



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0017850
(43) 공개일자 2008년02월27일

(51) Int. Cl.

C08G 65/48 (2006.01) C08G 65/00 (2006.01)

C08G 81/02 (2006.01) C08G 81/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0079581

(22) 출원일자 2006년08월22일

심사청구일자 2006년08월22일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교내

(72) 발명자

정병문

서울 서대문구 대현동 11-1 이화여자대학교 나노과학부

정유리

서울 강남구 대치2동 은마아파트 22동 103호

박경현

서울 서초구 서초동 삼풍아파트 18동 1205호

(74) 대리인

박장원

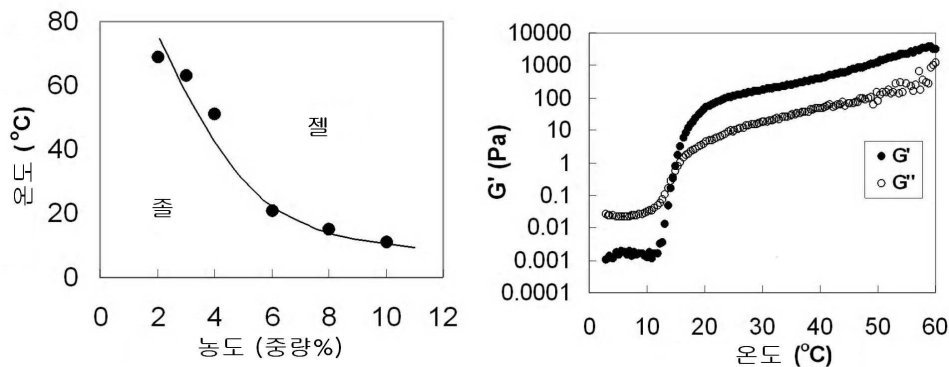
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 온도 민감성 졸-겔 전이 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록공중합체, 이의 제조 방법 및 이의 의학적 응용

(57) 요약

본 발명은 수평균 분자량 400 ~ 6,000 달톤의 폴리에틸렌글리콜 블록과 수평균 분자량 200 ~ 2,000 달톤의 폴리펩티드 블록으로 이루어진, 분자량 500 ~ 30,000의 온도 민감성 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체, 이들의 제조 방법 및 이들의 의학적 응용에 관한 것이다. 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체의 수용액은 일정한 농도 이상인 경우에 특정 온도 이하에서는 수용액으로 존재하지만, 그 이상의 온도에서는 수화겔로 전이가 일어나므로, 의약 전달물질로 응용될 수 있다.

대표도



특허청구의 범위

청구항 1

수평균 분자량 400 ~ 6,000 달톤의 폴리에틸렌글리콜 블록과 수평균 분자량 200 ~ 2,000 달톤의 폴리펩티드 블록으로 이루어진, 분자량 500 ~ 30,000의 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 폴리에틸렌글리콜-폴리펩티드, 폴리에틸렌글리콜-폴리펩티드-폴리에틸렌글리콜, 폴리펩티드-폴리에틸렌글리콜-폴리펩티드 또는 (폴리에틸렌글리콜-폴리펩티드)_n의 구조를 갖는 것이고, 상기 n은 2 ~ 30의 정수인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 폴리에틸렌글리콜의 함량이 40 ~ 80 중량%이고 폴리펩티드의 함량이 20 ~ 70 중량%인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 글라이신, 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파산, 아스파라긴, 시스틴, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신 및 발린으로 구성된 군에서 선택되는 1종의 아미노산인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 의약 전달 물질로 사용되는 것인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 의약은 항암제, 호르몬, 항생제, 진통제, 항 감염제, 단백질 또는 펩티드 의약, 또는 핵산인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 항암제는 탁솔, 아드리아마이신, 블레오마이신, 시스플라틴, 카보플라틴, 독소루비신, 5-플로로우라실, 메톡트렉세이트 또는 안티노마이신 D인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 단백질 또는 펩티드 의약은 옥시토신, 바소프레신, 루테나이즈 호르몬 방출 호르몬, 성장 호르몬, 인슐린, 글루카곤, 인터루킨, 인터페론, 가스트린, 칼시토닌, 에리쓰로포이틴, 칼세토닌, 엔돌핀, 엔지오텐신, 암 고사 인자 (TNF), 신경 성장 인자 (NGF), 그라놀로사이트 콜로니 자극 인자 (GCSF), 레닌 또는 항체인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 핵산은 DNA, 플라스미드 DNA, RNA, 방해 RNA (RNAi) 또는 작은 방해 RNA (siRNA)인 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체.

청구항 10

말단 아민기 또는 히드록시기를 1개 이상 갖는 폴리에틸렌글리콜을 N-하이드록시 무수물 아미노산과 반응시키는 것을 포함하는, 제1항에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체의 제조 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <5> 본 발명은 온도 민감성 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체, 이의 제조 방법 및 이들의 의학적 응용에 관한 것이다.
- <6> 수용액 중에서 졸-겔 전이 반응을 나타내는 것으로 현재까지 보고된 고분자는 폴리(에틸렌 글리콜)-폴리(프로필렌 글리콜)-폴리(에틸렌 글리콜) (폴록사머), 폴리(N-이소프로필아크릴 아미드) 및 이의 공중합체, 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리(락타이드/글리콜라이드), 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리프로필렌프말레이트, 키토산/글리세롤 인산염, 폴리포스파젠, 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리카프로락톤 등이 있다.
- <7> 이들 고분자의 수용액은 상온 또는 그 이하의 온도에서는 용액 또는 졸 상태로 존재하지만, 체온 (37℃) 근처의 온도에서는 수화젤로 전이가 일어나므로, 이러한 고분자는 의약 전달 및 조직공학 재료로 이용될 수 있을 것으로 유력시되고 있다. 즉, 졸 상태에서 의약 또는 세포와 혼합한 후에 피하 또는 근육 주사를 통하여 체내에 투입하여 원하는 부위에서 수화젤 (depot)이 순간적으로 만들어지도록 함으로써, 약물을 서서히 방출하거나 세포가 자라서 조직이 재생되도록 할 수 있다. 이런 생분해성 재료는 외과적 수술이 필요 없이 임플란트 (implant)를 만들고, 단순한 마이크로 필터를 통하여 졸 상태에서 살균하는 것이 가능하다.
- <8> 그러나, 폴록사머, 폴리(N-이소프로필 아크릴아미드) 및 이의 공중합체는 생체 내에서 분해되지 않으며, 폴리(에틸렌 글리콜)-폴리(프로필렌 글리콜)-폴리(에틸렌 글리콜)의 경우 25 중량%의 수용액으로부터 만든 수화젤이라도 하루 이내에 용해되어 겔의 형태를 유지하지 못한다.
- <9> 미국특허 제6,117,949호, 제6,201,072호, 제6,841,617호는 온도를 상승시킬 때 수용액에서 수화젤로 전이가 일어나는 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리(락타이드/글리콜라이드) 및 이들의 의학적 응용을 기술하고 있다. 미국 특허 공개 공보 제 20060018949호는 온도를 상승시킬 때 수용액에서 수화젤로 전이가 일어나는 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리프로필렌프말레이트 및 이들의 의학적 응용을 기술하고 있다. 그러나, 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리(락타이드/글리콜라이드)와 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리(프로필렌 프말레이트)는 분해 시에 산이 발생하고, 녹이는 데에 오랜 시간이 소요되며, 또한 수용액 상태로 상온에서 보관하는 경우에는 불안정하여 쉽게 가수 분해된다. 또한, 졸-겔 전이가 일어나는 최소 농도가 10 중량% 이상으로 비교적 높다는 단점이 있다.
- <10> 미국 특허 공개 공보 제20050020808호는 온도를 상승시킬 때 수용액에서 수화젤로 전이가 일어나는 폴리포스파젠을, 미국특허 제6,344,488호는 키토산/글리세롤 인산염 및 이들의 의학적 응용을 기술하고 있다. 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리(락타이드/글리콜라이드), 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리(프로필렌 프말레이트), 폴리포스파젠 등은 열형상으로서, 용해시키는 데에 오랜 시간이 소요되는 단점이 있다.
- <11> 미국 특허 공개 공보 제20040077780호는 온도를 상승시킬 때 수용액에서 수화젤로 전이가 일어나는 폴리(에틸렌 글리콜)/ 2 종류 이상의 아미노산으로 이루어진 폴리펩티드 공중합체 및 이들의 의학적 응용을 광범위하게 기술하고 있다.
- <12> 대한민국 특허 공개 공보 제2002-0023441호는 졸-겔 상전이를 일으키는 이소프로필아크릴아미드 공중합체 및 이를 이용한 혈관 폐색을 기술하고 있다. 그러나, 이들은 생체 내에서 분해되지 않으므로 의약 전달 또는 조직공학용 재료로 응용하는 경우에 체내에서 제거하여야 한다는 한계가 있다. 또한, 아크릴아미드는 발암 물질로서, 잔류 단량체의 독성이 문제가 될 수 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <13> 따라서 본 발명의 목적은 앞서 기술한 기존의 졸-겔 전이 물질이 가지는 문제점을 해결하기 위한 것으로서, 상온 또는 그 이하에서는 수용액 (졸) 상태로 존재하나, 체온에서 수화젤로 변하는 생분해성 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록공중합체, 이의 제조 방법 및 이의 의학적 용도를 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

- <14> 본 발명은 수평균 분자량 400 ~ 6,000 달톤의 폴리에틸렌글리콜 블록 (블록 A)과 수평균 분자량 200 ~ 2,000 달톤의 폴리펩티드 블록 (블록 B)으로 이루어진, 분자량 500 ~ 30,000의 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중

합체에 관한 것이다.

- <15> 블록 A와 블록 B의 분자량이 위와 같은 범위인 경우에 친수성과 소수성의 조절이 용이하며, 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체의 분자량 범위는 주사제로서 사용할 수 있는 용액의 점도를 고려한 값이다. 즉, 폴리펩티드의 분자량이 너무 크면 물에 대한 용해도가 낮아지고, 용해 과정에 시간이 많이 소요된다. 또한, 폴리에틸렌글리콜의 길이가 너무 긴 경우, 주사제로 투입 후에 체외 배출이 문제가 될뿐 아니라, 체온 근처에서 졸-젤 전이가 관찰되지 않는다.
- <16> 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체는 폴리에틸렌글리콜이 40 ~ 80 중량%와 폴리펩티드는 20 ~ 70 중량%로 구성된다.
- <17> 블록 공중합체는 이원 블록(diblock), 삼원 블록 (triblock), 다중 블록 (multiblock) 공중합체를 포함한다. 따라서, 그 구조는 AB, ABA, BAB 또는 $(AB)_n$ 일 수 있고, 이때 상기 n은 2 ~ 30의 정수이다.
- <18> 상기 폴리펩티드 블록은 한 종류의 아미노산으로 이루어져 있는 것으로서, 그 예로는 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스팔산, 아스파라긴, 시스틴, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이서류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 발린 등을 들 수 있다.
- <19> 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체는 상온 또는 그 이하의 온도에서는 수용액 (졸) 상태로 존재하나 체온에서 수화젤로 변하는 졸-젤 특성 및 생분해성을 가지므로, 의약 전달 시스템으로 응용될 수 있다.
- <20> 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체를 이용하여 전달할 수 있는 의약은 항암제, 호르몬, 항생제, 진통제, 항 감염제, 단백질 또는 펩타이드 의약, DNA 또는 RNA 등의 핵산 등을 포함한다.
- <21> 항암제의 예로는 탁솔, 아드리아마이신, 블레오마이신, 시스플라틴, 카보플라틴, 독소루비신, 5-플로로우라실, 메톡트렉세이트, 안티노마이신 D 등을 들 수 있고, 단백질 또는 펩티드 의약으로는 옥시토신, 바소프레신, 루테나이즈 호르몬 방출 호르몬, 성장 호르몬, 인슐린, 글루카곤, 인터루킨, 인터페론, 가스트린, 칼시토닌, 에리쓰로포이틴 (EPO), 칼시토닌, 엔돌핀, 엔지오텐신, 암 고사 인자 (TNF), 신경 성장 인자 (NGF), 그라눌로사이트 콜로니 자극 인자 (GCSF), 레닌, 항체 등을 들 수 있다. 핵산은 DNA, 플라스미드 DNA, RNA, 방해 RNA (RNAi), 작은 방해 RNA (siRNA) 등을 포함한다.
- <22> 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체는 말단 아민기를 1개 이상 갖는 폴리에틸렌글리콜을 N-하이드록시 무수물 아미노산과 반응시켜 제조될 수 있다.
- <23> **실시예**
- <24> 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 그러나 실시예는 본 발명의 예시에 불과할 뿐, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.
- <25> 실시예에 있어서, 수소 핵자기 공명 스펙트럼은 Bruker DPX-250 NMR 분광분석기(spectrophotometer)를 사용하고, 적외선 흡수 스펙트럼은 Nicolet Impact 400 FT-IR 분광분석기를 사용하여 각각 측정하였다.
- <26> 졸-젤 전이 온도는 Thermo Haake, Rheometer RS1을 사용하여 분석하였다. 이때 25 mm의 직경과 0.5 mm의 간극 사이에 고분자 용액을 채운 후에, 4.0 dyne/cm²의 스트레스와 1.0 rad./초의 주기로 시료에 변형을 주었고, 가열 속도는 0.2℃/분으로 하였다.
- <27> **실시예 1: PEG-PP 이원 블록 공중합체의 제조**
- <28> α-메톡시-ω-아미노 폴리에틸렌글리콜 (분자량: 1,000)과 건조된 톨루엔 50 ml를 플라스크에 넣은 다음 질소 기류 하에서 증류하여 물을 제거한다. 여기에 물이 제거된 클로로포름 (7 ml)을 넣어 폴리에틸렌글리콜을 녹이고, N-카복시 알라닌 무수물을 물이 제거된 N,N-디메틸포름아미드 (4.0 ml)에 녹여서 넣은 다음, 물이 제거된 클로로포름 (10.0 ml)을 넣고, 30℃에서 24시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후, 클로로포름 50 ml를 부어 용액을 만들고, 디에틸에테르에 부어 침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 수득율은 50 ~ 80%이다.
- <29> ¹H-NMR (아세트산-d₄): 4.8 (-COCH(CH₃)NH-), 3.6 (-CH₂CH₂O-), 3.4 (-CH₂CH₂NH-), 3.3 (-OCH₃), 1.4 ~ 1.5 (-COCH(CH₃)NH-)

- <30> FTIR (cm^{-1}): 3557, 3285, 3102, 2891, 1657, 1624, 1549, 1458, 1394, 1356, 1311, 1113, 968.
- <31> **실시예 2: PEG-PP 이원 블록 공중합체의 제조**
- <32> α -메톡시-폴리에틸렌글리콜 (분자량: 1,000)과 건조된 톨루엔 50 ml를 플라스크에 넣은 다음 질소 기류 하에서 증류하여 물을 제거한다. 여기에 물이 제거된 테트라하이드로퓨란 (7 ml)을 넣어 폴리에틸렌글리콜을 녹이고, α -메톡시-폴리에틸렌글리콜 1 당량에 대하여 칼륨 t-부틸알콕사이드 1.1 당량을 넣고, N-카르복시 알라닌 무수물을 넣은 다음, 30℃에서 24시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후, 클로로포름 50 ml를 부어 용액을 만들고, 디에틸에테르에 부어 재침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 수득율은 60 ~ 80%이다.
- <33> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$), 4.3 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCO}-$), 3.6 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.3 ($-\text{OCH}_3$), 1.4 ~ 1.5 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$)
- <34> FTIR (cm^{-1}): 3557, 3285, 3102, 1657, 1549, 1394, 1113.
- <35> **실시예 3: PP-PEG-PP 삼원 블록 공중합체의 제조**
- <36> α , ω -디아미노 폴리에틸렌글리콜 (분자량: 1,000)(2.50 g, 2.5 mmol)과 건조된 톨루엔 15 ml를 플라스크에 넣은 다음 질소 기류 하에서 완전히 증류하여 물을 제거한다. 여기에 물이 제거된 클로로포름 (6 ml)을 넣어 폴리에틸렌글리콜을 녹이고, N-카르복시 알라닌 무수물을 물이 제거된 N,N-디메틸포름아미드 (5.0 ml)에 녹여서 넣은 다음, 물이 제거된 클로로포름 (5.0 ml)을 넣고, 30℃에서 24시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후, N,N-디메틸포름아미드 4.0 ml와 클로로포름 8 ml를 부어 용액을 만들고, 디에틸에테르에 부어 재침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 에테르에 부어 재침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 수득율은 50 ~ 60%이다.
- <37> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$), 3.6 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.4 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$), 3.3 ($-\text{OCH}_3$), 1.4 ~ 1.5 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$)
- <38> FTIR (cm^{-1}): 3285, 3102, 2891, 1650, 1550, 1110.
- <39> **실시예 4: PP-PEG-PP 삼원 블록 공중합체의 제조**
- <40> 폴리에틸렌글리콜 (분자량: 1,000)(2.50 g, 2.5 mmol)과 건조된 톨루엔 15 ml를 플라스크에 넣은 다음 질소 기류 하에서 완전히 증류하여 물을 제거한다. 여기에 물이 제거된 테트라하이드로퓨란 (6 ml)을 넣어 폴리에틸렌글리콜을 녹이고, 폴리에틸렌글리콜 1 당량에 대하여 칼륨 t-부틸알콕사이드 1.1 당량을 넣고, N-카르복시 알라닌 무수물을 넣은 후, 물이 제거된 테트라하이드로퓨란 (5.0 ml)을 넣고, 30℃에서 24시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후, 클로로포름 8 ml를 부어 용액을 만들고, 디에틸에테르에 부어 재침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 수득율은 50 ~ 70%이다.
- <41> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$), 4.3 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCO}-$), 3.6 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.3 ($-\text{OCH}_3$), 1.4 ~ 1.5 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$)
- <42> FTIR (cm^{-1}): 3552, 3283, 3100, 2890, 1650, 1545, 1110.
- <43> **실시예 5: PP-PEG-PP 삼원 블록 공중합체의 제조**
- <44> α , ω -디아미노 폴리에틸렌글리콜 (분자량: 1,500)(1.50 g, 1.0 mmol)과 건조된 톨루엔 15 ml를 플라스크에 넣은 다음 질소 기류 하에서 완전히 증류하여 물을 제거한다. 여기에 물이 제거된 클로로포름 (4 ml)을 넣어 폴리에틸렌글리콜을 녹이고, N-카르복시 알라닌 무수물을 물이 제거된 N,N-디메틸포름아미드 (3.5 ml)에 녹여서 넣은 다음, 물이 제거된 클로로포름 (7.0 ml)을 넣고, 30℃에서 24시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후, N,N-디메틸포름아미드 1.0 ml와 클로로포름 1.8 ml를 부어 용액을 만들고, 디에틸에테르에 부어 재침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 수득율은 60 ~ 70%이다.
- <45> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$), 3.6 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.4 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$), 3.3 ($-\text{OCH}_3$), 1.4 ~ 1.5 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{NH}-$)

COCH(CH_3)NH-)

<46> FTIR (cm^{-1}): 3550, 3280, 3100, 1655, 1620, 1550, 1100.

<47> **실시예 6: PP-PEG-PP 삼원 블록 공중합체의 제조**

<48> α , ω -디아미노 폴리에틸렌글리콜 (분자량: 2,000)(2.02 g, 1.01 mmol)과 건조된 톨루엔 15 ml를 플라스크에 넣은 다음 질소 기류 하에서 완전히 증류하여 물을 제거한다. 여기에 물이 제거된 클로로포름 (4 ml)을 넣어 폴리에틸렌글리콜을 녹이고, N-카르복시 알라닌 무수물을 물이 제거된 N,N-디메틸포름아미드 (3.5 ml)에 녹여서 넣은 다음, 물이 제거된 클로로포름 (7.0 ml)을 넣고, 30℃에서 24시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후, N,N-디메틸포름아미드 1.5 ml과 클로로포름 2.5 ml를 부어 용액을 만들고, 디에틸에테르에 부어 재침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 수득율은 60 ~ 80%이다.

<49> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 (-COCH(CH_3)NH-), 3.6 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 3.4 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ -), 3.3 (-O CH_3), 1.4 ~ 1.5 (-COCH(CH_3)NH-)

<50> FTIR (cm^{-1}): 3550, 3285, 3100, 2890, 1650, 1620, 1550, 1115.

<51> **실시예 7: PP-PEG-PP (1000-2000-1000) 삼원 블록 공중합체의 제조**

<52> α , ω -디아미노 폴리에틸렌글리콜 (분자량: 2,000)(2.41 g, 1.2 mmol)과 건조된 톨루엔 15 ml를 플라스크에 넣은 다음 질소 기류 하에서 완전히 증류하여 물을 제거한다. 여기에 물이 제거된 클로로포름 (9 ml)을 넣어 폴리에틸렌글리콜을 녹이고, N-카르복시 알라닌 무수물 또는 N-카르복시 타이로신 무수물을 물이 제거된 N,N-디메틸포름아미드 (4.5 ml)에 녹여서 넣은 다음, 물이 제거된 클로로포름 (4.5 ml)을 넣고, 30℃에서 24시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후, N,N-디메틸포름아미드 7.0 ml과 클로로포름 11.0 ml를 부어 용액을 만들고, 디에틸에테르에 부어 재침전시킨 다음, 잔류 용매를 진공 펌프로 제거한다. 수득율은 70 ~ 80%이다.

<53> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 (-COCH(CH_3)NH-), 3.6 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 3.4 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ -), 3.3 (-O CH_3), 1.4 ~ 1.5 (-COCH(CH_3)NH-)

<54> FTIR (cm^{-1}): 3280, 3100, 2890, 1650, 1545, 1110.

<55> **실시예 8 PEG/PP 다중 공중합체의 제조**

<56> 디사이클로카보디이미드를 촉매로 사용하여 α , ω -디카르복실PEG (분자량 1000 달톤)와 α , ω -디아미노폴리알라닌을 결합시킨다. 폴리에틸렌글리콜 (2.0 g)을 톨루엔 60 mL를 넣어서 증류하여 잔류 수분을 제거하고, 클로로포름 (50 mL)를 넣어 녹인 후, 디사이클로헥실카보디이미드와 4-N,N-디메틸 아미노피리딘을 넣고 상온에서 24시간 동안 반응시킨 다음, 디에틸에테르에서 재침전시켜 생성물을 분리한다. 수율은 60 ~ 70%이다.

<57> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 (-COCH(CH_3)NH-), 3.6 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 3.4 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ -), 1.4 ~ 1.5 (-COCH(CH_3)NH-)

<58> FTIR (cm^{-1}): 3550, 3280, 3100, 1655, 1620, 1550, 1110.

<59> **실시예 9: PEG/PP 다중 공중합체의 합성**

<60> PP-PEG-PP 삼원 공중합체는 아민그룹을 양쪽 말단에 가지고 있으므로 이들을 테레프탈로일 클로라이드, 세바코일 클로라이드, 글루타릴 클로라이드, 헥사메틸렌디아이소시아네이트를 이용하여 폴리에틸렌글리콜과 결합시켜 PEG/PP 다중 공중합체를 만든다. 본 실험에서는 헥사메틸렌 디아이소시아네이트로 연결시켜 다중 공중합체를 제조하였다. 구체적으로는, PP-PEG-PP 삼원 공중합체를 물이 제거된 디메틸 포름아미드에 녹이고, 헥사메틸렌 디아이소시아네이트를 당량비로 넣은 다음, 60℃에서 6시간 동안 반응시킨다. 생성물을 디에틸 에테르에서 재침전시킨 후에 진공 건조시킨다. 수득율은 70 ~ 90%이다.

<61> $^1\text{H-NMR}$ (아세트산- d_4): 4.8 (-COCH(CH_3)NH-), 3.6 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 3.4 (- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ -), 3.0 ~ 3.2 (-CONH $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ -), 1.4 ~ 1.9 (-COCH(CH_3)NH-) 와 (-CONHCH $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ -)

<62> FTIR (cm^{-1}): 3555, 3280, 3100, 2890, 1650, 1620, 1550, 1110.

<63> **실시예 10: 졸-겔 전이 특성 분석 실험**

<64> 4 ml 시험관에 일정 농도 (1.0 ~ 12 중량%)의 고분자 수용액을 0.5 mL씩 넣고, 온도를 0℃에서 80℃까지 1℃ 간격으로 올리면서 상태를 확인한다. 각 단계에서, 시험관을 뒤집어도 흐르지 않는 온도를 졸-겔 전이 온도로 정의한다. 도 1a는 이 실험 결과로부터 작성된 상전이도이다.

<65> 또한, 유변학적인 성질을 이용하여 졸-겔 전이 특성을 분석하였다. Ther Haake Rheometer RS 1 기기를 이용하여 고분자 수용액 (8.0 중량%)을 25 mm의 직경과 0.5 mm의 간극을 갖는 평면판 사이에 넣고, 4.0 dyne/cm^2 의 힘 (stress)으로 1.0 rad/초의 주기로 진동을 주면서 수용액의 온도를 0.5℃/분의 속도로 상승시키면서 강도를 측정하였다. 15℃ 이하의 투명한 수용액은 20℃ 이상에서 겔로 전이가 일어나며, 이 현상에 기인하여 모듈러스 (G')가 급격하게 증가하게 된다. 도 1b는 8.0 중량% 고분자 수용액의 온도에 따른 강도 및 점도 변화를 보여주는 그래프이다.

<66> **실시예 11: 피하 지방 층에 주사한 경우의 수화겔 형성 시험**

<67> 도 2는 PEG-PA 이중 블록 공중합체 수용액 (8.0 중량%) 0.5 mL를 쥐의 피하지방층(subcutaneous layer)에 주사 (21-게이지 바늘 사용)하고, 1일 및 14일 경과 후에 각각 수술하여 겔의 상태를 확인한 사진이다. 도 2는 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체는 외과적 수술 대신에 통상의 주사를 이용하여 임플란트로 만들어질 수 있으므로, 의약 전달, 조직 공학용 재료로 사용되기에 적합하다는 것을 보여준다.

<68> **실시예 12: 인슐린을 이용한 당뇨병 치료 실험**

<69> 실시예 1에서 제조한 고분자의 8.0 중량% 수용액 0.5 mL에 인슐린을 섞어서 당뇨병 쥐의 피하층에 인슐린을 쥐의 체중 1Kg당 20 mg의 양으로 주사한 결과 (F-I) 혈당치가 400 mg/dL로부터 250 이하까지 혈당치 감소가 8일 동안 지속되었다. 인슐린 제제를 투여하지 않은 당뇨병 쥐는 같은 실험 기간 동안 400 ~ 600 mg/dL의 높은 혈당치를 유지하였다. 이와 같은 결과는 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체는 의약 전달 매체로서의 효과가 우수하다는 것을 보여준다. 여기서 측정된 혈당치는 3 마리 쥐의 평균 수치이다. 이 실험 결과는 도 3에 제시되어 있다.

발명의 효과

<70> 본 발명에 따라 의약 전달 또는 조직 공학용으로 응용이 유망한 온도 민감성 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체 및 이들의 제조 방법이 제공되었다.

<71> 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체의 수용액은 일정한 농도 이상인 경우에 특정 온도 이하에서는 수용액으로 존재하지만, 그 이상의 온도에서는 수화겔로 전이가 일어나므로, 의약 전달매체로 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1a는 본 발명의 고분자 수용액의 온도 및 농도에 따른 졸-겔 전이 거동을 보여주는 상전이 그래프이다.

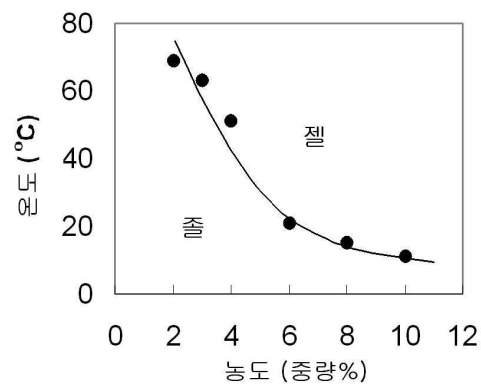
<2> 도 1b는 8.0 중량% 농도의 고분자 수용액의 온도에 따른 강도 및 점도 변화를 보여주는 그래프이다.

<3> 도 2는 8.0 중량% 농도의 PEG-PA 이중 블록 공중합체 수용액 0.5 mL를 쥐의 피하 지방층에 주사하고, 1일 및 14일 경과 후에 각각 수술하여 겔의 상태를 확인한 사진이다.

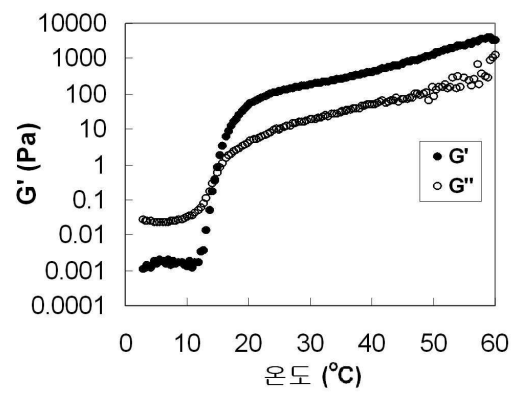
<4> 도 3은 본 발명에 따른 폴리에틸렌글리콜/폴리펩티드 블록 공중합체 수용액에 인슐린을 혼합하여 당뇨병 쥐의 피하층에 주사한 다음 혈당치를 측정한 결과를 보여주는 그래프이다.

도면

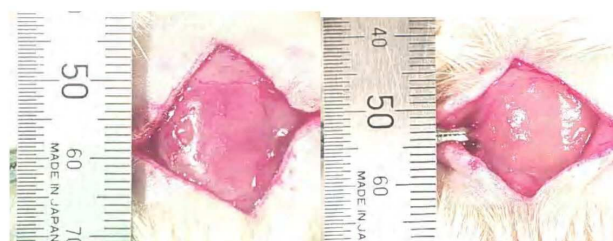
도면1a



도면1b



도면2



1 일 후

14 일 후

도면3

