



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0065327
(43) 공개일자 2018년06월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/51 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/5192 (2013.01)

A61K 9/5169 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0165980

(22) 출원일자 2016년12월07일

심사청구일자 2017년12월22일

(71) 출원인

서강대학교산학협력단

서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)

(72) 발명자

김현철

서울특별시 영등포구 63로 45 여의도시범아파트 6동 97호

문형원

서울특별시 강서구 강서로33길 58

(74) 대리인

김현진

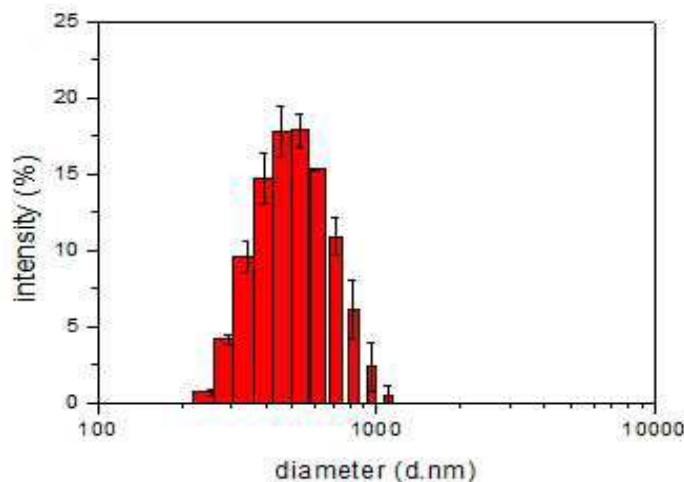
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 대한 것으로, 더욱 상세하게는 알부민이 용해된 친수성 용액을 준비하는 친수성 용액 준비단계와 소수성 약물이 용해된 소수성 용액을 준비하는 소수성 용액 준비단계와 일정 압력을 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되도록 하여 에멀전을 형성하는 에멀전 형성단계와 내부에 소수성 용액 입자가 담지된 알부민 쉘을 형성하기 위해 에멀전에 외력을 가하는 외력 제공단계와 알부민 쉘 내부에 위치하는 소수성 용액 입자의 소수성 용매를 증발시켜 제거하는 소수성 용매 제거 단계를 포함하여, 상대적으로 균일한 크기 분포의 알부민 나노입자 및 다양한 크기의 알부민 나노입자를 용이하게 제조할 수 있는 제조방법에 대한 것이다.

대표도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016R1A6A1A03012845

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공학학술연구기반구축

연구과제명 바이오융합기술연구소

기 여 율 1/1

주관기관 서강대학교

연구기간 2016.05.01 ~ 2016.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

알부민이 용해된 친수성 용액을 준비하는 친수성 용액 준비단계와; 소수성 약물이 용해된 소수성 용액을 준비하는 소수성 용액 준비단계와; 일정 압력을 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되도록 하여 에멀전을 형성하는 에멀전 형성단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법은

소수성 용액 입자가 담지된 알부민 셸을 형성하기 위해 에멀전에 외력을 가하는 외력 제공단계와; 알부민 셸 내부에 위치하는 소수성 용액 입자의 소수성 용매를 증발시켜 제거하는 소수성 용매 제거단계;를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 외력 제공단계는

초음파 분산기를 이용하여 에멀전을 음파처리하여 행하여지는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 다공성 멤브레인은

포어 사이즈가 1.5 내지 2.5 μ m인 친수성 멤브레인이 사용되는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법.

청구항 5

제2항에서 있어서,

상기 에멀전 형성단계에서 가해지는 압력은 서서히 압력을 높여 진행하다가 측정되는 압력이 떨어지는 순간의 압력을 임계압력으로 선택하여 지속적으로 운영하는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법.

청구항 6

제2항에 있어서, 상기 소수성 용매 제거단계에서는

일정 기간 동안 에멀전을 진공상태에서 보관하여 소수성 용매를 증발시키는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법.

청구항 7

제2항에 있어서,

상기 친수성 용액 준비단계에서는 알부민과 폴리에틸렌 40 스테아레이트를 증류수에 녹여 친수성 용액을 준비하고,

상기 소수성 용액 준비단계에서는 소수성 약물을 클로로포름에 녹여 소수성 용액을 준비하며,

상기 에멀전 형성단계에서는 친수성 용액을 교반하는 상태에서 10 내지 14KPa의 압력을 0.8 내지 1.2 시간 동안 소수성 용액에 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되어, 균일한 크기의 소수성 용액 입자가 친수성 용액 내에서 분산된 에멀전이 형성되도록 하는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민

나노입자의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 외력 제공단계에서는 3 내지 7분간 초음파 분산기를 이용하여 에멀전을 음파처리하고,

상기 소수성 용매 제거단계에서는 상기 외력 제공단계 후 상기 에멀전을 하룻밤 동안 진공상태에서 보관하여 소수성 용매를 제거하는 것을 특징으로 하는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 대한 것으로, 더욱 상세하게는 알부민이 용해된 친수성 용액을 준비하는 친수성 용액 준비단계와 소수성 약물이 용해된 소수성 용액을 준비하는 소수성 용액 준비단계와 일정 압력을 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되도록 하여 에멀전을 형성하는 에멀전 형성단계와 내부에 소수성 용액 입자가 담지된 알부민 셸을 형성하기 위해 에멀전에 외력을 가하는 외력 제공단계와 알부민 셸 내부에 위치하는 소수성 용액 입자의 소수성 용매를 증발시켜 제거하는 소수성 용매 제거단계를 포함하여, 상대적으로 균일한 크기 분포의 알부민 나노입자 및 다양한 크기의 알부민 나노입자를 용이하게 제조할 수 있는 제조방법에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 약물의 방출 속도를 조절하거나 약물을 목적 부위에 효율적으로 전달하여, 약물의 부작용을 최소화하고 효능을 극대화하기 위한 약물 전달 기술이 널리 연구되고 있다. 약물 전달 기술의 일 예로 하기의 특허문헌처럼 약물을 담지한 알부민 나노입자를 이용하여 암, 녹내장 등의 질병을 치료하는 기술을 들 수 있다.

[0003] <특허문헌>

[0004] 특허공개공보 제10-2013-0088081호(2013. 08. 07. 공개) "수난용성 약물을 내부에 포함하는 알부민 나노입자의 제조방법"

[0005] 하지만, 종래의 알부민 나노입자는 알부민 용액과 약물 용액을 혼합한 후, 가교제(예컨대, glutaraldehyde 등)를 이용하여 가교시켜 제조하므로, 균일한 분포의 알부민 나노입자 및 다양한 크기를 가지는 알부민 나노입자를 제조하는 것이 어려운 문제가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로,

[0007] 본 발명은 상대적으로 균일한 크기 분포의 알부민 나노입자 및 다양한 크기의 알부민 나노입자를 용이하게 제조할 수 있는 제조방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 앞서 본 목적을 달성하기 위하여 다음과 같은 구성을 가진 실시예에 의해 구현된다.

[0009] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법은 알부민이 용해된 친수성 용액을 준비하는 친수성 용액 준비단계와; 소수성 약물이 용해된 소수성 용액을 준비하는 소수성 용액 준비단계와; 일정 압력을 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되도록 하여 에멀전을 형성하는 에멀전 형성단계;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0010] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법은 소수성 용액 입자가 담지된 알부민 셸을 형성하기 위해 에멀전에 외력을 가하는 외력 제공단계와; 알부민 셸 내부에 위치하는 소수성 용액 입자의 소수성 용매를 증발시켜 제거하는 소수성 용매 제거단계;를 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다.

- [0011] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 있어서 상기 외력 제공단계는 초음파 분산기를 이용하여 에멀전을 음파처리하여 행하여지는 것을 특징으로 한다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 있어서 상기 다공성 멤브레인은 포어 사이즈가 1.5 내지 2.5 μ m인 친수성 멤브레인이 사용되는 것을 특징으로 한다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 있어서 상기 에멀전 형성단계에서 가해지는 압력은 서서히 압력을 높여 진행하다가 측정되는 압력이 떨어지는 순간의 압력을 임계압력으로 선택하여 지속적으로 운영하는 것을 특징으로 한다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 있어서 상기 소수성 용매 제거단계에서는 일정 기간 동안 에멀전을 진공상태에서 보관하여 소수성 용매를 증발시키는 것을 특징으로 한다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 있어서 상기 친수성 용액 준비단계에서는 알부민과 폴리에틸렌 40 스테아레이트를 증류수에 녹여 친수성 용액을 준비하고, 상기 소수성 용액 준비단계에서는 소수성 약물을 클로로포름에 녹여 소수성 용액을 준비하며, 상기 에멀전 형성 단계에서는 친수성 용액을 교반하는 상태에서 10 내지 14KPa의 압력을 0.8 내지 1.2 시간 동안 소수성 용액에 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되어, 균일한 크기의 소수성 용액 입자가 친수성 용액 내에서 분산된 에멀전이 형성되도록 하는 것을 특징으로 한다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법에 있어서 상기 외력 제공단계에서는 3 내지 7분간 초음파와 분산기를 이용하여 에멀전을 음파처리하고, 상기 소수성 용매 제거단계에서는 상기 외력 제공단계 후 상기 에멀전을 하룻밤 동안 진공상태에서 보관하여 소수성 용매를 제거하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

- [0017] 본 발명은 앞서 본 실시예에 의해 다음과 같은 효과를 얻을 수 있다.
- [0018] 본 발명은 상대적으로 균일한 크기 분포의 알부민 나노입자 및 다양한 크기의 알부민 나노입자를 용이하게 제조할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0019] 도 1은 약물을 담지한 알부민 나노입자를 제조하는데 사용하는 다공성 멤브레인 장치의 개략도.
- 도 2는 약물을 담지한 알부민 나노입자의 크기 분포를 나타내는 도표.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0020] 이하에서는 본 발명에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법을 첨부된 도면을 참조하여 상세히 설명한다. 특별한 정의가 없는 한 본 명세서의 모든 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 기술자가 이해하는 당해 용어의 일반적 의미와 동일하고 만약 본 명세서에 사용된 용어의 의미와 충돌하는 경우에는 본 명세서에 사용된 정의에 따른다. 또한, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대해 상세한 설명은 생략한다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0022] 본 발명의 일 실시예에 따른 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법을 도 1 및 2를 참조하여 설명하면, 상기 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법은 알부민이 용해된 친수성 용액을 준비하는 친수성 용액 준비단계와, 소수성 약물이 용해된 소수성 용액을 준비하는 소수성 용액 준비단계와, 일정 압력을 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되도록 하여 에멀전을 형성하는 에멀전 형성단계와, 알부민 셸을 형성하기 위해 에멀전에 외력을 가하는 외력 제공단계와, 소수성 용매를 증발시켜 제거하는 소수성 용매 제거단계;를 포함하여, 상대적으로 균일한 크기 분포의 알부민 나노입자 및 다양한 크기의 알부민 나노입자를 용이하게 제조할 수 있는 것을 특징으로 한다.

- [0024] 상기 약물을 담지한 알부민 나노입자의 제조방법을 설명하기에 앞서 상기 제조방법에 사용되는 다공성 멤브레인 장치를 먼저 살펴보면, 상기 다공성 멤브레인 장치는 소수성 용액(A)이 저장되는 소수성 용액 저장부(1)와, 내부에 다공성 멤브레인(21)이 위치하며 상기 소수성 용액 저장부(1)의 말단과 연통되는 멤브레인 모듈(2)과, 상기 소수성 용액 저장부(1)에 저장된 소수성 용액(A)에 가압 가스(예컨대, 질소 가스 등)를 공급하는 가압부(3)와, 친수성 용액(B) 및 멤브레인 모듈(2)을 수용하는 컨테이너(4)와, 상기 컨테이너(4) 내부의 마그네틱 바(51)를 작동시켜 컨테이너 내 용액을 교반하는 교반기(5)와, 내부의 압력을 측정할 수 있는 계측기(6) 등을 포함한다. 상기 다공성 멤브레인은 다양한 멤브레인이 사용될 수 있으며, 일 예로 시판 중인 시라스 다공성 유리막(Shirasu porous glass membrane, SPG membrane)이 사용될 수 있다. 상기 가압부(3)를 통해 소수성 용액(A)에 압력을 가하면 상기 소수성 용액(A)은 다공성 멤브레인(21)을 통과하여 친수성 용액(B)에 혼합되어 에멀전을 형성하게 된다. 위 예에서 설명한 다공성 멤브레인 장치는 일 예로 소수성 용액에 압력을 가해 다공성 멤브레인을 통과시켜 친수성 용액에 혼합하여 에멀전을 형성할 수 있는 다양한 장치가 본 발명의 약물을 함유한 알부민 나노입자를 제조하는데 사용될 수 있다(예컨대, MCTech Co., Ltd의 EMK-20 등).
- [0026] 상기 친수성 용액 준비단계는 알부민이 용해된 친수성 용액을 준비하는 단계로, 상기 알부민은 일간혈청 알부민 또는 이의 단편일 수 있다. 상기 친수성 용액 준비단계에서는 예컨대 알부민과 폴리에틸렌 40 스테아레이트(polyethylene 40 stearate, PEG40s)를 증류수에 혼합하여 친수성 용액을 준비할 수 있다.
- [0028] 상기 소수성 용액 준비단계는 소수성 약물이 용해된 소수성 용액을 준비하는 단계로, 상기 약물은 다양한 약제학적 효능을 가진 소수성 약물이 사용될 수 있으며 일 예로 도세탁셀을 들 수 있다. 상기 소수성 용액 준비단계에서는 예컨대 소수성 약물을 소수성 용매(예컨대, chloroform 등)에 혼합하여 소수성 용액을 준비할 수 있다.
- [0030] 상기 에멀전 형성단계는 일정 압력을 가해 소수성 용액이 다공성 멤브레인을 통과하여 친수성 용액에 혼합되도록 하여 에멀전을 형성하는 단계로, 친수성 용액을 교반하는 상태에서 소수성 용액에 압력을 가해 다공성 멤브레인을 통과시켜 친수성 용액에 혼합하면 균일한 크기의 소수성 용액 입자가 친수성 용액 내에서 분산된 에멀전이 형성되게 된다. 에멀전이 생성되는 압력의 임계점은 내부 압력이 떨어지는 순간부터이므로, 가압부를 통해 상기 소수성 용액에 압력을 가할 때 서서히 압력을 높여 진행하다가 내부 압력이 떨어지는 순간의 압력을 임계압력으로 선택하여 지속적으로 운영하며, 상기 다공성 멤브레인은 포어 사이즈가 1.5 내지 2.5 μm 인 친수성 멤브레인이 사용되는 것이 바람직하다.
- [0032] 상기 외력 제공단계는 상기 에멀전 형성단계에서 형성된 에멀전에 외력(shear stress)을 가해 내부에 소수성 용액 입자가 담지된 알부민 쉘을 형성하는 단계로, 알부민은 응집성이 있어 자기 집합체를 형성하여 소수성 용액 입자를 가두어 저장하게 된다. 상기 외력 제공단계에서는 일 예로 초음파 분산기(sonicator)를 이용하여 에멀전을 음파처리(sonication)하여 행하여지게 된다.
- [0034] 상기 소수성 용매 제거단계는 상기 외력 제공단계 후에 알부민 쉘 내부에 위치하는 소수성 용액 입자의 소수성 용매를 증발시켜 제거하는 단계로, 예컨대 외력 제공단계 후 일정 기간 동안 에멀전을 진공상태에서 보관하여 소수성 용매를 증발시킨다.
- [0036] 이하, 실시예를 통해서 본 발명을 보다 상세히 설명하기로 한다. 하지만, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 권리범위가 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0038] <실시예 1> 약물이 담지된 알부민 나노입자의 제조
- [0039] (1) 약물이 담지된 알부민 나노입자의 제조에는 도 1에 도시된 바와 같은 다공성 멤브레인 장치를 이용하였다.

상기 장치에서는 다공성 멤브레인으로 튜브형의 2.1 μ m(pore size)의 소수성 SPG membrane을 사용하였다.

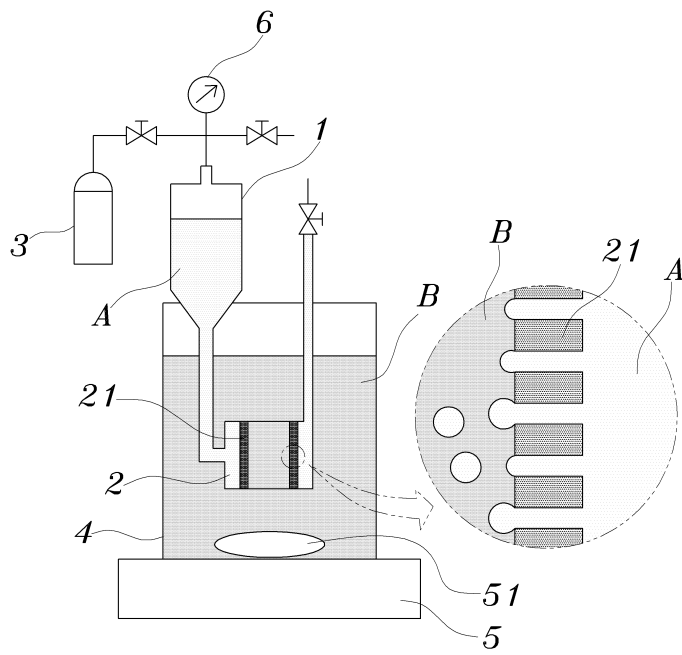
- [0040] (2) 100mg의 Human serum albumin(HSA)과 100mg의 polyethylene 40 stearate (PEG40s)를 3차 증류수에 용해시켜 친수성 용액을 준비한다.
- [0041] (3) 소수성 용매인 chloroform에 소수성 항암제인 Docetaxel을 용해시켜 2mg/mL의 농도를 가지는 소수성 용액 5mL를 준비한다.
- [0042] (4) 소수성 용액을 소수성 용액 저장부(1)에 넣고 내부에 공기가 포함이 되지 않도록 제거하고, 친수성 용액을 컨테이너(4)에 적재하고 330rpm으로 교반한 상태에서, 가압부(3)를 통해 질소 가스를 공급하여 소수성 용액에 압력을 가하여 소수성 용액이 다공성 멤브레인(21)을 통과하여 친수성 용액에 혼합되도록 한다. 상기 소수성 용액에 가해지는 압력은 2KPa 간격으로 높여주어 진행하며 압력이 떨어지는 순간의 압력(12KPa)을 임계압력으로 하여 1시간 동안 운영하여 에멀전을 형성한다(소수성 용액에 가해지는 압력을 계속 높여 나가는 경우 계측기(6)에서 측정되는 압력값도 계속 높아지는데 압력이 너무 커서 더 이상 에멀전이 형성되지 않는 순간에는 상기 계측기(6)에서 측정되는 압력값이 순간적으로 떨어지게 됨).
- [0043] (5) 상기 에멀전을 상기 다공성 멤브레인 장치에서 제거하고 5분간 bath type의 sonicator를 이용하여 sonication을 수행한 후, 상기 에멀전을 하룻밤 동안 진공상태에서 보관하여 소수성 용매인 chloroform을 모두 제거하여, 약물을 담지한 알부민 나노입자를 제조한다.
- [0044] (6) 상기 약물을 담지한 알부민 나노입자를 취득하기 위해 12000rpm으로 10분 동안 원심분리를 하여 spin-down시킴으로써 약물을 담지한 알부민 나노입자를 얻고, 이후 실험 동안 발생할 수 있는 micro size의 aggregates를 제거하기 위하여 3000rpm으로 5분간 원심분리하여 spin-down되지 않은 상층액을 취득함으로써 최종산물인 약물을 담지한 알부민 나노입자를 획득하였다.
- [0046] <실시예 2> 약물을 담지한 알부민 나노입자의 크기 및 분포 확인
- [0047] (1) 약물을 담지한 알부민 나노입자의 크기 분포를 확인하기 위해 Zetasizer를 사용하여, 실시예 1에서 얻은 입자에 대해 Dynamic Light Scattering을 실시해 그 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0048] (2) 도 2를 보면, 입자는 506.29 $\pm$ 92.63nm의 크기를 나타내고 있으며, 크기분포도 역시 균일한 입자 분포를 나타내고 있음을 알 수 있다.
- [0050] <실시예 3> 약물 담지한 알부민 나노입자의 약물 담지 효율 평가
- [0051] (1) 실시예 1에서 얻은 입자에 대하여 약물 담지 효율 평가를 실시하였다. 약물 담지 효율은 Docetaxel 함유 HSA 나노입자에 적재된 Docetaxel, 적재되지 않은 Docetaxel을 HPLC로 정량 분석하여 최초 넣어준 Docetaxel의 용량에 근거하여 계산함으로써 약물 담지 효율을 산출하였다(HPLC 조건 : - mobile phase : Acetonitrile과 3 차증류수의 35:65 비율의 혼합 용액, - Column : C18 column(A250 $\times$ 4.6mm, 5 μ m), - Retention time : 4.4 - 4.6min, - Detection wavelength : 227nm).
- [0052] (2) 위 실험 결과, 실시예 1에서 얻은 입자의 약물 담지 효율은 67.51%를 나타내어, 본 발명의 제조방법으로 제조된 알부민 나노입자는 효과적으로 약물을 담지하고 있음을 알 수 있다.
- [0054] 이상에서, 출원인은 본 발명의 다양한 실시예들을 설명하였지만, 이와 같은 실시예들은 본 발명의 기술적 사상을 구현하는 일 실시예일 뿐이며, 본 발명의 기술적 사상을 구현하는 한 어떠한 변경에 또는 수정에도 본 발명의 범위에 속하는 것으로 해석되어야 한다.

부호의 설명

- [0055] 1: 소수성 용액 저장부 2: 멤브레인 모듈 3: 가압부
- 4: 컨테이너 5: 교반기 6: 계측기
- 21: 다공성 멤브레인 51: 마그네틱 바

도면

도면1



도면2

