(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0024715
(43) 공개일자 2014년03월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08G 63/06 (2006.01) *C08J 3/12* (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01) *A61K 47/30* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0091150
(22) 출원일자 2012년08월21일
심사청구일자 2012년08월21일
기술이전 희망 : **기술양도**, **실시권허여**, **기술지도**

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
윤성철
경상남도 진주시 진주대로879번길 19, A동 305호 (주약동, 현대성우트리팰리스)
최문환
경상남도 진주시 석갑로142번길 18-2 (신안동)
모흐신사
경상남도 진주시 가좌길29번길 63 경상대학교 (가좌동)
(74) 대리인
위병갑

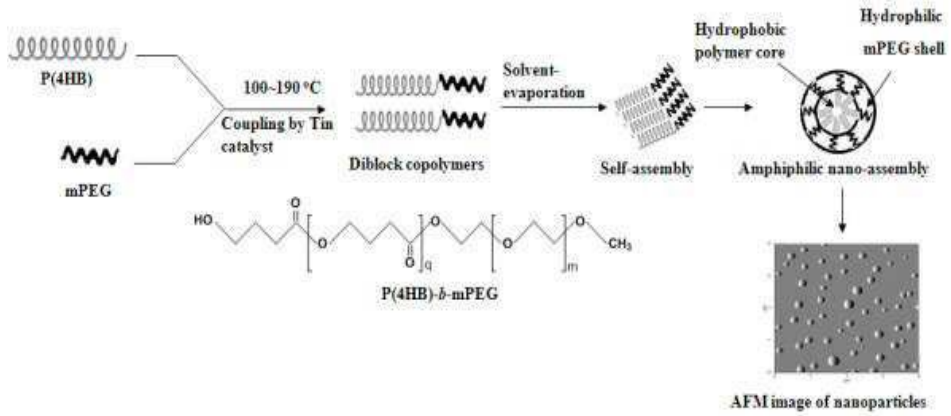
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **폴리(4-하이드록시부티레이트)-b-모노메톡시(폴리에틸렌글리콜) 공중합체 나노입자, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 뇌질환 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 폴리(4-하이드록시부티레이트)-b-모노메톡시(폴리에틸렌글리콜) 공중합체 나노입자, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 뇌질환 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자는 뇌세포에서 서서히 분해되어 감마-하이드록실부티르산(GHB)를 방출하므로 간질 등의 뇌질환 치료제로 사용되는 GHB를 치료수준 농도로 지속적으로 방출할 수 있고, 상기 나노입자는 소수성 고분자 형태이므로 물이나 알콜에 녹지 않는 소수성의 성질에 의해 환각제나 마약제로 쉽게 사용될 수 없으므로, 기존의 GHB보다 안전하게 사용될 수 있기 때문에, 종래 GHB 치료제를 대체하여 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012-0004789

부처명 교육과학기술부

연구사업명 원천기술개발사업(기획과제)

연구과제명 나노/뇌질환소재 BNIT 융합기술을 이용한 스마트 플랫폼 표적약물 전달 및 뇌기능항진 조절물질·기법 기술개발 기획 연구

기 여 율 1/2

주관기관 경상대학교

연구기간 2012.03.01 ~ 2012.07.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012-0009522

부처명 미래창조과학부

연구사업명 원천기술개발사업 (미래유망 융합기술 파이오니아사업)

연구과제명 생분해성 고분자를 기반으로 한 뇌로의 고효율 약물전달 나노담체 개발

기 여 율 1/2

주관기관 경상대학교

연구기간 2012.09.01 ~ 2018.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

나노입자 표면에 폴리에틸렌글리콜, 나노입자 코어에 폴리하이드록시알칸산(PHA)을 구성하는 폴리(4-하이드록시부티레이트)-b-모노메톡시(폴리에틸렌글리콜) 공중합체 나노입자.

청구항 2

폴리(4-하이드록시부티레이트)를 제조하는 단계(단계 1);

상기 P(4HB) 말단에 모노메톡시(폴리에틸렌글리콜)을 커플링시키는 단계(단계 2); 및

자기조립방법을 이용하여 나노입자를 제조하는 단계(단계 3)

를 포함하는 제1항의 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

단계 1의 폴리(4-하이드록시부티레이트)는 유기합성 또는 세균에 의해 제조하는 것을 특징으로 하는 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 제조방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

단계 2는 틴-알칸오에이트(tin-alkanoate) 촉매를 이용하여 100 ~ 190℃의 온도, 20 ~ 50분의 반응시간 및 질소 분위기 하에서 용매를 사용하지 않는 용융 에스터화 반응으로 수행되는 것을 특징으로 하는 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 제조방법.

청구항 5

제2항에 있어서,

단계 3은 물 분산 및 용매 증발법으로 수행되는 것을 특징으로 하는 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 제조방법.

청구항 6

제1항의 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자를 유효성분으로 함유하는 뇌질환 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 질환은 간질인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 폴리(4-하이드록시부티레이트)-b-모노메톡시(폴리에틸렌글리콜) 공중합체 나노입자, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 뇌질환 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 뇌의 억제성 신경전달물질인 감마-아미노부티르산(gamma-aminobutyric acid; GABA)에 의한 시냅스 저해의 향상은 신경세포의 자극을 감소시킬 수 있으며 GABA를 분해하는 GABA 아미노기 전이효소를 저해하는 항경련성 치료제가 가까운 장래에 선진국에서 사용될 것으로 예상하고 있다. 특히 GABA성 신경전달계 약물로 감마-하이드록시부티르산(GHB)이 많이 연구되고 있다. GHB는 뇌에서 γ-아미노부티르산의 대사물로 생성되는 물질로서, 신경전달물질과 신경조절자로서 작용하기 때문에, 상기 GHB는 임상적으로 탄력발작 및 기면발작의 치료제, 진정제, 알콜중독 치료제 등으로 이용되어 왔다. 특히 쥐에서 GHB에 의한 간질 발작의 완전한 차단은 사람에게 이용될 수 있는 간질치료제로서의 가장 좋은 약리학적인 모델로서 밝혀졌다.

[0003] 흔히 GHB로 약칭되는 감마-하이드록시 부티르산(4-하이드록시부탄산, C4H8O3)은 내인성 물질이고 중추 신경계, 포도나무, 소(beef), 작은 감귤류 과일 및 거의 모든 기타 생물에서 소량 발견되는 천연 물질이다. 이는 현재 미국에서 규제되며 크시렘(Xyrem)이라는 명칭하에 재즈 파마슈티컬즈(Jazz Pharmaceuticals)에 의해 판매된다.

[0004] 그러나, 감마-하이드록시 부티레이트(GHB)는 또한 미국 및 기타 국가에서 약물 관련 혼수상태의 주요 원인이 되는 불법 화학약품이다. 사실상, 미국에서 GHB 과다투여 횟수는 현재 MDMA(엑스타시)로부터의 과다투여를 앞지른다.

[0005] 비의학적으로, 중추신경계(CNS) 진정제로도 작용하는 GHB는 남용 약물로서 사용된다. 이는 액체 엑스타시 및 액체 X를 포함하는 다수의 속칭을 갖는다. 비교적 낮은 투여량에서, GHB는 희열 상태, 운동 및 음악 향유 증대, 성욕 증대 및 사교성 증대를 일으킬 수 있다. 비교적 높은 투여량에서, GHB는 구역질, 현기증, 졸림, 불안, 시각 장애, 호흡 저하, 기억상실증, 무의식 및 사망을 유도할 수 있다. GHB의 효과는 다량의 투여량이 소모되거나 알콜과 혼합되는 경우 1.5 내지 3시간, 또는 이보다 장시간 지속될 수 있다.

[0006] 일부 화학약품은 위에서와 혈류 순환시 GHB로 전환된다. GBL 또는 감마-부티로락톤은 이러한 프로드러그의 하나이다. 기타 프로드러그는 1,4-부탄디올(1,4-B)을 포함한다. 이들 전구체들에 관한 추가의 독성이 있을 수 있다.

[0007] GHB는 가능한 마취제로서 40년도 더 전에 프랑스에서 처음 합성되었지만, 이의 바람직하지 못한 부작용 때문에 미국 의료 단체에 의해 거부되었다. 국가들이 상기 문제를 인식하기 시작함에 따라 어느 곳에서나 이의 합법적 사용은 감소되고 있다. GHB는 기민증/탈력 발작으로서 공지된 수면 장애의 복합병을 치료하기 위해 연구된 희귀의약품으로서 1987년에 표면화되었다. 거의 동시에, 스테로이드 사용자는 GHB가 (깊은 수면 상태에서) 성장 호르몬의 체내 생성을 증진시킬 수 있다고 들었다. 그러나, 과다투여 횟수의 증가로 인해, 1990년 11월에 시판이 중지되었다. GHB 자체에 대한 규제가 증가된 결과로서, 체내에서 GHB로 전환될 수 있는 이의 '동족체' 또는 화학적 관련물이 점점 더 유행하게 되었다.

[0008] 상기 GHB를 대체하기 위한 종래 기술로는 국제출원 WO 2010/042759에서 카르복실산 기 이외의 아미노 말단 또는 산성 말단을 통해 제2 잔기에 공유 결합으로 연결된 제1 잔기, 및 제2잔기를 포함하고, 여기서 제1 잔기는 γ-아미노부티르산 (GABA), 또는 GABA의 유사체 또는 유도체인 화합물이 개시되어 있으며, 대한민국 특허등록 제957772호에서는 숙신산 고생성능을 가지는 미생물에 숙신산(succinate)을 4HB(4-hydroxybutyrate)로 전환하는 효소의 유전자가 도입되어 있고, 숙신산 세미알데히드(succinate semialdehyde)를 숙신산으로 전환하는데 관여하는 유전자가 결실되어 있는 4HB 고생성능 변이체 및 이를 이용한 4HB의 제조방법이 개시되어 있다.

[0009] 그러나, 여전히 GHB를 대체할 수 있는, 알콜에 녹지 않아 안전한 투여가 가능하며, GHB와 유사한 치료 효과를 나타내는 치료제의 개발이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 GHB를 대체할 수 있는, 알콜에 녹지 않아 안전한 투여가 가능하며, GHB와 유사한 치료 효과를 나타내는 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 나노입자 표면에 폴리에틸렌글리콜, 나노입자 코어에 폴리하이드록시알칸산(PHA)을 구성하는 폴리(4-하이드록시부티레이트)-b-모노메톡시(폴리에틸렌글리콜) 공중합체(이하, P(4HB)-

b-mPEG) 나노입자를 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은

[0013] 폴리(4-하이드록시부티레이트)(이하, P(4HB))를 제조하는 단계(단계 1);

[0014] 상기 P(4HB) 말단에 모노메톡시(폴리에틸렌글리콜)(이하, mPEG)을 커플링시키는 단계(단계 2); 및

[0015] 자기조립방법을 이용하여 나노입자를 제조하는 단계(단계 3)

[0016] 를 포함하는 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 제조방법을 제공한다.

[0017] 나아가, 본 발명은 상기 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자를 유효성분으로 함유하는 뇌질환 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0018] 본 발명에 따른 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자는 뇌세포에서 서서히 분해되어 감마-하이드록실부티르산(GHB)를 방출하므로 간질 등의 뇌질환 치료제로 사용되는 GHB를 치료수준 농도로 지속적으로 방출할 수 있고, 상기 나노입자는 소수성 고분자 형태이므로 물이나 알콜에 녹지 않는 소수성의 성질에 의해 환각제나 마약제로 쉽게 사용될 수 없으므로, 기존의 GHB보다 안전하게 사용될 수 있기 때문에, 종래 GHB 치료제를 대체하여 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 GHB와 본 발명에 따른 P(4HB)의 해중합효소에 의해 분해된 모노머 단위체의 유사성을 나타낸 도면이다.

도 2는 본 발명에 따른 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 구조 및 자기조립과정을 나타내는 개략도이다.

도 3은 본 발명에 따른 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 모폴로지를 나타내는 도면이다((a) AFM 이미지, (b) FE-SEM 마이크로그래프).

도 4는 본 발명에 따른 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 간질 치료 효과를 보여주는 그래프로서, 즉 뇌로의 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자가 혈뇌장벽(BBB)을 통과하여, GHB 관련 단백질의 발현에 영향을 나타냄으로써 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자가 뇌에서 서서히 분해되어 GHB효과를 나타내는 것을 보인 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0021] 본 발명은 나노입자 표면에 폴리에틸렌글리콜, 나노입자 코어에 폴리하이드록시알칸산(PHA)을 구성하는 폴리(4-하이드록시부티레이트)-b-모노메톡시(폴리에틸렌글리콜) 공중합체(이하, P(4HB)-*b*-mPEG) 나노입자를 제공한다.

[0022] 구체적으로, 본 발명에 따른 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자는 도 2에 나타낸 바와 같이, 나노입자 코어가 폴리(4-하이드록시부티레이트)와 같은 폴리하이드록시알칸산으로 이루어지고, 상기 나노입자 표면에 폴리에틸렌글리콜이 결합되어 있는 구조로 이루어진다. 본 발명에 따른 나노입자는 상기 나노입자 표면의 폴리에틸렌글리콜의 고분자 형태로 인하여 물이나 알콜에 녹지 않는 소수성의 성질에 의해 환각제나 마약제로 쉽게 사용될 수 없으며, 상기 나노입자 코어의 폴리(4-하이드록시부티레이트)는 해중합효소 또는 부분가수분해에 의해 도 1에 나타낸 바와 같이, 감마-하이드록실부티르산(GHB)으로 분해되어 방출되므로, 지속적으로 간질 등의 뇌질환을 치료할 수 있다.

[0023] 또한, 본 발명은

[0024] 폴리(4-하이드록시부티레이트)(이하, P(4HB))를 제조하는 단계(단계 1);

[0025] 상기 P(4HB) 말단에 모노메톡시(폴리에틸렌글리콜)(이하, mPEG)을 커플링시키는 단계(단계 2); 및

[0026] 자기조립방법을 이용하여 나노입자를 제조하는 단계(단계 3)

[0027] 를 포함하는 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 제조방법을 제공한다.

[0028] 먼저, 단계 1은 P(4HB)를 제조하는 단계이다.

[0029] 상기 P(4HB)는 당업계에서 공지된 방법을 사용할 수 있으며, 예를 들면 유기합성 방법을 사용하거나 특정 세균을 이용하여 P(4HB)를 제조할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0030] 유기합성을 사용하는 경우에는, 비스(2-에틸헥사노에이트) 주석 촉매의 존재 하에서 에스테르교환반응에 의해 제조할 수 있으며, 세균을 이용하는 경우에 상기 세균으로는 *Hydrogenophaga pseudoflava,* 재조합 *Escherichia coli* K12, 등을 사용할 수 있다. 상기 세균에 축적된 P(4HB)는 클로로포름을 이용하여 건조세포로부터 추출, 메탄올 재침전 분리하여 다음 단계에 사용할 수 있다.

[0031] 다음으로, 단계 2는 상기 P(4HB) 말단에 mPEG를 커플링시키는 단계이다.

[0032] 상기 mPEG를 커플링시키는 방법은 당업계에서 공지된 방법을 사용할 수 있으며, 예를 들면 tin-alkanoate 촉매를 이용한 에스터화 반응 방법을 사용할 수 있는데, 보다 구체적으로 100 ~ 190℃의 반응온도, 20 ~ 50분 간의 반응시간으로 질소분위기에서 용매를 사용하지 않는 용융 에스터화 반응법을 사용할 수 있다.

[0033] 다음으로, 단계 3는 자기조립방법을 이용하여 나노입자를 제조하는 단계이다.

[0034] 상기 자기조립방법은 예를 들면, 커플링 된 P(4HB)-*b*-mPEG 블록폴리머를 클로로포름에 녹인 후, 물에 분산시키는 과정(즉, 실온에서 천천히 분산시킨 후 overnight hood 에서 정치 용매를 제거 후 동결건조 시킴)을 통해 수행될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0035] 상기 방법에 의해 직경 20 ~ 100 nm 범위의 나노입자가 제조됨을 알 수 있다(도 3 참조).

[0036] 나아가, 본 발명은 상기 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자를 유효성분으로 함유하는 뇌질환 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0037] 상기 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자는 간질 관련 뇌질환 시험에서 50 mg/kg 이하로 나타남으로써 간질 효과를 나타내었다(도 4참조). 또한 쥐(~200 g ea)를 이용하여 쥐의 복강내에 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자 분산액 (인산버퍼를 케리어로 사용) 1/2 ml을 하루에 한번 14일간 투여하였고, 2주 후에 GHB 관련 단백질의 발현을 cortex 및 hippocampus 시편을 이용하여 관찰하였는데, 그 결과 간질 등 뇌질환 증상을 개선 및 치료할 수 있는 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0038] 따라서, 본 발명에 따른 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 간질 등의 뇌질환을 치료하는데 유용하게 사용될 수 있다.

[0039] 본 발명의 나노입자는 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있으며, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.

[0040] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0041] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈

(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명의 나노입자의 인체에 대한 효과적인 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로 약 0.001-100 mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.01-50 mg/kg/일이다. 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.07-7000 mg/일이며, 바람직하게는 0.7-2500 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0043] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0044] **<실시예>**

[0045] **P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자의 제조**

[0046] P(4HB)-*b*-mPEG는 문헌에 따라 비스(2-에틸헥사노에이트) 주석 촉매의 존재 하에서 에스테르교환반응에 의해 제조되었다[F. Ravenelle, and R.H. Marchessault (2002) Biomacromolecules 3:1057-1064]. 생성물의 구조는 GPC, ^{1}H-NMR 및 DSC 분석을 이용하여 결정하였다. 디블록 공중합체로부터 데옥시콜레이트 나트륨 유화제를 이용하여 나노입자를 제조하였다. 상기 나노입자의 모폴로지를 AFM 및 FE-SEM에 의해 결정하였다. 상기 나노입자의 표면 전하 및 평균 직경을 알아보기 위해 DLS 및 ELS를 사용하였다.

[0047] 제조된 나노입자의 표면 모폴로지를 측정하여 도 3에 나타내었다.

[0048] 도 3에 나타낸 바와 같이, 상기 제조된 입자는 직경 100 nm 이하의 나노입자가 제조됨을 확인하였다.

[0049] **<실험예>**

[0050] **간질 치료 효과**

[0051] 본 발명에 따른 나노입자의 간질 치료 효과를 알아보기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[0052] 쥐 (~200 g ea)를 이용하여 쥐의 복강내에 P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자 분산액 (인산버퍼를 케리어로 사용) 1/2 ml (0, 25 and 50 μg/ml의 세 가지 농도 실험), 을 하루에 한번 14일간 투여하였다. 2주후에 GHB 투여시 반응을 나타내는 관련 단백질의 발현을 cortex 및 hippocampus 시편을 이용하여 웨스턴 블럿팅을 통해 관찰하였다.

[0053] 그 결과, 본 발명에 따른 나노 입자는 간질의 증상을 개선 및 치료할 수 있는 효과가 있는 것을 알 수 있었다.

[0054] 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

[0055] **<제제예>**

[0056] **약학적 제제의 제조**

[0057] <1-1> 산제의 제조

[0058] P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자 2 g

[0059] 유당 1 g

[0060] 상기의 성분을 혼합한 후, 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

[0061] <1-2> 정제의 제조

[0062] P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자 100 mg

[0063] 옥수수전분 100 mg

[0064] 유 당 100 mg

[0065] 스테아린산 마그네슘 2 ㎎

[0066] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0067] <1-3> 캡슐제의 제조

[0068] P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자 100 ㎎

[0069] 옥수수전분 100 ㎎

[0070] 유 당 100 ㎎

[0071] 스테아린산 마그네슘 2 ㎎

[0072] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0073] <1-4> 주사액제의 제조

[0074] P(4HB)-*b*-mPEG 나노입자 10 ㎍/㎖

[0075] 묽은 염산 BP pH 3.5로 될 때까지

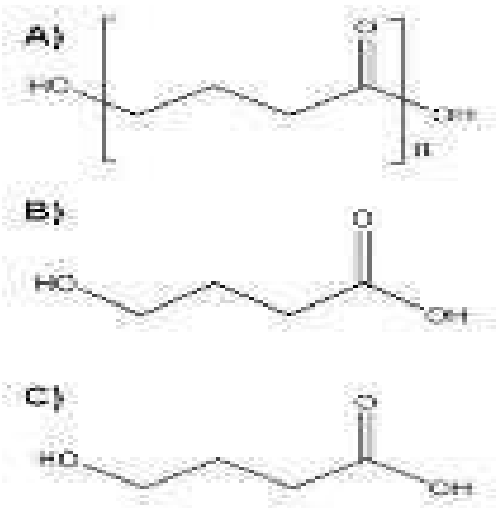
[0076] 주사용 염화나트륨 BP 최대 1 ㎖

[0077] 적당한 용적의 주사용 염화나트륨 BP 중에 본 발명에 따른 이미다졸 유도체를 용해시키고, 생성된 용액의 pH를 묽은 염산 BP를 사용하여 pH 3.5로 조절하고, 주사용 염화나트륨 BP를 사용하여 용적을 조절하고 충분히 혼합하였다. 용액을 투명 유리로 된 5 ㎖ 타입 I 앰플 중에 충전시키고, 유리를 용해시킴으로써 공기의 상부 격자하에 봉입시키고, 실온에서 10 분 이상 자외선 살균하였다.

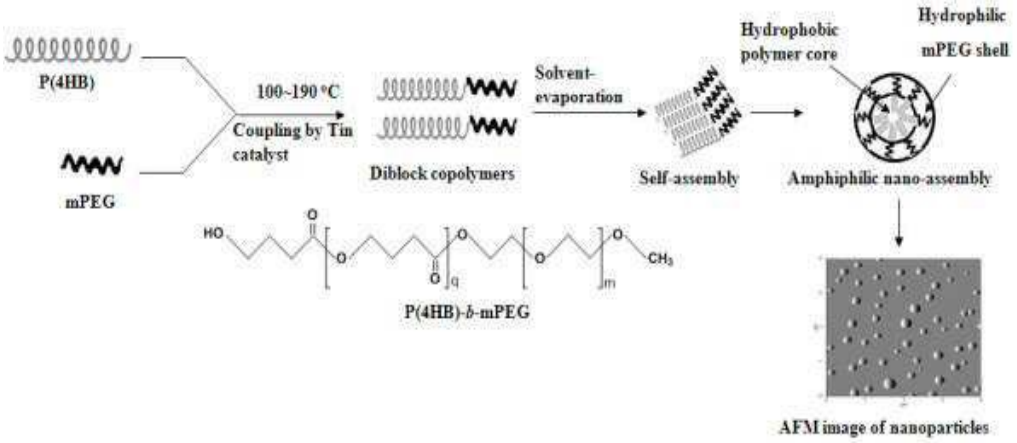
[0078] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

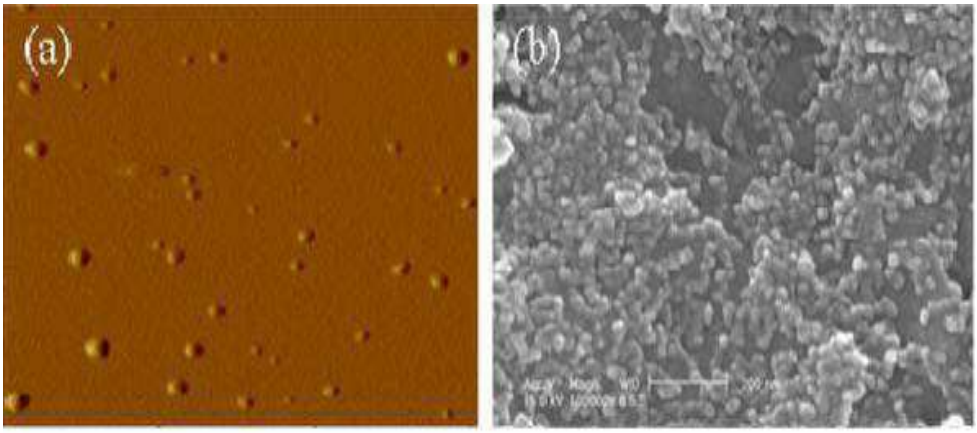
도면1



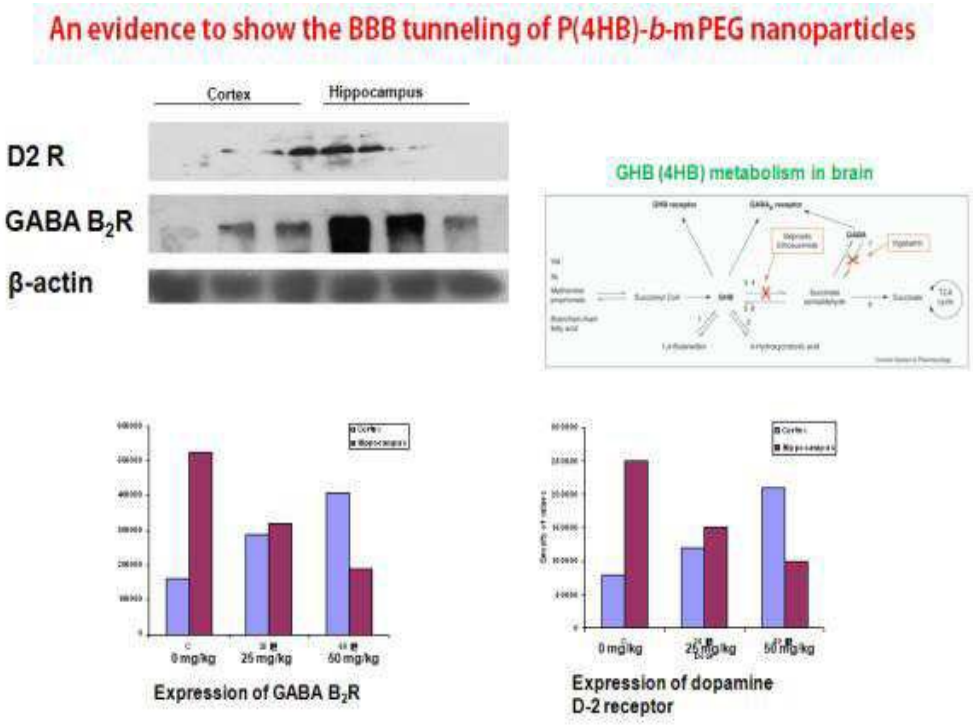
도면2


P(4HB)
mPEG
100~190 °C
Coupling by Tin catalyst
Diblock copolymers
Solvent-evaporation
Self-assembly
Hydrophobic polymer core
Hydrophilic mPEG shell
Amphiphilic nano-assembly
HO
CH3
P(4HB)-b-mPEG
AFM image of nanoparticles

도면3


(a)
(b)

도면4



Experimental:
Three rats (200 ± 25 g) were tested. One half (1/2) milliliter of the nanoparticle suspension was injected intraperitoneally per day for 14 days. After 2 weeks, GHB related protein expressions in the brain were analyzed. PBS was used as vehicle.