



- (51) 국제특허분류:
C07K 14/435 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)
A61K 49/14 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/008324
- (22) 국제출원일: 2013년 9월 16일 (16.09.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2012-0103620 2012년 9월 18일 (18.09.2012) KR
- (71) 출원인: 서울대학교산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 151-050 서울시 관악구 신림9동 산 56-1, Seoul (KR). 주식회사 나이백 (NANO INTELLIGENT BIOMEDICAL ENGINEERING CORPORATION. CO. LTD) [KR/KR]; 110-780 서울시 종로구 연건동 28 서울대학교 치과대학 107, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 박윤정 (PARK, Yoon-Jeong); 152-770 서울시 구로구 구로5동 롯데아파트 110동 402호, Seoul (KR). 정중평 (CHUNG, Chong-Pyoung); 138-170 서울시 송파구 송파동 58-1 잠실대우레이크월드 아파트

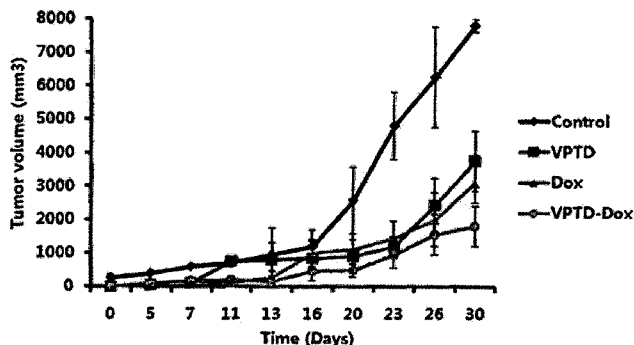
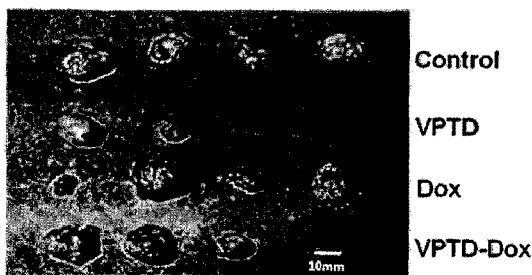
2701호, Seoul (KR). 서진숙 (SUH, Jin Sook); 152-774 서울시 구로구 신도림동 대림 e편한세상 대림1차 아파트 505-1301, Seoul (KR). 최윤정 (CHOI, Yoon Jung); 435-768 경기도 군포시 고산로 677-34 개나리주공아파트 1329-1104, Gyeonggi-do (KR).

- (74) 대리인: 이처영 (LEE, Cheo Young) 등; 135-080 서울특별시 강남구 역삼동 648-23 여삼빌딩 11층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PEPTIDE HAVING CANCER SELECTIVE TRANSLOCATION FUNCTION AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 종양선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드 및 그 용도



(57) Abstract: The present invention relates to a peptide having cancer selective translocation function and use thereof, and more particularly to a VPTD (VEGF binding protein transduction domain) peptide indicated by sequence no. 1 or a HPTD (Heparin binding protein transduction domain) peptide indicated by sequence no. 2 selectively combining with VEGF and heparin uniquely over-distributed in a cancer cell or a cancer tissue, and to a complex obtained by combining the peptide with a drug. A cancer selective translocation peptide and peptide-drug according to the present invention can selectively combine with and be accumulated in a cancer cell or cancer tissue, and therefore be used for correctly diagnosing and treating a cancer as well as preventing the peptide or complex dosed from being nonspecifically distributed in the body, thus minimizing the side effects produced in the body.

(57) 요약서: 본 발명은 종양 선택적 투과기능성 펩타이드 및 그 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 종양 세포 또는 종양 조직에 특이하게 과분포하는 VEGF와 heparin에 선택적으로 결합하는 서열번호 1로 표시되는 VPTD (VEGF binding protein transduction domain) 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD (Heparin binding protein transduction domain)

[다음 쪽 계속]



TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, **공개:**

ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

펩타이드; 그리고 상기 펩타이드에 약물을 결합한 복합체에 관한 것이다. 본 발명에 따른 종양 투과기능성 펩타이드와 종양 투과기능성 펩타이드-약물 복합체는 종양 세포나 종양 조직에 선택적으로 결합하고 축적되는바 암의 정확한 진단 및 치료 효과에 이용할 수 있으며 동시에, 투여되는 펩타이드 또는 복합체가 비특이적으로 체내에 분포하는 것을 억제하는바 신체 내에서 발생할 수 있는 부작용도 최소화할 수 있으므로 암의 진단 및 치료에 유용하다.

명세서

발명의 명칭: 종양선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드 및 그 용도

기술분야

- [1] 본 발명은 종양 선택적 투과기능성 펩타이드 및 그의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 종양 선택적 투과기능성 펩타이드 또는 종양 선택적 투과기능성 펩타이드에 항암제 등의 약물을 결합시킨 복합체 및 그의 용도에 관한 것이다.
- [2] 본 발명의 종양 선택적 투과기능성 펩타이드 또는 상기 펩타이드와 약물의 복합체는 종양 세포 또는 종양 조직에 선택적으로 투과되므로, 각종 암의 진단 또는 치료를 위해 광범위하게 사용될 수 있다.

[3]

배경기술

- [4] 종양의 치료나 염증 예를 들어 골관절염, 피부질환의 진단 및 치료영역에서 표적 병소에 특이적으로 존재하는 단백질이나 작은 물질에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으며, 이에 따라 이러한 물질들이 많이 도출되면서 이를 이용한 치료연구도 활발히 진행되고 있다. 일례로, 전립선암에는 전립선 특이항원 (Prostate Specific Antigen, PSA)이 많이 존재하고, 관절염이나 기타 종양 조직에는 기질금속단백질 분해효소 (Matrix Metalloprotease, MMP)가 정상조직에 비해 특이적으로 높게 발현되는 것으로 나타나, 질병 연구 및 치료의 표적이 되고 있다. 그러나, 질병의 진단 및 치료를 위해 사용하는 물질이 이러한 표적에만 특이적으로 작용하지 않는 경우, 비특이적 분포에 의한 부작용 또는 낮은 영상도의 문제가 발생하므로 표적에만 머무르거나 작용하는 제형의 개발이 요청되고 있다.
- [5] 한편, 일부 작은 물질들만이 살아있는 세포의 세포막을 통과하여 세포 내부의 세포질 또는 핵으로 매우 낮은 비율로 들어갈 수 있으며, 거대분자는 세포 내부로 들어갈 수 없다. 그런데, 대부분의 치료, 예방 및 진단 목적으로 제조되는 물질들은 세포 내로 유효량이 전달되어야 하지만 이들은 거대분자이기 때문에, 생체 내부 및 외부 모두에서 세포를 손상시키지 않고 생물학적 활성을 지닌 거대분자를 효과적으로 전달하는 방법이 요구된다.
- [6] 이러한 요구에 대한 연구의 결과로서 제시된 것으로 단백질 수송 도메인(protein transduction domain, PTD)이 있으며, 이중 가장 많은 연구가 진행된 것은 인간 면역 결핍 바이러스-1(human immunodeficiency virus-1, HIV-1)의 전사인자인 TAT 단백질이다. 상기 단백질은 세포막을 통과함에 있어 86개의 아미노산으로 구성된 완전한 형태일 때보다 양전하를 갖는 아미노산들이 집중적으로 분포되어 있는 47번째부터 57번째 아미노산 서열(YGRKKRRQRRR)의 일부분으로 구성된 형태일 경우 더욱 효과적이라는

것이 밝혀졌다 (Fawell, S. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:664, 1994). PTD로서의 효과가 확인된 다른 예로는 HSV-1(herpes simplex virus type 1)의 VP22 단백질의 267번째부터 300번째까지의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드(Elliott, G. *et al.*, *Cell*, 88:223, 1997), HSV-2의 UL-56 단백질의 84번째부터 92번째까지의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드(GeneBank code:D1047[gi:221784]) 및 드로소필라 속(*Drosophila* sp.)의 안테나페디아(antennapedia, ANTP) 단백질의 339번째부터 355번째까지의 아미노산 서열을 가지는 펩타이드 (Schwarze, S.R. *et al.*, *Trends. Pharmacol. Sci.*, 21:45, 2000)등이 있으며, 전기적으로 양성인 아미노산들을 나열한 인위적인 펩타이드의 경우도 그 효과가 확인된 바 있다 (Laus, R. *et al.*, *Nature. Biotechnol.*, 18:1269, 2000).

- [7] 한편, 최근 본 발명자는 TAT와 유사한 펩타이드 배열을 가지고, 수송 도메인으로 활용 가능한 펩타이드로서 아르기닌(arginine) 등의 양이온성 아미노산을 다량 함유하는 저분자형 프로타민(low molecular weight protamine, LMWP) 펩타이드를 제조하고 이의 세포 내 투과기능성에 대해 발표한 바 있다. LMWP 펩타이드는 프로타민으로부터 유래하는 천연 유래 양이온성 펩타이드로서, 독성에 대한 염려가 없고 대량으로 생산해 낼 수 있는 장점이 있다 (Park, Y.J. *et al.*, *J. Gene. Med.*, 700, 2003). 본 발명자는 이 LMWP가 종양조직에 특이적으로 분포하는 혈관내피형성인자 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)와 헤파린 (heparin)에 선택적으로 결합하는 것을 발견하고, 상기 펩타이드가 선택적인 종양 억제 효과를 가질 것임을 예상하였다. 한편, 본 LMWP 펩타이드는 이하에서 VEGF 결합 기능성 단백질 수송 도메인 (VEGF binding protein transduction domain, VPTD) 또는 펩타이드로 명명하기로 한다.
- [8] 본 발명자는 서열번호 1로 표시되는 VPTD (VEGF binding protein transduction domain) 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD (Heparin binding protein transduction domain) 펩타이드가 종양 세포 또는 종양 조직 내의 혈관내피세포성장인자 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)와 헤파린 (heparin)에 특이적으로 결합할 뿐 아니라, 상기 펩타이드의 종양 세포 또는 조직 내로의 선택적인 축적으로 인하여 종양 세포의 성장이 억제된다는 것을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[9]

[10] 발명의 요약

- [11] 본 발명의 목적은, 기존의 종양 진단 또는 치료용 물질의 비특이적 분포로 인한 신체 내에서 발생할 수 있는 부작용이나 낮은 진단 효과로 인한 문제점을 최소화하고 종양 진단 또는 질병 치료용 물질을 선택적으로 표적 세포에만 전달할 수 있는 펩타이드를 제공하는데 있다.

- [12] 결국, 본 발명의 주된 목적은 유전체수준에서 호흡, 전자전달, 산화환원반응에 관여하는 472개 유전자들의 각각의 결실 돌연변이 군주의 험기발효를 통해서

산화환원 균형을 재구성하고, 이를 통해 탄소대사흐름을 제어할 수 있는 유전자를 선별하고, 다른 유기산 생성은 현저히 줄어들지만, 젖산, 숙신산 또는 에탄올을 과량 생산하는 변이 미생물 및 상기 변이 미생물의 제조방법을 제공하는데 있다. 또한, 상기 펩타이드를 암의 진단 또는 치료에 이용하는데 있다.

[13]

도면의 간단한 설명

[14] 도 1은 서열번호 1 (서열번호 1: VSRRRRRRRGRRRR)로 표시되는 VPTD (VEGF binding protein transduction domain) 펩타이드와 서열번호 2 (서열번호 2: CSSRKKNPNCRRH)로 표시되는 HPTD (Heparin binding protein transduction domain) 펩타이드의 종양 세포에서의 세포 내 투과능을 측정한 결과로서, 도 1a는 유체세포측정법을 이용하여 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이며 도 1b는 도 1a의 결과를 공초점 주사전자 현미경(confocal scanning microscope)으로 관찰한 사진이다.

[15] 도 2는 본 발명에 따른 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드의 합성의 정확성 및 상기 펩타이드와 표적 단백질인 VEGF, Heparin과의 농도별 결합력을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

[16] 도 3은 본 발명에 따른 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드와, 항암제 (Dox; doxorubicin), 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드와 항암제 (Dox)의 복합체의 종양 억제 효과를 확인한 것이다.

[17]

[18] 발명의 상세한 설명 및 바람직한 구현예

[19] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법 및 이하에 기술하는 실험 방법은 본 기술분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[20] 본 발명의 상세한 설명 등에서 사용되는 주요 용어의 정의는 다음과 같다.

[21] "단백질 수송 도메인(Protein transduction domain; PTD)"은 약물 또는 약물함유입자를 세포의 세포질이나 핵 안으로 투과시킬 수 있는 투과기능성 펩타이드를 말한다. 이는 올리고뉴클레오타이드, 펩타이드, 단백질, 올리고당, 다당류 또는 나노입자 등과 공유결합을 이루어 별도의 수용체나 운반체, 에너지를 필요로 하지 않고, 이들 물질을 세포 내로 도입시킬 수 있는 것을 말한다. 본 발명의 서열번호 1로 표시되는 VEGF 결합기능성 단백질 수송 도메인 펩타이드와 서열번호 2로 표시되는 heparin 결합기능성 단백질 수송 도메인 펩타이드도 상기 PTD에 포함된다.

[22] "종양 세포" 또는 "종양 조직"이란 종양 투과기능성 펩타이드에 의해 약물 또는

약물함유입자가 전달되는 세포 또는 조직을 말하는 것으로서, 체내 또는 체외의 세포를 의미한다. 즉, 종양 조직은 체내 세포, 다시 말하여 살아있는 동물 또는 인간의 장기 또는 조직을 구성하는 세포 또는 살아있는 동물 또는 인간에서 발견되는 미생물을 포함하는 의미이다.

- [23] 본 발명은 일 관점에서, 서열번호 1로 표시되는 VEGF 결합기능성 단백질 수송 도메인 (VEGF binding protein transduction domain; VPTD) 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 heparin 결합기능성 단백질 수송 도메인 (Heparin binding protein transduction domain; HPTD) 펩타이드를 함유하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드 및 상기 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 종양 선택적 투과증진용 조성물을 제공한다.
- [24] 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 종양 세포 또는 종양 조직 내의 혈관내피세포성장인자 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)와 헤파린 (heparin)에 특이적으로 결합하는 것이 특징이다 (도 2 참조). 종양 세포 또는 종양 조직 내에는 정상 세포나 정상 조직 내에 비하여 VEGF 또는 헤파린이 과발현되는바, 본 발명에 따른 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 상기 펩타이드는 종양 조직 또는 세포에 선택적으로 결합하는 것이 가능하다. 또한, 본 발명에 따른 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 모두 세포 내 투과기능성을 가지므로 VEGF 또는 헤파린에 선택적으로 결합된 후 기존 세포 내 흡수방법인 엔도사이토시스 (endocytosis) 과정 없이 세포 내로의 도입이 가능하므로 종양 세포 또는 종양 조직 내로의 선택적 축적이 가능하다.
- [25] 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 체내 안정성을 고려하여 D-형 또는 L-형의 아미노산으로 구성될 수 있으며, 아르기닌, 라이신 및 히스티딘으로 구성된 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산을 70~80%의 함량으로 포함할 수 있다.
- [26] 상기와 같은 특징을 가지는 단백질 수송 도메인 (PTD)으로는, 본 발명자에 의하여 발견된 단백질 수송 도메인인 VPTD (서열번호 1: VSRRRRRRGGRRRR)과 HPTD (서열번호 2: CSSRKKNPNCRRH) 이외에, 아르기닌, 라이신 또는 히스티딘이 70~80% 이상 포함된 양이온 단백질 수송 도메인 펩타이드로 페너트라틴 (Penetratin; 서열번호 3: RQIKIWFQNRRMKWKK), 폴리아르기닌 (polyarginine) (서열번호 4: RRRRRRRR), 폴리라이신 (polylysine) (서열번호 5: KKKKKKKKKK), 프로타민 (protamine) 절편 및 안테나페디아 (Antennapedia, ANTP) 등이 있으며, 디펜신에서 유래한 HBD (서열번호 6: GKCTRGRKCCRRKK) 및 TAT (서열번호 7: YGRKKRRQRRR)가 있다. 따라서, 서열번호 3 내지 서열번호 7의 PTD도 본 발명의 서열번호 1 또는 2를 대체하여 사용할 수 있다.

[27]

- [28] 본 발명은 다른 관점에서, 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는

서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드를 암 진단 또는 치료에 이용하는 방법을 제공한다.

- [29] 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 종양 세포 또는 종양 조직 내의 혈관내피세포성장인자 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)와 헤파린 (heparin)에 특이적으로 결합하며 축적되므로, 상기 펩타이드를 암의 진단이나 치료에 활용할 수 있다.

[30]

- [31] 본 발명은 또 다른 관점에서, 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드에 형광체가 결합된 종양 선택적 투과기능성을 가지는 암 진단용 조영제를 제공한다.

- [32] 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 종양 세포 또는 종양 조직에 선택적으로 축적되므로 상기 펩타이드에 형광체가 결합된 복합체를 암 진단용 조영제로 사용할 수 있다 (실시예 3, 도 1 참조).

- [33] 상기 형광체로는, 이소티오시아네이트 (fluorescein isothio-cyanate; FITC), 방사선 동위원소, 양자점 (quantumdot), MRI 조영제, 플루오레신 (fluorescein), 테트라메틸로드아민 (tetramethylrhodamine), 보디피 (BODIPY) 및 알렉사 (Alexa)로 이루어진 군으로부터 선택한 것을 사용할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[34]

- [35] 본 발명은 또 다른 관점에서, 서열번호 1로 표시되는 종양 선택적 투과기능성 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 종양 선택적 투과기능성 HPTD 펩타이드를 유효성분으로 함유하는 암 치료용 조성물을 제공한다.

- [36] 본 발명에 따른 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 종양 세포 또는 조직에서 고발현되는 VEGF와 heparin에 선택적으로 결합하여 종양 세포의 성장을 억제하는 효과를 나타내는바 (실시예 4, 도 2 및 도 3 참조), 상기 펩타이드를 함유하는 조성물을 암 치료용 조성물로도 사용할 수 있다.

[37]

- [38] 본 발명은 또 다른 관점에서, 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드의 N- 말단 또는 C- 말단에 약물이 화학적으로 결합된 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체를 제공한다.

- [39] 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드와 약물은 시스테인으로 연결될 수 있다. 구체적으로, 시스테인을 함유하는 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 상기 펩타이드의 N-말단 또는 C-말단에 티올 (thiol)기를 갖는 약물을 결합시킴으로써 펩타이드와 약물의 복합체를 제조한다. 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 펩타이드

이외의, 상기 펩타이드의 유사체를 사용하는 경우에는 펩타이드의 말단부에 시스테인을 부가적으로 부착한 뒤 약물과 반응시킴으로써 결합시킬 수도 있다. 상기 티올 (thiol)기를 갖는 약물은 그 자체로 티올 (thiol)기를 포함하는 것뿐 아니라, 티올기를 갖도록 개질한 약물을 포함한다.

- [40] 또한, 상기 펩타이드와 약물의 복합체는 가교제에 의하여 결합하여 제조할 수도 있다. 단백질 수송도메인(PTD) 펩타이드의 N말단은 자유 아미노기를 지니고 있기 때문에 가교제에 의한 펩타이드와 약물의 복합체 형성이 용이하다. 본 발명에서 사용할 수 있는 가교제로는,
- 1,4-비스-말레이미도부탄(1,4-bis-maleimidobutane, BMB),
- 1,11-비스-말레이미도테트라에틸렌글리콜(1,11-bis-maleimidotetraethyleneglycol, BM[PEO]4), 1-에틸-3-[3-디메틸 아미노프로필] 카보디이미드 하이드로클로라이드(1-ethyl-3-[3-dimethyl aminopropyl] carbodiimide hydrochloride, EDC),
- 숙시니미딜-4-[N-말레이미도메틸시클로헥산-1-카복시-[6-아미도카프로에이트]] (succinimidyl-4-[N-maleimidomethylcyclohexane-1-carboxy-[6-amidocaproate]], SMCC) 및 그의 설폰화염(sulfo-SMCC), 숙시미딜
- 6-[3-(2-피리딜디티오)-로피오나미도] 헥사노에이트](succinimidyl 6-[3-(2-pyridyldithio)-ropionamido] hexanoate, SPDP) 및 그의
- 설폰화염(sulfo-SPDP), m-말레이미도벤조일-N-하이드로시숙시니미드 에스터(m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide ester, MBS) 및 그의
- 설폰화염(sulfo-MBS), 숙시미딜[4-(p-말레이미도페닐) 부틸레이트](succinimidyl[4-(p-maleimidophenyl) butyrate], SMPB) 및 그의
- 설폰화염(sulfo-SMPB) 등이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다. S-S결합에 의해 세포투과성 펩타이드와 약물 혹은 약물함유 나노입자가 결합되는 경우, 세포 내에 존재하는 환원 효소 등에 의해 약물이 세포 내에서 세포투과성 펩타이드로부터 해리될 수 있다. 이와 같은 방법을 이용하면 장시간이 요구되는 제조합백터를 제작하지 않아도 쉽고 간편하게 약물, 단백질, 기타 나노입자를 세포 내로 도입시킬 수 있으므로 목적하는 치료효과를 용이하게 수행할 수 있다.
- [41] 본 발명에 있어서, 상기 약물은 항암제, 항염제, 골흡수 억제제, 항암성 단백질, 항염 단백질, 면역증강 단백질, 항암 및 항염 siRNA, 올리고 뉴클레오타이드 및 이들을 함유하는 나노 자성 입자 등을 포함한다. 여기서 siRNA는 타겟 RNA의 발현을 사일런싱하는 RNA를 의미하는데, 타겟 RNA는 질병을 유발하는 유전자, 특히 종양이나 염증을 유발하는 유전자에서 전사된 mRNA로서 일례로 암 유발 유전자는 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF) 유전자를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [42] 상기 종양 또는 염증질환 단백질은 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF), B-cell 루케미아/림포마 2(B-cell leukemia/lymphoma 2, BCL2), 표피 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR), 인간 표피

성장인자 수용체(human epidermal growth factor receptor 2, HER2), 야누스 카이네이즈(Janus kinase, JAN) 및 포스파티딜리노시톨-3-카이네이즈/Akt 카이네이즈 (phosphatidylinositol-3-kinase/Akt kinase, PI3-K/AKT)로 구성되는 군에서 선택될 수 있다.

[43]

[44] 본 발명은 또 다른 관점에서, 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드의 N- 말단 또는 C-말단에 약물이 결합된 종양 선택적 투과기능성을 가지는 약물 전달체를 제공한다.

[45]

[46] 본 발명은 또 다른 관점에서, 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드의 N- 말단 또는 C- 말단에 약물이 화학적으로 결합된 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체를 함유하는 암 치료용 조성물을 제공한다.

[47]

본 발명의 암 치료용 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 투여될 수 있으며, 경구 투여시에는 결합제, 활택제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 포함할 수 있고, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소 투여용의 경우에는 기제, 부형제, 윤활제, 보존제 등을 사용할 수 있다.

[48]

본 발명의 암 치료용 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릴시르, 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다.

[49]

본 발명의 암 치료용 조성물은 치료학적 또는 예방학적 목적으로 유효량 투여될 수 있다. 투여량은 환자의 질환 종류 및 중증도, 연령, 성별, 체중, 약물에 대한 민감도, 현재 치료법의 종류, 투여방법, 표적 세포 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있으며, 당 분야의 전문가들에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 또한 본 발명의 암 치료용 조성물은 종래의 암 치료제 또는 예방제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와 순차적 또는 동시에 투여될 수도 있다. 또한 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며 본 발명의 약학적 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여 될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 약학적 조성물은 활성물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수도 있다.

[50]

[51] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[52]

특히, 하기 실시예에서는 약물로서 항암성 단백질인 젤로닌(Gelonin)만을 예시하였으나, 기타 다른 항암단백질, 암 유발 유전자의 안티센스올리고뉴클레오타이드, siRNA 등 및 이들이 함유된 입자를 사용할 경우에도 종양치료에 있어 유사 또는 동일한 효과를 얻을 수 있으며, 항염증 치료와 관련해서도 약물로서 항염물질, 항염단백질 등을 사용하여 항염효과를 얻을 수 있다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명한 사항이라 할 것이다.

[53]

[54] 실시예 1: 표적 선택적 세포/조직 투과기능성 펩타이드의 제조

[55]

[56] F-moc chemistry 실험법에 의해 자동 펩타이드 합성기로 펩타이드를 제조한 뒤, 레진으로 펩타이드 부분을 절단시켜 세척과정을 거쳐 동결건조 후 액체크로마토그래피에 의해 분리, 정제하여 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 (VSRRRRRRRGRRRR)와 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드 (CSSRKKNPNCRRH)를 제조하였다. 정제된 펩타이드는 MALDI분석을 이용하여 분자량을 확인하였다.

[57]

[58] 실시예 2: 종양 투과기능성 펩타이드-약물 복합체의 제조

[59]

[60] 실시예 1에서 제조된 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드와 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드에 시스테인이 함유되어 있어 자유 설프하이드릴(free-sulfhydryl)기가 존재하므로, 이를 화학 가교제로 이용하여 항암단백질인 RNase 및 doxorubicin과의 화학적 결합을 유도하였다. RNase 및 doxorubicin(Dox) 표면의 개질은 표면의 카르복실기에 티올(thiol)기를 붙인 형태로 제작하였다. 상기 1분자의 입자표면-SH당 10분자의 펩타이드-SH를 넣어 4°C에서 12시간 동안 반응시킨 후, 한외여과(ultrafiltration)를 통하여 결합되지 않은 분자들은 걸러낸 다음, 동결건조하여 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드-RNase 복합체, 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드-Dox 복합체, 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드-RNase 복합체, 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드-Dox 복합체를 각각 수득하였다.

[61]

[62] 실시예 3: 종양 투과기능성 펩타이드의 종양 세포내 투과력

[63]

- [64] 실시예 1에서 제조된 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드와 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드의 종양 세포 선택적 투과력을 테스트하기 위하여, 상기 제조된 펩타이드의 말단을 형광염료로 표지하고, 이들을 종양 세포주 (MDA-MB-231, ATCC)에 각각 농도별로 접종 하였다.
- [65] 접종한 다음 60분 후의 세포 형광도를 FACS를 이용하여 측정하여 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1 (A)에 나타낸 바와 같이, 종양 세포에서 세포의 형광도가 농도 의존적으로 증가함을 관찰할 수 있었다. 도 1 (B)는 실시예 1에서 제조된 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드와 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드의 종양 세포 내로의 펩타이드 투과도를 공초점 주사형광 현미경(confocal laser scanning microscope)을 이용하여 그 형광도를 관찰한 것이다. 도 1 (B)는 염색 부위가 세포임을 증명하기 위하여 세포핵을 염색시키는 Hoechst 33342(5 μ g/ml)로 염색한 후, 10% 중성 포르말린 용액으로 세포를 고정하였다. 그 결과는 도 1 (B)에 나타낸 바와 같이, 종양 세포주에서 펩타이드의 투과능이 농도 의존적으로 증가되는 것을 확인할 수 있었다.
- [66]
- [67] 실시예 4: 종양 투과기능성 펩타이드-항암제 복합체의 종양억제효과 측정
- [68]
- [69] 실시예 1에서 제조한 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 (VSRRRRRRRGRRRR)와 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드 (CSSRKKNPNCRRH), 실시예 2에서 제조한 종양 투과기능성 펩타이드-약물 복합체의 유효성을 테스트하기 위하여, 마우스에 종양을 유발시키고 일정크기의 종양이 형성되었을 때 실시예 1에서 제조한 펩타이드와 실시예 2에서 제조한 종양투과기능성 펩타이드-약물 복합체를 각각 주사하였다. 주사 후 30일간 3~4일 간격으로 종양의 크기를 측정하였고, 30일째에 마우스를 희생시켜 종양을 적출하여 적출된 종양을 사진 관찰하였다.
- [70] 그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, 대조군으로 처리한 종양유발 마우스에서는 종양의 억제가 일어나지 않는데 비해, VPTD 펩타이드 및 VPTD 펩타이드-약물(Dox)복합체로 처리된 종양유발 마우스의 종양의 진행은 현저히 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 이는, 본 발명에 따른 VPTD 펩타이드의 종양 투과기능성 활성이 종양조직에서 극대화되고 VEGF와 선택적으로 결합하면서 종양의 형성, 진행에 필수적인 혈관형성을 억제시켰기 때문인 것으로 보인다. 이러한 결과를 증명하기 위하여 본 발명의 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드와 VEGF, heparin과의 결합능을 slot-blot 분석으로 확인하였다. 확인 결과, VPTD 펩타이드와 HPTD 펩타이드 모두 종양 세포 또는 조직에서 과발현되는 VEGF와 heparin과 결합한다는 것을 알 수 있었다.
- [71]
- [72] 상기 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 종양 투과기능성 펩타이드와, 상기

펩타이드와 약물의 복합체는 기존의 비특이적이고 비선택적인 펩타이드 수송체에서 탈피하여 최적의 표적 지향화를 통해 진단 및 약물 치료 요법의 효과를 극대화하며, 신체 내에서의 부작용을 최소화할 수 있다. 따라서, 상기 종양 선택적 투과기능성 펩타이드를 이용한 혁신적인 질병 진단 및 치료기술을 제시할 수 있다.

[73]

산업상 이용가능성

[74] 본 발명에 의한 펩타이드 또는 펩타이드-약물 복합체는 종양 세포 또는 종양 조직에만 선택적으로 투과되므로, 이를 암 진단 또는 치료에 이용할 수 있다. 종양의 진단 또는 치료시 사용되는 약물이나 물질은 생체 내에서 비특이적으로 분포하게 되는 경우 예기치 않은 부작용이 발생할 수 있으며, 진단 자체가 어려운 경우가 많았으나 본 발명의 펩타이드를 이용하면 이러한 문제점을 해결할 수 있다.

[75]

[76] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[77]

서열목록 Free Text

[78] 전자파일 첨부하였음.

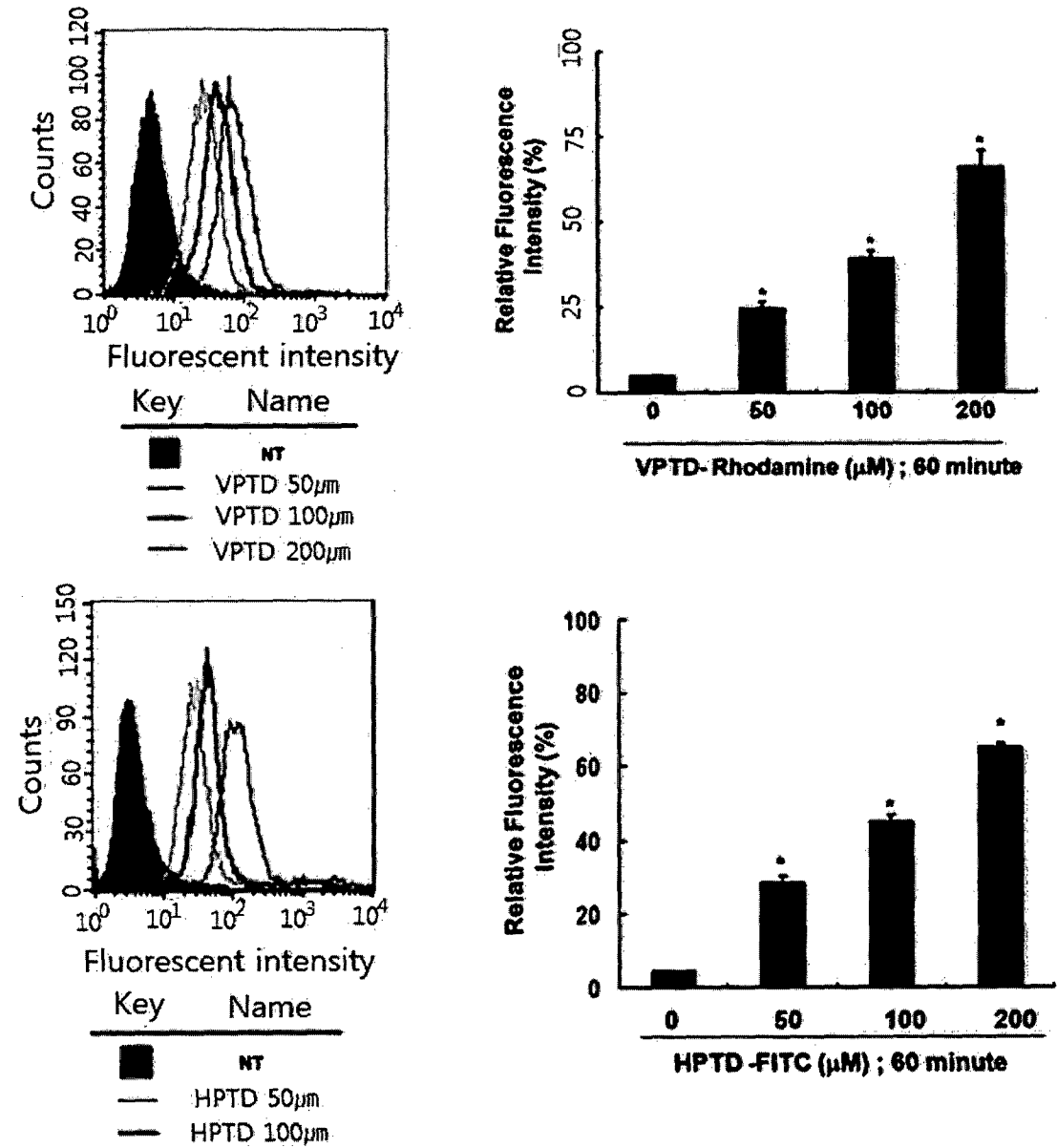
청구범위

- [청구항 1] 서열번호 1로 표시되는 VPTD (VEGF binding protein transduction domain) 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD (Heparin binding protein transduction domain) 펩타이드를 함유하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 종양 세포 또는 종양 조직 내의 혈관내피세포성장인자 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)와 헤파린 (heparin)에 특이적으로 결합하는 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 D-형 또는 L-형의 아미노산으로 구성되며, 아르기닌, 라이신 및 히스티딘으로 구성된 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산을 70~80%의 함량으로 포함하는 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드는 D-형 또는 L-형의 아미노산으로 구성되며, 아르기닌, 라이신 및 히스티딘으로 구성된 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산을 70~80%의 함량으로 포함하는 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드.
- [청구항 5] 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드에 형광체가 결합된 종양 선택적 투과기능성을 가지는 암 진단용 조영제.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 형광체는 이소티오시아네이트 (fluorescein isothio-cyanate; FITC), 방사선 동위원소, 양자점 (quantumdot), MRI 조영제, 플루오레신 (fluorescein), 테트라메틸로드아민 (tetramethylrhodamine), 보디피 (BODIPY) 및 알렉사 (Alexa)로 이루어진 군으로부터 선택되는 형광체인 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 암 진단용 조영제.
- [청구항 7] 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드를 함유하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 암 치료용 조성물.
- [청구항 8] 서열번호 1로 표시되는 VPTD (VEGF binding protein transduction domain) 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD (Heparin binding protein transduction domain) 펩타이드를 유효성분으로

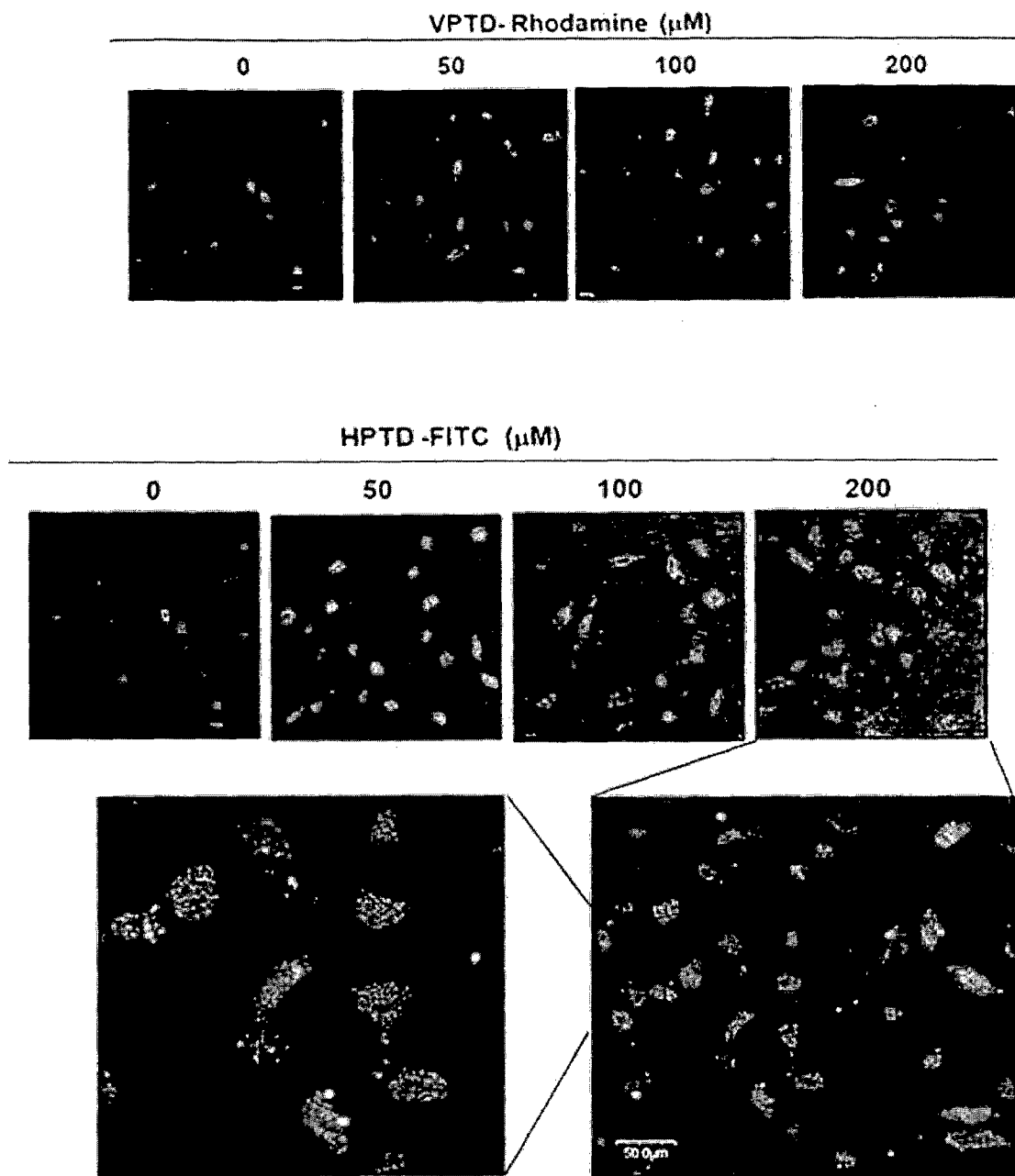
- 함유하는 종양 선택적 투과증진용 조성물.
- [청구항 9] 서열번호 1로 표시되는 종양 선택적 투과기능성 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 종양 선택적 투과기능성 HPTD 펩타이드의 N- 말단 또는 C- 말단에 약물이 화학적으로 결합된 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드와 약물은 시스테인으로 연결되는 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체.
- [청구항 11] 제9항에 있어서, 상기 화학적 결합은 1,4-비스-말레이미도부탄 (1,4-bis-maleimidobutane, BMB), 1,11-비스-말레이미도테트라에틸렌글리콜 (1,11-bis-maleimidotetraethyleneglycol, BM[PEO]4), 1-에틸-3-[3-디메틸 아미노프로필] 카보디이미드 하이드로클로라이드(1-ethyl-3-[3-dimethyl aminopropyl] carbodiimide hydrochloride, EDC), 숙시니미딜-4-[N-말레이미도메틸시클로헥산-1-카복시-[6-아미도 카프로에이트]](succinimidyl-4-[N-maleimidomethylcyclohexane-1-carboxy-[6-amidocaproate]], SMCC) 및 그의 설폰화염(sulfo-SMCC); 숙시미딜 6-[3-(2-피리딜디티오)-로피오나미도] 헥사노에이트(succinimidyl 6-[3-(2-pyridyldithio)-ropionamido] hexanoate, SPDP) 및 그의 설폰화염(sulfo-SPDP); m-말레이미도벤조일-N-하이드로시숙시니미드 에스터(m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide ester, MBS) 및 그의 설폰화염(sulfo-MBS); 및 숙시미딜[4-(p-말레이미도페닐) 부틸레이트](succinimidyl[4-(p-maleimidophenyl) butyrate], SMPB) 및 그의 설폰화염(sulfo-SMPB)으로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나의 가교제에 의한 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체.
- [청구항 12] 제9항에 있어서, 상기 약물은 종양 또는 염증질환 단백질의 RNA를 타겟으로 하는 안티센스올리고뉴클레오티드, 종양 또는 염증질환 단백질의 RNA를 타겟으로 하는 siRNA, 항암제, 항암성 단백질, 항염제, 항염 단백질, 면역증강단백질 및 골흡수 억제제로 구성되는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체.
- [청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 종양 또는 염증질환 단백질은 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF), B-cell

- 루케미아/림포마 2(B-cell leukemia/lymphoma 2, BCL2), 표피 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR), 인간 표피 성장인자 수용체(human epidermal growth factor receptor 2, HER2), 야누스 카이네이즈(Janus kinase, JAN) 및 포스파티딜리노시톨-3-카이네이즈/Akt 카이네이즈(phosphatidylinositol-3-kinase/Akt kinase, PI3-K/AKT)로 구성되는 군에서 선택되는 것임을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체.
- [청구항 14] 서열번호 1로 표시되는 종양 선택적 투과기능성 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 종양 선택적 투과기능성 HPTD 펩타이드의 N- 말단 또는 C- 말단에 약물이 화학적으로 결합된 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체를 함유하는 암 치료용 조성물.
- [청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 약물은 항암제, 항암성 단백질, 종양 RNA를 타겟으로 하는 안티센스올리고뉴클레오티드 및 종양 RNA를 타겟으로 하는 siRNA 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 펩타이드-약물 복합체를 함유하는 암 치료용 조성물.
- [청구항 16] 서열번호 1로 표시되는 VPTD 펩타이드 또는 서열번호 2로 표시되는 HPTD 펩타이드의 N- 말단 또는 C-말단에 약물이 결합된 종양 선택적 투과기능성을 가지는 약물 전달체.
- [청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 약물은 종양 또는 염증질환 단백질의 RNA를 타겟으로 하는 안티센스올리고뉴클레오티드, 종양 또는 염증질환 단백질의 RNA를 타겟으로 하는 siRNA, 항암제, 항암성 단백질, 항염제, 항염 단백질, 면역증강단백질 및 골흡수 억제제로 구성되는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 종양 선택적 투과기능성을 가지는 약물 전달체.

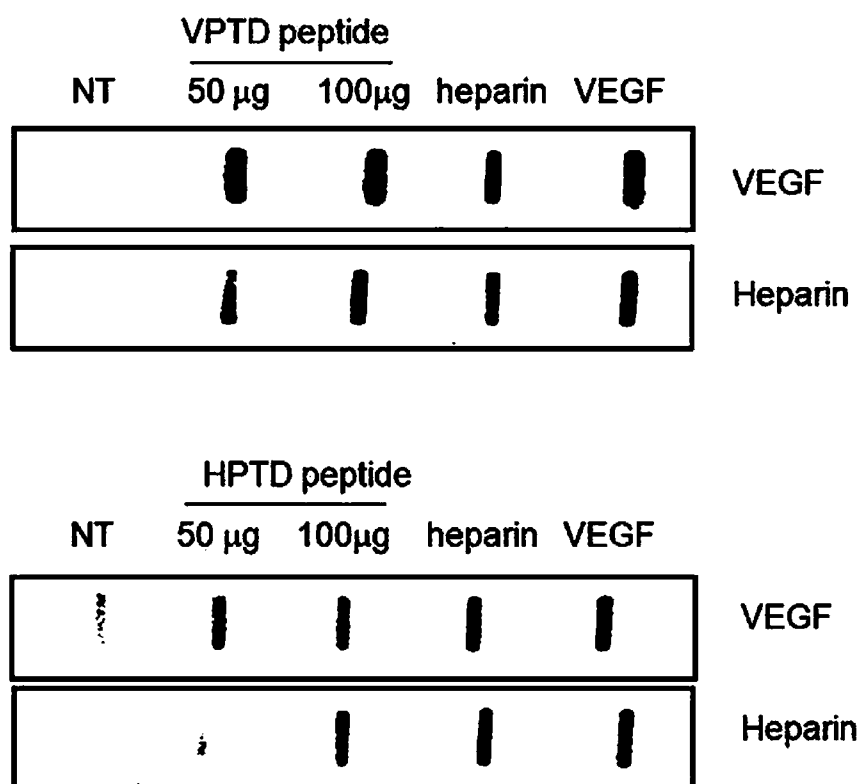
[Fig. 1a]



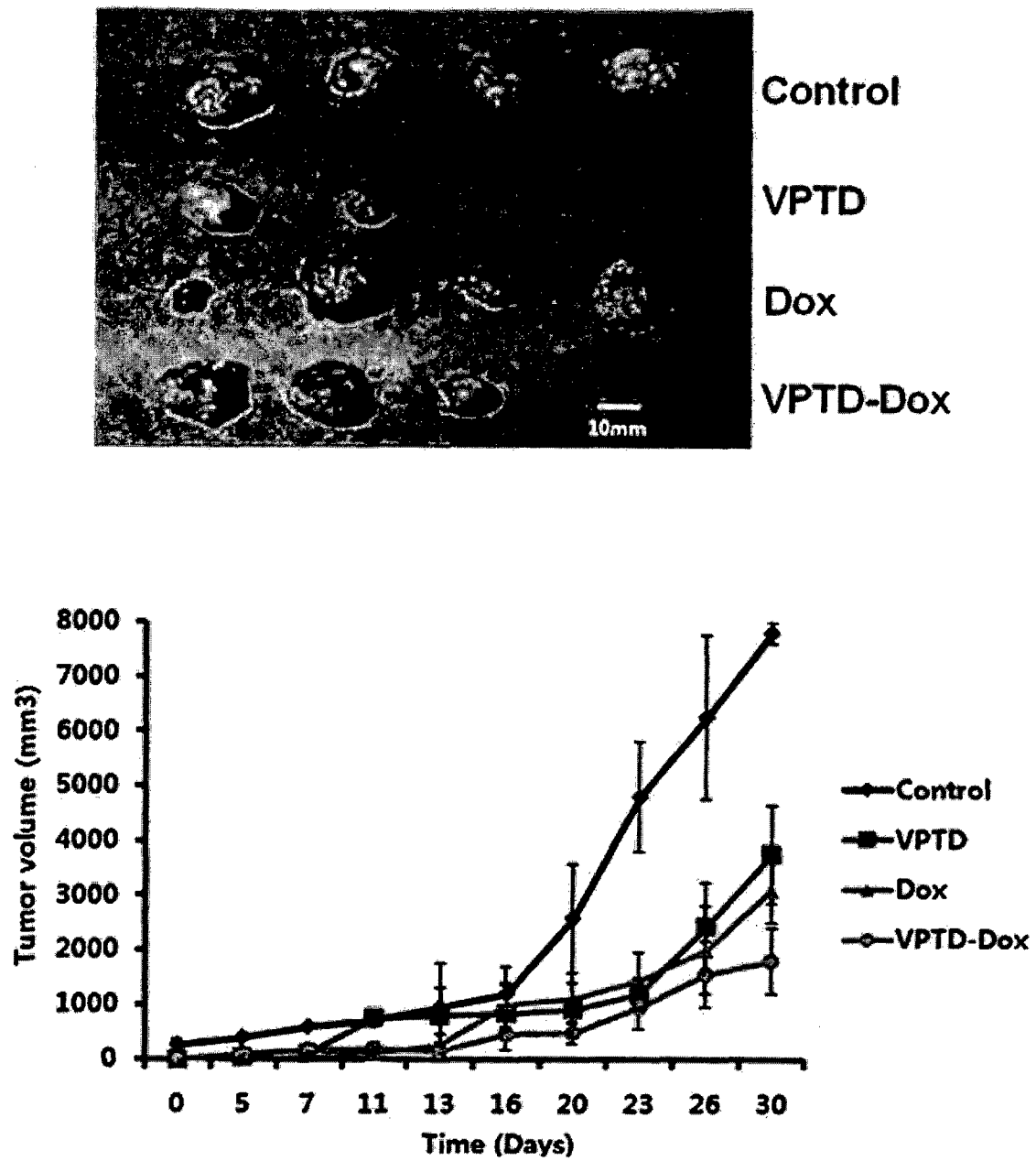
[Fig. 1b]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/008324**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****C07K 14/435(2006.01)i, A61K 49/14(2006.01)i, A61K 47/48(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K 14/435; C07K 19/00; C07K 14/47; C07K 7/08; C07K 7/06; A61K 49/14; A61K 47/48; A61P 35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: tumor selective penetration, vascular endothelial growth factor, heparin, VSRRRRRRGRRRR, CSSRKKNPCRRH

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2010-0094622 A (SNU R&DB FOUNDATION et al.) 27 August 2010 See abstract; paragraph [0035]; and claims 1-15.	1-17
A	KR 10-2012-0026408 A (SNU R&DB FOUNDATION et al.) 19 March 2012 See abstract; paragraph [0027]; and claims 1-10.	1-17
A	QI, Lifeng et al., "Cell-penetrating magnetic nanoparticles for highly efficient delivery and intracellular imaging of siRNA", Biomacromolecules, August 2012, vol. 13, no. 9, pages 2723-2730 See the entire document.	1-17
A	MOON, Cheol et al., "In vitro assessment of a novel polyrotaxane-based drug delivery system integrated with a cell-penetrating peptide", Journal of Controlled Release, 2007, vol. 124, no. 1, pages 43-50 See the entire document.	1-17
A	PARK, Yoon Jeong et al., "Nontoxic membrane translocation peptide from protamine, low molecular weight protamine (LMWP), for enhanced intracellular protein delivery: in vitro and in vivo study", The FASEB Journal, 2005, vol. 19, no. 11, pages 1555-1557 See the entire document.	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 DECEMBER 2013 (17.12.2013)

Date of mailing of the international search report

18 DECEMBER 2013 (18.12.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/008324

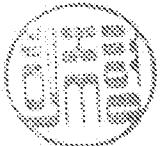
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PARK, Yoon Jeong et al., "Low molecular weight protamine as an efficient and nontoxic gene carrier: in vitro study", The Journal of Gene Medicine, 2003, vol. 5, no. 8, pages 700 - 711 See the entire document.	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/008324

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2010-0094622 A	27/08/2010	CA 2753181 A1	26/08/2010
		CN 102369220 A	07/03/2012
		EP 2399939 A2	28/12/2011
		US 2012-0053129 A1	01/03/2012
		WO 2010-095881 A2	26/08/2010
		WO 2010-095881 A3	06/01/2011
KR 10-2012-0026408 A	19/03/2012	EP 2615105 A1	17/07/2013
		US 2013-0237484 A1	12/09/2013
		WO 2012-033272 A1	15/03/2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C07K 14/435(2006.01)i, A61K 49/14(2006.01)i, A61K 47/48(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C07K 14/435; C07K 19/00; C07K 14/47; C07K 7/08; C07K 7/06; A61K 49/14; A61K 47/48; A61P 35/00 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 종양 선택적 투과, 혈관내피세포성장인자, 헤파린, VSRRRRRRGRRRR, CSSRKKNPNCRRH		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2010-0094622 A (서울대학교산학협력단 외 1명) 2010.08.27 요약; 단락 [0035]; 및 청구항 1-15 참조.	1-17
A	KR 10-2012-0026408 A (서울대학교산학협력단 외 1명) 2012.03.19 요약; 단락 [0027]; 및 청구항 1-10 참조.	1-17
A	QI, LIFENG 외 5명, `Cell-penetrating magnetic nanoparticles for highly efficient delivery and intracellular imaging of siRNA`, Biomacromolecules, August 2012, Vol. 13, No. 9, pp. 2723-2730 전체 문헌 참조.	1-17
A	MOON, CHEOL 외 4명, `In vitro assessment of a novel polyrotaxane-based drug delivery system integrated with a cell-penetrating peptide`, Journal of Controlled Release, 2007, Vol. 124, No. 1, pp. 43-50 전체 문헌 참조.	1-17
A	PARK, YOON JEONG 외 5명, `Nontoxic membrane translocation peptide from protamine, low molecular weight protamine (LMWP), for enhanced intracellular protein delivery: in vitro and in vivo study`, The FASEB Journal, 2005, Vol. 19, No. 11, pp. 1555-1557 전체 문헌 참조.	1-17
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2013년 12월 17일 (17.12.2013)		국제조사보고서 발송일 2013년 12월 18일 (18.12.2013)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-8150 

C (계속). 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	PARK, YOON JEONG 외 4명, `Low molecular weight protamine as an efficient and nontoxic gene carrier: in vitro study`, The Journal of Gene Medicine, 2003, Vol. 5, No. 8, pp. 700-711 전체 문서 참조.	1-17

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2010-0094622 A	2010/08/27	CA 2753181 A1 CN 102369220 A EP 2399939 A2 US 2012-0053129 A1 WO 2010-095881 A2 WO 2010-095881 A3	2010/08/26 2012/03/07 2011/12/28 2012/03/01 2010/08/26 2011/01/06
KR 10-2012-0026408 A	2012/03/19	EP 2615105 A1 US 2013-0237484 A1 WO 2012-033272 A1	2013/07/17 2013/09/12 2012/03/15