(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0147253
(43) 공개일자 2023년10월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/14 (2006.01) *A61K 31/7076* (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/143 (2013.01)
A61K 31/7076 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0046024
(22) 출원일자 2022년04월13일
심사청구일자 2023년01월18일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
강희민
서울특별시 강남구 개포로 110길 50 래미안루체하임 111동 604호
이성규
경기도 시흥시 인선길 63, 231동 802호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최훈식

전체 청구항 수 : 총 16 항

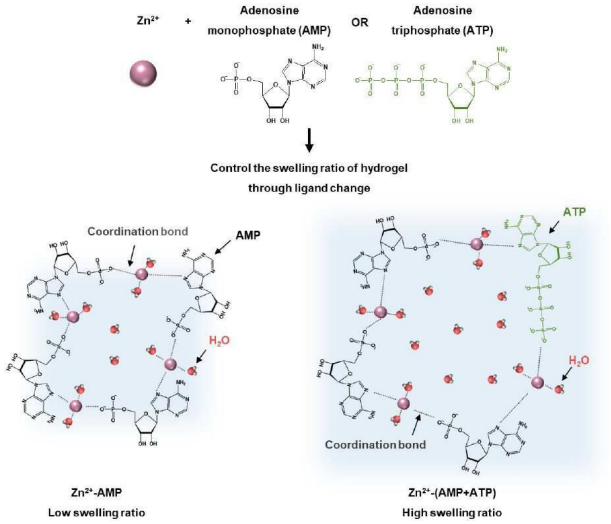
(54) 발명의 명칭 **아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체**

(57) 요 약

본 발명은 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체에 있어서, 아연 이온; 및

1종 이상의 리간드;를 포함하고, 상기 리간드와 아연 이온이 가역적으로 자가 조립 또는 자가 분해되고, 상기 자가조립 복합체는 하이드로겔 형태로 구비되고, 상기 리간드의 종류 또는 상기 리간드가 복수개인 경우 상기 리간드의 배합비에 따라서 상기 자가조립 복합체의 팽창비가 제어되는, 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 9/06 (2013.01)
A61K 9/145 (2013.01)
(72) 발명자
강나연
서울특별시 성북구 안암로9가길 54, 202호
김유리
서울특별시 마포구 토정로5길 9, 101동 803호 (합정동, 일신건영휴먼빌 아파트)
이상혁
서울특별시 동대문구 약령시로2길 44, 402호
김성열
서울특별시 성북구 삼선교로24길58 문화빌라 403호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711130532
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	2021.03.01 ~ 2022.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체에 있어서,

아연 이온; 및

1종 이상의 리간드;를 포함하고,

상기 리간드와 아연 이온이 가역적으로 자가 조립 또는 자가 분해되고,

상기 자가조립 복합체는 하이드로겔 형태로 구비되고,

상기 리간드의 종류 또는 상기 리간드가 복수개인 경우 상기 리간드의 배합비에 따라서 상기 자가조립 복합체의 팽창비가 제어되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 리간드는,

포스페이트 및 포스포네이트 중 적어도 어느 하나를 포함하는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 리간드는,

AMP, ADP, ATP, TMP, TDP, TTP, CMP, CDP, CTP, GMP, GDP, GTP, UMP, UDP, UTP, DNA, RNA, AEP(2-아미노에틸포스폰산, 2-aminoethylphosphonic acid), TNA(Threose nucleic acid), GNA(glycol nucleic acid), HNA(1,5-anhydrohexitol nucleic acid), ANA(1,5-anhydroatritol nucleic acid), FANA(2'-deoxy-2'-fluoroarabino nucleic acid) 및 CeNA(cyclohexenyl nucleic acid) 중 적어도 어느 하나를 포함하는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 리간드는

AMP; 및

ADP 또는 ATP 중 적어도 어느 하나;를 포함하고,

상기 ADP 또는 ATP 중 적어도 어느 하나의 배합비가 증가할수록 자가 조립이 증가하여 하기의 식 1에 의해 정해지는 팽윤비가 증가하는 것을 포함하는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체;

[식 1]

$$\text{팽윤비} = \frac{\text{흡수한 용액의 무게}}{\text{건조된 자가조립 복합체의 무게}}$$

청구항 5

제11항에 있어서,

이웃한 상기 리간드 사이의 π-π 상호작용, 및 수소결합 중 적어도 어느 하나; 또는

칼슘 이온과 상기 리간드 사이의 배위 결합;에 의하여 자가조립 복합체를 형성하는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 6

제1항에 있어서,

자가치유 특성을 가지는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 아연 이온 및 리간드는 5:1 내지 1:1의 몰농도로 포함되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 8

제1항에 있어서,

3일 내지 40일 동안 자가분해되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 9

제1항에 있어서,

유효성분을 더 포함하고,

상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체에 담지되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 자가조립 복합체는 제1 유효성분 및 제2 유효성분 중 적어도 어느 하나를 포함하고,

상기 자가조립 복합체는 상기 제1 유효성분을 포함하는 제1 복합체와, 상기 제2 유효성분을 포함하는 제2 복합체를 포함하고,

상기 제1 복합체와 상기 제2 복합체를 서로 접촉시키는 경우, 상기 제1 복합체의 제1 유효성분은 상기 제2 복합체로 전달되고, 상기 제2 복합체의 제2 유효성분은 상기 제1 복합체로 전달되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 유효성분은, 아데노신, 구아노신, 유리딘, 사이티딘, 독소루비신, 약물 및 염료 중 적어도 어느 하나인,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체가 자가분해됨으로써 배출되고,

상기 유효성분은 방출시간 동안 지속적으로 방출되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 13

제9항에 있어서,

상기 자가조립 복합체는 상기 아연 이온 및 리간드 중 적어도 어느 하나의 농도가 증가할수록 상기 방출시간이 증가하는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 방출시간은 3일 내지 40일인,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 15

제1항에 있어서,

상기 자가조립 복합체가 자가 분해되어 상기 아연 이온 및 리간드 중 적어도 어느 하나가 방출시간 동안 방출되고,

상기 방출시간은 상기 리간드의 배합비에 의하여 조절되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

청구항 16

제1항에 있어서,

생체 내 물질 전달 캐리어, 세포 배양 배지로 사용되는,

아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 아연 이온을 포함하는 자가조립체 복합체에 관한 것이고, 보다 상세하게는 구성 성분 중 리간드의 조성 비율을 변화시켜 하이드로겔을 조절함으로써 유효성분의 전달을 조절할 수 있는 자가조립체 하이드로겔에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 하이드로겔은 폴리머가 공유결합이나 비공유결합으로 교차결합된 물질로 액체를 잘 흡수하는 구조체이다. 하이드로겔의 여러 특성 중 액체를 흡수하는 특성으로 인해 바이오메디컬, 미용 분야에서 떠오르는 소재다. 하지만 하이드로겔의 특성 상 교차결합을 하고 구조를 유지하기 위해선 상대적으로 길이가 긴 폴리머가 필요하고, 이 폴리머는 인공적인 화학 물질이기에 생체적합성이 부족할 수 있다. 또한 교차결합을 이루기 위해서 레이저, 고온 등의 부가적인 공정이 필요하다. 따라서 생체 친화적인 생체 유래 자연물질을 이용하여 하이드로겔을 부가적인 공정없이 제작하는 기술의 개발이 필요하다.

[0004] 또한 하이드로겔의 약물 전달 속도를 제어할 수 있다면 목적에 따라 다양하게 응용가능하다.

[0005] 아데노신 인산염과 아연 이온은 배위결합을 통하여 하이드로겔 형태의 자가조립체를 이룰 수 있다.

[0006] 또한 자가조립체에 사용되는 아데노신 인산염은 세포 재생을 증진하여 피부 재생에 도움을 줄 수 있고, 아연 이온은 wound healing process에 있어서 세포막 재생, 응집, 염증, 면역 반응 등 전범위에 걸쳐서 영향을 준다.

[0007] 대한민국 공개특허 제10-2019-0114060호는 생분해 가능한 고분자 하이드로겔 복합체에 관한 기술을 개시하고 있으나, 리간드의 비율을 조절하여 하이드로겔의 조립 분해를 조절하는 기술을 개시하고 있지 않다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 아연 이온을 포함하는 자기조립 복합체를 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명의 일측면에 따르면, 본 발명의 실시예들은 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체에 있어서, 아연 이온; 및 1종 이상의 리간드;를 포함하고, 상기 리간드와 아연 이온이 가역적으로 자가 조립 또는 자가 분해되고, 상기 자가조립 복합체는 하이드로겔 형태로 구비되고, 상기 리간드의 종류 또는 상기 리간드가 복수개인 경우 상기 리간드의 배합비에 따라서 상기 자가조립 복합체의 팽창비가 제어되는, 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체를 포함할 수 있다.

[0012] 일 실시예에 있어서, 상기 리간드는, 포스페이트 및 포스포네이트 중 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.

[0013] 일 실시예에 있어서, 상기 리간드는, AMP, ADP, ATP, TMP, TDP, TTP, CMP, CDP, CTP, GMP, GDP, GTP, UMP, UDP, UTP, DNA, RNA, AEP(2-아미노에틸포스폰산, 2-aminoethylphosphonic acid), TNA(Threose nucleic acid), GNA(glycol nucleic acid), HNA(1,5-anhydrohexitol nucleic acid), ANA(1,5-anhydroatritol nucleic acid), FANA(2'-deoxy-2'-fluoroarabino nucleic acid) 및 CeNA(cyclohexenyl nucleic acid) 중 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.

[0014] 일 실시예에 있어서, 상기 리간드는 AMP; 및 ADP 또는 ATP 중 적어도 어느 하나;를 포함하고, 상기 ADP 또는 ATP 중 적어도 어느 하나의 배합비가 증가할수록 자가 조립이 증가하여 하기의 식 1에 의해 정해지는 팽윤비가

증가하는 것을 포함하는 것일 수 있다.

[0015] [식 1]

[0016] $$\text{팽윤비} = \frac{\text{흡수한 용액의 무게}}{\text{건조된 자가조립 복합체의 무게}}$$

[0018] 일 실시예에 있어서, 이웃한 상기 리간드 사이의 π-π 상호작용, 및 수소결합 중 적어도 어느 하나; 또는 칼슘 이온과 상기 리간드 사이의 배위 결합;에 의하여 자가조립 복합체를 형성하는 것일 수 있다.

[0019] 일 실시예에 있어서, 자가치유 특성을 가지는 것일 수 있다.

[0020] 일 실시예에 있어서, 상기 아연 이온 및 리간드는 5:1 내지 1:1의 몰농도로 포함되는 것일 수 있다.

[0021] 일 실시예에 있어서, 3일 내지 40일 동안 자가분해되는 것일 수 있다.

[0022] 일 실시예에 있어서, 유효성분을 더 포함하고, 상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체에 담지되는 것일 수 있다.

[0023] 일 실시예에 있어서, 상기 자가조립 복합체는 제1 유효성분 및 제2 유효성분 중 적어도 어느 하나를 포함하고, 상기 자가조립 복합체는 상기 제1 유효성분을 포함하는 제1 복합체와, 상기 제2 유효성분을 포함하는 제2 복합체를 포함하고, 상기 제1 복합체와 상기 제2 복합체를 서로 접촉시키는 경우, 상기 제1 복합체의 제1 유효성분은 상기 제2 복합체로 전달되고, 상기 제2 복합체의 제2 유효성분은 상기 제1 복합체로 전달되는 것일 수 있다.

[0024] 일 실시예에 있어서, 상기 유효성분은, 아데노신, 구아노신, 유리딘, 사이티딘, 독소루비신, 약물 및 염료 중 적어도 어느 하나인 것일 수 있다.

[0025] 일 실시예에 있어서, 상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체가 자가분해됨으로써 배출되고,

[0026] 상기 유효성분은 방출시간 동안 지속적으로 방출되는 것일 수 있다.

[0027] 일 실시예에 있어서, 상기 자가조립 복합체는 상기 아연 이온 및 리간드 중 적어도 어느 하나의 농도가 증가할수록 상기 방출시간이 증가하는 것일 수 있다.

[0028] 일 실시예에 있어서, 상기 방출시간은 3일 내지 40일인 것일 수 있다.

[0029] 일 실시예에 있어서, 상기 자가조립 복합체가 자가 분해되어 상기 아연 이온 및 리간들 중 적어도 어느 하나가 방출시간 동안 방출되고, 상기 방출시간은 상기 리간드의 배합비에 의하여 조절되는 것일 수 있다.

[0030] 일 실시예에 있어서, 생체 내 물질 전달 캐리어 또는 세포 배양 배지로 사용되는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0032] 이상 살펴본 바와 같은 본 발명에 따르면, 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체는 리간드의 배합 비율을 조절하여 자가조립 복합체의 거동을 조절할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1 및 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 아연 이온과 리간드를 포함하는 자가조립 복합체가 자가 조립되고 자가 분해되는 과정을 모식적으로 나타낸 도면이다.

도 3은 리간드의 농도에 따른 자가조립 복합체의 형태를 관찰한 것이다.

도 4는 자가조립 복합체의 리간드 배합비에 다른 팽윤비를 관찰한 결과이다.

도 5는 EDTA 조건에서 자가조립 복합체의 자가 분해를 관찰한 결과이다.

도 6은 자가조립 복합체의 자가치유 특성을 확인한 결과이다.

도 7 내지 9는 리간드의 배합비에 따라 자가조립 복합체의 약물 전달 특성을 확인한 결과이다.

도 10은 자가조립 복합체의 세포 배양 능력을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 기타 실시예들의 구체적인 사항들은 상세한 설명 및 도면들에 포함되어 있다.

[0036] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 이하의 설명에서 달리 명시되지 않는 한, 본 발명에 성분, 반응 조건, 성분의 함량을 표현하는 모든 숫자, 값 및/또는 표현은, 이러한 숫자들이 본질적으로 다른 것들 중에서 이러한 값을 얻는 데 발생하는 측정의 다양한 불확실성이 반영된 근사치들이므로, 모든 경우 "약"이라는 용어에 의해 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 기재에서 수치범위가 개시되는 경우, 이러한 범위는 연속적이며, 달리 지적되지 않는 한 이러한 범위의 최소값으로부터 최대값이 포함된 상기 최대값까지의 모든 값을 포함한다. 더 나아가, 이러한 범위가 정수를 지칭하는 경우, 달리 지적되지 않는 한 최소값으로부터 최대값이 포함된 상기 최대값까지를 포함하는 모든 정수가 포함된다

[0037] 또한, 본 발명에서 범위가 변수에 대해 기재되는 경우, 상기 변수는 상기 범위의 기재된 종료점들을 포함하는 기재된 범위 내의 모든 값들을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 예를 들면, "5 내지 10"의 범위는 5, 6, 7, 8, 9, 및 10의 값들뿐만 아니라 6 내지 10, 7 내지 10, 6 내지 9, 7 내지 9 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 5.5, 6.5, 7.5, 5.5 내지 8.5 및 6.5 내지 9 등과 같은 기재된 범위의 범주에 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다. 예를 들면, "10% 내지 30%"의 범위는 10%, 11%, 12%, 13% 등의 값들과 30%까지를 포함하는 모든 정수들 뿐만 아니라 10% 내지 15%, 12% 내지 18%, 20% 내지 30% 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 10.5%, 15.5%, 25.5% 등과 같이 기재된 범위의 범주 내의 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0039] 도 1 및 2는 본 발명의 일 실시예에 의한 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체가 자가 조립 및 자가 분해되는 것을 모식적으로 나타낸 도면이다.

[0040] 예를 들어, 상기 아연 이온(Zn^{2+})이 리간드인 AMP 또는 ATP의 인산기와 배위 결합하여 금속 착물을 형성할 수 있다. 또한 도면에 도시되지는 않았지만, 상기 리간드의 염기 부분을 방향족 고리를 포함하고 있어, 방향족 고리 사이에 π-π 상호작용을 형성할 수 있다. 또한 도면에 도시되지는 않았지만, 상기 칼슘 이온에 물 분자가 결합할 수 있고, 상기 물 분자가 염기 부분의 질소와 수소 결합을 형성할 수 있다.

[0041] 상기 자가조립 복합체는 이처럼 칼슘 이온, 리간드 및 물 분자 사이에 배위 결합, π-π 상호작용 및 수소결합 중 적어도 어느 하나를 포함하여 형성될 수 있다.

[0043] 본 발명의 일측면에 따르면, 본 발명의 실시예들은 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체에 있어서, 아연 이온; 및 1종 이상의 리간드;를 포함하고, 상기 리간드와 아연 이온이 가역적으로 자가 조립 또는 자가 분해되고, 상기 자가조립 복합체는 하이드로겔 형태로 구비되고, 상기 리간드의 종류 또는 상기 리간드가 복수개인 경우 상기 리간드의 배합비에 따라서 상기 자가조립 복합체의 팽창비가 제어되는, 아연 이온을 포함하는 자가조립 복합체를 포함할 수 있다.

[0045] 상기 리간드는 상기 아연 이온과 배위 결합(coordination bond)하여 자가조립될 수 있는 물질일 수 있다. 상기 리간드는 상기 아연 이온과 결합하여 금속 착화합물을 형성할 수 있다.

[0046] 상기 리간드는, 포스페이트 및 포스포네이트 중 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다. 상기 포스페이트(phosphate) 또는 포스포네이트(phosphonate)는 상기 아연 이온과 배위 결합할 수 있는 부분일 수 있다.

[0047] 예를 들어, 상기 리간드는 AMP(아데노신 일인산, Adenosine monophosphate), ADP(아데노신 이인산, Adenosine diphosphate), ATP(아데노신 삼인산, Adenosine triphosphate), TMP(티미딘 일인산, Thymidine monophosphate), TDP(티미딘 이인산, Thymidine diphosphate), TTP(티미딘 삼인산, Thymidine triphosphate), CMP(사이티딘 일인산, Cytidine monophosphate), CDP(사이티딘 이인산, Cytidine diphosphate), CTP(사이티딘 삼인산, Cytidine triphosphate), GMP(구아노신 일인산, Guanosine monophosphate), GDP(구아노신 이인산, Guanosine diphosphate), GTP(구아노신 삼인산, Guanosine triphosphate), UMP(유리딘 일인산, Uridine monophosphate), UDP(유리딘 이인산, Uridine diphosphate), UTP(유리딘 삼인산, Uridine triphosphate), DNA, RNA, AEP(2-아미노에틸포스폰산, 2-aminoethylphosphonic acid), TNA(트레오즈핵산, Threose nucleic acid), GNA(글리콜핵산, glycol nucleic acid), HNA(1,5-안하이드로헥시톨 핵산, 1,5-anhydrohexitol nucleic acid), ANA(1,5-안하이드로아트라이톨 핵산, 1,5-anhydroatritol nucleic acid), FANA(2'-데옥시-2'-플루오로아라비노

핵산, 2'-deoxy-2'-fluoroarabino nucleic acid) 및 CeNA(사이클로헥시닐 핵산, cyclohexenyl nucleic acid) 중 적어도 어느 하나인 것일 수 있다.

[0048] 상기 아연 이온은 예를 들어 상기 리간드의 인산기 부위 등 전자가 풍부한 부위와 배위 결합하여 금속 착화합물을 형성할 수 있다.

[0050] 예를 들어, 상기 리간드는 AMP; 및 ADP 또는 ATP 중 적어도 어느 하나;를 포함하고, 상기 ADP 또는 ATP 중 적어도 어느 하나의 배합비가 증가할수록 자가 조립이 증가하여 하기의 식 1에 의해 정해지는 팽윤비가 증가하는 것을 포함하는 것일 수 있다.

[0051] [식 1]

[0052]
$$\text{팽윤비} = \frac{\text{흡수한 용액의 무게}}{\text{건조된 자가조립 복합체의 무게}}$$

[0053] 예를 들어 상기 AMP와 ATP가 100:0의 배합비로 존재하는 경우의 팽윤비는 약 2.5정도일 수 있으나, 상기 AMP와 ATP가 75:25로 존재하는 경우의 팽윤비는 약 4정도일 수 있다.

[0054] 상기 자가조립 복합체는 리간드로서 AMP의 구성을 필요로 하나, ATP 또는 ADP가 포함되는 경우 이들이 더 많은 인산기를 가지고 있어 하이드로겔이 더 크게 형성될 수 있다. 상기 하이드로겔이 더 크게 형성될 수 있다는 것은 하이드로겔의 질량 대비 더 많은 양의 액체를 흡수할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.

[0056] 상기 자가조립 복합체는, 이웃한 상기 리간드 사이의 π-π 상호작용, 및 수소결합 중 적어도 어느 하나; 또는 칼슘 이온과 상기 리간드 사이의 배위 결합;에 의하여 자가조립 복합체를 형성하는 것일 수 있다.

[0057] 상기 자가조립 복합체는 이들 상호작용 또는 결합들에 의하여 각각의 아연 이온 및 리간드가 조밀하게 밀착될 수 있다. 따라서 상기 자가조립 복합체는 상기 아연 이온 및 리간드가 조밀하게 뭉쳐져 형성되는 것일 수 있다.

[0058] 상기 자가조립 복합체는 상기 리간드의 종류 또는 배합 비율에 따라 더 조밀하게 형성되거나 느슨하게 형성될 수 있다.

[0059] 예를 들어, 상기 리간드에서 ATP의 배합비가 증가할수록 상기 자가조립 복합체에서 음전하가 커지게 되고 상기 자가조립 복합체가 더 조밀하게 형성될 수 있고, 더 뭉쳐질 수 있다.

[0061] 상기 자가조립 복합체는 자가치유 특성을 가지는 것일 수 있다. 따라서 상기 자가조립 복합체의 일부가 훼손된 경우에도 자발적으로 회복될 수 있다. 또한 2 이상의 자가조립 복합체가 인접하여 있는 경우 이들 사이에 물질 교환 등이 일어날 수 있다.

[0062] 예를 들어, 상기 자가조립 복합체는 제1 유효성분 및 제2 유효성분 중 적어도 어느 하나를 포함하고, 상기 자가조립 복합체는 상기 제1 유효성분을 포함하는 제1 복합체와, 상기 제2 유효성분을 포함하는 제2 복합체를 포함하고, 상기 제1 복합체와 상기 제2 복합체를 서로 접촉시키는 경우, 상기 제1 복합체의 제1 유효성분은 상기 제2 복합체로 전달되고, 상기 제2 복합체의 제2 유효성분은 상기 제1 복합체로 전달되는 것일 수 있다.

[0064] 상기 자가조립 복합체는, 상기 아연 이온 및 리간드는 5:1 내지 1:1의 몰농도로 포함되는 것일 수 있다.

[0066] 상기 자가조립 복합체는 자발적으로 자가 조립되고 자가 분해될 수 있다. 다면 완충용액 또는 킬레이트화제를 포함하는 조건에서 자가 분해가 촉진되는 것일 수 있다. 상기 완충용액은 생체 내의 환경과 유사한 환경을 조성하는 것일 수 있다. 상기 완충용액은 상기 자가조립 복합체의 구성 성분과 이온을 교환함으로써 상기 자가조립 복합체의 분해를 촉진할 수 있다.

[0067] 또한 상기 킬레이트화제는 리간드에 비하여 구리 이온과 더 강한 결합력을 가질 수 있고, 상기 리간드와 결합되어 있는 구리 이온과 결합하여 상기 자가조립 복합체의 자가 분해를 촉진할 수 있다.

[0068] 상기 완충용액 또는 킬레이트화제가 있는 경우, 상기 자가조립 복합체는 3일 내지 40일 동안 자가분해될 수 있다.

[0070] 상기 자가조립 복합체는 유효성분을 더 포함하고, 상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체에 담지되는 것일 수 있다. 상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체가 자가조립될 때에 함께 조립되어 상기 자가조립 복합체 내에 담지될 수 있다.

[0071] 상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체가 자가분해될 때 배출될 수 있다. 따라서 상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체가 자가분해되는 시간을 조절함으로써 방출되는 시간 및 속도를 조절할 수 있다. 상기 자가조립 복합체는 리간드의 배합비에 따라 자가분해 속도가 다를 수 있고, 상기 자가조립 복합체는 표면에서부터 일정 속도로 순차적으로 자가 분해될 수 있다. 따라서 상기 유효성분은 상기 자가조립 복합체가 자가분해되는 시간동안 일정하게 지속적으로 방출될 수 있다. 즉 상기 유효성분은 방출시간 동안 일정하게 지속적으로 방출되는 것일 수 있다.

[0072] 상기 유효성분은, 예를 들어 아데노신, 구아노신, 유리딘, 사이티딘, 독소루비신, 약물 및 염료 중 적어도 어느 하나일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0073] 또한 상기 자가조립 복합체가 자가 분해되는 경우, 상기 유효성분 외에도 상기 칼슘 이온 및 리간드 중 적어도 어느 하나가 방출시간 동안 방출될 수 있다. 고, 상기 방출시간은 상기 리간드의 배합비에 의하여 조절되는 것일 수 있다. 따라서 상기 자가조립 복합체는 생체 내에 상기 칼슘 이온 또는 리간드를 전달하기 위하여 사용될 수 있다.

[0074] 예를 들어 상기 방출시간은 3일 내지 40일 수 있다.

[0076] 상기 자가조립 복합체가 자가 분해되어 상기 아연 이온 및 리간들 중 적어도 어느 하나가 방출시간 동안 방출되고, 상기 방출시간은 상기 리간드의 배합비에 의하여 조절되는 것일 수 있다.

[0078] 또한 상기 자가조립 복합체는 세포를 담지하고 배양할 수 있다. 따라서 상기 자라조립 복합체 자체에 세포를 배양한 후, 그 자체를 생체 내에 주입하여 세포를 전달할 수 있다. 또한 상기 자가조립 복합체 자체에 세포 배양 능력 및 세포 친화력이 있기 때문에 상기 세포의 생존 가능성이 증가하고, 원하는 부위에 더 안전하게 전달하 수 있다.

[0079] 상기 자가조립 복합체는, 생체 내 물질 전달 캐리어 또는 세포 배양 배지로 사용되는 것일 수 있다.

[0081] 이하 본 발명의 실시예 및 비교예를 기재한다. 그러나, 하기 실시예들은 본 발명의 바람직한 일 실시예일뿐 본 발명의 권리 범위가 하기 실시예들에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[0083] **[제조예]**

[0084] **1. 자가조립 복합체 제조**

[0085] 초순수에 아연 클로라이드(Zinc chloride), AMP(Adenosine monophosphate), ATP(Adenosine triphosphate)를 각각 녹여서 최종 농도가 1M이 되도록 준비한다. 스톡 솔루션(stock solution)을 코니칼 튜브(conical tube)에 넣고, 초순수의 양을 계산하여 넣어준다. 여기에 아데노신 인산염 수용액, 아연 이온 수용액 순서로 넣고, 볼텍싱(vortexing)하여 잘 혼합하고 24시간 동안 반응시킨다.

[0087] **2. 자가조립 복합체에 유효성분 담지**

[0088] 상기 자가조립 복합체에 아데노신과 같은 약물을 함유하여 합성하는 경우, 아연 이온을 넣기 전에 아데노신을 넣고 나머지 과정을 진행한다. 이 후 1과 동일한 과정으로 실험을 진행하고, 24시간동안의 반응이 종료되면 반응하지 않은 물질을 제거하고 자가조립체를 수득하기 위해 원심분리기를 통해 10,000 RPM으로 10분동안 원심분리하여 자가조립체를 가라앉히고 상층액을 제거한다. 초순수를 원래 부피와 동일하게 넣고 다시 원심분리한다. 이 과정을 두번 반복한다.

[0090] **3. 실험에 사용된 물질**

[0091] Zinc chloride (CAS: 7464-85-7, Sigma-Aldrich)

[0092] Adenosine-5'-monophosphate disodium salt (CAS: 4578-31-8, Alfa Aesar)

[0093] Adenosine 5’-triphosphate disodium salt (51963-61-2, 대정시약)

[0094] Adenosine (CAS: 58-61-7, Sigma-Aldrich)

[0095] Rhodamine 6G (CAS: 989-38-8, Sigma-Aldrich)

[0096] Methyl blue (28983-65-4, KANTO)

[0097] Calcein AM (C3099, Invitrogen)

[0098] PBS solution (1X pH 7.4, ML 008-01, WELGENE)

[0099] Zinc Assay Kit (MAK032, Sigma-Aldrich)

[0101] **[실시예]**

[0102] **1. 실시예 1**

[0103] 아연 이온과 AMP의 농도를 변화시키면서 자가조립 복합체가 제조하였다.

표 1

[0104]

	Zn^{2+} 농도	AMP 농도
실시예 1-1	5mM	5mM
실시예 1-2	20mM	20mM
실시예 1-3	50mM	50mM

[0105] **2. 실시예 2**

[0106] 아연 이온을 20mM로 고정하고 AMP와 ATP의 농도를 변화시키면서 혼합 용액을 제조하였다. 이 후 상온에서 24시간 동안 반응시켜 자가조립 복합체를 제조하였다. HPLC를 통하여 용출된 AMP 및 아데노신의 용출량을 확인하고, 아연의 용출량은 zinc assay kit을 이용하여 확인하였다.

표 2

[0107]

	AMP 농도	ATP 농도
실시예 2-1	20mM	0mM
실시예 2-2	15mM	5mM

[0108] **3. 실시예 3**

[0109] 아연 이온과 AMP 20mM을 포함하는 자가조립 복합체를 제조하고, 여기에 색깔 구분을 위하여 로다민(Rhodamine, 0.02g/L, 붉은 색) 또는 메틸 블루(Methyl blue, 0.02g/L, 푸른 색) 염료를 넣었다.

[0111] **[실험예]**

[0112] **1. 구조 분석**

[0113] 도 3은 아연 이온과 AMP의 농도를 변화시키면서 자가조립 복합체를 제조한 후 형태를 관찰한 이미지이다.

[0114] 도 3은 약물 등의 유효 성분을 포함하지 않은 하이드로겔 상태이고, 자가조립 복합체를 약숟가락으로 떠서 petri dish 위에 올리고 관찰하였다.

[0115] 아연 이온과 AMP의 농도 비율은 모두 동일하지만 농도가 커지면서 하이드로겔의 크기가 커지는 것을 육안으로 확인할 수 있다. 이는 이들의 농도를 증가시켜 더 많은 양의 하이드로겔을 형성할 수 있는 것을 의미한다.

[0116] 또한 농도가 증가할수록 하이드로겔은 더 단단하게 형성되었다.

[0118] **2. 하이드로겔의 거동**

[0119] 도 4는 자가조립 복합체를 제조한 후 팽윤-수축되는 것을 관찰한 결과이다.

[0120] 자가조리비 복합체를 제조하여 최종 아연 이온의 농도가 20 mM이 되도록 5 ml의 PBS 용액에 넣었다. 여기에 아데노신 일인산 20 mM, 아데노신 일인산 15 mM 및 아데노신 삼인산 5 mM을 각각 첨가하여 실험군을 만들고 24시간 뒤에 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 이 후 건조된 상태와 물을 흡수한 상태의 자가조립 복합체의 무게를 재서 자가조립 복합체의 팽윤 거동을 확인하였다. 건조 상태의 자가조립 복합체는 자가조립 복합체를 일주일 동안 35도에서 건조시킨 뒤 무게를 측정하였다.

[0122] 도 5는 제조된 하이드로겔이 EDTA 조건에서 자가 분해되는 것을 관찰한 결과이다. 로다민 또는 메틸 블루를 함유한 자가조립 복합체가 EDTA 조건에서 빠르게 자가 분해되는 것을 확인할 수 있다.

[0124] **3. 자가치유 특성**

[0125] 도 6은 자가조립 복합체의 자가치유 특성을 확인한 실험 결과이다.

[0126] 아연 이온과 AMP 20 mM로 자가조립 복합체를 합성하고, 합성시에 로다민 0.02g/L, 메틸블루 0.02g/L를 넣어 색깔을 구분하였다. 24시간 동안 반응시켜 자가조립 복합체를 형성하고 원심분리를 이용하여 하이드로겔을 수득하였다.

[0127] 색깔이 다른 하이드로겔을 겹쳐서 쌓아올리고, 4시간, 12시간 뒤에 확인하여 자가치유된 하이드로겔을 확인한다.

[0128] 처음에는 각각 있었던 두 하이드로겔이 자가치유 특성에 의하여 하나의 덩어리가 되는 것을 확인할 수 있다. 또한 각각의 하이드로겔에 있던 염료들(붉은 색 또는 푸른 색)이 섞여 그 중간 색깔인 보라색을 띄는 것을 확인할 수 있었다. 다라서 하이드로겔 자체가 자가치유가 될 뿐 아니라 내부의 물질 교환도 이루어지는 것을 확인할 수 있었다.

[0130] **4. 약물전달 실험**

[0131] 도 7 내지 9는 자가조립 복합체의 약물 전달 특성을 실험한 결과이다. 리간드를 다르게 하여 제조된 자가조립 복합체를 PBS 용액에서 자가분해 시켰다.

[0132] AMP 및 아연 이온은 자가분해의 초기에는 급격하게 방출되었으나, 어느 정도 이후에 일정 속도로 방출되는 것을 확인할 수 있다. 반면 아데노신은 처음부터 일정 속도를 가지고 꾸준히 방출되는 것을 확인할 수 있다.

[0133] 다만 세 물질 모두 약 30일 이후까지 일정한 속도로 지속적으로 방출되었다. 따라서 상기 하이드로겔이 일정한 농도로 지속적으로 약물 등을 전달할 수 있는 성능을 가진 것을 확인할 수 있다.

[0134] 또한 AMP와 ATP의 배합 비율에 따라 방출되는 양이 다르게 나타났다. 따라서 리간드의 배합 비율을 조절하여 약물 등이 전달되는 속도나 기간 등을 조절할 수 있다.

[0136] **5. 세포 배양 실험**

[0137] 도 10은 자가조립 복합체에 세포를 배양하는 실험을 한 결과이다.

[0138] 아연 이온과 AMP가 5mM로 각각 설정하여 자가조립 하이드로겔을 합성하여 수득하였다. 약수저를 이용하여 48 well plate에 일정량을 넣고, $4X10^4$ 세포/cm^2이 되도록 대식세포(Raw 264.7)를 배양하였다. 24시간 이후에 세포를 염색하여 현미경으로 확인하였다. 세포의 배양가능성을 확인하기 위하여 세포 viability를 확인하는 염색약인 calcein AM을 세포 배양 접시에 도포하여 현미경을 통하여 관찰하였다.

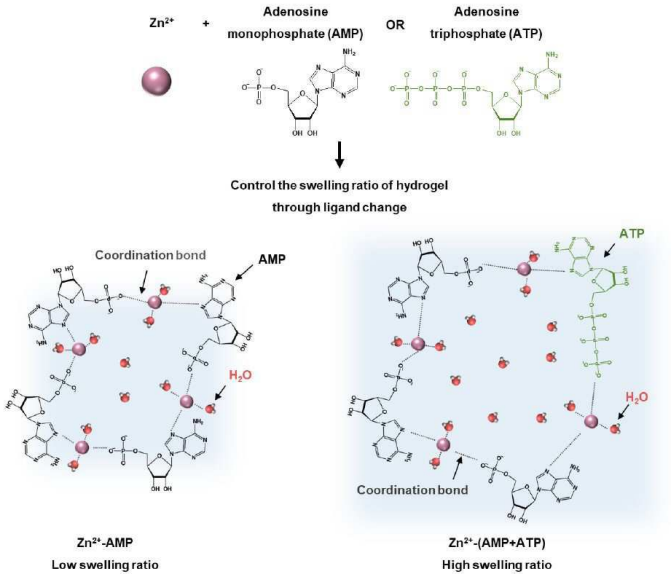
[0139] 도면에 나타난 바와 같이 초록색의 형광이 관찰되었고, 대식세포가 성공적으로 배양된 것을 확인할 수 있었다.

[0140] 이와 같은 특성을 이용해 상기 자가조립 복합체는 세포 배양 배지로 이용할 수 있고, 배양된 세포를 자가조립 복합체에 담지하여 생체 내로 전달하는 경우 세포를 안정적으로 전달할 수 있다. 이를 통해 자가조립 하이드로겔의 생체 친화성을 확인하였다.

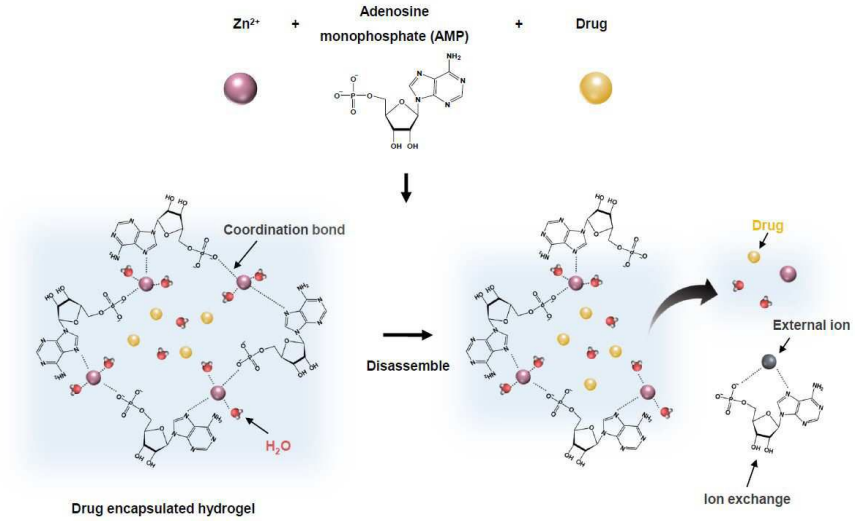
[0142] 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구의 범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구의 범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

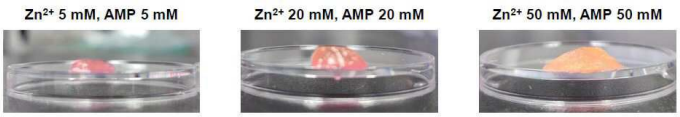
도면1



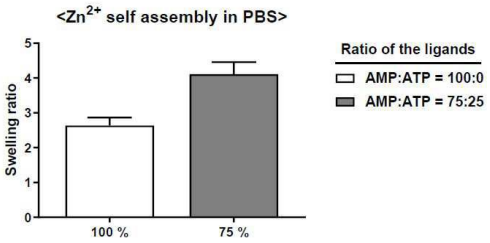
도면2



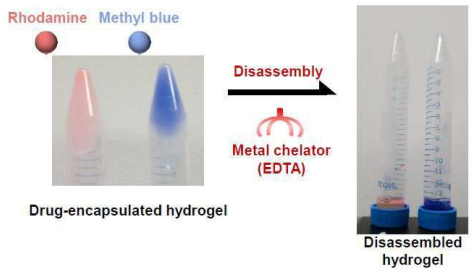
도면3



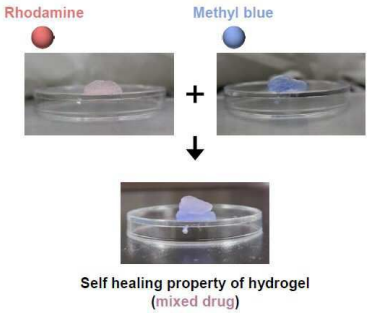
도면4



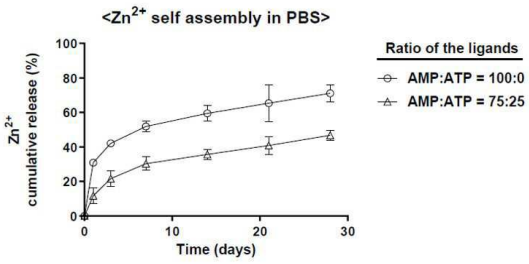
도면5



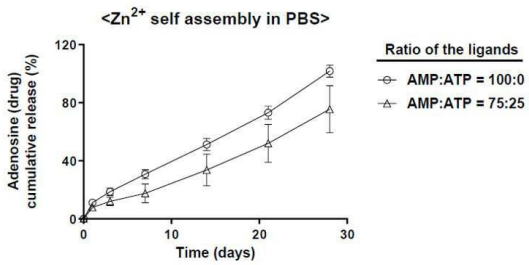
도면6



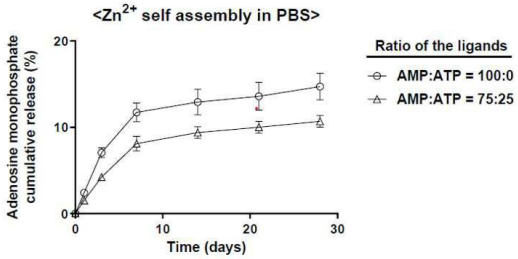
도면7



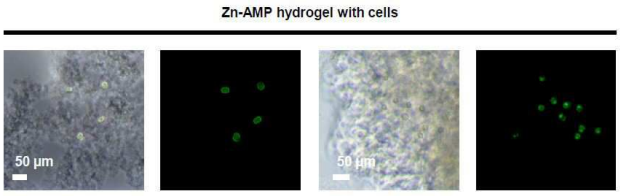
도면8



도면9


<Zn2+ self assembly in PBS>
Adenosine monophosphate cumulative release (%)
20
10
0
0
10
20
30
Time (days)
Ratio of the ligands
AMP:ATP = 100:0
AMP:ATP = 75:25

도면10


Zn-AMP hydrogel with cells
50 μm
50 μm