



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0116976
(43) 공개일자 2018년10월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08J 3/075 (2006.01) A61K 47/30 (2017.01)
C08J 3/24 (2006.01) G02C 7/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C08J 3/075 (2013.01)
A61K 47/30 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0049976
(22) 출원일자 2017년04월18일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
기초과학연구원
대전광역시 유성구 엑스포로 55(도룡동)
포항공과대학교 산학협력단
경상북도 포항시 남구 청암로 77 (지곡동)
(72) 발명자
김원중
경상북도 포항시 남구 지곡로 155 , 4동 403호 (지곡동, 교수숙소)
박정홍
대구광역시 달서구 장산남로 33 롯데캐슬아파트 106-1009
(74) 대리인
특허법인 플리스

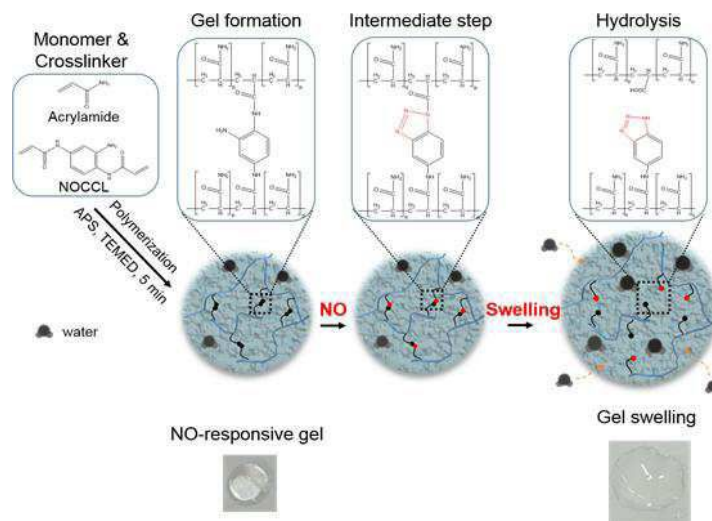
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품**

(57) 요약

본 발명은 일산화질소에 감응하여 해리되는 가교점을 포함하는 고분자형 젤 및 a) 단관능성 친수성 단량체 및 σ -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 혼합물을 중합하는 단계; 및 b) 상기 중합에 의해 형성된 하이드로젤을 분리하는 단계;를 포함하는 하이드로젤의 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/06 (2013.01)

C08J 3/24 (2013.01)

G02C 7/049 (2013.01)

C08J 2300/14 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

일산화질소에 감응하여 해리되는 가교점을 포함하는 고분자형 젤.

청구항 2

제 1항에 있어서,

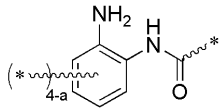
상기 가교점은 *o*-페닐렌디아민에서 유래된 것인, 고분자형 젤.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 가교점은 하기 화학식 1을 만족하는 것인, 고분자형 젤.

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서, *은 결합 부위이며, a는 0 내지 3의 실수이다.)

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 고분자형 젤은 하이드로젤인, 고분자형 젤.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 하이드로젤의 고분자 주쇄는 단관능성 친수성 단량체로부터 유래된 것인, 고분자형 젤.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 하이드로젤은 둘 이상의 관능기를 포함하는 다관능성 가교제로부터 유래된 제2가교점을 더 포함하는 것인, 고분자형 젤.

청구항 7

제 4항에 있어서,

상기 하이드로젤은 입자, 캡슐 또는 패치 형태를 가지는 것인, 고분자형 젤.

청구항 8

제 1항 내지 제 7항에서 선택되는 어느 한 항의 고분자형 젤을 포함하는 의약 전달 시스템.

청구항 9

a) 단관능성 친수성 단량체 및 *o*-페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 혼합물을 중합하는 단계; 및

b) 상기 중합에 의해 형성된 하이드로젤을 분리하는 단계;를 포함하는 하이드로젤의 제조방법.

청구항 10

제 9항에 있어서,

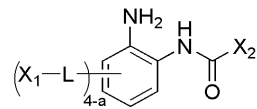
상기 중합은 수상에서 수행되는, 하이드로젤의 제조방법.

청구항 11

제 9항에 있어서,

상기 σ -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 하기 화학식 2를 만족하는 것인, 하이드로젤의 제조방법.

[화학식 2]



(상기 화학식 2에서, L은 -NHCO-, -RO-, -ORO- 또는 -RO(C=O)-이고, 이때 R은 직접결합, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기, 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 탄소수 5 내지 30의 사이클로알킬렌기, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬기로 치환된 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 또는 탄소수 6 내지 30의 아릴기로 치환된 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기이며, X₁ 및 X₂는 서로 독립적으로 -CH=CH₂ 또는 -C(CH₃)=CH₂이며, a는 0 내지 3의 실수이다.)

청구항 12

제 9항에 있어서,

상기 단관능성 친수성 단량체: σ -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 1000: 0.289 내지 2.89의 몰비로 혼합되는, 하이드로젤의 제조방법.

청구항 13

σ -페닐렌디아민 잔기를 망상 구조의 가교점으로 포함하여 망상 구조의 메쉬 크기를 조절하는 방법.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 메쉬 크기는 일산화질소에 의해 선택적으로 조절되는 것인, 망상 구조의 메쉬 크기를 조절하는 방법.

청구항 15

제 1항 내지 제 7항에서 선택되는 어느 한 항의 고분자형 젤을 이용하여 배기가스 내 질소산화물을 검출하는 방법.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 질소산화물은 일산화질소인, 배기가스 내 질소산화물을 검출하는 방법.

청구항 17

제 15항에 있어서,

상기 고분자형 젤은 수분을 고분자형 젤의 건조 중량 대비 450 중량% 이상을 포함하는 것인, 배기가스 내 질소산화물을 검출하는 방법.

청구항 18

제 1항 내지 제 7항에서 선택되는 어느 한 항의 고분자형 젤을 포함하는 콘택트 렌즈.

청구항 19

제 18항에 있어서,

상기 콘택트 렌즈는 신생혈관생성(Angiogenesis) 억제용인, 콘택트 렌즈.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품에 관한 것으로, 상세하게, 일산화질소와 반응하여 생체 안팎의 일산화질소를 제거할 수 있으며, 일산화질소와의 감응에 의해 해리되는 가교점을 포함함으로써 고분자형 젤 내부에 담지된 약물을 효과적으로 방출할 수 있는 고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 일산화질소(NO)는 심혈관계에서 핵심적인 역할을 수행하는 신호전달 분자일 뿐만 아니라 신경계의 신경전달 물질, 혈압 조절 인자, 여러 신체 기관의 혈류 조절 인자 등 다양한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다.

[0003] 최근의 연구 결과에 따르면, 일산화질소를 생성하는 효소인 일산화질소 신타제 (nitric oxide synthase; NOS)는 몇 가지 종류가 존재하는데 뇌에 존재하는 bNOS (brain NOS), 신경계에 존재하는 nNOS(neuronal NOS), 혈관계에 존재하는 eNOS(endothelial NOS)는 체내에 항상 일정수준으로 발현되고 있으며, 이들에 의해 소량 생성되는 일산화질소는 신경전달이나 혈관확장을 유도하는 등 정상적인 신체의 항상성 유지에 중요한 역할을 한다.

[0004] 이에 반하여, 각종 사이토카인 (cytokines)이나 외부 자극물질에 의해 유도되는 iNOS(induced NOS)에 의해 급격히 과량 발생하는 일산화질소는 세포독성이나 각종 염증반응을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 만성염증이 iNOS 활성의 증가와 관련 있다는 연구가 있다(Miller M. J. et al., Mediators of inflammation, 4, pp387-396, 1995 : Appleton L. et al., Adv. Pharmacol., 35, pp27-28, 1996).

[0005] 이에 따라, 일산화질소를 제거해줄 뿐만 아니라, 이에 감응하여 내부에 담지된 약물 등을 방출하여 궁극적으로 치료 용도로 사용할 수 있는 치료제의 개발이 필요하다.

[0006] 아울러, 자동차 배기가스에서 많이 나오는 질소산화물(NOx)의 경우, 대부분 일산화질소의 형태이며, 이를 효과적으로 제거할 수 있는 물질의 개발 또한 필요한 실정이다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Miller M. J. et al., Mediators of inflammation, 4, pp387-396, 1995.
 (비특허문헌 0002) Appleton L. et al., Adv. Pharmacol., 35, pp27-28, 1996.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 일산화질소와의 감응에 의해 가교 구조가 효과적으로 해리될 수 있는 고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

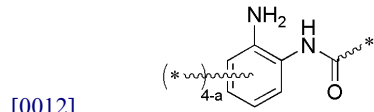
과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 양태는 일산화질소에 감응하여 해리되는 가교점을 포함하는 고분자형

젤에 관한 것이다.

[0010] 상기 일 양태에 있어, 상기 가교점은 α -페닐렌디아민에서 유래된 것일 수 있으며, 구체적으로, 상기 가교점은 하기 화학식 1을 만족하는 것일 수 있다.

[0011] [화학식 1]



[0013] (상기 화학식 1에서, *은 결합 부위이며, a는 0 내지 3의 실수이다.)

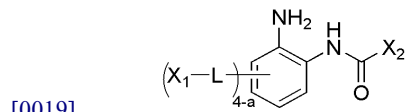
[0014] 상기 일 양태에 있어, 상기 고분자형 젤은 하이드로젤일 수 있다. 이때 상기 하이드로젤의 고분자 주쇄는 단관능성 친수성 단량체로부터 유래된 것일 수 있으며, 상기 하이드로젤은 입자, 캡슐 또는 패치 형태를 가지는 것일 수 있다. 또한, 상기 하이드로젤은 둘 이상의 관능기를 포함하는 다관능성 가교제로부터 유래된 제2가교점을 더 포함하는 것일 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명의 다른 일 양태는 상기 고분자형 젤을 포함하는 의약 전달 시스템에 관한 것이다.

[0016] 또한, 본 발명의 또 다른 일 양태는 a) 단관능성 친수성 단량체 및 α -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 혼합물을 중합하는 단계; 및 b) 상기 중합에 의해 형성된 하이드로젤을 분리하는 단계;를 포함하는 하이드로젤의 제조방법에 관한 것으로, 상기 중합은 수상에서 수행될 수 있다.

[0017] 상기 또 다른 일 양태에 있어, 상기 α -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 하기 화학식 2를 만족하는 것일 수 있다.

[0018] [화학식 2]



[0020] (상기 화학식 2에서, L은 -NHCO-, -RO-, -ORO- 또는 -RO(C=O)-이고, 이때 R은 직접결합, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기, 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 탄소수 5 내지 30의 사이클로알킬렌기, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬기로 치환된 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 또는 탄소수 6 내지 30의 아릴기로 치환된 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기이며, X₁ 및 X₂는 서로 독립적으로 -CH=CH₂ 또는 -C(CH₃)=CH₂이며, a는 0 내지 3의 실수이다.)

[0021] 상기 또 다른 일 양태에 있어, 상기 단관능성 친수성 단량체: α -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 1000: 0.289 내지 2.89의 몰비로 혼합될 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명의 또 다른 일 양태는 α -페닐렌디아민 잔기를 망상 구조의 가교점으로 포함하여 망상 구조의 메쉬 크기를 조절하는 방법에 관한 것으로, 상기 메쉬 크기는 일산화질소에 의해 선택적으로 조절되는 것일 수 있다.

[0023] 또한, 본 발명의 또 다른 일 양태는 상기 고분자형 젤을 이용하여 배기가스 내 질소산화물을 검출하는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 상기 질소산화물은 일산화질소일 수 있으며, 상기 고분자형 젤은 수분을 고분자형 젤의 건조 중량 대비 450 중량% 이상을 포함하는 것일 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명의 또 다른 일 양태는 상기 고분자형 젤을 포함하는 콘택트 렌즈에 관한 것으로, 상기 콘택트 렌즈는 신생혈관생성(Angiogenesis) 억제용일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명에 따른 고분자형 젤은 일산화질소에 감응하여 해리되는 가교점을 포함함으로써, 일산화질소에 감응 가능하여 신체 안팎의 불필요한 일산화질소를 제거할 수 있을 뿐만 아니라, 일산화질소가 존재하는 환경에서 고분자형 젤의 고분자 주쇄와 가교 구조를 형성하고 있는 가교점이 일산화질소와의 감응에 의해 해리됨으로써 젤 내부에 담지된 약물을 방출할 수 있다는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [0026] 도 1은 본 발명의 일 예에 따른 고분자형 젤의 제조방법과 일산화질소에 감응하여 고분자형 젤의 가교점이 해리되는 과정을 간략하게 도시한 것이다.
- 도 2는 기체 상태의 일산화질소와 실시예 1(NO-responsive gel)과 비교예 1(control gel)의 젤을 반응시킨 후 고분자형 젤의 물성을 평가한 사진이다.
- 도 3은 일산화질소 용액의 농도를 달리하여 실시예 1(a) 및 비교예 1(b)의 젤 각각의 상대 팽윤율을 나타낸 자료이다.
- 도 4는 일산화질소 용액 처리 전(c)과 후(d) 각각의 주사전자현미경(SEM) 이미지이다.
- 도 5는 실시예 1(NO-responsive gel)과 비교예 1(control gel)의 일산화질소 용액의 농도 및 주파수 변화에 따른 탄성계수(G')의 로그(log) 값을 나타낸 자료이다.
- 도 6은 실시예 1(NO-responsive gel)과 비교예 1(control gel)의 일산화질소 용액의 농도 및 주파수 변화에 따른 탄성계수(G')의 로그값 및 손실계수(G'')의 로그값을 각각 나타낸 자료이다. 일산화질소 용액의 농도가 따로 표시되지 않은 도면은 물로만 처리한 것이다.
- 도 7은 일산화질소 감응 젤(NO-responsive gel)과 대조 젤(control gel)에 있어서, 물 또는 일산화질소 용액 처리, 및 시간 변화에 따른 BSA 방출 정도를 나타낸 자료이다.
- 도 8의 a는 RAW 264.7 세포에 LPS 처리 후 실시예 1의 젤과 반응시키는 과정을 간략하게 도시한 것이며, 도 8의 b는 RAW 264.7 세포와 NIH/3T3 세포 각각에서 LPS 미처리(LPS-) 시와 처리(LPS+) 시의 일산화질소 생성 농도를 나타낸 자료이며, 도 8의 c는 실시예 1(NO-responsive gel)과 비교예 1(control gel)의 젤 각각을 LPS 미처리된(-LPS) RAW 264.7 세포, 또는 NIH/3T3 세포와 LPS 처리된(+LPS) RAW 264.7 세포, NIH/3T3 세포 각각과 배양했을 시, 젤의 상대 팽윤도를 나타낸 것이며, 도 8의 d는 LPS 처리 또는 미처리된 RAW 264.7 세포, NIH/3T3 세포 각각과 실시예 1(NO-responsive gel)과 비교예 1(control gel)의 젤 각각을 배양한 후의 젤의 실사진이다.
- 도 9는 실시예 2에 따라 나노 크기로 제조된 하이드로젤 나노입자의 크기 분포도 및 주사전자현미경(SEM) 이미지이다.
- 도 10의 a는 화합물 4의 ^1H NMR 데이터이며, 도 10의 b는 일산화질소와 감응하여 해리된 화합물 4의 ^1H NMR 데이터이다.

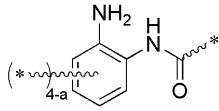
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0027] 이하 첨부한 도면들을 참조하여 본 발명에 따른 고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품에 대하여 상세히 설명한다. 다음에 소개되는 도면들은 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 예로서 제공되는 것이다. 따라서, 본 발명은 이하 제시되는 도면들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 이하 제시되는 도면들은 본 발명의 사상을 명확히 하기 위해 과장되어 도시될 수 있다. 또한 명세서 전체에 걸쳐서 동일한 참조번호들은 동일한 구성요소들을 나타낸다.
- [0028] 이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.
- [0029] 본 발명은 일산화질소와의 감응에 의해 가교 구조가 효과적으로 해리될 수 있는 고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품에 관한 것으로, 일산화질소와 반응하여 생체 안팎의 일산화질소를 제거할 수 있으며, 일산화질소와의 감응에 의해 해리되는 가교점을 포함함으로써 고분자형 젤 내부에 담지된 약물을 효과적으로 방출할 수 있는 고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품을 제공한다.
- [0030] 상세하게, 본 발명의 일 예에 따른 고분자형 젤은 도 1에 도시된 바와 같이, 일산화질소에 감응하여 해리되는 가교점을 포함하는 것일 수 있다. 이처럼 일산화질소에 감응 가능하여 신체 안팎의 불필요한 일산화질소를 제거할 수 있을 뿐만 아니라, 일산화질소가 존재하는 환경에서 고분자형 젤의 고분자 주쇄와 가교 구조를 형성하고 있는 가교점이 일산화질소와의 감응에 의해 해리됨으로써 고분자형 젤 내부에 담지된 약물을 방출할 수 있다는 장점이 있다.

[0031] 보다 상세하게, 본 발명의 일 예에 있어, 상기 가교점은 일산화질소와 감응하여 해리될 수 있는 화학 구조를 가진 것이라면 특별히 한정하지 않으며, 구체적으로 예를 들면, 가교점은 *o*-페닐렌디아민에서 유래된 것일 수 있다. *o*-페닐렌디아민으로부터 유래된 가교점은 일산화질소와의 반응에 의해, 도 1에 도시된 바와 같이, 아미드 치환된 벤조트리아졸 중간체(amide-substituted benzotriazole intermediate) 잔기를 형성할 수 있으며, 이 중간체 잔기가 가수분해되어 벤조트리아졸 잔기와 카르복실산 잔기로 각각 분해될 수 있다.

[0032] 구체적인 일 예시로, 상기 가교점은 하기 화학식 1을 만족하는 것일 수 있다.

[0033] [화학식 1]

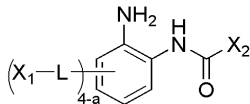


[0034] (상기 화학식 1에서, *은 결합 부위이며, a는 0 내지 3의 실수이다.)

[0035] 화학식 1을 만족하는 가교점을 포함함으로써 고분자형 젤이 일산화질소에 효과적으로 감응할 수 있으며, 일산화질소에 감응 후 가교 구조가 용이하게 해리될 수 있다.

[0037] 이와 같은 가교점은 하기 화학식 2를 만족하는 가교체인 *o*-페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체로부터 형성된 것일 수 있다.

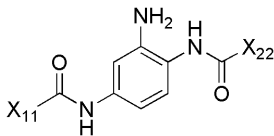
[0038] [화학식 2]



[0039] (상기 화학식 2에서, L은 -NHCO-, -RO-, -ORO- 또는 -RO(C=O)-이고, 이때 R은 직접결합, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기, 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 탄소수 5 내지 30의 사이클로알킬렌기, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬기로 치환된 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 또는 탄소수 6 내지 30의 아릴기로 치환된 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기이며, X₁ 및 X₂는 서로 독립적으로 -CH=CH₂ 또는 -C(CH₃)=CH₂이며, a는 0 내지 3의 실수이다.)

[0041] 보다 바람직하게, *o*-페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 하기 화학식 3을 만족하는 것일 수 있다. 이를 만족함으로써 일산화질소에 감응하며, 가수분해에 의해 해리될 수 있는 가교제를 용이하여 합성할 수 있으며, 고분자형 젤 제조 또한 용이할 수 있다. 아울러, 일산화질소에 대한 선택도 및 감도가 우수할 수 있다.

[0042] [화학식 3]



[0043] (상기 화학식 3에서, X₁₁ 및 X₂₂는 서로 독립적으로 -CH=CH₂ 또는 -C(CH₃)=CH₂이다.)

[0045] 한편, 본 발명의 일 예에 따른 고분자형 젤은 바람직하게는 하이드로젤일 수 있다. 하이드로젤은 수화젤이라고도 칭하는데, 친수성 고분자가 공유 또는 비공유 결합으로 가교되어져 만들어진 3차원 망상 구조물을 말한다. 이와 같은 하이드로젤은 수용액 내에서 용해되지는 않지만 많은 양의 물을 흡수하며 팽윤하는 성질을 가지며, 일반적으로 다량의 수분을 함유하고 있으므로 액체와 고체의 중간 성질을 갖는 것이 특징이다.

[0046] 즉, 본 발명의 일 예에 따른 하이드로젤은 고분자 주쇄와 고분자 주쇄에 가교 결합된 가교점을 포함하는 것일 수 있다.

[0047] 본 발명의 일 예에 있어, 고분자 주쇄는 당업계에서 통상적으로 사용되는 것이라면 특별히 한정하지 않고 사용할 수 있으며, 구체적으로 예를 들면 하이드로젤의 고분자 주쇄는 단관능성 친수성 단량체로부터 유래된 것일

수 있다. 이때, 단관능성 친수성 단량체는 친수성 아크릴계 단량체일 수 있으며, 구체적인 일 예시로, 친수성 아크릴계 단량체는 하이드록시기가 1 내지 3개 치환된 탄소수 1 내지 15의 하이드록시알킬 메타크릴레이트, 하이드록시기가 1 내지 3개 치환된 탄소수 1 내지 15의 하이드록시알킬 아크릴레이트, 아크릴아미드(acrylamide), 비닐 피롤리돈(vinyl pyrrolidone), 글리세롤 메타크릴레이트(glycerol methacrylate), 아크릴산 및 메타크릴산 등에서 선택된 하나 또는 둘 이상일 수 있다. 보다 구체적인 예를 들어, 2-하이드록시에틸 메타크릴레이트(2-hydroxyethyl methacrylate, HEMA), 아크릴아미드, N,N-디메틸 아크릴아미드(N,N-dimethyl acrylamide, DMA), N-비닐 피롤리돈(N-vinyl pyrrolidone, NVP), 글리세롤 모노메타크릴레이트(glycerol monomethacrylate, GMMA) 및 메타크릴산(methacrylic acid, MAA) 등에서 선택된 하나 또는 둘 이상일 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0048] 이와 같은 하이드로젤은 일산화질소와의 반응에 의해 가교점이 해리될 수 있으며, 모든 가교점이 해리될 시 가교 구조가 완전히 절단되어 고분자형 젤이 졸 형태로 전환될 수 있으며, 이에 의해 내부에 약물이 담지된 하이드로젤의 경우, 약물이 특히 빠르게 방출될 수 있다는 장점이 있다.

[0049] 한편, 본 발명의 일 예에 따른 하이드로젤은 둘 이상의 관능기를 포함하는 다관능성 가교제로부터 유래된 제2가교점을 더 포함할 수 있다. 이 제2가교점 또한 고분자 주쇄에 가교 결합된 것일 수 있으며, 제2가교점은 일산화질소에 감응하지 않는 화학 구조를 가진 것일 수 있다. 이 양태에 따른 하이드로젤은 고농도의 일산화질소와 반응하더라도 일정 이상의 가교 결합이 잔재함으로써, 팽윤 시에도 하이드로젤의 형태가 유지될 수 있으며, 일산화질소와의 반응에 의해 하이드로젤이 팽윤되어 Mesh 크기가 증가할 수 있다. 또한 이에 의해 내부에 약물이 담지된 하이드로젤의 경우, 일산화질소에 감응하여 약물이 용이하게 방출될 수 있다.

[0050] 이와 같은 제2가교점은 둘 이상의 관능기를 포함하는 다관능성 가교제로부터 유래된 것일 수 있으며, 이때 둘 이상의 관능기를 포함하는 다관능성 가교제는 통상적으로 사용되는 것이라면 특별히 한정하지 않고 사용할 수 있다. 구체적으로, 둘 이상의 관능기를 포함하는 다관능성 가교제는 둘 이상의 아크릴기, 메타크릴기 또는 비닐기를 포함하는 것이라면 모두 사용 가능하며, 비 한정적인 일 예시로, 에틸렌글리콜 디아크릴레이트, 에틸렌글리콜 디메타크릴레이트, 폴리(에틸렌글리콜) 디아크릴레이트, 폴리(에틸렌글리콜) 디메타크릴레이트, 1,6-헥산디올 디아크릴레이트, 1,6-헥산디올 디메타크릴레이트, 트리(프로필렌글리콜) 디아크릴레이트, 트리(프로필렌글리콜) 디메타크릴레이트, 트리메틸올프로판 트리아크릴레이트, 트리메틸올프로판 트리메타크릴레이트, 펜타에리스리톨 디아크릴레이트, 펜타에리스리톨 디메타크릴레이트, 펜타에리스리톨 트리아크릴레이트, 펜타에리스리톨 트리메타크릴레이트, 펜타에리스리톨 테트라아크릴레이트, 펜타에리스리톨 테트라메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 디아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 디메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 트리아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 트리메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 테트라아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 테트라메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 펜타아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 펜타메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 헥사아크릴레이트 및 디펜타에리스리톨 헥사메타크릴레이트 등에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상일 수 있으며, 반드시 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 본 발명의 일 예에 있어, 하이드로젤의 크기 및 형태는 크게 제한되지 않으며, 단관능성 친수성 단량체와 α -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 비율 등을 조절하여 목적하는 바의 크기로 조절 가능하며, 형태 또한 목적하는 바에 따라 용이하게 변경할 수 있다.

[0052] 구체적인 일 예로, 본 발명의 일 예에 따른 하이드로젤은 수 mm 내지 수십 cm의 입경을 가질 수 있으며, 입자, 캡슐 또는 패치 형태 등을 가진 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0053] 이하, 전술한 고분자형 젤, 구체적인 일 예시로 하이드로젤을 제조하는 방법에 대하여 설명한다.

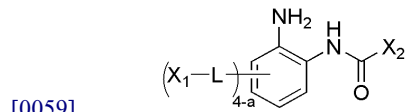
[0054] 상세하게, 본 발명의 일 예에 따른 하이드로젤의 제조방법은, a) 단관능성 친수성 단량체 및 α -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 혼합물을 중합하는 단계; 및 b) 상기 중합에 의해 형성된 하이드로젤을 분리하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0055] 이를 통해 일산화질소에 감응하여 해리되는 가교점을 포함하는 하이드로젤을 제조할 수 있다. 제조된 하이드로젤은 일산화질소에 감응 가능하여 신체 안팎의 불필요한 일산화질소를 제거할 수 있을 뿐만 아니라, 일산화질소가 존재하는 환경에서 하이드로젤의 고분자 주쇄와 가교 구조를 형성하고 있는 가교점이 일산화질소와의 감응에 의해 해리됨으로써 하이드로젤 내부에 담지된 약물을 방출할 수 있다는 장점이 있다.

[0056] 먼저, a) 단관능성 친수성 단량체 및 α -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 혼합물을 중합하는 단계를 수행할 수 있다.

[0057] 본 발명의 일 예에 있어, 상기 *o*-페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 하기 화학식 2를 만족하는 것일 수 있다.

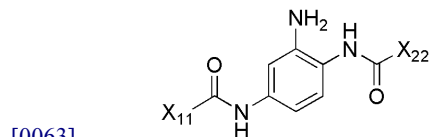
[0058] [화학식 2]



[0060] (상기 화학식 2에서, L은 -NHCO-, -RO-, -ORO- 또는 -RO(C=O)-이고, 이때 R은 직접결합, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기, 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 탄소수 5 내지 30의 사이클로알킬렌기, 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬기로 치환된 탄소수 6 내지 30의 아릴렌기, 또는 탄소수 6 내지 30의 아릴기로 치환된 탄소수 1 내지 20의 선형 또는 분지형 알킬렌기이며, X₁ 및 X₂는 서로 독립적으로 -CH=CH₂ 또는 -C(CH₃)=CH₂이며, a는 0 내지 3의 실수이다.)

[0061] 바람직한 일 예시로, *o*-페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 하기 화학식 3을 만족하는 것일 수 있다. 이를 만족함으로써 일산화질소에 감응하며, 가수분해에 의해 해리될 수 있는 가교제를 용이하여 합성할 수 있으며, 고분자형 젤 제조 또한 용이할 수 있다. 아울러, 일산화질소에 대한 선택도 및 감도가 우수할 수 있다.

[0062] [화학식 3]



[0064] (상기 화학식 3에서, X₁₁ 및 X₂₂는 서로 독립적으로 -CH=CH₂ 또는 -C(CH₃)=CH₂이다.)

[0065] 본 발명의 일 예에 따른 다관능성 친수성 단량체는 앞서 설명한 바와 동일할 수 있으며, 다관능성 친수성 단량체는 친수성 아크릴계 단량체일 수 있다. 구체적인 일 예시로, 친수성 아크릴계 단량체는 하이드록시기가 1 내지 3개 치환된 탄소수 1 내지 15의 하이드록시알킬 메타크릴레이트, 하이드록시기가 1 내지 3개 치환된 탄소수 1 내지 15의 하이드록시알킬 아크릴레이트, 아크릴아미드(acrylamide), 비닐 피롤리돈(vinyl pyrrolidone), 글리세롤 메타크릴레이트(glycerol methacrylate), 아크릴산 및 메타크릴산 등에서 선택된 하나 또는 둘 이상일 수 있다. 보다 구체적인 예를 들어, 2-하이드록시에틸 메타크릴레이트(2-hydroxyethyl methacrylate, HEMA), 아크릴아미드, N,N-디메틸 아크릴아미드(N,N-dimethyl acrylamide, DMA), N-비닐 피롤리돈(N-vinyl pyrrolidone, NVP), 글리세롤 모노메타크릴레이트(glycerol monomethacrylate, GMA) 및 메타크릴산(methacrylic acid, MAA) 등에서 선택된 하나 또는 둘 이상일 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0066] a)단계에 있어, 상기 다관능성 친수성 단량체와 *o*-페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 혼합비율은 제조하고자 하는 하이드로젤의 크기, 물성 등에 따라 달리 조절될 수 있다. 비 한정적인 일 예시로, 다관능성 친수성 단량체: *o*-페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체는 1000: 0.289 내지 2.89의 몰비로 혼합될 수 있으며, 바람직하게는 1000: 0.482 내지 0.964의 몰비로 혼합될 수 있다. 이와 같은 범위에서 하이드로젤이 효과적으로 형성될 수 있으며, 일산화질소 감응 후 효과적으로 팽윤되어 약물 방출 시 빠르게 약물을 방출할 수 있다.

[0067] 한편, 본 발명의 일 예에 있어, 상기 a)단계의 혼합물은 다관능성 가교제를 더 포함할 수 있다. 이때 다관능성 가교제는 고분자 주쇄와 가교 결합하여 가교 구조는 형성하나, 일산화질소와는 감응하지 않는 것일 수 있으며, 일산화질소에 감응하지 않음에 따라 하이드로젤이 고농도의 일산화질소와 반응하더라도 일정 이상의 기계적 강도와 형태를 유지할 수 있도록 할 수 있다.

[0068] 이와 같은 다관능성 가교제는 통상적으로 사용되는 것이라면 특별히 한정하지 않고 사용할 수 있다. 구체적으로, 둘 이상의 관능기를 포함하는 다관능성 가교제는 둘 이상의 아크릴기, 메타크릴기 또는 비닐기를 포함하는 것이라면 모두 사용 가능하며, 비 한정적인 일 예시로, 에틸렌글리콜 디아크릴레이트, 에틸렌글리콜 디메타크릴레이트, 폴리(에틸렌글리콜) 디아크릴레이트, 폴리(에틸렌글리콜) 디메타크릴레이트, 1,6-헥산디올

디아크릴레이트, 1,6-헥산디올 디메타크릴레이트, 트리(프로필렌글리콜) 디아크릴레이트, 트리(프로필렌글리콜) 디메타크릴레이트, 트리메틸올프로판 트리아크릴레이트, 트리메틸올프로판 트리메타크릴레이트, 펜타에리스리톨 디아크릴레이트, 펜타에리스리톨 디메타크릴레이트, 펜타에리스리톨 트리아크릴레이트, 펜타에리스리톨 트리메타크릴레이트, 펜타에리스리톨 테트라아크릴레이트, 펜타에리스리톨 테트라메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 디아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 디메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 트리아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 트리메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 테트라아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 테트라메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 펜타아크릴레이트, 디펜타에리스리톨 펜타메타크릴레이트, 디펜타에리스리톨 헥사아크릴레이트 및 디펜타에리스리톨 헥사메타크릴레이트 등에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상일 수 있으며, 반드시 이에 제한되는 것은 아니다.

[0069] 다관능성 가교제의 첨가량은 목적하는 하이드로젤의 물성에 따라 달리 조절될 수 있으며, 일 예로 다관능성 가교제는 단관능성 친수성 단량체 1 몰에 대하여 0.0001 내지 0.1 몰배로 첨가될 수 있으며, 보다 좋게는 0.005 내지 0.03 몰배로 첨가될 수 있다. 이와 같은 범위에서 하이드로젤에 기계적 강도를 부여하면서도, 일산화질소와의 감응 감도를 헤치지 않을 수 있다. 또한, 약물 전달 시, 하이드로젤 내부에 담지된 약물이 방출되는 것을 방해하지 않을 수 있다.

[0070] 또한, a)단계의 혼합물은 또한 가교 반응을 위하여 개시제 및 촉매를 더 포함할 수 있음은 물론이며, 개시제 및 촉매는 당업계에서 통상적으로 사용되는 것이라면 한정하지 않고 모두 사용 가능함을 당업자라면 알 것이다.

[0071] 한편, 본 발명의 일 예에 있어, 상기 a)단계의 중합은 수상에서 수행될 수 있다. 즉, 물에 단관능성 친수성 단량체 및 α -페닐렌디아민 잔기를 포함하는 복수의 관능기를 포함하는 단량체의 혼합물을 용해시킨 후 중합 반응을 수행할 수 있으며, 이를 통해 내부에 물을 포함하는 하이드로젤을 제조할 수 있다.

[0072] 이후, 중합 반응이 완료되면, b) 상기 중합에 의해 형성된 하이드로젤을 분리하는 단계를 수행할 수 있다. 분리 방법은 하이드로젤을 손상시키지 않고 분리할 수 있는 방법이라면 특별히 한정하지 않고 사용할 수 있다.

[0073] 한편, 본 발명은 상기 고분자형 젤을 포함하는 의약 전달 시스템을 제공할 수 있으며, 전술한 고분자형 젤에 약물을 담지한 후, 일산화질소와의 반응에 의해 고분자형 젤 내부에 담지된 약물을 방출할 수 있다. 후술하는 바와 같이, 약물이 담지된 고분자형 젤은 젤 형성 시 약물을 혼합하여 고분자형 젤을 형성함으로써 제조할 수 있으며, 약물이 담지된 고분자형 젤이 일산화질소와 반응하여 가교점이 해리됨으로써 가교 구조가 분해되어 고분자형 젤의 내부에 담지되어 있던 약물이 방출될 수 있다.

[0074] 또한, 본 발명은 α -페닐렌디아민 잔기를 망상 구조의 가교점으로 포함하여 망상 구조의 메쉬 크기를 조절하는 방법을 제공한다. 전술한 바와 같이, 본 발명의 일 예에 따른 고분자형 젤은 일산화질소와의 반응에 의해 가교점이 해리될 수 있으며, 이에 의해 가교 구조가 절단되어 망상 구조의 메쉬 크기가 증가할 수 있다. 이와 같은 메쉬 크기는 망상 구조의 가교점의 비율에 따라 조절될 수 있으며, 또는 일산화질소에 의해 가교 구조가 절단됨으로써 선택적으로 조절될 수 있다. 즉, 일산화질소에 의해 일부 가교점이 해리됨으로써 메쉬 크기가 선택적으로 조절될 수 있으며, 이는 일산화질소의 농도 등에 의해 조절 가능할 수 있다.

[0075] 아울러, 본 발명은 전술한 고분자형 젤을 이용하여 배기가스 내 질소산화물을 검출하는 방법을 제공한다. 본 발명에 따른 고분자형 젤은 질소산화물, 특히 일산화질소와의 반응에 의해 가교 구조가 붕괴되어 그 기계적 물성이 저하될 수 있으며, 하이드로젤의 형태, 팽윤율, 탄성계수, 손실계수 등의 변화를 통해 일산화질소 존재 여부 및 농도를 검출할 수 있다.

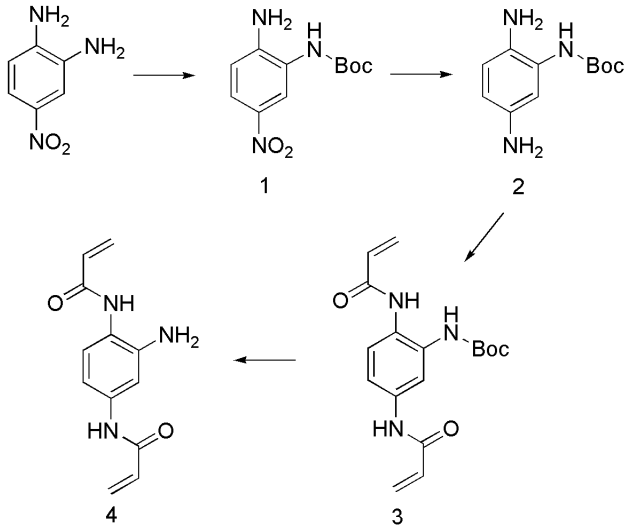
[0076] 일 구체예로, 팽윤율에 의해 배기가스 내 질소산화물을 검출할 수 있으며, 고분자형 젤은 수분을 고분자형 젤의 건조 중량 대비 450 중량% 이상을 포함하는 것일 수 있다. 바람직하게는 1000 중량% 이상, 더욱 바람직하게는 1400 중량% 이상의 수분을 포함하는 것이 고분자형 젤을 효과적으로 팽윤시킴에 있어 좋다. 이때, 수분의 상한은 특별히 한정하진 않으나, 4650 중량% 이하일 수 있다. 이때, 상기 수분의 양은 [(수분 흡수 후 고분자형 젤의 중량 - 고분자형 젤의 건조 중량)/고분자형 젤의 건조 중량]×100의 식을 통해 산출될 수 있다.

[0077] 또한, 본 발명은 전술한 고분자형 젤을 포함하는 컨택트 렌즈를 제공한다. 이와 같은 컨택트 렌즈는 신생혈관생성(Angiogenesis) 억제용일 수 있는데, 신생혈관생성 질병을 가진 환자는 안구로부터 일산화질소가 배출되어 그 질병이 악화될 수 있다. 이에 따라, 본 발명에 따른 고분자형 젤을 포함하는 컨택트 렌즈를 사용할 시, 고분자형 젤에 일산화질소가 포집되어 신생혈관생성 질병을 억제시킬 수 있다는 장점이 있다.

[0078] 이하 실시예를 통해 본 발명에 따른 고분자형 젤과 이의 제조방법, 및 이를 포함하는 물품에 대하여 더욱 상세히 설명한다. 다만 하기 실시예는 본 발명을 상세히 설명하기 위한 하나의 참조일 뿐 본 발명이 이에 한정되는

것은 아니며, 여러 형태로 구현될 수 있다. 또한 달리 정의되지 않은 한, 모든 기술적 용어 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자 중 하나에 의해 일반적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 설명에 사용되는 용어는 단지 특정 실시예를 효과적으로 기술하기 위함이고 본 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 또한 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 사용되는 단수 형태는 문맥에서 특별한 지시가 없는 한 복수 형태도 포함하는 것으로 의도할 수 있다. 또한 명세서에서 특별히 기재하지 않은 첨가물의 단위는 중량%일 수 있다.

[0079] [제조예 1] 가교제(NOCCL)의 합성



[0080]

[0081] **화합물 1:** 25℃에서, 4-니트로-*o*-페닐렌디아민(1 g, 6.53 mmol)과 구아니딘염산(15 mol%)를 에탄올 20 ml에 용해시킨 반응용액에 디-*t*-부틸디카보네이트(2.85 mg, 13.06 mmol)를 적하(dropping)한 후, 35~40℃를 유지하여 40시간동안 격렬하게 교반하였다. 반응완료 후 반응용액 내 유기용매를 감압 증발시키고, 에틸아세테이트로 3회 추출하여 건조한 후 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 **화합물 1**을 수득하였다(수율: 74 중량%, 1.22 g). 상기 도식(scheme)에서 Boc는 -COO-*t*-C₄H₉이다.

[0082]

화합물 2: 질소 분위기 하에서, **화합물 1**(0.6 g)의 용액(in 무수 테트라히드로푸란(dry THF), 10 ml)에 10 중량%의 팔라듐이 로딩된 탄소 촉매(10 wt% Pd/C, 60 mg)를 첨가한 후, 질소 대신 수소 분위기(40 psi)로 전환하여 25℃에서 36시간동안 교반하였다. 반응완료 후 셀라이트[®] 545 AW(Celite[®] 545 AW)를 사용하여 Pd/C를 여과 제거하고, 여과액을 건조하여 추가 정제 없이 **화합물 2**를 수득하였다(수율: 96 중량%, 423 mg).

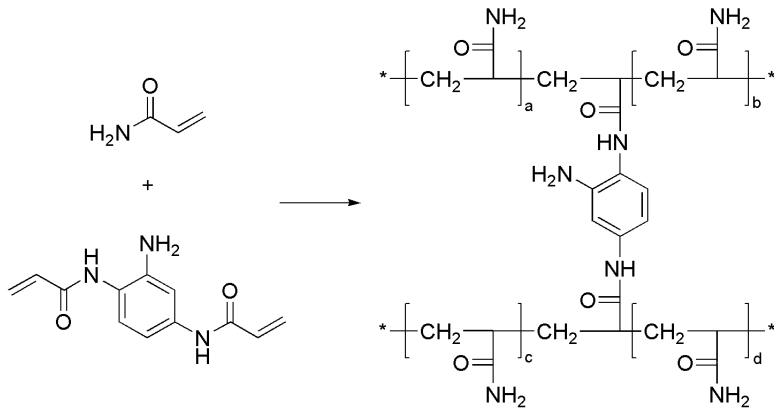
[0083]

화합물 3: 25℃에서, **화합물 2**(400 mg, 1.79 mmol)와 트리에틸아민(723.16 mg, 7.16 mmol)을 무수 THF에 용해시킨 반응용액에 아크릴로일 클로라이드(648.05 mg, 7.16 mmol)를 적하한 후, 25℃에서 24시간 동안 격렬하게 교반하였다. 반응완료 후 반응용액 내 유기용매를 감압 증발시키고, 에틸아세테이트로 3회 추출하여 건조한 후 알루미늄 크로마토그래피로 정제하여 **화합물 3**을 수득하였다(수율: 64 중량%, 379 mg).

[0084]

화합물 4(NOCCL): 얼음 욕조(ice bath) 하에서, **화합물 3**(200 mg, 0.60 mmol)의 용액(in 무수 THF 3 ml)에 4M HCl 디옥산 용액 3 ml를 첨가한 후, 25℃에서 24시간 동안 격렬하게 교반하였다. 반응완료 후 반응용액 내 유기용매를 감압 증발시키고, 에틸아세테이트로 3회 추출하여 건조한 후 알루미늄 크로마토그래피로 정제하여 **화합물 4**를 수득하였다(수율: 21 중량%, 29.11 mg).

[0085] [실시예 1] 일산화질소 감응 하이드로젤(NOR 젤)의 합성



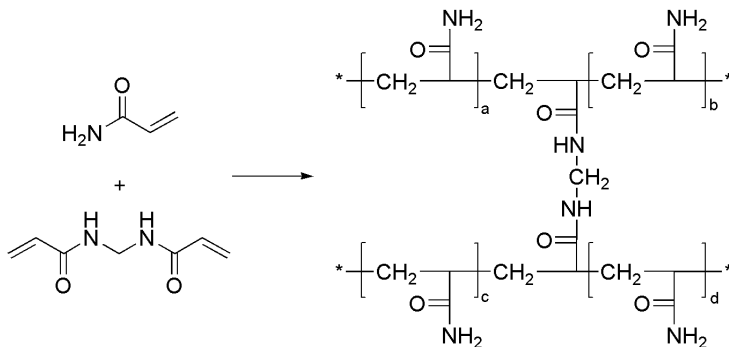
[0086]

[0087] **화합물 4**(NOCCL, 10 mg, 43.3 mmol)을 10 부피% 에탄올 수용액 100 μ l에 녹인 후, 물을 추가하여 **화합물 4**의 농도가 0.0625 w/v%가 되도록 묽힌 다음, 이 0.0625 w/v% 농도의 **화합물 4** 에탄올 수용액 10 μ l를 1.25 ml 마이크로 테스트 튜브(e-tube)에서 40 w/v% 아크릴아미드 수용액 10 μ l와 혼합하였다. 이후 8 w/v% 과황산암모늄(APS) 수용액 1 μ l와 4 w/v% 테트라메틸에틸렌디아민(TEMED) 수용액 1 μ l를 e-tube에 첨가하고 균일한 젤화를 위해 와류(vortex)처리하여 NOR 젤을 합성하였다. 이때, w/v%는 중량/부피%를 의미한다.

[0088] [실시예 2] NOR 젤 나노입자의 합성

[0089] 농도가 0.016 w/v%인 **화합물 4**(NOCCL) 에탄올 수용액 10 μ l 및 20 w/v% 아크릴아미드 수용액 10 μ l를 사용한 것 외 모든 과정일 실시예 1과 동일하게 진행하여 나노 크기의 NOR 젤 나노입자를 제조하였다. 그 크기 분포 및 주사전자현미경 이미지를 도 9에 도시하였다.

[0090] [비교예 1] 대조군 하이드로젤(CTL 젤)의 합성



[0091]

[0092] **화합물 4**(NOCCL) 대신 N,N'-메틸렌 비스아크릴아미드(40.38 mmol)를 사용한 것 외의 모든 과정을 실시예 1과 동일하게 진행하였다.

[0093] [물성 평가]

[0094] 1) 기체 상태의 일산화질소에 대한 감응 실험

[0095] 또한, 실시예 1(NOR 젤) 및 비교예 1(CTL 젤)을 일산화질소 또는 아르곤 가스에 직접적으로 노출하여 일산화질소 반응성을 평가하였다.

[0096] 장치를 설치하기 위해 시판되는 플라스틱 박스(가로 10 cm x 세로 13 cm x 높이 5 cm)에 도 2에 도시한 바와 같이, 가스가 들어가고 나가는 것을 허용하는 직경 0.4 cm의 구멍을 뚫었다. 그 후, 실시예 1 및 비교예 1의 젤을 코르크 판을 사용하여 박스 내부의 벽에 고정하고, 일산화질소 또는 아르곤 가스를 10분 동안 주입한 후 하이드로젤의 형태를 모니터링 하였다. 필요한 경우, 낚시 바늘(길이 2.7 mm)을 사용하여 중력에 의한 하이드로젤의 연신율을 측정하였다.

[0097] 그 결과, 일산화질소 주입 후, 실시예 1의 젤은 일산화질소와 반응하여 4분 이내에 젤이 아래로 늘어지기 시작했고, 연신 정도는 일산화질소 주입 시간에 따라 도 2에 도시된 바와 같이 점차 증가하였다. 이 결과로부터 하이드로젤 내의 NOCCL이 일산화질소 가스와의 반응에 의해 해리되고, 하이드로젤의 기계적 성질이 저하됨을 알

수 있었다. 반면, 비교예 1의 하이드로젤은 모양이 변하지 않았으나 색은 연노란색으로 변하였는데, 이는 일산화질소 가스가 하이드로젤 내의 산소와 반응하여 NO₂로 전환되었기 때문이며, 이 NO₂는 비교예 1의 하이드로젤 내부에 포획되었다. 한편, 아르곤 가스 주입 시에는, 실시예 1 및 비교예 1의 하이드로젤 모두 형태가 변하지 않았다.

[0098] 이와 같은 가스 주입 실험을 통해 실시예 1의 NOR 젤이 기체 일산화질소에 대해서도 빠른 반응성, 높은 감도 및 선택성을 가짐을 확인할 수 있었다.

[0099] 2) 물에 용해된 일산화질소에 대한 감응 실험

[0100] 먼저, 일산화질소 용액은 기존 보고된 방법에 따라 준비하였다. 상세하게, 40 ml 바이알에 증류수 10 ml를 넣고 질소 가스로 30분 동안 버블링한 후, 일산화질소 장치로 옮겼다. 일산화질소 용액을 아르곤 가스로 씻어 산소를 제거한 후 1.36 atm의 압력에서 질소 가스를 30분 동안 순환시켰다. 포화 일산화질소 용액은 20℃에서 1.88 mM의 농도를 갖는 것으로 확인되었으며, 모든 일산화질소 용액은 실험 직전에 신선하게 준비하였다.

[0101] 다음으로, 실시예 1 및 비교예 1의 하이드로젤의 초기 중량을 측정 한 후, 젤 팽윤 테스트를 위해 하이드로젤을 1.25 ml e-튜브 내 50 μl 물에서 인큐베이션 하였다. 이후, 이 하이드로젤을 물 또는 일산화질소 용액(1.57, 15.7, 157, 1570 μM) 500 μl에서 2, 4, 12, 24, 48시간 동안 인큐베이션한 후 중량을 측정하였다.

[0102] 팽윤율(S)은 수분 흡수로 인한 하이드로젤의 중량 증가 정도로 정의될 수 있으며, 하기 식에 따라 산출되었다.

[0103] $S(\text{중량}\%) = (M_f - M_i) / M_i$

[0104] 상대 팽윤율(%) = S / S_0

[0105] (여기서, M_i는 건조된 하이드로젤의 초기 중량이며, M_f는 일산화질소 용액에서 팽윤 실험 후 하이드로젤의 중량 이고, S는 일산화질소 용액에서의 팽윤율이며, S₀는 0℃의 물에서 팽윤 실험하여 상기 식과 동일한 방식에 따라 산출된 물에서의 팽윤율이다.)

[0106] 그 결과, 실시예 1의 젤이 일산화질소에 노출되지 않았을 때, 즉 물에 인큐베이션하였을 때, 실시예 1의 젤은 점차 팽창하였으며, 약 24시간까지 팽창한 후 더 이상 팽창하지 않았다. 이는 일반적인 하이드로젤의 거동으로 하이드로젤은 물을 흡수하고 팽창하여 포화 상태가 된다. 한편, 일산화질소 용액에 인큐베이션한 실시예 1의 젤은 점차적으로 팽윤되고 중합체 네트워크는 가교점인 NOCCL의 절단에 의해 해리되었다. 이에 다량의 물이 하이드로젤 네트워크에 흡수되어 포화될 때까지 계속 팽창하였다. 가장 높은 일산화질소 농도(1570 μM)에서 실시예 1의 젤의 팽윤율은 일산화질소에 노출되지 않은 젤의 팽윤율보다 1.5배 더 높았으며, 팽창의 정도는 도 3의 a에 도시된 바와 같이, 일산화질소의 농도에 크게 의존하는 것으로 관찰되었다.

[0107] 반면, 도 3의 b에 도시된 바와 같이, 절단 불가능한 가교제를 사용한 비교예 1의 젤은 일산화질소의 농도에 관계없이 일산화질소에 노출되지 않은 젤의 팽윤율보다 크게 차이 나지 않았다.

[0108] 3) 하이드로젤의 형태 측정

[0109] 주사전자현미경(SEM, JSM 7410 F, JEOL)을 사용하여 일산화질소 용액(1570 μM)과 반응시킨 전후에 실시예 1의 형태를 관찰하였다. 25℃에서 24시간 동안 일산화질소 용액과 반응시킨 후 젤을 -80℃에서 밤새 동결 건조하여 단면을 잘라내고 백금(Pt)로 코팅한 다음 SEM 이미지를 측정하였다.

[0110] 그 결과, 도 4의 c에 도시된 바와 같이, 실시예 1의 젤은 일산화질소와 반응하기 전에 가교된 고분자 네트워크 구조를 갖는 매끄러운 표면을 나타내었다. 그러나 일산화질소와 반응 후 실시예 1의 젤은 내부에 미세 크기의 기공이 생성되었으며(도 4의 d), 이는 일산화질소가 가교점을 해리시켰기 때문인 것으로 판단된다. 이에 따라, 이 기공을 통해 물이 신속하게 젤로 들어가고, 젤 내부의 약물 페이로드가 신속하게 방출될 수 있을 것으로 예상된다.

[0111] 4) 유변학적 특성 평가

[0112] 일산화질소의 영향을 정량적으로 분석하기 위하여 유동학적 파라미터, 탄성계수(G') 및 손실계수(G'')를 분석하여 하이드로젤의 점탄성 거동을 연구하였다. 시험은 고정된 온도, 변형률 및 가변 주파수 조건 하에서 수행되었다.

[0113] 상세하게, 실시예 1 및 비교예 1의 유변학적 특성은 레오미터(Malvern Kinexus+, England)를 사용하여 평가하였

다. 젤을 일산화질소 용액 또는 물에 인큐베이션한 후, 0.1 내지 10 Hz 주파수 범위에서 0.5% 복합 전단 변형을 가했을 시의 젤의 유변학적 특성을 분석하였다. 또한, G' 와 G'' 을 측정하였고, 적용된 주파수의 함수로서 유변학적 특성을 평가하였다.

[0114] 일반적으로, G' 이 자극과 무관하다면, 하이드로젤은 반응이 없는 물질로 간주되며, G' 이 자극에 의존할 때 하이드로젤은 자극-반응성으로 간주된다. 또한, G' 이 G'' 보다 큰 경우, 하이드로젤은 젤형 구조로 고도로 구조화된 것으로 간주되며, G' 이 G'' 과 유사할 때 하이드로젤의 네트워크 구조는 붕괴되고, 유체와 같은 구조를 갖는다.

[0115] 실시예 1의 경우, 도 5에 도시된 바와 같이, 일산화질소의 농도가 증가함에 따라 G' 의 값이 점차 감소하여 NOR 젤의 기계적 강도가 감소하고, 구조가 붕괴됨을 알 수 있었다. 또한, 도 6에 도시된 바와 같이, 실시예 1의 경우, 일산화질소와 반응하기 전 G' 은 G'' 보다 훨씬 컸으나, 일산화질소의 농도가 증가함에 따라 G' 과 G'' 의 값이 서로 비슷해짐을 알 수 있었다. 반면, 도 5에 도시된 바와 같이, 비교예 1의 경우, G' 의 값이 비교적 높고, 고농축 일산화질소 용액에서 인큐베이션 한 경우에도 G' 값이 거의 변화가 없으므로, 안정적으로 하이드로젤 구조가 유지됨을 알 수 있었다.

[0116] 5) 약물 방출 실험

[0117] NOR 젤을 일산화질소 반응성 약물 전달 플랫폼으로 적용할 수 있는지 조사하기 위하여, 방출 실험을 위한 모델 단백질로서 FITC(fluorescein isothiocyanate)로 표지된 BSA(bovine serum albumin)를 사용하였다. 상세하게, BSA(100 μ l, 2 mg/ml, in 4 w/v% NaHCO₃ 수용액)를 FITC(10 μ l, 1 mg/ml, in H₂O)와 혼합하고 밤새 교반하였다. 이 용액을 물에 대하여 투석막(MWCO 3.5 k)으로 투석하여 미반응 FITC를 제거한 후 -80°C에서 동결 건조하여 FITC로 표지된 BSA(BSA-FITC)를 제조하였다.

[0118] 1.25 ml e-튜브에서 40 w/v% 아크릴아미드 수용액 10 μ l, 0.0625 중량%의 **화합물 4** 에탄올 수용액 10 μ l 및 BSA-FITC (10 mg/ml) 수용액 5 μ l를 혼합하고, 이 혼합액에 5 w/v% APS 수용액 1 μ l 및 10 w/v% TEMED 수용액 1 μ l를 첨가하였다. 이어서, 균일한 젤화를 위해 와류처리하여 BSA-FITC를 포함하는 하이드로젤을 제조하였다. 이 BSA-FITC를 포함하는 하이드로젤을 1 ml의 물로 3회 세척한 후 방출 프로파일을 시간 함수(ex/em 485/510 nm)로 평가하였다. 하이드로젤의 수력학적 크기는 Zetasizer(Nano S90, Malvern, United Kingdom)로 측정하였으며, 하이드로젤의 크기와 형태는 투과전자현미경(TEM, JEM-1011, JEOL, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. 아울러, 샘플은 0.5 w/v% 우라닐 아세테이트 수용액으로 염색하고, 분선하기 전 400 메쉬 구리(Cu) 그리드 상에 로딩하였다.

[0119] 또한, BSA-FITC를 포함하는 하이드로젤의 대조군으로 화합물 4 대신 N,N'-메틸렌비스아크릴아미드를 가교제로 사용한 것 외, 상기와 동일한 방법으로 대조 하이드로젤을 제조하였다.

[0120] 상기 제조된 각각의 하이드로젤을 물 또는 일산화질소 용액(18.6 μ M)에서 천천히 교반하면서 교반 시간에 따른 BSA 방출 정도를 관찰하였다.

[0121] 그 결과, 도 7에 도시된 바와 같이, BSA-FITC를 포함하는 하이드로젤은 일산화질소 용액으로 처리 시, 물로 처리한 것보다 BSA가 더 빠르게 방출되었다. 반면, 대조 하이드로젤은 일산화질소 용액으로 처리했을 때와 물로 처리했을 때, BSA 방출 속도가 거의 유사하게 측정되었다.

[0122] 6) 일산화질소 생성 배양 세포에서 하이드로젤의 팽윤

[0123] 체외에서 배양된 세포에서 분비된 일산화질소와 반응함에 따른 하이드로젤의 팽윤 거동을 분석하였다. 이를 위해 RAW 264.7 세포 및 NIH/3T3 세포를 사용하였으며, RAW 264.7 세포는 당지방질(LPS, lipopolysaccharides)에 의해 자극될 때 일산화질소를 생성하는 쥐 대식세포의 한 유형으로, LPS 처리 없이는 약 14 μ M의 일산화질소가 생성되나, LPS 처리 시에는 약 38 μ M의 일산화질소가 생성된다. 또한, NIH/3T3 세포는 섬유아세포이며, LPS에 자극되어도 일산화질소를 생성하지 않는 세포이다.

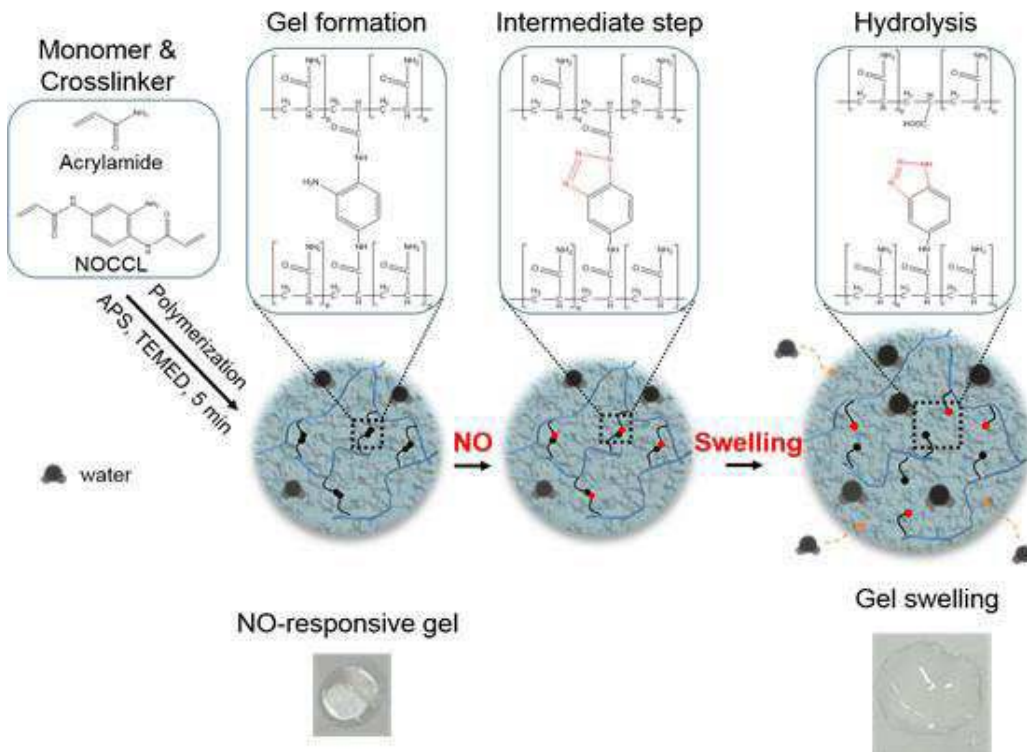
[0124] 상세하게, RAW 264.7 세포 및 NIH/3T3 세포를 각각 10% 소태아혈청(FBS, fetal bovine serum)을 함유한 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에서 배양하였다. 세포를 400,000 세포/웰의 밀도로 6-웰 플레이트에 접종하고, 24시간 동안 배양하였다. 배지를 교환한 후, 각 웰에 10 μ l의 LPS(0.01 mg/ml)를 첨가하고, 30분 동안 배양하였다. 하이드로젤을 웰에 조심스럽게 첨가하고 24시간 동안 배양하였다. 하이드로젤의 중량을 측정하고 상대 팽윤비를 산출하였다. 세포로부터 분비된 일산화질소의 농도를 그리스(griess) 분석법으로 측정하였다.

[0125] 그 결과, 도 8에 도시된 바와 같이, 실시예 1의 젤을 LPS 처리하지 않은 세포와 함께 배양한 경우 실시예 1의 젤은 거의 팽윤되지 않았으며, LPS 처리된 RAW 264.7 세포와 함께 배양한 경우 하이드로젤이 크게 팽윤하였다. 반면, 비교예 1의 젤은 LPS 처리와 관계없이 팽윤 정도가 유사하였다. NIH/3T3 세포를 사용하여 동일 실험을 수행하였을 시, 실시예 1 및 비교예 1의 젤 모두 팽윤 정도가 유사하였다.

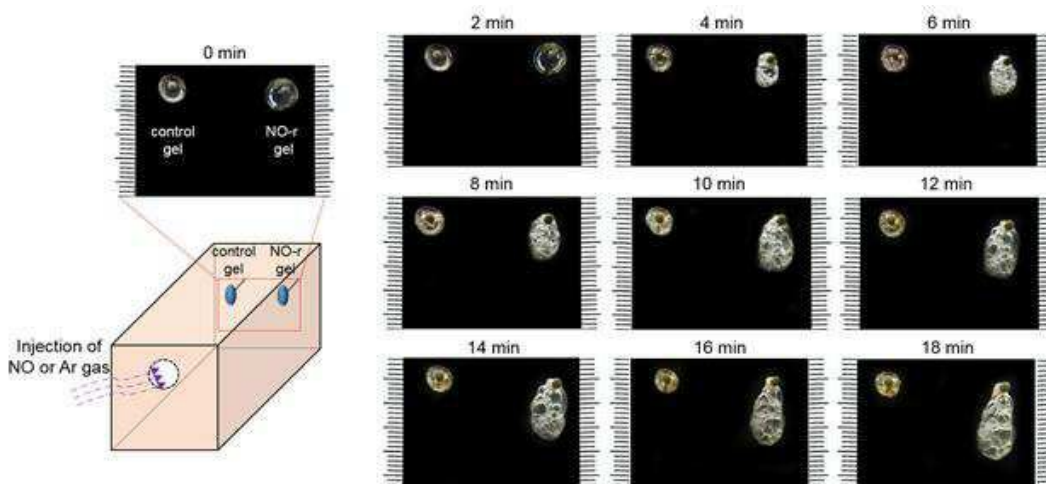
[0126] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예를 설명하였으나, 본 발명은 다양한 변화와 변경 및 균등물을 사용할 수 있으며, 상기 실시예를 적절히 변형하여 동일하게 응용할 수 있음이 명확하다. 따라서 상기 기재 내용은 하기 특허청구범위의 한계에 의해 정해지는 본 발명의 범위를 한정하는 것이 아니다.

도면

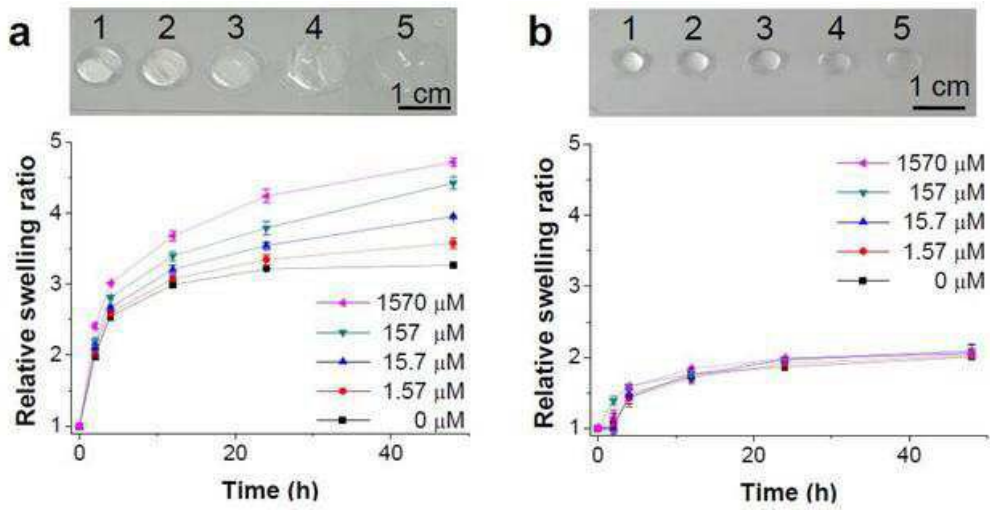
도면1



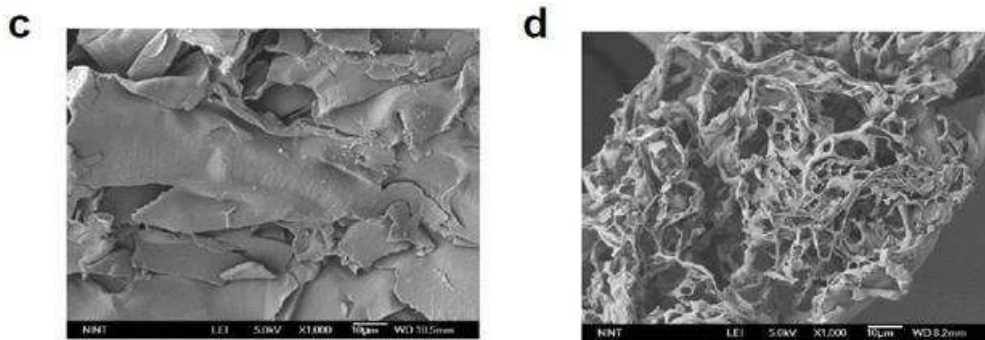
도면2



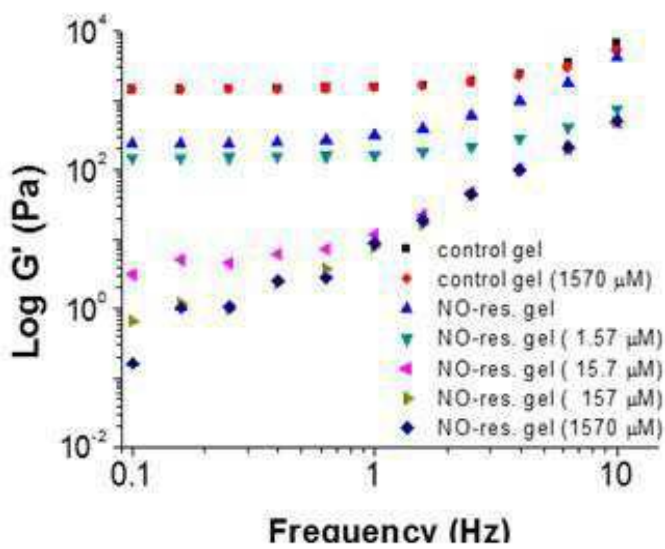
도면3



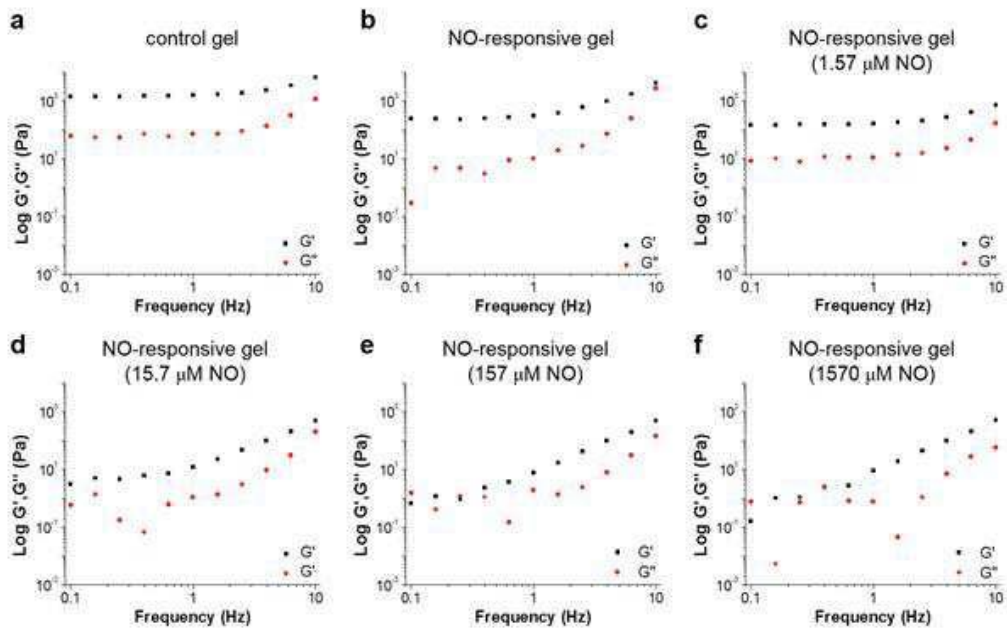
도면4



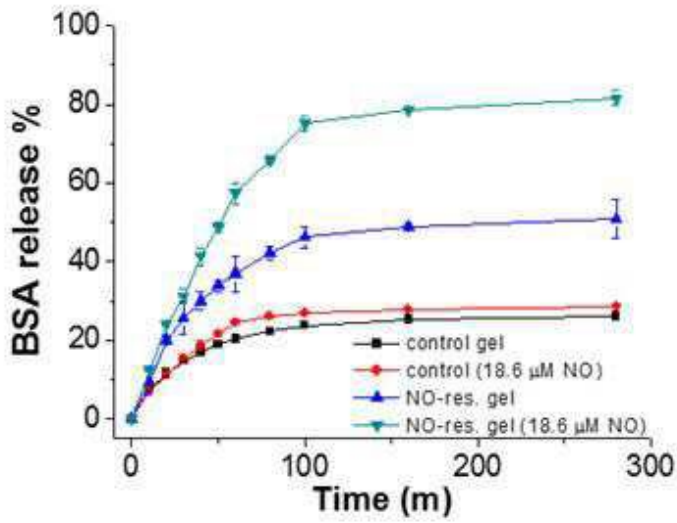
도면5



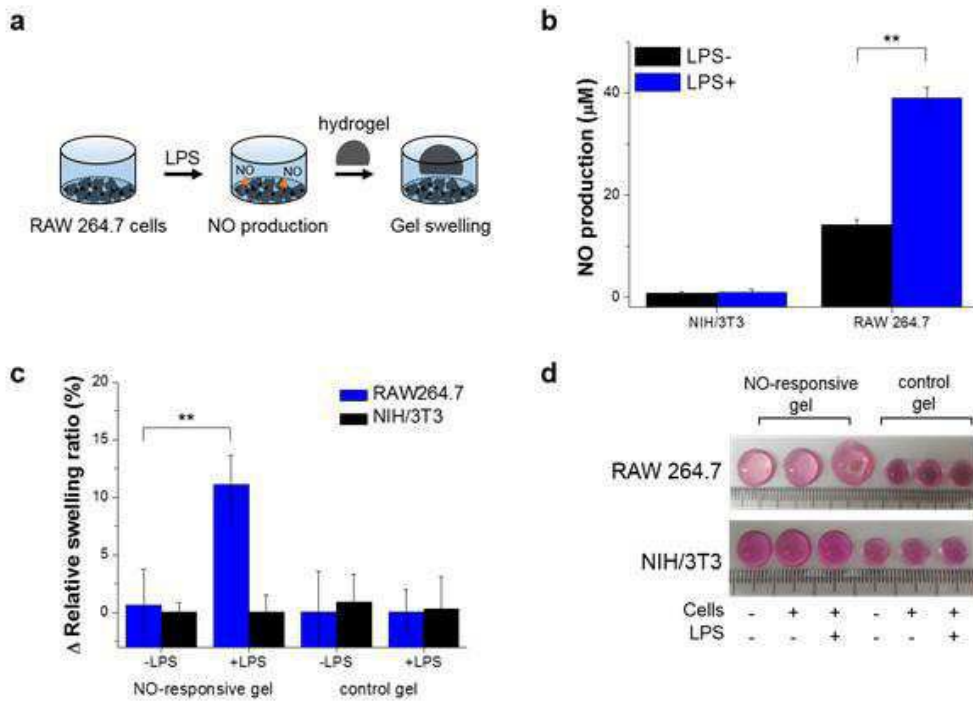
도면6



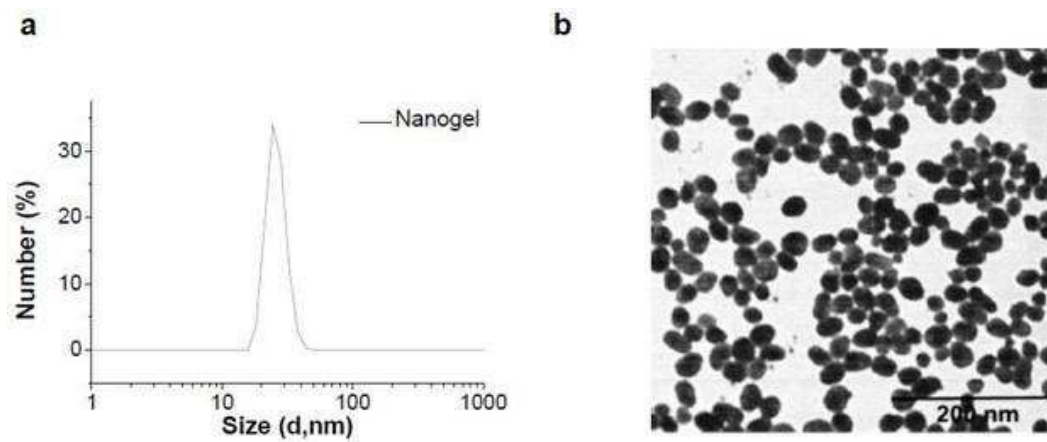
도면7



도면8



도면9



도면10

