

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0040725

(43) 공개일자 2024년03월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61L 24/00 (2006.01) A61L 24/04 (2006.01)

A61L 27/34 (2006.01) A61L 27/54 (2006.01)

C08G 65/40 (2006.01) C08G 65/48 (2006.01)

C08G 73/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61L 24/0015 (2013.01)

A61L 24/046 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2024-7000896

(22) 출원일자(국제) 2022년06월09일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2024년01월09일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/065757

(87) 국제공개번호 WO 2022/258780

국제공개일자 2022년12월15일

(30) 우선권주장

21382516.9 2021년06월10일

유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인

폰다시오 인스티투트 카탈라 데 나노시엔시아 이 나노테크놀로히아 (아이씨엔2)

스페인 08193 베야테라 캠퍼스 데 라 유에이비 - 에디피시오 아이씨엔2

콘세호 수페리오르 데 인베스티가시오네스 시엔티 피카스 (CSIC)

스페인, 마드리드 28006, C/세라노 117

(72) 발명자

수아레즈 가르시아 살비오

스페인 08940 코르네야 데 요브레가트 아브 칸 코르투스 40 6 4에이

사이즈 포세우 하비에르

스페인 08243 만레사 파세오 호안 미로 37

루이즈 몰리나 다니엘

스페인 08206 사바델 씨 콘스탄티노 2 2 3에이

(74) 대리인

리엔목특허법인

전체 청구항 수 : 총 15 항

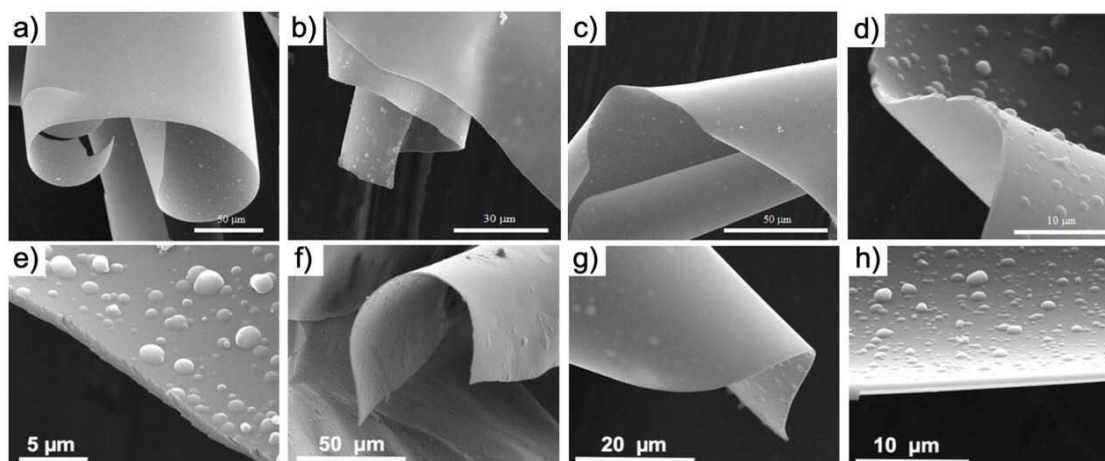
(54) 발명의 명칭 카테콜아민-기반 멤브레인, 이의 제조 방법 및 용도

(57) 요약

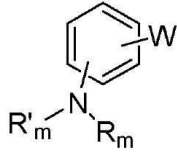
본 발명은 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인을 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 카테콜 유도체를 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민 탄화수소; 및 화학식 (IIbis)의 방향족 아민으로 구성된 그룹으로부터 선택된 아민과 액체 매질에서 가교결합시키는 단계로서, 상기 카테콜 및 아민 모두는 pH 6.5 내지 10, 및 적절한 교반하

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



에 용해되어 임의의 지지체 없이 공기/액체 계면에서 카테콜아민 멤브레인을 형성하는 것인 단계; 및 (b) 단계 (a)에서 생성된 멤브레인을 공기/액체 계면으로부터 분리하는 단계를 포함한다. 생성된 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인은 견고하고, 취급 및 조작이 용이하며, 가요성이 높고, 어떤 종류의 표면에도 부서지지 않고 조정할 수 있으며, 접착제이다. 또한, 본 발명의 독립형 멤브레인은 물-접촉 면에 예상치 못한 나노패터닝을 통해 야누스 특성을 나타내며, 이는 본 발명의 멤브레인에 더 높은 거칠기 표면을 부여하여, 세포 부착을 촉진하는데 가치가 있다.



A-B-A' (II) (IIbis)

(52) CPC특허분류

A61L 27/34 (2013.01)

A61L 27/54 (2013.01)

C08G 65/4031 (2013.01)

C08G 65/48 (2013.01)

C08G 73/02 (2013.01)

C08G 73/024 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 단계를 포함하는, 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인 (self-standing catecholamine-based membrane)을 제조하는 방법:

a) 카테콜 유도체를 하기로 구성된 그룹으로부터 선택된 아민과 가교결합하여 임의의 지지체 없이 공기/액체 계면에서 카테콜아민 멤브레인을 형성하는 단계로서, 상기 가교결합 반응은 액체 매질에서 수행하고, 상기 카테콜 및 아민 모두는 pH 6.5 내지 10, 및 적절한 교반하에 용해되는 것인 단계:

a.1) 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민 탄화수소



여기서

A 및 A'는 동일하거나 또는 상이하고, $-NR_1R'_{11}$ 을 나타내고,

B는 (C_1-C_{20}) 알킬렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_2$ 및 $-NR_3R'_{33}$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{20}) 알킬렌; (C_2-C_{20}) 알케닐렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_4$ 및 $-NR_5R'_{55}$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_2-C_{20}) 알케닐렌; (C_2-C_{20}) 알키닐렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_6$ 및 $-NR_7R'_{77}$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_2-C_{20}) 알키닐렌; 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_8$, 및 $-NR_9R'_{99}$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌; 및 알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌; 및 -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{10}$, 및 $-NR_{11}R'_{111}$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌을 나타내고;

A는 B 바이라디칼 탄화수소 백본 (biradical hydrocarbon backbone)의 일부를 형성하는 제1 원자 구성원에 결합되어 있고;

A'는 B 바이라디칼 탄화수소 백본의 일부를 형성하는 최종 원자 구성원에 결합되어 있고;

여기서 "제1" 및 "최종" 원자 구성원은 B 바이라디칼 탄화수소 백본을 좌측으로부터 우측으로 또는 그 반대로 읽는 것으로 확인하고;

R_1 , R'_{11} , R_3 , R'_{33} , R_5 , R'_{55} , R_7 , R'_{77} , R_9 , R'_{99} , R_{11} , 및 R'_{111} 은 동일하거나 또는 상이하고, -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{12}$, 및 $-NR_{13}R'_{133}$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R_2 , R_4 , R_6 , R_8 , R_{10} 및 R_{12} 는 독립적으로 -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{14}$ 및 $-NR_{15}R'_{155}$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R_{13} , R'_{133} , R_{14} , R_{15} 및 R'_{155} 는 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; 및 (C_2-C_{10}) 알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

"알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌"은 $C(R_x)_2$, CR_x , -N-, $-NR'_x$ -, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 3 내지 20개의 구성원으로 구성된 알려진 포화 사슬을 의미하며, 단 (a) 상기 구성원들 중 적어도 하나는 -N-,

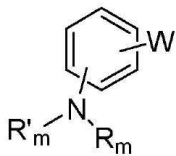
$-NR_x-$, $-S-$, 또는 $-O-$ 이고; (b) 상기 헤테로알킬렌의 백본을 형성하는 제1 구성원 및 최종 구성원은 탄소 원자이고;

"알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌"은 $C(R_x)_2$, $-CR_x-$, $-N-$, $-NR'_x-$, $-S-$, 및 $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 3 내지 20개의 구성원으로 구성된 알려진 불포화 사슬을 의미하며, 단 (a) 상기 구성원들 중 적어도 하나는 $-N-$, $-NR_x-$, $-S-$, 또는 $-O-$ 이고; (b) 상기 헤테로알킬렌의 백본을 형성하는 제1 구성원 및 최종 구성원은 탄소 원자이고; (c) 하나 이상의 이중 결합을 포함하고;

R_x 는 독립적으로 $-H$; $-OH$; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; (C_1-C_{10}) 할로알킬; $O-(C_1-C_{10})$ 알킬; $-O-(C_2-C_{10})$ 알케닐; $-O-(C_2-C_{10})$ 알키닐; 니트로, $-NR_{x1}R_{x2}$; $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{16}$ 및 $-NR_{17}R'_{17}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬; 및 할로젠으로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R_{x1} , R_{x2} , R_{16} , R_{17} , R'_{17} , 및 R'_x 는 독립적으로 $-H$, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐, 및 (C_1-C_{10}) 할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택됨; 및

a.2) 화학식 (IIbis)의 방향족 아민:



(IIbis)

여기서 W는:

$-NR_tR'_t$ 또는

$^*S-S-L$ 을 나타내고; 여기서, $(^*)$ 는 W 라디칼의 S 원자가 방향족 고리의 일부를 형성하는 탄소 원자에 결합되어 있음을 나타내고;

L은 $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{28}$, 및 $-NR_{28}R'_{28}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 $-NR_{28}R'_{28}$ 인 (C_1-C_{10}) 알킬; $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{28}$, 및 $-NR_{28}R'_{28}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 $-NR_{28}R'_{28}$ 인 (C_1-C_{10}) 할로알킬; $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{28}$ 및 $-NR_{28}R'_{28}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 $-NR_{28}R'_{28}$ 인 (C_2-C_{10}) 알케닐; $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{28}$ 및 $-NR_{28}R'_{28}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 $-NR_{28}R'_{28}$ 인 (C_2-C_{10}) 알키닐; 및 $-CR_v-$, $-N-$, $-O-$, $-NR'_v$, $-S-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 5 또는 6개의 구성원을 갖는 알려진 방향족 고리로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 는 동일하거나 또는 상이하고, H , (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{29}$ 및 $-NR_{30}R'_{30}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬; 및 $-CR_z-$, $-N-$, $-NR'_z$, $-O-$, 및 $-S-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 5 또는 6개의 구성원을 갖는 알려진 방향족 고리로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R_v 중 적어도 하나는 $-NR_{31}R'_{31}$ 이고, 나머지(들) R_v 는 H , $-NR_{31}R'_{31}$, (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; 및 $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{32}$ 및 $-NR_{33}R'_{33}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R_z 및 R'_z 는 독립적으로 H, (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{34}$ 및 $-NR_{35}R'_{35}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R_{28} , R'_{28} , R_{29} , R_{30} , R'_{30} , R_{31} , R'_{31} , R_{32} , R_{33} , R'_{33} , R_{34} , R_{35} , 및 R'_{35} 는 독립적으로 -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; 및 (C_2-C_{10}) 알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택됨; 및

b) 단계 (a)에서 생성된 멤브레인을 공기/액체 계면으로부터 단리하는 단계.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 아민은 화학식 (II) 중 하나인 것인 방법.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 상기 A 및 A'은 동일하고, $-NHR'_1$, 구체적으로 $-NH_2$ 를 나타내는 것인 방법.

청구항 4

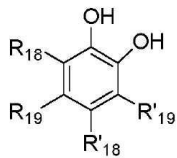
청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 청구항 1에 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 또는 청구항 1에 정의된 바와 같은 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내는 것인 방법.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 헥사메틸렌디아민, 옥타메틸렌디아민, 도데카메틸렌디아민, 시스타민, 트리스-(3-아미노프로필)아민, 트리스-(2-아미노프로필)아민, 및 4,4',4''-트리아미노트리페닐아민으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카테콜 유도체는 하기 화학식 (III) 중 하나인 것인 방법:



(III)

여기서

R_{18} , R_{19} , R'_{18} 및 R'_{19} 는 동일하거나 또는 상이하며, 하기로 구성된 그룹으로부터 선택되고:

-H;

-OH;

$-NR_{20}R'_{20}$;

할로젠;

(C_1-C_{10}) 알킬;

(C_2-C_{10}) 알케닐;

-OH, 할로젠, 니트로, 시아노, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-NR_{21}R'_{21}$, $-C(O)OR_{22}$, 및 $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬;

-OH, 할로젠, 니트로, 시아노, (C₁-C₁₀)알킬, (C₁-C₁₀)할로알킬, -NR₂₃R'₂₃, -C(O)OR₂₄, 및 -O-(C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₂-C₁₀)알케닐;

1개 또는 2개의 고리로 구성되고, 각 고리는 (a) -C(R_y)₂-, -CR_y-, -N-, -NR'_y-, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 5 또는 6개의 구성원으로 구성되고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 단리, 부분 단리 또는 융합된 것인 알려진 고리 시스템;

R_y 중 하나 각각은 독립적으로 -H, -OH, (C₁-C₁₀)알킬, (C₂-C₁₀)알케닐, (C₂-C₁₀)알키닐, (C₁-C₁₀)할로알킬, -O-(C₁-C₁₀)알킬, 니트로, -NR₂₅R₂₅ 및 할로젠으로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R'_y는 -H, (C₁-C₁₀)알킬, (C₂-C₁₀)알케닐, (C₂-C₁₀)알키닐, 및 (C₁-C₁₀)할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R₂₀, R'₂₀, R₂₁, R'₂₁, R₂₃, R'₂₃, R₂₅, 및 R'₂₅는 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알키닐; -OH, 할로젠, 니트로, 시아노, (C₁-C₁₀)알킬, (C₁-C₁₀)할로알킬, -NR₂₆R'₂₆, -C(O)OR₂₇, 및 -O-(C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R₂₂ 및 R₂₄는 독립적으로 H, (C₁-C₁₀)알킬, (C₁-C₁₀)할로알킬, (C₂-C₁₀)알케닐; 및 (C₂-C₁₀)알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

R₂₆, R'₂₆ 및 R₂₇은 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; 및 (C₂-C₁₀)알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카테콜 유도체는 피로카테콜, 도파민, 피로갈롤, 카페산, 4-메틸카테콜 및 카테킨으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, pH는 6.5 내지 8 또는 7 내지 7.5를 포함하는 것인 방법.

청구항 9

청구항 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민 탄화수소는 상기 카테콜 유도체에 대해 과량의 몰비로 존재하는 것인 방법.

청구항 10

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 정의된 방법에 의해 수득 가능한 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 치료 분자 및 검출 표지로부터 선택된 하나 이상의 관심 분자를 추가로 포함하는 것인 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인.

청구항 12

접착제로서 청구항 10에 따른 카테콜아민-기반 멤브레인의 용도.

청구항 13

치료 또는 검출 표지와 같은 관심 분자의 비히클로서 청구항 10에 따른 카테콜아민-기반 멤브레인의 용도.

청구항 14

관심 분자가 요법에 사용하기 위한 치료 분자인 청구항 11에 정의된 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인, 또는 대안적으로 관심 분자가 진단에 사용하기 위한 검출 표지인 청구항 11에 정의된 자립형 카테콜아민-기반

멤브레인.

청구항 15

청구항 10 내지 11 중 어느 한 항에 정의된 멤브레인으로 부분적으로 또는 완전히 코팅된 물품 (article).

발명의 설명

기술 분야

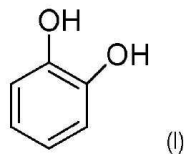
[0001] 본 출원은 2021년 6월 10일자로 출원된 유럽 특허 출원 제21382516.9호의 우선권을 주장한다.

[0002] 기술 분야

[0003] 본 발명은 카테콜아민-기반 멤브레인 (catecholamine-based membranes) 분야에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 자립형 카테콜아민 멤브레인 (self-standing catecholamine membrane), 이의 제조 방법 및 이의 용도를 제공한다.

배경 기술

[0004] 카테콜 유도체 (catechol derivatives)는 자연계, 동물계 및 식물계에 널리 분포되어 있으며, 이들 모두는 화학식 (I)의 방향족 코어를 공유하는 것을 특징으로 한다:



[0005]

[0006] 카테콜 유도체의 유명한 예 중 하나는 3,4-디하이드록시페닐알라닌 (DOPA)이다. DOPA는 공기에 노출되면, 산화되기 쉽다. 형성된 o-퀴논은 다양한 경로에서 다양한 친핵체와 추가로 반응하여 가교를 형성할 수 있다. 잘 알려진 친핵체로는 아민으로, o-퀴논과 Michael 첨가 또는 Schiff 염기 반응에 의해 반응하여 부가물을 형성할 수 있다.

[0007] 카테콜 유도체 및 아민 사이의 반응은 해양 유기체에 의한 접착 단백질의 가교, 곤충에 의한 세포골격의 형성 및 멜라닌의 생합성과 같은, 자연 생물학적 과정에서 매우 중요하다. 자연 유기체에서 나타나는 이러한 카테콜-아민 화학은 재료 과학에서 새로운 재료를 찾는 데 대한 관심이 높아지면서 많은 관심을 받았다.

[0008] 따라서, 여러 연구 그룹에서 카테콜 유도체와 아민의 반응 시에 겔 또는 방수 필름을 형성하는 수용성 폴리머를 개발하였다. 많은 간행물에서 카테콜아민-기반 코팅의 제조를 보고하였다. 예를 들어, Iacomino M. 및 동료들 (Iacomino M. et al., 2017)은 pH 9에서 카페인 (caffeic acid) 및 디아민 가교제를 포함하는 용액으로 기재를 담-코팅에 의해 코팅하는 것을 보고하였다. 상기 코팅 기재는 세포 성장을 촉진하는데 효과적이었다. Suarez-Garcia S. 및 동료들 (Suarez-Garcia S. et al., 2017)은 또한 카테콜 및 디아민의 공중합을 통해 수득된 박막을 사용한 기재 표면 (예: 유리, 금 및 실리카)의 관능화를 보고하였다.

[0009] 그러나, 이러한 코팅된 기재는 기재 자체가 제공하는 강성 (rigidity)으로 인해, 이의 사용이 제한된다. 그리고 카테콜아민 코팅은 기재에 강하게 부착되어, 요구되는 분리력을 견딜 만큼 코팅이 견고하지 않기 때문에, 기재를 손상시키지 않고 기재로부터 분리하는 것은 불가능하다.

[0010] 이러한 코팅이 보여주는 한계로 인해, 최근 몇 년간 잘 정의된 구조 및 조정 기능을 갖춘 독립형 폴리머 필름 (free-standing polymeric films)이 주목받았다. 층별 자가-조립 (layer-by-layer self-assembly: LbL), Langmuir-Blodgett 증착 방법, 스핀-코팅 (spin-coating), 캐스팅 (casting) 등과 같은 다양한 방법이 자체-지지 폴리머 필름 (self-supporting polymer films)을 제조하기 위해 개발되었다.

[0011] 따라서, 폴리머 필름에 대한 연구는 현재 편리하고 효율적인 합성 방법의 결여로 인해 여전히 엄격하게 제한된다. 예를 들어, 자체-지지 폴리머 필름은 가교된 자가-조립 단층 필름으로부터 표면-개시 중합 반응에 의해 제조될 수 있으며, 이는 박막 특성 뿐만 아니라 우수한 화학적 안정성 및 감수성을 갖는다. 그러나, 이러한 방법은 가교를 위해 전자빔의 사용을 필요로 하며, 가혹한 조건은 이러한 방법의 광범위한 응용에 영향을 미칠 수 있다. 조건을 보다 온화하게 하기 위해, 기체/액체 계면 조립 또는 비대칭 변형을 포함하는 방법이 또한 연구되

어, 공기-물 계면에서 폴리도파민 필름을 형성하였다. 그러나, 필름 재료는 제조 과정 중에 크랙이 발생하기 쉽고, 필름의 안정성이 떨어지는 것으로 나타났다. 다른 연구 그룹에서 지지 물질로서 폴리에틸렌이민 (PEI)을 사용하는 합성을 연구해 왔다. 예를 들어, Ponzio F. 및 동료들 (Ponzio F. et al., 2016)은 PEI를 사용하여 도파민 기반 멤브레인에 강인성 (hardiness)을 부여하는 방법을 개시하였다. 반응 조건에는 염기성 pH를 필요로 하며, 생물학적 환경하에 PEI의 존재는 독성 부산물을 제공하여, 이러한 멤브레인의 사용을 제한한다.

[0012] 상기 관점에서, 강력하고 조정 가능하며 안전한 카테콜아민-기반 멤브레인 뿐만 아니라 이의 제조 방법을 제공할 필요성이 여전히 존재한다.

발명의 내용

[0013] **발명의 요약**

[0014] 본 발명자들은 매우 유리한 기계적 특징 뿐만 아니라, 치료 및 진단 적용에 특히 유용한 분해성, 부착 및 세포 증식의 프로파일을 갖는 독립형 카테콜아민-기반 멤브레인을 수득하기 위한 새로운 방법을 개발하였다.

[0015] 하기에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 방법은 가교제로서 아민으로, 사슬의 각 말단에 말단 아민을 갖는 탄화수소 사슬인 지방족 아민 또는 방향족 아민의 특정 선택 뿐만 아니라, pH 및 교반의 엄격한 반응 조건에 기반한다. 놀랍게도, pH 반응 조건은 온화하여 생물학적 분자를 사용한 *in situ* 관능화 (*in situ* functionalization)를 가능하게 하며, 이는 염기성 조건하에 작동하는 선행 기술의 방법과 비교할 때 이점이 있다.

[0016] 따라서, 제1 양상에서, 본 발명은 카테콜아민-기반 멤브레인을 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0017] a) 카테콜 유도체를 하기로 구성된 그룹으로부터 선택된 아민과 가교결합하여 임의의 지지체 없이 공기/액체 계면에서 카테콜아민 멤브레인을 형성하는 단계로서, 상기 가교결합 반응은 액체 매질에서 수행하고, 상기 카테콜 및 아민 모두는 pH 6.5 내지 10, 구체적으로 pH 6.5 내지 8에서 교반하여, 구체적으로 적절한 교반하에 용해되는 것인 단계:

[0018] a.1) 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민

[0019] $A-B-A'$ (II)

[0020] 여기서

[0021] A 및 A'는 동일하거나 또는 상이하고, $-NR_1R'_1$ 을 나타내고,

[0022] B는 (C_1-C_{20}) 알킬렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_2$ 및 $-NR_3R'_3$ 으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{20}) 알킬렌; (C_2-C_{20}) 알케닐렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_4$ 및 $-NR_5R'_5$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_2-C_{20}) 알케닐렌; (C_2-C_{20}) 알키닐렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_6$ 및 $-NR_7R'_7$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_2-C_{20}) 알키닐렌; 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌; -OH, 할로젠, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_8$, 및 $-NR_9R'_9$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌; 및 알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌; 및 알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌을 나타내고;

[0023] A는 B 바이라디칼 탄화수소 백본 (biradical hydrocarbon backbone)의 일부를 형성하는 제1 원자 구성원에 결합되어 있고;

[0024] A'는 B 바이라디칼 탄화수소 백본의 일부를 형성하는 최종 원자 구성원에 결합되어 있고;

[0025] 여기서 "제1" 및 "최종" 원자 구성원은 B 바이라디칼 탄화수소 백본을 좌측으로부터 우측으로 또는 그 반대로 읽는 것으로 확인하고;

[0026] $R_1, R'_1, R_3, R'_3, R_5, R'_5, R_7, R'_7, R_9, R'_9, R_{11},$ 및 R'_{11} 은 동일하거나 또는 상이하고, -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₁₂ 및 -NR₁₃R'₁₃으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0027] $R_2, R_4, R_6, R_8, R_{10}$ 및 R_{12} 는 독립적으로 -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₁₄ 및 -NR₁₅R'₁₅로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0028] $R_{13}, R'_{13}, R_{14}, R_{15}$ 및 R'_{15} 는 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; 및 (C_2-C_{10}) 알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

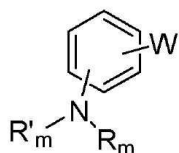
[0029] "알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌"은 $C(R_x)_2, CR_x, -N-, -NR'_x-, -S-,$ 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 3 내지 20개의 구성원으로 구성된 알려진 포화 사슬을 의미하며, 단 (a) 상기 구성원들 중 적어도 하나는 -N-, -NR_x-, -S-, 또는 -O-이고; (b) 상기 헤테로알킬렌의 백본을 형성하는 제1 구성원 및 최종 구성원은 탄소 원자이고;

[0030] "알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌"은 $C(R_x)_2, -CR_x-, -N-, -NR'_x-, -S-,$ 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 3 내지 20개의 구성원으로 구성된 알려진 불포화 사슬을 의미하며, 단 (a) 상기 구성원들 중 적어도 하나는 -N-, -NR_x-, -S-, 또는 -O-이고; (b) 상기 헤테로알킬렌의 백본을 형성하는 제1 구성원 및 최종 구성원은 탄소 원자이고; (c) 하나 이상의 이중 결합을 포함하고;

[0031] R_x 는 독립적으로 -H; -OH; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; (C_1-C_{10}) 할로알킬; O- (C_1-C_{10}) 알킬; -O- (C_2-C_{10}) 알케닐; -O- (C_2-C_{10}) 알키닐; 니트로, -NR_{x1}R_{x2}; -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₁₆ 및 -NR₁₇R'₁₇로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬; 및 할로젠으로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0032] $R_{x1}, R_{x2}, R_{16}, R_{17}, R'_{17},$ 및 R'_x 는 독립적으로 -H, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐 및 (C_1-C_{10}) 할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택됨; 및

[0033] a.2) 화학식 (IIbis)의 방향족 아민:



(IIbis)

[0034]

[0035] 여기서 W는:

[0036] -NR_tR'_t 또는

[0037] *S-S-L을 나타내고; 여기서, (*)는 W 라디칼의 S 원자가 방향족 고리의 일부를 형성하는 탄소 원자에 결합되어 있음을 나타내고;

[0038] L은 -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₂₈, 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C_1-C_{10}) 알킬; -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₂₈ 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C_1-C_{10}) 할로알킬; -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₂₈ 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C_2-C_{10}) 알케닐;

-OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₂₈ 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C₂-C₁₀)알킬닐; 및 5 또는 6개의 구성원을 가지며, 상기 구성원들 중 하나는 -CR_v-, -N-, -O-, -NR'_v, -S-로 구성된 그룹으로부터 선택된 알려진 방향족 고리로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0039] R_m, R'_m, R_t 및 R'_t는 동일하거나 또는 상이하고, H, (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알킬닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₂₉ 및 -NR₃₀R'₃₀으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬; 및 5 또는 6개의 구성원을 가지며, 상기 구성원들 중 하나는 -CR_z-, -N-, -NR'_z, -O-, 및 -S-로 구성된 그룹으로부터 선택된 알려진 방향족 고리로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0040] R_v 중 적어도 하나는 -NR₃₁R'₃₁이고, 나머지(들) R_v는 H, -NR₃₁R'₃₁, (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알킬닐; 및 -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₃₂ 및 -NR₃₃R'₃₃으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0041] R_z 및 R'_z는 독립적으로 H, (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알킬닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₃₄ 및 -NR₃₅R'₃₅로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0042] R₂₈, R'₂₈, R₂₉, R₃₀, R'₃₀, R₃₁, R'₃₁, R₃₂, R₃₃, R'₃₃, R₃₄, R₃₅, 및 R'₃₅는 독립적으로 -H; (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; 및 (C₂-C₁₀)알킬닐로 구성된 그룹으로부터 선택됨; 및

[0043] b) 단계 (a)에서 생성된 멤브레인을 공기/액체 계면으로부터 분리하는 단계.

[0044] 언급할 가치가 있는 것은 본 발명의 방법을 통해, 멤브레인의 형성은 액체-공기 계면에서 발생하며, 기재 (예: 유리, 금속) 또는 지지체를 인 시투 제공하는 폴리머 (예: 폴리에틸렌이민, PEI)의 사용을 피할 수 있다는 것이다.

[0045] 교반은 반응 매질에 O₂가 지속적으로 유입되는데 기여하며, 이는 또한 카테콜 유도체의 산화를 결정한다. 또한, 계면에서 아미노-기반 리간드와 가교결합하는 산화된 카테콜 모이어티의 확산을 가능하게 한다.

[0046] 화학식 (II)의 탄화수소 사슬의 각 말단에 말단 아민을 갖는 지방족 아민과 관련하여, 탄화수소 사슬의 한쪽 말단에만 말단 아민을 갖는 지방족 모노아민 (예: 헥실아민)을 사용하여 비교 테스트를 수행한 결과, 본 발명의 특정 반응 조건 하에 작동하면, 공기/물 계면으로부터 분리할 수 없는 취약한 멤브레인이 형성되는 것을 하기 나타낸 바와 같이 알 수 있다.

[0047] 본 발명의 방법의 추가의 이점은 저렴하고, 환경-친화적이며, 수성 매질 중에 2가지 출발 물질만 포함하고, 유해한 용매를 사용하지 않는다는 점이다.

[0048] 유리하게도, 본 발명자들은 또한 화학식 (IIbis)의 방향족 아민이 카테콜 유도체와 반응할 때 자립형 멤브레인을 제공할 수 있음을 발견하였다.

[0049] 본 발명의 방법은 생성된 특징을 정교하게 제어할 수 있다. 제어할 수 있는 특성들 중 하나는 멤브레인의 최종 두께이다. 이러한 제어는 농도 및 반응시간을 통해 쉽게 달성할 수 있다. 반응 시간이 길어지고, 개시 시약의 농도를 증가시키면 멤브레인이 더 두꺼워진다. 이러한 제어를 통해, 하기 제공되는 바와 같이, 주사 전자 현미경 (SEM) 및 원자력 현미경 (AFM)으로 측정 시에 두께가 50 nm 내지 3 μm 범위의 멤브레인을 제작할 수 있다. 더 두꺼운 멤브레인은 더 얇은 멤브레인과 비교하여 용이하게 취급된다는 점은 언급할 가치가 있다. 그럼에도 불구하고, 모든 경우에 특성화 및 사용 (관능화를 통해)을 위해 부유 멤브레인 (floating membranes)을 분리하는 것이 가능하였다.

[0050] 본 발명의 방법의 특별한 특징은 공기/액체 계면에서 카테콜아민-기반 멤브레인을 수득할 수 있다. 그러므로, 본 발명의 방법에 의해 수득 가능한 멤브레인은 독립형 멤브레인 (또한, 소위 자체-지지형 또는 자립형 멤브레인이라고 함)이며, 이는 중합을 위한 지지체를 필요로 하지 않는다는 것을 의미한다.

[0051] 그뿐만 아니라, 본 발명의 방법으로부터 생성된 멤브레인은 몇 가지 유리한 특성을 나타낸다. 하기에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 방법으로부터 생성된 멤브레인은 견고하고, 취급 및 조작성이 용이하고, 가요성이 높고, 파손

되지 않고 모든 종류의 표면에 조정 가능하였다. 실제로, 날카로운 도구 (예: 메스 또는 가위)를 사용하여 다양한 형태 (예: 정사각형, 직사각형)로 쉽게 절단하거나, 또는 목적하는 형태로 사전 제작된 몰드에서 생산할 수 있다. 탄화수소 사슬의 한쪽 말단에만 말단 아민을 갖는 지방족 모노아민으로부터 수득된 멤브레인은 지지체가 없을 때 취약해서 발명자들의 노력에도 불구하고 외형의 멤브레인을 수득할 수 없었던 것과는 대조적이다.

[0052] 또한, 본 발명의 독립형 멤브레인은 야누스 특성 (Janus character)을 나타낸다. 이들은 면에 따른 거칠기의 차이 뿐만 아니라, 비대칭 화학을 보여주었다. 특히, 본 발명자들은 (본 발명의 방법에서 생성된) 카테콜아민 나노입자에 기반한 나노패터닝 (nanopatterning)의 형성으로 인해 액체 매질 (예: 물)과 접촉하는 면은 거칠기가 더 높은 반면에, 공기-접촉 면은 더 매끄러운 것을 발견하였다. 놀랍게도, 본 발명자들은 본 발명의 멤브레인이 형성되고 초순수를 사용하여 세척하면, 멤브레인의 액체-접촉 면의 나노패터닝이 변함없이 유지된다는 사실, 즉 나노입자가 표면에 매립된 상태로 남아 있음을 발견하였다. 액체-접촉 면에서의 이러한 예상치 못한 나노패터닝은 본 발명의 멤브레인에 더 높은 거칠기 표면을 부여한다. 언급할 가치가 있는 것은 이러한 나노패터닝이 합성된 비교 PEI 멤브레인 및 기재에서는 관찰되지 않았으며, SEM으로 관찰 시에 양쪽 면이 유사한 지형 (topography)을 갖는다는 것이다. 이들 비교예에서는 양쪽 면이 다른 특징 없이 유사한 표면을 나타내었다.

[0053] 이러한 형태적 비대칭 특성은 액체-접촉 (실시예에서, 물-접촉) 면이 PEI를 사용하거나 또는 기재를 사용하는 비교 합성된 멤브레인에서 관찰되는 더 매끄러운 표면과 비교하여 더 나은 세포 부착을 촉진하므로 본 발명의 멤브레인에 부가 가치를 부여하며, 여기서 세포의 부착력은 매우 낮고, 이의 증식은 저밀도로 수득된다. 상기 기재의 경우, 상기 멤브레인은 기재로 인해 양쪽 면에서 거칠기가 약 3.5 nm인 양쪽 면에서 유사한 특징을 나타내었고, 이는 이후에 나노입자가 표면에 매립되어 나노패터닝을 형성하지 못하는 것을 방지한다.

[0054] 더욱이, PEI를 사용하여 수득된, 선행 기술의 자체-지지 멤브레인은 독성 부산물을 생성하기 때문에 동물과 접촉하여 사용할 수 없다. 유리하게는, 본 발명의 멤브레인은 안전하고, 동물 또는 인간과 접촉하여 사용하기에 적합하다. 하기에 나타낸 바와 같이, 멤브레인이 PEI를 포함하는 경우 (하기 실시예 참조)와는 반대로, 분해되더라도 세포는 본 발명의 멤브레인에 부착하여 성장할 수 있다.

[0055] 전체적으로, 본 발명의 멤브레인은 선행 기술에 보고된 카테콜아민-기반 멤브레인에 비해 개선된 특징을 나타낸다.

[0056] 상기 관점에서, 제2 양상에서, 본 발명은 본 발명의 제1 양상의 방법에 의해 수득 가능한 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인을 제공한다.

[0057] 하기에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 멤브레인의 특정 특성으로 인해, 세포의 부착 및 분화를 지원하는데 특히 효과적이며, 이는 고유의 재생 능력을 나타낸다.

[0058] 이는 크게 본 발명의 멤브레인에 의해 나타나는 거칠기 및 야누스 특성에 기인하며, 이는 또한 치료 프로파일 또는 시각화 수단을 사용하여 관심 분자로 쉽게 관능화될 수 있는 능력을 본 발명의 멤브레인에 부여한다.

[0059] 하기에 나타낸 바와 같이, 거친 표면에 세포의 부착이 선호되므로, 세포의 증식 및 성장을 증진시킨다. 이러한 특성은 손상된 부위에서 새로운 조직의 성장을 위한 플랫폼으로 사용될 수 있으므로 조직 재생에 멤브레인을 적용하는데 특히 중요하다.

[0060] 그러므로, 제3 양상에서, 본 발명은 요법 (therapy)에 사용하기 위한 하나 이상의 치료 분자를 추가로 포함하는 본 발명의 제2 양상에 정의된 카테콜아민-기반 멤브레인, 또는 대안적으로 진단에 사용하기 위한 하나 이상의 검출 표지를 추가로 포함하는 제2 양상에 정의된 카테콜아민-기반 멤브레인을 제공한다.

[0061] 본 발명의 제4 양상은 조직 재생에 사용하기 위한, 세포, 성장 인자 및 이들의 조합으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 관심 분자를 추가로 포함하는, 본 발명의 제2 양상에 정의된 카테콜아민-기반 멤브레인에 관한 것이다.

[0062] 제5 양상에서, 본 발명은 접착제 (예를 들어, 패치 형태)로서 본 발명의 제2 양상에 정의된 카테콜아민-기반 멤브레인의 용도를 제공한다.

[0063] 제6 양상에서, 본 발명은 관심 분자의 비히클로서 본 발명의 제2 양상에 정의된 카테콜아민-기반 멤브레인의 용도를 제공한다.

[0064] 마지막 양상에서, 본 발명은 본 발명의 제2 양상의 자립형 멤브레인으로 부분적으로 또는 전체적으로 코팅된, 의료 장치 및/또는 전자 부품 (예: 전극 또는 센서)과 같은 물품을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0065] 도 1은 다양한 멤브레인의 SEM 이미지에 해당한다. 본 이미지에서는 물-접촉 면 (e 및 h) 및 공기-접촉 면 (d 및 g) 사이의 서로 다른 지형을 관찰할 수 있다. 더욱이, 상기 멤브레인의 가요성은 균열 또는 틈이 없다는 사실로 입증된다. a) 높은 가요성을 나타내는 롤형 멤브레인 (1-7), b) 높은 가요성을 갖는 롤형 멤브레인 (3-7), c) 공기-접촉 면을 나타내는 롤형 멤브레인 (2-7); d) 멤브레인의 물-접촉 면 (2-7), e) 멤브레인의 물-접촉 면 (3-7), f) 공기-접촉 면이 노출되고 가요성을 나타내는 멤브레인 (5-7), g) 멤브레인 (1-11)의 공기-접촉 면 및 h) 멤브레인 (1-11)의 물-접촉 면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0066] 발명의 상세한 설명

[0067] 달리 명시하지 않는 한, 본 출원에서 사용된 모든 용어는 해당 기술 분야에 알려진 통상적인 의미로 이해되어야 한다. 본 출원에 사용된 특정 용어에 대한 다른 보다 구체적인 정의는 하기에 제시된 바와 같으며, 달리 명시적으로 제시된 정의가 더 광범위한 정의를 제공하지 않는 한, 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐 균일하게 적용될 것이다.

[0068] 본 발명의 목적을 위해, 주어진 임의의 범위는 해당 범위의 하한 및 상한 종점을 모두 포함한다.

[0069] 제1 양상에서, 본 발명은 카테콜아민-기반 멤브레인을 제조하는 방법을 제공한다.

[0070] 본 발명의 문맥에서, 용어 "카테콜아민-기반 멤브레인 (catecholamine-based membrane)" 및 "카테콜아민-기반 필름 (catecholamine-based film)"은 동일한 의미를 가지며, 상호교환적으로 사용될 수 있으며, 카테콜 유도체가 아민 화합물과 가교결합되어 만들어진 물질을 지칭한다. 본 발명의 맥락에서, 상기 카테콜 유도체는 화학식 (I)의 모이어티를 포함하는 임의의 화합물인 반면에, 상기 아민은 화학식 (II)의 지방족 아민 또는 화학식 (IIbis)의 방향족 아민이다. 가교결합은 적외선 (FT-IR) 또는 UV-가시광선 분광법과 같은 적합한 통상적 기술로 확인할 수 있다. 하기에 나타난 바와 같이, 본 발명자들은 카테콜 유도체 및 아민-기반 리간드 사이의 공유결합 형성을 검출함으로써 화학식 (II) 또는 (IIbis)의 아민과 카테콜 유도체의 성공적인 가교를 확인하였다. 이러한 공유결합 상호작용은 말단 아미노기와 반응하는 카테콜의 관능기에 따라 달라질 것이다. 통상, 아미노-기반 분자와 카테콜-유도체의 중합은 FT-IR 분광학을 사용하여 확증할 수 있다. 예를 들어, 3600-3000 cm^{-1} 범위에서 나타나는 하이드록실기와 관련된 세기 밴드 (intensity bands)의 감소는 공중합의 신호이다. 또한, 가교를 형성하는 카테콜 고리에 아미노-기반 리간드의 혼입은 1800-1650 cm^{-1} 범위에서 새로운 밴드의 출현을 통해 확인할 수 있다. 마지막으로, 아미노-기반 리간드에 존재하는 지방족 탄소의 혼입으로 3000-2500 cm^{-1} 범위에서 특정 밴드를 검출할 수 있다.

[0071] 본 발명에 따르면, 상기 카테콜 유도체는 화학식 (I)의 모이어티를 포함하는 것일 수 있다. 즉, 본 발명의 맥락에서 카테콜 유도체는 2개의 인접한 하이드록실기 (o-벤젠디올)를 나타내는 6원 방향족 고리를 포함하거나 또는 이로 구성된 임의의 화합물이다. 이러한 화학식 (I)의 카테콜 골격은 이를 모방하는 약물 (예: MDMA), 호르몬/신경전달물질, 및 차에서 발견되는 카테킨과 같은 다양한 천연물에서 나타난다. 많은 피로카테킨 유도체가 치료 용도로 제안되었다. 또한, 여러 회사 (예: 특히 Sigma-Aldrich, Alfa Aesar 및 Fisher Scientific)에서 상업적으로 이용 가능한 카테콜 유도체가 많이 있다. 예시되는 비-제한적인 예로는 특히 피로카테콜 (CAS RN 120-80-9), 피로갈롤 (CAS RN 87-66-1), 4-메틸카테콜 (CAS RN 452-86-8), 카페산 (CAS RN 331-39-5, 501-16-6, 71693-97-5), 도파민 (CAS RN 51-61-6, 62-31-7), 케르세틴 (CAS RN 117-39-5, 6151-25-3, 849061-97-8), 헥사하이드록시-트리페닐렌 (CAS RN 4877-80-9), 카테킨 (CAS RN 7295-85-4, 154-23-4, 18829-70-4, 225937-10-0), 갈산 (CAS RN 149-91-7, 5995-86-8), 탄닌산 (tannic acid) (CAS RN 1401-55-4), 및 에피갈로카테킨 갈레이트 (CAS RN 989-51-5)가 있다.

[0072] 본 발명의 맥락에서, 용어 "알킬 (alkyl)" (또는 "B" 바이라디칼로 지칭되는 경우 "알킬렌 (alkylene)")은 청구 범위 및 설명에 표시된 수의 탄소 원자를 함유하는 포화 선형 또는 분지형 탄화수소 사슬을 지칭한다. 알킬 기의 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, 부틸, 이소부틸, tert-부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노나닐, 데카닐 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0073] 본 발명의 맥락에서, 용어 "알케닐 (alkenyl)" (또는 "B" 바이라디칼로 지칭되는 경우 "알케닐렌 (alkenylene)")은 청구 범위 및 설명에 표시된 수의 탄소 원자를 함유하고, 하나 이상의 이중 결합(들)을 포함하

는 포화 선형 또는 분지형 탄화수소 사슬을 지칭한다. 알케닐 기의 예로는 에테닐, 프로페닐, 부테닐, 1-메틸-2-부텐-1-일 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0074] 본 발명의 맥락에서, 용어 "알키닐 (alkynyl)" (또는 "B" 바이라디칼로 지칭되는 경우 "알키닐렌 (alkynylene)")은 청구범위 및 설명에 표시된 수의 탄소 원자 및 하나 이상의 삼중 결합(들)을 함유하는 포화 선형 또는 분지형 탄화수소 사슬을 지칭한다. 알킬 기의 예로는 에틸, 1-프로필, 2-부틸, 1,3-부타디닐, 4-펜틸 및 1-헥실 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0075] 용어 "알려진 헤테로알킬렌 (known heteroalkylene)" 및 "알려진 헤테로알케닐렌 (known heteroalkenylene)"은 해당 기술 분야에 알려져 있어 화학적으로 가능하지 않은 헤테로 시스템은 배제하는 헤테로알킬렌 및 헤테로알케닐렌을 지칭한다.

[0076] 본 발명의 맥락에서, 용어 "알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌 (known 3 to 20-membered heteroalkylene)"은 탄소 및 헤테로원자 (즉, 탄소 원자 이외의 원자, 예컨대 N, O 또는 S)로부터 선택된 3 내지 20개의 원자를 포함하는 임의의 알려진 포화 사슬을 지칭하며, 단 불포화 사슬을 형성하는 제1 및 최종 원자는 탄소 원자 (A 및 A'가 결합되어 있음)이다. 예를 들어, 구성원 원자는 $-C(R_x)_2-$, $-CR_x-$, $-N-$, $-NR'_x-$, $-S-$, 및 $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 단 상기 구성원들 중 적어도 하나는 $-N-$, $-NR'_x-$, $-S-$, 또는 $-O-$ 이다. 상기 헤테로알킬렌 사슬은 선형 또는 분지형일 수 있다. R_x 는 독립적으로 $-H$; $-OH$; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; (C_1-C_{10}) 할로알킬; $O-(C_1-C_{10})$ 알킬; $-O-(C_2-C_{10})$ 알케닐; $-O-(C_2-C_{10})$ 알키닐; 니트로, $-NR_{x1}R_{x2}$; $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{16}$ 및 $-NR_{17}R'_{17}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬; 및 할로겐으로 구성된 그룹으로부터 선택된다. R_{x1} , R_{x2} , R_{16} , R_{17} , R'_{17} , 및 R'_x 는 독립적으로 $-H$, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐, 및 (C_1-C_{10}) 할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0077] 본 발명의 맥락에서, 용어 "알려진 3원 내지 20원 "헤테로알케닐렌 (heteroalkenylene)"은 하나 이상의 이중 결합을 포함하고, 탄소 및 헤테로원자 (즉, 탄소 원자 이외의 원자, 예컨대 N, O 또는 S)로부터 선택된 3 내지 20개의 구성원 원자로 이루어진 임의의 알려진 불포화 사슬을 지칭하며, 단 사슬을 형성하는 적어도 제1 및 최종 원자는 탄소 원자 (A 및 A'가 결합되어 있음)이다. 예를 들어, 상기 구성원 원자는 $-C(R_x)_2-$, $-CR_x-$, $-N-$, $-NR'_x-$, $-S-$, 및 $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 단 상기 구성원들 중 적어도 하나는 $-N-$, $-NR'_x-$, $-S-$, 또는 $-O-$ 이다. 상기 헤테로알킬렌 사슬은 선형 또는 분지형일 수 있다. R_x 는 독립적으로 $-H$; $-OH$; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; (C_1-C_{10}) 할로알킬; $O-(C_1-C_{10})$ 알킬; $-O-(C_2-C_{10})$ 알케닐; $-O-(C_2-C_{10})$ 알키닐; 니트로, $-NR_{x1}R_{x2}$; $-OH$, $-NO_2$, 시아노, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, $-C(O)OR_{16}$ 및 $-NR_{17}R'_{17}$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬; 및 할로겐으로 구성된 그룹으로부터 선택된다. R_{x1} , R_{x2} , R_{16} , R_{17} , R'_{17} , 및 R'_x 는 독립적으로 $-H$, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐, 및 (C_1-C_{10}) 할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0078] 본 발명의 맥락에서, 용어 "할로알킬 (haloalkyl)"은 청구범위 및 설명에 표시된 수의 탄소 원자를 함유하는 포화 선형 또는 분지형 탄화수소 사슬을 지칭하며, 여기서 탄소 원자들 중 적어도 하나는 적어도 하나의 할로겐으로 치환된다.

[0079] 알킬, 알케닐, 알키닐, 알킬렌, 알케닐렌 및 알키닐렌의 탄소 원자의 수는 탄소 수를 나타내는 하위 지수 형식의 숫자와 함께 "C" (탄소 원자 기호)로 표시된다. 따라서, "C₁"은 알킬이 단일 탄소 원자를 갖는 것을 의미하며; 예를 들어 "(C₁-C₂₀)" 형태의 범위에 대한 언급은 탄화수소가 탄소 원자 1 내지 20개를 갖는 것을 의미한다.

[0080] 용어 "알려진 고리 시스템"은 해당 기술 분야에 알려진 고리 시스템을 지칭하며, 화학적으로 가능하지 않은 고리 시스템을 배제하려는 의도이다.

[0081] 본 발명에 따르면, "단리된 (isolated)" 고리에 의해 형성된 고리 시스템은 고리 시스템이 2개, 3개 또는 4개의 고리로 형성되고, 상기 고리는 하나의 고리의 원자로부터 다른 고리의 원자까지 결합을 통해 결합되어 있음을 의미한다. 용어 "단리된"은 고리 시스템이 단 하나의 고리만을 갖는 구체예를 포함한다. 하나의 고리로 구성된 알려진 고리 시스템의 예시되는 비-제한적인 예로는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로프로페닐, 사이클로부테닐, 사이클로펜테닐, 페닐, 바이페닐 및 사이클로헥테닐로

부터 유래된 것이다.

[0082] 본 발명에 따르면, 표현 "융합된 고리 (fused rings)"는 완전히 융합된, 부분적으로 융합된, 또는 스피로 융합된 고리를 포함한다.

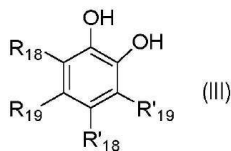
[0083] 본 발명에 따르면, 고리 시스템이 "완전히 융합된" 경우, 이는 고리 시스템이 2개 이상의 원자가 2개의 인접한 고리에 공통인 2개, 3개 또는 4개의 고리로 형성되는 것을 의미한다. 예시되는 비-제한적인 예로는 1,2,3,4-테트라하이드로나프틸, 1-나프틸, 2-나프틸, 안트릴 또는 페난트릴이다.

[0084] 본 발명에 따르면, 고리 시스템이 "부분적으로 융합된" 경우, 이는 고리 시스템이 3개 또는 4개의 고리로 형성되고, 상기 고리들 중 적어도 2개가 완전히 융합되고 (즉, 2개 이상의 원자가 2개의 인접한 고리에 공통임), 나머지 고리(들)는 하나의 고리의 원자로부터 융합된 고리들 중 하나의 원자로의 결합을 통해 결합되는 것을 의미한다.

[0085] 본 발명에 따르면, 상기 고리 시스템은 "스피로 융합"되는 경우, 이는 고리 시스템이 공통 원자를 공유하는 적어도 2개의 고리를 포함하는 것을 의미한다. 가장 단순한 스피로 화합물은 바이사이클릭 (단지 2개의 고리를 가짐)이거나, 또는 더 큰 고리 시스템의 일부로서 바이사이클릭 부분을 가지며, 두 경우 모두 정의된 단일 공통 원자를 통해 2개의 고리들이 연결되어 있다. 스피로 화합물은 완전 카보사이클릭 (모든 탄소) 또는 헤테로사이클릭 (고리 백본의 일부를 형성하는 하나 이상의 비-탄소 원자를 가짐)일 수 있다.

[0086] 본 발명의 맥락에서, 용어 "할로 (halo)" 및 "할로겐 (halogen)"은 상호교환적으로 사용되며, 클로로, 플루오로, 브로모 및 요오도로 구성된 그룹으로부터 선택된 할로겐 기를 지칭한다.

[0087] 일 구체예에서, 상기 카테콜 유도체는 하기 화학식 (III) 중 하나이다:



[0088]

[0089] 여기서

[0090] R_{18} , R_{19} , R'_{18} 및 R'_{19} 는 동일하거나 또는 상이하며, 하기로 구성된 그룹으로부터 선택되고:

[0091] -H;

[0092] -OH;

[0093] $-NR_{20}R'_{20}$;

[0094] 할로겐;

[0095] (C_1-C_{10}) 알킬;

[0096] (C_2-C_{10}) 알케닐;

[0097] -OH, 할로겐, 니트로, 시아노, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-NR_{21}R'_{21}$, $-C(O)OR_{22}$, 및 $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬;

[0098] -OH, 할로겐, 니트로, 시아노, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-NR_{23}R'_{23}$, $-C(O)OR_{24}$, 및 $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_2-C_{10}) 알케닐;

[0099] 1개 또는 2개의 고리로 구성되고, 각 고리는 (a) $-C(R_y)_2-$, $-CR_y-$, $-N-$, $-NR'_y$, $-S-$, 및 $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 5 또는 6개의 구성원으로 구성되고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 단리, 부분 단리 또는 융합된 것인 알려진 고리 시스템;

[0100] R_y 중 하나 각각은 독립적으로 -H, -OH, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, 니트로, $-NR_{25}R_{25}$ 및 할로겐으로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

- [0101] R'_y 는 -H, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐, 및 (C_1-C_{10}) 할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;
- [0102] R_{20} , R'_{20} , R_{21} , R'_{21} , R_{23} , R'_{23} , R_{25} , 및 R'_{25} 는 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, 할로젠, 니트로, 시아노, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-NR_{26}R'_{26}$, $-C(O)OR_{27}$, 및 $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;
- [0103] R_{22} 및 R_{24} 는 독립적으로 H, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_1-C_{10}) 할로알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐; 및 (C_2-C_{10}) 알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택되고;
- [0104] R_{26} , R'_{26} 및 R_{27} 은 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; 및 (C_2-C_{10}) 알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0105] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜 유도체는 R_{18} 및 R_{19} 가 동일하거나 또는 상이하고; -H; -OH; (C_1-C_{10}) 알킬; 상기 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬; 및 상기 정의된 바와 같이 치환된 (C_2-C_{10}) 알케닐로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것이다. 대안적인 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜 유도체는 R_{18} 및 R_{19} 중 하나가 2개의 고리로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) $-C(R_y)_2-$, $-CR_y-$, $-N-$, $-NR'_y-$, $-S-$, 및 $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 5-6개의 구성원으로 구성되고, (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 단리, 부분 단리 또는 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y 는 상기 정의된 바와 같다. 대안적인 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜 유도체는 R_{18} 및 R_{19} 중 하나가 2개의 고리로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) $-C(R_y)_2-$, $-CR_y-$, $-N-$, $-NR'_y-$, $-S-$, 및 $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y 는 상기 정의된 바와 같다. 대안적인 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜 유도체는 R_{18} 및 R_{19} 중 하나가 2개의 고리로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) $-C(R_y)_2-$, $-CR_y-$, $-N-$, $-NR'_y-$, $-S-$, 및 $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, 단 상기 고리들 중 적어도 하나는 -O-헤테로원자를 포함하고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y 는 상기 정의된 바와 같다. 대안적인 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜 유도체는 R_{18} 및 R_{19} 중 하나가 2개의 고리로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) $-C(R_y)_2-$, $-CR_y-$, $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, 단 상기 고리들 중 적어도 하나는 -O-헤테로원자를 포함하고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y 는 상기 정의된 바와 같다. 대안적인 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜 유도체는 R_{18} 및 R_{19} 중 하나가 2개의 고리로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) $-C(R_y)_2-$, $-CR_y-$, $-O-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, 단 상기 고리들 중 하나만이 -O-헤테로원자를 포함하고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0106] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜은 R_{18} 또는 R_{19} 중 하나가 -H이고, 다른 것은 상기 임의의 구체예에 정의된 바와 같은 것이다.
- [0107] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (III)의 카테콜 유도체는

R'_{18} 및 R'_{19} 가 -H이고, R_{18} 및 R_{19} 가 상기 임의의 구체예에 정의된 바와 같은 것이다.

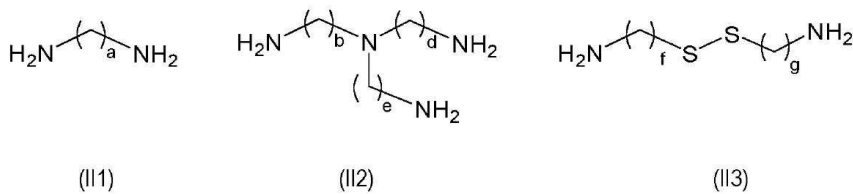
- [0108] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 카테콜 유도체는 피로카테콜, 도파민, 피로갈롤, 카페산, 4-메틸카테콜 및 카테킨으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0109] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 아민은 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0110] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 A 및 A'가 동일한 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 A 및 A'가 동일하거나 또는 상이하고, NHR'_1 을 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 A 및 A'가 동일하고, NHR'_1 을 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 A 및 A' 중 적어도 하나가 $-NH_2$ 를 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 A 및 A'가 동일하고, $-NH_2$ 를 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0111] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 (C_1-C_{20}) 알킬렌; 상기 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{20}) 알킬렌; 또는 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌을 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0112] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 (C_1-C_{20}) 알킬렌; 상기 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{20}) 알킬렌; 또는 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌을 나타내고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0113] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 상기 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 또는 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌을 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0114] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 상기 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 또는 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌을 나타내고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0115] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 (C_1-C_{15}) 알킬렌, (C_2-C_{15}) 알킬렌, (C_4-C_{15}) 알킬렌 또는 (C_5-C_{15}) 알킬렌을 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0116] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 (C_1-C_{15}) 알킬렌, (C_2-C_{15}) 알킬렌, (C_4-C_{15}) 알킬렌 또는 (C_5-C_{15}) 알킬렌을 나타내고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0117] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 3원 내지 10원 헤테로알킬렌 또는 4원 내지 8원 헤테로알킬렌을 나타내는 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원은 상기 정의된 바와 같이 탄소, S, 및 N 원자로부터 선택된 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원 중 하나는 $C(R_x)_2$, CR_x , $-NR'_x-$, 및 $-S-$ 로 구성된 그

로부터 선택되고, 상기 R_x 및 R'_x 는 상기 정의된 바와 같은 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.

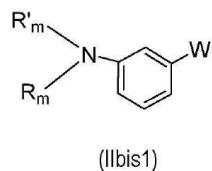
- [0118] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원은 상기 정의된 바와 같은 탄소, S 및 N으로부터 선택되고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0119] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 2개는 상기 정의된 바와 같이 S 원자이고, 다른 것은 탄소 원자인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 2개는 상기 정의된 바와 같이 S 원자이고, 다른 것은 탄소이며; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원은 상기 정의된 바와 같이 탄소 및 S 원자인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원은 상기 정의된 바와 같이 탄소 및 S 원자이고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원은 상기 정의된 바와 같이 탄소 및 $-NR'_x-$ 원자이고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 2개는 상기 정의된 바와 같이 S 원자이고, 나머지 구성원은 탄소 원자인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 1개는 상기 정의된 바와 같이 $-NR'_x-$ 이고, 나머지 구성원은 탄소 원자인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 2개는 상기 정의된 바와 같이 S 원자이고, 나머지 구성원은 탄소 원자이고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다. 상기 헤테로알킬렌이 2개의 S 원자를 포함하는 것인 이들 구체예에서, 상기 헤테로알킬렌은 또한 "알킬렌 디설파이드"로 지칭될 수 있다. 예시되는 비-제한적인 예로는 특히 시스타민, 4-아미노페닐 디설파이드 및 비스-아미노 폴리에틸렌글리콜 디설파이드이다.
- [0120] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 하나는 상기 정의된 바와 같이 $-NR'_x-$ 이고, 나머지 구성원은 탄소 원자이고; A 및 A'은 동일한, 예컨대 $-NH_2$ 인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0121] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 하나는 $C(R_x)_2$, CR_x , $-NR'_x-$, 및 $-S-$ 로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 여기서 R_x 및 R'_x 는 상기 정의된 바와 같은 것인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0122] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 B가 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고,
- [0123] (a) 상기 구성원들 중 하나 또는 2개는 $-S-$ 원자이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로부터 선택된 탄소 원자이

거나; 또는 대안적으로,

- [0124] (b) 상기 구성원들 중 하나 또는 2개는 $-NR'_x-$ 이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이고; 여기서 R_x 는 상기 정의된 바와 같고;
- [0125] (c) 상기 구성원들 중 하나는 $-S-$ 원자이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이거나; 또는 대안적으로,
- [0126] (d) 상기 구성원들 중 하나는 $-NR'_x-$ 이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이고;
- [0127] (e) 상기 구성원들 중 2개는 $-S-$ 원자이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이거나; 또는 대안적으로,
- [0128] (f) 상기 구성원들 중 2개는 NR'_x- 이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이고;
- [0129] 여기서 R_x 및 R'_x 는 상기 정의된 바와 같은 것인 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민이다.
- [0130] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민은 화학식 (II1)의 아민, 화학식 (II2)의 아미노, 및 화학식 (II3)의 아민으로 구성된 그룹으로부터 선택된다:



- [0131]
- [0132] 여기서 a 는 1 내지 20의 정수이고; b , d 및 e 는 독립적으로 1 내지 10의 정수이고, 보다 구체적으로 b , d 및 e 는 동일하고; f 및 g 는 독립적으로 1 내지 10의 정수이고, 보다 구체적으로 f 및 g 는 동일하다.
- [0133] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민은 헥사메틸렌디아민, 옥타메틸렌디아민, 도데카메틸렌디아민, 시스타민, 트리스-(3-아미노프로필)아민, 및 트리스-(2-아미노프로필)아민으로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 보다 구체적으로 헥사메틸렌디아민, 도데카메틸렌디아민, 옥타메틸렌디아민 및 시스타민으로부터 선택된다.
- [0134] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis)의 방향족 아민이다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis1)의 방향족 아민이다:



- [0135]
- [0136] 여기서 R_m , R'_m 및 W 는 상기 정의된 바와 같다.
- [0137] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 적어도 2개의 아미노기를 포함하는 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이다.
- [0138] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $-NR'_tR'_t$ 를 나타낸다.
- [0139] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아

민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 는 동일하다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 는 동일하고, -H를 나타낸다.

[0140] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, -H를 나타내고, R_t 및 R'_t 는 동일하고, 상기 정의된 바와 같다.

[0141] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_t 및 R'_t 는 동일하고, 수소가 아니다.

[0142] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m 및 R'_m 은 수소이고; R_t 및 R'_t 는 동일하고, 수소가 아니다.

[0143] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, -H를 나타내고, R_t 및 R'_t 는 본 발명의 제1 양상에 따라 상기 정의된 바와 같은 방향족 고리를 나타낸다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, -H를 나타내고, R_t 및 R'_t 각각은 본 발명의 제1 양상에 따라 상기 정의된 바와 같은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타낸다.

[0144] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_t 및 R'_t 각각은 상기 정의된 바와 같은 방향족 고리를 나타낸다.

[0145] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_t 및 R'_t 각각은 상기 정의된 바와 같은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타낸다.

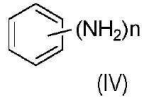
[0146] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_t 및 R'_t 각각은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 모든 구성원들은 $-CR_2-$ 이고, 여기서 R_2 는 상기 정의된 바와 같다.

[0147] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_t 및 R'_t 는 동일하고, 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 모든 구성원들은 $-CR_2-$ 이고, 여기서 R_2 는 상기 정의된 바와 같다.

[0148] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, -H를 나타내고, R_t 및 R'_t 각각은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 모든 구성원은 $-CR_2-$ 이고, 여기서 R_2 는 상기 정의된 바와 같다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, -H를 나타내고, R_t 및 R'_t 는 동일하고, 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 모든 구성원은 $-CR_2-$ 구성원이고, 여기서 R_2 는 상기 정의된 바와 같다.

[0149] 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아

민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1) 중 하나이고, $W = NR_tR'_t$, R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 중 하나 이상은 하기 화학식 (IV)을 가지며:



[0150]

[0151]

[0152]

여기서 n 은 1 또는 2, 특히 1이고, 다른 것(들)은 -H이다.

대안적으로, 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타낸다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고 -H를 나타낸다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, L 은 상기 정의된 바와 같은 방향족 고리를 나타낸다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, L 은 상기 정의된 바와 같은 방향족 고리를 나타낸다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, L 은 상기 정의된 바와 같은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타낸다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, L 은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 동일하거나 또는 상이하고, 상기 정의된 바와 같이 $-CR_v-$ 로 나타낸다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일하고, L 은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 동일하거나 또는 상이하고, 특히 동일하고, 상기 정의된 바와 같이 $-CR_v-$ 로 나타낸다.

[0153]

본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, L 은 상기 정의된 바와 같은 방향족 고리를 나타낸다.

[0154]

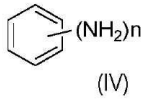
본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, L 은 상기 정의된 바와 같은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타낸다.

[0155]

본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, L 은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 동일하거나 또는 상이하고, 상기 정의된 바와 같이 $-CR_v-$ 로 나타낸다.

[0156]

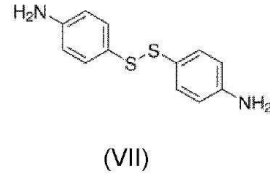
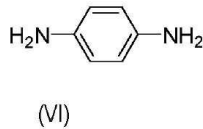
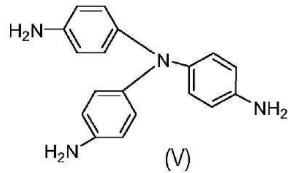
본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, L 은 하기 화학식 (IV)을 가지며:



[0157]

[0158]

n은 1 또는 2이고, 방향족 고리를 형성하는 탄소 원자들 중 하나는 -S- 원자에 결합되어 있다. 본 발명의 제1 양상의 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 화학식 (IIbis)의 아민은 화학식 (V), (VI) 또는 (VII) 중 하나이다:



[0159]

[0160]

일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 아민은 헥사메틸렌디아민, 옥타메틸렌디아민, 도데카메틸렌디아민, 시스타민, 트리스-(3-아미노프로필)아민, 트리스-(2-아미노프로필)아민, 및 4,4',4''-트리아미노트리페닐아민으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0161]

상기 카테콜 유도체 및 아민 용액은 별도로 제조한 다음에, 함께 혼합할 수 있다. 또는, 대안적으로, 카테콜 유도체 및 아민 중 하나를 용액 형태로 제조하고, 다른 하나를 공급자로부터 직접 입수하여 부가할 수 있다.

[0162]

상기 용액(들)을 제조하기 위한 적절한 용매 시스템은 카테콜 및 아민의 극성 성질에 따라 달라질 것이며, 이는 당업자의 일반적인 지식의 일부이다. 카테콜 및 아민 모두는 동일한 용매 시스템에 용해시켜서 가교 반응을 수행해야 한다. 일 구체예에서, 카테콜 및 아민을 수용액 형태로 제조한다. 용어 "수용액 (aqueous solution)"은 물로만 구성된 용액 뿐만 아니라, 물 + 알코올 또는 수성-기반 버퍼와 같은 다른 극성 용매와 물의 조합을 포함한다. 상기 수용액은 상기 화합물을 물과 단순히 혼합함으로써 수득한다. 어느 경우든, 카테콜 및 아민을 혼합하는 경우, 이러한 단계는 (공기/액체 계면에서 필름 형성을 적절하게 촉진하기 위해) 교반하에 수행한다.

[0163]

일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 용액의 pH는 6.5 내지 8 또는 7 내지 7.5를 포함한다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, pH는 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9 또는 10이다. 의도한 pH 값을 제공하기 위해 반응 매질에 부가될 수 있는 상업적으로 이용 가능한 버퍼가 잘 알려져 있다. 예시되는 비-제한적인 예는 포스페이트-완충 식염수 (PBS), 카보네이트-바이카보네이트 및 시트레이트이다. 상기 버퍼는 카테콜 유도체 및 아민의 부가와 관련하여 반응 매질에 임의의 순서로 부가될 수 있다.

[0164]

일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 액체 매질은 수성-기반 버퍼, 보다 구체적으로는 질소 원자 또는 아미노기가 없는 수성-기반 버퍼, 더욱 구체적으로는 포스페이트 버퍼, 카보네이트 버퍼 및 시트레이트 버퍼로 구성된 그룹으로부터 선택된 수성-기반 버퍼를 포함한다.

[0165]

다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 액체 매질은 물이다.

[0166]

pH가 조정되면, 교반이 또한 조정된다. 교반은 가교의 전체 단계 동안 수행될 수 있다. 이러한 구체예에서, 당업자가 인지할 수 있는 바와 같이, 교반 속도는 멤브레인의 적절한 형성을 방해하므로 와류 (turbulences)를 제공하지 않을 수 있다. 속도가 적절한지 여부는 당업자가 쉽게 확인할 수 있으며; 반응 매질에서 와류가 관찰되지 않는 경우, 이는 속도가 적절하다는 것을 나타낼 것이다. 조정 시에 당업자가 액체 매질에서 와류의 개시를 관찰한 경우, 이는 속도가 적절하지 않으며 상기 와류가 사라질 때까지 속도를 감소시켜야 함을 나타낼 것이다. 전체 가교 단계 중에 사용되는 적절한 교반 수단은 공기/액체 계면에서 와류를 피하기 위해 가능한 가장 낮은 속도를 사용하고 전체 과정 동안 균일하며, 교반 절차에 관련된 자석 또는 기계 부품의 불규칙한 움직임을 방지하는 자기 (또는 기계적) 수단이다. 당업자는 반응기의 부피, 액체 매질 및 교반 수단에 따라 적절한 교반 속도를 일상적으로 결정할 수 있다. 예를 들어, 부피가 약 20 mL인 하기 제공된 실시예의 경우, 발명자들은 자기 교반기를 사용하여 500 rpm보다 낮은 속도로 적절한 교반을 확립하였다. 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 교반 속도는 450 rpm 이하, 400 rpm 이하, 또는 350 rpm 이하이다.

[0167]

대안적으로, 상기 교반은 가교 반응의 일부 동안 수행될 수 있다. 이러한 구체예에서, 교반 속도는 선택적일 수 있으며: 일단 교반이 중단되면, 반응 매질을 일정 시간 동안 방치하고, 예컨대 아미노-기반 리간드와 가교결합

시킨 산화된 카테콜 모이어티가 계면에서 확산되고 배열되어 멤브레인을 형성한다. 이러한 대안적 구체예에서, 예를 들어 카테콜 모이어티의 산화로 인해 시각적인 색상 변화가 검출되는 경우 교반이 중단될 수 있다. 그 다음에, 아미노-기반 리간드와의 공중합 반응을 완료하고, 공기/액체 계면에 부유 멤브레인이 형성되는 것으로 마무리된다.

- [0168] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 교반은 전체 가교 단계 동안 또는 대안적으로 가교 반응의 일부 동안 수행된다.
- [0169] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 와류가 제공되지 않도록 전체 가교 단계 동안 교반을 수행하며, 보다 구체적으로 교반 속도는 450 rpm 이하, 400 rpm 이하 또는 350 rpm 이하이다.
- [0170] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 공기/액체 계면에서 와류를 피하기 위해 가능한 가장 낮은 속도를 사용하고 전체 과정 동안 균일하며, 교반 절차에 관련된 자석 또는 기계 부품의 불규칙한 움직임을 방지하는 교반을 수행하며, 보다 구체적으로 교반 속도는 450 rpm 이하, 400 rpm 이하, 또는 350 rpm 이하이다.
- [0171] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 교반은 가교 반응의 일부 동안에만 수행되며, 특히 색상의 변화가 관찰될 때까지 와류가 제공되지 않도록 교반이 수행된 다음에, 중단되고, 더욱 특히 10분 내지 2시간 동안 교반이 수행된 다음에 중단된다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 화학식 (II) 또는 (IIbis)의 아민은 상기 카테콜 유도체에 대해 과량의 몰비로 존재하며, 특히 화학식 (II)의 아민 화합물 대 카테콜 유도체의 몰비는 1.1:1 내지 3:1, 특히 1.2:1 내지 2:1을 포함한다.
- [0172] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 가교 단계는 10 내지 60 °C, 특히 10 내지 50 °C, 12 내지 40 °C 또는 15 내지 38 °C를 포함하는 온도에서 수행한다.
- [0173] 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 가교 단계는 적어도 24시간 동안 수행한다. 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 단계 (a)는 pH 7 내지 7.5의 값 및 교반 속도 300 rpm 이하에서 수행한다. 다른 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 단계 (a)는 pH 7 내지 7.5의 값, 교반 속도 300 rpm 이하에서 수행하고, 하기 화학식 (II)의 아민 화합물 대 카테콜 유도체의 몰비는 1.1:1 내지 3:1, 특히 1.2:1 내지 2:1을 포함한다.
- [0174] 당업자는 반응 시간 또는 시약의 농도와 같은 일상적인 파라미터를 조정할 수 있으며, 이는 멤브레인의 최종 두께를 조정하는데 도움이 된다.
- [0175] 가교 단계가 완료되고 카테콜아민 멤브레인이 임의의 지지체 없이 공기/물 또는 공기/액체 계면에서 형성되면, 이는 상기 매질로부터 단리된다. 예를 들어 핀셋을 사용하여 수동으로 (실험실 규모); 또는 예를 들어 고리 모양의 도구를 사용하여 기계적으로 (산업 규모) 수행할 수 있다.
- [0176] 제2 양상에서, 본 발명은 제1 양상 또는 상기 임의의 특정 구체예에서, 상기 정의된 본 발명의 방법에 의해 수득할 수 있는 카테콜아민-기반 멤브레인을 제공하였다.
- [0177] 그러므로, 공정과 관련하여 상기 제공된 모든 구체예는 또한 본 발명의 이러한 제2 양상의 구체예이다.
- [0178] 용어 "수득 가능한" 및 "수득한"은 동일한 의미를 가지며, 상호교환적으로 사용된다. 어떤 경우든, 표현 "수득 가능한"은 용어 "수득한"을 포함한다.
- [0179] 본 발명의 멤브레인이 나타내는 화학적 비대칭성은 상기에서 이미 설명한 바와 같이 플랫폼으로서 더 높은 다양성 및 다양한 관능화 옵션을 제공한다. 상기 멤브레인의 각 면에 서로 다른 화학 기를 가지면 이의 활성화에 따라 특정 분자를 고정시킬 수 있다. 예를 들어, 더 거친 물-접촉 면에는 성장 인자를 사용하여 관능화하고, (덜 거친) 공기-접촉 면에는 재생 과정 중에 감염을 방지하기 위해 항박테리아 모이어티를 사용하여 관능화할 수 있다. 이러한 이유로, 상기 멤브레인의 각 면에 노출된 화학 기가 상이하기 때문에, 이러한 멤브레인들의 다양성은 면에 따라 상이한 화학적 성질의 (바이오)분자를 사용하여 관능화할 수 있다.
- [0180] 그러므로, 일 구체예에서, 본 발명의 카테콜아민-기반 필름은 하나 이상의 관심 분자, 예컨대 치료 분자 (예: 펩티드, 단백질 또는 항체, 예컨대 항박테리아 모이어티 (예: 세트리마이드 (cetrimide) 또는 은 나노입자) 또는 성장 인자 (예: FGF-2 또는 TGFβ 3) 또는 검출 표지 (예: 칼세인, 나노입자, 예컨대 금속 나노입자 또는 항

체)를 포함한다.

- [0181] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 상기 카테콜아민-기반 멤브레인은 치료 분자, 세포, 성장 인자, 검출 표지 (형광 활성 모이어티, 나노입자 또는 항체) 및 이들의 조합으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 관심 분자를 추가로 포함한다.
- [0182] 본 발명은 또한 하나 이상의 관심 분자를 포함하는 본 발명의 카테콜아민-기반 멤브레인을 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함하고:
- [0183] (i.1) 본 발명의 제1 양상 또는 이러한 양상의 임의의 구체예에 정의된 바와 같은 방법의 단계 (a)를 수행하는 단계,
- [0184] (i.2) 반응 매질에 관심 분자를 추가하는 단계; 및
- [0185] (i.3) 본 발명의 제1 양상의 방법의 단계 (b)를 수행하는 단계;
- [0186] 또는 대안적으로, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0187] (ii.1) 본 발명의 제2 양상의 카테콜아민-기반 멤브레인을 관심 분자와 인큐베이션하는 단계.
- [0188] 단계 (i.2)는 공급자로부터 입수하거나 또는 수성 현탁액의 형태로 (제조자의 지침에 따라) 관심 분자를 반응 매질에 직접 추가하여 수행한다. 본 발명의 방법에 사용되는 온화한 조건은 유리하게는 멤브레인이 형성된 자체 반응 매질에서 멤브레인의 관능화를 가능하게 하며, 이는 유리하게 공정을 단순화하여, 시간 및 비용을 절감시킨다. 상기 멤브레인이 공기/물 또는 공기/액체 계면에서 형성되기 때문에, 상기 부가 단계는 반응 매질에 용액을 붓는 방식으로 수행할 수 있거나, 또는 상기 멤브레인이 반응 매질의 전체 표면을 커버하는 경우에는 분자의 용액을 상기 반응 매질에 멤브레인을 통해 주입하여 수행할 수 있다. 후자는 멤브레인의 완전성에 부정적인 영향을 미치지 않으며, 이는 본 발명의 멤브레인의 견고성 및 개선된 기계적 특성을 추가로 나타낸다.
- [0189] 단계 (ii.1)의 경우에, 상기 멤브레인은 이미 계면으로부터 단리되었다. 그러므로, 상기 멤브레인은 관심 분자를 갖는 용액을 포함하는 매질에 혼입될 수 있거나 (매질과 접촉하는 면이 관능화됨), 또는 대안적으로 상기 멤브레인을 매질에 혼입시키고 분자를 포함하는 용액을 상기 용액에 주입하였다. 관능화된 면은 사전에 선택되어, 관심 분자를 함유하는 액체 (수성) 상과 접촉하는 목적하는 면에 멤브레인을 증착시킬 수 있다. 상기 멤브레인에는 고정점으로 사용할 수 있는 표면에 노출된 관능기를 갖는다.
- [0190] 관심 분자로 멤브레인 표면의 관능화는 공유 결합, 흡착 또는 정전기적 상호작용에 의해 발생할 수 있다. 공유 결합의 경우에, 관심 분자의 화학적 성질에 따라 친핵성 또는 친전자성 공격을 통해 관능화를 수행할 수 있다. 예를 들어, 아실 클로라이드 (예: 스테아로일 클로라이드)의 존재는 아미노-말단 기의 존재하에 친전자체로서 작용할 수 있다. 반면에, 아미노기 (예: 핵사데카민) 또는 티올기 (예: 1,8-옥탄디티올)는 카테콜-유도체의 고리에 공유 결합되는 친핵성 분자로서 작용할 수 있다. 게다가, 관심 분자의 백본에 카복실산이 존재하면 멤브레인 표면에 노출된 말단 아미노기와 아미드 결합 (펩티드-유사 결합)을 형성하는데 사용될 수 있다. 마지막으로, 멤브레인의 백본에 관심 분자가 포획되어 분자의 물리적 흡착이 유도될 수 있다. 본 발명의 일 구체예에서, 상기 관심 분자는 본 발명의 제2 양상의 멤브레인 표면에 공유 결합된다.
- [0191] 일 구체예에서, 선택적으로 상기 또는 하기 제공된 임의의 구체예와 조합하여, 본 발명의 카테콜아민-기반 멤브레인은 치료 분자 및 검출 표지 (형광 활성 모이어티, 나노입자 또는 항체)로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 관심 분자를 추가로 포함한다. 보다 구체적으로, 상기 관심 분자는 특히 아미드 결합에 의해, 멤브레인 에 공유 결합된다.
- [0192] 상기 공유 결합은 본 발명의 멤브레인의 유리 아미노기 및 관심 분자의 유리 카복실기 사이에 결합된 아미드를 생성하는 것과 같은, 임의의 일상적인 프로토콜에 의해 달성될 수 있다. 이러한 경우에, 커플링 반응은 (1-에틸-3-(3-디메틸아미노) 프로필 카보디이미드, 염산염 (EDC) 및 N-하이드록시숙신이미드 (NHS)를 사용하여 수행할 수 있다. 일반적인 절차로서, 형성된 멤브레인을 상기 지정한 범위 내의 버퍼를 갖는 더 큰 직경의 페트리 디쉬에 도입할 수 있다. 그 다음에, EDC를 수성상에 주입한다. 적절한 기간, 예컨대 30분 후에, 활성 (바이오)분자 (예: 항박테리아 모이어티, 형광 염료, 성장 인자 등)를 NHS 제제와 함께 수성상에 주입한다. 반응을 공유 결합 형성을 보장하기에 충분한 시간, 예를 들어 60분 동안, 500 rpm 이하로 천천히 교반한다. 그 다음에, 관능화된 멤브레인을 페트리 디쉬로부터 추출하여 세척할 수 있다. 관능화는 멤브레인의 양쪽 면에서 독립적으로 제어 및 유도하여, 멤브레인의 화학적 야누스 거동을 증진시킬 수 있다. 말단 티올, 아민 또는 아실 클로라이드와 같은 다양한 관능기를 갖는 다른 카테콜 유도체가 또한 카테콜-유도체의 고리 또는 멤브레인 상의 노출된 관능기에

대한 친핵성 또는 친전자성 공격을 통해 관능화될 수 있다. 상기 절차는 이전에 설명한 것과 유사할 수 있다. 일부 파라미터 예컨대 pH 또는 용매는 관심 분자 및 멤브레인 사이의 반응을 활성화하기 위해 일상적으로 조정되거나 또는 선택될 수 있다.

- [0193] 상기에서 설명되고 하기에 상세히 논의된 바와 같이, 본 발명의 멤브레인의 특정 야누스 특징은 양쪽 면에 효율적인 관능화를 가능하게 하며, 이는 선행 기술에서 이미 보고된 멤브레인에 대한 추가의 구별되는 특징이다.
- [0194] 이와 같은 본 발명의 멤브레인은 선행 기술의 멤브레인과 비교할 때 개선된 세포 부착성을 나타낸다. 이는 접착제로서의 유용성을 뒷받침한다.
- [0195] 그뿐만 아니라, 특정 야누스 분포로 인해, 본 발명의 멤브레인은 다양한 타입의 분자로 관능화될 수 있으며, 이는 치료 또는 진단 분자의 비히클로서의 유용성을 뒷받침한다.
- [0196] 상기에 추가하여, 물질의 특정 특성으로 인해, 본 발명의 멤브레인은 또한 접착제로서 사용될 수 있거나, 또는 이러한 부착 특성으로 인해, 카테콜아민 멤브레인을 필요로 하는 모든 물품 (예: 의료 장치, 전자 지지체 또는 센서)을 코팅하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 멤브레인은 다른 기재 또는 장치의 일부로서 사용될 수 있어서, 최종 제품에 증진된 특성을 부여할 수 있다. 예를 들어, 보철물은 생체적합성을 증진하고 부작용 또는 유기체 거부반응을 줄이기 위해 멤브레인으로 전체 또는 부분적으로 커버할 수 있다. 추가로, 센서 또는 전자 지지체는 본 발명의 멤브레인을 사용하여 생물학적 조직 또는 장치에 부착될 수 있다. 상기 센서 또는 전자 지지체는 단일 플랫폼에서 멤브레인의 일부로 사용되거나 또는 혼성 복합체를 형성할 수 있으며, 상기 센서 또는 전자 지지체는 접착 패치 (adhesive patches)로서 적용된 멤브레인의 도움으로 목적하는 영역에 부착된다.
- [0197] 상기 설명 및 청구범위 전반에 걸쳐, 단어 "포함하다" 및 이러한 단어의 변형은 다른 기술적 특징, 첨가제, 구성 요소 또는 단계를 배제하려는 의도는 아니다. 또한, 단어 "포함하다"는 "구성된"의 경우를 포함한다. 본 발명의 추가적인 목적, 이점 및 특징은 상기 설명을 검토하면 당업자에게 명백해지거나, 또는 본 발명의 실시를 통해 학습될 수 있다. 하기 실시예는 예시로서 제공되며, 본 발명을 제한하려는 의도는 아니다. 또한, 본 발명은 본원에 기재된 특정 구체예 및 바람직한 구체예의 모든 가능한 조합을 포함한다.

[0198] 실시예

[0199] 1. 물질

[0200] 카테콜-기반 화합물 (피로카테콜 (1), 카페산 (2), 도파민 (3), 4-메틸카테콜 (4), 피로갈롤 (5), 및 카테킨 (6)) 및 화학식 (II)의 아민 화합물 (헥사메틸렌디아민 (7), 옥타메틸렌디아민 (8), 도데카메틸렌디아민 (9), 시스타민 (10), 트리스-(3-아미노프로필)아민 (11), 트리스-(2-아미노프로필)아민 (12) 및 4,4',4''-트리아미노트리페닐아민 (13)), 및 비교 핵실아민 및 폴리에틸렌아민 (PEI)은 Sigma-Aldrich (Merck, Madrid, Spain)로부터 구입하여, 추가 정제 없이 사용하였다. 달리 명시하지 않는 한, 모든 실험에는 Milli-Q 여과 시스템 (Millipore, Burlington, MA, USA)의 타입 1 초순수를 사용하였다. 일부 실험에서, 다양한 물-기반 버퍼를 사용하였고: 포스페이트-완충 식염수 (PBS, pH 7.4, Sigma-Aldrich) 및 수성 카보네이트 버퍼 (pH 9.1)를 제조하고, 1.89 g의 NaHCO_3 및 265 mg의 Na_2CO_3 을 250 mL의 Milli-Q 수에 용해시켰다.

[0201] 2. 방법

[0202] 2.1 물리화학적 특성 분석

[0203] FT-IR (Fourier Transform Infrared) 분광학. FT-IR 스펙트럼은 실온 검출기 및 mid-IR 광원 (4000 내지 400 cm^{-1})이 장착된 Tensor 27 FTIR 분광계 (Bruker Optik, GmbH, Berlin, Germany)를 사용하여 기록하였다.

[0204] A) 다이아몬드 감쇠 전반사율 (ATR, model MKII Golden Gate, Specac)의 윈도우 반사 (window reflection)에 고체 샘플을 증착시켜서 시약의 특성 분석. 이러한 방법을 사용하여 시약의 IR을 특성화하였다.

[0205] B) 멤브레인의 특성 분석. 15배 반사 대물렌즈, 참조로 금 거울을 사용하여 질소-냉각된 수은-카드뮴-텔루라이드 (MCT) 검출기 (InfraRed Associates, Inc., Stuart, FL, USA)가 장착된, 반사 모드로 Hyperion 2000 FTIR 현미경 (Bruker Optik, GmbH, Ettlingen, Germany)을 사용하고, 4 cm^{-1} 의 해상도로 1분 동안 스캔하였다. 분석을 위해, 샘플을 금 표면에 증착시켰다.

[0206] 수득된 모든 데이터는 Opus version 7.2.139.1294 (Bruker) 소프트웨어를 사용하여 처리하였다. FT-IR 분석을 위한 금-코팅된 유리 기재를 제공하였다.

- [0207] X-선 광전자 분광법 (X-Ray Photoelectron Spectroscopy: XPS). 초고진공 조건 (기본 압력 10^{-10} mbar, 잔류 압력 약 10^{-7} mbar)에서 Phoibos 150 분석기 (SPECS EAS10P GmbH, Berlin, Germany)를 사용하여 측정을 수행하였다. 단색 Al K α 라인은 X-선 광원 (1486.6 eV 및 300 W)으로서 사용하였다. 전자 에너지 분석기는 통과 에너지 50 eV로 작동하였다. 반구형 분석기는 샘플 표면에 수직으로 위치하였다. 데이터는 0.5초의 체류 시간 (dwell time)으로 eV마다 수집하였다. 20 eV보다 낮은 에너지를 갖는 전자의 플러드 건 (flood gun)을 전하를 보상하는데 사용하였다. 샘플을 실리콘 기재 상에 증착시켰다. 모든 데이터는 CasaXPS version 2.3.17PR1.1 (Casa Software LTD, Teignmouth, UK) 및 OriginPro version 8.0988 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA) 소프트웨어로 처리하였다.
- [0208] 주사 전자 현미경 (Scanning Electron Microscopy: SEM). 이미지는 빔 전압 20 kV 및 챔버 압력 10^{-5} Pa의 2차 전자 모드로 주사 전자 현미경 (SEM) (FEI Quanta 650 FEG, Thermo Fisher Scientific, Eindhoven, The Netherlands)을 사용하여 획득하였다. 작동 거리는 10 mm로 설정하였고, 최종 이미지에 대해 다양한 배율들을 테스트하였다. 샘플은 알루미늄 스테르브 상에 독립형 멤브레인을 증착시켜서 제조하였다. 분석을 수행하기 전에, 스퍼터 코터 (Leica EM ACE600)를 사용하여 얇은 백금 코팅 (5 nm)을 표면에 증착시켜서 샘플에 금속화하였다. 알루미늄-태핑 지지체 (핀 스테르브)를 제공하였다.
- [0209] 원자력 현미경 (Atomic Force Microscopy: AFM). 다양한 샘플의 표면 지형 이미징 (Surface topography imaging)은 빔 모양의 실리콘 캔틸레버 (Nanosensors, nominal force constant: $5 \text{ N} \cdot \text{m}^{-1}$, tip radius: $\sim 7 \text{ nm}$)를 사용하여 주위 공기에서 태핑 모드로 PicoScan5 version 1.20 (Keysight Technologies) 소프트웨어와 조합된 Agilent 5500 AFM/SPM 현미경 (Keysight Technologies, Santa Clara, CA, USA)에서 수행하였다. 외부 X-Y 포지셔닝 시스템 (closed-loop, 12 NPXY100E from nPoint, USA)을 사용하였다. 이미지 처리는 오픈 소스 소프트웨어인 WSxM version 3.1 (Nanotec Electronica, Madrid, Spain) 및 Gwyddion version 2.46 (CMI, Brno, Czech Republic)을 사용하여 수행하였다.
- [0210] 접촉각 (Contact Angle: CA). 15 μL 물 소적을 사용하여 EasyDrop 접촉각 측정기 (KRUESS GmbH, Hamburg, Germany)를 사용하여 정적 접촉각 측정을 수행하였다. 전체 표면의 평균을 획득하기 위해 각 멤브레인을 3개의 서로 다른 지점에서 측정하였다. 측정은 소적 증착 후 대략 1분 동안 수행하였다.
- [0211] 광학 및 형광 현미경 (Optical and Fluorescence Microscopy: OM). Zeiss Axio Observer Z1m (Carl Zeiss AG, Jena, Germany)을 사용하여 투과 모드로 이미지를 획득하였다. 멤브레인을 유리 기재에 부착시켰다. 광학 이미지는 명시야에서 촬영하였고, 형광 이미지는 서로 다른 형광 프로브 DAPI 및 Alexa 488 사이를 변경하여 획득하였다.
- [0212] UV-vis 분광학 (UV-vis spectroscopy). 자외선-가시광선 분광법 (UV-vis)은 200 내지 800 nm 범위의 파장 및 1 cm 경로 길이의 석영 큐벳 (QS 10 mm) 내에서 Cary 4000 UV-vis 분광계 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 수행하였다. 순수한 용매의 블랭크 샘플을 사용하여 기준선을 수정하였다. 모든 측정은 대기 조건에서 수행하였다.
- [0213] 2.2 생물학적 특성 분석
- [0214] a) 세포 배양. 멤브레인 테스트를 위해 다양한 세포주들을 사용하였다: 인간 자궁경부 암종 세포 HeLa (ATCC® CCL-2), 섬유모세포 세포주 NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658), 지방-유래 중간엽 ASC 세포 (ATCC® PCS-500-011)를 LGC Standards S.L.U. (Barcelona, Spain)에서 구입하였다. 기본 배지 (DMEM, Glutamax 및 글루코스)에 모두 10% 우태아 혈청, 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 페니실린 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스트렙토마이신 (Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 보충하였다. 모든 세포 배양은 5-10% CO_2 대기하에 37°C의 가습 인큐베이터에서 유지하였다.
- [0215] b) 멤브레인의 분해. 마우스 혈장내 멤브레인의 안정성은 3개월에 걸쳐 다양한 시간 간격에서 결정하였다. 이를 위해, 멤브레인을 37°C, pH 7.4 (BioIVT, Hicksville, NY, USA)의 마우스 혈장과 인큐베이션하였다. 그 다음에 상기 샘플을 1-3 kDa의 분자량 컷-오프 (molecular weight cut-off: MWCO)를 갖는 Spectra/Por® 투석 튜브 (Spectrum, New Brunswick, NJ, USA)에 넣고, pH 7.4에서 20 mL의 1x PBS에 대해 투석하였다. 3개의 알리코트를 미리 정의된 시점 (5분, 10분, 최대 1시간까지 남은 10분마다, 최대 10시간, 12시간, 16시간, 20시간, 1일, 2일, 3일, 5일, 7일까지 30분 마다, 3개월 완료 후 매주)에서 채취하고, UV-vis 분광법으로 측정하였다. 측정은 카테콜 모이티와 관련된 신호에 해당하는, 250-450 nm 범위의 밴드 검출에 중점을 두었다. 전술한 영역에서

밴드의 출현 및 그 성장은 멤브레인의 점진적인 분해와 연관될 수 있다. 투석 백 (dialysis bag) 외부로부터 수득한 액체 추출물을 다양한 세포주 (HeLa 및 NIH/3T3)를 사용하여 인 비트로 테스트하여 멤브레인 분해로 인해 발생하는 잠재적인 부산물의 세포독성을 결정하였다.

[0216] c) 인 비트로 세포 생존율 연구. 세포를 웰당 15000개 세포의 밀도로 48-웰 플레이트에 부가하고, 24시간 동안 부착시켰다. 0.8 mm 디스크로 절단된 다양한 타입의 멤브레인을 웰에 4중으로 부가하고, 상기 플레이트를 인큐베이터에 다시 넣었다. 세포 호흡 (cell respiration)에 대한 MTT 및 PrestoBlue™ 분석은 인큐베이션 24시간 및 72시간 후에 수행하였다.

[0217] (i) MTT 분석 (MTT assay)을 위해, 20 μ L의 5 mg/mL 티아조일 블루 테트라졸륨 브로마이드 (MTT, Sigma-Aldrich) 용액을 각 웰에 부가하고, 2시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 방해하지 않고 상등액을 흡인하였고, 150 μ L의 디메틸 설펝사이드 (DMSO)를 각 웰에 부가하여 대사적으로 활성인 세포에서 MTT의 대사로부터 생성된 포르마잔 염을 용해시켰다. 완전히 용해시킨 후에, BioTek MX 플레이트 판독기 (BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 판독하였다. 세포 생존율 퍼센트는 각 웰의 흡광도를 비히클 (1x PBS)로만 처리된 대조군 웰의 해당 값으로 나누어 계산하였다. 서로 다른 날에 최소 4회의 독립적인 실험을 수행하였다.

[0218] (ii) PrestoBlue™ 분석 (PrestoBlue™ assay)을 위해, 10 μ L의 레사주린 (resazurin)을 배지에 부가하여 최종 농도가 15 μ M이 되도록 하고, 여기 파장 531 nm 및 방출 572 nm으로 Victor3 플레이트 판독기 (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 사용하여 형광을 판독하였다. MTT 분석과 마찬가지로, 최소 4회 독립적 실험을 수행하고, 비히클-처리된 세포에 대해 세포 생존율을 계산하였다.

[0219] d) 부착, 증식 및 세포 분화. 표면 멤브레인에 대한 세포의 부착은 전술한 모든 세포주에 대해 테스트하였다. 멸균 생검 편치를 사용하여 멤브레인을 0.8 mm 디스크로 절단하고, PBS가 담긴 48-웰 플레이트에 넣었다. 그 다음에, PBS를 제거하여, 멤브레인이 웰 바닥을 커버하도록 하였다. 50 μ L의 배지에 부가된 세포 (25000개 세포/멤브레인)를 멤브레인에 시딩하였다. 이후에, 상기 멤브레인을 30분 동안 인큐베이션하고, 이 시간 후에 상기 웰을 350 μ L의 배지로 충전하였다. 세포가 있는 멤브레인을 다양한 시간 (1일, 3일, 7일, 14일 및 30일) 동안 인큐베이션하였다.

[0220] 각 시점 후에, 상기 멤브레인을 PBS로 적어도 5회 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거하였다. 각 세포 타입 및 멤브레인에 대한 부착, 증식 및 세포 분화를 평가하기 위해 다양한 기준을 확립하였다. 부착을 위해, 부착되지 않은 세포를 제거하기 위해 멤브레인을 PBS로 적어도 5회 세척하였다. 또한, 표면의 세포 수를 이미지 분석 소프트웨어 (ImageJ)를 사용하여, 2개의 서로 다른 면과 상이한 시점에서 부착된 세포 수를 계수하여 세포의 밀도를 결정하였다. 증식은 광학 및/또는 전자 현미경을 사용하여 세포 네트워크의 형성 및 일반적인 인 비트로 세포 배양에서 발생하는 특정 방향의 우선적인 성장을 분석하여 평가하였다. 마지막으로, ASC 세포에 대한 세포 분화를 평가하여, 광학 및/또는 전자 현미경을 사용하여 다양한 형태 및 세포 구조를 관찰함으로써 다양한 세포 타입의 형성을 확인하였다. ASC 세포주를 이용한 세포 분화 실험을 위해, 배지에 성장 인자 (TGF β 3 및 BMP 6)를 풍부하게 부가하였다. 형광 및 전자 현미경으로 관찰하기 위해, 세포를 포름알데히드로 1시간 동안 처리한 후에, PBS로 3회 세척하였다. 세포가 있는 멤브레인을 PBS와 냉장고에 보관하였다. 형광 이미징의 경우에, 제조자가 지시한 사양에 따라 세포를 미리 Live/Dead 키트 테스트 (Thermo Fisher Scientific)로 염색하였다. 구체적으로, SEM 분석을 위해, PBS를 제거한 다음에, 증가하는 EtOH 용액 (30%, 50%, 70%, 80%, 96% 및 100%)으로 세척하였다. 이후에, 상기 세포를 헥사메틸디실라잔으로 3회 세척하고, 실온에서 밤새 건조시켰다. 마지막으로, 이미지 획득을 위해 세포가 있는 멤브레인을 SEM 스테르브에 장착하였다.

[0221] e) 인 비보 분석

[0222] 동물 연구는 지역 및 주 법률에 따라 지역 윤리 위원회의 승인을 받았다. 분석을 위해, Sprague Dawley 래트 (수컷 12마리 및 암컷 12마리)를 구입하였다 (Envigo, Indianapolis, IN, USA). 우선, 상기 멤브레인의 인 비보 부착력을 테스트하였다. 이를 위해, 상기 멤브레인을 무릎 관절에 놓고, 거즈로 과도한 혈액과 기타 체액을 건조시켰다. 본 발명의 멤브레인은 부착된 채로 남아 있었다. 이후에, 상기 래트를 안락사시킨 후 3일 및 7일에 상처를 봉합하고 이식된 멤브레인을 확인하였다. 다른 실험에서, 래트의 관절 손상을 유도하여, 연골을 제거하고, 멤브레인을 뼈에 직접 부착시켜서 인 비보 부착력을 확인하였다. 이러한 실험은 관능화된 멤브레인 및 비관능화된 멤브레인을 사용하고 멤브레인에 세포 (ASC 세포주)가 존재 또는 부재한 상태에서 수행하였다 (n=5). 한편, 염증, 혈종 또는 홍반의 가능성을 관찰하기 위해, 피하 및 근육에 멤브레인을 이식하여 내약성 테스트 (tolerability test)를 수행하였다. 상기 테스트를 4일 및 8일 동안 피부의 상태를 육안으로 확인 (자극 또는

홍반의 관찰)하고, 일단 주변 조직의 일부 손상 정도를 관찰하여 안락사시켰다. 비교 목적으로 PEI-기반 멤브레인 및 본 발명의 멤브레인의 다양한 제제에 대해 모든 테스트를 수행하였다.

[0223] 3. 본 발명의 멤브레인의 합성

[0224] 해당 카테콜- 및 아민- 유도체를 반응 용기에 고체로 넣었고, 후자는 아민을 초과하는 몰비 (1:1.5)이다. 그 다음에, PBS를 부가하여 용액의 pH를 7.4로 조정하였다. 반응 용기를 직경 2 mm의 구멍이 있는 Parafilm®으로 커버하여 산소가 유입되도록 하였다. 독립형 부유 멤브레인의 형성은 300 rpm의 자기 교반하에 실온에서 수행하였다. 중합 반응은 물리적 기재가 필요하지 않거나 또는 다른 2차 분자와의 인 시투 기재 형성 없이, 카테콜-유도체의 산화 및 아민-기반 리간드와의 반응을 통해 액체-공기 상간 (liquid-air interphase)에서 발생하였다. 24 시간 후에, 독립형 부유 멤브레인을 분리할 준비를 하였다. 하기 인 비트로 및 인 비보 테스트에 사용된 멤브레인을 멸균 조건 (공기 오염물질 방지)을 보장하기 위해 생물학적 안전 운전실 (Biosafety Class II Cabinet Telstar BioVanguard)에서 합성하였다.

[0225] 상기 멤브레인이 합성되면, 이들을 무수 에탄올로 밤새 처리하였다.

[0226] 표 1에 시약 및 IR 특성화를 요약하였다.

표 1

	시약	IR 특성화
(1-7)	피로카테콜 헥사메틸렌디아민	3250, 2850, 1700, 1500, 1457 1260, 987
(1-8)	피로카테콜 옥타메틸렌디아민	3275, 2810, 1723, 1499, 1268, 856
(1-9)	피로카테콜 도데카메틸렌디아민	3249, 2842, 1715, 1623, 1519, 1261, 1110, 951
(1-10)	피로카테콜 시스타민	3232, 1872, 1755, 1508, 1327, 1260, 741
(1-11)	피로카테콜 트리스(3-아미노프로필)아민	3349, 2632, 1791, 1611, 1547, 1281, 1027, 821
(1-12)	피로카테콜 트리스(2-아미노프로필)아민	3250, 2853, 1705, 1511, 1263, 1190, 808
(2-7)	카페산 헥사메틸렌디아민	3345, 2761, 1701, 1546, 1270, 981
(2-8)	카페산 옥타메틸렌디아민	3221, 2747, 1703, 1628, 1515, 1260, 1134, 911
(2-9)	카페산 도데카메틸렌디아민	3271, 2623, 1731, 1718, 1635, 1334, 1210, 801
(2-10)	카페산 시스타민	3251, 1711, 1595, 1409, 1261, 849
(2-11)	카페산 트리스(3-아미노프로필)아민	3331, 2617, 1793, 1529, 1405, 1315, 1039, 767
(2-12)	카페산 트리스(2-아미노프로필)아민	3253, 2821, 1712, 1538, 1211, 1204, 817
(3-7)	도파민 헥사메틸렌디아민	3261, 2777, 1678, 1511, 1231, 1000, 897
(3-8)	도파민 옥타메틸렌디아민	3255, 2781, 1712, 1321, 1231, 1001, 877
(3-9)	도파민 도데카메틸렌디아민	3249, 2671, 1678, 1309, 1252, 1091, 810
(3-10)	도파민 시스타민	3222, 1892, 1702, 1564, 1251, 1099, 897
(3-11)	도파민 트리스(3-아미노프로필)아민	3252, 2861, 1789, 1661, 1452, 1209, 818
(3-12)	도파민 트리스(2-아미노프로필)아민	3341, 2817, 1702, 1611, 1509, 1236, 981

(4-7)	4-메틸카테콜 헥사메틸렌디아민	3245, 2891, 1763, 1652, 1567, 1251, 1171, 826
(4-8)	4-메틸카테콜 옥타메틸렌디아민	3240, 2761, 1890, 1624, 1351, 1246, 1171, 845
(4-9)	4-메틸카테콜 도데카메틸렌디아민	3265, 2871, 1873, 1763, 1597, 1250, 912
(4-10)	4-메틸카테콜 시스타민	3252, 1802, 1720, 1583, 1247, 835
(4-11)	4-메틸카테콜 트리스(3-아미노프로필)아민	3241, 2732, 1709, 1432, 1267, 1161, 764
(4-12)	4-메틸카테콜 트리스(2-아미노프로필)아민	3249, 2801, 1527, 1341, 1223, 1127, 982
(5-7)	피로갈롤 헥사메틸렌디아민	3367, 2791, 1654, 1328, 1219, 1100, 879
(5-8)	피로갈롤 옥타메틸렌디아민	3259, 2745, 1762, 1530, 1276, 811
(5-9)	피로갈롤 도데카메틸렌디아민	3247, 2891, 1703, 1672, 1451, 1230, 932
(5-10)	피로갈롤 시스타민	3327, 1893, 1706, 1583, 1201, 1009, 873
(5-11)	피로갈롤 트리스(3-아미노프로필)아민	3250, 2893, 1763, 1456, 1261, 801
(5-12)	피로갈롤 트리스(2-아미노프로필)아민	3328, 2781, 1781, 1509, 1233, 834
(6-7)	카테킨 헥사메틸렌디아민	3246, 2893, 1703, 1576, 1240, 1094, 932
(6-8)	카테킨 옥타메틸렌디아민	3267, 2871, 1705, 1521, 1277, 1127, 872
(6-9)	카테킨 도데카메틸렌디아민	3231, 2872, 1653, 1430, 1284, 1191, 899
(6-10)	카테킨 시스타민	3243, 1654, 1398, 1255, 1132, 873
(6-11)	카테킨 트리스(3-아미노프로필)아민	3276, 2878, 1769, 1432, 1209, 1098, 918
(6-12)	카테킨 트리스(2-아미노프로필)아민	3255, 2873, 1872, 1643, 1587, 1432, 1210, 1154, 874
(1-13)	피로카테콜 4,4',4''-트리아미노트리페닐아민	3329, 1690, 1500, 1327, 1257, 1175, 1120, 912, 827 569, 506

[0228] 4. 비교 목적을 위한 멤브레인의 합성

[0229] 비교 목적을 위한 멤브레인을 또한 상기 제공된 프로토콜에 따라 합성하였지만, 시약 및/또는 반응 조건 중 하나를 하기 표 2에 지적된 바와 같이 변형하였다.

표 2

[0230]

비교 멤브레인			
멤브레인	시약	파라미터	FT-IR 밴드
PEI-3	폴리에틸렌아민 (PEI) 도파민	pH 11, 교반 없음, 물	3447, 2982, 1640, 1193, 712
기재	피로카테콜 헥사메틸렌디아민	SiO ₂ 기재, pH 7.4, 교 반 없음	3250, 2850, 1700, 1500, 1457 1260, 981
지방족 모노아 민	모든 카테콜 유도체 헥실아민	pH 7.4, 300 rpm, 물	3265, 2763, 1675, 1110, 912

[0231] 5. 멤브레인의 관능화

[0232] 상기 (바이오)분자는 (1-에틸-3-(3-디메틸아미노) 프로필 카보디이미드, 염산염 (EDC) 및 N-하이드록시숙신이미드 (NHS)를 사용하는 커플링 반응을 통해 고정하였다. 이러한 커플링 반응은 멤브레인에 노출된 아미노기와 관능화된 (바이오)분자의 카복실기 사이에 아미드 결합을 형성한다. 일반적인 절차로서, 형성된 멤브레인을 자기 교반 (500 rpm) 하에 PBS를 함유하는 멤브레인과 비교하여 더 큰 직경의 페트리 디쉬에 도입하였다. 그 다음에, EDC 수용액 (5 mM)을 수성상에 주입하였다. 30분 후에, NHS 제제와 함께 활성 (바이오)분자를 수성상에 주입하였다. 항박테리아 모이어티 (바닐산) 또는 형광 염료 (칼세인)를 물 (10 mM)에 용해시킨 후에, NHS (10 mM)와 혼합하였다. 반응을 60분 동안 천천히 교반하였다. 그 다음에, 관능화된 멤브레인을 페트리 디쉬로부터 단리하고, 증류수로 적어도 5회 세척한 후에 진공 건조하였다. 이러한 접근법은 표면에 노출된 아미노기가 풍부한, 멤브레인 조성 덕분에, 높은 수율 (관능화된 분자에 따라 약 55-60%)로 다양한 관능화를 가능하게 하였다. 상기 관능화는 멤브레인의 양쪽 면에서 독립적으로 제어 및 유도되어, 상기 멤브레인의 화학적 야누스 거동을 증진시킬 수 있다. 상기 멤브레인을 먼저 진행하였다.

[0233] 이 접근법을 사용하여 다양한 관능화를 수행하였으며, 대표적인 예로서 2가지 구체적인 사례가 하기에 제시된다.

[0234] 6. 결과 및 토의

[0235] 6.1. 멤브레인의 기계적 특성

[0236] 본 발명의 멤브레인은 일반 핀셋을 사용하여 쉽게 단리하였으며, 적절하게 취급하여 보관을 위해 다른 용기로 전달하였다. 생성된 멤브레인은 멤브레인의 한쪽 단부를 180° 로 구부려서 멤브레인의 다른 쪽 단부와 접촉시켰을 때 부서지지 않고 높은 가요성을 나타내었다. 이는 SEM으로 균열 (crack) 또는 틈새 (fissure)가 관찰되지 않고 습윤 멤브레인 및 건조된 멤브레인 모두에서 수행하였다. 이러한 굽힘 동작 (bending movement)을 적어도 50 사이클로 수동으로 수행하였고, 이는 멤브레인의 가요성을 뒷받침한다. 또한, 멤브레인의 가요성 한계를 확인하기 위해 비틀림 동작 (torsion movements)을 수행하여, 우수한 견고성을 보여주었다.

[0237] 먼저, FT-IR 및 XPS를 이용한 여러 측정을 통해 해당 멤브레인이 카테콜아민-기반 멤브레인이었음을 확인하였다. 상기 카테콜 유도체 및 아민-기반 리간드의 화학적 성질에 따라, FT-IR 스펙트럼의 다양한 주파수 범위를 평가하였다. 첫째, 카테콜 ($3500-3000\text{ cm}^{-1}$) 및 아민 ($1700-1500\text{ cm}^{-1}$) 기의 존재는 먼저 가교 폴리머 형성을 나타내었다. 이후에, 카테콜 또는 아민-기반 분자의 타입에 따라, 특정 범위 내에서 특정 밴드를 확인하였다. 예를 들어, 아미드 결합에 해당하는 밴드는 $1650-1500\text{ cm}^{-1}$ 및 $1290-1200\text{ cm}^{-1}$ 의 범위에서 나타났고, 특히 1-7 ($1500\text{ 및 }1260\text{ cm}^{-1}$), 1-8 ($1499\text{ 및 }1268\text{ cm}^{-1}$), 1-9 ($1519\text{ 및 }1261\text{ cm}^{-1}$), 1-10 ($1508\text{ 및 }1260\text{ cm}^{-1}$), 1-11 ($1547\text{ 및 }1281\text{ cm}^{-1}$), 1-12 ($1511\text{ 및 }1263\text{ cm}^{-1}$), 2-7 ($1546\text{ 및 }1270\text{ cm}^{-1}$), 2-8 ($1515\text{ 및 }1260\text{ cm}^{-1}$), 2-9 ($1635\text{ 및 }1210\text{ cm}^{-1}$), 2-10 ($1595\text{ 및 }1261\text{ cm}^{-1}$), 2-11 (1529 cm^{-1}), 2-12 ($1538\text{ 및 }1204\text{ cm}^{-1}$), 3-7 ($1511\text{ 및 }1231\text{ cm}^{-1}$), 3-8 (1231 cm^{-1}), 3-9 (1252 cm^{-1}), 3-10 ($1564\text{ 및 }1251\text{ cm}^{-1}$), 3-11 (1209 cm^{-1}), 3-12 ($1509\text{ 및 }1236\text{ cm}^{-1}$), 4-7 ($1567\text{ 및 }1251\text{ cm}^{-1}$), 4-8 (1246 cm^{-1}), 4-9 ($1597\text{ 및 }1250\text{ cm}^{-1}$), 4-10 ($1583\text{ 및 }1247\text{ cm}^{-1}$), 4-11 (1267 cm^{-1}), 4-12 ($1527\text{ 및 }1223\text{ cm}^{-1}$), 5-7 (1219 cm^{-1}), 5-8 ($1530\text{ 및 }1276\text{ cm}^{-1}$), 5-9 (1230 cm^{-1}), 5-10 ($1583\text{ 및 }1201\text{ cm}^{-1}$), 5-11 (1261 cm^{-1}), 5-12 ($1509\text{ 및 }1233\text{ cm}^{-1}$), 6-7 ($1576\text{ 및 }1240\text{ cm}^{-1}$), 6-8 ($1521\text{ 및 }1277\text{ cm}^{-1}$), 6-9 (1284 cm^{-1}), 6-10 ($1654\text{ 및 }1255\text{ cm}^{-1}$), 6-11 (1209 cm^{-1}) 및 6-12 ($1587\text{ 및 }1210\text{ cm}^{-1}$)에서 나타났고, 이민은 $1700-1600\text{ cm}^{-1}$ 의 범위, 특히 1-7 (1700 cm^{-1}), 1-9 (1623 cm^{-1}), 1-11 (1611 cm^{-1}), 2-7 (1701 cm^{-1}), 2-8 (1628 cm^{-1}), 2-9 (1635 cm^{-1}), 3-7 (1638 cm^{-1}), 3-9 (1678 cm^{-1}), 3-11 (1661 cm^{-1}), 3-12 (1611 cm^{-1}), 4-7 (1652 cm^{-1}), 4-8 (1624 cm^{-1}), 4-12 (1627 cm^{-1}), 5-7 (1654 cm^{-1}), 5-9 (1672 cm^{-1}), 6-7 (1703 cm^{-1}), 6-8 (1705 cm^{-1}), 6-9 (1653 cm^{-1}) 및 6-12 (1643 cm^{-1})에서 나타났고, 지방족 탄소의 혼입은 $3000-2500\text{ cm}^{-1}$ 의 범위, 특히 1-7 (2850 cm^{-1}), 1-8 (2810 cm^{-1}), 1-9 (2842 cm^{-1}), 1-11 (2632 cm^{-1}), 1-12 (2853 cm^{-1}), 2-7 (2761 cm^{-1}), 2-8 (2747 cm^{-1}), 2-9 (2623 cm^{-1}), 2-11 (2617 cm^{-1}), 2-12 (2821 cm^{-1}), 3-7 (2777 cm^{-1}), 3-8 (2781 cm^{-1}), 3-9 (2671 cm^{-1}), 3-11 (2861 cm^{-1}), 3-12 (2817 cm^{-1}), 4-7 (2891 cm^{-1}), 4-8 (2761 cm^{-1}), 4-9

(2817 cm^{-1}), 4-11 (2732 cm^{-1}), 4-12 (2801 cm^{-1}), 5-7 (2791 cm^{-1}), 5-8 (2745 cm^{-1}), 5-9 (2891 cm^{-1}), 5-11 (2893 cm^{-1}), 5-12 (2781 cm^{-1}), 6-7 (2893 cm^{-1}), 6-8 (2871 cm^{-1}), 6-9 (2872 cm^{-1}), 6-11 (2878 cm^{-1}) 및 6-12 (2873 cm^{-1})에서 나타났다. 방향족 모이어티 (예: 1-13)를 갖는 아미노-기반 리간드를 사용하여 합성된 멤브레인의 경우에, 코폴리머 구조에 고리가 혼입된 것은 2765 cm^{-1} 에서 특정 밴드의 출현을 통해 검출하였다. 또한, 1500 cm^{-1} 및 1327 cm^{-1} 에서 2개의 새로운 밴드의 출현을 통해 카테콜-리간드와 방향족-기반 리간드로부터 노출된 아미노기 사이의 결합을 확인하였다. 마지막으로, 1175 및 1120 cm^{-1} 에서 밴드의 이동은 방향족 말단-아미노기와의 새로운 결합 형성에 기인하였다. 언급할 가치가 있는 것은, 생성된 가교 구조에 카테콜 및 아미노 모이어티의 혼입은 각각 3500-3000 cm^{-1} 및 1700-1500 cm^{-1} 범위에서 밴드를 확인하였다.

[0238] 이후 XPS를 통해, 분자의 화학적 환경이 변형되었음을 확인하고, 이를 통해 카테콜- 및 아미노-유도체 분자들 간의 공중합으로 인한 특이적 결합의 형성을 확인하였다. 이러한 이유로, C, N 및 O 신호에서 고해상도 측정을 수행하였고, CNOH의 퍼센트를 결정하여, 멤브레인의 최종 조성을 나타내었다. 언급할 가치가 있는 것은 본 발명의 모든 멤브레인에서 공존하는 퀴논/하이드록실기의 양은 공기-접촉 면에서 우세한 아미노-말단 기에 비해 물-접촉 면에서 더 높았다. 이러한 접촉면에 따른 차별화된 관능기 노출은 특정 분자들의 고정을 위해 각 면을 선택될 수 있는 관능화 시점에 주목할 수 있다.

[0239] 본 발명의 멤브레인과 반대로:

[0240] - PEI-기반 멤브레인은 높은 pH (약 11)를 필요로 하며; 조작 및 구부릴 때 파손 형상으로 가요성이 매우 낮았으며, 생성된 멤브레인의 매끄럽고 밝은 외관으로 인해 플라스틱-유사 외관을 나타내었다. 게다가, 지형 AFM (topographic AFM) 측정은 양쪽 면에서 낮은 거칠기를 강조하였다. 표면에 대한 멤브레인의 낮은 적응성을 나타내고;

[0241] - 멤브레인 코팅 기재: 기재에서의 합성은 성공하였지만, 기재와의 부착력이 높고 형성된 멤브레인의 취약한 특성으로 인해 기재로부터 분리가 매우 어려워졌다. 표면으로부터 작은 단편들만이 채취할 수 있었기 때문에, 추가적인 생물학적 적용은 어려웠다. 이러한 이유로, 기재에서 수행된 멤브레인의 조작 및 취급은 본 발명의 멤브레인과 비교하여 더 어렵고 덜 효과적이었고;

[0242] - 탄화수소 사슬의 한쪽 단부에만 말단 아민을 갖는 지방족 모노아민을 사용하면, 여러 시도에도 불구하고 멤브레인을 획득하지 못하였다.

[0243] 6.2. 형태학적 특성 분석 (광학 현미경, SEM, AFM)

[0244] 본 발명의 독립형 멤브레인은 형태학적 측면에서 야누스 특성을 나타내었다. SEM으로 이의 지형을 연구한 결과, 상기 필름의 양쪽 면이 서로 다른 것으로 나타났다. 물과 접촉하는 표면에는 동일한 카테콜-아민 물질의 나노입자를 매립하였다. 이러한 나노입자들을 부산물로서 형성하고 침전물로서 발견하여 물-접촉 면에 매립하였다. 침전된 NP를 원심분리하고, FT-IR에 의한 특성 분석을 위해 단리하여, 카테콜-아민 조성물을 확증하였다. 게다가, 시간이 지남에 따라 멤브레인의 형성을 추적하고, 다양한 시점에서 계면으로부터 알리코트를 채취하여, SEM으로 관찰하였다. SEM 이미지는 NP가 매립되는 과정을 보여주었다. 이에 반해, 공기에 노출된 면은 매립된 NP가 보이지 않아 매끄럽고 깨끗하였다. SEM으로 획득한 이미지 분석 (도 1)은 서로 다른 표면 패턴을 갖는 멤브레인의 형성을 강조하였다. 하기 섹션에서 설명되는 바와 같이, 이러한 패턴링은 생물학적 조직뿐만 아니라 세포에 대한 멤브레인의 최종 부착에 영향을 미친다.

[0245] 또한, 본 발명의 멤브레인을 형성하고 초순수를 사용하여 세척하면, 멤브레인의 물-접촉 면의 나노패터닝이 변함없이 유지된다는 것, 즉 나노입자가 표면에 매립되어 남아 있다는 것도 주목할 만하다. 물-접촉 면의 예상치 못한 나노패터닝은 멤브레인에 더 높은 거칠기 표면을 부여하여, 세포 부착에 바람직하다 (하기 추가로 나타냄).

[0246] 언급할 가치가 있는 것은, 이러한 나노패터닝은 합성된 비교 PEI 멤브레인 및 기재에서는 관찰되지 않았으며, 양쪽 면은 SEM으로 관찰한 것과 유사한 지형을 가졌고, 이들 비교예에서, 양쪽 면이 임의의 다른 특징 없이 유사한 표면을 나타내었다.

[0247] 특히, PEI-기반 멤브레인은 형성된 구조 내에서 PEI가 완벽하게 분리되어 2개의 서로 다른 도메인 및 상기 면에 따른 서로 다른 다공성을 형성하는 화학적 야누스 특성을 나타내었다. 그러나, 나노패터닝은 검출되지 않았다.

PEI 멤브레인이 나타내는 플라스틱-유사 형태 (강성 및 매끄러운 면)로 인해, SEM 이미지를 분석하였을 때 PEI-기반 멤브레인의 거칠기는 양쪽 면에서 매우 낮았으며, 유사한 특성을 나타내었다. 하기 섹션에서 토의된 바와 같이, 이러한 낮은 거칠기 및 나노패터닝의 결여로 인해 멤브레인에 세포가 부착되기 어렵다.

[0248] 기재로부터 수득된 멤브레인과 관련하여, 이러한 비교 멤브레인은 멤브레인의 양쪽 면이 매우 유사하기 때문에 어떠한 야누스 특성도 나타내지 않았으며, 이는 기재의 사용으로 상간 (본 발명의 멤브레인)에서 부유 멤브레인의 형성을 피하고, 물 및 공기 상에 대한 극성으로 인한 분자의 순서가 일어날 수 없다.

[0249] 독립형 멤브레인의 표면을 상세히 연구하기 위해, SEM 및 AFM을 사용한 추가 연구를 수행하였다. 첫째, 본 발명의 멤브레인의 두께 분석을 위해 SEM을 사용하였다 (표 3). 언급할 만한 점은 반응 시간의 증가로 인해 멤브레인의 두께가 증가하였다. 이러한 효과에 대한 한 가지 설명은 경시적으로 중합된 물질의 양이 증가하기 때문이다. 둘째, AFM을 수행하여 공기- 및 물-접촉 면 모두에서 지형 특성을 측정하여 일부 멤브레인의 거칠기를 결정하였다 (표 4).

[0250] 또한, AFM 지형 프로파일을 평가하여 SEM으로 수득된 두께 측정값을 검증하였다.

[0251] 정성적 관찰로서, SEM 이미지는 멤브레인의 접촉면에 따라 거칠기가 다른 것으로 나타났다. 특히, 물-접촉 면은 예상외로 더 높은 거칠기를 나타내었다. 이러한 이유로, AFM은 물-접촉 면에서 수행하였다. 본 발명의 멤브레인은 나노입자가 매립되어, 표면에 가장 높은 거칠기를 제공하는 것으로 나타났다. 높이가 약 275 nm인 다양한 영역으로부터 일반적인 프로파일을 사용하여 여러 영역을 조사하였다. 형태와 관련하여, 멤브레인에 매립된 나노입자는 SEM 관찰과 상관관계가 있었다. 공기-접촉 면의 경우, 거칠기가 10 nm 미만으로 더 매끄러운 표면이 발견되었다. 마지막으로, 프로파일 높이가 SEM으로 측정된 두께 간격 내에서 일치하며, 멤브레인에 따라 200-600 nm 범위에 있다.

[0252] 마지막으로, 서로 다른 멤브레인에 대한 양쪽 면의 거칠기를 하기 표 4에 나타난 바와 같이 측정하였다.

표 3

[0253]

두께 (nm)		
멤브레인	10 mM 24시간	10 mM 48시간
(1-7)	145	1065
(1-8)	223	2432
(1-9)	156	2456
(1-10)	324	3234
(1-11)	235	4378
(1-12)	276	3012
(2-7)	145	3340
(2-8)	254	2489
(2-9)	276	2082
(2-10)	109	3001
(2-11)	265	4567
(2-12)	243	3789
(3-7)	145	2987
(3-8)	143	2913
(3-9)	109	2375
(3-10)	187	3468
(3-11)	199	4728
(3-12)	201	5652
(4-7)	143	4765
(4-8)	121	4978
(4-9)	108	5091
(4-10)	155	4234
(4-11)	132	5675
(4-12)	156	5238
(5-7)	175	4456
(5-8)	139	2283
(5-9)	109	2487

(5-10)	111	2109
(5-11)	155	3108
(5-12)	143	3287
(6-7)	154	2278
(6-8)	127	3783
(6-9)	122	4873
(6-10)	101	3321
(6-11)	231	5523
(6-12)	221	3675
(6-13)	352	4983

[0254] 10 mM의 아민-기반 리간드 농도에서 다양한 반응 시간에서 본 발명의 멤브레인에 대한 두께 값.

표 4

[0255]

멤브레인	거칠기 (nm)	
	물 면	공기 면
(1-7)	33	6
(1-8)	36	4
(1-9)	45	3
(1-10)	34	6
(1-11)	65	7
(1-12)	34	3
(3-7)	25	5
(3-8)	33	4
(3-9)	41	2
(3-10)	23	3
(3-11)	32	6
(3-12)	45	4
(4-7)	35	5

[0256] 흥미롭게도, 물과 접촉하는 면은 나노입자가 매립되어 있어 더 높은 거칠기를 나타내었고, 공기-접촉 면은 더 매끄러웠다. 이러한 특성은 세포 부착이 매우 낮고 이의 증식이 저밀도로 초래되는, PEI를 사용한 비교 합성 멤브레인에서 관찰되는 매끄러운 표면과 비교하여, 물-접촉 면은 더 나은 세포 부착을 촉진하기 때문에 해당 멤브레인에 부가 가치를 부여한다 (하기 참조). 또한, 기재를 사용하여 합성한 멤브레인은 양쪽 면 모두에서 약 3.5 nm의 거칠기를 갖는 유사한 특성을 나타내었다. 이는 멤브레인이 나노패터닝을 형성하는 표면에 매립될 수 없는 나노입자의 형성을 피하는 기재와 접촉하여 합성되었다는 사실에 기인할 수 있다.

[0257] 요약하면, 형태학적 결과는 본 발명의 멤브레인이 형태학적 관점에서 야누스 특성을 갖는 것을 입증하였다. 이러한 표면적 기법, SEM 및 AFM을 통해, 상기 면에 따른 상이한 지형뿐만 아니라 거칠기를 평가하였다. 더욱이, 각 멤브레인 타입에 대해 두께를 SEM 및 AFM으로 측정하였다. 모든 경우에, 유사한 결과를 수득하였고, 이는 카테콜아민-기반 멤브레인 형성에 대한 본 발명의 접근법의 재현성 및 보편성을 입증하였다.

[0258] 마지막으로, 광학 현미경을 사용하여 멤브레인의 특성을 분석하였다. 이를 수행하여 멤브레인 표면과 빛의 상호작용을 관찰하였고, 이는 표면의 두께에 따른 다양한 색상의 반사로 표시하였다. 이러한 현상은 멤브레인의 다양한 두께 및 표면 상의 나노패터닝을 모두 확인하였다.

[0259] 상기는 각 경우에 대해 FT-IR, XPS 및 접촉각을 결정하여 확인하였다. 이러한 특성화를 본 발명의 모든 멤브레인과 비교 멤브레인에 대해 수행하였다. 모든 경우에 유사한 결과를 수득하였다.

[0260] FT-IR 분광학의 결과는 멤브레인에 존재하는 종에 대한 정보를 제공하였으며, 화학 조성을 확인하기 위해 전체 물질을 판독하였다.

[0261] 스펙트럼을 분석하여 하기 특성을 공유하였다. 3500-3000 cm^{-1} 범위의 넓은 밴드는 하이드록실 (-OH)의 신축 진동에 해당하고, 1700-1500 cm^{-1} 범위는 아민 (-NH₂) 기에 해당하며, 이의 피크들은 각각 카테콜 유도체 및 아민-

기반 화합물 스펙트럼에서 확인할 수 있다. 3000-2500 cm^{-1} 범위의 피크는 지방족 탄소 (C-H)의 비대칭 및 대칭 신축 진동과 관련이 있다. 1700 cm^{-1} 에서의 피크는 카보닐 (C=O)의 존재에 해당한다. 1500-1400 cm^{-1} 범위의 신호는 카테콜 유도체의 카테콜/퀴논 고리로부터의 C=C-H 및 C=C 진동에 부여될 수 있다. 1200-1450 cm^{-1} 범위의 피크는 알킬 또는 방향족 고리에 결합하는 2차 아민에 속한다.

[0262] 그러므로, 상기 멤브레인의 화학적 조성은 시약의 관능기와 일치한다. 수행된 모든 조합에서, FT-IR 스펙트럼은 아미노 및 카테콜 기에 대한 특정 밴드가 존재하는 유사한 결과를 보여주었다. 또한, 각 특정 카테콜-유도체에 대해, 분자의 관능기에 따라 다른 대표적인 신호를 할당할 수 있다. 이러한 결과는 또한 확립된 방법론에 따라 카테콜- 및 아미노-기반 분자들 간의 성공적인 공중합을 확인하였다.

[0263] 마지막으로, 접촉각 장비를 사용하여 멤브레인의 습윤성 (wettability)을 테스트하였다. 측정을 수행하기 전에, 멤브레인을 완전히 건조시키기 위해 170°C 오븐에 2시간 동안 두었고, 모든 물 분자를 제거하기 위해 진공하에 보관하였다. 이러한 건조 과정은 최저 중량에 도달할 때까지 멤브레인을 칭량하면서 수행하며, 이는 모든 수분이 손실되었음을 나타낸다. 이러한 측정을 통해, 멤브레인의 소수성/친수성 특성을 결정하였다. 다른 특성화 기술에서 관찰된 바와 같이, 상기 습윤성은 측정되는 면에 따라 상이하였다. 물-접촉 면은 접촉각이 약 25°로 친수성이 더 높은 반면에, 공기-접촉 면은 접촉각이 약 40°로 더 높아 소수성이 더 높았다. 그럼에도 불구하고, 전반적으로 멤브레인은 중간 정도의 친수성/소수성 거동을 나타낸다. 이러한 표면 특성은 멤브레인에 존재하는 노출된 관능기를 사용하여 소수성 또는 친수성 모이어티를 고정함으로써 변경될 수 있다. 습윤성을 활용하여, 적용할 최종 조직에 따라 멤브레인의 부착력을 조정할 수 있다. 예를 들어, 물-접촉 면에 있는 멤브레인의 친수성 특성이 더 크면 (더 많은 세포가 성장할 수 있음) 손상된 조직에 멤브레인을 직접 부착시키는데 유리하지만, 공기-접촉 면에 소수성 특성 더 많이 존재하면 주변 부위의 다른 조직과의 원치 않는 부착을 피할 것이다.

[0264] 6.3. 관능화

[0265] 6.3.1. 항박테리아 분자 사용

[0266] 바이오물질을 의약에 적용하는 경우 주요 문제들 중 하나는 감염 위험이며, 이는 특히 재생 과정과 관련이 있다. 이러한 이유로, 항박테리아 모이어티를 멤브레인에 혼입하면 부작용 없이 손상된 조직의 재생 과정을 증진시킬 수 있다.

[0267] 따라서, 본 발명자들은 전술한 절차에 따라, EDC/NHS 커플링 반응을 통해 잘 알려진 항박테리아 활성을 갖는 바닐린산으로 멤브레인을 관능화하였다. 상기 테스트는 6개의 서로 다른 멤브레인 (1-7, 1-8, 2-7, 2-8, 3-9, 3-10)에서 개념 증명 (proof-of-concept)으로 수행하였다.

[0268] 공유 부착을 확인하기 위해, 멤브레인을 다른 수단으로 특성화하였다. FT-IR 스펙트럼으로 바닐린산의 카복실산 및 유리 아미노기를 통한 아마이드 결합 형성에 할당된 1665 cm^{-1} 밴드의 출현을 확인하였다. 또한, 바닐린산으로부터의 특정 피크가 관능화된 멤브레인에 해당하는 스펙트럼에 통합되었다.

[0269] 추가 XPS 측정에서는 비관능화된 멤브레인 및 관능화된 멤브레인들을 비교할 때 C1s 및 O1s에 해당하는 스펙트럼에서 유의미한 변화를 보여주었다. 이러한 결과는 항박테리아 모이어티가 멤브레인에 혼입되었음을 확증해 주었다. 언급할 가치가 있는 것은 임의의 미반응한 물질을 제거하기 위해 관능화된 멤브레인을 강하게 세척하였다.

[0270] 마지막으로, 비관능화 및 관능화된 멤브레인들의 표면에서 접촉각 측정을 수행하였다 (표 5). 그 결과는 멤브레인이 관능화되면 접촉각 값의 증가를 강조하였다. 이러한 측정은 표면 멤브레인이 변형되었음을 간접적으로 나타낸다.

표 5

[0271]

	접촉각 (°)	
멤브레인	비관능화	관능화
(1-7)	25.6	38.3
(1-8)	27.8	40.1
(1-9)	22.6	39.1
(1-10)	25.8	38.5

(1-11)	29.5	41.3
(1-12)	23.5	37.4
(3-7)	28.1	39.5
(3-8)	30.2	42.4
(3-9)	21.2	38.3
(3-10)	28.4	41.3
(3-11)	23.3	37.9
(3-12)	20.5	35.8

6.3.2. 형광 모이어티 사용

상기 멤브레인에 부가 가치를 부여하는 또 다른 흥미로운 관능성은 사용된 바이오이미징 기술 (bioimaging techniques)로 모니터링 및 시각화하는데 도움이 되는 형광 분자를 사용한 관능화이다. 따라서, 상기 멤브레인 (1-7, 1-8, 2-7, 2-8, 3-9, 3-10)은 형광 염료 (칼세인)로 관능화하였다. 전술한 절차에 따라, EDC/NHS 커플링 반응을 통해 염료를 멤브레인에 고정하였다. 관능화 합성 후에, 형광 현미경을 사용하여 멤브레인의 특성을 분석하였다.

상기 멤브레인이 형광 염료로 성공적으로 관능화되었음을 발견하였다. 형광 현미경으로 형광 신호의 손실이 관찰되지 않았기 때문에, 커플링 반응을 통한 고정은 안정적이었고 건조된 멤브레인 및 침지된 멤브레인 모두에서 몇 주 동안에도 변함없이 유지되었다. 이러한 테스트는 관능화된 멤브레인을 수분 하에 유지하고, 적어도 4주 동안 다양한 시점에서 형광을 측정하여 수행하였다. 또한, 완전히 건조되어 진공하에 보관된 멤브레인의 형광을 또한 동일한 기간 내에 확인하였다. 강력한 관능화 및 형광 활성의 유지는 a) 형광 현미경으로 형광을 측정하고, b) 투석 실험을 통해 염료를 전달하여 확증하였다. 마지막으로, 자기 교반 (500 rpm) 및 실온에서 투석 튜브 백 (공극 크기가 4-6 kDa인 Spectrum®)에 멤브레인을 배치하여 분해 테스트를 수행하였다. 투석 백 외부에서 다양한 시점에서의 다양한 알리코트를 채취하여 형광계에서 측정하였다. 형광 스펙트럼은 관능화된 멤브레인이 염료와 관련된 방출 밴드 (칼세인, $\lambda_{\text{방출}} = 521 \text{ nm}$)가 부재하기 때문에 3개월 후에도 염료가 유의미하게 방출되지 않고 물에서 안정적이었음을 보여주었다.

언급할 가치가 있는 것은, 본 발명의 관능화된 멤브레인이 약 450 ms의 시간 노출로 매우 높은 형광을 나타내었으며, 이는 신호의 포화 없이 이미지를 획득하는데 충분하였다. 또한, 항박테리아 모이어티의 경우와 마찬가지로, FT-IR 스펙트럼 측정으로 형광 염료를 사용한 멤브레인의 관능화를 확증하였고, 이는 칼세인 시약에 해당하는 전형적인 밴드 (1750, 1630, 1445 및 1280 cm^{-1})를 나타내었다. 또한, 접촉각 측정에서는 멤브레인의 관능화 후에 약 30° 의 물 접촉각의 증가를 보였으며, 이는 표면이 성공적으로 변형되었음을 나타낸다.

6.4. 생물학적 특성 분석

6.4.1. 분해

본 발명의 모든 멤브레인들의 분해성은 투석 실험을 사용하여 생리학적 매질 (PBS, pH 7.4 및 37°C)에서 테스트하였다. 다양한 시점에서, 투석 백 외부로부터 알리코트를 채취하여, UV-vis로 측정하여 카테콜 기에 해당하는 밴드가 출현하였는지 여부를 확인하였다 (카테콜-유도체에 따라 250-450 nm 범위).

이러한 모니터링을 4개월 동안 수행하였으며, 놀랍게도 카테콜로부터의 신호는 측정되지 않았다. 이는 본 발명의 멤브레인이 견고하고 유의미하게 분해되지 않음을 의미한다. 이러한 안정성은 조직 재생에 적용하기 위해 모든 재생 과정을 위한 멤브레인을 갖는데 필수적이다. 상기 멤브레인은 조직 재생을 촉진하기 위해 충분한 시간 동안 이의 구조를 유지한다.

언급할 가치가 있는 것은, 투석 실험에서 채취한 추출물 (알리코트)을 다양한 세포주에서 인 비트로 테스트하였다. 그 결과는 분해 과정 동안 세포독성 부산물이 멤브레인으로부터 방출되지 않았음을 보여주었다.

본 발명의 멤브레인과 대조적으로, 선행 기술의 PEI-기반 멤브레인은 본 발명의 멤브레인과 비교할 때 현저히 더 빨리 분해되었으며, 투석 실험에서 2주 후에 PEI의 흔적을 검출하였다. 이러한 PEI의 전달은 멤브레인의 견고성에 영향을 주었다. 뿐만 아니라, PEI는 생물학적 환경에서 독성이 보고되었으며, 이는 다양한 세포주에서 세포독성이 매우 높았다. 이러한 독성은 조직 재생 및 다른 생물학적 응용을 위한 PEI-기반 멤브레인의 적용을

방해하였다.

[0282] 6.4.2. 세포 생존율

[0283] 관능화 및 비관능화된, 본 발명의 모든 멤브레인을 상기 실험 섹션에서 언급된 모든 세포주에서 인 비트로 테스트하였다. 그 결과는 14일 이상의 더 긴 기간 동안에도 독성이 없는 우수한 생체적합성을 보여주었다. 상기 세포가 성장, 증식 및 분화할 수 있었다 (후자는 ASC 세포의 경우를 사용함). 전술한 바와 같이, 4개월 동안 분해성 분석으로부터 채취한 추출물을 다양한 세포주에서 테스트하였다. 상기 테스트를 72시간 동안 수행하였으며, 독성 산물이 전달되지 않은 것으로 나타났다.

[0284] 언급할 가치가 있는 점은 세포가 멤브레인-유도된 세포 사멸의 징후 없이 멤브레인이 완전히 커버될 때까지 상기 세포를 성장시키고 증식하였다.

[0285] 또한, PEI-기반 멤브레인을 테스트하였다. 그 결과는 본 발명의 멤브레인과 비교하여 더 높은 세포독성을 보여주었다. 24시간 후에, 본 발명의 모든 멤브레인은 테스트된 모든 세포주에서 90% 초과인 세포 생존율을 보여주었다. 그러나, PEI-기반 멤브레인은 약 65%의 세포 생존율로 독성이 증가한 것을 보여주었다. 이러한 더 높은 독성은 PEI-기반 멤브레인의 빠른 분해와 관련이 있으며, 이는 잘 알려진 세포독성 효과를 갖는 PEI의 방출을 유도하였다. 이는 PEI-기반 멤브레인이 생물학적 응용에 사용할 수 없는 주요 이유 중 하나이다.

[0286] 6.4.3. 세포 부착 및 증식

[0287] 다양한 세포주들을 세포 배양 플레이트의 바닥에 놓인 멤브레인에 시딩하고, 21일까지 서로 다른 시점에서 세포 배양 배지와 인큐베이션하였다. 다양한 시점에서, 멤브레인을 추출하고, 특성 분석을 위해 세척하였다.

[0288] 본 발명의 멤브레인의 경우, 상기 세포가 멤브레인 표면 (양쪽 면)에 완벽하게 부착되어, 나노패터닝이 있는 물과 접촉하는 면에서 세포가 우선적으로 성장하는 것을 확인하였다. 이러한 우선적인 성장은 공기-접촉 면과 비교하여 물-접촉 면에서 세포 밀도가 더 높은 것을 관찰하였다 (45% 증가). 광학 및 전자 현미경을 사용하여 다양한 이미지를 촬영하였다. 상기 세포는 일반적인 세포 배양 플레이트에서 관찰된 것과 동일한 기전을 통해 멤브레인 상에 부착되었으며, 이는 자연적인 세포 형태 및 선호하는 방향의 증식을 보여주었다. 형광 현미경을 사용하여 관찰하기 위해 세포에 형광 모이어티로 표시하고, SEM으로 관찰하기 위해 세포를 고정하였다. 상기 멤브레인을 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거하였다.

[0289] 마지막으로, PEI-기반 멤브레인은 세포 부착력이 매우 낮아서 세포 밀도가 매우 낮은 것을 보여주었다. 본 발명의 멤브레인과 비교할 때, PEI-기반 멤브레인 상의 세포 밀도는 약 70% 감소하였다. 이는 PEI의 독성 특성과 함께, 폴리이민으로 제조된 멤브레인의 표면 특성이 물질과 세포 간의 상호작용을 방해하는 것과 관련이 있을 수 있다.

[0290] 6.4.4. 엑스 비보 부착

[0291] 상기 멤브레인의 부착력을 또한 엑스 비보 조직 (돼지 유래의 연골 및 피부)에서 테스트하였다. 상기 조직은 Veterinary Faculty of the Autonomous University of Barcelona에서 다른 목적으로 사용한 안락사된 동물로부터 직접 입수하였다. 상기 목적은 습윤 조건에서 다양한 타입의 생물학적 조직에서 멤브레인의 부착을 입증하는 것이었다. 이를 위해, 본 발명의 다양한 멤브레인 (1-7, 1-8, 1-9, 1-10, 1-11, 1-12, 2-7, 2-8, 2-9, 2-10, 2-7, 2-8, 2-9, 2-10, 2-11, 2-12, 3-7, 3-8, 3-9, 3-10, 4-7, 4-8)을 다양한 크기로 절단하고, 조직에 부착하였다. 테스트는 비관능화 및 관능화된 멤브레인 및 세포가 존재 및 부재하는 멤브레인을 사용하여 수행하였다. 거즈를 사용하여, 부착된 멤브레인에 영향을 주지 않고 해당 부위를 세정할 수 있고, 이는 해당 부위에 이동하지 않고 남아 있었다. 극한 조건에서 부착력을 테스트하기 위해, 멤브레인에 부착된 생물학적 조직을 수개월 동안 물에 침지시켜서, 상기 멤브레인이 상기 조직으로부터 분리되지 않고 조직에 부착된 상태로 남아있는 것을 관찰하였다.

[0292] 6.4.5. 인 비보

[0293] 인 비보 분석 (*in vivo* assays)은 암컷 및 수컷의 Dawley Sprague 래트를 사용하여 수행하였다. ASC 세포의 존재 유무에 따라 서로 다른 조성의 7개의 멤브레인들 (1-7, 1-12, 2-7, 3-7, 3-11, 5-1 및 5-11)을 테스트하였다 (상기 참조).

[0294] 상기 멤브레인을 연골, 뼈 및 근육에 위치시켜서, 거부 반응 없이 조직에 대한 부착력이 우수한 것을 보여주었다. 또한, 염증, 흉반 및 부종이 관찰되지 않았다. 이러한 예비 결과는 우수한 인 비보 내약성 및 생체적합성을

입증하였다.

[0295] 비교 제안을 위해, PEI에 기반한 멤브레인을 테스트하였고, 이는 거칠기가 매우 낮고, 멤브레인과 조직 간의 상호작용이 결여되어 생물학적 조직에 대한 부착력이 매우 낮은 것을 보여주었다. 또한, 이의 가요성이 결여되어 이를 제대로 적용하기 어려워서, 멤브레인을 생물학적 조직에 적절하게 커버할 수 없었다. 조직에 대한 낮은 접착력 및 강직성으로 인해, 테스트를 계속할 수 없었고, 결국 중단해야 하였다.

[0296] 인용 목록

[0297] 비-특허 문헌

[0298] Iacomino M. *et al.*, "Multifunctional Thin Films and Coatings from Caffeic Acid and a Cross-Linking Diamine", 2017, Langmuir, 33, 9, 2096-2102 (doi: 10.1021/acs.langmuir.6b04079);

[0299] Ponzio F. *et al.*, "Polydopamine deposition at fluid interfaces", 2016, Society of Chemical Industry, pages 1-7 (doi 10.1002/pi.5124); 및

[0300] Suarez-Garcia S. *et al.*, "Copolymerization of a Catechol and a Diamine as a Versatile Polydopamine-Like Platform for Surface Functionalization: The Case of a Hydrophobic Coating", 2017, Biomimetics, 2(4), 22 (doi:10.3390/biomimetics2040022);

[0301] 항목

[0302] 완전성을 위해, 본 발명의 다양한 양상은 하기 번호가 매겨진 항목에 제시된다:

[0303] 항목 1. 하기 단계를 포함하는, 카테콜아민-기반 멤브레인을 제조하는 방법:

[0304] a) 카테콜 유도체를 하기로 구성된 그룹으로부터 선택된 아민과 가교결합하여 임의의 지지체 없이 공기/액체 계면에서 카테콜아민 멤브레인을 형성하는 단계로서, 상기 가교결합 반응은 액체 매질에서 수행하고, 상기 카테콜 및 아민 모두는 pH 6.5 내지 10, 구체적으로 pH 6.5 내지 8에서 교반하에, 구체적으로 적절한 교반하에 용해되는 것인 단계:

[0305] a.1) 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민 탄화수소

[0306] A-B-A' (II)

[0307] 여기서

[0308] A 및 A'는 동일하거나 또는 상이하고, -NR₁R'₁을 나타내고,

[0309] B는 (C₁-C₂₀)알킬렌; -OH, 할로젠, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₂ 및 -NR₃R'₃으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₂₀)알킬렌; (C₂-C₂₀)알케닐렌; -OH, 할로젠, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₄ 및 -NR₅R'₅으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₂-C₂₀)알케닐렌; (C₂-C₂₀)알키닐렌; -OH, 할로젠, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₆ 및 -NR₇R'₇으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₂-C₂₀)알키닐렌; 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌; -OH, 할로젠, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₈, 및 NR₉R'₉으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌; 알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌; 및 -OH, 할로젠, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₁₀, 및 -NR₁₁R'₁₁으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌을 나타내고;

[0310] A는 B 바이라디칼 탄화수소 백본의 일부를 형성하는 제1 원자 구성원에 결합되어 있고;

[0311] A'는 B 바이라디칼 탄화수소 백본의 일부를 형성하는 최종 원자 구성원에 결합되어 있고;

[0312] 여기서 "제1" 및 "최종" 원자 구성원은 B 바이라디칼 탄화수소 백본을 좌측으로부터 우측으로 또는 그 반대로 읽는 것으로 확인하고;

[0313] R₁, R'₁, R₃, R'₃, R₅, R'₅, R₇, R'₇, R₉, R'₉, R₁₁, 및 R'₁₁은 동일하거나 또는 상이하고, -H; (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-

C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알키닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₁₂ 및 -NR₁₃R'₁₃으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0314] R₂, R₄, R₆, R₈, R₁₀ 및 R₁₂는 독립적으로 -H; (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알키닐; 및 -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₁₄ 및 -NR₁₅R'₁₅로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0315] R₁₃, R'₁₃, R₁₄, R₁₅ 및 R'₁₅는 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; 및 (C₂-C₁₀)알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

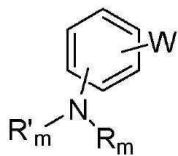
[0316] "알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌"은 C(R_x)₂, CR_x, -N-, -NR'_x-, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 3 내지 20개의 구성원으로 구성된 알려진 포화 사슬을 의미하며, 단 (a) 상기 구성원들 중 적어도 하나는 -N-, -NR'_x-, -S-, 또는 -O-이고; (b) 상기 헤테로알킬렌의 백본을 형성하는 제1 구성원 및 최종 구성원은 탄소 원자이고;

[0317] "알려진 3원 내지 20원 헤테로알케닐렌"은 C(R_x)₂, -CR_x-, -N-, -NR'_x-, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 3 내지 20개의 구성원으로 구성된 알려진 불포화 사슬을 의미하며, 단 (a) 상기 구성원들 중 적어도 하나는 -N-, -NR'_x-, -S-, 또는 -O-이고; (b) 상기 헤테로알킬렌의 백본을 형성하는 제1 구성원 및 최종 구성원은 탄소 원자이고; (c) 하나 이상의 이중 결합을 포함하고;

[0318] R_x는 독립적으로 -H; -OH; (C₁-C₁₀)알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알키닐; (C₁-C₁₀)할로알킬; O-(C₁-C₁₀)알킬; -O-(C₂-C₁₀)알케닐; -O-(C₂-C₁₀)알키닐; 니트로, -NR_{x1}R_{x2}; -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₁₆ 및 -NR₁₇R'₁₇로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬; 및 할로겐으로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0319] R_{x1}, R_{x2}, R₁₆, R₁₇, R'₁₇, 및 R'_x는 독립적으로 -H, (C₁-C₁₀)알킬, (C₂-C₁₀)알케닐, (C₂-C₁₀)알키닐 및 (C₁-C₁₀)할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택됨; 및

[0320] a.2) 화학식 (IIbis)의 방향족 아민:



(IIbis)

[0321]

[0322] 여기서 W는:

[0323] -NR₁R'₁ 또는 *S-S-L을 나타내고; 여기서, (*)는 W 라디칼의 S 원자가 방향족 고리의 일부를 형성하는 탄소 원자에 결합되어 있음을 나타내고;

[0324] L은 -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₂₈, 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C₁-C₁₀)알킬; -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₂₈ 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C₁-C₁₀)할로알킬; -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₂₈ 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C₂-C₁₀)알케닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O-(C₁-C₁₀)알킬, -C(O)OR₂₈ 및 -NR₂₈R'₂₈로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환되고, 단 치환기들 중 적어도 하나가 -NR₂₈R'₂₈인 (C₂-C₁₀)알키닐; 및 -CR_v-, -N-, -O-, -NR'_v-, -S-로 구성

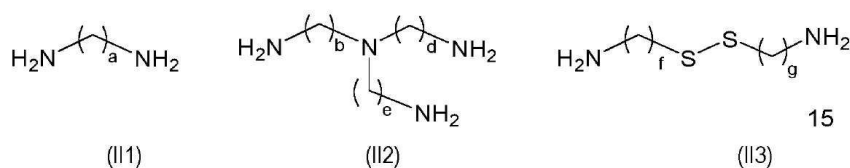
된 그룹으로부터 선택된 5 또는 6개의 구성원을 갖는 알려진 방향족 고리로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

- [0325] R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 는 동일하거나 또는 상이하고, H, (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₂₉ 및 -NR₃₀R'₃₀으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬; 및 -CR_z-, -N-, -NR'_z-, -O-, 및 -S-로 구성된 그룹으로부터 선택된 5 또는 6개의 구성원을 갖는 알려진 방향족 고리로 구성된 그룹으로부터 선택되고;
- [0326] R_v 중 적어도 하나는 -NR₃₁R'₃₁이고, 나머지(들) R_v 는 H, -NR₃₁R'₃₁, (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; 및 -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₃₂ 및 -NR₃₃R'₃₃으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;
- [0327] R_z 및 R'_z 는 독립적으로 H, (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; (C_2-C_{10}) 알키닐; -OH, -NO₂, 시아노, -O- (C_1-C_{10}) 알킬, -C(O)OR₃₄ 및 -NR₃₅R'₃₅로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;
- [0328] R_{28} , R'_{28} , R_{29} , R_{30} , R'_{30} , R_{31} , R'_{31} , R_{32} , R_{33} , R'_{33} , R_{34} , R_{35} , 및 R'_{35} 는 독립적으로 -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬; (C_2-C_{10}) 알케닐; 및 (C_2-C_{10}) 알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택됨; 및
- [0329] b) 단계 (a)에서 생성된 멤브레인을 공기/액체 계면으로부터 분리하는 단계.
- [0330] 항목 2. 항목 1에 있어서, 상기 아민은 화학식 (II)의 아민인 것인 방법.
- [0331] 항목 3. 항목 1 또는 2에 있어서, 상기 A 및 A'는 동일하거나 또는 상이하고, NHR'₁을 나타내는 것인 방법.
- [0332] 항목 4. 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민은 A 및 A'이 동일한 아민인 것인 방법.
- [0333] 항목 5. 항목 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 A 및 A'는 동일하고, NHR'₁을 나타내는 것인 방법.
- [0334] 항목 6. 항목 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서, 상기 A 및 A' 중 적어도 하나는 -NH₂를 나타내는 것인 방법.
- [0335] 항목 7. 항목 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 A 및 A'는 동일하고, -NHR'₁, 특히 -NH₂를 나타내는 것인 방법.
- [0336] 항목 8. 항목 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 (C_1-C_{20}) 알킬렌; 항목 1에 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{20}) 알킬렌; 또는 항목 1에 정의된 바와 같은 알려진 3원 내지 20원 헤테로알킬렌을 나타내는 것인 방법.
- [0337] 항목 9. 항목 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 항목 1에 정의된 바와 같이 치환된 (C_1-C_{15}) 알킬렌; 또는 항목 1에 정의된 바와 같은 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내는 것인 방법.
- [0338] 항목 10. 항목 1 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 (C_1-C_{15}) 알킬렌, (C_2-C_{15}) 알킬렌, (C_4-C_{15}) 알킬렌 또는 (C_5-C_{15}) 알킬렌을 나타내는 것인 방법.
- [0339] 항목 11. 항목 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 3원 내지 10원 헤테로알킬렌 또는 알려진 4원 내지 8원 헤테로알킬렌을 나타내는 것인 방법.
- [0340] 항목 12. 항목 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 하나는 $C(R_x)_2$, CR_x, -NR'_x-, 및 -S-로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 상기 R_x 및 R'_x는 항목 1에 정의된 바와 같은 것인 방법.
- [0341] 항목 13. 항목 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 알려진 4원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고, 특히 알려진 4원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 상기 구성원들 중 하나는 $C(R_x)_2$, CR_x, -NR'_x-, 및 -S-로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 상기 R_x 및 R'_x는 항목 1에 정의된 바와 같은 것인 방법.
- [0342] 항목 14. 항목 1 내지 13 중 어느 한 항에 있어서, 상기 B는 알려진 3원 내지 15원 헤테로알킬렌을 나타내고,

특히 알려진 3원 내지 10원 헤테로알킬렌을 나타내고, 여기서:

- [0343] (a) 상기 구성원들 중 하나 또는 2개는 -S- 원자이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로부터 선택된 탄소 원자이거나; 또는 대안적으로,
- [0344] (b) 상기 구성원들 중 하나 또는 2개는 $-NR'_x-$ 이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이고; 여기서 R_x 는 항목 1에 정의된 바와 같고;
- [0345] (c) 상기 구성원들 중 하나는 -S- 원자이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이거나; 또는 대안적으로,
- [0346] (d) 상기 구성원들 중 하나는 $-NR'_x-$ 이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이고;
- [0347] (e) 상기 구성원들 중 2개는 -S- 원자이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이거나; 또는 대안적으로,
- [0348] (f) 상기 구성원들 중 2개는 NR'_x- 이고, 다른 구성원은 $C(R_x)_2$, 및 CR_x 로 구성된 그룹으로부터 선택된 탄소 원자이고;
- [0349] 여기서 R_x 및 R'_x 는 항목 1에 정의된 바와 같은 것인 방법.

[0350] 항목 15. 항목 1 내지 14 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 (II)의 알려진 지방족 아민은 화학식 (II1)의 아민, 화학식 (II2)의 아미노, 및 화학식 (II3)의 아민으로 구성된 그룹으로부터 선택되고:

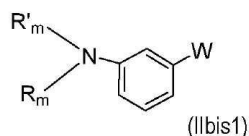


[0351]

[0352] 여기서 a는 1 내지 20의 정수이고; b, d 및 e는 독립적으로 1 내지 10의 정수이고, 보다 구체적으로 b, d 및 e는 동일하고; f 및 g는 독립적으로 1 내지 10의 정수이고, 보다 구체적으로 f 및 g는 동일하고, 보다 구체적으로 헥사메틸렌디아민, 옥타메틸렌디아민, 도데카메틸렌디아민, 시스타민, 트리스-(3-아미노프로필)아민, 및 트리스-(2-아미노프로필)아민으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

[0353] 항목 16. 항목 1에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis)의 방향족 아민인 것인 방법.

[0354] 항목 17. 항목 1 내지 16 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis1)의 방향족 아민이고:



[0355]

[0356] 여기서 R_m , R'_m , 및 W는 항목 1에 정의된 바와 같은 것인 방법.

[0357] 항목 18. 항목 1, 16-17 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내는 것인 방법.

[0358] 항목 19. 항목 1, 16-18 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W는 $-NR_tR'_t$ 를 나타내고, R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 는 동일한 것인 방법.

[0359] 항목 20. 항목 19에 있어서, 상기 R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 는 동일하고, -H를 나타내는 것인 방법.

[0360] 항목 21. 항목 1 내지 20 중 어느 한 항에 있어서, 상기 R_t 및 R'_t 는 동일하고, 수소가 아닌 것인 방법.

[0361] 항목 22. 항목 1 내지 21 중 어느 한 항에 있어서, 상기 R_m 및 R'_m 는 수소이고; R_t 및 R'_t 는 동일하고, 수소가

아닌 것인 방법.

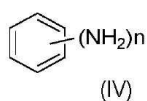
[0362] 항목 23. 항목 1 내지 22 중 어느 한 항에 있어서, 상기 R_t 및 R'_t 각각은 항목 1에 정의된 바와 같은 방향족 고리를 나타내는 것인 방법.

[0363] 항목 24. 항목 1 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 R_t 및 R'_t 각각은 항목 1에 정의된 바와 같은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내는 것인 방법.

[0364] 항목 25. 항목 1 내지 24 중 어느 한 항에 있어서, 상기 R_t 및 R'_t 각각은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 모든 구성원은 $-CR_z-$ 이고, 상기 R_z 는 항목 1에 정의된 바와 같은 것인 방법.

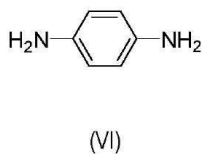
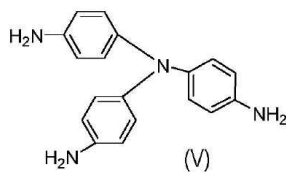
[0365] 항목 26. 항목 1 내지 25 중 어느 한 항에 있어서, 상기 R_t 및 R'_t 는 동일하고, 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 모든 구성원은 $-CR_z-$ 구성원이고, 상기 R_z 는 항목 1에 정의된 바와 같은 것인 방법.

[0366] 항목 27. 항목 1 내지 26 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1) 중 하나이고, $W=NR_tR'_t$ 이고, R_m , R'_m , R_t 및 R'_t 중 하나 이상은 하기 화학식 (IV)을 가지며:



[0367] 여기서 n 은 1 또는 2, 특히 1이고, 나머지(들)는 -H인 것인 방법.

[0369] 항목 28. 항목 1 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 (IIbis)의 아민은 화학식 (V) 또는 (VI) 중 하나인 것인 방법:



[0370]

[0371] 항목 29. 항목 1 내지 28 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내는 것인 방법.

[0372] 항목 30. 항목 1 내지 29 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 동일한 것인 방법.

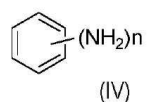
[0373] 항목 31. 항목 1 내지 30 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, W 는 $^*S-S-L$ 을 나타내고, R_m 및 R'_m 은 -H를 나타내는 것인 방법.

[0374] 항목 32. 항목 1 내지 31 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 화학식 (IIbis) 또는 (IIbis1)의 방향족 아민이고, L 은 항목 1에 정의된 바와 같은 방향족 고리를 나타내는 것인 방법.

[0375] 항목 33. 항목 1 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, 상기 L 은 항목 1에 정의된 바와 같은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내는 것인 방법.

[0376] 항목 34. 항목 1 내지 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 L 은 6개의 구성원을 갖는 방향족 고리를 나타내고, 동일하거나 또는 상이하고, 항목 1에 정의된 바와 같은 $-CR_v-$ 로 표시되는 것인 방법.

[0377] 항목 35. 항목 1 내지 34 중 어느 한 항에 있어서, 상기 L 은 하기 화학식 (IV)을 가지며:

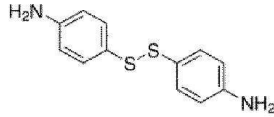


[0378]

[0379] n은 1 또는 2이고,

[0380] 방향족 고리를 형성하는 탄소 원자들 중 하나는 -S- 원자에 결합되어 있는 것인 방법.

[0381] 항목 36. 항목 1 내지 35 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 (IIbis)의 아민은 화학식 (VII)의 아민에 해당하는 것인 방법:

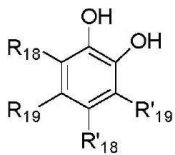


(VII)

[0382]

[0383] 항목 37. 항목 1 내지 36 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아민은 헥사메틸렌디아민, 옥타메틸렌디아민, 도데카메틸렌디아민, 시스타민, 트리스-(3-아미노프로필)아민, 트리스-(2-아미노프로필)아민, 및 4,4',4''-트리아미노트리페닐아민으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

[0384] 항목 38. 항목 1 내지 37 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카테콜 유도체는 화학식 (III) 중 하나이고:



(III)

[0385]

[0386] 여기서

[0387] R_{18} , R_{19} , R'_{18} 및 R'_{19} 는 동일하거나 또는 상이하며, 하기로 구성된 그룹으로부터 선택되고:

[0388] -H;

[0389] -OH;

[0390] $-NR_{20}R'_{20}$;

[0391] 할로젠;

[0392] (C_1-C_{10}) 알킬;

[0393] (C_2-C_{10}) 알케닐;

[0394] -OH, 할로젠, 니트로, 시아노, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-NR_{21}R'_{21}$, $-C(O)OR_{22}$, 및 $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_1-C_{10}) 알킬;

[0395] -OH, 할로젠, 니트로, 시아노, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-NR_{23}R'_{23}$, $-C(O)OR_{24}$, 및 $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C_2-C_{10}) 알케닐;

[0396] 1개 또는 2개의 고리로 구성되고, 각 고리는 (a) $-C(R_y)_2$ -, $-CR_y$ -, $-N$ -, $-NR'_y$ -, $-S$ -, 및 $-O$ -로 구성된 그룹으로부터 선택된 5 또는 6개의 구성원으로 구성되고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 단리, 부분 단리 또는 융합된 것인 알려진 고리 시스템;

[0397] R_y 중 하나 각각은 독립적으로 -H, -OH, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐, (C_1-C_{10}) 할로알킬, $-O-(C_1-C_{10})$ 알킬, 니트로, $-NR_{25}R_{25}$ 및 할로젠으로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0398] R'_y 는 -H, (C_1-C_{10}) 알킬, (C_2-C_{10}) 알케닐, (C_2-C_{10}) 알키닐, 및 (C_1-C_{10}) 할로알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0399] R_{20} , R'_{20} , R_{21} , R'_{21} , R_{23} , R'_{23} , R_{25} , 및 R'_{25} 는 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C_1-C_{10}) 알킬; (C_1-C_{10}) 할로알킬;

(C₂-C₁₀)알케닐; (C₂-C₁₀)알키닐; -OH, 할로젠, 니트로, 시아노, (C₁-C₁₀)알킬, (C₁-C₁₀)할로알킬, -NR₂₆R'₂₆, -C(O)OR₂₇, 및 -O-(C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 치환된 (C₁-C₁₀)알킬로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0400] R₂₂ 및 R₂₄는 독립적으로 H, (C₁-C₁₀)알킬, (C₁-C₁₀)할로알킬, (C₂-C₁₀)알케닐; 및 (C₂-C₁₀)알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택되고;

[0401] R₂₆, R'₂₆ 및 R₂₇은 동일하거나 또는 상이하며, -H; (C₁-C₁₀)알킬; (C₁-C₁₀)할로알킬; (C₂-C₁₀)알케닐; 및 (C₂-C₁₀)알키닐로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

[0402] 항목 39. 항목 1 내지 38 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카테콜 유도체는 화학식 (III) 중 하나이고, 여기서:

[0403] - R₁₈ 및 R₁₉는 동일하거나 또는 상이하고, -H; -OH; (C₁-C₁₀)알킬; 항목 38에 정의된 바와 같이 치환된 (C₁-C₁₀)알킬; 및 항목 38에 정의된 바와 같이 치환된 (C₂-C₁₀)알케닐로 구성된 그룹으로부터 선택되거나; 또는, 대안적으로,

[0404] - R₁₈ 및 R₁₉ 중 하나는 2개의 고리들로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) -C(R_y)₂-, -CR_y-, -N-, -NR'_y-, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 5-6개의 구성원으로 구성되고, (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 단리, 부분 단리 또는 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y는 항목 38에 정의된 바와 같거나; 또는, 대안적으로,

[0405] - R₁₈ 및 R₁₉ 중 하나는 2개의 고리들로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) -C(R_y)₂-, -CR_y-, -N-, -NR'_y-, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개 구성원으로 구성되고, (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y는 항목 38에 정의된 바와 같거나; 또는, 대안적으로,

[0406] - R₁₈ 및 R₁₉ 중 하나는 2개의 고리들로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) -C(R_y)₂-, -CR_y-, -N-, -NR'_y-, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, 단 상기 고리들 중 적어도 하나는 헤테로원자 (-N-, -NR'_y-, -S-, 및 -O-)를 포함하고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y는 항목 38에 정의된 바와 같거나; 또는, 대안적으로,

[0407] - R₁₈ 및 R₁₉ 중 하나는 2개의 고리들로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) -C(R_y)₂-, -CR_y-, -N-, -NR'_y-, -S-, 및 -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, 단 상기 고리들 중 적어도 하나는 -O-헤테로원자를 포함하고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y는 항목 38에 정의된 바와 같거나; 또는, 대안적으로,

[0408] - R₁₈ 및 R₁₉ 중 하나는 2개의 고리들로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) -C(R_y)₂-, -CR_y-, -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, 단 상기 고리들 중 적어도 하나는 -O-헤테로원자를 포함하고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y는 항목 38에 정의된 바와 같거나; 또는, 대안적으로,

[0409] - R₁₈ 및 R₁₉ 중 하나는 2개의 고리들로 구성된 알려진 고리 시스템이고, 각 고리는 (a) -C(R_y)₂-, -CR_y-, -O-로 구성된 그룹으로부터 선택된 6개의 구성원으로 구성되고, 단 상기 고리들 중 적어도 하나는 -O-헤테로원자를 포함하고; (b) 포화, 부분 불포화 또는 방향족이고, (c) 융합되고; 여기서 R_y 및 R'_y는 항목 38에 정의된 바와 같은 것인 방법.

[0410] 항목 40. 항목 1 내지 39 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카테콜 유도체는 화학식 (III) 중 하나이고, 여기서 R₁₈ 또는 R₁₉ 중 하나가 -H이고 다른 하나는 항목 1 내지 39 중 어느 한 항, 구체적으로 항목 38-39에 정의된 바와 같은 것인 방법.

[0411] 항목 41. 항목 1 내지 40 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 (III)의 카테콜 유도체는 R'₁₈ 및 R'₁₉가

-H이고, R₁₈ 및 R₁₉는 항목 39-40 중 어느 한 항 또는 38에 정의된 바와 같은 것인 방법.

- [0412] 항목 42. 항목 1 내지 41 중 어느 한 항에 있어서, 상기 카테콜 유도체는 피로카테콜, 카페산, 도파민, 4-메틸 카테콜, 피로갈롤 및 카테킨으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0413] 항목 43. 항목 1 내지 42 중 어느 한 항에 있어서, 상기 pH는 6.5 내지 8 또는 7 내지 7.5를 포함하거나; 또는 상기 pH는 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 및 10으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0414] 항목 44. 항목 1 내지 43 중 어느 한 항에 있어서,
- [0415] a) 교반은 전체 가교 단계 동안 또는 대안적으로 가교 반응의 일부 동안 수행하거나, 또는 대안적으로
- [0416] b) 교반은 와류가 제공되지 않도록 전체 가교 단계 동안 수행하며, 보다 구체적으로 교반 속도는 450 rpm 이하, 400 rpm 이하 또는 350 rpm 이하이거나, 또는 대안적으로,
- [0417] c) 교반은 공기/액체 계면에서 와류를 피하기 위해 가능한 가장 낮은 속도를 사용하고 전체 과정 동안 균일하며, 교반 절차에 관련된 자석 또는 기계 부품의 불규칙한 움직임을 방지하면서 수행하고, 보다 구체적으로 교반 속도는 450 rpm 이하, 400 rpm 이하, 또는 350 rpm 이하이거나, 또는 대안적으로,
- [0418] d) 교반은 가교 반응의 일부 동안에만 수행되며, 특히 색상의 변화가 관찰될 때까지 와류가 제공되지 않도록 교반을 수행한 다음에, 중단하고, 더욱 구체적으로 10분 내지 2시간 동안 교반이 수행한 다음에 중단하거나, 또는 대안적으로,
- [0419] e) 상기 교반 속도는 400 rpm 이하, 또는 350 rpm 이하인 것인 방법.
- [0420] 항목 45. 항목 1 내지 44 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 (II) 또는 (IIbis)의 아민은 상기 카테콜 유도체에 대해 과량의 몰비로 존재하는 것인 방법.
- [0421] 항목 46. 항목 1 내지 45 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 단계는 10 내지 60℃를 포함하는 온도에서 수행하는 것인 방법.
- [0422] 항목 47. 항목 1 내지 46 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 단계는 적어도 24시간의 기간 동안 수행하는 것인 방법.
- [0423] 항목 48. 항목 1 내지 47 중 어느 한 항에 있어서, 상기 액체 매질은 수성-기반 버퍼, 보다 구체적으로 질소 원자 또는 아미노기가 없는 수성-기반 버퍼, 더욱 구체적으로 포스페이트 버퍼, 카보네이트 버퍼 및 시트레이트 버퍼로 구성된 그룹으로부터 선택된 수성-기반 버퍼를 포함하는 것인 방법.
- [0424] 항목 49. 항목 1 내지 48 중 어느 한 항에 있어서, 상기 액체 매질은 물인 것인 방법.
- [0425] 항목 50. 항목 1 내지 49 중 어느 한 항에 정의된 방법에 의해 수득 가능한 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인.
- [0426] 항목 51. 항목 1 내지 50 중 어느 한 항에 있어서, 치료 분자, 세포, 성장 인자, 검출 표지 (형광 활성 모이어티, 나노입자 또는 항체), 및 이들의 조합으로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 관심 분자를 추가로 포함하는 것인 카테콜아민-기반 멤브레인.
- [0427] 항목 52. 항목 51에 있어서, 상기 관심 분자는 멤브레인에 공유 결합, 특히 아마이드 결합에 의해 결합되는 것인 카테콜아민-기반 멤브레인.
- [0428] 항목 53. 하기 단계를 포함하는, 항목 51 및 52 중 어느 한 항에 정의된 카테콜아민-기반 멤브레인을 제조하는 방법:
- [0429] (i.1) 항목 1에 정의된 바와 같은 방법의 단계 (a)를 수행하는 단계,
- [0430] (i.2) 반응 매질에 관심 분자를 부가하는 단계; 및
- [0431] (i.3) 항목 1에 정의된 바와 같은 방법의 단계 (b)를 수행하는 단계;
- [0432] 또는 대안적으로,
- [0433] (ii.1) 항목 50에 정의된 바와 같은 카테콜아민-기반 멤브레인을 관심 분자와 인큐베이션하는 단계.

- [0434] 항목 54. 접착제로서 항목 50에 따른 카테콜아민-기반 멤브레인의 용도.
- [0435] 항목 55. 치료 또는 표지 분자와 같은 관심 분자의 비히클로서 항목 50에 따른 카테콜아민-기반 멤브레인의 용도.
- [0436] 항목 56. 관심 분자는 요법에 사용하기 위한 치료 분자인 항목 51 내지 52 중 어느 한 항에 정의된 카테콜아민-기반 멤브레인, 또는 대안적으로 관심 분자는 진단에 사용하기 위한 검출 표지인 항목 47 내지 48 중 어느 한 항에 정의된 자립형 카테콜아민-기반 멤브레인.
- [0437] 항목 57. 항목 51 내지 52 중 어느 한 항에 있어서, 상기 관심 분자는 조직 재생에 사용하기 위한 세포, 성장 인자 또는 이들의 조합인 것인 카테콜아민-기반 멤브레인.
- [0438] 항목 58. 항목 50 내지 52 중 어느 한 항에 정의된 멤브레인으로 부분적으로 또는 완전히 코팅된 물품.

도면

도면1

