(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0049360
(43) 공개일자 2022년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/54 (2017.01) *A61K 31/573* (2021.01)
A61K 31/7068 (2006.01) *A61K 31/7072* (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01) *A61K 31/708* (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/548 (2017.08)
A61K 31/573 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0132898
(22) 출원일자 2020년10월14일
심사청구일자 2020년10월14일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
강희민
서울특별시 강남구 개포로110길 50 래미안루체하임 111동 604호
배건휴
경기도 화성시 동탄대로시범길 19 동탄역시범더샵센트럴시티 1402동 2201호
탕감 라마
전라남도 화순군 용곡3길 31-2 효림아트빌 205호
(74) 대리인
최훈식

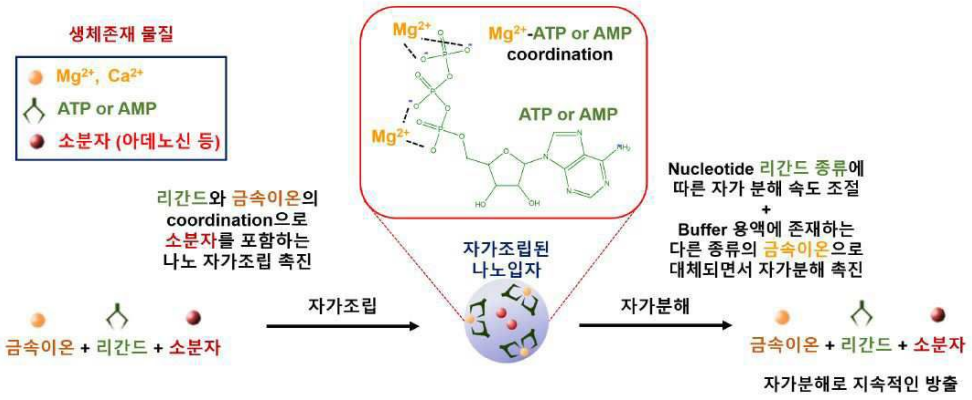
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **가역적인 자가조립 및 분해를 통해 유효성분 전달 속도조절이 가능한 인체 물질 기반의 자가조립 복합체 및 이를 이용한 유효성분 전달 시스템**

(57) 요 약

본 발명은 자가조립 복합체의 자가조립 및 분해를 이용한 약물 전달 시스템에 관한 것으로, 상기 전달 시스템은 체내에 존재하는 물질로 구성되어 독성이 적어 인체에 무해하고, 뉴클레오펩티드를 이용하여 자가분해 속도 및 소분자 방출 속도를 조절하여 더욱 긴 기간 동안 약물을 전달할 수 있는 이점이 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/7068 (2013.01)
A61K 31/7072 (2013.01)
A61K 31/7076 (2013.01)
A61K 31/708 (2013.01)
A61K 9/5123 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711114437
과제번호 2020R1C1C1011038
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 나노 리간드 주기성의 제어와 동적인 제시를 통한 세포의 부착과 재생성 특성의 조절
기 여 율 1/1
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2020.03.01 ~ 2021.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

체내에 존재하는 물질로 이루어진 자가조립 복합체로서,

하나 이상의 제1 금속 이온, 및 상기 제1 금속 이온과 이온결합 하는 리간드를 포함하는 나노분자; 및

상기 나노분자에 결합되는 하나 이상의 소분자;를 포함하고,

가역적으로 자가조립 또는 자가분해되고,

상기 제1 금속 이온의 농도에 의하여 자가조립이 수행되고, 상기 리간드에 의하여 자가분해 속도가 제어되며, 제1 방출시간 동안 금속이온 및 소분자 중 어느 하나 이상이 지속적으로 방출되는 자가조립 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제1 방출시간은 20일 이상인 자가조립 복합체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 제1 금속 이온은 칼슘, 마그네슘, 스트론튬, 바륨, 망간, 철, 코발트 및 니켈 중 어느 하나 이상을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 자가조립 복합체는 제2 금속 이온을 포함하는 완충용액에 의하여 자가분해되되, 상기 제2 금속 이온의 농도에 의하여 제어되는 자가조립 복합체.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 제2 금속 이온은 칼슘, 나트륨 및 칼륨 중 어느 하나 이상을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 리간드에 인산이 둘 이상 포함하는 경우 자가분해 속도에 대해서, 상기 리간드에 인산이 하나인 경우 자가분해 속도는 2배 내지 6배 빠르게 구비되는 자가조립 복합체.

청구항 7

제1항에 있어서,

자가조립 복합체는 하나 이상의 나노분자와 하나 이상의 소분자가 결합되어 응집된 것인 자가조립 복합체.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 리간드는 아데노신 인산화물 및 2-아미노에틸포스폰산(aminoethylphosphonic acid) 중 어느 하나 이상을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 소분자는 아데노신, 구아노신, 유리딘, 사이티딘 및 덱사메타손 중 어느 하나 이상을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 자가조립 복합체는 상기 제1 제1 금속 이온의 농도가 1 내지 30mM인 경우 자가 조립되는 것인 자가조립 복합체.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 자가조립 복합체는 상기 소분자의 농도가 10 내지 70mM인 경우 자가 조립되는 것인 자가조립 복합체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 자가조립 복합체를 이용한 약물 전달 시스템.

청구항 13

제12항에 있어서,

자가조립 복합체에 존재하는 제1 금속 이온이 완충용액에 포함된 제2 금속 이온으로 대체되면서 소분자의 방출을 촉진시키는 약물 전달 시스템.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 가역적인 자가조립 및 분해가 가능한 자가조립 복합체에 관한 것으로, 구체적으로 상기 자가조립 복합체는 체내에 존재하는 물질을 기반으로 하여 다양한 소분자, 외부 금속이온의 종류, 농도 및 리간드의 종류를 이용하여 자가분해의 속도를 조절할 수 있고, 이러한 자가조립 복합체의 자가조립 및 분해의 특성을 이용하여 자연에서 존재하는 소분자를 전달하는 약물 전달 시스템에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 약물전달시스템(DDS, drug delivery system)이란 기존 약물의 부작용을 최소화하고 약물이 가지고 있는 효능 및 효과를 최적화시켜 질병치유에 필요한 최소의 약물을 효과적으로 전달하기 위한 제형으로 정의될 수 있다.

[0003] 약물전달시스템 분야는 저비용과 짧은 개발기간으로 기존 약물의 새로운 제형개발을 가능하게 함으로써 차세대 바이오산업의 핵심으로 인식되고 있다. 약물전달시스템 분야에서 다양한 기능과 성능을 가진 생체고분자 및 합성고분자를 이용하여 새로운 약물전달체를 개발하는 연구가 매우 활발하게 이루어지고 있다.

[0004] 기존의 약물전달체는 인체 내부에 존재하지 않는 합성물질인 비스포스포네이트와 제1 금속 이온을 이용한 자가조립 복합체를 이용하는 것이다.

[0005] 위의 기존 약물 전달 시스템은 기반으로 사용되는 나노입자 등 캐리어(carrier)가 외부에서 합성되는 물질이기 때문에 독성 문제가 있고, 성장인자, 단백질 등의 전달로 가격경쟁력이 보장되지 않은 경우가 있으며, 지속적인 약물 방출이 제어되지 않아 단기간에 국한되는 문제점이 있다.

[0006] 따라서, 체내에 존재하는 물질을 이용하여 기존 기술보다 독성이 적고 무해하면서 지속적인 약물 방출을 제어할 수 있는 약물 전달 시스템을 개발할 필요성이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 미국 공개특허 US2018169141(2018.06.21 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 체내에 존재하는 물질을 기반으로 하여 다양한 소분자, 외부 금속이온의 종류, 농도 및 리간드의 종류를 포함하는 자가조립 복합체를 이용하여 자가분해의 속도를 조절함으로써 지속적으로 약물을 전달할 수 있는 자가조립 복합체 및 이를 이용한 약물 전달 시스템을 제공함에 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 체내에 존재하는 물질로 이루어진 자가조립 복합체로서,

[0010] 하나 이상의 제1 금속 이온, 및 상기 제1 금속 이온과 이온결합 하는 리간드를 포함하는 나노분자; 및

[0011] 상기 나노분자에 결합되는 하나 이상의 소분자;를 포함하고,

[0012] 가역적으로 자가조립 또는 자가분해되고,

[0013] 상기 제1 금속 이온의 농도에 의하여 자가조립이 수행되고, 상기 리간드에 의하여 자가분해 속도가 제어되며, 제1 방출시간 동안 금속이온 및 소분자 중 어느 하나 이상이 지속적으로 방출되는 자가조립 복합체를 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 상기 서술한 자가조립 복합체를 이용한 약물 전달 시스템을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 자가조립 복합체는 체내에 존재하는 물질로 구성되어 독성이 적어 인체에 무해하고, 뉴클레오쾝티드를 이용하여 자가분해 속도 및 소분자 방출 속도를 조절하여 더욱 긴 기간 동안 약물을 전달할 수 있는 이점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 자가조립 및 자가분해 메커니즘을 나타낸 모식도이다.

도 2 및 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 고분해능 주사투과전자 현미경(HAADF-STEM) 이미지이다.

도 4 및 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 마그네슘의 방출량을 나타낸 그래프이다.

도 6 및 도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 아데노신의 방출량을 나타낸 그래프이다.

도 8 및 도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 약물 방출 28일 후 주사전자 현미경(SEM) 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되어지는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다.

[0018] 본 발명은 체내에 존재하는 물질로 이루어진 자가조립 복합체로서,

[0019] 체내에 존재하는 물질로 이루어진 자가조립 복합체로서,

[0020] 하나 이상의 제1 금속 이온, 및 상기 제1 금속 이온과 이온결합 하는 리간드를 포함하는 나노분자; 및

[0021] 상기 나노분자에 결합되는 하나 이상의 소분자;를 포함하고,

[0022] 가역적으로 자가조립 또는 자가분해되고,

[0023] 상기 제1 금속 이온의 농도에 의하여 자가조립이 수행되고, 상기 리간드에 의하여 자가분해 속도가 제어되며, 제1 방출시간 동안 금속이온 및 소분자 중 어느 하나 이상이 지속적으로 방출되는 자가조립 복합체를 제공한다.

[0024] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 자가조립 및 자가분해 메커니즘을 나타낸 모식도이다. 도 1을 살펴보면, 본 발명의 자가조립 복합체는 하나 이상의 리간드와 하나 이상의 제1 금속 이온이 이온결합한 나노분자와 소분가 자가조립되어 결합한 형태이다. 또한, 본 발명의 자가조립 복합체는 나노분자에 존재하는 제1 금속 이온이 완충용액에 존재하는 제2 금속 이온으로 교환되면서 자가분해되어 제1 금속 이온과 소분자를 지속적으로 긴 시간 동안 방출할 수 있다.

[0025] 본 명세서에서 '체내에 존재하는 물질'의 의미는 인위적으로 합성한 것이 아닌 체내에 존재하는 구성 성분으로 이루어진 물질이라는 의미이다.

[0026] 구체적으로, 본 발명에 따른 자가조립 복합체는 하나 이상의 나노분자와 하나 이상의 소분자가 결합되어 응집된 것일 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 자가조립 복합체는 하나의 나노분자에 하나 이상의 소분자가 결합되어 응집된 것일 수 있다.

[0027] 보다 구체적으로, 본 발명의 자가조립 복합체의 평균 크기는 0.2 내지 5㎛, 0.5 내지 3㎛ 또는 0.5 내지 2㎛일 수 있다. 상기와 같은 크기를 가짐으로써 자가조립하기에 유리하며 긴 시간 동안 복합체에 존재하는 물질을 방출할 수 있다.

[0028] 예를 들어, 본 발명의 자가조립 복합체는 자가 분해되어 20일 이상, 25일 이상 또는 28일 이상 지속적으로 제1 금속 이온 및 소분자 중 어느 하나 이상을 방출할 수 있다.

[0029] 본 발명의 자가조립 복합체는 제1 금속 이온 및 아데노신의 농도에 의하여 자가조립이 수행되고, 상기 리간드에 의해서 자가분해 속도가 제어될 수 있다.

[0030] 구체적으로, 상기 제1 금속 이온의 농도가 1 내지 30mM, 1 내지 25mM 또는 10 내지 25mM인 경우, 제1 금속 이온, 리간드 및 소분자가 자가조립 되어 자가조립 복합체를 형성할 수 있다.

[0031] 또한, 상기 아데노신의 농도가 10 내지 70mM, 20 내지 60mM 또는 25 내지 55mM인 경우, 제1 금속 이온, 리간드 및 소분자가 자가조립 되어 자가조립 복합체를 형성할 수 있다.

[0032] 상기 제1 금속 이온은 칼슘, 마그네슘, 스트론튬, 바륨, 망간, 철, 코발트 및 니켈 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 제1 금속 이온은 칼슘 또는 마그네슘을 포함할 수 있다. 상기와 같은 제1 금속 이온을 포함하여 체내에 흡수되어 생물학적 기능을 증가시킬 수 있고, 인체에 무해하다.

[0033] 상기 완충용액에 포함된 제2 금속 이온은 칼슘, 나트륨 및 칼륨 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 상기와 같은 제2 금속 이온을 포함하여 자가조립 복합체의 제1 금속 이온을 방출할 수 있다.

[0034] 구체적으로, 본 발명의 자가조립 복합체는 제2 금속 이온을 포함하는 완충용액에 의해 자가분해되되, 상기 제2 금속 이온의 종류에 의해서 제1 금속 이온의 방출량이 조절될 수 있다.

[0035] 예를 들어, 상기 제2 금속 이온이 나트륨 또는 칼륨인 경우 제1 금속 이온의 방출량에 대해서, 상기 제2 금속 이온이 칼슘인 경우 제1 금속 이온의 방출량은 1.5배 내지 3배, 1.5배 내지 2배 또는 2배 내지 3배일 수 있다.

[0036] 상기 리간드는 및 2-아미노에틸포스폰산(aminoethylphosphonic acid) 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 리간드는 아데노신 일인산, 아데노신 이인산, 아데노신 삼인산 또는 2-아미노에틸포스폰산일 수 있다. 상기와 같은 리간드를 포함함으로써, 이의 인산염에 의해 제1 금속 이온의 점진적인 방출이 가능하고, 리간드의 종류에 따라 자가조립 복합체의 분해속도를 조절할 수 있다.

[0037] 상기 리간드에 인산이 둘 이상 포함하는 경우 자가분해 속도에 대해서, 상기 리간드에 인산이 하나인 경우 자가분해 속도는 2배 내지 6배, 2배 내지 4배 또는 3배 내지 5배 빠를 수 있다.

[0038] 상기 소분자는 모든 종류에 약물이라면 사용할 수 있으나, 구체적으로, 상기 소분자는 아데노신, 구아노신, 유리딘, 사이티딘 및 덱사메타손 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 상기 소분자는 체내에 전달되기 위한 물질

로 자가조립 복합체 분해시 방출되어 체내에 공급된다.

[0040] 또한, 본 발명은 상기 서술한 자가조립 복합체를 이용한 약물 전달 시스템을 제공한다.

[0041] 본 발명에 따른 약물 전달 시스템은 체내 존재하는 물질을 기반으로 한 자가조립 복합체를 포함하여 기존의 합성 고분자 등을 사용하는 기술보다 독성이 적으므로 인체에 무해한 상태에서 물질을 전달할 수 있다.

[0042] 구체적으로, 본 발명에 따른 자가조립 복합체는 도 1을 살펴보면, 리간드 종류에 따라 자가분해 속도를 조절하고, 자가조립 복합체의 제1 금속 이온은 완충용액에 존재하는 제2 금속 이온으로 대체되면서 자가분해를 촉진한다. 상기 자가조립 복합체의 존재하는 제1 금속 이온의 농도에 따라 자가조립이 수행되고, 완충용액에 존재하는 제2 금속 이온은 자가분해 시 제1 금속 이온의 방출량을 조절하고, 자가조립 복합체의 리간드의 종류에 따라 자가조립 복합체의 분해 속도를 조절할 수 있다.

[0043] 본 발명의 약물 전달 시스템은 자가조립 복합체에 존재하는 제1 금속 이온은 완충용액에 존재하는 제2 금속 이온으로 대체되면서 방출되고, 자가조립 복합체의 제1 금속 이온이 방출되면서 리간드 및 소분자의 방출을 촉진시킨다. 구체적으로, 상기 완충용액에 존재하는 제2 금속 이온의 종류에 따라 자가조립 복합체의 제1 금속 이온의 방출량을 조절할 수 있다.

[0044] 구체적으로, 상기 제2 금속 이온이 나트륨 또는 칼륨인 경우 제1 금속 이온의 방출량에 대해서, 상기 제2 금속 이온이 칼슘인 경우 제1 금속 이온의 방출량은 1.5배 내지 3배, 1.5배 내지 2배 또는 2배 내지 3배일 수 있다.

[0045] 또한, 본 발명의 자가조립 복합체의 리간드의 종류에 따라 제1 금속 이온과의 결합 형태가 달라져 자가조립 복합체의 자가분해 속도 및 소분자의 방출 속도를 조절할 수 있다.

[0046] 상기 리간드에 인산이 둘 이상 포함하는 경우 자가분해 속도에 대해서, 상기 리간드에 인산이 하나인 경우 자가분해 속도는 2배 내지 6배, 2배 내지 4배 또는 3배 내지 5배 빠르게 조절할 수 있다.

[0048] 이하 본 발명의 실시예를 기재한다. 그러나, 하기 실시예들은 본 발명의 바람직한 일 실시예일뿐 본 발명의 권리 범위가 하기 실시예들에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[0050] 1. 자가조립 복합체의 제조

[0051] 실시예 1(Mg-ATP-adenosine)

[0052] Mg-ATP-adenosine 자가조립 복합체를 제조하기 위해, 25mmol/L(2mL 탈이온수에 27.6mg ATP)의 아데노신 삼인산(adenosine triphosphate, ATP); 25 mmol/L(2mL 탈이온수에 10.1mg Mg^{2+})의 염화마그네슘 7수화물($MgCl_2 7H_2O$); 및 25 mmol/L(2mL 탈이온수에 13.4mg 아데노신)의 아데노신을 혼합하여 아데노신 자가조립 복합체를 형성하였다. 간단하게, 2mL의 아데노신 삼인산을 염화마그네슘 7수화물 용액과 4:5의 비율로 상온(25℃)에서 30초 동안 혼합하여 혼합물을 형성하였다. 상기 혼합물에 아데노신 용액을 한방울씩 적가하여 Mg-ATP-adenosine 자가조립 복합체를 제조하였다.

[0053] 실시예 2(Mg-AMP-adenosine)

[0054] Mg-AMP-adenosine 자가조립 복합체를 제조하기 위해, 10mmol/L(2mL 탈이온수에 6.9mg AMP)의 아데노신 일인산(adenosine monophposphate, AMP); 10 mmol/L(2mL 탈이온수에 4mg Mg^{2+})의 염화마그네슘 7수화물($MgCl_2 7H_2O$); 및 50 mmol/L(2mL 탈이온수에 26.7mg 아데노신)의 아데노신을 혼합하여 아데노신 자가조립 복합체를 형성하였다. 간단하게, 2mL의 아데노신 일인산을 염화마그네슘 7수화물 용액과 4:5의 비율로 상온(25℃)에서 30초 동안 혼합하여 혼합물을 형성하였다. 상기 혼합물에 아데노신 용액을 한방울씩 적가하여 Mg-AMP-adenosine 자가조립 복합체를 제조하였다.

[0056] 실험예

[0057] 본 발명에 따른 자가조립 복합체를 관찰하기 위해서 실시예 1 및 실시예 2에서 제조한 Mg-ATP과 Mg-AMP 500㎕을

각각 아데노신 용액과 혼합하고, 22X22mm 크기의 6웰 플레이트 포함 유리기판 상에 준비하고, 탈이온수를 이용하여 반복적으로 세척하였다. 30분 후 세척된 용액을 염산(HCl)으로 처리하고 37℃의 오븐에서 24시간 동안 건조시켰다. 상기 유리기판은 황산(H_2SO_4)에 1시간 동안 담지한 다음 탈이온수로 세척하여 유리기판 상에 수산기를 활성화시켰다. 상기 유리기판은 염산 및 메탄올이 1:1로 혼합된 혼합용액에 담지하고 탈이온수로 세척하였다. 상기 활성화된 유리기판은 0.5mM의 멀캅토프로필실라트레인(mercaptosilatrane)을 함유하는 메탄올에 암조건에서 1시간 동안 배양(incubation)하여 티올화한 다음 메탄올로 세척하여 사용하였다. 상기 제조한 자가조립 복합체의 형태를 확인하기 위해 고각환형 암시야 주사투과전자 현미경(HAADF-STEM)으로 관찰하였다.

[0058] 준비된 유리기판을 6웰 플레이트에 고정하고 1xPBS 용액과 2mL의 염화칼슘 용액(100mmol/L)을 커버 유리의 모든 웰에 첨가하였다. 그런 다음 유리기판을 잘 배치하여 첨가된 용액에 뜨지 않도록 하고 플레이트를 파라 필름으로 밀봉 및 코팅하고 37℃ 온도의 인큐베이터에 보관하였다.

[0059] 또한, 방출 분석을 위해 1일, 3일, 7일, 14일, 21일, 28일마다 1 내지 6의 웰에서 샘플 용액(200㎕)을 채취하고 추출한 만큼 완충용액을 채워주었다.

[0060] 수집된 용액은 4℃에서 1.5mL 마이크로튜브에 저장되었다. 1일, 3일, 7일, 14일, 21일, 28일까지 모든 용액을 추출한 후 분광법으로 마그네슘(Mg^{2+}), ATP/AMP 및 아데노신(소분자)의 방출 농도를 측정하였다.

[0061] 또한, 마그네슘(Mg^{2+})의 방출을 평가하고 방출 시간에 따른 아데노신(소분자) 농도의 변화를 측정하기 위해 비색 분석 키트(colormetric assay kit, Biovision 사)프로토콜을 따랐다.

[0062] 마찬가지로, 아데노신 방출 평가를 위해 아데노신 분석 키트(abcam)을 사용하여 시간 경과에 따른 아데노신 농도의 변화를 측정하였다.

[0063] 멀티 웰 마이크로 플레이트 리더를 사용하여 Hidex의 감지 모델을 사용하여 603 및 450nm 파장에서 마그네슘(Mg^{2+})의 흡수를 측정했으며, 아데노신의 경우 Ex/Em=535/575nm를 사용하여 형광을 측정하였다.

[0064] 28일 후 유리기판을 37℃에서 24시간 동안 완전히 건조시킨 후 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 관찰하였다.

[0066] 도 2 및 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 고분해능 주사투과전자 현미경(HAADF-STEM) 이미지이다. 도 2는 실시예 1의 자가조립 복합체의 이미지이고, 도 3은 실시예 2의 자가조립 복합체의 이미지이다. 도 2 및 도 3을 살펴보면, 자가조립 복합체가 0.5 내지 1㎛ 크기로 형성된 것을 확인할 수 있다.

[0067] 도 4 및 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 마그네슘의 방출량을 나타낸 그래프이다. 도 4는 실시예 1의 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 마그네슘의 방출량을 나타낸 그래프이고, 도 5는 실시예 2의 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 마그네슘의 방출량을 나타낸 그래프이다. 도 4 및 도 5를 살펴보면, PBS 및 염화칼슘 완충용액에서 배양된 자가조립 복합체에서 방출하는 마그네슘의 양을 측정한 것으로, 실시예 1 및 실시예 2의 자가조립 복합체 모두에서 28일 동안 지속적으로 마그네슘이 방출된 것을 확인할 수 있다. 또한, PBS 완충용액과 비교하여 염화칼슘 완충용액에서 훨씬 더 많은 양의 마그네슘이 방출된 것을 확인할 수 있다. 이는 염화칼슘으로부터 칼슘 이온이 제공되어 마그네슘 이온이 방출된 것을 알 수 있다. 또한, ATP를 포함하는 자가조립 복합체 보다 AMP를 포함하는 자가조립 복합체의 마그네슘 방출량이 더 높은 것을 확인할 수 있다.

[0068] 이를 통해, 약물 전달 중에 자가조립 복합체로부터 마그네슘 이온의 방출이 필요로 함을 알 수 있다. 또한, 이 방출된 마그네슘 이온은 조직에 중요한 요소가 되므로, 인체에 무해하다. 더욱이, 전달된 부위에서 마그네슘 이온의 빠른 흡수는 더 많은 양의 생물학적 기능을 증가시킬 수 있다.

[0069] 도 6 및 도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 아데노신의 방출량을 나타낸 그래프이다. 도 6은 실시예 1의 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 아데노신의 방출량을 나타낸 그래프이고, 도 7은 실시예 2의 자가조립 복합체의 버퍼 용액별 시간에 따른 누적 아데노신의 방출량을 나타낸 그래프이다.

[0070] 도 6 및 도 7을 살펴보면, PBS 및 염화칼슘 완충용액에서 배양된 자가조립 복합체에서 방출하는 소분자인 아데노신의 양을 측정한 것으로, 실시예 1 및 실시예 2의 자가조립 복합체 모두에서 28일 동안 지속적으로 소분자인 아데노신이 방출된 것을 확인할 수 있다. PBS 하에서 아데노신 방출의 최소 방출이 관찰되었으며, 이는 마그네

슘 이온의 손실 증가를 나타낸다. 대조적으로, 자가조립 복합체로부터 마그네슘 이온과 아데노신의 더 빠른 방출은 상기 복합체에서 발견되는 이온 안정화 매커니즘이 부족할 수 있다. 또한, 염화칼슘은 인산마그네슘 보다 안정성이 높고 불용성인 것으로 알려져 있다. 따라서 완충용액에 칼슘 이온이 존재하면 아데노신에 대한 경쟁적 결합을 통해 자가조립 복합체에서 마그네슘 이온의 빠른 방출을 가속화하여 석회화(calcification)를 촉진할 것으로 예상된다. 또한, 아데노신은 골 형성분화를 조절하여 칼슘 의존성 골 대사에 대한 중요한 영향을 포함하고 조절한다. 아데노신의 이러한 장점을 고려하여, 마그네슘 관련 ATP/AMP 의존적 자가조립 복합체는 생체 의학 응용 분야에서 기능적 운반체 역할을 한다.

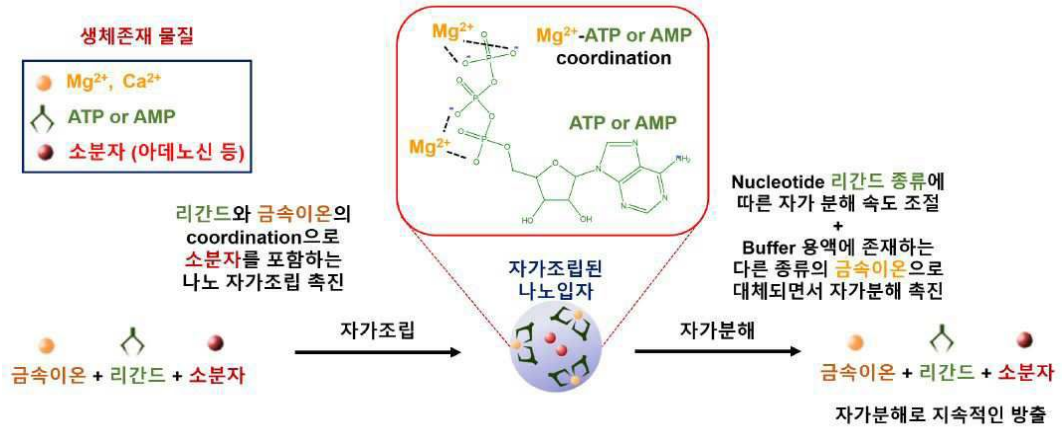
[0071] 도 8 및 도 9는 본 발명의 일실시예에 따른 자가조립 복합체의 약물 방출 28일 후 주사전자 현미경(SEM) 이미지이다. 도 8은 실시예 1의 자가조립 복합체의 이미지이고, 도 9는 실시예 2의 자가조립 복합체의 이미지이다.

[0072] 도 8 및 도 9를 살펴보면, 28일 후에 자가조립 복합체가 완전히 방출된 후 주사전자 현미경을 통해 복합체의 해리 정도를 확인할 수 있다. 이는 석회화를 동시에 촉진하는 동안 ATP 또는 AMP 및 아데노신과 함께 마그네슘 이온의 점진적인 방출을 유지하는 자가조립 복합체의 잠재적 방출을 보여준다. 또한, 국소 농도의 칼슘 이온과, 마그네슘 이온 및 칼슘 이온 모두의 방출이 증가하면 자가조립된 복합체로부터 ATP/AMP와 함께 아데노신 방출이 더욱 촉진되어 천연 분자 전달 접근법을 유도할 수 있으며, 이는 생물 의학 응용에 안전한 재료로 무독성을 가짐으로써 물리적 및 생물학적 기능을 더욱 촉진할 수 있다.

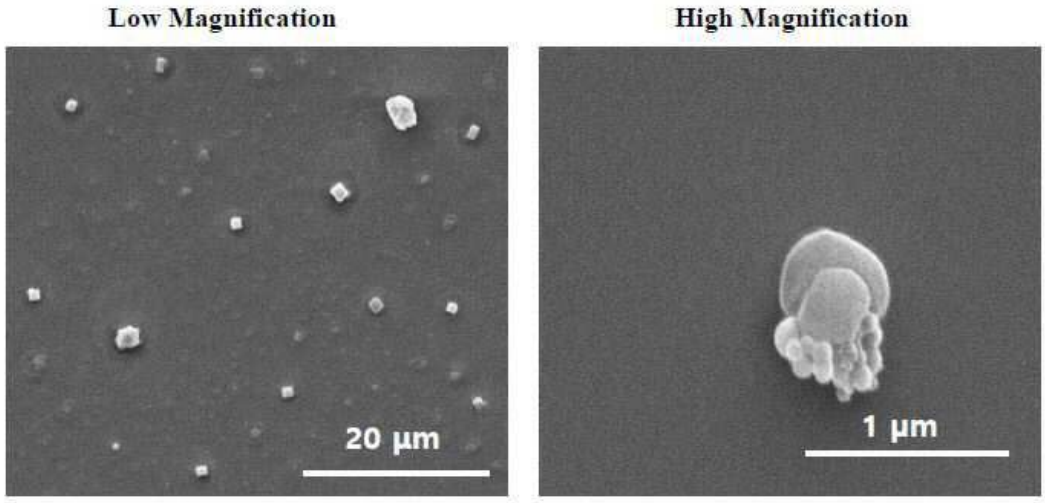
[0073] 결론적으로, 본 발명에 따른 자가조립 복합체는 안정적이고, 방출시 잘 정의된 구조를 보여주었으며, 이는 잠재적인 생물 의학 응용을 위한 기능적 자연적인 분자 전달 시스템의 합성을 위한 강력한 도구이다.

도면

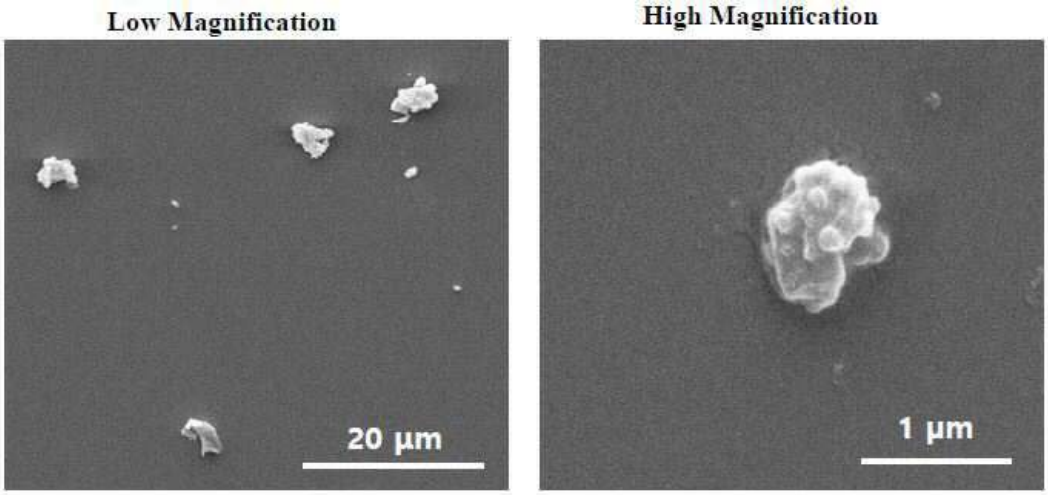
도면1



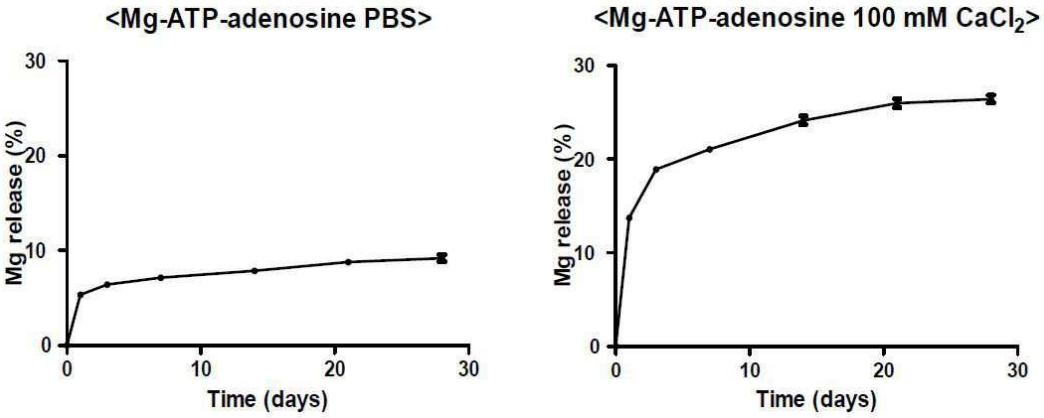
도면2


Low Magnification
High Magnification
20 μm
1 μm

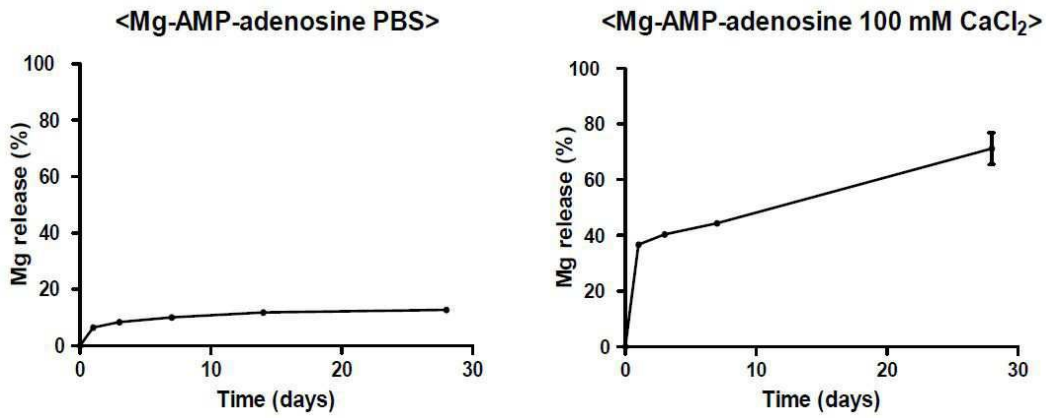
도면3


Low Magnification
High Magnification
20 μm
1 μm

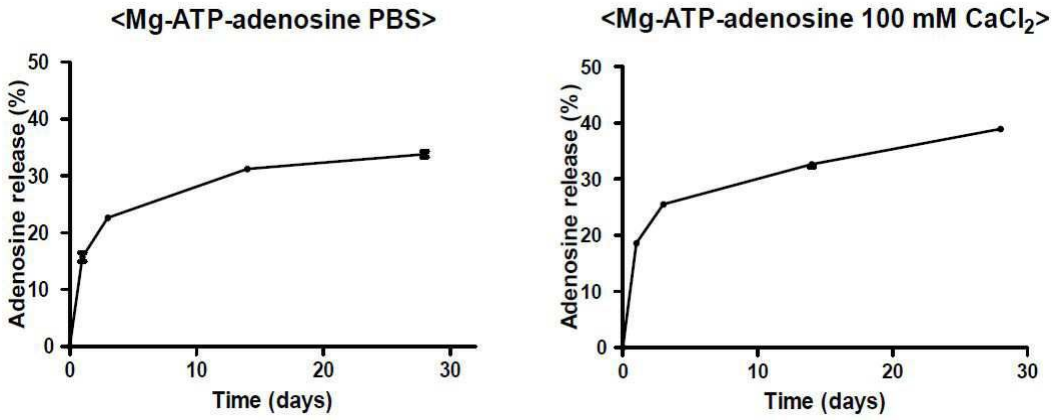
도면4


<Mg-ATP-adenosine PBS>
<Mg-ATP-adenosine 100 mM CaCl2>
Mg release (%)
Time (days)
0
10
20
30

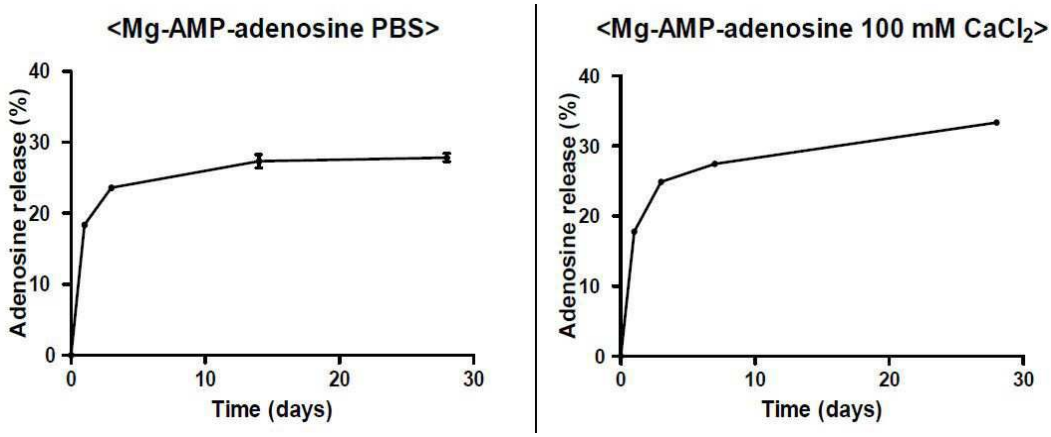
도면5


<Mg-AMP-adenosine PBS>
Mg release (%)
Time (days)
<Mg-AMP-adenosine 100 mM $CaCl_2$>
Mg release (%)
Time (days)

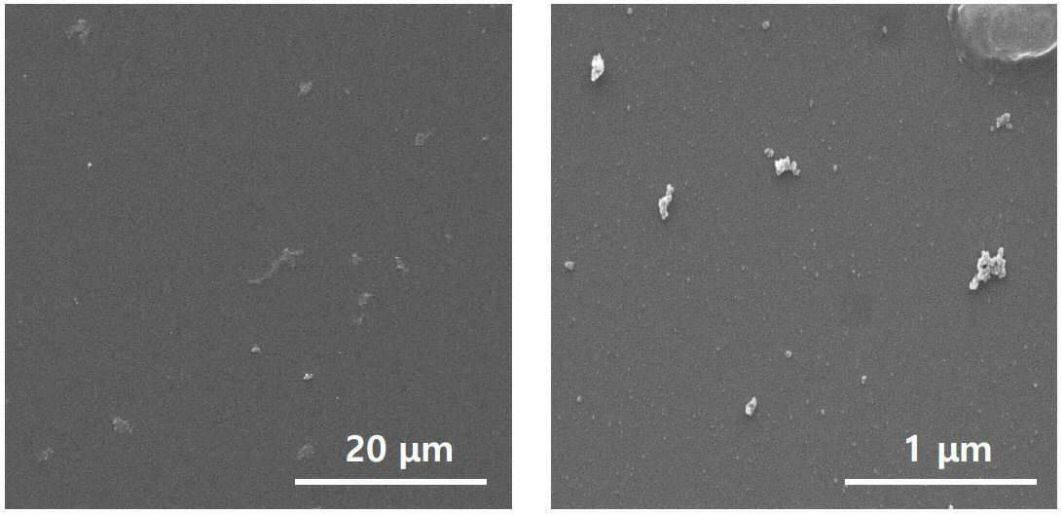
도면6


<Mg-ATP-adenosine PBS>
Adenosine release (%)
Time (days)
<Mg-ATP-adenosine 100 mM $CaCl_2$>
Adenosine release (%)
Time (days)

도면7


<Mg-AMP-adenosine PBS>
Adenosine release (%)
Time (days)
<Mg-AMP-adenosine 100 mM $CaCl_2$>
Adenosine release (%)
Time (days)

도면8



도면9

