



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년08월13일
 (11) 등록번호 10-1429477
 (24) 등록일자 2014년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 47/36 (2006.01) A61K 47/30 (2006.01)
 A61K 9/22 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2011-0092964
 (22) 출원일자 2011년09월15일
 심사청구일자 2011년09월15일
 (65) 공개번호 10-2012-0028848
 (43) 공개일자 2012년03월23일
 (30) 우선권주장
 1020100090427 2010년09월15일 대한민국(KR)
 (56) 선행기술조사문헌
 WO2008077850 A2*
 Advanced Materials, 16(3), 2004.02,
 pp.203-213*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
 한양대학교 에리카산학협력단
 경기도 안산시 상록구 한양대학로 55
 (72) 발명자
 조용우
 경기도 성남시 분당구 내정로 186, 롯데아파트
 133동 2601호 (수내동, 파크타운)
 윤연희
 경기도 안산시 상록구 후곡2길 40, 301호 (사동)
 이병국
 경기도 안산시 상록구 후곡2길 40, 301호 (사동)
 (74) 대리인
 특허법인다울

전체 청구항 수 : 총 12 항

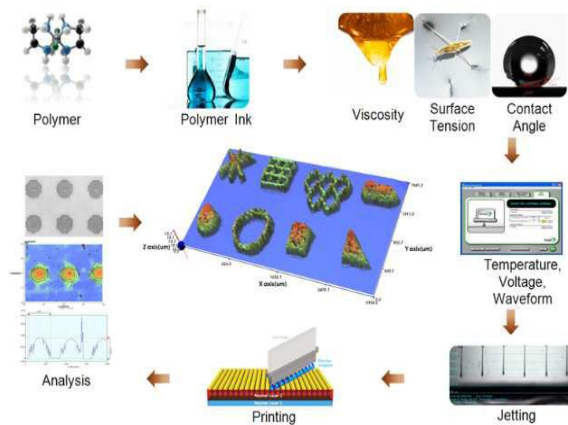
심사관 : 김강필

(54) 발명의 명칭 **잉크젯 프린팅 방법을 사용하여 제조된 고분자 약물 전달체 및 이의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 제조된 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 제조된 3차원 형태의 고분자 약물 전달체 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명은 약물 방출이 조절되도록 제조된 고분자 잉크를 사용하여 잉크젯 프린팅 방법에 의해 다양한 3차원 형태로 제조될 수 있는 약물 전달체 및 이의 제조방법을 제공하여 이를 사용하는 경우 환자에 따라 맞춤형으로 약물 방출 조절이 가능하며 약물 전달량을 정확하게 조절할 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20100001775

부처명 교육과학기술부

연구사업명 기초연구지원사업(선도연구센터육성)

연구과제명 휴먼센싱을 위한 생체적합성 지능형 고분자 소재 개발

기여율 1/1

주관기관 한양대학교 산학협력단

연구기간 2010.03.01 ~ 2011.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 고분자 잉크를 제조하는 단계(S1);
 상기 고분자 잉크를 프린터 카트리지에 주입한 후 잉크젯 프린터에 장착하는 단계(S2); 및
 목적하는 모양의 약물 전달체를 제조하기 위해 프로그래밍된 컴퓨터를 상기 잉크젯 프린터와 연결한 후 기관 상에 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 약물 전달체를 형성하는 단계(S3);를 포함하고,
 상기 단계 S3는 상기 고분자 잉크를 10~30회 적층하여 소정 두께 이상의 3차원 형태로 약물 전달체를 형성하며,
 적층에 의해서 소정 두께 이상의 3차원 형태로 약물 전달체가 형성될 수 있도록, 상기 고분자 잉크는 점도가 3 ~ 20 cps 범위이고 표면장력이 20 dynes/cm 이상이 되도록 제조되는 것을 특징으로 하는 것을 특징으로 하는 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,
 상기 생체 적합성 고분자는 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리-L-락타이드, 폴리-D,L-락타이드, 폴리글리콜린산, 폴리 락타이드 카프로락톤, 폴리락트산-글리콜산 공중합체, 폴리글리콜산, 폴리트리메틸렌카보네이트, 폴리베타하이드록시부틸산, 폴리숙신이미드, 폴리아미노산 유래 고분자, 폴리-L-글라탐산, 폴리-L-류신, 폴리-L-라이신, 다당류, 아밀로오스, 하이드록시에틸전분, 텍스트란, 알긴산, 키틴, 폴리에스테르, 폴리(β -하이드록시알카노에이트), 폴리(α -하이드록시산), 폴리글리콜라이드, 폴리락타이드, 폴리(α -말산), 폴리(ω -하이드록시산), 폴리- ϵ -카프로락톤, 폴리(β -하이드록시알카노에이트), 폴리(에스테르-에테르), 폴리(1,4-디옥산-2-원), 폴리(1,4-디옥스판-7-원), 폴리(에스테르-카르보네이트), 폴리(글리콜라이드-1,3-디옥산-2-원), 폴리아나이드라이드, 폴리(세바식 아나이드라이드), 폴리오르토에스테르, 폴리카보네이트, 폴리(1,3-디옥산-2-원), 폴리(아미드 에스테르), 폴리덱시펩파이드, 폴리(α -시아노아크릴레이트), 폴리(에틸- α -시아노아크릴레이트) 및 폴리비닐알코올로 이루어진 군으로부터 선택되는 단독 또는 이들의 공중합체인 것을 특징으로 하는 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,
 상기 유기 용매는 테트라하이드로퓨란, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 클로로포름, 디메틸술폰사이드, 부탄올, 아이소프로판올, 아이소부틸알콜, 테트라 부틸알콜, 아세트산, 1,4-다이옥산, 툴루엔, 오소-자이렌 및 디메틸포름아미드로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 단독 또는 2종 이상의 혼합 용액인 것을 특징으로 하는 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서,
 상기 단계 S1에서 고분자 잉크는 제조하고자 하는 약물 전달체를 잉크젯 프린팅하는데 필요한 잉크의 양, 잉크의 방울 수 및 약물과 생체 적합성 고분자의 농도를 미리 계산하여 제조되는 것을 특징으로 하는 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법.

청구항 5

삭제

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 단계 S3에서 제조하고자 하는 약물 전달체의 형태의 이미지 파일이 잉크젯 프린팅 되도록 프로그래밍된 컴퓨터에 의해 잉크젯 프린팅이 수행되는 것을 특징으로 하는 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

청구항 1에 있어서,

상기 3차원 형태는 원형, 격자무늬형, 벌집형, 고리형, 막대형, 사각형, 별형 및 삼각형으로 이루어진 군으로부터 선택된 3차원 형태인 것을 특징으로 하는 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서,

상기 단계 S3에서 잉크젯 프린팅 방법에 의해 약물 전달체를 형성하기 이전에 기판을 O₂ 플라즈마 표면처리하여 준비하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법.

청구항 10

청구항 1의 방법으로 형성되어, 생체 적합성 고분자와 약물 및 유기용매를 혼합한 고분자 잉크가 적층된 소정 두께 이상의 3차원 형태인 것을 특징으로 하는 고분자 약물 전달체.

청구항 11

청구항 10에 있어서,

상기 생체 적합성 고분자는 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리-L-락타이드, 폴리-D,L-락타이드, 폴리글리콜린산, 폴리 락타이드 카프로락톤, 폴리락트산-글리콜산 공중합체, 폴리글리콜산, 폴리트리메틸렌카보네이트, 폴리베타하이드록시부틸산, 폴리숙신이미드, 폴리아미노산 유래 고분자, 폴리-L-글라탐산, 폴리-L-류신, 폴리-L-라이신, 다당류, 아밀로오스, 하이드록시에틸전분, 텍스트란, 알긴산, 키틴, 폴리에스테르, 폴리(β-하이드록시알카노에이트), 폴리(α-하이드록시산), 폴리글리콜라이드, 폴리락타이드, 폴리(α-말산), 폴리(ω-하이드록시산), 폴리-ε-카프로락톤, 폴리(β-하이드록시알카노에이트), 폴리(에스테르-에테르), 폴리(1,4-디옥산-2-원), 폴리(1,4-디옥스판-7-원), 폴리(에스테르-카르보네이트), 폴리(글리콜라이드-1,3-디옥산-2-원), 폴리안하이드라이드, 폴리(세바식 안하이드라이드), 폴리오르토에스테르, 폴리카보네이트, 폴리(1,3-디옥산-2-원), 폴리(아미드 에스테르), 폴리덱시펩타이드, 폴리(α-시아노아크릴레이트), 폴리(에틸-α-시아노아크릴레이트) 및 폴리비닐알코올로 이루어진 군으로부터 선택되는 단독 또는 이들의 공중합체인 것을 특징으로 하는 고분자 약물 전달체.

청구항 12

청구항 10에 있어서,

상기 유기 용매는 테트라하이드로퓨란, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 클로로포름, 디메틸술폰사이드, 부탄올, 아이소프로판올, 아이소부틸알콜, 테트라 부틸알콜, 아세트산, 1,4-다이옥산, 톨루엔, 오소-자이렌 및 디메틸포름아마이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 단독 또는 2종 이상의 혼합 용액인 것을 특징으로 하는 고분자 약물 전달체.

청구항 13

청구항 10에 있어서,

상기 고분자 잉크는 제조하고자 하는 약물 전달체에 따라 잉크의 양, 잉크의 방울 수 및 약물과 생체 적합성 고분자의 농도를 조절하여 제조된 것을 특징으로 하는 고분자 약물 전달체.

청구항 14

삭제

청구항 15

청구항 10에 있어서,

상기 고분자 약물 전달체는 비표면적이 조절된 3차원 형태로 제조됨으로써 약물 방출량과 방출속도를 조절할 수 있는 것을 특징으로 하는 고분자 약물 전달체.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 잉크젯 프린팅 방법을 사용하여 제조된 고분자 약물 전달체 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 제조된 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 제조된 3차원 형태의 고분자 약물 전달체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 제어 방출 기술을 사용한 약물 전달 기술은 1970년에 시작된 후, 급속한 발전을 거듭하여 현재 수많은 제품이 시판되거나 개발 중에 있다.

[0003] 고분자를 이용한 약물전달시스템으로는 고분자-약물 접합체(Polymer-Drug Conjugate)와 같은 장기약효 지속제형과 고분자 나노/마이크로 입자 및 고분자 마이셀을 이용한 약물의 서방출성 제형으로 세분화할 수 있다. 약물전달 디바이스로는 반도체 칩을 이용한 약물전달 디바이스, 화학요법 웨이퍼(chemotherapy wafer), 마이크로니들(micro-needle) 등을 이용한 패치제형, 삼투막을 이용한 임플란트 시스템 등이 개발되었다. 약물이 생체 내에서 효과적으로 작용하기 위해서는 약물의 체내 농도가 일정 기간 이상 치료효과범위(therapeutic range) 내에 유지되어야 한다. 약물이 체내에 과량 존재하면 독성을 나타내게 되고 너무 적은 양의 경우에는 치료 효과가 나타나지 않는데 약물 전달 시스템은 그것을 조절하는 역할을 한다.

[0004] 특히, 최근 관심을 갖는 분야 중의 하나인 약물전달용 나노 입자의 응용 범위는 입자 자체의 크기뿐만 아니라 입자의 고기능화에 연구의 초점이 맞추어 지고 있다. 대표적인 약물전달용 나노 입자의 제조 방법으로는 자가유화 확산법을 이용한 고분자성 나노입자, 이온성 고분자의 복합 반응을 이용한 고분자 나노입자, 친수/친유성 그룹을 갖는 블록 공중합체(block copolymer) 등을 이용한 마이셀 형성을 통한 나노입자, 덴드리머를 이용한 별형 고분자(Star-like polymer)의 합성, 그리고 인지질을 이용한 친수성 캡슐형태의 나노 리포좀(nanosome), 스프레이 건조법, 리소그래피법 등을 이용한 약물 전달체의 제조방법 등이 있다.

[0005] 그러나 상술한 약물 전달체의 제조방법은 다양한 모양으로 제작하는데 한계가 있어 대부분 구형으로 제작되어 약물 함유량이 낮다는 점, 크기, 화학물질 성분 등 제한된 조건으로 약물 전달체의 기능을 조절해야 하는 점, 제작 방법에 따라 담지할 수 있는 약물 종류가 제한되거나 방출 초기에 집중적으로 약물이 방출되는 문제점, 제

작 공정이 복잡하고 공정 시간이 많이 소요되어 재료의 손실이 크다는 점 등의 문제점을 갖는다.

[0006] 본 발명자들은 상술한 종래의 약물 전달체의 제조방법에 관한 문제점을 해결하고자 연구를 거듭하였다. 그 결과 생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 고분자 잉크를 제조하는 단계에서 약물 전달체 1개를 프린팅하는 데 필요한 잉크의 양, 잉크 방울 수, 첨가되는 약물과 고분자의 농도를 미리 계산하여 고분자 잉크를 제조하고, 이와 같이 제조된 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅 방법을 사용하여 3차원 형태로 약물 전달체를 제조하는 경우, 이에 따라 제조된 약물 전달체는 환자에 따라 맞춤형으로 약물 방출 조절이 가능하고, 최종 전달되는 약물의 양이 정확하게 조절될 수 있음을 알게 되어 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

[0007] 종래기술과 관련한 사항은 한국등록특허 제10-0949850호, 제10-0517253호 등을 참조할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 환자에 따라 맞춤형으로 약물 방출 조절이 가능하며 약물 전달량이 정확하게 조절된 약물 전달체를 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 약물 방출이 조절되도록 제조된 고분자 잉크를 사용하여 잉크젯 프린팅 방법에 의해 다양한 3차원 형태의 약물 전달체를 모양과 크기가 균일하도록 제조할 수 있으며, 공정이 간단하고 불량률이 낮고 재연성이 높은 고분자 약물 전달체의 제조방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법은, 생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 고분자 잉크를 제조하는 단계(S1); 상기 고분자 잉크를 프린터 카트리지에 주입한 후 잉크젯 프린터에 장착하는 단계(S2); 및 목적하는 모양의 약물 전달체를 제조하기 위해 프로그래밍된 컴퓨터를 상기 잉크젯 프린터와 연결한 후 기관 상에 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 약물 전달체를 형성하는 단계(S3);를 포함한다.

[0011] 상기 생체 적합성 고분자는, 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리-L-락타이드, 폴리-D,L-락타이드, 폴리글리콜린산, 폴리 락타이드 카프로락톤, 폴리락트산-글리콜산 공중합체, 폴리글리콜산, 폴리트리메틸렌카보네이트, 폴리베타하이드록시부틸산, 폴리숙신이미드, 폴리아미노산 유래 고분자, 폴리-L-글라탐산, 폴리-L-류신, 폴리-L-라이신, 다당류, 아밀로오스, 하이드록시에틸전분, 텍스트란, 알긴산, 키틴, 폴리에스테르, 폴리(β -하이드록시알카노에이트), 폴리(α -하이드록시산), 폴리글리콜라이드, 폴리락타이드, 폴리(α -말산), 폴리(ω -하이드록시산), 폴리- ϵ -카프로락톤, 폴리(β -하이드록시알카노에이트), 폴리(에스테르-에테르), 폴리(1,4-디옥산-2-원), 폴리(1,4-디옥스판-7-원), 폴리(에스테르-카르보네이트), 폴리(글리콜라이드-1,3-디옥산-2-원), 폴리안하이드라이드, 폴리(세바식 안하이드라이드), 폴리오르토에스테르, 폴리카보네이트, 폴리(1,3-디옥산-2-원), 폴리(아미드 에스테르), 폴리테시퀘파이드, 폴리(α -시아노아크릴레이트), 폴리(에틸- α -시아노아크릴레이트) 및 폴리비닐알코올로 이루어진 군으로부터 선택되는 단독 또는 이들의 공중합체일 수 있다.

[0012] 상기 유기 용매는, 테트라하이드로퓨란, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 클로로포름, 디메틸술폰사이드, 부탄올, 아이소프로판올, 아이소부틸알콜, 테트라 부틸알콜, 아세트산, 1,4-다이옥산, 톨루엔, 오소-자이렌 및 디메틸포름아마이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 단독 또는 2종 이상의 혼합 용액일 수 있다.

[0013] 상기 단계 S1에서 고분자 잉크는 제조하고자 하는 약물 전달체를 잉크젯 프린팅하는데 필요한 잉크의 양, 잉크의 방울 수 및 약물과 생체 적합성 고분자의 농도를 미리 계산하여 제조될 수 있다.

[0014] 상기 고분자 잉크는 소정의 형태로 약물 전달체가 형성될 수 있도록 점도, 표면장력 및 접촉각을 조절하여 제조될 수 있다.

[0015] 상기 단계 S3에서 제조하고자 하는 약물 전달체의 형태의 이미지 파일이 잉크젯 프린팅 되도록 프로그래밍된 컴퓨터에 의해 잉크젯 프린팅이 수행될 수 있다.

[0016] 상기 단계 S3에서는 약물 전달체는 고분자 잉크를 기관상에 프린팅하여 3차원 형태로 적층함으로써 형성될 수 있다.

- [0017] 상기 3차원 형태는 원형, 격자무늬형, 벌집형, 고리형, 막대형, 사각형, 별형 및 삼각형으로 이루어진 군으로부터 선택된 3차원 형태일 수 있다.
- [0018] 상기 단계 S3에서 잉크젯 프린팅 방법에 의해 약물 전달체를 형성하기 이전에 기판을 O₂ 플라즈마 표면처리하여 준비하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0019] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 고분자 약물 전달체는 생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 제조된 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 형성된다.
- [0020] 상기 생체 적합성 고분자는 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리-L-락타이드, 폴리-D,L-락타이드, 폴리글리콜린산, 폴리 락타이드 카프로락톤, 폴리락트산-글리콜산 공중합체, 폴리글리콜산, 폴리트리메틸렌카보네이트, 폴리베타하이드록시부틸산, 폴리숙신이미드, 폴리아미노산 유래 고분자, 폴리-L-글라탐산, 폴리-L-류신, 폴리-L-라이신, 다당류, 아밀로오스, 하이드록시에틸전분, 텍스트란, 알긴산, 키틴, 폴리에스테르, 폴리(β-하이드록시알카노에이트), 폴리(α-하이드록시산), 폴리글리콜라이드, 폴리락타이드, 폴리(α-말산), 폴리(ω-하이드록시산), 폴리-ε-카프로락톤, 폴리(β-하이드록시알카노에이트), 폴리(에스테르-에테르), 폴리(1,4-디옥산-2-원), 폴리(1,4-디옥스판-7-원), 폴리(에스테르-카르보네이트), 폴리(글리콜라이드-1,3-디옥산-2-원), 폴리안하이드라이드, 폴리(세바식 안하이드라이드), 폴리오르토에스테르, 폴리카보네이트, 폴리(1,3-디옥산-2-원), 폴리(아미드 에스테르), 폴리테시넵파이드, 폴리(α-시아노아크릴레이트), 폴리(에틸-α-시아노아크릴레이트) 및 폴리비닐알코올로 이루어진 군으로부터 선택되는 단독 또는 이들의 공중합체일 수 있다.
- [0021] 상기 유기 용매는 테트라하이드로퓨란, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 클로로포름, 디메틸술폰사이드, 부탄올, 아이소프로판올, 아이소부틸알콜, 테트라 부틸알콜, 아세트산, 1,4-다이옥산, 톨루엔, 오소-자이렌 및 디메틸포름아마이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 단독 또는 2종 이상의 혼합 용액일 수 있다.
- [0022] 상기 고분자 잉크는 제조하고자 하는 약물 전달체에 따라 잉크의 양, 잉크의 방울 수 및 약물과 생체 적합성 고분자의 농도를 조절하여 제조된 것일 수 있다.
- [0023] 상기 고분자 잉크는 소정의 형태로 약물 전달체가 형성될 수 있도록 점도, 표면장력 및 접촉각을 조절하여 제조될 수 있다.
- [0024] 상기 고분자 약물 전달체는 잉크의 양, 잉크의 방울 수 및 약물과 생체 적합성 고분자의 농도가 조절된 고분자 잉크로 제조됨으로써 약물 방출량, 방출속도를 조절할 수 있다.

발명의 효과

- [0025] 본 발명은 약물 방출이 조절되도록 제조된 고분자 잉크를 사용하여 잉크젯 프린팅 방법에 의해 다양한 3차원 형태로 제조될 수 있는 약물 전달체를 제공함으로써, 이를 사용하는 경우 환자에 따라 맞춤형으로 약물 방출 조절이 가능하며 약물 전달량을 정확하게 조절할 수 있을 뿐 아니라, 약물 투여의 효율성을 높여 환자의 고통을 경감시킬 수 있다.
- [0026] 또한, 본 발명은 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법을 제공함으로써, 다양한 3차원 형태의 약물 전달체를 모양과 크기가 균일하도록 제조할 수 있으며, 공정이 간단하고 불량률이 낮고 재연성이 높은 분자 약물 전달체를 제조할 수 있다. 아울러 상온에서 본 발명의 공정이 이루어지므로 고분자 잉크에 포함된 생체 적합성 고분자의 생물학적 활성에 손상시키지 않으며, 미량의 잉크와 약물을 사용하여 약물 전달체를 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 본 발명의 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조 단계를 개략적으로 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시형태에 따라 잉크젯 프린터를 사용하여 하나의 기판에 다양한 형태의 약물 전달체를 제조하는 방법을 개략적으로 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 약물 전달체들의 사진이다.
- 도 4는 본 발명의 실시예 2에 따라 제조된 약물 전달체들의 사진이다.
- 도 5는 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 약물 전달체들의 3차원 구조 분석결과를 나타낸 그래프이다.

도 6은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 약물 전달체들의 형광 염색제 방출 속도 측정결과를 나타낸 그래프이다.

도 7은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 고리형 약물 전달체가 PBS에서 가수분해되는 과정을 나타낸 SEM 이미지이다.

도 8은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 약물 전달체의 PBS에서의 시간 제공근에 대한 누적방출량을 나타낸 그래프이다.

도 9는 본 발명의 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체의 약물 방출속도를 나타낸 그래프이다.

도 10은 본 발명의 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체의 PBS에서 가수분해되는 과정을 나타낸 SEM 이미지이다.

도 11은 본 발명의 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체의 PBS에서의 시간 제공근에 대한 누적방출량을 나타낸 그래프이다.

도 12는 본 발명의 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체의 약물 농도에 따른 세포독성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명에 따른 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법을 단계별로 구체적으로 설명한다.

[0029] 우선, 생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 고분자 잉크를 제조한다(단계 S1).

[0030] 고분자 잉크에 포함되는 생체 적합성 고분자는 약물을 담지하기 위한 담지체로서 역할을 하는 것으로 생체 적합성 및 생분해성이 우수한 고분자를 사용한다.

[0031] 본 발명이 속하는 기술분야에 잘 알려진 생체 적합성 고분자를 제한 없이 사용할 수 있다. 예를 들어, 본 발명에서 사용될 수 있는 생체 적합성 고분자는 폴리카프로락톤(poly ϵ -caprolactone; PCL), 폴리락트산(poly(lactic acid); PLA); 폴리-L-락타이드(poly-L-lactide; PLLA), 폴리-D,L-락타이드(poly-D,L-lactide; PDLLA), 폴리글리콜린산(poly(glycolic acid); PGA), 폴리 락타이드 카프로락톤(poly lactide-co-caprolactone; PLCL), 폴리락트산-글리콜산 공중합체(poly(lactic-co-glycolic acid); PLGA), 폴리글리콜산(poly(glycolic acid); PG), 폴리트리메틸렌카보네이트(polytrimethylenecarbonate; PTMC), 폴리베타하이드록시부틸산(poly- β -hydroxybutyrate; PHB), 폴리숙신이미드(poly(succinimide); PSI), 폴리아미노산(poly amino acid) 유래 고분자, 폴리-L-글라탐산(poly-L-glutamic acid), 폴리-L-류신(poly-L-leucine), 폴리-L-라이신(poly-L-lysine), 다당류(Polysacchrides), 아밀로오스(amylose), 하이드록시에틸전분(hydroxyethylstarch), 덱스트란(dextran), 알긴산(alginic acids), 키틴(chitin), 폴리에스테르(Polyesters), 폴리(β -하이드록시알카노에이트)(poly(β -hydroxyalkanoate)), 폴리(α -하이드록시산)(poly(α -hydroxy acids)); 폴리글리콜라이드(polyglycolide), 폴리락타이드(poly lactide), 폴리(α -말산)(poly(α -malic acids)), 폴리(ω -하이드록시산)(poly(ω -hydroxy acids)), 폴리- ϵ -카프로락톤(poly- ϵ -caprolactone), 폴리(β -하이드록시알카노에이트)(poly(β -hydroxyalkanoate)), 폴리(에스테르-에테르)(poly(ester-ether)), 폴리(1,4-디옥산-2-원)(poly(1,4-dioxane-2-one)), 폴리(1,4-디옥스판-7-원)(poly(1,4-dioxpan-7-one)), 폴리(에스테르-카르보네이트)(poly(ester-carbonate)), 폴리(글리콜라이드-1,3-디옥산-2-원)(poly(glycolide-1,3-dioxane-2-one)), 폴리안하이드라이드(polyanhydride), 폴리(세바식 안하이드라이드)(poly(sebacic anhydride)), 폴리오르토에스테르(polyorthoester), 폴리카보네이트(polycarbonate), 폴리(1,3-디옥산-2-원)(poly(1,3-dioxane-2-one)), 폴리(아미드 에스테르)(poly(amide ester)), 폴리덱시펩타이드(polydepsipeptide), 폴리(α -시아노아크릴레이트)(poly(α -cyanoacrylate)), 폴리(에틸- α -시아노아크릴레이트)(poly(ethyl- α -cyanoacrylate)), 폴리비닐알코올 등을 단독 또는 공중합한 것을 사용할 수 있다.

[0032] 본 발명에서 고분자 잉크에 포함되는 약물에는 제한이 없으며, 고체상 약물 또는 액체상 약물을 모두 사용할 수 있다.

[0033] 상술한 생체 적합성 고분자 및 약물을 용해하여 고분자 잉크를 제조할 수 있는 유기 용매로는 사용되는 생체 적합성 고분자와 약물의 종류에 따라 이를 용해하여 고분자 잉크를 제조할 수 있는 것이라면 어느 것이나 사용될 수 있다. 예를 들면, 테트라하이드로퓨란, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 클로로포름, 디메틸술폰사이드, 부탄올, 아이소프로판올, 아이소부틸알콜, 테트라 부틸알콜, 아세트산, 1,4-다이옥산, 톨루엔,

오소-자이렌, 디메틸포름아마이드 등을 단독 또는 혼합하여 사용할 수 있으나, 반드시 이로 제한되는 것은 아니다.

- [0034] 상기 고분자 잉크를 제조하는 과정에서는 제조하고자 하는 약물 전달체를 잉크젯 프린팅하는 데 필요한 잉크의 양, 잉크의 방울 수 및 약물과 생체 적합성 고분자의 농도를 미리 계산하여 제조하는 것이 중요하다.
- [0035] 잉크젯 프린팅 방법을 사용하여 약물 전달체 1개를 제조하는 데 필요한 잉크의 양, 잉크의 방울 수 및 약물과 생체 적합성 고분자의 농도를 미리 계산하여 고분자 잉크를 제조함으로써 약물 방출 속도 및 투여되는 약물의 양을 조절할 수 있다.
- [0036] 또한, 목적하는 형태로 약물 전달체가 형성될 수 있도록 고분자 잉크의 분사 가능한 물성을 맞추기 위해서, 고분자 잉크의 점도, 표면장력 및 기관과 잉크 간의 접촉각을 조절하여 고분자 잉크를 제조한다.
- [0037] 보다 구체적으로 고분자 잉크의 점도는 고분자의 양에 따라 조절할 수 있다. 고분자의 경우 점도가 급격히 높아지는 경향이 있기 때문에 이를 조절하는 것이 필요하다. 대부분 잉크의 특성에 맞추기 때문에 고분자마다 고분자의 양(농도)은 달라지지만, 점도의 범위는 비교적 비슷하다. 표면 장력은 용매의 조성을 다양하게 하여 조절할 수 있다. 표면 장력이 높은 용매와 낮은 용매를 적절히 혼합하여 조절할 수 있다. 접촉각은 기관과 잉크 본연의 값이기 때문에 접촉각을 별도로 조절하지 않고 접촉각을 통해 프린팅 시 해상도를 조절할 수 있다. 해상도를 조절한다는 것은, 하나의 잉크 방울이 떨어지고 나서 다음 잉크가 떨어지는 위치를 설정한다는 의미와 동일하다. 상술한 바와 같이 고분자 잉크의 점도, 표면 장력, 접촉각을 잘 설정하여야 원하는 패턴을 정밀하게 얻을 수 있다.
- [0038] 다음으로, 상기 고분자 잉크를 프린터 카트리지에 주입한 후 잉크젯 프린터에 장착한다(단계 S2).
- [0039] 상술한 방법에 따라 제조된 고분자 잉크를 잉크젯 프린터 카트리지에 주입한 후 프린터에 장착하는 과정은 본 발명의 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 용이하게 수행될 수 있는 것이므로 구체적인 설명은 생략한다.
- [0040] 본 발명에서 사용될 수 있는 프린터로는 잉크젯 프린터를 사용할 수 있으며, 특별히 제한되지 않는다.
- [0041] 마지막으로, 목적하는 모양의 약물 전달체를 제조하기 위해 프로그래밍된 컴퓨터를 상기 잉크젯 프린터와 연결한 후 기관 상에 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 약물 전달체를 형성한다(단계 S3).
- [0042] 본 발명에서 사용될 수 있는 기관은 슬라이드 글라스, 종이, 실리콘 웨이퍼, 폴리이미드(poly imide; PI), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(PET), 폴리스티렌(PS) 등의 고분자를 사용하여 제조된 플레이트 또는 필름 등을 사용할 수 있으며, 고분자 잉크를 프린팅할 수 있는 것이면 제한 없이 사용될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 상기 기관을 잉크젯 프린팅하여 약물 담지체를 제조하기 적합한 상태로 준비하기 위하여 기관의 표면에너지 조절할 수 있다. 예를 들어, 잉크젯 프린팅할 슬라이드 글라스에 대해 O₂ 플라즈마 표면처리하여 프린팅하기에 적합한 상태로 준비할 수 있다.
- [0044] 단계 S3에서는 약물 전달체의 형태의 이미지 파일(예를 들어, 비트맵 이미지 파일) 그대로 잉크젯 프린팅 되도록 프로그래밍된 컴퓨터를 잉크젯 프린터와 연결하여 기관 상에 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 적층시킴으로써 목적하는 3차원 형태의 약물 전달체를 제조할 수 있다.
- [0045] 본 발명에서 약물 전달체는 원형(circle), 격자무늬형(grid), 벌집형(honeycomb), 고리형(ring), 막대형(rod), 사각형(square), 별형(star), 삼각형(triangle) 등의 3차원 형태로 제조될 수 있으며, 이에 제한되지 않고 다양한 형태로 제조될 수 있음은 물론이다.
- [0046] 본 발명에 따라 컴퓨터 프로그램에 의해 정밀하게 계산하여 잉크젯 프린팅하여 적층방식으로 3차원 형태의 약물 전달체를 제조하는 경우, 모양, 크기, 높이 등을 균일하게 제조할 수 있으며 컴퓨터 프로그램에 의해 하나의 기관에 여러 가지 형태의 약물 전달체를 한 번에 프린팅할 수 있다(도 2 참조).
- [0047] 단계 S3에서 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 적층하여 약물 전달체를 형성하는 과정은 상온에서 수행되므로 생체 적합성 고분자의 생물학적 활성을 손상시키지 않고 약물 전달체를 제조할 수 있다.
- [0048] 또한, 본 발명은 생체 적합성 고분자, 약물 및 유기용매를 혼합하여 제조된 고분자 잉크를 잉크젯 프린팅하여 형성된 고분자 약물 전달체를 제공하며, 상술한 제조방법에 따라 제조될 수 있다.
- [0049] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐

본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

실시예 1

[0050] 폴리카프로락톤(PCL)과 폴리락트산-글리콜산 공중합체(PLGA) 및 형광 염색제를 디메틸아세트아미드(DMAc)에 용해하여 고분자 잉크를 제조하였고, 용해 시 온도를 40 ~ 50℃로 승온하였다. 형광 염색제를 약물 대신 사용하여 고분자 잉크를 제조하였다.

[0051] 용해가 완료되면, 고분자 잉크의 점도, 표면장력을 측정하여 적절한 범위 내에 들어오는지 확인하였다. 적절한 범위라 함은 고분자 잉크마다 특성이 다르기 때문에 실험치에 의존하였다. 이 실험에서 구성된 프린팅 시스템에서 사용하기에 알맞은 점도와 표면장력의 범위는, 형광 염색제와 고분자로 이루어진 잉크의 경우, 점도는 3 ~ 20 cps이고 표면장력은 20 dynes/cm 이상이였다.

[0052] 이후, 원형(circle), 격자무늬형(grid), 벌집형(honeycomb), 고리형(ring), 막대형(rod), 사각형(square), 별형(star) 및 삼각형(triangle)으로 약물 전달체를 프린팅할 비트맵 이미지를 만들고 각 이미지의 표면적과 필요한 잉크의 양을 하기 표 1과 같이 계산하였다. 형광 염색제의 농도와 적층 수가 다른 약물 전달체를 프린팅하기 전 각 약물 전달체 별 사용될 고분자 잉크와 형광 염색제의 양을 계산하여 표 2에 나타내었다.

표 1

형태	이미지 표면적 (um ²)	잉크양 (pL)	상대적 잉크양
원형	100,800	2,145	1.00
격자무늬형	100,800	2,145	1.00
벌집형	94,500	2,010	0.94
고리형	100,800	2,145	1.00
막대형	97,200	2,070	0.97
사각형	108,900	2,310	1.08
별형	97,200	2,070	0.97
삼각형	94,500	2,010	0.94

[0053]

표 2

형태	원형	격자무늬형	벌집형	고리형	막대형	사각형	별형	삼각형
형광 염색제 농도: 3 mg/mL, 적층수: 10								
잉크 (μL)	2.145	2.145	2.007	2.145	2.065	2.314	2.065	2.007
염색제 (μg)	6.435	6.435	6.021	6.435	6.195	6.942	6.195	6.021
형광 염색제 농도: 10 mg/mL, 적층수: 20								
잉크 (μL)	4.29	4.29	4.014	4.29	4.13	4.628	4.13	4.014
염색제 (μg)	42.9	42.9	40.14	42.9	41.3	46.28	41.3	40.14

[0054]

[0055] 본 발명의 잉크젯 프린팅 방법을 사용한 고분자 약물 전달체의 제조방법을 이용하면, 미량의 고분자 잉크와 약물을 사용하여 약물 전달체를 제조할 수 있으며, 사전에 사용할 재료의 양을 정확하게 계산할 수 있는 장점이 있다. 이와 같이 제조된 고분자 잉크를 사용하여 슬라이드 글라스 상에 잉크젯 프린팅하여 도 3과 같은 다양한 형태의 약물 전달체를 제조하였다.

실시예 2

[0056] 락트산 : 글리콜산 = 7 : 3 비율로 중합된 폴리락트산-글리콜산 공중합체(분자량 27,000) 및 형광 염색제(FITC, fluorescein isothiocyanate)를 디메틸아세트아미드(DMAc)에 용해하여 고분자 잉크를 제조하였고, 용해 시 온도는 40~50℃로 승온하였다. 이때, 상기 폴리락트산-글리콜산 공중합체의 농도는 100mg/mL, 상기 형광 염색제 농도는 100mg/mL로 하였다.

[0057] 이와 같이 제조된 고분자 잉크를 사용하여 적층수 30으로 하여 상기 실시예 1과 동일한 형태로 슬라이드 글라스 상에 잉크젯 프린팅하여 다양한 형태의 약물 전달체를 제조하였다.

[0058] 실시예 2에 따라 제조된 약물 전달체의 형광 이미지를 도 4에 나타내었다.

[0059] 도 4에서 확인할 수 있듯이, 상기 제조된 잉크를 잉크젯 프린터로 프린팅함으로써 복잡한 무늬의 고분자 약물 전달체를 균일하게 제조할 수 있었다.

시험예 1: 실시예 1에 따라 제조된 약물 전달체의 3차원 구조 분석

















[0061] 실시예 1에 따라 제조된 각기 다른 형태의 약물 전달체들에 대해 나노뷰(nanoview)로 촬영하여 3차원 구조를 분석하였고 그 결과를 도 5의 (a) 및 (b)에 나타내었다.

[0062] 도 4를 참조하면, 각기 다른 형태의 약물 전달체들의 직경은 330~750 μm, 높이는 약 6 μm로 측정되었으며, 원형, 고리형, 사각형, 삼각형, 막대형과 같은 단순한 형태의 약물 전달체의 높이가 높게 나타나는 경향을 보였으나 비트맵 이미지와 오차가 적게 프린팅 된 것을 알 수 있었다.

시험예 2: 비트맵 이미지와 실시예에서 제조된 약물 전달체의 크기 비교

[0064] 상기 실시예에서 제조된 원형, 격자무늬형, 벌집형, 고리형, 막대형, 사각형, 별형 및 삼각형의 약물 전달체와 이를 제조하기 위해 사용된 비트맵 이미지를 비교하여 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

형태	원형	격자무늬형	벌집형	고리형	막대형	사각형	별형	삼각형
비트맵 이미지의 크기								
								
너비	360	480	750	600	600	330	480	420
길이	360	480	600	630	180	330	510	430
약물 전달체의 실제 크기								
								
너비	384±7 (106%)	490±2 (102%)	760±2 (101%)	607±2 (101%)	605±3 (101%)	330±4 (100%)	480±5 (100%)	430±4 (102%)
길이	384±7 (106%)	495±2 (103%)	628±2 (104%)	652±2 (103%)	190±5 (105%)	350±3 (106%)	525±5 (103%)	440±8 (102%)

[0065]

[0066]

표 3을 참조하면, 본 발명에 따라 비트맵 이미지를 사용하여 잉크젯 프린팅된 각기 다른 형태의 약물 전달체는 일부 형태의 가로 길이(length)가 약 100~106% 정도 길게 프린팅되었으나, 전체적으로 비트맵 이미지와 유사하게 프린팅된 것을 알 수 있다. 이로부터 본 발명에 따라 잉크젯 프린팅 방법을 사용하여 고분자 약물 전달체를 제조하는 경우 재료 손실이나 복잡한 공정 없이 약물 전달체를 원하는 형태로 프린팅하여 제조할 수 있음을 알 수 있다.

[0067]

시험예 3: 실시예 1에 따라 제조된 약물 전달체들간의 높이, 표면적 및 부피 측정

[0068]

실시예에서 제조된 약물 전달체들의 높이, 상부 표면적 및 부피를 측정하여 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

형태	높이 (μm)	상부 표면적 (μm ²)	부피 (μm ³)	상대 부피
원형	6.0	107,388	644,328	1.00
격자무늬형	4.0	158,775	635,100	0.99
별집형	4.0	196,025	784,100	1.22
고리형	4.0	153,779	615,116	0.96
막대형	7.0	108,500	759,500	1.18
사각형	5.7	115,500	658,350	1.02
별형	5.0	114,650	573,250	0.89
삼각형	6.3	92,450	582,435	0.90

[0069]

[0070]

표 4를 참조하면, 실시예에서 제조된 약물 전달체들은 별집형, 격자무늬형, 고리형, 사각형, 별형, 막대형, 원형, 삼각형 순으로 상부 표면적이 큰 것으로 나타났으나, 이들 간의 부피는 상부 표면적 차이만큼 차이가 크지 않음을 알 수 있다.

[0071]

시험예 4: 약물 전달체들의 약물 방출 속도 분석

[0072]

실시예 1에서 제조된 원형, 격자무늬형, 별집형, 고리형, 막대형, 사각형, 별형 및 삼각형의 약물 전달체 각각에 대해 형광 염색제 방출 속도를 측정하여 도 6의 (a) 및 (b)에 나타내었다. 본 실시예에서는 약물 대신 형광 염색제를 사용하였으므로 형광 염색제 방출 속도는 실제 약물 방출 속도를 의미한다. 도 6의 (a)는 실시예에서 형광 염색제의 농도가 3 mg/mL이고 적층수가 10인 조건에서 제조된 약물 전달체들에 대해 형광 염색제 방출 속도를 측정한 그래프이고, 도 6의 (b)는 실시예에서 형광 염색제의 농도가 10 mg/mL이고 적층수가 20인 조건에서 제조된 약물 전달체들에 대해 형광 염색제 방출 속도를 측정한 그래프이다. 형광 염색제 방출 속도는 상기 약물 전달체들을 인산완충용액에 침지시킨 후 총 25일간 방출과 분해를 확인하고 80분간 방출 측정 결과를 정리하여 산출하였다.

[0073]

도 6의 (a) 및 (b)를 참조하면, 별집형, 고리형, 격자무늬형, 별형, 사각형, 막대형, 삼각형, 원형의 약물 전달체 순으로 형광 염색제의 방출 속도가 빠른 것을 알 수 있다. 도 6의 (a)와 도 5의 (b)의 방출 속도 순서가 유사한 것으로 보아 특정 메커니즘이 방출 속도에 관여한다는 것을 알 수 있고, 방출 속도가 빠른 순서와 표면적의 큰 순서가 매우 비슷한 것을 알 수 있다. 또한, 약물 전달체의 전체 부피 및 들어간 염색제의 양은 비슷하지만 약물 전달체의 형태에 따라 방출 속도가 다른 것을 알 수 있고, 별집형, 고리형, 격자무늬형의 약물 전달체와 같이 인산완충용액에 접하는 부분이 많은 구조일수록 방출 속도가 빠른 것을 알 수 있다. 이러한 분석 결과를 종합해 볼 때, 약물 전달체의 형태를 조절하여 약물 방출 속도를 조절할 수 있음을 알 수 있다.

[0074]

또한, 실시예 1에 따라 제조된 고리형 약물 전달체를 PBS(Phosphate Buffered Saline, 인산완충용액)에 25일 동안 침지시켜 가수분해되는 과정을 관찰하였다. 이 과정에서 PBS에 침지되기 전의 고리형 약물 전달체, 인산완충용액에 침지 14일 후 약물 전달체 및 인산완충용액에 침지 25일 후 약물 전달체에 대해 주사전자현미경 사진을 촬영하여 각각 도 7의 (a), (b) 및 (c)에 나타내었다.

[0075]

도 7에 따르면, 고리형 약물 전달체를 인산완충용액에 침지시킨 후 14일부터 표면에 기공들이 관찰되고, 25일째 표면의 기공들이 커지고 탈락되는 것을 관찰할 수 있었다.

[0076] **시험예 5: 실시예 1에 따라 제조된 약물 전달체의 약물 방출 상수 측정**

[0077] 실시예 1에서 제조된 약물 전달체들은 벌집형, 격자무늬형, 고리형, 별형, 사각형, 막대형, 원형, 삼각형의 약물 전달체들의 방출 속도 상수를 하기 수학적식의 히구치 모델(Higuchi model)을 사용하여 측정하여 도 7에 나타내었다.

[0078] [수학식]

[0079] $Q=Kt^{1/2}$

[0080] 상기 수학적식에서 Q는 부분 약물 방출량, K는 키네틱 상수, t는 방출 시간이다.

[0081] 도 7을 참조하면 다른 형태의 약물 전달체들은 선형성을 나타내어 히구치 모델(Higuchi model)에 부합함을 알 수 있다. 이와 같이 도 7에서 시간의 제곱근에 대한 누적 방출량의 증가가 직선적 관계를 나타내는 것은 본 발명의 약물 전달체로부터의 약물 방출이 조절 방출형(controlled release)이라는 것을 의미한다.

실시예 3

[0082] 실시예 3은 실제 약물, 즉, 항암제인 파클리탁셀(Paclitaxel, PTX)를 함유한 고분자 약물 전달체의 제조방법에 관한 것이다.

[0083] 폴리락트산-글리콜산 공중합체(100mg/mL) 및 파클리탁셀(10mg/mL)을 디메틸아세트아미드에 용해하여 고분자 잉크를 제조하였고, 상기 잉크의 물성은 25°C에서 점도는 5.99cps 표면장력은 35.40dynes/cm가 되도록 하였다.

[0084] 이후, 원형(circle), 격자무늬형(grid), 벌집형(honeycomb), 고리형(ring)으로 약물 전달체를 프린팅할 비트맵 이미지를 만들고, 이에 따라 슬라이드 글라스 상에 프린팅하였다. 이때, 프린팅 조건은 파이어링 전압(firing voltage) 20~23V, 진동수(frequency) 5 kHz, 프린터 노즐 및 플레이트의 온도는 28~31°C로 유지하였다. 또한, 적층수는 30으로 하여 고분자 약물 전달체를 제작하였다.

[0085] 상기 방법으로 제조된 고분자 약물 전달체의 물성은 하기 표 5에 나타낸 바와 같다.

표 5

[0086]

Shape	PTX loading capacity (µg)	Weight (µg)	Height (µm)	Volume (µm ³)	Total surface area (µm ²)	Relative surface area
원형	0.34	6.5	28	3,357,288	235,123	1.00
격자무늬형	0.34	6.5	25	3,010,000	398,800	1.69
벌집형	0.32	6.0	23	3,378,033	579,740	2.46
고리형	0.34	6.5	25	3,477,864	367,405	1.56

[0087] 상기 프린팅된 고분자 약물 전달체는 나노뷰 정밀 비접촉 표면형상 측정기(Nano view, High accuracy non-contact surface profiler)로 형태를 측정하였다.

[0088] 표 5에 따르면, 상기 약물 전달체의 형태별로, PTX 로딩(loading) 양과 전달체의 무게는 같거나 비슷했다. 또한, 약물 전달체의 부피는 약 10% 범위 내에서 크거나 작았다.

[0089] 이에 반해, 약물 전달체의 전체 표면적에 있어서는 형태별로 큰 차이를 보였으며, 벌집형 > 격자무늬형 > 고리형 > 원형 순으로 표면적이 넓었다. 특히, 구멍이 많고 복잡한 형태인 벌집형은 원형에 비하여 약 2.46배 표면적이 더 넓었으며, 격자무늬형과 고리형도 원형보다 약 1.56~1.69배의 표면적이 더 넓은 것을 확인할 수 있었다.

[0090] **시험예 6: 실시예 3에 따라 제조된 고분자 약물 전달체의 형태별 약물 방출속도**

- [0091] 동일한 형태의 약물 전달체 200개와 유화제인 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트(Polyoxyethylene Sorbitan Monooleate, 상품명 tween 80)가 0.1% 함유된 PBS(pH 7.4) 5mL를 같은 시험관 안에 넣고 일정 시간마다 샘플을 취하였다. 이때, 상기 시험관들은 37°C의 물 안에서, 50rpm의 속도로 움직이도록 하였다. 샘플을 취한 후에는 tween 80이 0.1% 함유된 PBS 5 mL을 새로 교체하여 다음 샘플을 취하였다.
- [0092] PTX 약물방출 속도분석은 고속액체크로마토그래피(HPLC)와 UV 디텍터(detector)를 사용하였으며, 이때, UV 파장은 205nm, 유속(flow rate) 1.0 mL/min, 이동상은 AcN과 물을 50:50 비율로 혼합하여 사용하였다.
- [0093] 시험예 6에 따른 약물 방출속도 그래프를 도 9a 및 도 9b에 나타내었다. 여기서, 도 9a는 일별(days) 누적 방출량을 나타낸 것이고, 도 9b는 도 9a의 그래프에서 처음 0~6시간 동안의 이니셜 버스트를 나타낸 것이다.
- [0094] 도 9a 및 도 9b에 따르면, 1일째, 약물 전달체의 겉 표면에 있는 PTX 방출로 인해 이니셜 버스트(initial burst)가 일어났고, 2일째부터 PTX가 서서히 방출되었다.
- [0095] 약물 전달체의 형태별로 살펴보면, 벌집형의 경우 6일째에 거의 100%의 PTX가 방출되었고 격자무늬형과 고리형은 80%, 원형은 60%가 방출되었다. 이는 표면적이 넓은 구조일수록 PBS와 접촉하는 면적이 크며, 이에 따라 방출속도가 빨라지는 것을 알 수 있었다.
- [0096] 도 10은 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체가 시간에 따라 분해되는 모습을 나타낸 SEM 이미지이다.
- [0097] 도 10에 따르면, 'Day 0'에서는 분해시험 전의 약물 전달체가 기관 위에 프린팅 모습을 확인할 수 있다. 2일째, PBS 안에서 가수분해 반응이 일어나면서 약물 전달체들의 분해가 상당히 진행된 것을 볼 수 있었다. 특히, 격자무늬에서는 무늬가 거의 사라진 것으로 관찰되었다.
- [0098] 4일째, 약물 전달체들의 형태 왜곡이 일어나며 분해가 진행되었다. 이어서, 6일째, 원래 형태를 알아볼 수 없을 정도로 형태가 변하고 분해가 더 많이 진행되었다. 이때, 원형을 제외한 격자무늬형, 벌집형, 고리형의 약물 전달체에서는 간혹 부러진 것도 나타났다. 앞서 분해속도 그래프에서와 마찬가지로, 형태에서도 원형의 약물 전달체의 분해가 가장 더딘 것을 확인할 수 있었다.

[0099] **시험예 7: 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체의 약물 방출 상수 측정**

- [0100] 상기 실시예 3에서 제조된 약물 전달체들은 원형, 격자무늬형, 벌집형 및 고리의 약물 전달체들의 방출 속도 상수를 상기 시험예 5에서 제시한 수학적식의 히쿠치 모델(Higuchi model)을 사용하여 측정한 결과를 도 11에 나타내었다.
- [0101] 도 11에 따르면, 다른 형태의 약물 전달체들의 그래프가 선형성을 나타내어 히쿠치 모델(Higuchi model)에 부합하며, 이는 본 발명의 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체로부터의 약물 방출이 조절 방출형임을 의미한다.

[0102] **시험예 8: 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체의 인 비트로(In vitro) 세포독성 시험**

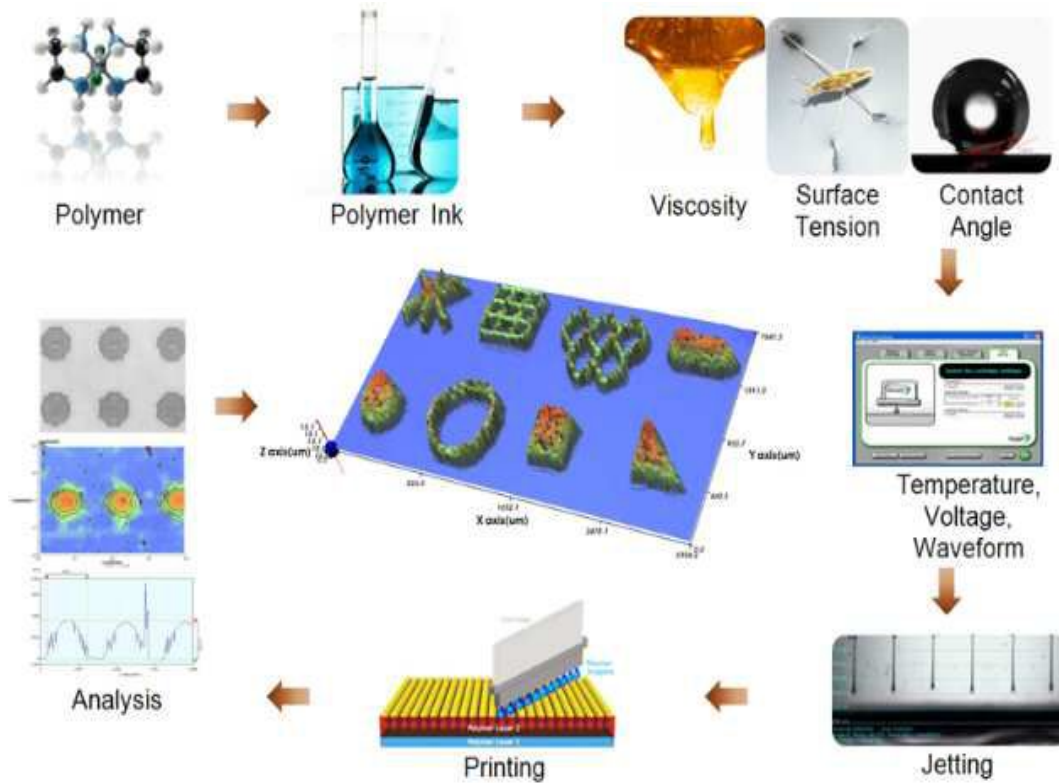
- [0103] WST 분석(assay)으로 48시간 동안 세포독성(cell cytotoxicity)을 측정하였다.
- [0104] 24 웰 플레이트(24 well plate)의 웰에 10% FBS와 1% P/S이 함유된 DMEM, HeLa cell을 1×10^4 만큼 넣고, 24시간 동안 세포 배양기 안에서 세포를 배양하였다. 배양 후 상기 실시예 3에 따라 제조된 약물 전달체를 개수를 달리하여, 즉, 각각 다른 농도별로 넣고 일정 시간 동안 세포를 배양하였다.
- [0105] 일정 시간에 도달했을 때 해당 웰에 WST 시약을 넣고 1시간 동안 세포 배양기 안에서 배양한 후, 상층액 100 μ L를 채취하여 96 웰 플레이트의 웰에 넣고 마이크로 분광광도계(micro spectrophotometer)를 이용하여 440nm에서 OD(Optical Density)값을 측정하였다.
- [0106] 시험예 8에 따른 약물 농도와 세포생존율과의 관계 그래프를 도 12에 나타내었다.
- [0107] 도 12에 따르면, 넣은 약물 전달체의 수가 많을수록, 즉 약물 농도가 높을수록 세포독성이 증가하여 세포 생존율이 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.
- [0108] 48시간 동안, 785~3925nM 범위의 PTX 농도 변화에 따른 세포독성은 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 PTX 농도가 7850 nM로 높아진 경우, 세포 생존율은 독성은 크게 증가하였다.

[0109]

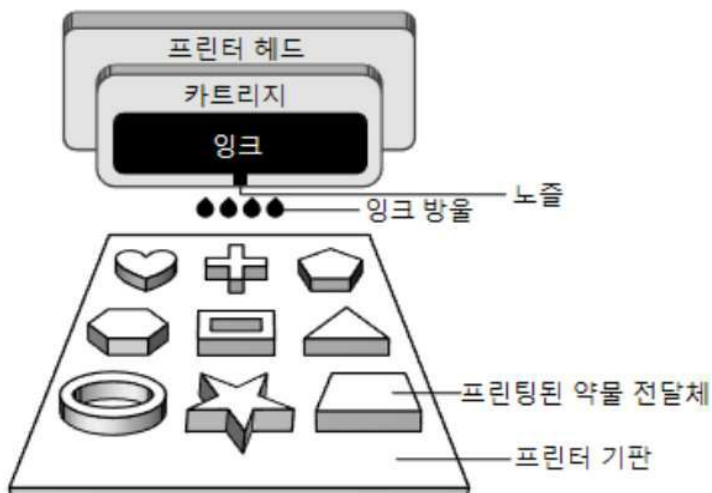
이와 같은 결과는 약물 전달체로부터 PTX가 지속적으로 방출되며 그 방출량이 세포독성 즉, 세포 생존율에 영향을 미친다는 것을 나타낸다.

도면

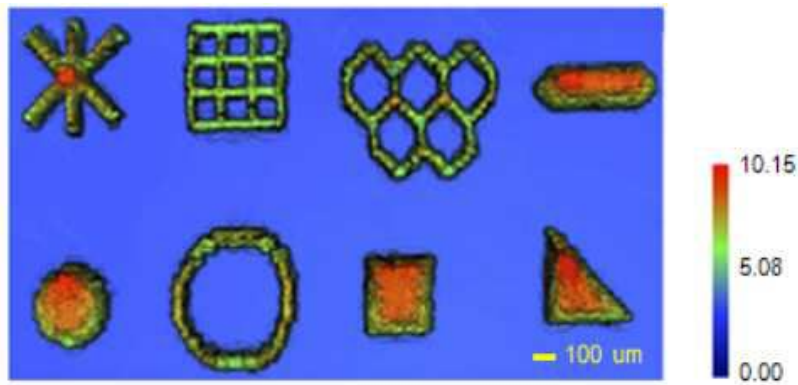
도면1



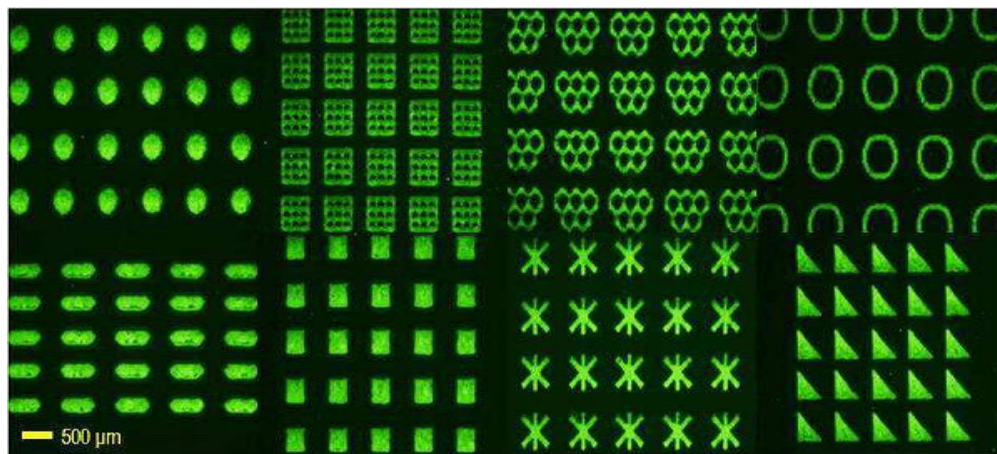
도면2



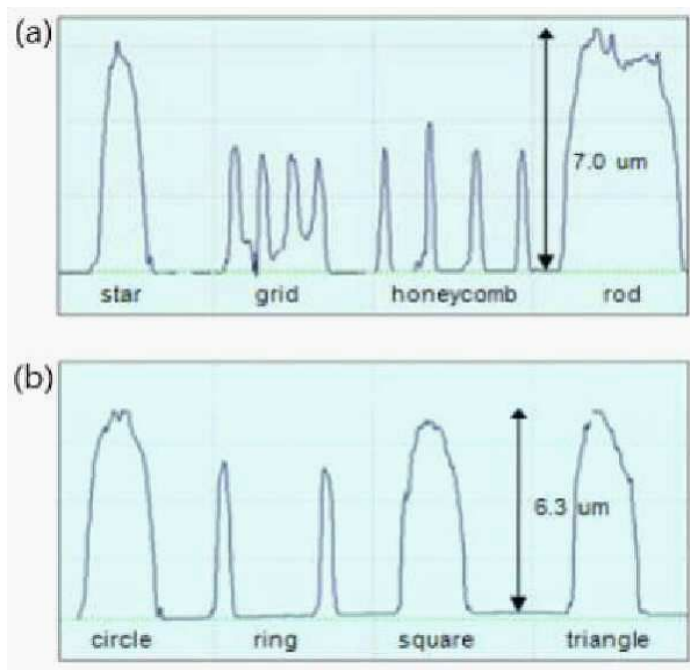
도면3



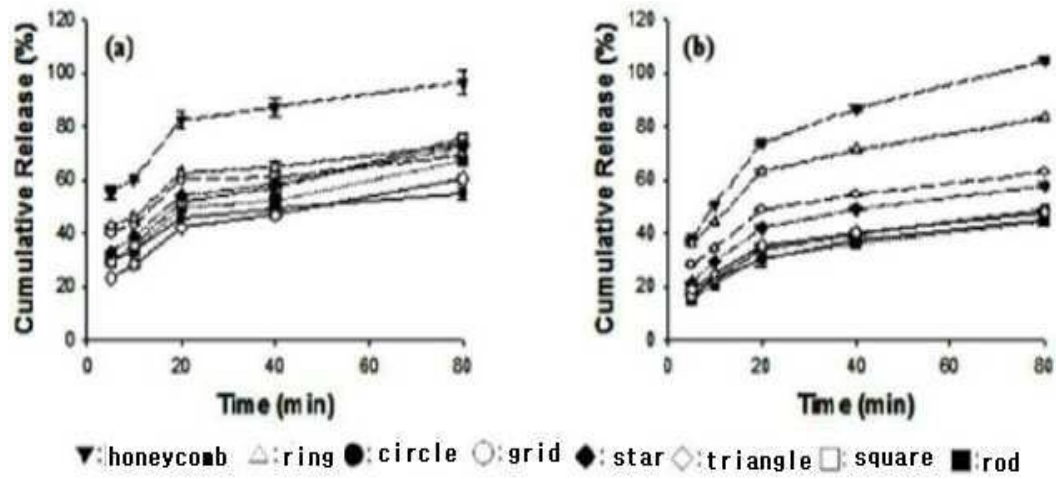
도면4



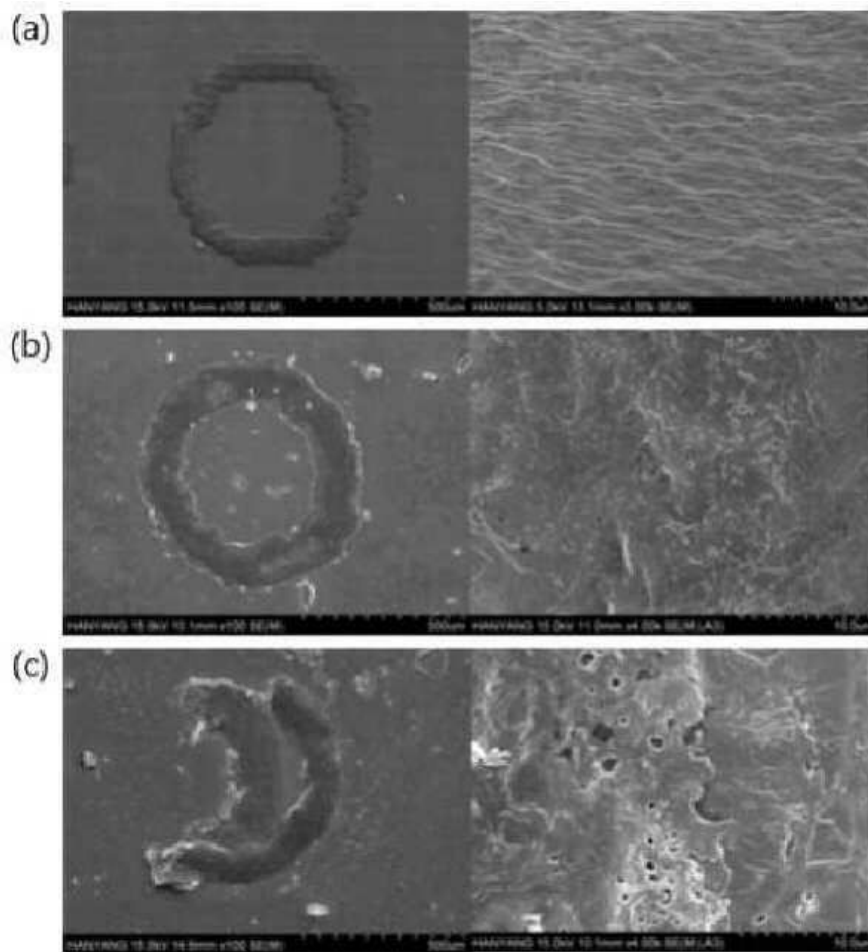
도면5



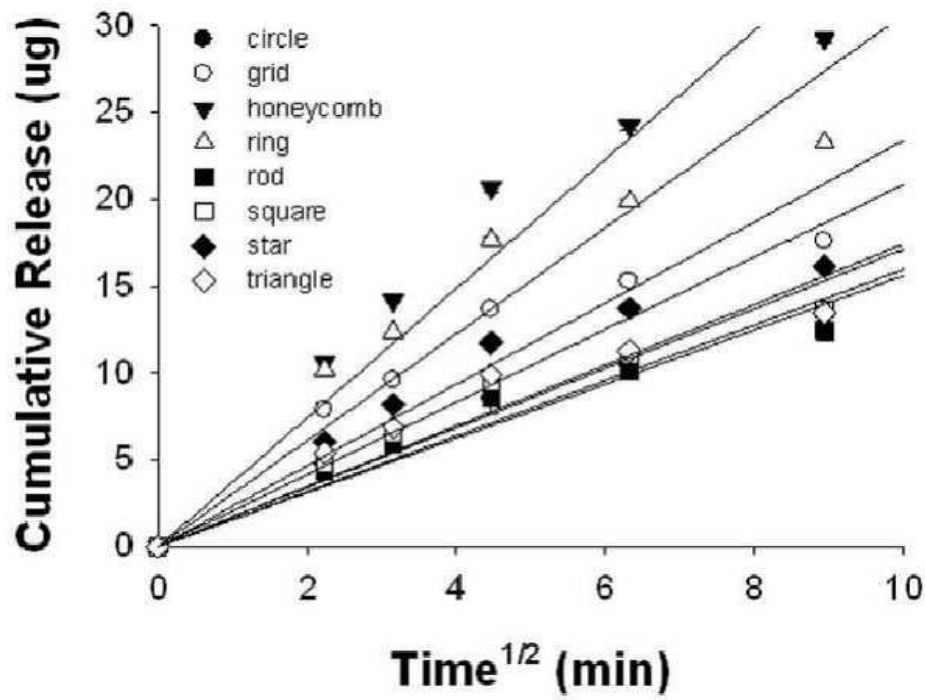
도면6



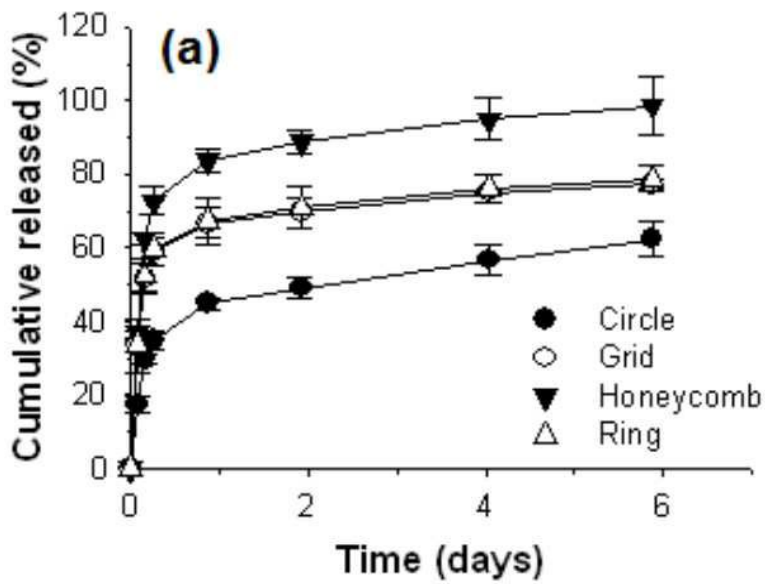
도면7



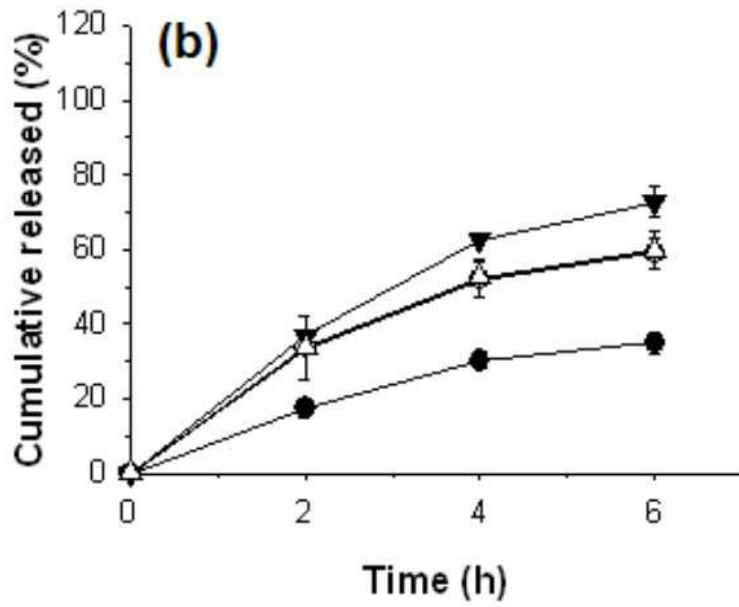
도면8



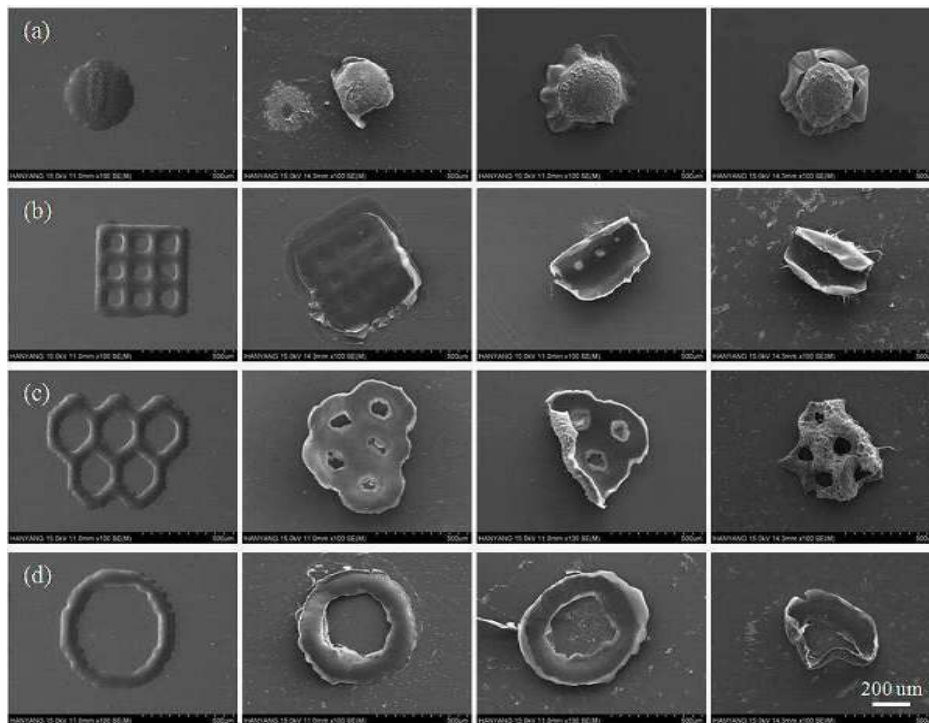
도면9a



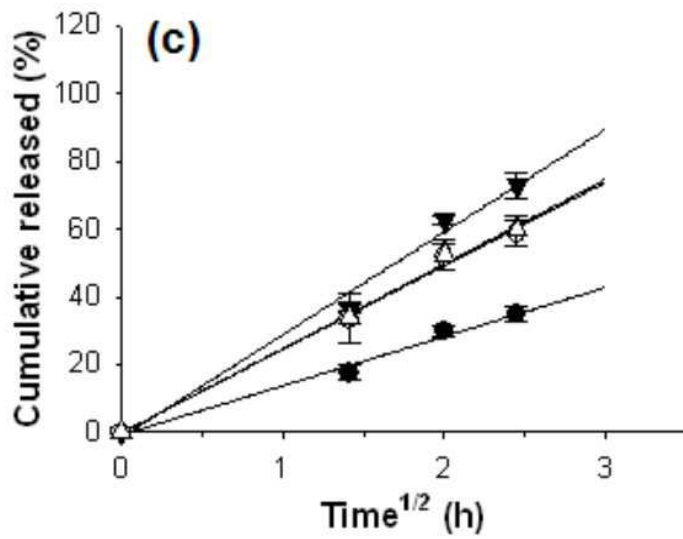
도면9b



도면10



도면11



도면12

