

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2022-0007916
(43) 공개일자 2022년01월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/51 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/5138 (2013.01)

A61K 9/5115 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0085821

(22) 출원일자 2020년07월13일

심사청구일자 2020년07월13일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

이택승

대전광역시 유성구 배울2로 78 대덕테크노밸리6단지아파트 611동 2001호

김건용

대전광역시 서구 계룡로264번길 4 월평타운 106동 202호

(74) 대리인

이근완

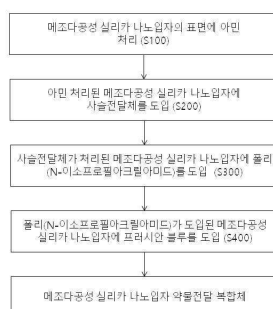
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 넓은 비표면적과 다공성을 갖는 메조다공성 실리카 나노입자에 프러시안 블루와 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)를 도입하여 적외선 조사에 의해 염료와 약물의 방출을 제어함으로써, 염료와 약물의 효능을 극대화하고, 부작용을 최소화하는 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/5192 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

메조다공성 실리카 나노입자;

상기 메조다공성 실리카 나노입자에 도입되어 적외선을 열로 전환시키는 광열효과를 갖는 프러시안 블루; 및

상기 메조다공성 실리카 나노입자에 도입되어 팽윤 또는 수축함으로써 담지하고 있던 약물을 방출하는 폴리(N-이소프로필아크릴아미드);를 포함하는 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체

청구항 2

메조다공성 실리카 나노입자 표면에 제 1 아민기 및 제 2 아민기를 도입하는 제 1 단계(S100);

상기 제 1 아민기에 사슬전달제를 도입하는 제 2 단계(S200);

상기 사슬전달제에 (N-이소프로필아크릴아미드)을 가교제와 함께 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)를 중합하는 제 3 단계(S300); 및

상기 제 2 아민기에 프러시안 블루를 도입하는 제 4 단계(S400);를 포함하는 것을 특징으로 하는 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 제조방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 제 2 단계(S200)에서 상기 사슬전달제는, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드와 N-하이드로숙신 이미드의 반응을 통해 도입되는 것을 특징으로 하는 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 제조방법.

청구항 4

청구항 2에 있어서,

상기 제 3 단계에서 상기 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)는 가역적 첨가 해리 연쇄 이동 중합을 통하여 중합되는 것을 특징으로 하는 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 적외선을 열로 전환시키는 광열효과를 가지고 있는 프러시안 블루와, 온도에 의해 물에 대한 용해성이 변화하여 팽윤 또는 수축함으로써 담지하고 있던 약물을 방출하는 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)가 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체와 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 최근에 나노 구조체를 나노 지지체, 나노 모터, 또는 약물전달 복합체 등에 응용하기 위한 연구가 진행되고 있다. 그 중 메조다공성 실리카 나노입자는 생체적합성이 높고, 비표면적이 넓으며, 표면개질이 용이하고, 또한

균일한 크기의 메조공극을 가지고 있다. 따라서 상기 메조공극 안에 약물이나 단백질, 형광물질, 염료 등을 담지하여 체내에서 방출하는 캐리어로써 적용하는 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

[0004] 상기 약물전달 복합체는 치료가 필요한 목표 부위에만 효율적으로 약물을 전달하는 것을 목적으로 하는 캐리어로서, 상기 약물전달 복합체를 체내에 주입하였을 때에는 약물을 방출하지 않다가 광조사 또는 온도 변화와 같은 외부 자극이나 정상세포와 비교되는 암세포의 환경(낮은 pH, 혈거운 세포막 등)이 있을 때에만 약물을 방출해야 하는 특성을 갖고 있어야 한다.

[0005] 그러나 표면개질을 하지 않은 메조다공성 실리카 나노입자의 경우에는 외부 환경이나 자극에 상관없이 농도에 의한 확산으로 약물을 담지하고 방출하기 때문에 이를 개선하기 위하여 메조공극을 캡핑(capping)하는 표면개질이 필요하다.

[0006] 상기 표면개질을 위한 작용기로 사용할 수 있는 물질 중 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)는 체온과 비슷한 범위(약 32 ~ 40 °C)에서 저임계용액온도를 가지는 대표적인 온도감응성 고분자이다.

[0007] 상기 저임계용액온도(Lower critical solution temperature, 이하 LCST)는 상기 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드) 등과 같이 온도 변화에 따라 상이 전이되는 온도감응성 고분자의 졸(sol) 또는 겔(gel)의 형태로 상전이되는 온도를 가리킨다.

[0009] 상기 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)는 LCST보다 낮은 온도에서는 물 속에서 친수성 성질에 의해 팽윤되어 있다가, 상기 LCST보다 높은 온도에서는 소수성화되어 수축하는 특성을 갖고 있다.

[0011] 또한, 프러시안 블루는 깊은 청색 안료이며, 근적외선 영역의 빛을 흡수하여 열에너지로 전환하는 광열효과를 갖고 있어, 광열 항암치료, 광열 항박테리아 치료 등에 활용된다. 적외선 영역의 빛은 자외선이나 가시광선에 비해 장파장이므로 피부 투과율이 높고, 인체에 무해하다.

[0012] 따라서, 본 발명에서는 상기 특징을 각각 갖는 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)와 프러시안 블루를 메조다공성 실리카 나노입자에 도입하여 적외선 조사에 의하여 담지된 약물을 방출하는 새로운 광열 약물전달 복합체를 제시하고자 한다.

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) (선행문헌 0001) 특허등록번호 10-1909431 : 온도감응성 고분자가 코팅된 메조포러스 실리카를 이용한 오염원의 선택적 흡착 방법

(특허문헌 0003) (선행문헌 0002) 특허등록번호 10-2082635 : 표면이 아민기로 개질된 중공형 메조포러스 실리카 입자를 포함한 폴리 이미드 에어로겔의 제조방법

(특허문헌 0005) (선행문헌 0003) 특허등록번호 10-1854775 : 메조포러스 실리카 입자를 사용한 유기물 흡착과 이산화탄소 포획용 메조포러스 구조의 구형 카본 나노입자 제조방법

(특허문헌 0007) (선행문헌 0004) 특허등록번호 10-1136324 : 유기-무기 하이브리드 메조포러스 실리카 물질 및 그 제조방법

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명은 넓은 비표면적과 다공성을 갖는 메조다공성 실리카 나노입자를 이용하여 외부 자극을 이용해 약물의 방출을 조절함으로써 약물의 효능을 극대화하고, 부작용을 최소화하는 약물전달 복합체에 관한 것이다. 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제

들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0017] 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는, 메조다공성 실리카 나노입자; 상기 메조다공성 실리카 나노입자에 도입되어 적외선을 열로 전환시키는 광열효과를 갖는 프러시안 블루; 및 상기 메조다공성 실리카 나노입자에 도입되어 팽윤 또는 수축함으로써 담지하고 있던 약물을 방출하는 폴리(N-이소프로필아크릴아미드);를 포함하며, 상기 메조다공성 실리카 나노입자의 입경은 200 ~ 1,000 nm이고, 공극의 크기는 1 ~ 4 nm인 것이 바람직하다.
- [0018] 또한, 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 제조방법은, 메조다공성 실리카 나노입자 표면에 제 1 아민기 및 제 2 아민기를 도입하는 제 1 단계(S100); 상기 제 1 아민기에 사슬전달제를 도입하는 제 2 단계(S200); 상기 사슬전달제에 (N-이소프로필아크릴아미드)을 가교제와 함께 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)를 중합하는 제 3 단계(S300); 및 상기 제 2 아민기에 프러시안 블루를 도입하는 제 4 단계(S400);를 포함하며, 상기 제 1 아민기는 (3-aminopropyl)triethoxysilane이고, 제 2 아민기는 N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilane이고, 상기 사슬전달제는 3-벤질설펜산이오카르보닐설펜산프로피온산이고, 가교제는 N,N'-methylenebisacrylamide이며, 상기 제 2 단계(S200)에서 상기 사슬전달제는, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드와 N-하이드록시수소이미드의 반응을 통해 도입되며, 상기 제 3 단계에서 상기 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)는 가역적 첨가 해리 연쇄 이동 중합을 통하여 중합되는 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 표면에 프러시안 블루와 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)가 도입되어 높은 약물담지 효율을 가지며, 적외선 조사에 의해 약물을 방출하거나 방출하지 않도록 조절이 가능한 효과를 갖는다. 또한 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 모두 생체 친화적 재료로 제조됨으로써, 높은 생체안정성을 나타낸다. 그리고 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 친수성을 갖기 때문에 수분산성이 우수하고, 이에 따라 친수성 약물 방출에 유용하게 적용할 수 있는 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 본 발명의 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 제조방법에 대한 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 이하, 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명하면 다음과 같다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있는 것으로, 이하의 실시예는 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이다. 또한 설명의 편의를 위하여 도면에서는 구성 요소들이 그 크기가 과장 또는 축소될 수 있다. 도면들에 있어서, 예를 들면, 제조 기술 및/또는 공차(tolerance)에 따라, 도시된 형상의 변형들이 예상될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 명세서에 도시된 영역의 특정 형상에 제한된 것으로 해석되어서는 아니 되며, 예를 들면 제조 상 초래되는 형상의 변화를 포함하여야 한다.
- [0024] 이하에서 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체 및 그 제조방법에 대하여 상세하게 설명한다.
- [0025] 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 메조다공성 실리카 나노입자에 프러시안 블루(Prussian Blue, 이하 PB)와 폴리(N-이소프로필아크릴아마이드)(Poly(N-isopropylacrylamide), 이하 PNIPAM))이 도입되어 제조된다.

- [0027] 또한, 본 발명의 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 제조방법은 도 1에 표시된 바와 같이, 메조다공성 실리카 나노입자 표면에 아민기를 도입하는 제 1 단계(S100); 아민기에 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)를 중합하기 위한 사슬전달제를 도입하는 제 2 단계(S200); 사슬전달제가 도입된 실리카 나노입자에 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)를 가교제와 함께 중합하는 제 3 단계(S300); 및 상기 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)가 도입된 메조다공성 실리카 나노입자에 프러시안 블루를 도입하는 제 4 단계(S400);를 포함하는 것이 바람직하다.
- [0029] 구체적인 상기 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 제조 방법은 다음과 같다.
- [0031] 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자에 아민기를 도입하는 제 1 단계(S100)에서는 메조다공성 실리카 표면에 제 1 아민기인 (3-aminopropyl)triethoxysilane(이하 APTES)와 제 2 아민기인 N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilane(이하 DAMS)를 솔-젤 반응(sol-gel reaction)을 이용하여 상기 제 1 아민기와 제 2 아민기를 도입한다.
- [0032] 이때 상기 메조다공성 실리카 나노입자에 도입되는 APTES와 DAMS의 양은 각각 2 ~ 10 중량%가 적당하나, 그 양에는 제한이 없다.
- [0034] 이후, 제 2 단계(S200)에서 상기 제 1 단계에서 도입된 제 1 아민기에 사슬전달제(reversible addition fragmentation chain transfer agent, 이하 RAFT-CTA)인 3-벤질설파닐싸이오카르보닐설파닐프로피온산을 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, 이하 EDC)와 N-하이드록시숙시이미드(N-hydroxysuccinimide, 이하 NHS)를 사용하는 EDC-NHS 반응을 통해 아마이드 결합하여 도입한다.
- [0035] 이때 메조다공성 실리카 나노입자에 도입되는 상기 사슬전달제의 양은 상기와 같이 도입되는 APTES의 1당량으로 도입되는 것이 적당하나, 그 양에는 특별히 제한이 없다.
- [0037] 또한, 제 3 단계(S300)에서는 상기 메조다공성 실리카 나노입자에 도입된 사슬전달제에 단량체인 (N-이소프로필아크릴아미드)(이하, NIPAM)와 가교제인 N,N'-methylenebisacrylamide(이하 BIS)를 개시제인 아조비스이소부티로니트릴(Azobisisobutyronitrile, 이하 AIBN)과 함께 디메틸포름아미드에서 중합함으로써, 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)를 도입하게 된다.
- [0038] 이때 상기 폴리(N-이소프로필아크릴아미드)는 가역적 첨가 해리 연쇄 이동 중합을 통하여 중합되는 것이 바람직하다.
- [0039] 상기 가역적 첨가 해리 연쇄 이동 중합(reversible addition-fragmentation chain-transfer polymerization)은 조절 라디칼 중합법(controlled radical polymerization)의 일종으로, 말단이 라디칼의 공격을 받아 말단기가 가역적으로 이동하는 방식으로 성장 라디칼을 생성하는 중합방법을 가리킨다.
- [0040] 본 발명에 따르면, 상기 메조다공성 실리카 나노입자의 사슬전달제에 도입되는 PNIPAM 고분자의 가교밀도는 1 ~ 5 중량%가 적당하나 원칙적으로 제한이 없다.
- [0042] 그리고, 제 4 단계(S400)에서는 상기 제 1 단계에서 도입된 제 2 아민기에 염화철(III)(FeCl₃)과 K₄[Fe(CN)₆]²⁺를 순서대로 수용액상에서 반응시켜 상기 제 2 아민기에 PB를 도입하는 반응을 진행한다.
- [0044] 상기와 같이 제조된 본 발명의 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 적외선 조사에 따라 PB의 광열효과로 열이 발행하게 되고, 그 열에 의해 PNIPAM이 LCST에 도달하여 수축하게 된다. 이때 상기 메조다공성 실리카 나노입자의 공극에 담지하고 있던 약물을 방출할 수 있게 된다. 구체적으로, 본 발명에 따른 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체에 약물을 담지하고, 그 후 적외선을 조사하지 않았을 때에는

상기 약물을 방출하지 않다가, 적외선을 조사하면 상기 PNIPAM이 수축하면서 담지하고 있던 약물을 방출하게 된다.

- [0046] 또한, 상기 적외선 조사는 700 nm 이상의 파장을 갖는 광원 어느 것이면 가능하고, 특히, 복사에너지가 20 W/m^2 이며, 파장(λ)이 808 nm 이상인 적외선을 조사할 수 있는 레이저를 사용하는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0047] 이때 상기와 같이 제조된 본 발명의 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 약물을 담지하고, 적외선 조사에 의해 방출할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 파클리탁셀(Paclitaxel, $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$), 젬시타빈(Gemcitabine) 등의 약물을 전달할 수 있다.
- [0050] 또한 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 약물뿐 아니라 로다민 B 또는 Acid orange 7(이하, A07) 등의 염료에도 적용이 가능하다.
- [0052] 본 발명의 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 이용한 염료 전달 실험 방법은 다음과 같다.
- [0053] 상기와 같이 제조된 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 염료 수용액이 담긴 20 ml 바이알에 분산시킨 뒤, 24시간 동안 교반하여 상기 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체에 형성된 공극에 염료를 담지한다.
- [0054] 이후 원심분리를 이용해 염료가 담지된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 분리하고, 물로 세척하여 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 외부에 잔존하는 염료들을 제거한 후 건조한다.
- [0055] 건조가 완료된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 20 ml의 물이 담긴 바이알에 재분산한 후, 교반과 동시에 적외선($\lambda > 650 \text{ nm}$) 레이저를 사용해 광조사한다. 여기서, 적외선 레이저와 바이알의 거리는 5 ~ 15 cm의 범위에서 실시하며, 이때 상기 바이알에 담긴 물의 일부를 회수하여 UV/Vis 흡수스펙트럼을 측정하여 미리 작성된 검량선으로부터 방출된 염료의 양을 측정하였다.
- [0057] 또한 본 발명의 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 이용한 약물 전달 실험 방법은 다음과 같다.
- [0058] 상기와 같이 제조된 후 건조된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 약물 수용액이 담긴 20 ml 바이알에 분산시킨 뒤, 24시간 동안 교반하여 상기 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체에 형성된 공극에 염료를 담지한다.
- [0059] 이후 원심분리를 이용해 약물이 담지된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 분리하고, 물로 세척하여 상기 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 외부에 잔존하는 약물들을 제거한 후 건조한다.
- [0060] 건조가 완료된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 20 ml의 물이 담긴 바이알에 재분산되고, 교반과 동시에 적외선($\lambda > 650 \text{ nm}$) 레이저를 사용해 광조사한다. 여기서, 적외선 레이저와 바이알의 거리는 5 ~ 15 cm의 범위에서 실시하며, 바이알에 담긴 물의 일부를 회수하여 UV/Vis 흡수스펙트럼을 측정하여 미리 작성된 검량선으로부터 방출된 약물의 양을 측정하였다.
- [0062] 본 발명의 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 염료 또는 약물 전달 메커니즘은 다음과 같다.
- [0063] 염료 또는 약물의 담지는 수용액에 존재하는 염료 또는 약물 분자가 상기 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 공극에 담지된다. 그 이후 650 nm 이상의 파장을 갖는 광원 조사에 의해 상기 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체에 도입된 PB가 광열효과를 일으키게 되고, 이 광열효과에 의해 발생한 열은 다시 PNIPAM이 LCST에 도달할 수 있게 한다. LCST에 도달한 PNIPAM이 수축하며 메조다공성 실리카 입자에 형성된 공극에 담

지된 염료 또는 약물이 용액에 노출되어, 공극 속에 존재하던 염료 또는 약물이 외부로 방출된다.

[0065] 이하, 본 발명의 실시예를 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 구체적으로 설명하는 예시로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0067] **[제조예 1] 아민 처리된 메조다공성 실리카 나노입자의 제조(제 1 단계, S100)**

[0069] 50 ml 코니컬 튜브에 메조다공성 실리카 나노입자(직경 200 nm, 공극의 크기 4 nm) 200 mg를 40 ml의 톨루엔과 함께 넣어 2시간 동안 초음파 처리하여 균일하게 분산시켜 분산액을 제조한다. 이후에 상기 분산액에 제 1 아민기인 APTES 1 ml와 제 2 아민기인 DAMS 1 ml를 투입하고, 18시간 동안 혼합하여 반응시킨다. 반응 후, 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 메조다공성 실리카 나노입자를 회수하였다.

[0070] 상기와 같이 회수된 메조다공성 실리카 나노입자를 40 ml의 에탄올에 분산시켜 5회 세척한 뒤, 진공건조하여 상기 APTES와 DAMS가 도입된 메조다공성 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0072] **[제조예 2] 메조다공성 실리카 나노입자에 도입된 APTES에 사슬전달제를 도입(제 2 단계, S200)**

[0074] 50 ml 코니컬 튜브에 제조예 1에서 제조한 APTES와 DAMS가 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 1 g을 20 ml의 디클로로메탄과 함께 넣고, 2시간 동안 초음파 처리하여 균일하게 분산시켜 분산액을 제조한다. 이후에 상기 분산액에 RAFT-CTA인 3-벤질설펜산이오카르보닐설펜산프로판과 보조제인 N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide(이하 EDC)를 분산액에 첨가하여 24시간 동안 반응시킨다.

[0075] 이때 상기 메조다공성 실리카 나노입자에 도입된 APTES에 RAFT-CTA인 3-벤질설펜산이오카르보닐설펜산프로판이 도입되어 결합된다.

[0076] 상기 반응 후 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 메조다공성 실리카 나노입자를 회수하였다.

[0077] 상기와 같이 회수된 메조다공성 실리카 나노입자를 40 ml의 메탄올로 5회 수세 후 진공건조하여 RAFT-CTA인 3-벤질설펜산이오카르보닐설펜산프로판이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0079] **[제조예 3] 사슬전달제가 도입된 메조다공성 실리카 나노입자에 PNIPAM을 도입(제 3 단계, S300)**

[0081] 환류기가 장착된 25 ml 3구 플라스크에 제조예 2에서 제조한 사슬전달제가 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 200 mg을 NIPAM 900 mg과 개시제인 Azobisisobutyronitrile(이하 AIBN) 1 mg 및 가교제인 BIS와 함께 수분이 제거된 N,N'-디메틸포름아미드 5 ml에 넣고, 아르곤 대기 하에서 70 °C, 24시간 동안 교반하면서 반응시킨다. 상기 반응시에 NIPAM이 가교중합되어 PNIPAM이 도입된다.

[0082] 반응 완료 후 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 메조다공성 실리카 나노입자를 회수하였다.

[0083] 상기와 같이 회수된 메조다공성 실리카 나노입자를 40 ml의 메탄올로 5회 세척한 뒤 진공건조하여 상기 사슬전달제에 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0085] **[제조예 4] PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자에 PB를 도입(제 4 단계, S400)**

[0087] 50 ml 코니컬 튜브에 제조예 3에서 제조한 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 100 mg를 증류수 7 ml와 함께 넣고, 2시간 동안 초음파 분쇄하여 균일하게 분산시킨다. 분산이 완료되면 2% 염화철(III) 수용액을 7

ml 첨가한 후, 6시간 동안 혼합하여 철 이온이 제 2 아민기인 DAMS의 디아민 작용기에 결합되게 한다.

[0088] 반응 완료 후 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 메조다공성 실리카 나노입자를 회수하였다.

[0089] 상기와 같이 회수된 메조다공성 실리카 나노입자를 40 ml 의 증류수로 3회 세척하고 증류수 7 ml에 2시간 동안 초음파 분쇄하여 재분산시킨다.

[0090] 상기 재분산이 완료되면 $2\text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{2+}$ 수용액을 7 ml 첨가하고 4시간 동안 혼합하여 디아민에 의해 결합된 철 이온으로부터 PB를 성장시킨다.

[0091] 반응이 완료된 후, 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 메조다공성 실리카 나노입자를 회수하였다. 상기와 같이 회수된 메조다공성 실리카 나노입자를 40 ml 증류수와 에탄올로 각각 3회씩 세척한 뒤 진공건조하여 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 제조하였다.

[0093] [비교예 1] 아민 처리된 무공극 실리카 나노입자의 제조

[0095] 50 ml 코니컬 튜브에 공극이 없는 실리카 나노입자 (직경 200 nm) 200 mg을 40 ml의 톨루엔에 넣어 2시간 동안 초음파 처리하여 균일하게 분산시켜 분산액을 제조한다. 이후에 제 1 아민기인 APTES 1 ml와, 제 2 아민기인 DAMS 1 ml를 상기 분산액에 넣어 18시간 동안 혼합시켜 반응시킨다.

[0096] 반응 완료 후 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 공극이 없는 실리카 나노입자를 회수하였다. 상기와 같이 회수된 공극이 없는 실리카 나노입자 40 ml의 에탄올에 분산시켜 5회 세척한 뒤 진공건조하여 APTES와 DAMS가 도입된 무공극의 메조다공성 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0098] [비교예 2] 아민 처리된 무공극 실리카 나노입자에 사슬전달제 도입

[0100] 50 ml 코니컬 튜브에 비교예 1에서 제조한 APTES와 DAMS가 도입된 무공극의 실리카 나노입자 1 g을 20 ml 의 디클로로메탄과 함께 넣고, 2시간 동안 초음파 처리하여 균일하게 분산시켜 분산액을 제조한다. 이후에 사슬전달제인 3-벤질설파닐싸이오카르보닐설파닐프로온산과 보조제인 EDC를 상기 분산액에 첨가하여 24시간 동안 반응시킨다.

[0101] 반응 후 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 공극이 없는 실리카 나노입자를 회수하였다. 상기와 같이 회수된 공극이 없는 실리카 나노입자를 40 ml의 메탄올로 5회 수세 후 진공건조하여 사슬전달제인 3-벤질설파닐싸이오카르보닐설파닐프로온산이 도입된 무공극의 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0103] [비교예 3] 사슬전달제가 도입된 무공극 실리카 나노입자에 PNIPAM을 도입

[0105] 환류기가 장착된 25 ml 3구 플라스크에 비교예 2에서 제조한 사슬전달제가 도입된 무공극 실리카 나노입자 200 mg을 NIPAM 900 mg과 개시제인 AIBN 1 mg 및 가교제인 BIS 9 mg과 함께 수분이 제거된 N,N'-디메틸포름아미드 5 ml 에 넣고, 아르곤 대기 하에서 70 °C, 24시간 동안 교반하면서 반응시킨다. 상기 반응시에 NIPAM이 가교중합되어 PNIPAM이 도입된다.

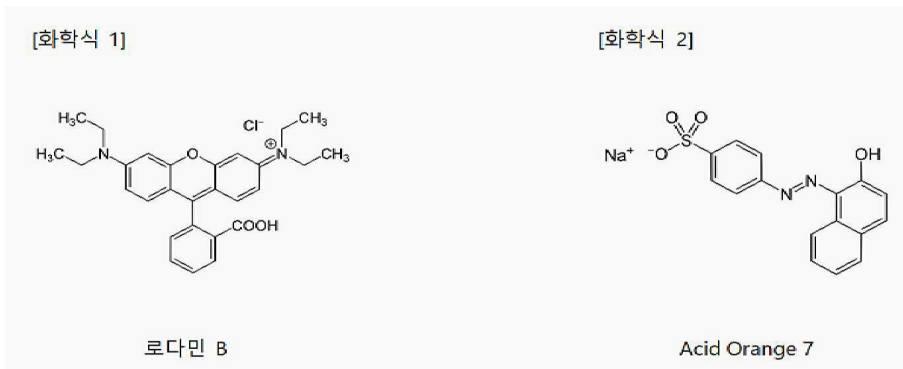
[0106] 반응이 완료된 후 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 공극이 없는 실리카 나노입자를 회수하였다. 상기와 같이 회수된 공극이 없는 실리카 나노입자를 40 ml의 메탄올로 5회 세척한 뒤 진공건조하여 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0108] [비교예 4] PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자에 PB를 도입

- [0110] 50 ml 코니컬 튜브에 비교예 3에서 제조한 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자 100 mg를 증류수 7 ml와 함께 넣고, 2시간 동안 초음파 분쇄하여 균일하게 분산시킨다. 분산이 완료되면 2% 염화철(III) 수용액을 7 ml 첨가한 후, 6시간 동안 혼합하여 철 이온이 제 2 아민기인 DAMS의 디아민 작용기에 결합되게 한다.
- [0111] 반응 완료 후 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 무공극의 실리카 나노입자를 회수하였다.
- [0112] 상기와 같이 회수된 무공극의 실리카 나노입자를 40 ml 의 증류수로 3회 세척하고 증류수 7 ml에 2시간 동안 초음파 분쇄하여 재분산시킨다.
- [0113] 상기 재분산이 완료되면 2% $K_4[Fe(CN)_6]^{2+}$ 수용액을 7 ml 첨가하고 4시간 동안 혼합하여 디아민에 의해 결합된 철 이온으로부터 PB를 성장시킨다.
- [0114] 반응이 완료된 후, 3,300 rpm의 원심분리기에서 10 분 동안 처리하여 무공극의 실리카 나노입자를 회수하였다. 상기와 같이 회수된 무공극의 실리카 나노입자를 40 ml 증류수와 에탄올로 각각 3회씩 세척한 뒤 진공건조하여 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자를 제조하였다.
- [0116] 이하에서는 상기 제조예에 의해 제조된 본 발명의 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체와 비교예에 의해 제조된 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자를 이용하여 염료담지와 방출 및 약물담지와 방출 실험을 진행하였다.

[실시예 1] 염료 담지 평가

- [0120] 본 발명의 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체가 염료 전달 능력이 있는 지 확인하기 위하여 상업적으로 구매할 수 있는 염료인 아래의 화학식 1과 같은 로다민 B와 화학식 2와 같은 Acid Orange 7(이하 A07)의 수용액을 50 ppm의 농도로 각각 제조한 뒤, 20 ml 바이알에 15 ml씩 넣고 제조예 4에서 제조한 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 상기 염료용액에 넣어 24시간 교반하였다.



- [0122]
- [0124] 상기 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체에 담지된 염료의 양은 교반 전과 교반 후의 염료용액의 흡수스펙트럼으로 측정하였고, 담지 효율(%)과 담지율(%)은 아래의 식 (1)과 식 (2)를 이용하여 계산하였다.
- [0126] 각 염료의 최대흡수파장은 로다민 B의 경우 553 nm, A0 7의 경우 485 nm이다.

$$\text{담지 효율(\%)} = \frac{\text{초기 염료 용액의 염료 무게} - \text{담지후 남아 있는 염료의 무게}}{\text{초기 염료 용액의 염료 무게}} \times 100 \dots \text{식 (1)}$$

$$\text{담지율(\%)} = \frac{\text{총 담지된 염료의 무게}}{\text{메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 무게}} \times 100 \dots \text{식 (2)}$$

[비교실시예 1]

비교실시예 1은 상기 비교예 4 에서 제조한 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자를 이용하여 실시예 1 과 동일한 조건 하에서 실험하였다. 실시예 1과 비교실시예 1에서 수행한 염료 담지결과는 다음 표 1과 같다.

표 1

	로다민 B		AO 7	
	담지 효율(%)	담지율(%)	담지 효율(%)	담지율(%)
실시예 1	83.14	13.77	97.63	19.51
비교실시예 1	6.32	0.103	6.89	0.116

표 1로부터 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 경우에 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자 약물전달 복합체보다 더 높은 담지 효율(%)과 담지율(%)로 염료가 담 지되는 것을 알 수 있다.

[실시예 2] 염료가 담지된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 염료방출 평가

20 ml 바이알에 증류수 15 ml를 넣고, 상기 실시예 1에 의해 제조된 염료가 담지된 PB와 PNIPAM이 도입된 메조 다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체 15 mg를 분산시킨다. 이후에 808 nm의 파장을 가지는 레이저를 바이알 과 5 cm 떨어진 거리에서 20 W/m²의 에너지로 24시간 동안 조사한다. 이때 상기 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다 공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체로부터 방출되는 염료의 양은 레이저 조사 후 염료가 녹아있는 용액의 흡 수 스펙트럼으로 측정하였고, 아래의 식 (3)을 이용하여 염료의 방출량(%)을 계산하였다.

$$\text{염료의 방출량(\%)} = \frac{\text{방출된 염료의 무게}}{\text{담지된 염료의 무게}} \times 100 \dots \text{식 (3)}$$

[비교실시예 2]

[0148] [비교실시예 2-1]

[0150] 비교제조예 1에서 제조한 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자에 실시예 1과 동일한 방법으로 염료를 담지한 뒤, 실시예 2와 동일한 조건 하에서 염료의 방출 실험을 실시하였다.

[0152] [비교실시예 2-2]

[0154] 20 ml 바이알에 증류수 15 ml를 넣고, 실시예 1에 의해 제조된 염료가 담지된 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체 15 mg을 분산시켜 적외선을 조사하지 않는 상태에서 24시간 동안 단순 교반 후 염료의 방출량(%)을 계산하였다. 실시예 2와 비교실시예 2 에서 수행한 염료의 방출량(%)의 결과는 다음 표 2와 같다.

표 2

	염료의 방출량(%)	
	로다민 B	Acid Orange 7
실시예 2	97.54	94.67
비교실시예 2-1	3.22	1.86
비교실시예 2-2	8.93	7.74

[0158] 표 2의 실시예 2를 살펴보면, 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 경우에는 적외선의 조사시 담지된 염료를 대부분 방출하는 것으로 나타난다.

[0159] 또한 표 2의 비교실시예 2-1의 경우에는 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자를 사용하여 방출되는 염료의 방출량(%)이 매우 적은 것을 알 수 있다.

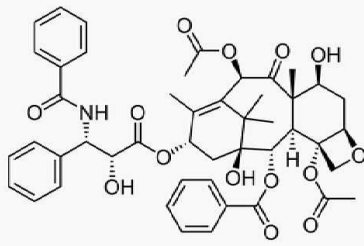
[0160] 그리고 표 2의 비교실시예 2-2에서 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 경우에도 적외선을 조사하지 않는 경우에는 염료의 방출량(%)이 적은 것을 알 수 있다.

[0161] 즉, 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 적외선의 조사와 함께 염료전달 분야에 유용하게 응용할 수 있음을 확인하였다.

[0163] [실시예 3] 약물이 담지된 약물전달 복합체의 약물담지 평가

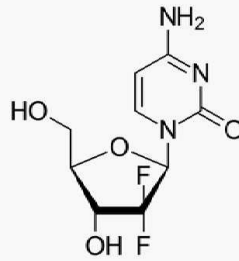
[0165] 본 발명의 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 약물 전달 능력을 평가하기 위하여 아래의 화학식 3 과 같은 파클리탁셀(Paclitaxel)과 화학식 4와 같은 겐시타빈(Gemcitabin) 수용액을 10 ppm의 농도로 각각 제조한 뒤, 20 ml 바이알에 15 ml씩 넣고 제조예 4에서 제조한 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체를 상기 약물 수용액에 각각 투입하고 24시간 교반하였다.

[화학식 3]



Paclitaxel

[화학식 4]



Gemcitabine

담지된 약물의 양은 교반 전과 교반 후의 약물 수용액의 흡수스펙트럼으로 측정하여 평가하였고, 담지 효율(\$)\$과 담지율(%)은 하기 식 (4)와 식 (5)를 이용하여 계산하였다.

이때 각 약물의 최대흡수파장은 파클리탁셀의 경우 227 nm, 젬시타빈의 경우 256 nm이다.

$$\text{담지 효율}(\%) = \frac{\text{초기 약물 수용액 중의 약물의 무게} - \text{담지후 남아 있는 약물의 무게}}{\text{초기 약물 수용액 중의 약물의 무게}} \times 100 \dots \text{식 (4)}$$

$$\text{담지율}(\%) = \frac{\text{총 담지된 약물의 무게}}{\text{약물전달 복합체의 무게}} \times 100 \dots \text{식 (5)}$$

[비교실시예 3]

상기 비교예 4의 방법으로 제조한 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자를 이용하여 실시예 3 과 동일한 조건 하에서 실험하였다.

상기 실시예 3과 비교실시예 3에서 수행한 약물의 담지 효율(%)과 담지율(%)의 결과는 아래의 표 3과 같다.

표 3

	파클리탁셀		젬시타빈	
	담지 효율(%)	담지율(%)	담지 효율(%)	담지율(%)
실시예 3	92.12	17.44	90.71	17.01
비교실시예 3	8.88	0.113	9.12	0.123

표 3에 나타난 바와 같이, 무공극 실리카 나노입자를 사용하는 것보다 메조다공성 실리카 나노입자를 사용할 때 파클리탁셀과 젬시타빈 등의 약물에 대한 더 높은 담지 효율(%)과 담지율(%)을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0185]

[0186] [실시예 4] 약물이 담지된 약물전달 복합체의 약물방출 평가

[0188] 20 ml 바이알에 증류수 15 ml를 넣고, 실시예 3에서 제조된 약물이 담지된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체 15 mg을 분산시킨다. 이후에 808 nm의 파장을 가지는 적외선을 바이알과 5 cm 떨어진 거리에서 20 W/m^2 의 에너지로 24시간 동안 조사하였다.

[0189] 이때 방출되는 약물의 양은 적외선의 조사 후 약물이 녹아있는 수용액의 흡수 스펙트럼으로 측정하였고, 하기 식 (6)을 이용하여 약물의 방출량(%)을 계산하였다.

[0191]
$$\text{약물의 방출량}(\%) = \frac{\text{방출된 약물의 무게}}{\text{담지된 약물의 무게}} \times 100 \dots \text{식 (6)}$$

[0193] [비교실시예 4]

[0195] [비교실시예 4-1]

[0197] 비교예 4의 방법으로 제조한 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자에 실시예 3의 방법으로 약물을 담지한 뒤, 실시예 4와 동일한 조건 하에서 약물의 방출 실험을 실시하였다.

[0199] [비교실시예 4-2]

[0201] 20 ml 바이알에 증류수 15 ml를 넣고, 실시예 1의 방법으로 제조된 약물을 담지한 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체 15 mg을 분산시켜 적외선을 조사하지 않는 상태에서 24시간 동안 단순 교반 후 약물의 방출량을 계산하였다.

[0203] 상기 실시예 4와 비교실시예 4에서 수행한 약물의 방출량(%)의 결과는 다음 표 4와 같다.

표 4

[0205]

	약물의 방출량(%)	
	파클리탁셀	젠타민
실시예 4	99.34	97.17
비교실시예 4-1	7.44	8.14
비교실시예 4-2	6.58	7.65

[0207] 표 4의 실시예 4를 살펴보면, 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 경우에는 적외선의 조사시 담지된 약물을 대부분 방출하는 것으로 나타난다.

[0208] 또한 표 4의 비교실시예 4-1의 경우에는 PB와 PNIPAM이 도입된 무공극 실리카 나노입자를 사용하여 방출되는 약

물의 방출양(%)이 매우 적은 것을 알 수 있다.

[0209] 그리고 표 2의 비교실시에 4-2에서 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체의 경우에도 적외선을 조사하지 않는 경우에는 약물의 방출양(%)이 적은 것을 알 수 있다.

[0210] 즉, 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 메조다공성 실리카 나노입자 약물전달 복합체는 적외선의 조사와 함께 약물전달 분야에 유용하게 응용할 수 있음을 확인하였다.

[0212] 이상으로 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 PB와 PNIPAM이 도입된 약물전달 복합체는 높은 염료 또는 약물담지 효율을 가지며, 또한 적외선 조사의 유무에 의해 약물을 방출하거나 방출하지 않도록 조절이 가능함으로써, 염료 또는 약물의 방출속도를 제어할 수 있어 약물 전달체로서 유용하게 사용될 수 있다.

[0214] 본 발명은 도면에 도시된 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

부호의 설명

도면

도면1

