



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0093400
(43) 공개일자 2017년08월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/16 (2006.01) A61K 31/704 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01) A61K 47/36 (2017.01)
C08B 37/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/1652 (2013.01)
A61K 31/704 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0014751

(22) 출원일자 2016년02월05일

심사청구일자 2016년02월05일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)

(72) 발명자

양수근

인천광역시 연수구 컨벤시아대로42번길 35, 701동 1501호(송도동, 더샵 그린애비뉴)

이하늘

인천광역시 남구 경원대로864번길 118 (주안동)

(74) 대리인

김순웅

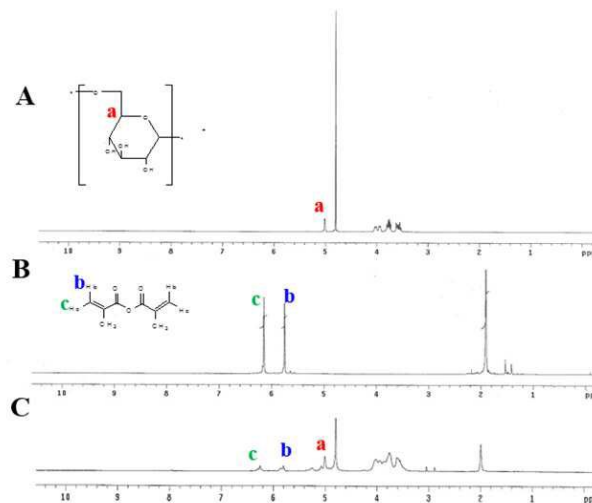
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자 약물전달체 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자 약물전달체 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명의 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자는 성형과 동시에 기능기를 도입함으로써 제조방법이 기존 방법에 비해 매우 간단하며 조성비의 임의조절이 용이하고, 생분해성 텍스트란을 사용하여 생체적합하며, 음이온성 작용기와 약물간의 상호작용을 유발하여 약물의 안정적인 담지 및 서방성을 구현할 수 있으므로 약물을 함유하는 약물전달체로 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/7068 (2013.01)

A61K 47/36 (2013.01)

A61K 9/1682 (2013.01)

C08B 37/0021 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 51530-1

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 핵심연구(융합)

연구과제명 조직중 MMP에 의해 약물방출이 triggering 되고 다시 feedback할 수 있는 자가약물방출조
절 스텐트의 개발 및 조직신생억제 신약의 스크리닝 및 스텐트 적용, 평가

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2015.05.01 ~ 2016.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자를 포함하는 약물전달체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 광가교성 텍스트란 고분자는 마이크로 비드 형태인 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 마이크로 비드는 10 μm 내지 1000 μm 의 직경인 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 아크릴레이트는 메틸메타크릴레이트인 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

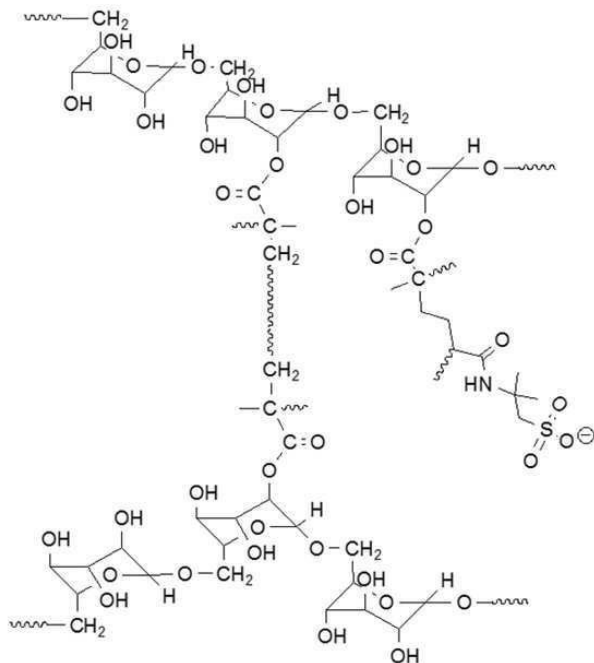
청구항 5

제1항에 있어서, 상기 음이온성 작용기는 2-아크릴아미도-2-메틸프로판술포네이트(2-acrylamido-2-methylpropane sulfonate)인 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 약물 전달체는 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

[화학식 1]



청구항 7

제1항에 있어서, 상기 약물은 양이온성 약물인 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 양이온성 약물은 이온상호작용에 의해 약물전달체에 흡착되는 것을 특징으로 하는, 약물

전달체.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 약물은 안트라사이클린계열 항암제를 포함하는 항암제, 테트라사이클린계열 항생제를 포함하는 항생제, 골형성에 관여하는 단백질 약물 및 펩타이드 약물로 구성되는 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 약물은 염산독소루비신(Doxorubicin hydrochloride), 에피루비신(Epirubicin), 이다루비신(Idarubicin), 다우노루비신(Daunorubicin), 염산젬시타빈(Gemcitabine hydrochloride), 염산테트라사이클린(Tetracycline hydrochloride), 염산미노사이클린 (Minocycline hydrochloride), 독시사이클린하이클레이트(Doxycycline hyclate), 염산독시사이클린(Doxycycline hydrochloride), 염산반코마이신(Vancomycin hydrochloride), 테이코플라닌(Teicoplanin), BMP-2(bone morphogenetic protein 2), BMP-9(bone morphogenetic protein 9), 테리파라아티드(Teriparatide) 및 엑세나타이드(Exenatide)로 구성되는 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 약물전달체.

청구항 11

- (a) 유기용매에 텍스트란 및 아크릴레이트 화합물을 용해시켜 텍스트란 아크릴레이트를 제조하는 단계;
- (b) 상기 (a) 단계의 텍스트란 아크릴레이트 및 음이온성 시약을 물에 용해시켜 수용액을 제조하는 단계;
- (c) 상기 (b) 단계의 수용액을 오일상에 분산시켜 수중유형 에멀전을 제조하는 단계; 및
- (d) 상기 (c) 단계의 수중유형 에멀전을 UV 광에 노출하여 광가교를 유도하는 단계;를 포함하는 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자를 포함하는 약물전달체의 제조방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 (d) 단계의 약물전달체는 마이크로 비드 형태인 것을 특징으로 하는, 약물전달체의 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 마이크로 비드는 10 μm 내지 1000 μm 의 직경인 것을 특징으로 하는, 약물전달체의 제조방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 (a) 단계의 아크릴레이트 화합물은 메틸메타크릴레이트인 것을 특징으로 하는, 약물전달체의 제조방법.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 (b) 단계의 음이온성 시약은 2-아크릴아미도-2-메틸프로판술폰산(2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid)인 것을 특징으로 하는, 약물전달체의 제조방법.

청구항 16

제11항에 있어서, 상기 (b) 단계의 수용액은 광개시제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 약물전달체의 제조방법.

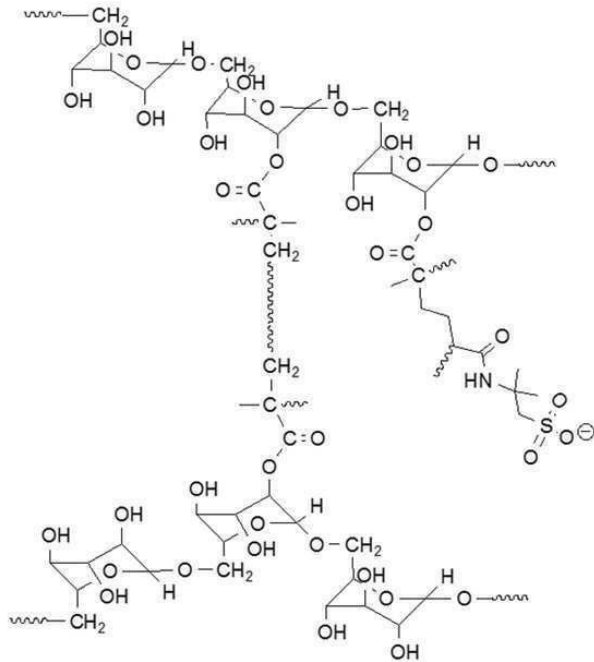
청구항 17

제16항에 있어서, 상기 광개시제는 페닐 글리옥시레이트(phenyl glyoxylate), 아실 포스핀 옥사이드(acyl phosphine oxide) 및 2-히드록시케톤(2-hydroxyketone)으로 구성되는 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 약물전달체의 제조방법.

청구항 18

제11항의 약물전달체는 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는, 약물전달체의 제조방법.

[화학식 1]



발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자 약물전달체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 텍스트란은 혈장 대체제로 사용되고 있는 생체적합성 고분자이며 체내에서 당분해효소에 의해 분해되는 생분해성 고분자 다당체이다. 이는 백색 무정형 고체로, 생산되는 균주에 따라 성질이 다르고 대부분은 물에 녹으며 백색 반투명의 점조한 용액이 되는데 물에서 팽윤하고 녹지 않는 것도 있다. 부분 가수 분해된 것은 물에 투명하게 용해된다. 에탄올, 에테르 등에는 녹지 않는다.

[0003] 한편, 이온 상호작용을 이용한 약물전달 시스템은 지난 수십년간 연구되고 있는 분야이다. 1990년 M. Gay Moldenhauer(Moldenhauer MG)는 음이온성 이온교환 수지에 테오픈린을 흡착하고 에틸셀룰로스로 코팅하여 약물의 방출을 조절할 수 있다고 보고하였으며(Journal of Pharmaceutical Sciences, 79권, 659-666p), 1998년 Peppas, Nicholas A.는 폴리비닐알코올(poly(vinyl alcohol))과 폴리아크릴산(poly(acrylic acid))을 글루타르알데히드(glutaraldehyde)와 에틸렌글리콜 디메틸아크릴레이트(ethylene glycol dimethacrylate)를 가교제로 결합한 고분자 구조에 약물이 이온상호작용에 의해 확산, 방출한다는 것을 기술한바 있다(European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 46권, 15-29p).

[0004] 또한, 미국특허 제2,990,332호는 불용성 음이온성 교환 수지(sulfonated styrene divinylbenzene copolymerisate)를 500 μ m 이하의 입자상으로 제조하고 암페타민, 아트로핀, 스코폴라민, 코데인 등의 양이온성 약물을 흡착하여 위장관에서 약물을 방출시킬 수 있다고 기술하였으며 미국특허공보 제4,221,778호는 음이온성 수지인 Amberlite-XE-69[®]에 양이온성 약물인 텍스트로메토르판(dextromethorphan)을 흡착하고 수불용성 물질인 에틸셀룰로스로 코팅하여 지속적인 약물 방출이 가능한 경구용 제형에 대하여 개시하고 있으며, 미국특허공보 제4,369,175호는 알칼리 금속 또는 토금속염을 가진 설폰산 레지네이트로부터 직접 빈카민을 흡착하여 제조한 이온교환 약물 전달체에 대해 기술하고 있으며, 미국특허공보 제4,788,055호는 진해제 약물로서 텍스트로메토르

관을 수지와 복합체로서 제조하여 서방성을 가지는 조성물을 기술하고 있다. 또한 대한민국 특허 10-0736024은 클로피 도그렐을 스티렌 술포네이트 중합체 또는 디비닐벤젠 스티렌 술포네이트 공중합체에 흡착시킬 경우 클로피 도그렐의 안정성을 개선할 수 있는 이온교환 약물 전달체에 대해서 기술하고 있다. 하지만 상기는 텍스트로 메트로판이나 테오픈린 등 양이온성 약물을 설펜산기를 가진 스티렌 중합체에 흡착하거나 흡착 후 약학적으로 응용가능한 고분자 혹은 당으로 코팅하여 약물의 방출을 제어하는 경구용 액제에 관한 것으로서 생분해성이 없는 고분자 플라스틱으로 경구제에만 적용이 가능하다는 문제가 있다.

[0005] 또한, 이온흡착에 의한 약물 전달 시스템은 간암 화학색전용 미소구체분야에서 특히 활발하다. Jones, C는 1989 년도에 인온교환 마이크로스피어에 독소루비신을 이온흡착한 뒤 뒤 마우스 암 모델에서 효과가 있음을 보고하였고(British Journal of Cancer), 미국특허공보 제7,442,385호는 폴리비닐알코올 고분자를 가교결합을 하고 음이온성 단량체를 부가하여 음이온성 고분자 마이크로 비드를 제조한 경우 양이온성 항암제인 독소루비신을 고농도로 흡착할 수 있고 간암 동맥에 전달한 경우 동맥색전과 함께 국소항암치료를 동시에 할 수 있다고 기술하고 있다. 이외에도 폴리비닐알코올을 기계로한 간암색전 물질과 간암화학색전 물질에 대한 특허 및 기술보고는 미국 특허공보 제7,670,592호를 포함하여 매우 다양하다.

[0006] 현재 시판되고 있는 색전 제품으로 콜라겐 코팅된 트리스아크릴젤라틴 마이크로 비드가 있으나 이는 체내에서 생분해되지 않는 에 사용하는 폴리비닐알코올을 약물전달체로 사용하고 있으며 제작과정이 매우 복잡하다는 단점이 있으며, 폴리비닐알코올을 고분자 기계로 사용한 경우 생체적합성과 생분해성 측면에서 여러가지 문제를 가지고있다. 폴리비닐알코올 마이크로비드의 경우 생분해가 되지 않아 환자의 전생애 동안 혈관과 조직에 잔존하게 되며, 이 경우 마이크로 비드가 치료부위를 벗어나 뇌혈관이나 폐혈관으로 가게 되면 매우 심각한 문제를 일으키게 된다.

[0007] 이에 본 발명자들은 상기와 같은 종래기술들의 문제점을 극복하기 위해 연구 노력한 결과, 텍스트란 고분자에 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 마이크로 비드 형태의 약물전달체를 제조하였으며, 이는 성형과 동시에 기능기를 도입함으로써 제조방법이 기존 방법에 비해 매우 간단하며 조성비의 임의조절이 용이하고, 생분해성 텍스트란을 사용하여 잔류하는 고분자에 대한 우려가 없으며, 약물과의 상호작용을 유도하여 약물의 안정적인 담지를 구현할 수 있다는 사실을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자를 포함하는 약물전달체를 제공하고자 한다.

[0009] 또한, 본 발명은 상기 약물전달체의 제조방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자를 포함하는 약물전달체를 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은

[0012] (a) 유기용매에 텍스트란 및 아크릴레이트 화합물을 용해시켜 텍스트란 아크릴레이트를 제조하는 단계;

[0013] (b) 상기 (a) 단계의 텍스트란 아크릴레이트 및 음이온성 시약을 물에 용해시켜 수용액을 제조하는 단계;

[0014] (c) 상기 (b) 단계의 수용액을 오일상에 분산시켜 수중유형 에멀전을 제조하는 단계; 및

[0015] (d) 상기 (c) 단계의 수중유형 에멀전을 UV 광에 노출하여 광가교를 유도하여 약물전달체를 제조하는 단계;를 포함하는 약물전달체의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자는 성형과 동시에 기능기를 도입함으로써 제조방법이 기존 방법에 비해 매우 간단하며 조성비의 임의조절이 용이하고, 생분해성 텍스트란을 사용하여 생체적합하며, 음이온성 작용기와 약물간의 상호작용을 유발하여 약물의 안정적인 담지 및 서방성을

구현할 수 있으므로 약물을 함유하는 약물전달체로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1은 텍스트란 고분자(A), 메타크릴 무수물(B) 및 텍스트란 메타크릴레이트(C)의 NMR 스펙트럼 결과를 나타낸 도이다.
- 도 2는 2-아크릴아미도 2-메틸프로판 설폰산(A), 텍스트란 고분자(B) 및 2-아크릴아미도 2-메틸프로판 술포네이트가 도입된 텍스트란 메타크릴레이트(C)의 FT-IR 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- 도 3은 캐필러리 마이크로플루이딕 시스템을 이용한 약물전달 마이크로 비드의 제조방법 및 이를 통해 제조된 텍스트란 마이크로 비드의 광학현미경 사진을 나타낸 도이다.
- 도 4A는 텍스트란 마이크로 비드와 본 발명의 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에 톨루이딘 블루를 가한 후 색 변화를 관찰한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 4B는 텍스트란 마이크로 비드와 본 발명의 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에 형광(FITC)이 표시된 약물(테리파라타이드)을 가한 후 변화를 관찰한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 5는 본 발명의 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에서 시간에 따른 테리파라타이드의 흡착속도(A) 및 텍스트란 마이크로 비드와 본 발명의 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에서 테리파라타이드의 흡착량을 비교(B)한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 6은 본 발명의 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에 독소루비신 흡착 전과 후를 현미경으로 관찰한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 7은 본 발명의 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에서 독소루비신의 용출 곡선을 나타낸 도이다.
- 도 8은 본 발명의 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드를 마우스의 대퇴근육에 삽입한 후 생체적합성을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

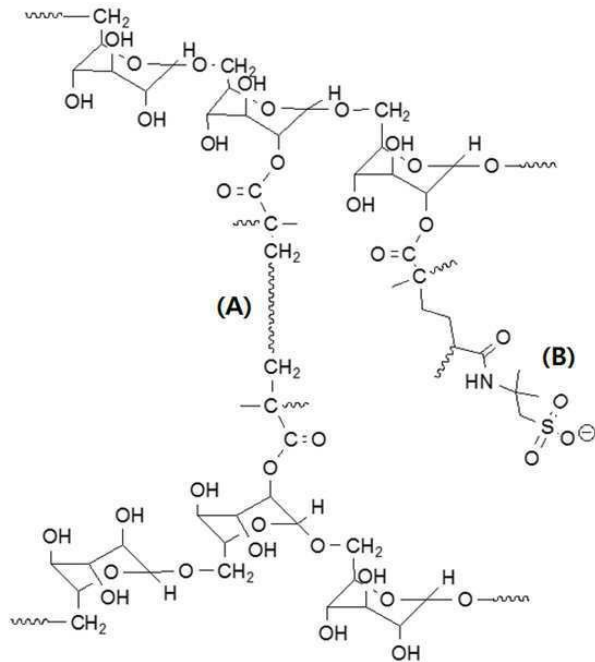
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명은 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자 약물전달체를 제공한다.

[0019] 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명하면 다음과 같다.

[0020] 본 발명의 약물전달체는 하기 화학식 1로 표시될 수 있다.

[0021] [화학식 1]



[0022]

[0023] 상기 화학식 1에서 (A)는 광가교를 통하여 아크릴레이트기와 가교결합된 텍스트란 고분자이며, (B)는 양이온성 약물의 흡착을 위해 도입된 음이온성 기능기로서, (A)의 가교결합과 (B)의 기능기 도입은 광조사를 통해서 동시에 이루어질 수 있다.

[0024] 상기 광가교성 텍스트란 고분자는 마이크로 비드 형태일 수 있으며, 광가교에 의해 마이크로 비드 형태로 성형된다.

[0025] 상기 마이크로 비드의 직경은 10 μm 내지 1000 μm 일 수 있으며, 바람직하게는 100 μm 내지 800 μm 일 수 있다.

[0026] 본 발명은 광가교제로서 아크릴산을 이용하며, 도입하는 아크릴레이트는 메틸메타크릴레이트가 바람직하나 이에 한정하지 않는다. 메틸메타크릴레이트를 이용하여 광가교를 유도하는 경우 텍스트란의 히드록시기(OH-)를 반응에 이용하며, 이때 텍스트란의 분자량에 따라 치환율(degree of substitution)을 조절할 수 있다.

[0027] 본 발명에 사용되는 텍스트란의 분자량은 40K 내지 100K가 바람직하며, 히드록시기의 치환율은 10 내지 50 정도가 우수한 물성을 내기에 적합하며 더욱 바람직하게는 25 내지 30일 수 있다.

[0028] 본 발명은 광가교를 통하여 마이크로 비드의 형태로 성형되는 과정 중에 음이온성 기능을 도입할 수 있으며, 이를 통해 고분자를 합성, 정제하는 복잡한 과정을 생략할 수 있다.

[0029] 상기 이온성 작용기는 2-아크릴아미도-2-메틸프로판술포네이트(2-acrylamido-2-methylpropane sulfonate)가 바람직하나 이에 한정하지 않는다.

[0030] 상기 텍스트란 고분자와 2-아크릴아미도-2-메틸프로판술포네이트의 중량비를 임의대로 조절하여 다양한 조성으로 제조할 수 있다.

[0031] 비드의 성형은 텍스트란에 도입된 아크릴산의 광가교를 통해서, 음이온성 기능기의 도입은 2-아크릴아미도-2-메틸프로판술포네이트염의 아크릴기와 텍스트란 아크릴레이트와의 가교를 통해 동시에 이루어지며 반응에 참여하지 않은 아크릴기는 비드의 광가교 성형에 참여함으로서 기능기의 도입과 성형이 단 한번의 공정으로 이루어진다.

[0032] 상기 약물은 양이온성 약물일 수 있으며, 본 발명의 약물전달체에 도입된 음이온성 작용기로 인한 이온상호작용에 의해 약물전달체에 흡착될 수 있다.

[0033] 상기 약물은 안트라사이클린계열 항암제를 포함하는 항암제, 테트라사이클린계열 항생제를 포함하는 항생제, 골 형성에 관여하는 단백질 약물 또는 펩타이드 약물일 수 있으며, 더 구체적으로 염산독소루비신(Doxorubicin

hydrochloride), 에피루비신(Epirubicin), 이다루비신(Idarubicin), 다우노루비신(Daunorubicin), 염산젬시타빈(Gemcitabine hydrochloride), 염산테트라사이클린(Tetracycline hydrochloride), 염산미노사이클린(Minocycline hydrochloride), 독시사이클린하이클레이트(Doxycycline hyclate), 염산독시사이클린(Doxycycline hydrochloride), 염산반코마이신(Vancomycin hydrochloride), 테이코플라닌(Teicoplanin), BMP-2(bone morphogenetic protein 2), BMP-9(bone morphogenetic protein 9), 테리파라아티드(Teriparatide) 또는 엑세나타이드(Exenatide)일 수 있다

- [0034] 또한, 본 발명은
- [0035] (a) 유기용매에 텍스트란 및 아크릴레이트 화합물을 용해시켜 텍스트란 아크릴레이트를 제조하는 단계;
- [0036] (b) 상기 (a) 단계의 텍스트란 아크릴레이트 및 음이온성 시약을 물에 용해시켜 수용액을 제조하는 단계;
- [0037] (c) 상기 (b) 단계의 수용액을 오일상에 분산시켜 수중유형 에멀전을 제조하는 단계; 및
- [0038] (d) 상기 (c) 단계의 수중유형 에멀전을 UV 광에 노출하여 광가교를 유도하는 단계;를 포함하는, 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 고분자 약물전달체의 제조방법을 제공한다.
- [0039] 본 발명의 약물전달체의 제조방법을 단계별로 상세히 설명하면 다음과 같다.
- [0040] 상기 (a) 단계는 텍스트란 및 아크릴레이트 화합물을 반응시켜 텍스트란 아크릴레이트를 제조하는 단계로서, 상기 텍스트란의 분자량은 40K 내지 100K가 바람직하며, 상기 아크릴레이트는 메틸메타크릴레이트가 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0041] 상기 (b) 단계는 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 아크릴레이트를 제조하는 단계로, 상기 음이온성 작용기는 2-아크릴아미도-2-메틸프로판술폰산이 바람직하나 이에 한정하지 않는다.
- [0042] 이때, 수용액은 광가교를 위해 수용액은 광개시제를 더 포함할 수 있으며, 상기 광개시제는 페닐 글리옥시레이트(phenyl glyoxylate), 아실 포스핀 옥사이드(acyl phosphine oxide) 또는 2-히드록시케톤(2-hydroxyketone)일 수 있으나 이에 한정하지 않는다.
- [0043] 상기 (c) 단계는 수용액을 오일상에 분산시켜 수중유형 에멀전을 제조하는 단계로서, 본 발명의 약물전달체는 다양한 방법에 의해 제조가 가능하나, 상기와 같이 수중유형 에멀전법을 통하여 제조할 수 있다.
- [0044] 상기 (d) 단계는 광가교를 통해 약물전달체를 제조하는 단계로서, 제조된 약물전달체는 마이크로 비드 형태일 수 있으며, 광가교에 의해 마이크로 비드 형태로 성형된다.
- [0045] 상기 마이크로 비드의 직경은 10 μm 내지 1000 μm 일 수 있으며, 바람직하게는 100 μm 내지 800 μm 일 수 있다.
- [0046] 본 발명의 광가교성 텍스트란 고분자는 성형과 동시에 기능기를 도입함으로써 제조방법이 기존 방법에 비해 매우 간단하며 조성비의 임의조절이 용이하고, 생분해성 텍스트란을 사용하여 생체적합하며, 음이온성 작용기와 약물간의 상호작용을 유발하여 약물의 안정적인 담지 및 서방성을 구현할 수 있다.
- [0047] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 적용되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [0048] **실시예 1: 광가교성 텍스트란 아크릴레이트의 합성**
- [0049] 텍스트란을 분자량 별로 40K, 70K 및 100K로 각각 나누어 둥근 플라스크에 가한 후 여기에 1% w/v LiCl/DMF(N,N-dimethylmethanamide)를 넣고 환류조건하에서 80 $^{\circ}\text{C}$ 로 가온하며 텍스트란을 용해시켰다. 그 후 텍스트란 용액의 온도를 60 $^{\circ}\text{C}$ 로 낮추고 유지하면서 트리에틸아민(triethylamine)을 가하고, 15분 후에 메타크릴 무수물(methacrylic anhydride)을 가하고 16-20시간 동안 환류조건하에서 반응을 진행하였다. 반응이 끝난 후 반응물은 차가운 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol)에 서서히 가하여 반응물을 침전시킨 후 이소프로필 알코올로 3-4회 세척하였다. 세척 후 원심분리를 통하여 침전물을 분리하고 물에 용해 및 다시 투석하여 반응 부산물을 제거하고 최종으로 동결건조하여 텍스트란 메타크릴레이트를 수득하였다. 메타크릴 무수물의 양을 변화시켜서 반응의 정도를 조절 가능하였으며, 이에 따라 광가교 후 수득하는 마이크로 비드의 강도를 조절가능하였다.
- [0050] 상기와 같이 제조된 텍스트란 메타크릴레이트의 NMR 스펙트럼을 확인하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

- [0051] 도 1A 내지 1C는 각각 텍스트란 고분자, 메타크릴 무수물 및 텍스트란 메타크릴레이트를 나타내며, 이를 통해 그 구조를 확인하였다.
- [0052] **실시예 2. 음이온성 작용기가 도입된 광가교성 텍스트란 아크릴레이트 마이크로 비드의 제조**
- [0053] **2-1. 인캡슐레이터(B-390, BUCHI)를 이용한 제조**
- [0054] 상기 실시예 1에서 제조한 텍스트란 메타크릴레이트와 2-아크릴아미도 2-메틸프로판 설포산 및 광개시제의 혼합물을 탈이온수에 녹인 후 주사기에 넣고 실린지펌프를 통하여 유속 1-5 ml/분의 속도로 흘려주면서 전압(1,000-2,500V)과 초음파(3,000-6,000Hz)를 노즐에 가하여 액적을 만들었으며, 이를 오일상 용액에 모아 수중유형 에멀전을 제조하였다. 이때 제조한 에멀전의 안정성을 유지하기 위하여 유상에 적량의 유화제(span 60)을 가하였다. 그 후 인캡슐레이터(B-390, BUCHI)를 이용하여 음이온성 텍스트란 광가교 비드를 제조하였다. 이때 오일상 용액은 MCT 오일을 사용하거나 셀룰로오스 아세테이트 부티레이트(cellulose acetate butyrate)가 n-부틸 아세테이트(n-butyl acetate) 또는 하이드록시 프로필 메틸셀룰로오스가 함유된 아세톤을 사용하였다. 수득한 수중유형 에멀전은 자석교반을 하면서 광조사를 하여 강경화를 유도하여 최종 고형의 마이크로 비드를 제조하였다. 고형화된 비드는 유기용매(부틸 아세테이트)로 2-3번 세척하고, 아세톤으로 다시 2-3번 세척한 후 에탄올에 보관하였다.
- [0055] 상기와 같이 제조된 2-아크릴아미도 2-메틸프로판 설포네이트가 도입된 텍스트란 메타크릴레이트의 FT-IR 스펙트럼을 확인하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0056] 도 2A 내지 2C는 각각 2-아크릴아미도 2-메틸프로판 설포산, 텍스트란 고분자 및 2-아크릴아미도 2-메틸프로판 설포네이트가 도입된 텍스트란 메타크릴레이트를 나타내며, 이를 통해 그 구조를 확인하였다.
- [0057] **2-2. 캐필러리 마이크로 플루이드스(capillary microfluidics)를 이용한 제조**
- [0058] 캐필러리 마이크로 플루이드스(capillary microfluidics)를 이용한 텍스트란 아크릴레이트 마이크로 비드의 제조방법을 도 3에 개략적으로 나타내었다.
- [0059] 도 3에 나타난 바와 같이, 마이크로 플루이드 시스템을 제작하고 내부 유리관에 상기 실시예 1에서 제조한 텍스트란 메타아크릴레이트와 2-아크릴아미도 2-메틸프로판 설포산의 혼합물을 탈이온수에 녹인 후 이 수용액을 1 ml/시간의 유속으로 흘려주고, 수집용액인 MCT 오일을 외부 유체로서 30 ml/시간의 유속으로 흘려주어 유적이 형성되도록 하였으며, 형성된 유적을 MCT 오일에 모아서 광조사를 통하여 가교하였다. 이때 통상적으로 사용하는 광개시제를 수상에 혼합하였으며 제조한 에멀전의 안정성을 유지하기 위하여 유상에 적량의 유화제(span 60)을 가하였다. 가교가 끝난 경화된 비드는 아세톤으로 수회 세척하여 MCT 오일을 제거한 후 에탄올에 보관하였다.
- [0060] **실험예 1. 양이온성 약물의 흡착 여부 확인**
- [0061] 상기 실시예 2에서 제조한 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에 양이온성 약물의 흡착 여부를 확인하기 위하여, 대표적인 양이온성 지시약물인 톨루이딘 블루를 이용하였다.
- [0062] 먼저, 텍스트란 마이크로 비드와 상기 실시예 2에서 제조한 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에 톨루이딘 블루를 가한 후 색 변화를 관찰하였으며, 그 결과를 도 4A에 나타내었다.
- [0063] 도 4A에 나타난 바와 같이, 음이온성 텍스트란 마이크로 비드의 톨루이딘 블루가 청색에서 보라색으로 변하는 것을 확인하였다. 이는 음이온성 텍스트란 마이크로 비드가 정전기적 이온반응을 기전으로 양이온성 약물을 흡착할 수 있음을 나타낸다.
- [0064] 또한, 텍스트란 마이크로 비드와 상기 실시예 2에서 제조한 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 마이크로 비드에 형광(FITC)이 표지된 약물(테리파라타이드)을 첨가한 후, 변화를 관찰하였으며, 그 결과를 도 4B에 나타내었다.
- [0065] 도 4B에 나타난 바와 같이, 텍스트란 마이크로 비드(B1과 B2)의 경우 약물의 흡착이 나타나지 않았으나, 음이온성 작용기가 도입된 텍스트란 비드(B3와 B4)의 경우 형광표지된 약물이 흡착하여 형광(B4)을 나타내었다.
- [0066] **실험예 2. 양이온성 약물의 흡착 확인**
- [0067] **2-1. 녹시사이클린, BMP2, 반코마이신 및 쥬사이타빈의 흡착 확인**

[0068] 대표적인 양이온성 약물을 선택하여 흡착 실험을 수행하였다. 먼저, 양이온성 약물로서 녹시사이클린, BMP2, 반코마이신 및 젠사이타빈을 과량 취하여 5 ml의 증류수에 용해하였다. 그 후 실시예 2에서 제조한 음이온성 텍스트란 마이크로 비드(1ml)에 상기 용해된 약물을 가하고 60분간 상온에서 가볍게 흔들어 준 후에 상층액을 취하여 자외선흡광분석법을 통하여 비드에 흡착된 약물의 양을 정량하였으며, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0069]

양이온성 약물	1 ml의 비드에 흡착된 약물량
녹시사이클린	22 ~ 7 mg
BMP2	5 ~ 8 ug
반코마이신	38 ~ 40 mg
젠사이타빈	30 ~ 35 mg

[0070] 표 1에 나타낸 바와 같이, 음이온성 텍스트란 마이크로 비드에 양이온성 약물의 흡착을 확인하였다.

[0071] **2-2. 테리파라타이드의 흡착 확인**

[0072] 텍스트란 마이크로 비드 및 실시예 2에서 제조한 음이온성 텍스트란 마이크로 비드와 첨가없이 제조한 텍스트란 광가교 비드에 양이온성 펩타이드 약물인 테리파라타이드 용액을 첨가한 후 상온에서 가볍게 진탕하면서 경시적인 약물의 흡착량을 HPLC로 분석하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0073] 도 5에 나타낸 바와 같이, 음이온성 텍스트란 마이크로 비드가 양이온성 약물인 테리파라타이드를 더욱 많이 흡착하는 것을 확인하였다.

[0074] **2-3. 독소루비신의 흡착 확인**

[0075] 50 mg의 독소루비신을 20 ml의 증류수에 녹인 후 1 ml의 음이온성 텍스트란 마이크로 비드에 첨가하여 상기의 실험예 2-1과 같은 조건으로 약물의 흡착 실험을 실시하였으며, 흡착된 독소루비신의 양은 30~35mg으로 확인되었다.

[0076] 또한, 상기 음이온성 텍스트란 마이크로 비드의 독소루비신 흡착 전과 후를 현미경으로 관찰하였으며, 이를 도 6에 나타내었다.

[0077] 도 6에 나타낸 바와 같이, 음이온성 텍스트란 마이크로 비드에 독소루비신이 흡착된 후 적색으로 변한 것을 확인하였다.

[0078] **실험예 3. 양이온성 약물의 용출 실험**

[0079] 상기 실험예 2-3의 독소루비신이 흡착된 음이온성 텍스트란 마이크로 비드를 미국약전 용출시험법 제2법에 따라서 500 ml 용출액 (PBS, pH 7.4)에 넣고 37 °C에서 50 rpm으로 회전하면서 주기적으로 5ml의 용출액을 취하여 형광분석법을 통하여 용출액 중 약물의 농도를 분석하였다. 용출된 약물의 양은 누적값으로 산출하였으며, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0080] 도 7에 나타낸 바와 같이, 음이온성 텍스트란 마이크로 비드에서 독소루비신이 장기간 지속적으로 용출됨을 확인하였다.

[0081] **실험예 4. 음이온성 텍스트란 마이크로 비드의 생체적합성 확인**

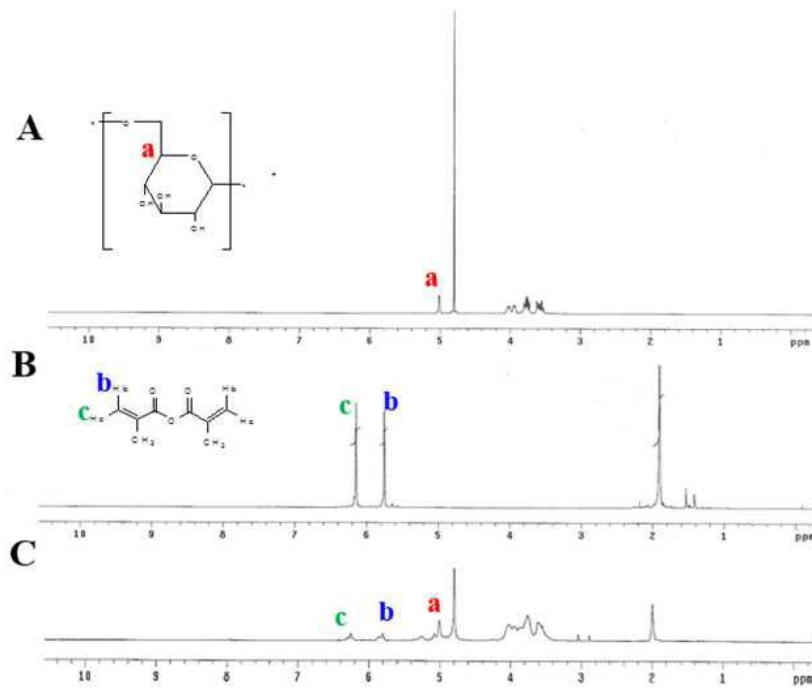
[0082] 상기 실시예 2에서 제조한 음이온성 텍스트란 마이크로 비드를 쥐의 대퇴근육에 주사하고 2주뒤에 주사한 근육을 절취하여 H&E 염색을 통하여 조직의 괴사 혹은 염증반응을 관찰하였으며, 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0083] 도 8에 나타낸 바와 같이, 음이온성 텍스트란 마이크로 비드 주변에 약한 정도의 염증세포의 침착을 확인할 수 있었으나 매우 미미하여 전반적으로 생체적합성에 문제가 없는 것으로 판단되었다.

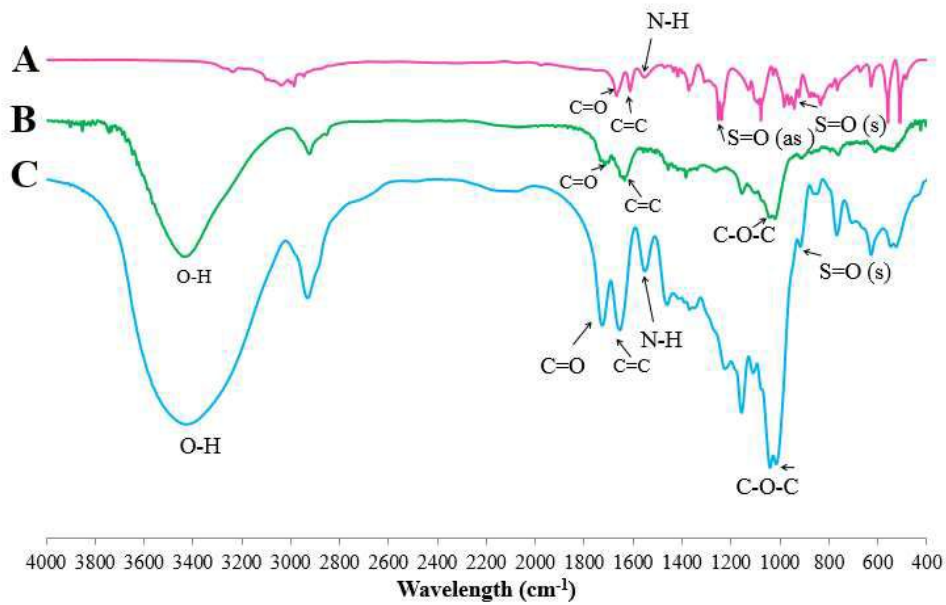
[0084] 이상의 실험 결과를 통하여, 본 발명에 따른 음이온성 작용기 및 아크릴레이트기가 도입된 광가교성 텍스트란 마이크로 비드는 제조방법이 기존 방법에 비해 매우 간단하고, 생체적합하며, 음이온성 작용기와 약물간의 상호작용을 유발하여 약물의 안정적인 담지 및 서방성을 구현할 수 있음을 확인하였다.

도면

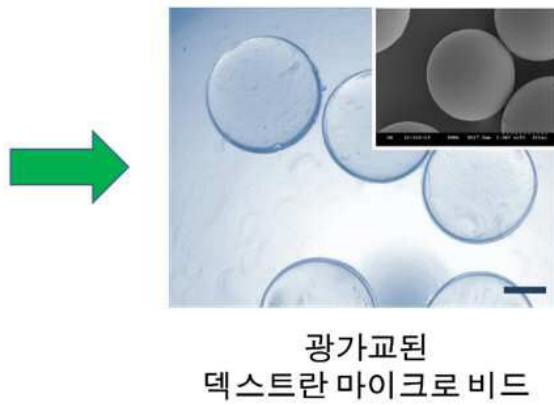
도면1



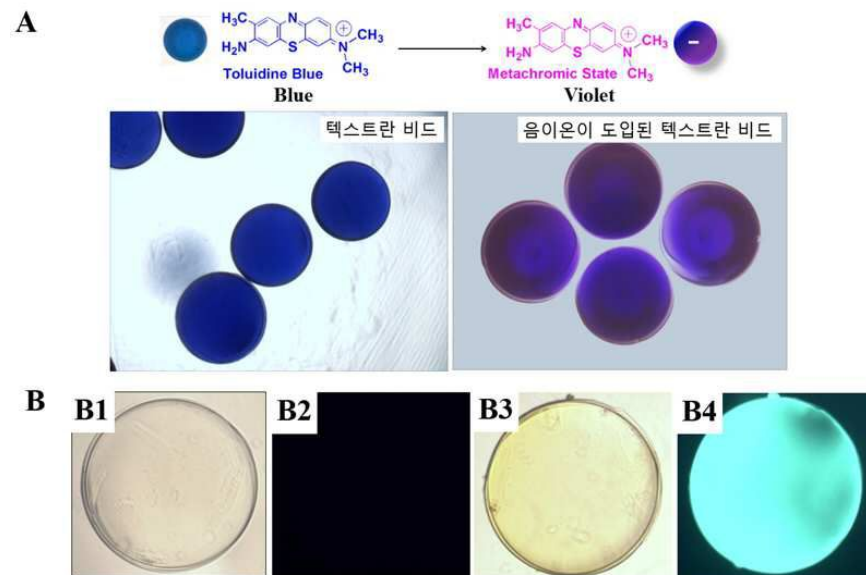
도면2



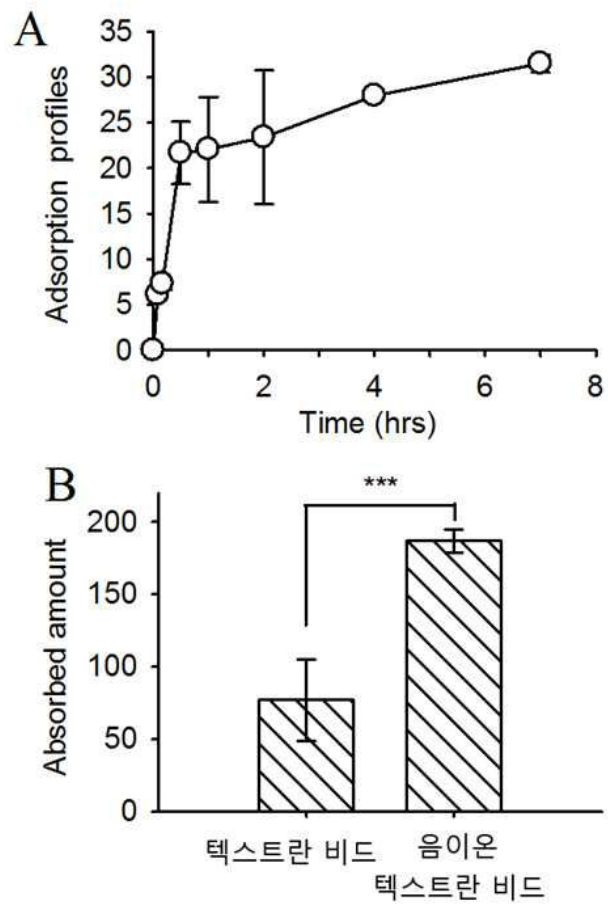
도면3



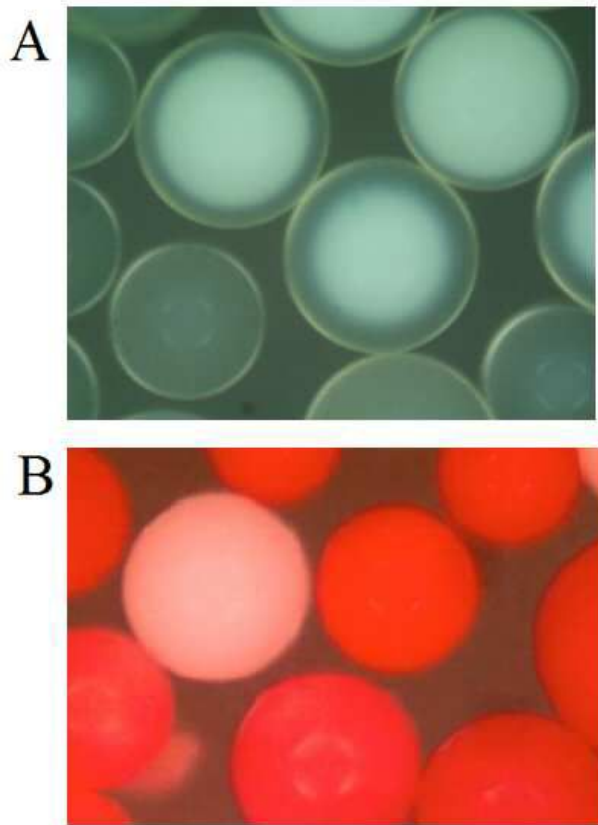
도면4



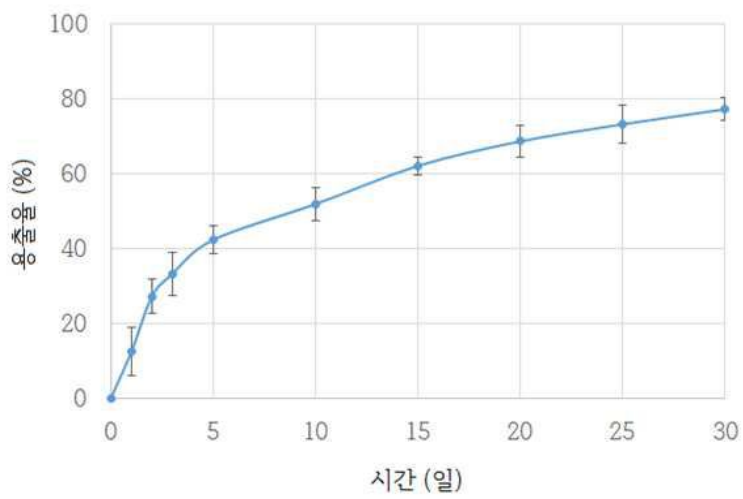
도면5



도면6

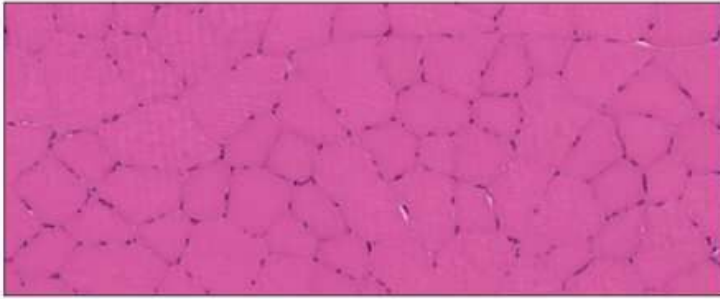


도면7



도면8

A



B

