



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년03월15일
(11) 등록번호 10-1717010
(24) 등록일자 2017년03월09일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/32 (2017.01) A61K 47/34 (2017.01)
A61K 49/00 (2006.01) A61K 49/04 (2006.01)
C08L 101/12 (2006.01) C08L 79/02 (2006.01)
B82Y 5/00 (2017.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/32 (2013.01)
A61K 47/34 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-0005320
(22) 출원일자 2016년01월15일
심사청구일자 2016년01월15일
- (56) 선행기술조사문헌
KR101473078 B1*
Acta Biomaterialia, 2013, 제9권, 페이지
9330-9342*
KR1020160000935 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
- (72) 발명자
함승주
서울특별시 서초구 반포대로21길 43, 103호(서초동, 오로라 빌)
김지혜
서울특별시 서대문구 연세로 50, 제1공학관 367에이 (신촌동)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 13 항

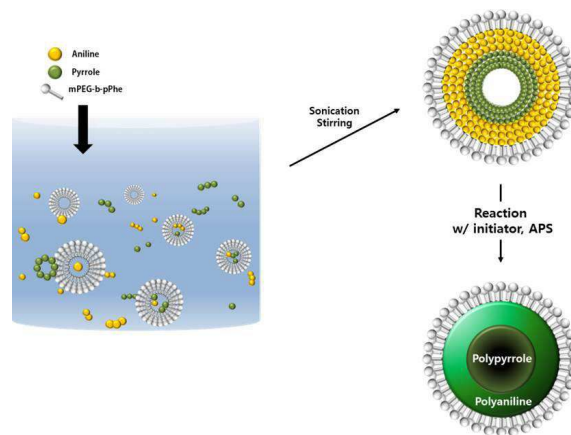
심사관 : 최승희

(54) 발명의 명칭 암의 조기 진단 또는 치료용 폴리아미노산 기반의 생체환경 감응형 나노입자

(57) 요약

본 발명은 암의 조기 진단 또는 치료용 폴리아미노산 기반의 생체환경 감응형 나노입자에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 생체환경에 특이적으로 감응하는 폴리 아미노산 기반의 나노입자를 사용하여 암세포를 인식하고 암을 진단할 뿐만 아니라 나노입자의 약물 담지능을 통해 암을 치료하는 효과를 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 49/0093 (2013.01)

A61K 49/0423 (2013.01)

C08L 101/12 (2013.01)

C08L 79/02 (2013.01)

B82Y 5/00 (2013.01)

(72) 발명자

김현욱

서울특별시 서대문구 연세로 50, 제1공학관
에이143호 (신촌동)

최지혜

인천광역시 남구 경인로252번안길 11-53 (도화동)

송대섭

대전광역시 유성구 반석동로 33, 502동 501호 (반
석동, 반석마을5단지아파트)

나운성

세종특별자치시 조치원읍 세종로 2511, 연구실험동
404호

염민주

경기도 수원시 권선구 매송고색로691번길 9, 207동
1204호(고색동, 고색2차태산아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2013-11-2072

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 글로벌프론티어연구개발사업 (바이오나노헬스가드연구단)

연구과제명 3D 유무기 하이브리드 소재기반 나노구조체 개발

기 여 율 1/1

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2013.12.01 ~ 2022.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

속이 비어 있는 코어;

상기 코어를 둘러싸는 서로 다른 복수 개의 전도성 고분자층; 및

상기 전도성 고분자층을 둘러싸고, 친수성 고분자와 하기 화학식 1로 표시되는 소수성 호모 폴리 아미노산의 양 친매성 공중합체로 이루어진 셸을 포함하며,

상기 전도성 고분자층은 폴리아세틸렌(polyacetylene), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리피롤(polypyrrole), 폴리티오펜(polythiophene), 폴리(1,4-페닐렌비닐렌)(poly(1,4-phenylenevinylene)), 폴리(1,4-페닐렌 설파이드)(poly(1,4-phenylene sulfide)) 및 폴리(플루오레닐렌에티닐렌)(poly(fluorenyleneethynylene))로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 전도성 고분자로 이루어진 복수 개의 층인, 나노입자:

[화학식 1]

(poly-M)_n

여기서,

M은 루신, 이소루신, 발린, 페닐알라닌, 프롤린, 글리신 또는 메티오닌이고,

n은 10 내지 100을 나타낸다.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서,

전도성 고분자층은 폴리피롤층 및 폴리아닐린층을 포함하는, 나노입자.

청구항 4

제1항에 있어서,

친수성 고분자는 폴리알킬렌글리콜, 폴리에틸렌옥시드, 폴리옥사졸린, 폴리(N-비닐피롤리돈), 폴리비닐알콜, 폴리히드록시에틸메타크릴레이트, 텍스트란, 폴리세린, 폴리트레오닌, 폴리티로신, 폴리 리신, 폴리아르기닌, 폴리히스티딘, 폴리아스파르트산 및 폴리글루탐산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인, 나노입자.

청구항 5

제1항에 있어서,

친수성 고분자는 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜을 포함하는, 나노입자.

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서,
나노입자는 평균 입경이 50 내지 200 nm인, 나노입자.

청구항 8

제1항에 있어서,
나노입자는 흡광물질을 추가로 포함하는, 나노입자.

청구항 9

제1항에 있어서,
나노입자는 약제학적 활성성분을 추가로 포함하는, 나노입자.

청구항 10

제1항에 있어서,
나노입자는 생체환경 감응형인, 나노입자.

청구항 11

제10항에 있어서,
생체환경은 pH 4.5 내지 7.8인, 나노입자.

청구항 12

전수성 고분자, 하기 화학식 1로 표시되는 소수성 호모 폴리 아미노산의 양친매성 공중합체 및 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체를 혼합하여 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체가 담지된 나노입자를 제조하는 단계; 및 상기 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체의 중합을 유도하여 상기 나노입자 내부에 서로 다른 복수 개의 전도성 고분자층을 형성하는 단계를 포함하고,

상기 전도성 고분자층은 폴리아세틸렌(polyacetylene), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리피롤(polypyrrole), 폴리티오펜(polythiophene), 폴리(1,4-페닐렌비닐렌)(poly(1,4-phenylenevinylene)), 폴리(1,4-페닐렌 설파이드)(poly(1,4-phenylene sulfide)) 및 폴리(플루오레닐렌에티닐렌)(poly(fluorenyleneethynylene))로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 전도성 고분자로 이루어진 복수 개의 층인, 제1항의 나노입자의 제조방법:

[화학식 1]

(poly-M)_n

여기서,

M은 루신, 이소루신, 발린, 페닐알라닌, 프롤린, 글리신 또는 메티오닌이고,

n은 10 내지 100을 나타낸다.

청구항 13

제12항에 있어서,

전도성 고분자층은 폴리피롤층 및 폴리아닐린층을 포함하는, 나노입자의 제조방법.

청구항 14

제1항의 나노입자; 및

약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 암 진단용 조영제 조성물.

청구항 15

제1항의 나노입자; 및

약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 암 질환 치료용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 암의 조기 진단 또는 치료용 폴리아미노산 기반의 생체환경 감응형 나노입자에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 암세포는 불규칙적으로 성장하며, 유산소와 무산소 환경에서 모두 해당과정을 높은 비율로 형성함에 따라 젖산이 생성이 되고, pH가 감소되며, 혈관형성 성장인자(Angiogenic growth factors)들이 급격히 배출된다. 따라서, 종양 미세환경을 구분할 수 있는 이미징 프로브가 필요하다.

[0004] 이러한 이미징 프로브로 종래에는 4급 아민을 이용하여 pH-감응형 코어를 갖는 이온화 소수성 블록(ionizable hydrophobic block)의 마이셀을 제조하였으며, 소수성 흡광단을 사용하여 Homo FRET을 구현하여 pH 7.4에서 6.7로 감소할 경우 흡광 강도가 102 배가 증가하는데 이는 소분자 pH 센서(small-molecule pH sensors)가 2~3 배 증가하는 점을 감안하면 매우 민감한 것이다. 그러나, 4급 아민은 세포 괴사를 일으키고, 나노입자 역시 생체 내 독성을 유발하며, 형성된 나노입자가 작동하기 위해서는 반드시 세포막을 통과하는 과정인 엔도사이토시스가 일어나야 하는 문제점이 있다.

[0005] 따라서, 종래에 주형으로 주로 사용된 폴리스티렌에 비해 생체친화성이 우수하고, 4급 아민의 사용에 따른 생체 내 독성을 줄이며, 좀 더 민감하게 생체환경에 감응하여 암을 진단하기 위한 이미징 프로브의 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제2006-0101202호 (2006.09.22)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 생체 내 독성을 줄이고, 생체환경에 감응하여 암을 진단할 수 있는 이미징용 폴리아미노산 기반 나노입자 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 나노입자의 약제학적 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- [0012] 코어;
- [0013] 상기 코어를 둘러싸는 복수 개의 전도성 고분자층; 및
- [0014] 상기 전도성 고분자층을 둘러싸고, 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체로 이루어진 셸을 포함하는, 나노입자를 제공한다.
- [0015] 본 발명은 또한 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체와 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체를 혼합하여 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체가 담지된 나노입자를 제조하는 단계; 및
- [0016] 상기 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체의 중합을 유도하여 상기 나노입자 내부에 복수 개의 전도성 고분자층을 형성하는 단계를 포함하는, 본 발명의 나노입자의 제조방법을 제공한다.
- [0017] 본 발명은 또한 본 발명의 나노입자; 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 암 진단용 조영제 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명은 또한 본 발명의 나노입자; 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 암 치료용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명은 생체환경에 특이적으로 감응하는 폴리아미노산 기반의 나노입자를 사용하여 pH 4.5 내지 7.8 에 따라 암세포를 인식하고 암 질환을 진단하는 효과를 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명의 나노입자는 암 치료에 사용하는 약물을 담지할 수 있어 암의 치료에 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 본 발명의 나노입자의 구조 및 이의 제조방법을 도시한 것이다.
- 도 2는 본 발명의 나노입자의 NMR 결과, FT-IR 결과 및 TEM 사진도를 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명의 나노입자(PASome), 폴리아닐린 나노입자(Pani) 및 폴리피롤 나노입자(Ppy)의 형태를 보여주는 TEM 및 SEM 사진도로, (a) 및 (d)는 Ppy, (b) 및 (e)는 Pani, (c) 및 (f)는 PASome 의 이미지이다.
- 도 4는 독소루비신의 농도에 따른 흡광도 ($\lambda=480$ nm)를 나타낸 것이다.
- 도 5는 나노입자/독소루비신의 농도에 따른 세포생존율을 나타낸 것이다.
- 도 6은 pH 별 나노입자의 파장에 따른 UV 흡광도 변화를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.
- [0025] 본 발명은
- [0026] 코어;
- [0027] 상기 코어를 둘러싸는 복수 개의 전도성 고분자층; 및
- [0028] 상기 전도성 고분자층을 둘러싸고, 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체로 이루어진 셸을 포함하는, 나노입자에 관한 것이다.
- [0029] 또한, 본 발명은
- [0030] 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체와 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체를 혼합하여 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체가 담지된 나노입자를 제조하는 단계; 및
- [0031] 상기 서로 다른 2종 이상의 전도성 단량체의 중합을 유도하여 상기 나노입자 내부에 복수 개의 전도성 고분자층을 형성하는 단계를 포함하는, 본 발명의 나노입자의 제조방법을 제공한다.

- [0032] 본 발명의 나노입자는 생체환경에 특이적으로 감응하는 폴리 아미노산 기반 나노 플랫폼으로, pH-감응형 특성을 가지고 있어 약 pH 7.4 정도의 중성의 pH 범위를 갖는 정상세포 환경과 약 pH 5.4 내외의 약산성의 pH 범위를 갖는 암세포 환경에서 흡광 강도에서 차이를 나타내므로 정상세포와 암세포를 구분하여 인식할 수 있으므로 암세포 진단이 가능하다. 다시 말해, 암세포를 추적할 수 있는 표적 성분없이도 암세포를 인식할 수 있어 암세포 진단이 가능하다. 또한, 본 발명의 나노입자는 코어-셸 구조를 가지고 있어 약물 담지가 가능하므로, 나노입자가 세포질로 들어가게 되면 농도 구배에 의해 약물이 방출되어 암세포 치료가 가능하다. 뿐만 아니라 본 발명의 나노입자는 전도성 고분자층을 코어에 포함하고 있어 암세포의 산성 환경에서 근적외선 조사 시 광열반응을 나타내므로 암세포의 광열요법에 사용할 수 있는 것을 특징으로 한다.
- [0033] 본 발명의 나노입자는 생체친화적인 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체인 양친매성 고분자의 자기조립체가 내부에 전도성 고분자층을 포함하고 있는 구조를 가지고 있다.
- [0034] 본 발명의 나노입자는 전도성 고분자에 의한 생체환경, 즉, pH 변화에 따른 파장의 변화, 흡광 소거 변화 등에 따라 흡광 이미징이 가능하다. 예컨대, 코어에 형성된 전도성 고분자는 내부에서 전자를 이동시켜 전달하는 기능을 가짐과 동시에 전자를 흡수, 방출하는 기능을 가진다. 본 발명의 일 구현예에 따르면, pH7.8(정상세포 환경)에서 흡광도 측정 시 pH5.4(암세포 환경)에서 보다 흡광의 세기가 더 커 pH 변화에 따른 흡광도 변화를 통해 암세포와 정상세포 환경을 구분할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 나노입자의 제조 방법은 도 1을 참고하여 구체적으로 설명한다.
- [0036] 우선, 나노입자의 셸을 형성하는 생체친화적인 양친매성 블록 공중합체는 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 화학적 결합을 통해 제조될 수 있다.
- [0037] 상기 친수성 고분자는 폴리알킬렌글리콜, 폴리에틸렌옥사이드, 폴리옥사졸린, 폴리(N-비닐피롤리돈), 폴리비닐알콜, 폴리히드록시에틸메타크릴레이트, 텍스트란, 폴리세린, 폴리트레오닌, 폴리티로신, 폴리 리신, 폴리아르기닌, 폴리히스티딘, 폴리아스파르트산 또는 폴리글루탐산 등을 단독 또는 2종 이상 사용할 수 있다. 바람직하게는, 분자량이 1000 내지 5000인 폴리알킬렌글리콜 또는 이의 유도체 등을 사용할 수 있다. 보다 바람직하게는, 분자량이 1000 내지 5000인 메톡시 아미노 폴리에틸렌글리콜을 사용할 수 있다.
- [0038] 상기 친수성 고분자는 폴리 아미노산과의 결합을 위해 공지의 기술을 이용하여 적절히 변형될 수 있다. 일 구현예에 따르면, $m\text{PEG-OH} \rightarrow m\text{PEG-TsCl} \rightarrow m\text{PEG-N}_3 \rightarrow m\text{PEG-NH}_2$ 의 변형 과정을 거쳐 $m\text{PEG-NH}_2$ 의 형태로 사용할 수 있다.
- [0039] 상기 폴리 아미노산은 하기 화학식 1로 표시되는 호모 폴리 아미노산일 수 있다:
- [0040] [화학식 1]
- [0041] $(\text{poly-M})_n$
- [0042] 여기서,
- [0043] M은 루신, 이소루신, 발린, 페닐알라닌, 프롤린, 글리신 또는 메티오닌이고,
- [0044] n은 10 내지 100을 나타낸다.
- [0045] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 변형된 친수성 고분자와 소수성 폴리 페닐알라닌의 펩타이드 결합을 통해 양친매성 블록 공중합체(A)인 $m\text{PEG-b-poly phenylalanine}(m\text{PEG-b-pPhe})$ 을 합성할 수 있다.
- [0046] 다음으로, 본 발명의 나노입자는 셸 내부에 복수

상태가 된다.

- [0049] 상기의 자기조립체에 산화제를 부가하면, 피롤 단량체와 아닐린 단량체의 중합이 유도되어 폴리피롤층과 폴리아닐린층이 형성된다.
- [0050] 따라서, 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체는 셀을 형성하고, 상기 셀 내부에는 폴리아닐린층과 폴리피롤층이 순차적으로 형성되고, 폴리피롤층의 내부인 코어는 속이 빈 구조를 이루게 된다.
- [0051] 상기 피롤 단량체는 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체 1 중량부에 대하여 282 내지 330 중량부로 포함될 수 있다.
- [0052] 상기 아닐린 단량체는 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체 1 중량부에 대하여 282 내지 330 중량부로 포함될 수 있다.
- [0053] 상기 피롤 단량체 및 아닐린 단량체의 혼합 비율은 1 : 1 몰비율로 사용할 수 있다.
- [0054] 상기 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체의 자기조립체는 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체, 피롤 단량체 및 아닐린 단량체의 혼합물을 용매에 분산시켜 초음파를 가하거나, 유기용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 과량의 물로 유기용매를 추출 또는 증발시키거나, 유기용매에 분산 또는 용해시킨 뒤 과량의 물로 투석하는 등의 방법을 사용하여 제조할 수 있다.
- [0055] 상기 유기용매는 클로로포름, 헥산, 헵탄, 메틸렌클로라이드, 벤젠, 톨루엔, 테트라하이드로퓨란, 아세톤 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있으나, 이에 특별히 제한하는 것은 아니다.
- [0056] 상기 친수성 고분자와 폴리 아미노산의 공중합체의 자기조립체 내에 담지된 피롤 단량체 및 아닐린 단량체의 중합은 산화제의 도입을 통해 피롤 단량체와 아닐린 단량체의 산화-환원을 통해 유도될 수 있다.
- [0057] 상기 산화제로, 암모늄퍼설페이트(ammonium persulfate)와 같은 퍼설페이트, 하이드로과산화물과 철(2가) 이온 등을 사용할 수 있으나, 이에 특별히 제한하는 것은 아니다.
- [0058] 상기 과정을 거쳐 제조된 나노입자는 평균 입경 200 nm 이하일 수 있다. 바람직하게는 50 내지 200 nm일 수 있다.
- [0059] 본 발명의 나노입자는 코어에 형성된 전도성 고분자의 파장이 상이한 흡광물질을 추가로 포함할 수 있다. 상기 흡광물질은 코어에 담지되거나, 중간층 또는 셀에 물리화학적 봉입 또는 결합되어 있을 수 있다.
- [0060] 상기 흡광물질은 가시광선 영역 또는 근적외선의 흡광을 발광하는 흡광제일 수 있고, 일 예로써, 플루오레신(fluorescein), 보디피(BODIPY), 테트라메틸로르다민(Trtramethylrhodamine), 알렉사(Alexa), 시아닌(Cyanine), 알로피코시아닌(allopicocyanine) 또는 기타의 흡광을 발생시키는 흡광물질이 사용될 수 있다. 또한, 양자 수득량(quantum yield)이 높은 흡광물질을 사용할 수 있다. 또한, 친수성 또는 소수성 염료일 수 있다.
- [0061] 또한, 본 발명의 나노입자는 질환 치료를 위한 약제학적 활성성분을 더 포함할 수 있다. 상기 약제학적 활성성분은 코어에 담지되거나, 중간층 또는 셀에 물리화학적 봉입 또는 결합되어 있을 수 있다.
- [0062] 상기 약제학적 활성성분은 특별히 제한하지는 않으나, 항암제, 항생제, 호르몬, 호르몬길항제, 인터루킨, 인터페론, 성장 인자, 종양 괴사 인자, 엔도톡신, 림포독시, 유로키나제, 스트렙토키나제, 조직 플라스미노겐 활성화제, 프로테아제 저해제, 알킬포스포콜린, 방사선 동위원소로 표지된 성분, 심혈관계 약물, 위장관계 약물, 또는 신경계 약물 등을 단독 또는 2종 이상 사용할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 나노입자는 생체환경, 즉, pH 등에 민감하게 감응하므로 이러한 생체환경 인자의

이온 교환 수지, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질(예, 사람 혈청 알부민), 완충 물질(예, 각종 인산염, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분적인 글리세라이드 혼합물), 물, 염 또는 전해질(예, 프로타민 설페이트, 인산수소이온아트륨, 인산수소삼칼륨, 염화나트륨 및 아연 염), 교질성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로즈계 기질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로즈, 폴리아릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌 글리콜 또는 양모지 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0068] 또한, 본 발명의 조영제 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 유화제, 현탁제, 또는 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0069] 한 양태로서, 본 발명에 따른 조영제 조성물은 비경구 투여를 위한 수용성 용액으로 제조할 수 있으며, 바람직하게는 한스 용액(Hank's solution), 링거 용액(Ringer's solution) 또는 물리적으로 완충된 염수와 같은 완충 용액을 사용할 수 있다. 수용성 주입(injection) 현탁액은 소듐 카르복시메틸셀룰로즈, 솔비톨 또는 텍스트란과 같이 현탁액의 점도를 증가시킬 수 있는 기질을 첨가할 수 있다.

[0070] 본 발명의 조영제 조성물의 다른 바람직한 양태는 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액의 멸균 주사용 제제의 형태일 수 있다. 이러한 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제(예를 들면 트윈 80) 및 현탁화제를 사용하여 본 분야에 공지된 기술에 따라 제형화할 수 있다.

[0071] 또한, 상기 멸균 주사용 제제는 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사 용액 또는 현탁액(예를 들면 1,3-부탄디올 중의 용액)일 수 있다. 사용될 수 있는 비휘발 및 용매로는 만니톨, 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 비휘발성 오일이 통상적으로 용매 또는 현탁화 매질로서 사용된다. 이러한 목적을 위해 합성 모노 또는 디글리세라이드를 포함하여 자극성이 적은 비휘발성 오일은 그 어느 것도 사용할 수 있다.

[0072] 본 발명의 조영제 조성물은 진단 대상에서 분리한 조직 또는 세포에 투여하여 나노입자가 발산하는 신호를 감지하여 영상을 획득하는데 이용될 수 있다.

[0073] 상기 나노입자에 의해 발산되는 신호를 감지하기 위해서는 자기공명영상장치(MRI)와 광학 이미징의 이용이 바람직하다.

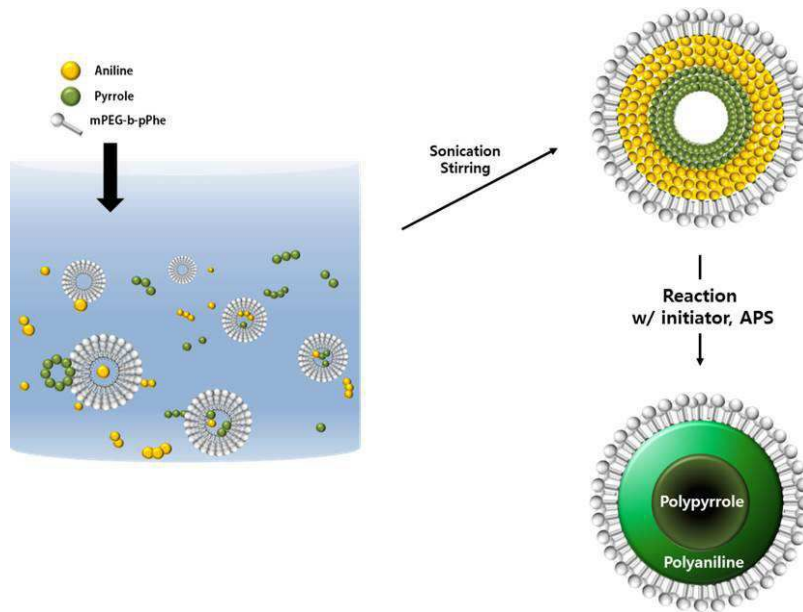
[0074] 자기공명영상장치는 강력한 자기장 속에 생체를 넣고 특정 주파수의 전파를 조사하여 생체조직에 있는 수소 등의 원자핵에 에너지를 흡수시켜 에너지가 높은 상태로 만든 후, 상기 전파를 중단하여 상기 수소 등의 원자핵 에너지가 방출되게 하고 이 에너지를 신호로 변환하여 컴퓨터로 처리하여 영상화한 장치이다. 자기 또는 전파는 골에 방해받지 않기 때문에 단단한 골 주위 또는 뇌나 골수의 종양에 대하여 종단, 횡단, 임의의 각도

- [0085] 상기에서 제조된 양친매성 블록 공중합체와 동 물비의 피롤 단량체 및 아닐린 단량체를 혼합하고 교반하여 피롤 단량체 및 아닐린 단량체를 담지한 상기 공중합체의 자기조립체를 제조하였다. 여기에 산화제로 암모늄 퍼셀페이트를 부가하면, 피롤 단량체와 아닐린 단량체의 중합이 유도되어 폴리피롤층 및 폴리아닐린층을 함유하는 나노입자가 제조되었다.
- [0086] ($^1\text{H-NMR}$)
- [0087] 실시예 1에서 제조된 고분자의 $^1\text{H-NMR}$ 은 CDCl_3 를 사용하여 측정하였다.
- [0088] (FT-IR)
- [0089] 실시예 1에서 제조된 고분자의 적외선 분광(FT-IR) 스펙트럼은 PerkinElmer 社의 적외선 분광기를 사용하여 측정하였다.
- [0090] 도 2는 실시예 1에서 제조된 나노입자의 $^1\text{H-NMR}$ 및 FT-IR 결과를 보여주는 것으로, $^1\text{H-NMR}$ 을 통하여 양친매성 블록 공중합체의 mPEG 분율을 확인하였다. 또한, FT-IR을 통하여 공중합체 내 메톡시 폴리 에틸렌 글라이콜과 페닐알라닌의 존재와 공중합을 확인하였다.
- [0092] <비교예 1> 폴리아닐린 나노입자 및 폴리피롤 나노입자의 제조
- [0093] 상기 실시예 1의 양친매성 블록 공중합체와 아닐린 단량체 또는 피롤 단량체를 각각 사용하여 전도성 고분자층이 단일층으로 형성되는 폴리아닐린 나노입자 또는 폴리피롤 나노입자를 제조하는 점을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법을 사용하였다.
- [0094] 도 3은 실시예 1에서 제조된 나노입자(PASome), 폴리아닐린 나노입자(Pani) 및 폴리피롤 나노입자(Ppy)의 TEM 및 SEM 사진도로, PASome(a, d) 및 Ppy(b, e) 100 - 200 nm 직경의 구형이고, Pani(c, f)는 1 μm 의 직경과 얇은 두께를 갖는 원통형이다. PASome은 Ppy와 비교하여 날개로 떨어져 물에 대한 분산도가 좋다.
- [0096] <실시예 2> 세포독성 실험
- [0097] 상기 실시예 1에서 제조된 나노입자의 세포독성을 실험하였다. 포함되는 약제학적 활성성분으로 독소루비신(doxorubicin)을 사용하였다.
- [0098] 상기 나노입자를 유기 용매에 용해시킨 상기 독소루비신과 혼합하고 초음파를 가한 뒤 과량의 물로 투석하여 나노입자에 담지되지 않은 독소루비신을 제거하였다.
- [0099] 실험에 사용된 세포는 개의 신장 상피세포인 MDCK(Madin-Darby Canine Kidney Epithelial) 세포를 사용하였다.
- [0100] 상기에서 제조된 독소루비신을 담지한 나노입자의 세포독성을 MTT assay를 사용하여 측정하였다.
- [0101] 도 4는 독소루비신의 농도에 따른 흡광도 ($\lambda=480\text{ nm}$)를, 도 5는 나노입자/독소루비신의 농도에 따른 세포생존율을 나타낸 것으로,
- [0102] 도 5에 나타난 바와 같이, 약제학적 활성성분만으로 치료할 때보다 상기 나노입자에 포함하여 함께 치료할 때 더 치료효과가 높은 것을 확인할 수 있었다.
- [0104] <실시예 3> 나노입자의 pH 에 따른 흡광 소거 변화 실험
- [0105] 상기 실시예 1에서 제조된 폴리아닐린 나노입자의 pH 에 따른 흡광도 변화를 실험하여 생체환경 감응형 나노입자로서의 특성을 확인하였다. 상기 생체환경으로 pH를 특정하고, 암세포 환경을 위한 pH5.4와 정상세포 환경을 위한 pH7.8을 특정하였다.
- [0106] 상기 실시예 1에서 제조된 폴리아닐린 나노입자를 용해시킨 유기용매를 혼합하고 24 시간 이상 세게 흔든 뒤 과량의 물로 투석하거나, 원심분리하였다.
- [0107] 상기 폴리아닐린 나노입자의 pH 에 따른 흡광도 변화는 UV-vis spectroscopy를 사용하여 측정하였다.
- [0108] 도 6은 pH 별 나노입자의 파장에 따른 UV 흡광도를 나타낸 것으로, pH 7.8 에서 흡광의 세기가 pH 5.4에서 흡광의 세기

보이며, 이를 통해 암세포 진단이 가능한 것으로 사료된다.

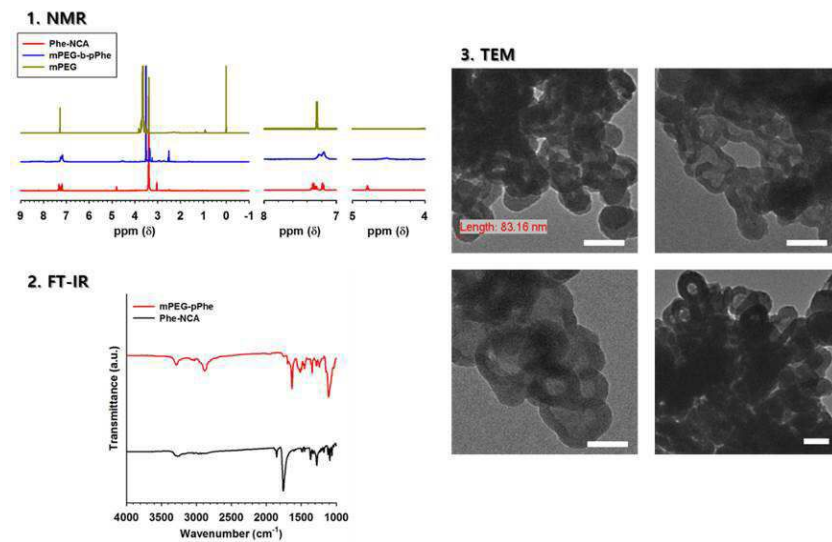
도면

도면1

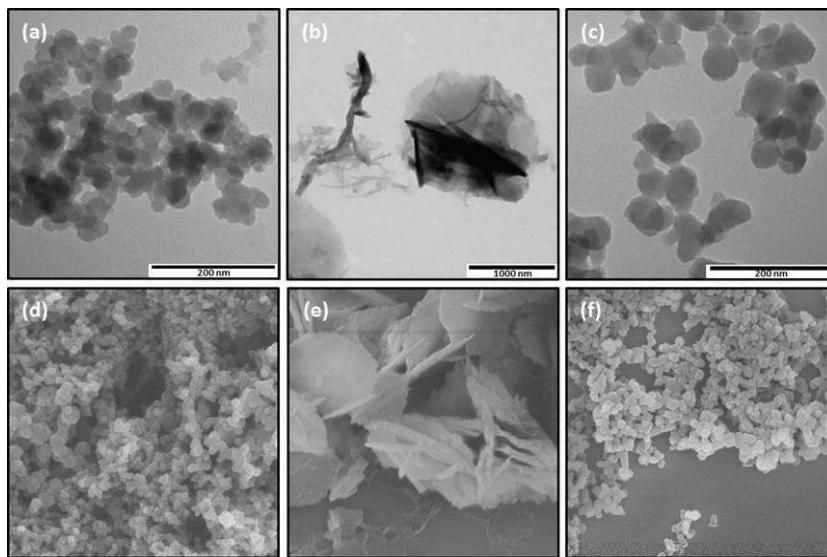


도면2

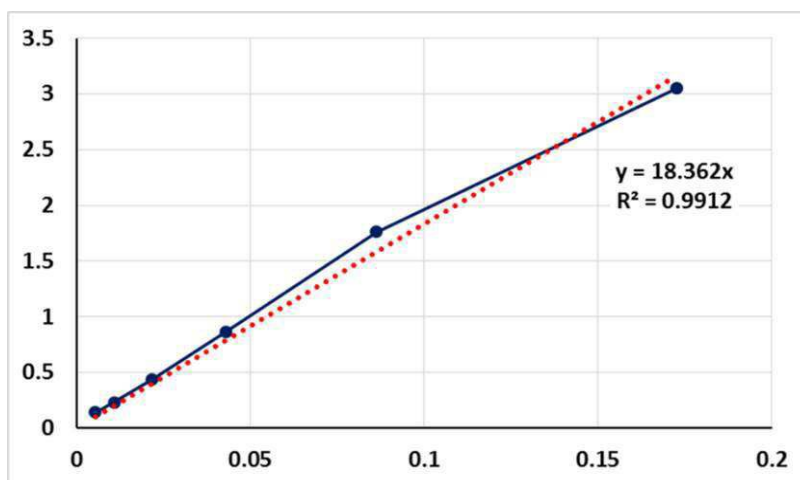
<PyrroleSome>



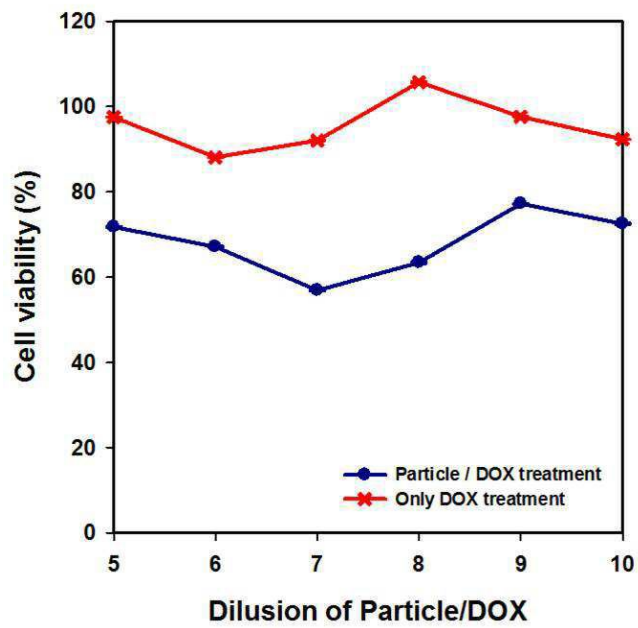
도면3



도면4



도면5



도면6

