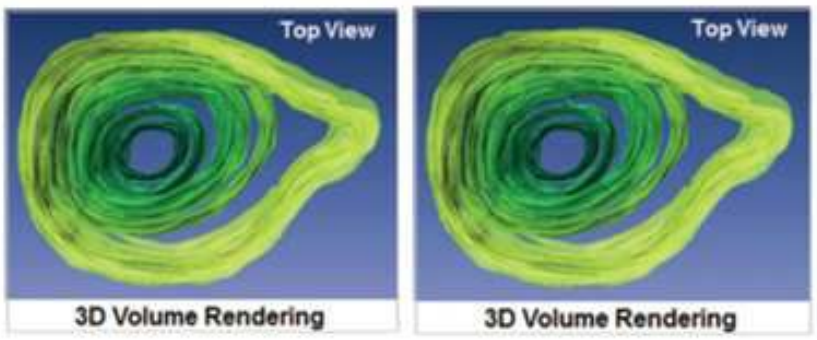
도면3



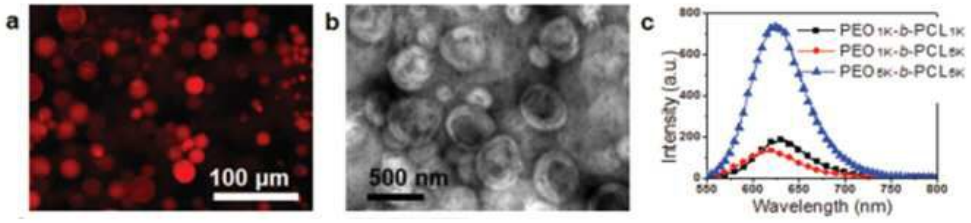
도면4



도면5



도면6



도면7

