



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0015267
(43) 공개일자 2015년02월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08J 3/12 (2006.01) B82B 3/00 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01) B82Y 40/00 (2011.01)
(21) 출원번호 10-2013-0091117
(22) 출원일자 2013년07월31일
심사청구일자 2013년07월31일

(71) 출원인
한국과학기술원
대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)
(72) 발명자
이해신
대전 유성구 대학로 291, (구성동, 한국과학기술원)
유인성
대전 유성구 어은로 57, 119동 106호 (어은동, 한빛아파트)
전혜진
대전 동구 태전로174번안길 10, (삼성동)
(74) 대리인
이원희

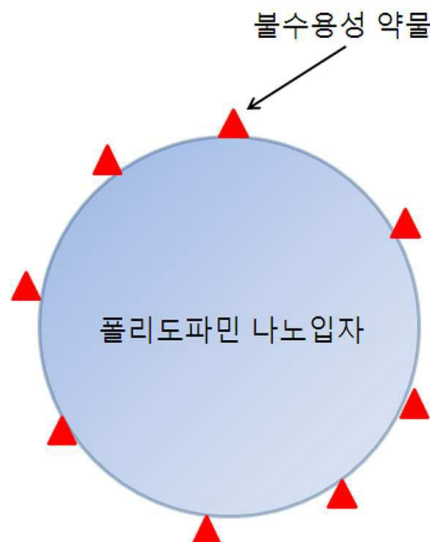
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 폴리도파민계 나노입자, 불수용성 약물이 표면에 코팅된 폴리도파민계 나노입자 및 이들의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 폴리도파민계 나노입자, 불수용성 약물이 표면에 코팅된 폴리도파민계 나노입자 이들의 제조방법에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 폴리도파민계 나노입자는 원-포트(One-pot) 공정으로 제조될 수 있으며, 상기 폴리도파민계 나노입자의 제조과정 중, 폴리도파민계 입자가 형성되는 단계에서 불수용성 약물을 투입하면, 불수용성 약물이 바인딩 되어있는 나노입자로 쉽게 형성되므로, 약물의 용출이 아닌 폴리도파민계 입자 표면에 약물이 바인딩되어 있는 새로운 형태의 약물의 접착 효과를 갖는다.

대표도 - 도1



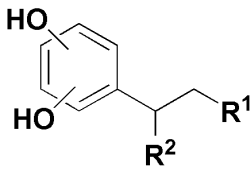
특허청구의 범위

청구항 1


하기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체를 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계(단계 1); 및

상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계(단계 2);를 포함하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법;

[화학식 1]



(상기 화학식 1에 있어서,

R^1 은 $-NH_2$, $-SH$, $-CN$, $-CHO$, $-N_3$ 및  로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나이고,

R^2 는 $-H$, $-OH$ 또는 $-COOH$ 이다).

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 단계 1의 유기용매는 C_{1-4} 알코올인 것을 특징으로 하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 단계 1에서 도파민계 단량체의 농도가 1 내지 1000 mM이 되도록 유기용매에 용해시키는 것을 특징으로 하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 단계 1의 염기는 피페리딘, 메틸아민, 다이메틸아민, 에틸아민 및 트리에틸아민 및 피페리딘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 단계 1의 염기는 도파민계 단량체에 대하여 0.1 내지 10 몰비로 사용하는 것을 특징으로 하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

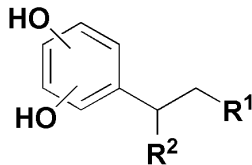
상기 단계 2에서 반응용액에 물을 첨가하는 부피비는 반응용액:물=1:2-20인 것을 특징으로 하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법.

청구항 7


하기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체 및 불수용성 약물을 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계(단계 1); 및

상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계(단계 2);를 포함하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법:

[화학식 1]



(상기 화학식 1에 있어서,

R^1 은 $-NH_2$, $-SH$, $-CN$, $-CHO$, $-N_3$ 및  로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나이고,
 R^2 는 $-H$, $-OH$ 또는 $-COOH$ 이다).

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 불수용성 약물은 파클리탁셀(paclitaxel), 탁소티어(taxotere), 아드리아마이신(adriamycin), 테니포사이드(teniposide), 에토포사이드(etoposide), 다우노마이신(daunomycin), 메토티렉세이트(methotrexate), 미토마이신 C(mitomycin C), 카르무스틴(carmustine), 부설판(busulfan), 닥티노마이신(dactinomycin), 로무스틴(lomustine), 메게스트롤 아세테이트(megestrol acetate), 멜파란(melphalan), 마이토잔트론(mitoxantrone), 인도메타신(indomethacin), 에토도락(etodolac), 이부프로펜(ibuprofen), 캄포테신(camptothecin), 토포테칸(topotecan), 아스피린(aspirin), 이부프로펜(ibuprofen), 피록시캄(piroxicam), 시메티딘(cimetidine), 에스트로젠(estrogen), 프레드니솔론(prednisolone), 코티손(cortisone), 하이드로코티손(hydrocortisone), 디플로라손(diflorasone), 페네스테린(phenesterine), 다우노루비신(daunorubicin), 미토탄(mitotane), 비사딘(visadine), 할로니트로소레아류(halonitrosoureas), 엔트로사이클린류(anthrocyclines), 엘립티신(ellipticine), 디아제팜(diazepam), 오메프라졸(omeprazole), 메톡시플루오란(methoxyfluorane), 이소플루오란(isofluorane), 엔플루오란(enflurane), 할로탄(halothane), 벤조카인(benzocaine), 단트롤린(dantrolene), 바르비투레이트(barbiturates), 사이클로스포린 A(cyclosporin A), 아자티오프린(azathioprine), 암포테리신 B(amphotericin B), 나이스타틴(nystatin), 이트라코나졸(itraconazole), 비페닐 디메틸 디카복실레이트(biphenyl dimethyl dicarboxylate(DDB)), 이데베논(idebenone), 피포스판(piposulfan), 다나졸(danazole) 및 헤모글로빈(hemoglobin)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 도파민계 단량체 및 불수용성 약물의 혼합 중량비는 도파민계 단량체:불수용성 약물 = 1-100 : 1인 것을 특징으로 하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 단계 1의 유기용매는 C₁₋₄ 알코올인 것을 특징으로 하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법.

청구항 11

제7항에 있어서,

상기 단계 1에서 도파민계 단량체의 농도가 1 내지 1000 mM이 되도록 유기용매에 용해시키는 것을 특징으로 하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법.

청구항 12

제7항에 있어서,

상기 단계 1의 염기는 피페리딘, 메틸아민, 다이메틸아민, 에틸아민 및 트리에틸아민으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법.

청구항 13

제7항에 있어서,

상기 단계 1의 염기는 도파민계 단량체에 대하여 0.1 내지 10 몰비로 사용하는 것을 특징으로 하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법.

청구항 14

제7항에 있어서,

상기 단계 2에서 반응용액에 물을 첨가하는 부피비는 반응용액:물=1:2-20인 것을 특징으로 하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법.

청구항 15

제7항의 제조방법으로 제조되는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 폴리도파민계 나노입자, 불수용성 약물이 표면에 코팅된 폴리도파민계 나노입자 및 이들의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 불수용성 약물은 화합물의 구조상 소수성 부위를 포함하고 있어 물에 잘 녹지 않는 약물을 의미하며, 소수성으로 인해 친수성인 물로 이루어져 있는 생체 내에서 전달되기 어려워 그 실용성이 제한되는 경우가 많다. 예를 들어, 신약으로 개발되는 약물 중 약 41% 이상이 불수용성으로 인하여 증도에 포기되고 있으며, 미국 약전(US Pharmacopeia)에 등재된 약물의 약 1/3이상이 불수용성 약물로 분류되고 있다. 이러한 불수용성 약물을 사용하기 위해서는 불수용성을 해결하기 위한 추가적인 물질이 첨가되어야 하나, 추가되는 물질의 독성으로 인하여 사용이 제한되는 사례가 다수 보고되고 있다. 예컨대, 일반적으로 불수용성 물질을 수용화하기 위해서는 유화제를 이용한 유화, 리포솜을 이용한 포집 등이 널리 이용되고 있는데, 인체에서 유래되지 않은 이물질의 혼입과 물리적 불안정성 등으로 인해 사용이 제한되고 있는 실정이다.

[0003] 최근 수년에 걸쳐 생체의 생물학적 환경과 접촉하도록 고안된 의학적 및 약제학적 분야에서 신규한 재료의 적용에 대한 관심이 증가하고 있다. 이들 재료 중에서 중합체, 주로 합성중합체가 지금까지로서는 환자의 건강 보호에 상당한 이점을 제공하는 것으로 밝혀진 가장 광범위한 종류이다.

[0004] 의학적 분야에 있어서 중합체의 용도는 임플란트 또는 인공 기관, 인공 혈관, 안내 렌즈, 인공 관절, 인공 보철, 봉합 재료, 체외 요법재 등과 같은 지지 재료 또는 혈액 관류, 혈액 산소 공급기, 카테터(catheter), 혈액 튜빙(tubing), 창상 및 화상 커버링 재료, 부목, 콘택트 렌즈 등에 사용되는 것과 같은 기타 지지 재료로서 사용된다.

[0005] 약제학적 분야에 있어서, 중합체는 나노 입자 전달 시스템 및 방출 조절 전달 시스템의 개발에 사용되어, 목적하는 위치에 약물 전달을 표적화하는 연구가 이루어져 왔다. 또한, 중합체는 경피 약물 전달 패치(patch), 미소구, 효소 및 세포 고정 등과 같은 응용 생물학적 요법 등에도 사용하는 것으로 밝혀졌다.

[0006] 이러한 용도 중에서 불수용성 약물을 효과적으로 전달하기 위해서, 중합체를 사용하는 나노 입자형 약물 전달 시스템에 대한 연구가 활기차게 이루어지고 있다. 친수성 표면을 지닌 나노미터 크기의 약물 담체, 특히, 불수용성 약물 또는 화합물을 함입시키는 성능을 지니는 불수용성 재료로 이루어진 치밀하게 패키징된 코어와 친수성 재료로 제조된 외부 셸로 이루어진 중합체성 마이셀(micell)의 2개의 구형 공동 중심 영역을 포함하는 구조 안에 약물을 로딩하는 방법, 에멀전(emuulsion) 상태의 약물을 친수성 고분자로 코팅하여 나노캡슐로 제조하는 방법 등이 있다.

[0007] 그러나, 이러한 시스템은 복잡한 많은 단계를 요구하는 방법들로서, 많은 단계를 거치면서 불수용성 약물의 흡수율이 줄어들고, 높은 제조비용을 유발시킨다. 또한, 세망내피계(reticulo-endothelial systems; RES)에 의한 인식 및 이해를 헛되게 하는 것으로 밝혀졌으며, 장기간 동안 혈액 내에서 순환될 수 있는 문제점이 발생한다.

[0008] 족사는 홍합의 발에서 분비되는 섬유 다발로 구성되고, 홍합은 이 족사를 통해 접착체를 분비하고, 이 접착체가 고체 표면에 딱딱한 돌덩어리같은 플라크를 형성해 물 속에서 젖어 있는 표면에도 달라붙는다. 이같은 홍합 접착 단백질의 접착력은 인공 접착제 이상이고, 특히 물 속에서도 접착력이 그대로 유지된다는 것이 강점이다. 이러한 홍합의 족사는 다이하이드록신 페닐엘라닌(DOPA)이 접착 역할을 한다는 것을 밝혀내었고, DOPA는 '타이로신'이라는 아미노산이 변형된 물질이다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 불수용성 약물을 효과적으로 전달하기 위한 중합체를 사용하는 나노 입자형 약물 전달 시스템에 대해 연구하던 중, 홍합으로부터 유래되는 천연 중합체인 폴리도파민계 단량체를 나노입자로 간단히 제조하는 방법을 알아내고, 이를 응용하여 폴리도파민계 단량체와 불수용성 약물을 원포트(One-pot) 공정으로 제조하여 새로운 형태의 약물 접촉 효과를 갖는 불수용성 약물이 표면에 바인딩된 폴리도파민계 나노입자가 제조

되는 것을 알아내고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

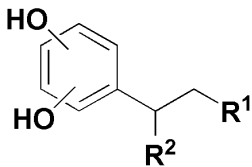
해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 목적은 폴리도파민계 나노입자의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적은 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조방법으로 제조되는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 제공하는 것이다.


과제의 해결 수단

- [0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- [0014] 하기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체를 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계(단계 1); 및
- [0015] 상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계(단계 2);를 포함하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법;

[화학식 1]



- [0017]
- [0018] 상기 화학식 1에 있어서,

[0019] R¹은 -NH₂, -SH, -CN, -CHO, -N₃ 및  로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나이고,

[0020] R²는 -H, -OH 또는 -COOH 이다.

- [0021] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체 및 불수용성 약물을 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계(단계 1); 및
- [0022] 상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계(단계 2);를 포함하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법을 제공한다.
- [0023] 나아가, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조되는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 제공한다.

발명의 효과

[0024]

본 발명에 따른 폴리도파민계 나노입자의 제조방법은 유기용매에서 폴리도파민 입자를 형성시킨 후, 물로 희석하는 간단한 원포트(One-pot) 공정으로 나노입자 크기의 폴리도파민 입자를 제조할 수 있고, 상기 제조방법에서 폴리도파민 입자를 형성하는 과정 중에 불수용성 약물을 함께 첨가하면 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 간단히 제조할 수 있는 효과가 있으며, 본 발명에 따라 제조된 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자는 나노입자의 표면에 불수용성 약물이 노출되도록 바인딩되어, 대상에게 투여시 체내에서 약물이 접촉되는 것으로 약리효과를 나타낼 수 있는 새로운 형태의 약물전달시스템으로 유용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0025]

도 1은 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자의 모식도이다.

도 2는 상기 실시예 1의 단계 1에서 제조한 폴리도파민 입자 및 염기로 피페리딘을 사용하지 않고 제조한 대조군에 대한 UV-Vis 그래프이다.

도 3은 실시예 1의 단계 1을 수행한 후의 용액(a), 실시예 1의 단계 2에서 물을 첨가한 후의 용액(b), 상기 용액(b)에서 에탄올을 증류시킨 후의 용액(c), 및 상기 용액(c)를 투석으로 분리정제 후의 용액(d) 각각에서 폴리도파민 입자 크기 및 전하를 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 실시예 2-7에서 제조한 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자에 바인딩된 파클리탁셀의 농도를 역상-HPLC로 측정된 그래프이다.

도 5는 도 4의 그래프에서 파클리탁셀 피크의 면적을 표준 곡선으로 나타낸 그래프이다.

도 6은 실시예 1에 의해 제조된 폴리도파민 나노입자를 투과 전자 현미경(Transmission Electron Microscope: TEM)으로 촬영한 이미지이다.

도 7은 실시예 2에 의해 제조된 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope: TEM)으로 촬영한 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026]

이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.

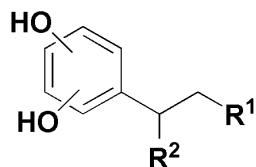
[0027]

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체를 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계(단계 1); 및

[0028]

상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계(단계 2);를 포함하는 폴리도파민계 나노입자의 제조방법을 제공한다.

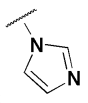
화학식 1



[0029]

상기 화학식 1에 있어서,

[0030]

R¹은 -NH₂, -SH, -CN, -CHO, -N₃ 및  로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나이고,

[0031]

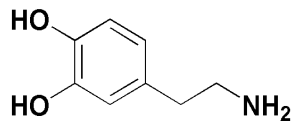
[0032] R²는 -H, -OH 또는 -COOH 이다.

[0033] 이하, 본 발명에 따른 폴리도파민계 나노입자의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0034] 본 발명에 따른 폴리도파민계 나노입자의 제조방법에 있어서, 단계 1은 상기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체를 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계이다.

[0035] 여기서, 상기 도파민계 단량체는 수산화기 및 상기 R¹으로 표시되는 치환기를 포함하는 이관능성 화합물 매개체로서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물이 바람직하고, 하기 화학식 2로 표시되는 화합물이 더욱 바람직하나, 이에 제한하지 않는다.

화학식 2



[0036]

[0037] 상기 단계 1에 있어서, 유기용매는 도파민계 단량체를 용해시키는 역할을 한다. 또한, 상기 유기용매는 도파민계 단량체를 용해시킬 수 있는 용매라면 제한 없이 선택하여 사용할 수 있으나, 바람직하게는 C₁₋₄ 알코올을 사용할 수 있고, 더욱 바람직하게는 에탄올을 사용할 수 있다.

[0038] 또한, 상기 단계 1의 용매는 상기 도파민계 단량체의 농도가 1 내지 1000 mM이 되도록 사용하는 것이 바람직하다. 상기 용매를 도파민계 단량체의 농도가 1 mM 미만인 되도록 사용할 경우에는 도파민계 단량체의 산화중합반응의 반응 속도가 느려지는 문제가 발생하고, 상기 용매를 도파민계 단량체의 농도가 1000 mM 초과가 되도록 사용할 경우에는 도파민계 단량체가 용매에 잘 분산되지 않아 뭉쳐있거나 포개져 산화중합반응이 잘 일어나지 않게 되는 문제가 발생한다.

[0039] 상기 단계 1에 있어서, 염기는 도파민계 단량체의 산화중합반응이 용이하게 일어나게 하기 위한 개시제의 역할을 하고, 피페리딘, 메틸아민, 다이메틸아민, 에틸아민, 트리에틸아민 등을 사용하는 것이 바람직하고, 피페리딘을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[0040] 또한, 상기 염기는 도파민계 단량체에 대하여 0.1 내지 10 몰비로 사용하는 것이 바람직하고, 2 내지 4 몰비로 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 상기 염기를 도파민계 단량체에 대하여 0.1 몰비 미만으로 사용할 경우에는 도파민계 단량체의 산화중합반응이 잘 일어나지 않는 문제가 발생하고, 10 몰비를 초과하여 사용할 경우에는 강한 염기조건이므로 형성된 폴리도파민계입자가 불안정한 문제가 발생한다.

[0041] 본 발명에 따른 폴리도파민계 나노입자의 제조방법에 있어서, 단계 2는 상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계이다.

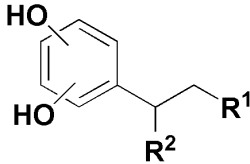
[0042] 여기서, 상기 물은 상기 단계 1에서 형성된 특별한 방향성이 없고, 단순히 폴리머화되어 존재하는 폴리도파민계 입자를 분자 배열을 바꾸어 나노입자로 형성시키는 역할을 한다.

[0043] 이때, 물은 상기 단계 1의 반응용액에 대하여 2 내지 20 부피비로 사용하는 것이 바람직하며, 5 내지 10 부피비로 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 만약, 상기 물을 상기 단계 1의 반응용액에 대하여 2 내지 20 부피비를 벗어나는 범위로 사용할 경우에는 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 균일한 크기를 갖는 나노입자로 형성시키기 어려운 문제가 발생한다.

[0044] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체 및 불수용성 약물을 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계(단계 1); 및


[0045] 상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계(단계 2);를 포함하는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법을 제공한다.

[0046] [화학식 1]



[0047]

[0048] 상기 화학식 1에 있어서,

[0049] R¹은 -NH₂, -SH, -CN, -CHO, -N₃ 및  로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나이고,

[0050] R²는 -H, -OH 또는 -COOH 이다.

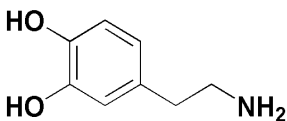
[0051] 이하, 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법을 단계별로 상세히 설명한다.

[0052] 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 제조하는 방법에 있어서, 단계 1은 상기 화학식 1로 표시되는 도파민계 단량체 및 불수용성 약물을 유기용매에 용해시키고 염기를 첨가하여 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 입자가 형성된 반응용액을 준비하는 단계이다.

[0053] 여기서, 상기 도파민계 단량체는 수산화기 및 상기 R¹으로 표시되는 치환기를 포함하는 이관능성 화합물 매개체로서, 수산화기는 친수성 용매 및 물에 관여하고, R¹으로 표시되는 치환기는 불수용성 약물과 분자 간의 상호 작용(intermolecular interaction)인 pi-pi결합, 수소 결합 등의 물리적인 결합 반응에 관여하여, 불수용성 약물을 효과적으로 바인딩시킬 수 있다.

[0054] 또한, 상기 도파민계 단량체는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물이 바람직하고, 하기 화학식 2로 표시되는 화합물이 더욱 바람직하다.

[0055] [화학식 2]



[0056]

[0057] 상기 단계 1에 있어서, 유기용매는 도파민계 단량체 및 불수용성 약물을 용해시키는 역할을 한다. 또한, 상기 유기용매는 도파민계 단량체 및 불수용성 약물을 용해시킬 수 있는 유기용매라면 제한 없이 선택하여 사용할 수 있으나, C₁₋₄ 알코올을 사용하는 것이 바람직하고, 에탄올을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[0058] 또한, 상기 단계 1의 용매는 상기 도파민계 단량체의 농도가 1 내지 1000 mM이 되도록 사용하는 것이 바람직하다. 상기 용매를 도파민계 단량체의 농도가 1 mM 미만인 되도록 사용할 경우에는 도파민계 단량체의 산화중합반응의 반응 속도가 느려지는 문제가 발생하고, 상기 용매를 도파민계 단량체의 농도가 1000 mM 초과가 되도록 사용할 경우에는 도파민계 단량체가 용매에 잘 분산되지 않아 뭉쳐있거나 포개져 산화중합반응이 잘 일어나지 않

게 되는 문제가 발생한다.

- [0059] 상기 단계 1에 있어서, 염기는 도파민계 단량체의 산화중합반응이 용이하게 일어나게 하기 위한 개시제의 역할을 하고, 피페리딘, 메틸아민, 다이메틸아민, 에틸아민, 트리에틸아민 등을 사용하는 것이 바람직하고, 피페리딘을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.
- [0060] 또한, 상기 염기는 도파민계 단량체에 대하여 0.1 내지 10 몰비로 사용하는 것이 바람직하고, 2 내지 4 몰비로 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 상기 염기를 도파민계 단량체에 대하여 0.1 몰비 미만으로 사용할 경우에는 도파민계 단량체의 산화중합반응이 잘 일어나지 않는 문제가 있고, 10 몰비를 초과하여 사용할 경우에는 강한 염기조건이므로 형성된 폴리도파민계입자가 불안정한 문제가 발생한다.
- [0061] 상기 단계 1에 있어서, 불수용성 약물은 물에 대한 용해도가 낮은 약물로서, 파클리탁셀(paclitaxel), 탁소티어(taxotere), 아드리아마이신(adriamycin), 테니포사이드(teniposide), 에토포사이드(etoposide), 다우노마이신(daunomycin), 메토티렉세이트(methotrexate), 미토마이신 C(mitomycin C), 카르무스틴(carmustine), 부설판(busulfan), 닥티노마이신(dactinomycin), 로무스틴(lomustine), 메게스트롤 아세테이트(megestrol acetate), 멜파란(melphalan), 마이토잔트론(mitoxantrone), 인도메타신(indomethacin), 에토도락(etodolac), 이부프로펜(ibuprofen), 캄포데신(camptothecin), 토포테칸(topotecan), 아스피린(aspirin), 이부프로펜(ibuprofen), 피록시캄(piroxicam), 시메티딘(cimetidine), 에스트로겐(estrogen), 프레드니솔론(prednisolone), 코티손(cortisone), 하이드로코티손(hydrocortisone), 디플로라손(diflorasone), 페네스테린(phenesterine), 다우노루비신(daunorubicin), 미토탄(mitotane), 비사딘(visadine), 할로니트로소레아류(halonitrosoureas), 엔트로사이클린류(anthrocyclines), 엘립티신(ellipticine), 디아제팜(diazepam), 오메프라졸(omeprazole), 메톡시플루오란(methoxyfluorane), 이소플루오란(isofluorane), 엔플루오란(enflurane), 할로탄(halothane), 벤조카인(benzocaine), 단트롤린(dantrolene), 바르비투레이트(barbiturates), 사이클로스포린 A(cyclosporin A), 아자티오프린(azathioprine), 암포테리신 B(amphotericin B), 나이스타틴(nystatin), 이트라코나졸(itraconazole), 비페닐 디메틸디카르복실레이트(biphenyl dimethyl dicarboxylate(DDB)), 이데베논(idebenone), 피포스판(piposulfan), 다나졸(danazole), 헤모글로빈(hemoglobin) 등을 사용할 수 있고, 파클리탁셀(paclitaxel)을 사용하는 것이 바람직하나, 이에 제한하지 않는다.
- [0062] 또한, 상기 도파민계 단량체 및 불수용성 약물의 혼합 비율은 도파민계 단량체:불수용성 약물 = 1-100:1 중량비인 것이 바람직하고, 1-50:1 중량비인 것이 더욱 바람직하며, 1 - 20 : 1 중량비인 것이 더욱 더 바람직하다. 상기 혼합 비율에서 도파민계 단량체가 1 중량비 미만인 경우에는 불수용성 약물의 양이 상대적으로 많아 수용성인 물 안에서 약물들이 서로 뭉칠 수 있는(aggregation) 문제가 있고, 100 중량비를 초과할 경우에는 폴리도파민계 나노입자에 코팅되는 불수용성 약물의 양이 상대적으로 적어지는 문제가 있다.
- [0063] 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 제조하는 방법에 있어서, 단계 2는 상기 단계 1의 반응용액에 물을 첨가하여 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시키는 단계이다.
- [0064] 여기서, 상기 물은 상기 단계 1에서 형성된 특별한 방향성이 없고, 단순히 폴리머화되어 존재하는 폴리도파민계 입자를 분자 배열을 바꾸어 나노입자로 형성시키는 역할을 한다.
- [0065] 또한, 상기 물은 상기 단계 1의 반응용액에 대하여 2 내지 20 부피비로 사용하는 것이 바람직하며, 5 내지 10 부피비로 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 또한, 상기 물을 상기 단계 1의 반응용액에 대하여 2 내지 20 부피비를 벗어나는 범위로 사용할 경우에는 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민계 입자를 균일한 크기를 갖는 나노입자로 형성시키기 어려운 문제가 발생한다.
- [0066] 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 제조하는 방법에 있어서, 상기 단계 2 이후에 나노입자를 분리정제하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 분리정제 과정을 통하여, 제조 과정에서 사용한 용매, 염기 등의 불순물로부터 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 분리정제할 수 있다.

[0067] 상기 분리정제의 방법은 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 분리정제할 수 있는 통상적인 방법을 사용할 수 있다.

[0068] 본 발명에서 원-포트(One-pot) 공정이란 도파민계 중합체를 제조한 다음, 이에 불수용성 약물을 코팅하는 방법이 아닌, 하나의 반응 시스템에서 1회의 공정으로 불수용성 약물이 도파민계 중합체에 코팅되는 공정을 의미한다.

[0069] 나아가, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조되는 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 제공한다.

[0070] 구체적으로, 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자는 도 1에 나타난 바와 같은 형태를 갖는다. 또한, 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자는 상술한 제조방법과 같이, 불수용성 약물이 폴리도파민계 입자가 형성되는 첫 단계부터 투입되고, 물이 첨가되어 폴리도파민이 분자의 배열이 바뀌면서 불수용성 약물이 바인딩된 나노입자로 쉽게 형성되므로, 종래의 마이셀(micell)에서 약물이 용출되는 시스템과는 달리 나노입자의 표면에 불수용성 약물이 노출되도록 바인딩되어, 대상에게 투여시 체내에서 약물이 접촉되는 것으로 약리효과를 나타낼 수 있는 새로운 형태의 약물전달시스템으로 사용할 수 있다.

[0071] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0072] 단 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0073] **<실시예 1> 폴리도파민 나노입자의 제조**

[0074] 단계 1: 반응용액의 준비

[0075] 도파민의 농도가 10 mM이 되도록 에탄올에 용해시키고 피페리딘(20 mM)을 첨가한 후 24 시간 동안 도파민을 폴리머화 반응시켜 폴리도파민 입자가 형성된 반응용액을 준비하였다.

[0076] 단계 2: 나노입자의 형성

[0077] 상기 단계 1에서 준비한 반응용액에 물을 첨가하여, 반응용액 농도가 1/5이 되도록 희석시키고, 에탄올을 증류시켜 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시켰다.

[0078] 단계 3: 분리정제

[0079] 상기 단계 2 이후에 반응하고 남은 도파민 및 피페리딘을 제거하기 위하여, 상기 용액을 투석튜브(MWCO:3500)에 넣어 투석(dialysis)으로 분리 및 정제하여 폴리도파민 나노입자를 제조하였다.

[0080] **<실시예 2> 파클리탁셀(0.2 M)이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 제조 1**

[0081] 단계 1: 반응용액의 준비

[0082] 도파민의 농도는 10 mM 및 파클리탁셀의 농도는 0.2 M이 되도록 에탄올에 용해시키고, 피페리딘(20 mM)을 첨가하여 24 시간 동안 도파민을 폴리머화 반응시켜 파클리탁셀 약물이 바인딩된 폴리도파민 입자가 형성된 반응용액을 준비하였다.

[0083] 단계 2: 나노입자의 형성

[0084] 상기 단계 1에서 준비한 반응용액에 물을 첨가하여, 반응용액 농도가 1/5이 되도록 희석시키고, 에탄올을 증류시켜 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시켰다.

[0085] 단계 3: 분리정제

[0086] 다음으로, 상기 반응용액에서 반응하고 남은 도파민 및 피페리딘을 제거하기 위하여, 상기 용액을 투석튜브(MWCO:3500)에 넣어 투석(dialysis)으로 분리 및 정제하여 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하였다.

[0087] **<실시예 3> 파클리탁셀(0.1 M)이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 제조 2**

[0088] 단계 1: 반응용액의 준비

[0089] 도파민의 농도는 10 mM 및 파클리탁셀의 농도는 0.1 M이 되도록 에탄올에 용해시키고, 피페리딘(20 mM)을 첨가하여 24 시간 동안 도파민을 폴리머화 반응시켜 파클리탁셀 약물이 바인딩된 폴리도파민 입자가 형성된 반응용액을 준비하였다.

[0090] 단계 2: 나노입자의 형성

[0091] 상기 단계 1에서 준비한 반응용액에 물을 첨가하여, 반응용액 농도가 1/5이 되도록 희석시키고, 에탄올을 증류시켜 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시켰다.

[0092] 단계 3: 분리정제

[0093] 다음으로, 상기 반응용액에서 반응하고 남은 도파민 및 피페리딘을 제거하기 위하여, 상기 용액을 투석튜브(MWCO:3500)에 넣어 투석(dialysis)으로 분리 및 정제하여 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하였다.

[0094] **<실시예 4> 파클리탁셀(0.05 M)이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 제조 3**

[0095] 단계 1: 반응용액의 준비

[0096] 도파민의 농도는 10 mM 및 파클리탁셀의 농도는 0.05 M이 되도록 에탄올에 용해시키고, 피페리딘(20 mM)을 첨가하여 24 시간 동안 도파민을 폴리머화 반응시켜 파클리탁셀 약물이 바인딩된 폴리도파민 입자가 형성된 반응용액을 준비하였다.

[0097] 단계 2: 나노입자의 형성

[0098] 상기 단계 1에서 준비한 반응용액에 물을 첨가하여, 반응용액 농도가 1/5이 되도록 희석시키고, 에탄올을 증류시켜 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시켰다.

[0099] 단계 3: 분리정제

[0100] 다음으로, 상기 반응용액에서 반응하고 남은 도파민 및 피페리딘을 제거하기 위하여, 상기 용액을 투석튜브(MWCO:3500)에 넣어 투석(dialysis)으로 분리 및 정제하여 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하였다.

[0101] **<실시예 5> 파클리탁셀(0.025 M)이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 제조 4**

- [0102] 단계 1: 반응용액의 준비
- [0103] 도파민의 농도는 10 mM 및 파클리탁셀의 농도는 0.025 M이 되도록 에탄올에 용해시키고, 피페리딘(20 mM)을 첨가하여 24 시간 동안 도파민을 폴리머화 반응시켜 파클리탁셀 약물이 바인딩된 폴리도파민 입자가 형성된 반응용액을 준비하였다.
- [0104] 단계 2: 나노입자의 형성
- [0105] 상기 단계 1에서 준비한 반응용액에 물을 첨가하여, 반응용액 농도가 1/5이 되도록 희석시키고, 에탄올을 증류시켜 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시켰다.
- [0106] 단계 3: 분리정제
- [0107] 다음으로, 상기 반응용액에서 반응하고 남은 도파민 및 피페리딘을 제거하기 위하여, 상기 용액을 투석튜브(MWCO:3500)에 넣어 투석(dialysis)으로 분리 및 정제하여 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하였다.
- [0108] **<실시예 6> 파클리탁셀(0.0125 M)이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 제조 5**
- [0109] 단계 1: 반응용액의 준비
- [0110] 도파민의 농도는 10 mM 및 파클리탁셀의 농도는 0.0125 M이 되도록 에탄올에 용해시키고, 피페리딘(20 mM)을 첨가하여 24 시간 동안 도파민을 폴리머화 반응시켜 파클리탁셀 약물이 바인딩된 폴리도파민 입자가 형성된 반응용액을 준비하였다.
- [0111] 단계 2: 나노입자의 형성
- [0112] 상기 단계 1에서 준비한 반응용액에 물을 첨가하여, 반응용액 농도가 1/5이 되도록 희석시키고, 에탄올을 증류시켜 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시켰다.
- [0113] 단계 3: 분리정제
- [0114] 다음으로, 상기 반응용액에서 반응하고 남은 도파민 및 피페리딘을 제거하기 위하여, 상기 용액을 투석튜브(MWCO:3500)에 넣어 투석(dialysis)으로 분리 및 정제하여 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하였다.
- [0115] **<실시예 7> 파클리탁셀(0.00625 M)이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 제조 6**
- [0116] 단계 1: 반응용액의 준비
- [0117] 도파민의 농도는 10 mM 및 파클리탁셀의 농도는 0.00625 M이 되도록 에탄올에 용해시키고, 피페리딘(20 mM)을 첨가하여 24 시간 동안 도파민을 폴리머화 반응시켜 파클리탁셀 약물이 바인딩된 폴리도파민 입자가 형성된 반응용액을 준비하였다.
- [0118] 단계 2: 나노입자의 형성
- [0119] 상기 단계 1에서 준비한 반응용액에 물을 첨가하여, 반응용액 농도가 1/5이 되도록 희석시키고, 에탄올을 증류시켜 상기 단계 1에서 형성된 폴리도파민 입자를 10-500 nm 크기를 갖는 나노입자로 형성시켰다.

- [0120] 단계 3: 분리정제
- [0121] 다음으로, 상기 반응용액에서 반응하고 남은 도파민 및 피페리딘을 제거하기 위하여, 상기 용액을 투석튜브(MWCO:3500)에 넣어 투석(dialysis)으로 분리 및 정제하여 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하였다.
- [0122] <실험예 1> 폴리도파민 입자의 생성여부 평가
- [0123] 상기 실시예 1의 단계 1에서 제조한 폴리도파민 입자의 생성 여부를 확인하기 위하여, 상기 실시예 1의 단계 1에서 제조한 폴리도파민 입자 및 실시예 1의 제조방법에서 피페리딘을 사용하지 않은 것을 제외하고는 동일하게 제조한 대조군에 대하여, UV-Vis 분광기(제조사:Analytical Technologies, 모델명:8453)로 각각 파장을 측정하였고, 그 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0124] 도 2는 상기 실시예 1의 단계 1에서 제조한 폴리도파민 입자 및 염기로 피페리딘을 사용하지 않고 제조한 대조군에 대한 UV-Vis 그래프이다.
- [0125] 도 2에 나타난 바와 같이, 대조군은 270 nm의 파장에서만 뚜렷한 흡수 피크를 나타내어 폴리도파민 입자로 중합이 잘 이루어지지 않은 반면에, 실시예 1의 단계 1에서 제조한 폴리도파민 입자는 300 nm 이상의 파장에서 넓은 흡수 피크를 나타내어 도파민이 산화 폴리머화 반응되어 폴리도파민 입자로 제조되었음을 알 수 있었다.
- [0126] 따라서, 본 발명에 따른 폴리도파민 나노입자의 제조방법은 폴리도파민 입자로 형성되기 위한 산화 폴리머화 반응이 잘 이루어지므로, 폴리도파민계 나노입자의 제조방법에 유용할 수 있다.
- [0127] <실험예 2> 폴리도파민 입자 크기 및 전하 측정
- [0128] 본 발명에 따른 폴리도파민 입자 크기 및 전하를 측정하기 위하여, 다음과 같이 실험하였다.
- [0129] 구체적으로, 동적광산란법(Dynamic Light Scattering, DLS)을 사용하는 입도분석기(제조사:Malvern, 모델명:Zetasizer nano zs)로 상기 실시예 1의 단계 1을 수행한 후의 용액(a), 상기 실시예 1의 단계 2에서 물을 첨가한 후의 용액(b), 상기 용액(b)에서 에탄올을 증류시킨 후의 용액(c), 및 상기 용액(c)를 투석으로 분리정제 후의 용액(d) 각각에서 폴리도파민 입자 크기 및 전하를 측정하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.
- [0130] 도 3은 실시예 1의 단계 1을 수행한 후의 용액(a), 실시예 1의 단계 2에서 물을 첨가한 후의 용액(b), 상기 용액(b)에서 에탄올을 증류시킨 후의 용액(c), 및 상기 용액(c)를 투석으로 분리정제 후의 용액(d) 각각에서 폴리도파민 입자 크기 및 전하를 측정하여 나타낸 그래프이다.
- [0131] 도 3에 나타난 바와 같이, 실시예 2의 단계 1을 수행한 후의 용액(a) 내 폴리도파민 입자는 약 500 nm-1200 nm의 크기로 분포하여 비교적 큰 입자 크기를 나타내었으며, 제타 포텐셜(Zeta potential) 값은 0에 가까운 1.9 mV로 전하를 거의 띠고 있지 않아 용매 내에서 분산이 잘 이루어지지 않은 것을 알 수 있었다.
- [0132] 또한, 실시예 1의 단계 2에서 물을 첨가한 후의 용액(b) 내 폴리도파민 입자는 약 35 nm-500 nm의 크기로 분포하고, 평균 141 nm의 크기로 상기 실시예 1의 단계 1을 수행한 후의 용액(a)의 입자보다는 작은 크기로 분포되어 있으며, 제타 포텐셜(Zeta potential) 값은 -39.5 mV로 음전하를 나타내고 있어 물에 잘 분산되어 있음을 알 수 있었다.
- [0133] 나아가, 실시예 1의 단계 2에서 에탄올을 증류시킨 후의 용액(c) 내 폴리도파민 입자는 약 10 nm-100 nm의 크기로 분포하고, 평균 약 41 nm의 크기를 나타내어 에탄올을 증류시키기 전보다 더 작아진 입자 크기를 형성하였으며, 제타 포텐셜(Zeta potential) 값은 -35.1 mV로 음전하를 여전히 유지하고 있어 물에 잘 분산되어 있음을 알

수 있었다.

- [0134] 또한, 실시예 1의 단계 3에서 분리정제 후 용액(d) 내 폴리도파민 입자는 10 nm-100 nm의 크기로 분포하고, 평균 약 37 nm의 크기를 나타내어 가장 작고 균일한 입자크기를 나타내었으며, 제타 포텐셜(Zeta potential) 값은 -37.47 mV로 음전하를 여전히 유지하고 있어 물에 잘 분산되어 있음을 알 수 있었다.
- [0135] 이러한 결과는, 실시예 1의 단계 1을 수행한 후의 용액(a) 내 폴리도파민 입자는 특별한 방향성을 갖지 않고, 단순히 폴리머화 반응되어 잘 분산되지 않은 상태로 존재하는 것을 의미하고, 실시예 1의 단계 2에서 물을 첨가한 후의 용액(b) 내 폴리도파민 입자는 물에 의해 입자의 크기가 작아지고 방향성을 갖게 되어, 재배열되고 컴팩트하게 뭉쳐져 잘 분산되어 있는 것을 의미한다.
- [0136] 따라서, 본 발명에 따른 폴리도파민계 나노입자의 제조방법은 물을 이용하여 회석하는 간단한 공정과, 유기용매를 증류시키고 분리정제하는 과정을 통해 나노입자의 크기를 더욱 작고 균일하게 제조할 수 있으므로, 폴리도파민계 나노입자의 제조에 유용할 수 있다.
- [0137] **<실험예 3> 폴리도파민에 바인딩된 파클리탁셀의 양 측정**
- [0138] 본 발명의 실시예 2-7에서 제조한 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 입자에서, 폴리도파민 나노입자에 바인딩된 파클리탁셀의 양을 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다.
- [0139] 구체적으로, 파클리탁셀 농도에 따라 제조한 상기 실시예 2-7의 폴리도파민 나노입자에서 바인딩된 파클리탁셀의 양을 역상-HPLC(reverse phase High Performance Liquid Chromatography)(제조사:Agilent Technologies, 모델명:1200 series)로 측정하였고, 그 결과를 도 4에 나타내었다. 여기서, 상기 역상-HPLC의 용매는 0.5 mL/min의 속도로 30분의 소요시간 중, 처음 3분간은 95%의 증류수 및 5%의 아세트나이트릴을 흘려주었고, 다음 25분까지는 10%의 증류수 및 90%의 아세트나이트릴을 흘려주었으며, 27분까지는 5%의 증류수 및 95%의 아세트나이트릴을 흘려주었고, 30분까지는 95%의 증류수 및 5%의 아세트나이트릴을 흘려주었다.
- [0140] 도 4는 본 발명의 실시예 2-7에서 제조한 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자에 바인딩된 파클리탁셀의 농도를 역상-HPLC로 측정한 그래프이다.
- [0141] 도 4에 나타난 바와 같이, 파클리탁셀의 농도에 따른 실시예 2 내지 7에서 제조한 폴리도파민 나노입자를 역상-HPLC로 측정된 결과, 22-23분 대에서 파클리탁셀의 피크면적이 나타났고, 제조할 시 사용한 파클리탁셀의 농도에 따라서 측정되는 파클리탁셀의 농도가 비례적으로 나타나는 것을 알 수 있었다.
- [0142] 추가로, 도 4의 그래프에서 나타난 파클리탁셀의 피크면적의 표준곡선(standard curve)을 그래프로 도 5에 나타내었고, 이를 이용하여 폴리도파민 나노입자에 바인딩된 파클리탁셀의 양(%)을 계산하였다.
- [0143] 도 5는 도 4의 그래프에서 파클리탁셀 피크의 면적을 표준 곡선으로 나타낸 그래프이다.
- [0144] 도 5에 나타난 바와 같이, 폴리도파민 나노입자에 바인딩된 파클리탁셀의 양은 첨가한 파클리탁셀의 농도에 대하여 약 13% 정도 바인딩된 것을 알 수 있었다.
- [0145] 따라서, 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법은 폴리도파민계 나노입자에 불수용성 약물이 높은 효율로 바인딩되므로, 불수용성 약물이 바인딩된 나노입자의 제조에 유용할 수 있다.

[0146] **<실험예 4> 폴리도파민 나노입자의 형태 분석**

[0147] 본 발명의 실시예 1에서 제조한 폴리도파민 나노입자의 형태를 알아보기 위하여, 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope: TEM)으로 촬영하였고, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0148] 도 6은 실시예 1에 의해 제조된 폴리도파민 나노입자를 투과 전자 현미경(Transmission Electron Microscope: TEM)으로 촬영한 이미지이다.

[0149] 도 6에 나타난 바와 같이, 폴리도파민 나노입자의 형태는 상기 실험예 2에서 사용한 입도분석기로 측정된 결과와 유사하게 평균 100 nm 이하 크기의 나노 입자를 형성하고 있다는 것을 알 수 있었다.

[0150] 따라서, 본 발명에 따른 폴리도파민계 나노입자의 제조방법은 나노입자의 크기를 작고 균일하게 제조할 수 있으므로, 폴리도파민계 나노입자의 제조에 유용할 수 있다.

[0151] **<실험예 5> 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 형태 분석**

[0152] 본 발명의 실시예 2에서 제조한 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 형태를 알아보기 위하여, 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope: TEM)으로 촬영하였고, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

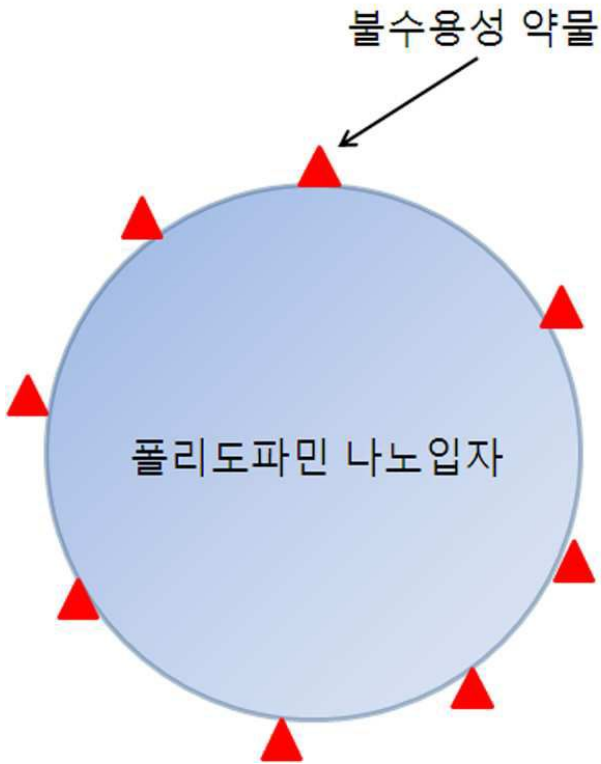
[0153] 도 7은 실시예 2에 의해 제조된 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자를 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope: TEM)으로 촬영한 이미지이다.

[0154] 도 7에 나타난 바와 같이, 파클리탁셀이 바인딩된 폴리도파민 나노입자의 형태는 파클리탁셀을 사용하지 않은 실시예 1에서 제조한 폴리도파민 나노입자와 유사하게 평균 100 nm 이하 크기의 나노입자를 형성하고 있다는 것을 알 수 있었다.

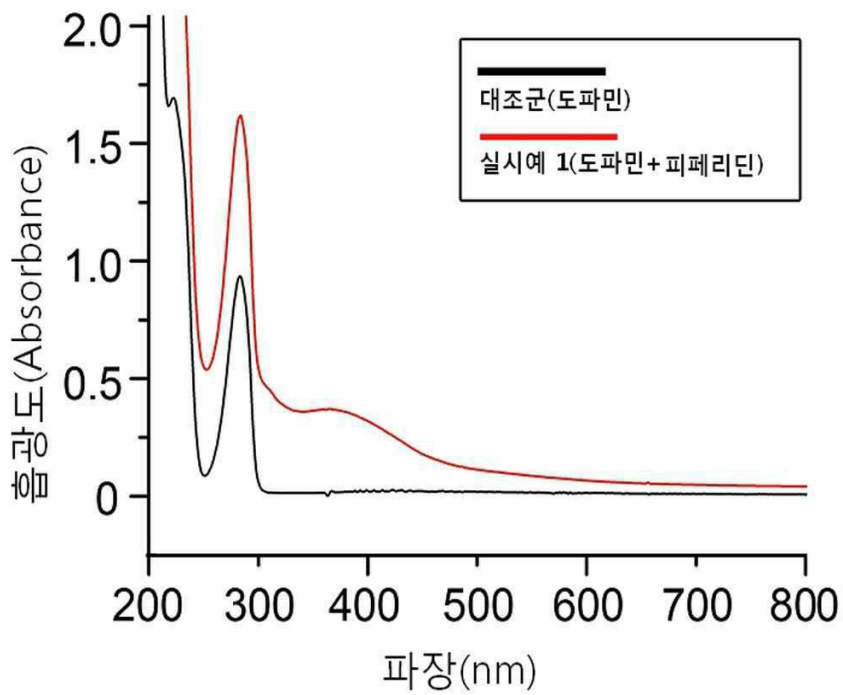
[0155] 따라서, 본 발명에 따른 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자를 원-포트(One-pot) 공정으로 제조하는 방법은 불수용성 약물이 바인딩된 폴리도파민계 나노입자의 크기를 작고 균일하게 제조할 수 있으므로, 불수용성 약물이 바인딩된 나노입자의 제조에 유용할 수 있다.

도면

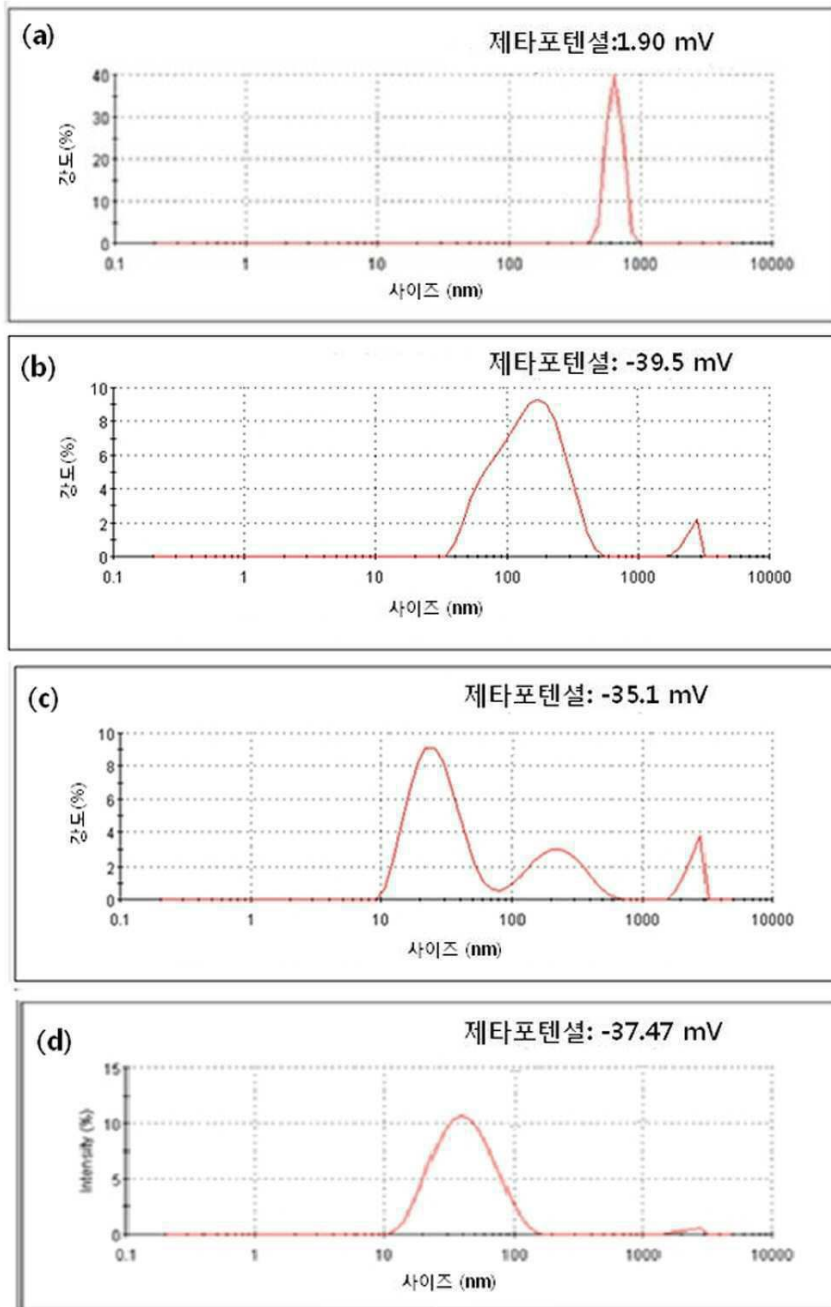
도면1



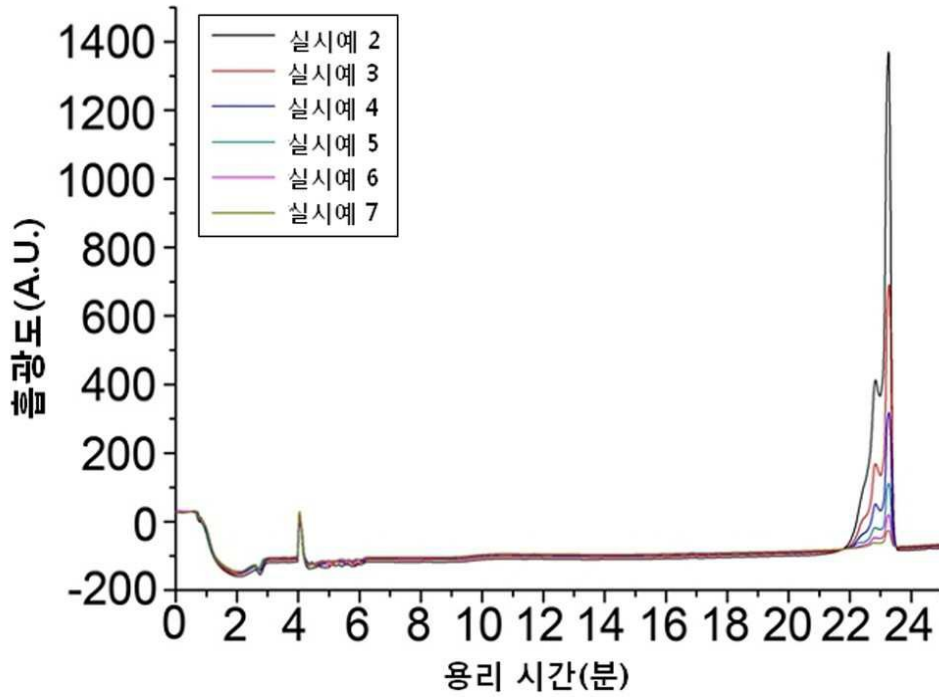
도면2



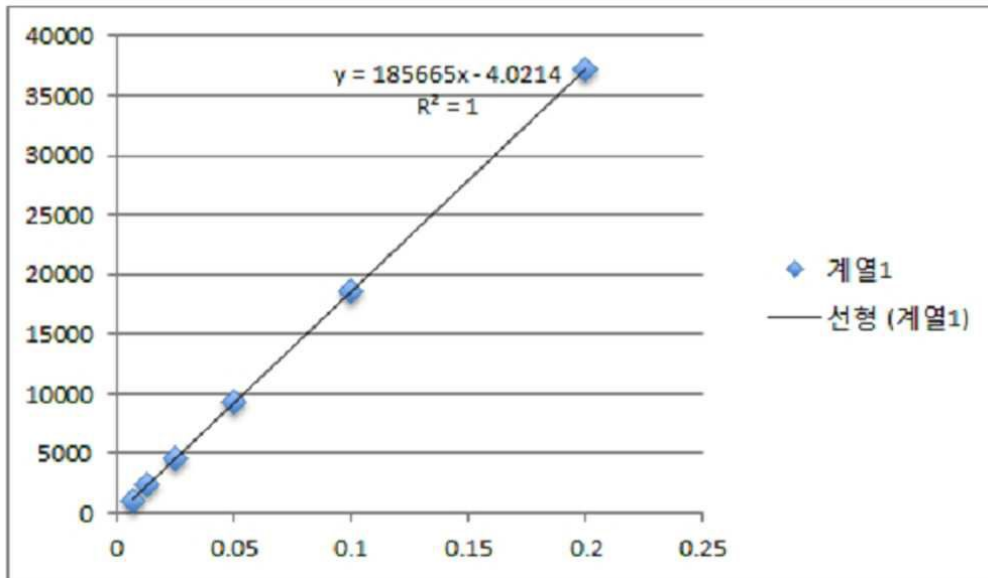
도면3



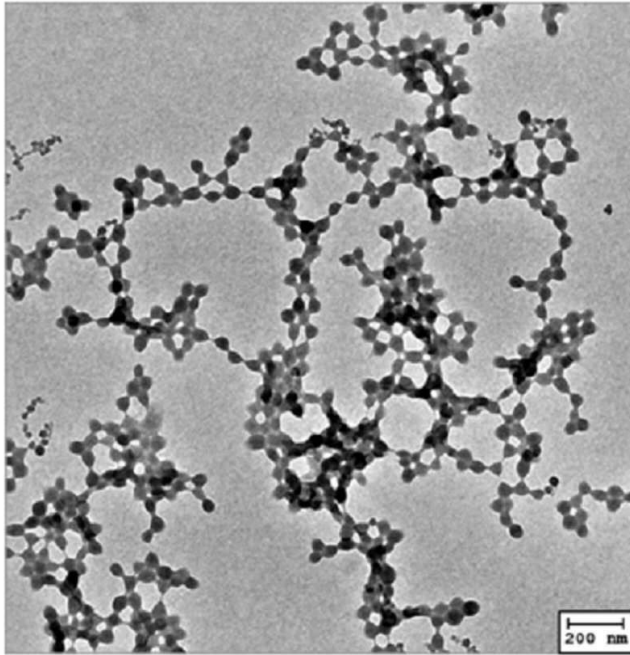
도면4



도면5



도면6



도면7

