



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0147793
(43) 공개일자 2021년12월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C08G 18/83 (2006.01) C08G 18/48 (2006.01)
C08G 18/67 (2006.01) G01N 33/543 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C08G 18/83 (2013.01)
C08G 18/4837 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0065549

(22) 출원일자 2020년05월31일

심사청구일자 2020년05월31일

(71) 출원인

강원대학교산학협력단

강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

한국과학기술연구원

서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)

(72) 발명자

김주영

서울특별시 강남구 도곡로43길 21 (역삼동, 래미안그레이트아파트)101동 703호

허윤정

서울특별시 강남구 역삼로 106(역삼동) 707호

최낙원

경기도 남양주시 다산순환로 171, 1101동 603호(다산동, 다산 한양수자인 리버펠리스)

(74) 대리인

사광영

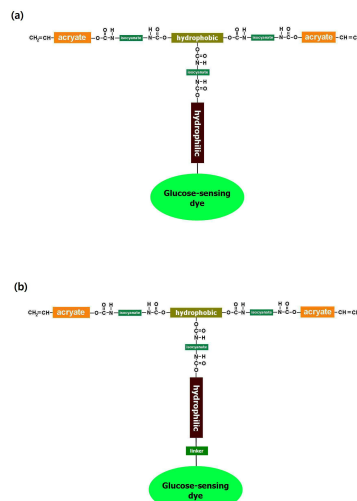
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 양친성 고분자 전구체를 이용한 글루코스-센싱 나노입자 및 이의 제조 방법

(57) 요약

발 발명은 양쪽 말단에 (메타)아크릴레이트기 또는 비닐기를 가지는 소수성 세그먼트와 상기 소수성 세그먼트에 결합된 친수성 세그먼트 및 상기 친수성 세그먼트의 한쪽 말단에 결합된 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)로 이루어진 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물이 라디칼 중합되고 자가조립되어 소수성의 코어층과 친수성의 쉘층을 이루는 코어/셸 구조의 나노입자이고, 상기 글루코스-센싱 염료가 쉘층에 형성된 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자를 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C08G 18/6755 (2013.01)

C08J 3/12 (2021.05)

G01N 33/54346 (2013.01)

G01N 33/583 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711095799
과제번호	2019R1F1A1056877
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	세포 내 포도당 농도의 연속 모니터링을 위한 나노 입자 개발 및 응용 가능성 평가
기 여 율	70/100
과제수행기관명	경희대학교(국제캠퍼스)
연구기간	2019.06.01 ~ 2020.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2016K2A9A2A08003732
과제번호	2016K2A9A2A08003732
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	한-일 협력 연구 사업
연구과제명	형광 글루코즈 나노입자를 포함하는 3D 생체 조직을 이용하여 포도당 대사 메커니즘
을 규명할 수 있는 플랫폼개발	
기 여 율	30/100
과제수행기관명	한국과학기술연구원
연구기간	2016.04.01 ~ 2018.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

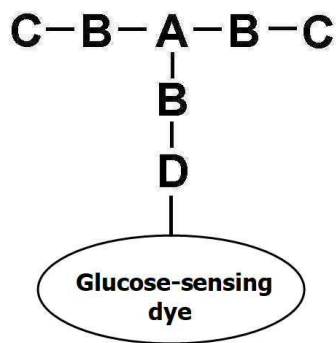
양쪽 말단에 (메타)아크릴레이트기 또는 비닐기를 가지는 소수성 세그먼트와 상기 소수성 세그먼트에 결합된 친수성 세그먼트 및 상기 친수성 세그먼트의 한쪽 말단에 결합된 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)로 이루어진 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물이 라디칼 중합되고 자가조립되어 소수성의 코어층과 친수성의 쉘층을 이루는 코어/쉘 구조의 나노입자이고, 상기 글루코스-센싱 염료가 쉘층에 형성된 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 양친성 고분자 전구체는 하기 화학식 1로 표시되는 구조인 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자.

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,

상기 A는 소수성 세그먼트로서 폴리프로필렌 트리올 또는 글리세롤이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

상기 B는 디이소시아네이트 화합물로서, 하나의 이소시아이트기는 상기 A의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고, 다른 하나는 상기 C의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되거나, 상기 D의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

상기 C는 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트 또는 비닐화합물로서, 하이드록시기는 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

상기 D는 친수성 세그먼트로서 폴리에틸렌 글리콜이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고,

상기 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)는 상기 D와 결합하거나 링커를 통하여 상기 D와 연결됨.)

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 폴리프로필렌 트리올은 중량 평균 분자량이 260 내지 2000이고,

상기 폴리에틸렌 글리콜의 중량 평균 분자량은 600 내지 15,000인, 글루코스-센싱 나노입자.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서,

상기 디이소시아네이트 화합물은 톨루엔 디이소시아네이트, 이소포론 디이소시아네이트, 메틸렌 디이소시아네이트, 메틸렌 디페닐 디이소시아네이트, 헥사메틸렌 디이소시아네이트, 크실렌 디이소시아네이트, 톨리딘 디이소시아네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 또는 2 이상인, 글루코스-센싱 나노입자.

청구항 5

제2항 또는 제3항에 있어서,

상기 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트는 하이드록시 에틸 아크릴레이트, 하이드록시 에틸 메타아크릴레이트, 하이드록시 메틸 아크릴레이트 또는 하이드록시 메틸 메타아크릴레이트인, 글루코스-센싱 나노입자.

청구항 6

제1항에 있어서,

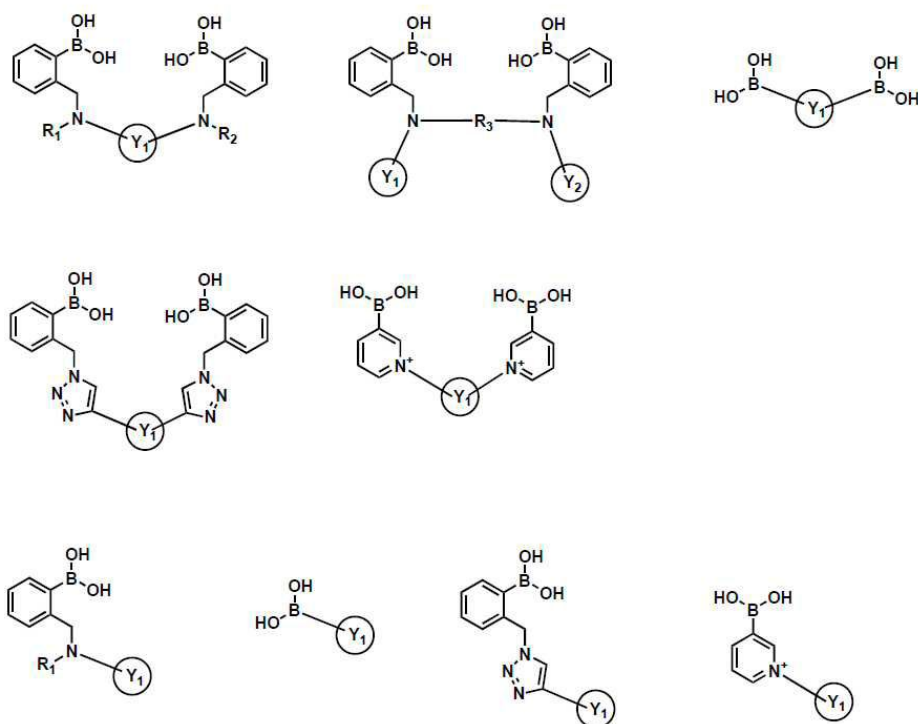
상기 글루코스-센싱 염료는 글루코스와 반응할 수 있는 적어도 1개 이상의 보론산기를 가지며, 상기 화학식 2의 소수성 세그먼트와 결합 또는 이의 링커와 결합할 수 있는 작용기를 가지는 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 글루코스-센싱 염료는 하기 그룹 1의 화합물 및 이의 유도체 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자.

[그룹 1]



(상기 화학식들에서,

Y_1 및 Y_2 는 각각 독립적으로 발색단을 포함하고,

R_1 , R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 탄소수 C1~C10의 사슬을 포함하고,

Y_1 , Y_2 , R_1 , R_2 또는 R_3 에 소수성 세그먼트와 연결되는 작용기가 존재함.)

청구항 8

제7항에 있어서,

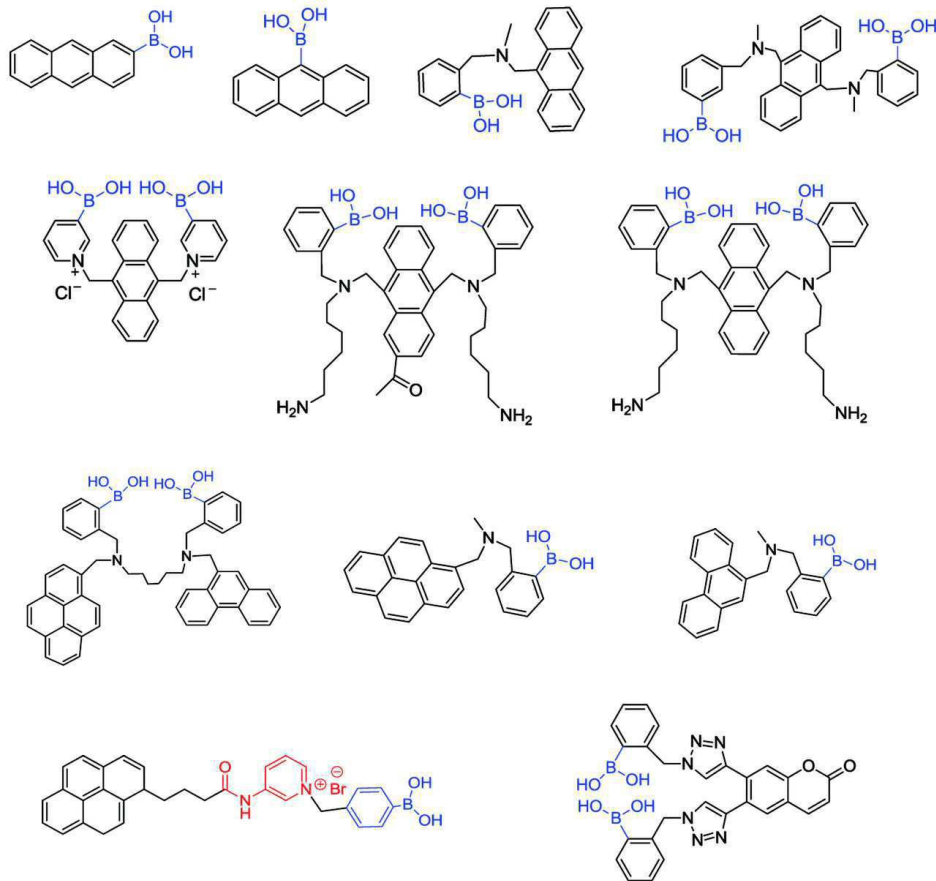
상기 Y_1 , Y_2 의 발색단은 각각 독립적으로 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 안트라센(anthracene), 페난트렌(phenanthrene), 피렌(pyrene), 크리센, 안트론(anthrone), 벤조페논(benzophenone), 티오크산톤(thioxanthone) 구조 및 이의 유도체를 포함하는 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 글루코스-센싱 염료는 하기 그룹 2의 화합물 및 이의 유도체 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자.

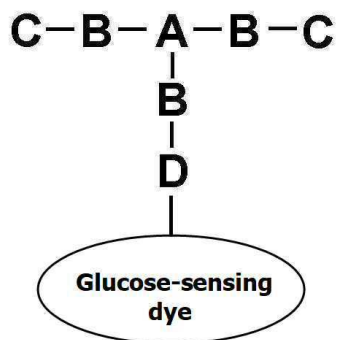
[그룹 2]



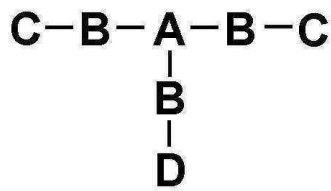
청구항 10

- (A) 하기 화학식 2로 표시되는 양친성 고분자 전구체를 글루코스-센싱 염료와 반응시켜 화학식 1로 표시되는 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물을 제조하는 단계;
- (B) 상기 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물을 중합개시제와 함께 유기용매에서 라디칼 중합시키는 단계;
- (C) 상기 중합된 양친성 고분자 전구체를 수용액에서 분산시키는 단계를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는,
- 글루코스-센싱 나노입자의 제조 방법.

[화학식 1]



[화학식 2]



(상기 화학식 1 및 2에서,

상기 A는 소수성 세그먼트로서 폴리프로필렌 트리올 또는 글리세롤이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

상기 B는 디이소시아네이트 화합물로서, 하나의 이소시아이트기는 상기 A의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고, 다른 하나는 상기 C의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되거나, 상기 D의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

상기 C는 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트 또는 비닐화합물로서, 하이드록시기는 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

상기 D는 친수성 세그먼트로서 폴리에틸렌 글리콜이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고,

상기 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)는 상기 D와 결합하거나 링커를 통하여 상기 D와 연결됨.)

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 화학식 2의 양친성 고분자 전구체의

상기 폴리프로필렌 트리올은 중량 평균 분자량이 260 내지 2000이고,

상기 폴리에틸렌 글리콜의 중량 평균 분자량은 600 내지 15,000이고,

상기 디이소시아네이트 화합물은 톨루엔 디이소시아네이트, 이소포론 디이소시아네이트, 메틸렌 디이소시아네이트, 메틸렌 디페닐 디이소시아네이트, 헥사메틸렌 디이소시아네이트, 크실렌 디이소시아네이트, 톨리딘 디이소시아네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 또는 2 이상이고,

상기 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트는 하이드록시 에틸 아크릴레이트, 하이드록시 에틸 메타아크릴레이트, 하이드록시 메틸 아크릴레이트 또는 하이드록시 메틸 메타아크릴레이트인, 글루코스-센싱 나노입자의 제조 방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 글루코스-센싱 염료는 글루코스와 반응할 수 있는 적어도 1개 이상의 보론산기를 가지며, 상기 화학식 2의 소수성 세그먼트와 결합 또는 이의 링커와 결합할 수 있는 작용기를 가지는 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자의 제조 방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 작용기는 아미노기, 카르복실기 또는 할로젠기인 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자의 제조 방

$\frac{1}{2}$

청구항 14

제10항에 있어서,

상기 링커는 디이소시아네이트 화합물인 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자의 제조 방법.

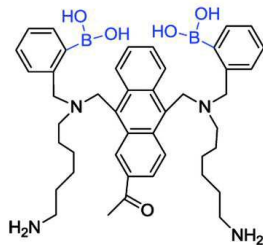
청구항 15

제10항에 있어서,

단계(A)는,

상기 화학식 2의 양친성 고분자 전구체와 디이소시아네이트 화합물(링커)과 우레탄 반응시키는 다음, 하기 화학식 3의 글루코스-센싱 염료의 아미노기와 우레아 반응시키는 단계로 이루어지는 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자의 제조 방법.

[화학식 3]



발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 글루코스(포도당)와 반응시 발색(형광) 변화를 통해 글루코스를 검출할 수 있는 글루코스 센서에 관한 것으로, 보다 상세히는 양친성 고분자 전구체를 이용하여 세포 또는 조직 내 글루코스의 미세 변화, 동적 변화를 실시간으로 연속 모니터링할 수 있는 글루코스-센싱 나노입자 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 인체에서 글루코스의 대사 이상은 당뇨병과 이로부터 유발되는 각종 합병증의 발병 원인이 된다. 특히 세포 내에서 글루코스 대사 과정은 암, 비만, 당뇨, 심혈관 질환 등 다양한 질환을 이해하는데 필수적이다. 2형 당뇨병과 퇴행성 뇌질환의 연관성은 밝혀졌으나, 글루코스가 뇌에 들어가고 신경세포에 들어가는데 인슐린이 필요하지 않기 때문에 뇌질환과 글루코스 대사의 연관성을 아직 명확하게 이루어지지 않았다. 최근 미국 국립 보건원(NIH) 연구진에 의하면 알츠하이머 치매 환자의 뇌에서 글루코스 해당(解糖) 과정이 느리다는 사실이 새롭게 밝혀져, 퇴행성 뇌질환의 기전 이해, 진단 및 치료를 위하여 뇌 조직 내 세포(신경세포 및 교세포 등 비신경세포)에서 글루코스 대사 과정에 대해 연구 필요성이 절실히 대두되고 있다. 세포 대사를 실시간으로 또한 세포 레벨로 측정할 수 있는 종래 센서로는 2-NBDG, 2-DG, 2DG6P를 이용한 글루코스 흡수(glucose uptake) 어세이가 있으나, 세포 내 글루코스 흡수만을 볼 수 있을 뿐, 글루코스 농도나 변화를 연속 모니터링할 수는 없었다. 지금까지 보고된 나노입자들은 대부분 양자점(quantum dot)을 이용하기 때문에 세포 독성의 문제가 있거나, 가역 센싱을 위해 별도의 캡슐화(encapsulation)를 해야 하는 등의 한계가 있다. 또한, 신경세포 및 교세포의 전기생리학적 신호/활성을 측정할 수 있는 대표적인 방법으로 형광 기반 칼슘 이미징 기술이 있는데 반해 대사 활성을 측정할 수 있는 글루코스 이미징 방법은 아직까지 없는 실정이다.

[0004]

발명의 내용

해결하려는 과제

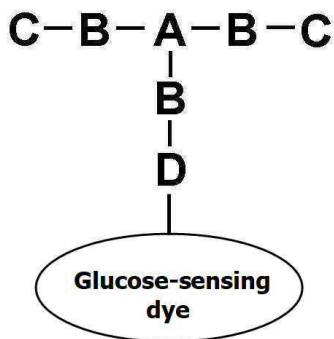
[0005] 상기와 같은 한계를 극복하기 위하여 본 발명은 세포 레벨로 세포 내 글루코스 대사와 조직 레벨에서 세포 주위 미세환경 내 글루코스 농도를 실시간으로, 고감도 모니터링할 수 있는 새로운 글루코스-센싱 나노입자를 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 양쪽 말단에 (메타)아크릴레이트기 또는 비닐기를 가지는 소수성 세그먼트와 상기 소수성 세그먼트에 결합된 친수성 세그먼트 및 상기 친수성 세그먼트의 한쪽 말단에 결합된 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)로 이루어진 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물이 라디칼 중합되고 자가조립되어 소수성의 코어층과 친수성의 쉘층을 이루는 코아/셸 구조의 나노입자이고, 상기 글루코스-센싱 염료가 쉘층에 형성된 것을 특징으로 하는, 글루코스-센싱 나노입자를 제공한다.

[0008] 일 양태에서, 상기 양친성 고분자 전구체는 하기 화학식 1로 표시되는 구조를 가진다.

[0009] [화학식 1]



[0010]

[0011] (상기 화학식 1에서,

[0012] 상기 A는 소수성 세그먼트로서 폴리프로필렌 트리올 또는 글리세롤이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0013] 상기 B는 디이소시아네이트 화합물로서, 하나의 이소시아이트기는 상기 A의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고, 다른 하나는 상기 C의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되거나, 상기 D의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0014] 상기 C는 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트 또는 비닐화합물로서, 하이드록시기는 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0015] 상기 D는 친수성 세그먼트로서 폴리에틸렌 글리콜이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고,

[0016] 상기 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)는 상기 D와 결합하거나 링커를 통하여 상기 D와 연결됨.)

[0017] 일 양태에서, 상기 화학식 1의 양친성 고분자 전구체에서 상기 폴리프로필렌 트리올(A)은 중량 평균 분자량이 260 내지 2000이고, 상기 폴리에틸렌 글리콜(D)의 중량 평균 분자량은 600 내지 15,000일 수 있다.

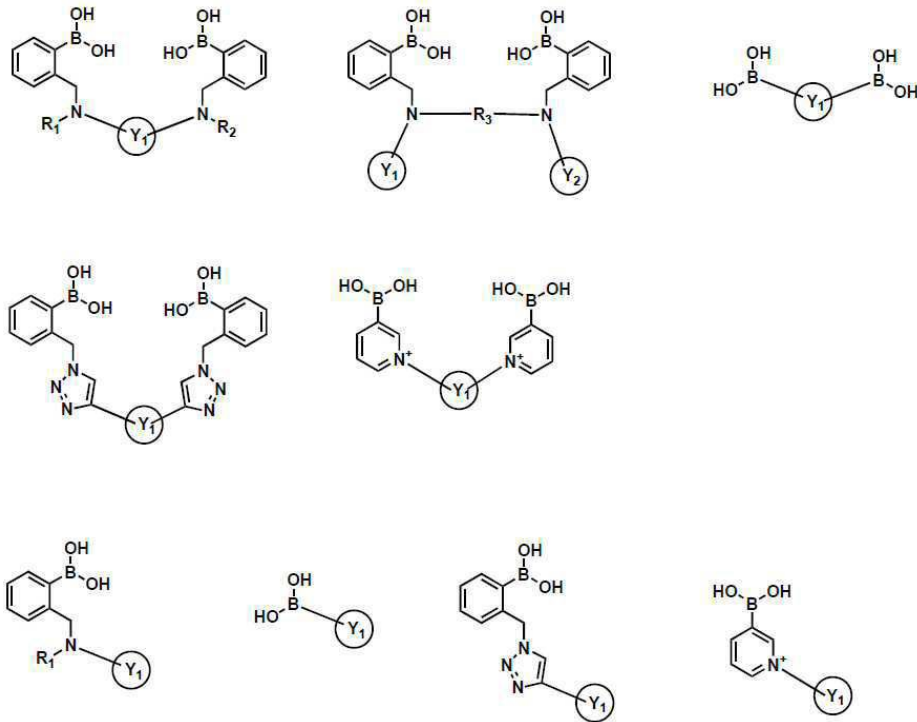
[0018] 일 양태에서, 상기 화학식 1의 화합물에서 상기 디이소시아네이트 화합물은 톨루엔 디이소시아네이트, 이소포론 디이소시아네이트, 메틸렌 디이소시아네이트, 메틸렌 디페닐 디이소시아네이트, 헥사메틸렌 디이소시아네이트, 크실렌 디이소시아네이트, 톨리딘 디이소시아네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0019] 일 양태에서, 상기 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트는 하이드록시 에틸 아크릴레이트, 하이드록시 에틸 메타아크릴레이트, 하이드록시 메틸 아크릴레이트 또는 하이드록시 메틸 메타아크릴레이트일 수 있다.

[0020] 일 양태에서, 상기 글루코스-센싱 염료는 글루코스와 반응할 수 있는 적어도 1개 이상의 보론산기를 가지며, 상기 화학식 2의 소수성 세그먼트와 결합 또는 이의 링커와 결합할 수 있는 작용기를 가질 수 있다.

[0021] 상기 글루코스-센싱 염료는 제한되지는 않으나 바람직하게는 하기 그룹 1의 화합물 중에서 선택될 수 있다.

[0022] [그룹 1]



[0023]

[0024] (상기 화학식들에서,

[0025] Y_1 및 Y_2 는 각각 독립적으로 발색단을 포함하고,

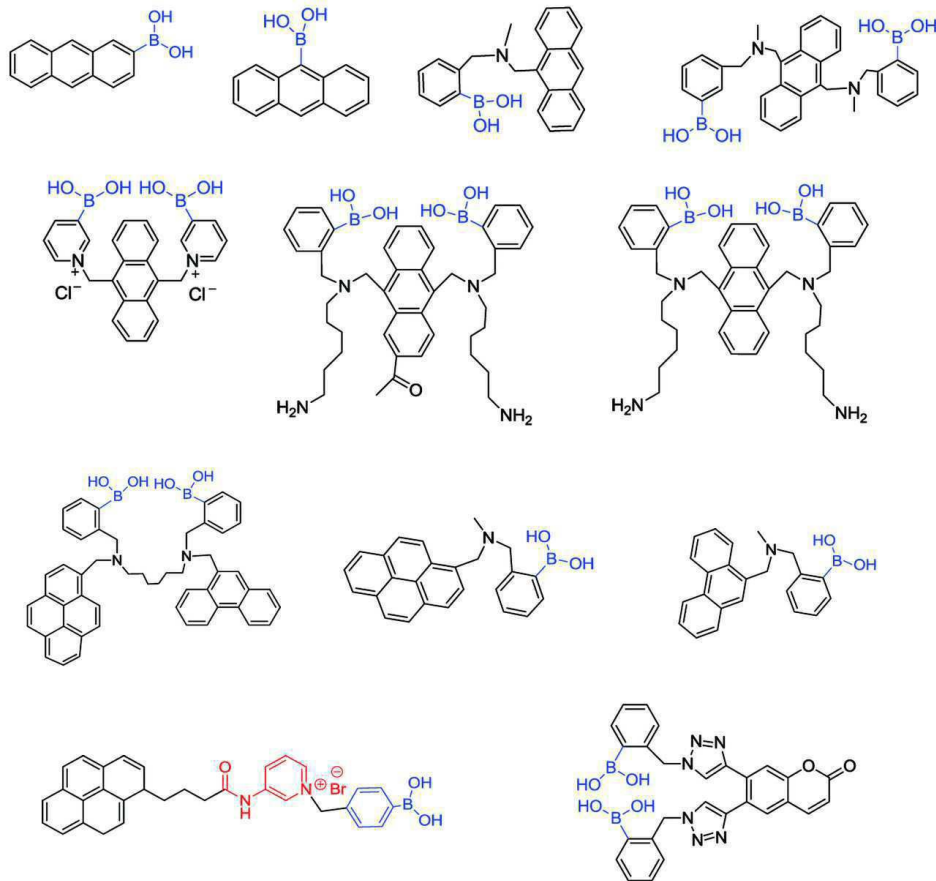
[0026] R_1 , R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 탄소수 C1~C10의 사슬을 포함하고,

[0027] Y_1 , Y_2 , R_1 , R_2 또는 R_3 에 소수성 세그먼트와 연결되는 작용기가 존재함.)

[0028] 상기 Y_1 , Y_2 의 발색단은 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 안트라센(anthracene), 페난트렌(phenanthrene), 피렌(pyrene), 크리센, 안트론(anthrone), 벤조페논(benzophenone), 티오크산톤(thioxanthone) 구조 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0029] 일 양태에서, 상기 글루코스-센싱 염료는 하기 그룹 2의 화합물 및 이의 유도체 중에서 선택될 수 있다.

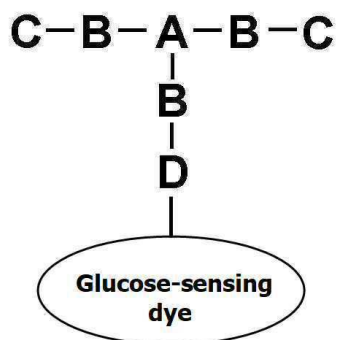
[0030] [그룹 2]



[0031]

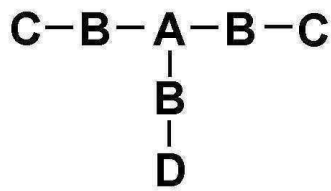
[0032] 한편, 본 발명은 (A) 하기 화학식 2로 표시되는 양친성 고분자 전구체를 글루코스-센싱 염료와 반응시켜 화학식 1로 표시되는 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물을 제조하는 단계; (B) 상기 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물을 중합개시제와 함께 유기용매에서 라디칼 중합시키는 단계; 및 (C) 상기 중합된 양친성 고분자 전구체를 수용액에서 분산시키는 단계를 포함하여 이루어지는, 글루코스-센싱 나노입자의 제조 방법을 제공한다.

[0033] [화학식 1]



[0034]

[0035] [화학식 2]



[0036]

[0037] (상기 화학식 1 및 2에서,

[0038] 상기 A는 소수성 세그먼트로서 폴리프로필렌 트리올 또는 글리세롤이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0039] 상기 B는 디이소시아네이트 화합물로서, 하나의 이소시아이트기는 상기 A의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고, 다른 하나는 상기 C의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되거나, 상기 D의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0040] 상기 C는 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트 또는 비닐화합물로서, 하이드록시기는 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0041] 상기 D는 친수성 세그먼트로서 폴리에틸렌 글리콜이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고,

[0042] 상기 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)는 상기 D와 결합하거나 링커를 통하여 상기 D와 연결됨.)

[0043] 일 양태에서, 상기 화학식 2의 양친성 고분자 전구체의 상기 폴리프로필렌 트리올은 중량 평균 분자량이 260 내지 2000이고,

[0044] 상기 폴리에틸렌 글리콜의 중량 평균 분자량은 600 내지 15,000이고,

[0045] 상기 디이소시아네이트 화합물은 톨루엔 디이소시아네이트, 이소포론 디이소시아네이트, 메틸렌 디이소시아네이트, 메틸렌 디페닐 디이소시아네이트, 헥사메틸렌 디이소시아네이트, 크실렌 디이소시아네이트, 톨리딘 디이소시아네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 또는 2 이상이고,

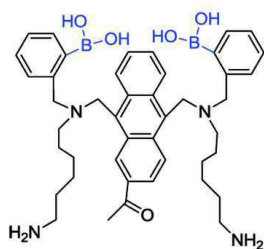
[0046] 상기 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트는 하이드록시 에틸 아크릴레이트, 하이드록시 에틸 메타아크릴레이트, 하이드록시 메틸 아크릴레이트 또는 하이드록시 메틸 메타아크릴레이트일 수 있다.

[0047] 일 양태에서, 상기 글루코스-센싱 염료는 글루코스와 반응할 수 있는 적어도 1개 이상의 보론산기를 가지며, 상기 화학식 2의 소수성 세그먼트와 결합 또는 이의 링커와 결합할 수 있는 작용기를 가질 수 있다. 상기 작용기는 제한되지는 않으나 아미노기, 카르복실기 또는 할로젠기일 수 있다.

[0048] 일 양태에서, 상기 글루코스-센싱 염료와 폴리에틸렌 글리콜은 링커(linker)에 의해 서로 연결될 수 있고, 상기 링커는 제한되지는 않으나 디이소시아네이트 화합물일 수 있다.

[0049] 일 양태에서, 상기 (A)단계는 상기 화학식 2의 양친성 고분자 전구체와 디이소시아네이트 화합물(링커)과 우레탄 반응시키는 다음, 하기 화학식 3의 글루코스-센싱 염료의 아미노기와 우레아 반응시키는 단계로 이루어지는 질 수 있다.

[0050] [화학식 3]



[0051]

발명의 효과

[0053] 본 발명에 따른 글루코스-센싱 나노입자는 비효소 방식으로 별도의 캡슐화(encapsulation)없이 가역적으로 글루코스의 농도를 연속적으로 모니터링할 수 있으며, 특히 세포 내 침투가 가능하여 세포 내 글루코스의 동적 변화를 실시간으로 모니터링할 수 있어 세포 내 글루코스 대사 이상의 발명 원인 추적은 물론, 새로운 중요 발명 원인으로 제시되고 있는 암, 비만, 당뇨, 심혈관질환의 근본적 발명 원인을 분자/세포/조직에서의 규명할 수 있어 차세대 치료제 개발에 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0055] 도 1은 본 발명의 화학식 1의 양친성 고분자 전구체의 다이어그램으로 (a)는 친수성 세그먼트와 글루코스-센싱 염료의 직접 결합, (b)는 링커에 의해 친수성 세그먼트와 글루코스-센싱 염료가 결합된 것을 나타낸다.

도 2에서 (a)는 글루코스 농도 0 mg/dL 및 500 mg/dL에서 실시예 1 내지 4에서 제조된 글루코스-센싱 나노입자의 형광 강도(intensity)를 나타내고, (b)는 글루코스 농도 0 mg/dL 대비 500 mg/dL에서 형광 강도 비(intensity ratio)를 나타낸다(GF:글루코스-센싱 염료, SPD:양친성 고분자 전구체).

도 3은 글루코스-센싱 염료(GF)를 대조구로 하여 실시예 1에서 제조된 글루코스-센싱 나노입자의 글루코스 농도 별 형광 강도 비율을 비교한 그래프이다.

도 4는 실시예 1, 2, 4에 따른 글루코스-센싱 나노입자를 3T3 세포 내에 로딩한 형광 이미지로서, (a) 나노입자화 하지 않은 글루코스-센싱 염료(GF). (b) 실시예 1의 글루코스-센싱 나노입자(GF:SPD 비율 1:5), (c) 실시예 2의 글루코스-센싱 나노입자(GF:SPD 비율 1:10), (d) 실시예 4의 글루코스-센싱 나노입자(GF:SPD 비율 1:20)의 형광 이미지이다.

도 5는 실시예 1, 2, 4에 따른 글루코스-센싱 나노입자의 live/dead assay 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

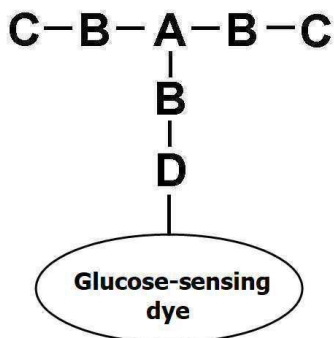
[0056] 본 발명에서 "글루코스-센싱 염료"는 글루코스와 반응(결합)하여 센싱하는 부분과 발색단을 포함한다. 본 발명에서 "발색단"은 글루코스를 센싱할 때 색변화를 발생시키는 부분을 의미하고, 형광 변화를 일으키는 "형광단"을 포함하는 의미로 사용된다.

[0057] 본 발명에서 "(메타)아크릴레이트"는 아크릴레이트 또는 메타아크릴레이트를 포함하는 의미로 사용된다.

[0058] 본 발명에 따른 글루코스-센싱 나노입자는 양쪽 말단에 (메타)아크릴레이트기 또는 비닐기를 가지는 소수성 세그먼트와 상기 소수성 세그먼트에 결합된 친수성 세그먼트 및 상기 친수성 세그먼트의 한쪽 말단에 결합된 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)로 이루어진 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물이 라디칼 중합되고 자가조립되어 소수성의 코어층과 친수성의 셸층을 이루는 코어/셸 구조의 나노입자이고, 상기 글루코스-센싱 염료가 셸층에 형성된 것을 특징으로 한다.

[0059] 상기 양친성 고분자 전구체는 바람직하게는 하기 화학식 1로 표시되는 구조를 가진다. 하기 화학식 1의 양친성 고분자 전구체의 구조는 도 1의 다이어그램을 참고할 수 있다.

[0060] [화학식 1]



[0061]

(상기 화학식 1에서,

[0063] 상기 A는 소수성 세그먼트로서 폴리프로필렌 트리올 또는 글리세롤이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여

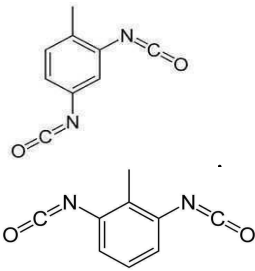
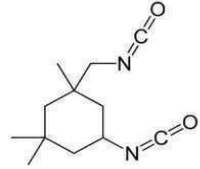
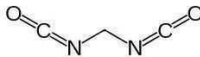
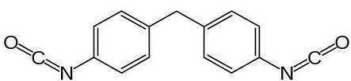
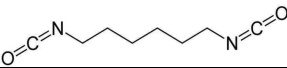
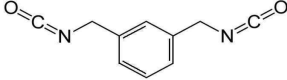
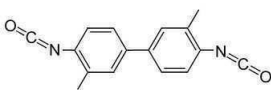
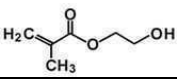
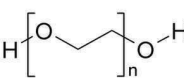
우레탄 결합이 형성되고;

- [0064] 상기 B는 디이소시아네이트 화합물로서, 하나의 이소시아이트기는 상기 A의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고, 다른 하나는 상기 C의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되거나, 상기 D의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;
- [0065] 상기 C는 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트 또는 비닐화합물로서, 하이드록시기는 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;
- [0066] 상기 D는 친수성 세그먼트로서 폴리에틸렌 글리콜이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고,
- [0067] 상기 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)는 상기 D와 결합하거나 링커를 통하여 상기 D와 연결됨.)
- [0068] 일 양태에서, 상기 화학식 1의 양친성 고분자 전구체에서 상기 폴리프로필렌 트리올은 제한되지는 않으나 중량 평균 분자량이 260 내지 2000이고, 상기 폴리에틸렌 글리콜의 중량 평균 분자량은 600 내지 15,000일 수 있다.
- [0069] 일 양태에서, 상기 화학식 1의 화합물에서 상기 디이소시아네이트 화합물은 톨루엔 디이소시아네이트, 이소포론 디이소시아네이트, 메틸렌 디이소시아네이트, 메틸렌 디페닐 디이소시아네이트, 헥사메틸렌 디이소시아네이트, 크실렌 디이소시아네이트, 톨리딘 디이소시아네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.
- [0070] 일 양태에서, 상기 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트는 하이드록시 에틸 아크릴레이트, 하이드록시 에틸 메타아크릴레이트, 하이드록시 메틸 아크릴레이트 또는 하이드록시 메틸 메타아크릴레이트일 수 있다.
- [0071] 상기 화학식1에서 A, B, C, D로 이용될 수 있는 대표 물질을 하기 표 1에 나타내었으나, 이에 제한되지는 않는다.

표 1

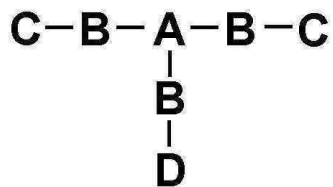
[0072]

물질	구조식	화학명
A	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$	글리세롤
	$\text{HO}-\left[\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}\right]_n-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-\left[\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}\right]_m-\text{OH}$ $\text{(OC}_3\text{H}_6\text{)}_p\text{OH}$ $m=1\sim50, n=0\sim50, p=0\sim50$	폴리프로필렌 트리올

B		2,4-톨루엔 디이소시아네이트, 2-6-톨루엔 디이소시아네이트
		이소포론 디이소시아네이트
		메틸렌 디이소시아네이트
		4,4'-메틸렌 디페닐 디이소시아네이트
		헥사메틸렌 디이소시아네이트
		크실렌 디이소시아네이트
		톨리딘 디이소시아네이트
C		하이드록시 에틸 메타아크릴레이트
D		폴리에틸렌 글리콜

[0073] 일 양태에서, 본 발명의 글루코스-센싱 나노입자는 (A) 하기 화학식 2로 표시되는 양친성 고분자 전구체를 글루코스-센싱 염료와 반응시켜 화학식 1로 표시되는 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물을 제조하는 단계; (B) 상기 양친성 고분자 전구체를 포함하는 화합물을 중합개시제와 함께 유기용매에서 라디칼 중합시키는 단계; 및 (C) 상기 중합된 양친성 고분자 전구체를 수용액에서 분산시키는 단계를 포함하여 이루어질 수 있다.

[0074] [화학식 2]



[0075]

[0076] (상기 화학식 2에서,

[0077] 상기 A는 소수성 세그먼트로서 폴리프로필렌 트리올 또는 글리세롤이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0078] 상기 B는 디이소시아네이트 화합물로서, 하나의 이소시아이드기는 상기 A의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고, 다른 하나는 상기 C의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되거나, 상기 D의 하이드록시기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0079] 상기 C는 하이드록시를 가지는 (메타)아크릴레이트 또는 비닐화합물로서, 하이드록시기는 상기 B의 이소시아네

이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성되고;

[0080] 상기 D는 친수성 세그먼트로서 폴리에틸렌 글리콜이고, 상기 B의 이소시아네이트기와 반응하여 우레탄 결합이 형성됨.)

[0081] 상기 화학식 2로 표시되는 양친성 고분자 전구체의 합성은 본 발명자의 대한민국 특허공개 제10-2013-0022077호에 공지되어 있고, 다음의 방법으로 제조될 수 있다.

[0082] 화학식 2의 양친성 고분자 전구체의 합성

[0083] 제1단계:

[0084] 질소 분위기 하에서, 소수성 세그먼트와 3개 이상의 하이드록시기를 가지는 물질 A(폴리프로필렌 트리올)와, 2개 이상의 이소시아네이트기를 가지는 물질 B(다이이소시아네이트)를 1:3의 반응 몰비로 하여서 45 ~ 50 °C에서 4 시간 동안 교반 반응시켜 A, B 간에 우레탄 결합을 형성시킨다.

[0085] 제2단계:

[0086] 상기 제1단계에서 얻어진 합성물에 하이드록시기를 가지는 물질 C(하이드록시 아크릴레이트 또는 메타아크릴레이트)를 첨가하여 50 ~ 55 °C에서 반응시켜 B, C 간에 우레탄 결합을 형성시킨다. 상기 제1 단계의 합성물과 물질 C의 반응 몰비는 1:2로 한다.

[0087] 제3단계:

[0088] 상기 제2단계에서 얻어진 합성물에 친수성 세그먼트와 하이드록시기를 가지는 물질 D, 바람직하게는 중량 평균 분자량이 600 ~ 15,000인 폴리에틸렌옥시드를 1 몰비로 첨가하여 교반 반응시켜 B, D 간에 우레탄 결합을 형성시킨다.

[0089] 상기 제조된 화학식 2의 양친성 고분자 전구체는 소수성 세그먼트의 양 말단에는 (메타)아크릴레이트에 의해 비닐기를 가지고 친수성 세그먼트의 말단에는 하이드록시기를 가지게 된다.

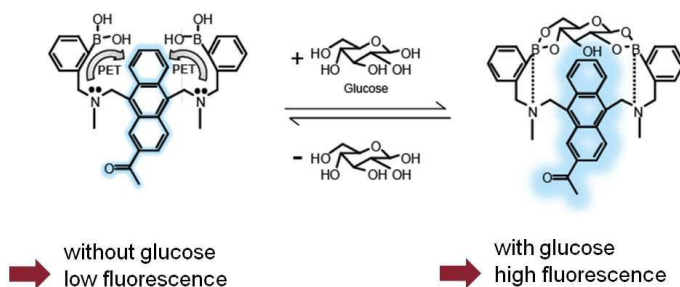
[0090] 상기 화학식 2의 친수성 세그먼트는 글루코스-센싱 염료(glucose-sensing dye)와 결합 또는 연결되어 상기 화학식 1의 양친성 고분자 전구체가 된다.

[0091] 일 양태에서, 상기 화학식 1의 글루코스-센싱 염료는 글루코스와 반응할 수 있는 적어도 1개 이상의 보론산기를 가질 수 있다.

[0092] Hao Fang et al.(*Journal of Fluorescence*, Vol. 14, No. 5, 2004), Kawanishi et al.(*Journal of Fluorescence*, Vol. 14, No. 5, 2004)는 보론산기를 가지는 다양한 글루코스-센싱 염료들을 공지하고 있으며, 보론산이 글루코스와 결합하여 원자간 PET(Photoinduced Electron Transfer) 또는 ICT(Internal Charge Transfer)에 의해 발색단(형광단)의 파장을 변화시켜 형광을 증폭시키는 것을 설명하고 있다.

[0093] 일 양태로서, 하기 반응식 1에서 글루코스-센싱 염료는 발색단으로 안트라센 구조를 가지는 데, 글루코스가 없을 때에는 안트라센의 형광은 인접한 질소 원자(N)의 비공유 전자쌍에 의해 소광(quenching) 상태로 있다가 글루코스와 반응시 질소 원자(N)의 비공유 전자쌍은 보론 원자(B)와 결합함으로써 안트라센을 강하게 형광시킨다.

[0094] [반응식 1]

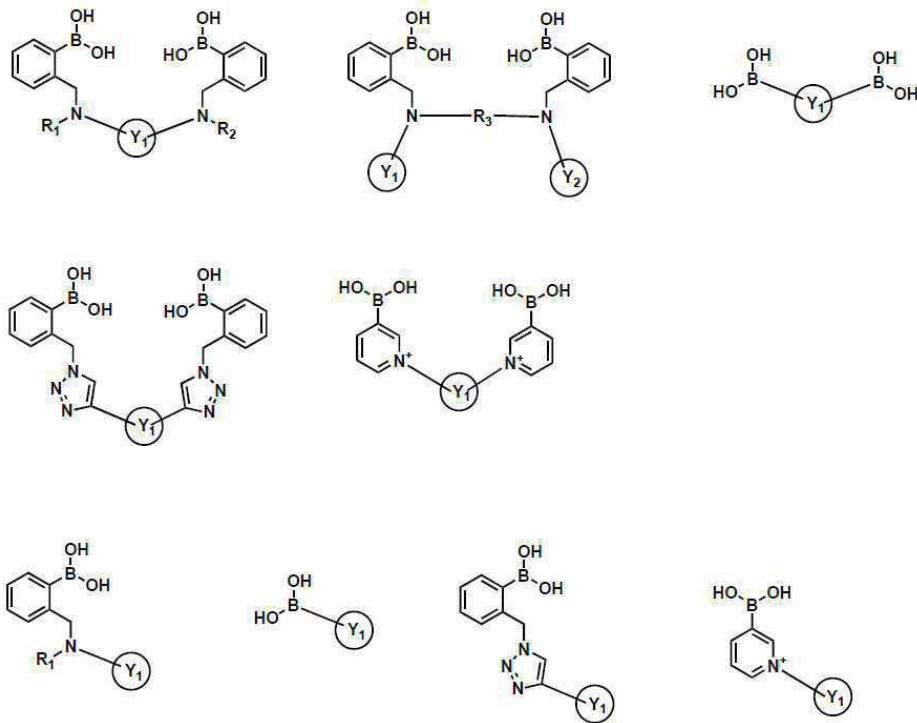


[0096] 일 양태에서, 본 발명에 따른 글루코스-센싱 염료는 글루코스와 반응할 수 있는 적어도 1개 이상의 보론산기를 가질 수 있다.

[0097] 상기 글루코스-센싱 염료는 제한되지는 않으나 하기 그룹 1의 화합물 또는 이의 유도체 화합물 중에서 선택될

수 있다.

[그룹 1]



(상기 화학식들에서,

Y_1 및 Y_2 는 각각 독립적으로 발색단을 포함하고,

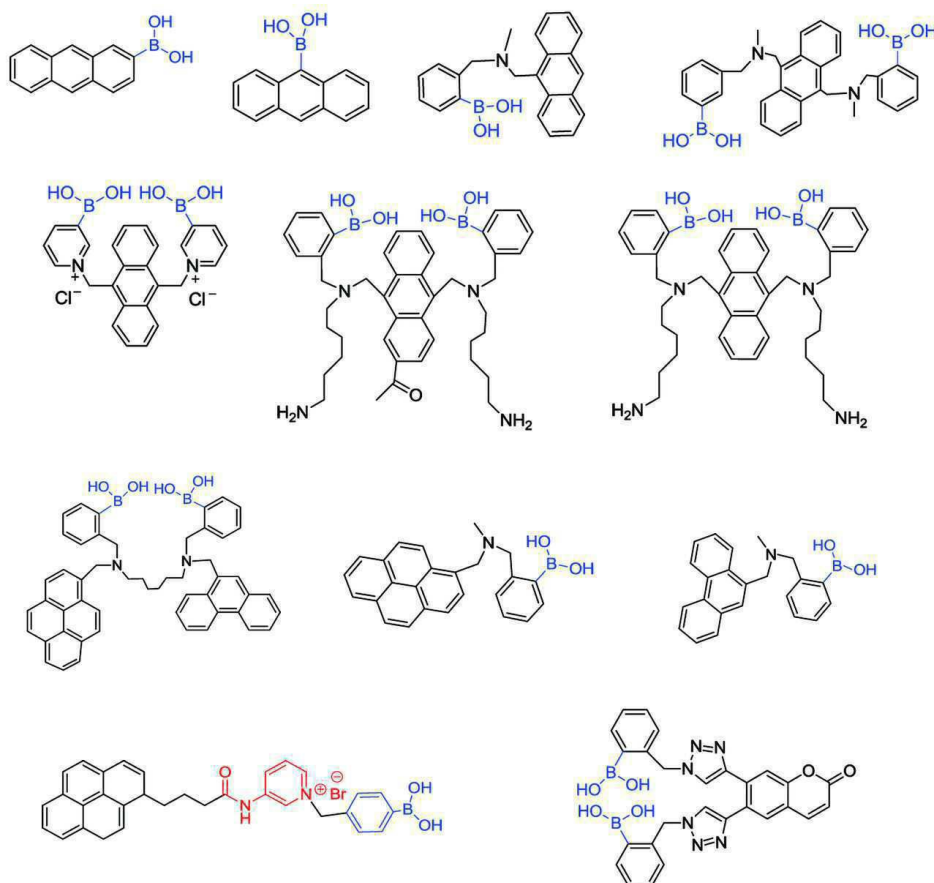
R_1 , R_2 및 R_3 는 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 탄소수 C1~C10의 사슬을 포함하고,

Y_1 , Y_2 , R_1 , R_2 또는 R_3 에 소수성 세그먼트와 연결되는 작용기가 존재함.)

일 양태에서, 상기 Y_1 , Y_2 의 발색단은 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 안트라센(anthracene), 페난트렌(phenanthrene), 피렌(pyrene), 크리센, 안트론(anthrone), 벤조페논(benzophenone), 티오크산톤(thioxanthone) 구조 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.

일 양태에서, 상기 글루코스-센싱 염료는 하기 그룹 2의 화합물 또는 이의 유도체 화합물 중에서 선택될 수 있다.

[0106] [그룹 2]



[0107]

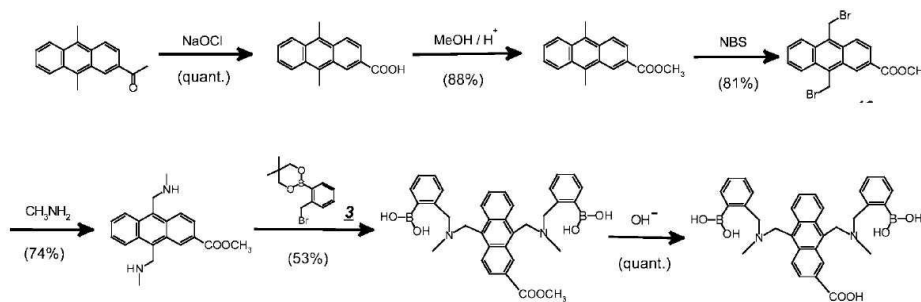
[0108] 상술한 글루코스-센싱 염료는 일 예시로서, 공지된 글루코스-센싱 염료는 본 발명의 범주에 포함될 수 있다.

[0109] 상기 화학식 1과 같이 글루코스-센싱 염료는 상기 화학식 2의 폴리에틸렌 글리콜과 직접 결합하거나 별도의 링커(linker)를 통하여 연결될 수 있다.

[0110] 상기 글루코스-센싱 염료는 상기 화학식 2의 폴리에틸렌 글리콜과 결합하기 위하여 작용기를 가질 수 있고, 상기 작용기는 폴리에틸렌 글리콜과 직접적으로 결합되거나 링커에 의해 간접적으로 연결될 수 있다. 상기 작용기는 제한되지는 않으나 아미노기, 카르복실기, 할로젠기일 수 있다. 상술한 그룹 1, 2에서 작용기가 없는 경우에는 추가반응을 통하여 작용기를 형성시키거나, 작용기를 가지도록 합성을 설계할 수 있다.

[0111] 일 예시적으로, 하기 반응식 2에서와 같이 안트라센 구조에 카르복실기를 도입하고, 이를 작용기로 화학식 2의 폴리에틸렌 글리콜과 결합 또는 별도의 링커를 통하여 연결할 수 있다.

[0112] [반응식 2]

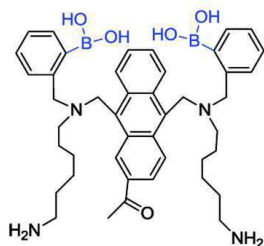


[0113]

[0114] 상기 링커는 화학식 2의 폴리에틸렌 글리콜과 글루코스-센싱 염료를 연결하기 위한 것으로, 각각의 작용기에 따라 적합하게 선택될 수 있다. 일 양태에서, 상기 링커는 디이소시아네이트일 수 있으며, 하나의 이소시아네이트기는 폴리에틸렌 글리콜의 하이드록시기와 우레탄 결합을 하고, 다른 이소시아네이트기는 화학식 3으로 표시되

는 글루코스-센싱 염료의 아민기와 우레아 반응하여 폴리에틸렌 글리콜과 글루코스-센싱 염료를 연결할 수 있다.

[0115] [화학식 3]



[0116]

[0117] 상기 화학식 2의 글루코스-센싱 염료와 양친성 고분자 전구체의 반응비는 다양하게 조절될 수 있으며, 일 예로 적으로 반응 몰비는 1:5 ~ 1: 20 일 수 있다.

[0118] 이는 합성된 상기 화학식 1의 글루코스-센싱 염료가 도입된 양친성 고분자 전구체와 미반응된 양친성 고분자 전구체가 섞여 있는 화합물로서 (메타)아크릴레이트기 또는 비닐기의 라디칼 중합에 의해 고분자화되고 일부 친수성 세그먼트에 글루코스-센싱 염료가 결합된 구조를 가진다.

[0119] 본 발명에 따른 화학식 1의 양친성 고분자 전구체의 양쪽 말단의 (메타)아크릴레이트기 또는 비닐기는 중합 개시제에 의해 중합된다. 중합 개시제는 아조비스부틸로니트릴이 주로 이용되나, 공지된 다른 중합 개시제 역시 모두 이용될 수 있다. 유기용매로는 테트라하이드로퓨란(THF), 아세톤, 에탄올 등의 유기용매가 이용될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0120] 상기 중합된 화합물을 젤 형태를 가질 수 있으며, 수용액에 서서히 적하시키면서 강하게 교반시키면 양친성에 의해 자가조립되어 나노크기의 글루코스-센싱 나노입자가 수분산액 형태로 제조될 수 있다. 상기 글루코스-센싱 나노입자의 크기는 사용되는 폴리프로필렌 트리올의 중량 평균 분자량 또는 폴리에틸렌글리콜의 중량 평균 분자량을 조합하여 다양하게 조절이 가능하다. 상기 글루코스-센싱 나노입자 수분산액은 모니터링 하고자 하는 세포/조직 내 침투가 가능하여 세포 내 글루코스의 동적 변화를 실시간으로 모니터링할 수 있어 세포 내 글루코스 대사 이상의 발병 원인 추적은 물론, 새로운 중요 발병 원인으로 제시되고 있는 암, 비만, 당뇨, 심혈관질환의 근본적 발병 원인을 분자/세포/조직에서의 규명할 수 있어 차세대 치료제 개발에 유용하게 활용될 수 있다.

[0122] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 상세히 설명한다. 하기 실시예는 바람직한 일 실시예로는 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 변경 실시가 가능하다.

[0124] 실시예 1: 글루코스-센싱 나노입자의 제조(화합물명: 1:5_SPD_Gc-2000)

[0125] (1) 화학식 2의 양친성 고분자 전구체의 제조

[0126] 질소 분위기 하에서, 중량 평균 분자량이 500인 폴리프로필렌 트리올과 2,4-톨루엔 디이소시아네이트를 1:3 반응 몰비로 하여 약 45 ~ 50 °C에서 4시간 동안 교반 반응시켜 이소시아네이트가 도입된 화합물을 제조하였다.

[0127] 상기 이소시아네이트가 도입된 화합물에 하이드록시 에틸 메타아크릴레이트를 1:2 반응 몰비로 교반 반응시켜 비닐기가 도입된 화합물을 제조하였다.

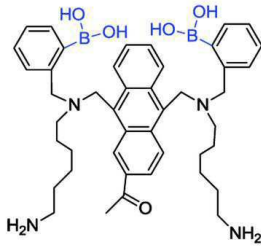
[0128] 상기 비닐기가 도입된 화합물에 중량 평균 분자량이 2000인 폴리에틸렌옥시드를 1:1 반응 몰비로 교반 반응시켜 양친성 고분자 전구체를 제조하였다.

[0129] (2) 화학식 1의 양친성 고분자 전구체의 제조

[0130] 상기 제조된 양친성 고분자 전구체와 디이소시아네이트를 1:1 반응 몰비로 하여 약 45 ~ 50 °C에서 4시간 동안 교반 반응시켜 폴리에틸렌 글리콜에 이소시아네이트가 도입된 화합물을 제조하였다.

[0131] 하기 화학식 3의 글루코스-센싱 염료와 상기 이소시아네이트가 도입된 화합물을 1:5의 반응 몰비로 교반 반응시켜 화학식 1의 글루코스-센싱 염료가 도입된 양친성 고분자 전구체를 제조하였다.

[0132] [화학식 3]



[0133]

[0134] (3) 글루코스-센싱 나노입자의 제조

[0135] 상기 제조된 글루코스-센싱 염료가 도입된 양친성 고분자 전구체 100 중량부를 중합 개시제인 아조비스부틸로니 트릴 0.5 ~ 1 중량부와 함께 테트라하이드로퓨란(THF)에 용해시켜 약 60℃에서 300rpm으로 약 6시간 중합 반응 시켜 젤 형태의 화합물을 제조하였다.

[0136] 상기 제조된 화합물을 수용액에 서서히 적하시키면서 격렬하게 교반시켜 나노입자 크기의 글루코스-센싱 나노입자가 분산된 콜로이드 수용액(글루코스-센싱 나노입자 분산액)을 제조하였다.

[0138] **실시예 2: 글루코스-센싱 나노입자의 제조(화합물명: 1:10_SPD_Gc-2000)**

[0139] 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하되, 글루코스-센싱 염료와 상기 이소시아네이트가 도입된 화합물의 반응 물비를 1:10으로 하여 글루코스-센싱 나노입자 분산액을 제조하였다.

[0141] **실시예 3: 글루코스-센싱 나노입자의 제조(화합물명: 1:10_SPD3_Gc-2000)**

[0142] 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하되, 중량 평균 분자량이 1000인 폴리프로필렌 트리올을 사용하고, 글루코스-센싱 염료와 이소시아네이트가 도입된 화합물의 반응 물비를 1:10으로 하여 글루코스-센싱 나노입자 분산액을 제조하였다.

[0144] **실시예 4: 글루코스-센싱 나노입자의 제조(화합물명: 1:20_SPD_Gc-2000)**

[0145] 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하되, 글루코스-센싱 염료와 상기 이소시아네이트가 도입된 화합물의 반응 물비를 1:20으로 하여 글루코스-센싱 나노입자 분산액을 제조하였다.

[0147] **실험예 1: 본 발명의 글루코스-센싱 나노입자의 글루코스 응답성**

[0148] 본 발명에 따른 글루코스-센싱 나노입자의 글루코스 응답성을 확인하기 위해 실시예 1 내지 4에서 제조된 글루코스-센싱 나노입자 수분산액을 생체 글루코스 농도 0 mg/dL 검체 및 500 mg/dL 검체에 각각 투입시켜 형광 강도를 측정하였다.

[0149] 도 2에서 (a)는 글루코스 농도 0 mg/dL 및 500 mg/dL에서 실시예 1 내지 4에서 제조된 글루코스-센싱 나노입자의 형광 강도(intensity)를 나타내고, (b)는 글루코스 농도 0 mg/dL 대비 500 mg/dL에서 형광 강도 비율(intensity ratio)를 나타낸다(GF:글루코스-센싱 염료, SPD:양친성 고분자 전구체).

[0150] 도 2에 보이는 바와 같이 양친성 고분자 전구체(SPD) 대비 글루코스-센싱 염료(GF)의 함량이 증가할수록 형광 강도는 유의적으로 증가하였으며, 친수성 세그먼트(PEG)의 분자량이 증가할수록 형광 강도는 유의적으로 증가하여 하여 응답성이 향상된다는 결과를 보여준다.

[0151] 도 2는 실시예 1 내지 4에서 제조된 글루코스-센싱 나노입자가 글루코스 응답성을 보이고, 나노입자화 함으로써 응답성이 향상된다는 결과를 보여준다.

[0153] **실험예 2: 본 발명의 글루코스-센싱 나노입자의 글루코스 응답성**

[0154] 실시예 1에서 제조된 글루코스-센싱 나노입자 수분산액을 생체 글루코스 농도 0, 30, 60, 120, 250, 500 mg/dL 검체에 각각 투입시켜 농도별 형광 강도를 측정하였다.

[0155] 도 3은 글루코스-센싱 염료(GF)를 대조구로 하여 실시예 1에서 제조된 글루코스-센싱 나노입자의 글루코스 농도별 형광 강도 비율을 비교한 그래프이다.

[0156] 도 3에 보이는 바와 같이 나노입자화 하지 않은 글루코스-센싱 염료(대조구)는 글루코스 농도별 형광 강도 비율

은 약 2를 보이는 반면, 실시예 1의 글루코스-센싱 나노입자의 강도 비율은 3 이상으로 대조구에 비해 글루코스 응답성이 현저히 증가한 것을 확인할 수 있다.

[0158] **실험예 2: 세포 내에서의 글루코스-센싱 나노입자의 성능 평가**

[0159] 본 발명에 따른 실시예 글루코스-센싱 나노입자의 세포 내 형광 성능을 평가하기 위하여 실시예 1, 2, 4에 따른 글루코스-센싱 나노입자를 3T3 세포 내에 로딩한 후 형광 이미지를 확인하였다.

[0160] 도 4는 실시예 1, 2, 4에 따른 글루코스-센싱 나노입자를 3T3 세포 내에 로딩한 형광 이미지로서, (a) 나노입자화 하지 않은 글루코스-센싱 염료(GF), (b) 실시예 1의 글루코스-센싱 나노입자(GF:SPD 비율 1:5), (c) 실시예 2의 글루코스-센싱 나노입자(GF:SPD 비율 1:10), (d) 실시예 4의 글루코스-센싱 나노입자(GF:SPD 비율 1:20)의 형광 이미지이다.

[0161] 도 4에 보이는 바와 같이 본 발명에 따른 글루코스-센싱 나노입자는 나노입자화 하지 않은 글루코스-센싱 염료(GF)에 비해 우수한 형광 특성을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

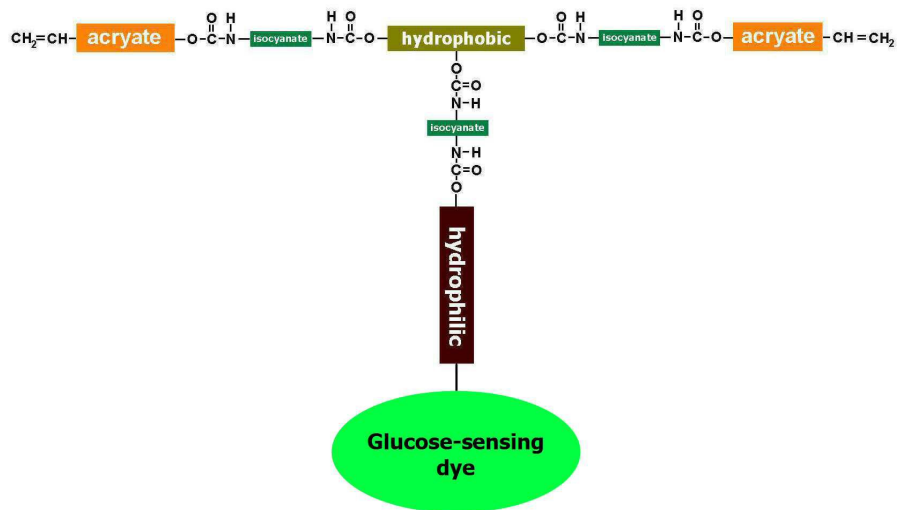
[0162] 본 발명에 따른 글루코스-센싱 나노입자의 세포 내 형광 성능을 평가하기 위하여 실시예 1, 2, 4에 따른 글루코스-센싱 나노입자의 세포 독성을 확인하기 위하여 live/dead assay 를 실시하여 도 5에 나타내었다.

[0163] 도 5에 보이는 바와 같이, 본 발명에 따른 글루코스-센싱 나노입자는 세포 생존물에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

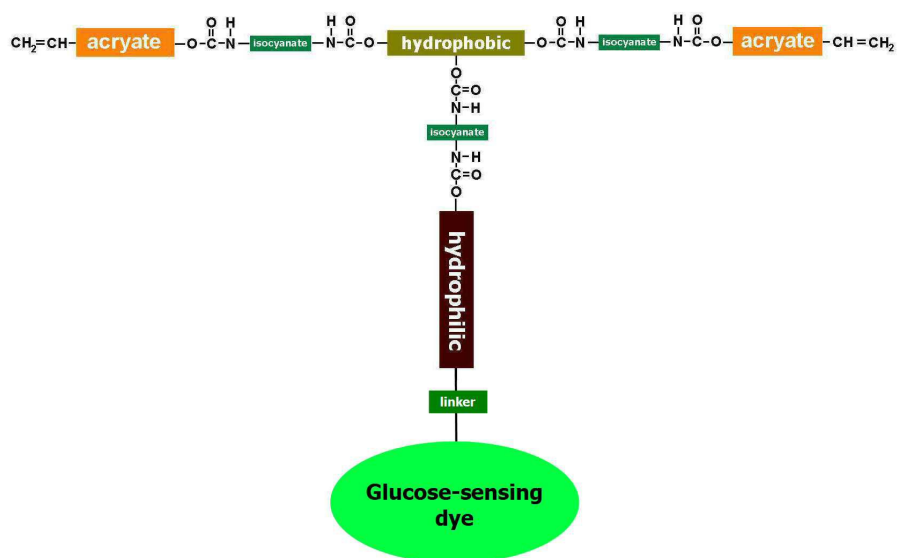
도면

도면1

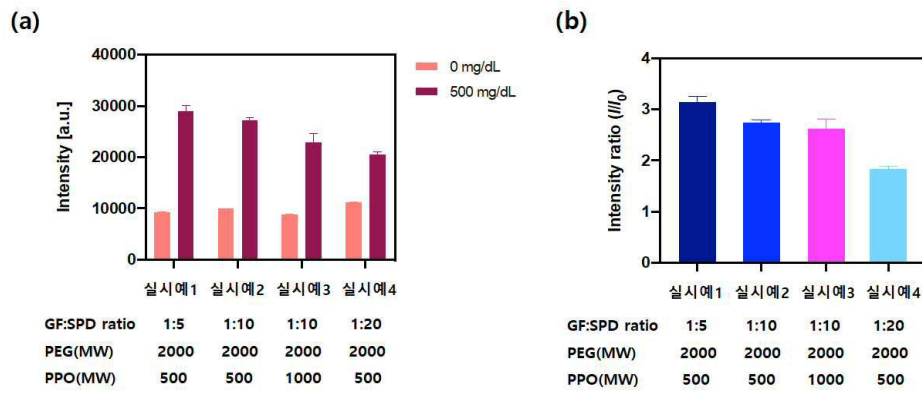
(a)



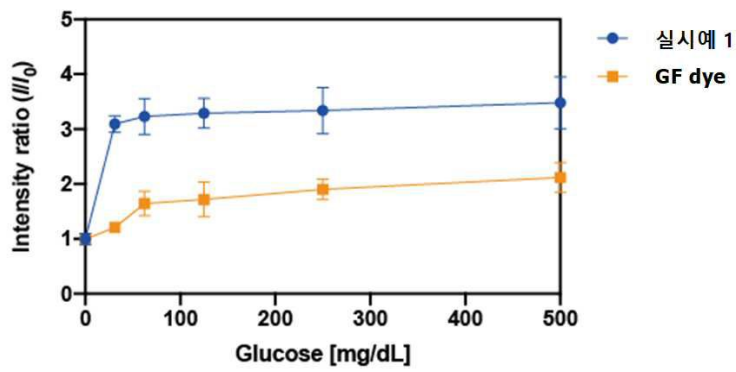
(b)



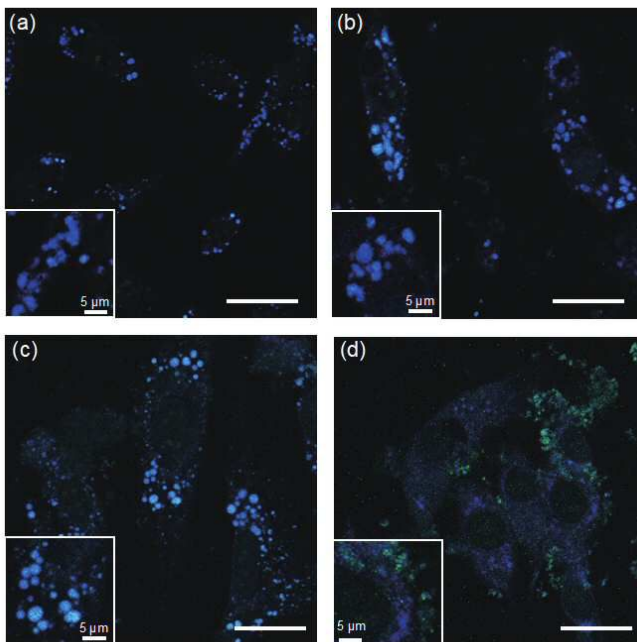
도면2



도면3



도면4



도면5

