



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0096244
(43) 공개일자 2019년08월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61L 24/00 (2006.01) A61K 31/407 (2006.01)
A61K 49/04 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01) A61L 31/16 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61L 24/0015 (2013.01)
A61B 17/12195 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0015930

(22) 출원일자 2018년02월08일

심사청구일자 2018년02월08일

기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인

서강대학교산학협력단

서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)

(주)아이엠지티

경기도 성남시 분당구 돌마로 172, 3층 (정자동, 헬스케어혁신파크 의생명연구원 중앙실험실 때블유2-07벤치)

서울대학교산학협력단

서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)

(72) 발명자

김현철

서울특별시 영등포구 63로 7, 비동 501호(여의도동, 은하아파트)

한현구

서울특별시 강남구 선릉로 120, 15동 805호(대치동, 개포1,2차 우성아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이명진

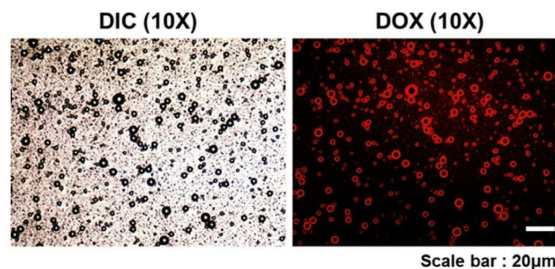
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블을 포함하는 간동맥색전술용 조성물 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 색전물질; 및 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블;을 포함하는 간동맥색전술용 조성물, 및 이의 제조 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/407 (2013.01)

A61K 49/0438 (2013.01)

A61K 9/0087 (2013.01)

A61K 9/107 (2013.01)

A61L 24/0047 (2013.01)

A61L 31/16 (2013.01)

A61L 2300/416 (2013.01)

A61L 2300/418 (2013.01)

A61L 2430/36 (2013.01)

(72) 발명자

유홍근

경기도 하남시 산곡로 80(상산곡동)

김도연

서울특별시 성북구 성북로4길 52, 110동 705호(돈암동, 한신한진아파트)

정진욱

서울특별시 서초구 서초중앙로 200, 19동 1101호
(서초동, 삼풍아파트)

정은아

서울특별시 강남구 남부순환로 2803, 109동 901호
(도곡동, 삼성래미안아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 201653008

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 유망보건의료기술사업

연구과제명 간암의 경동맥화학색전술 치료를 위한 항암제 함유 나노입자-마이크로버블 기반 차세대 약물 전달시스템의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 서강대학교 산학협력단

연구기간 2016.11.01 ~ 2017.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

색전물질; 및

수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블;을 포함하는, 간동맥색전술용 조성물.

청구항 2

색전물질;

수용성 항암제; 및

마이크로버블;을 포함하는, 간동맥색전술용 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 색전물질은 리피오돌, Absolute ethanol, NBCA(N-butyl-2-cyanoacrylate, Sodium tetradecyl sulfate (sotradecol)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 간동맥색전술용 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 수용성 항암제는 마이토마이신, 시스플라틴, 아드리아마이신, 및 젬시타빈으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 간동맥색전술용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4인 것을 특징으로 하는 간동맥색전술용 조성물.

청구항 6

제2항에 있어서,

상기 수용성 항암제 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4인, 간동맥색전술용 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 수용성 항암제의 농도는 1~20mg/mL인, 간동맥색전술용 조성물.

청구항 8

수용성 항암제가 담지된 마이크로버블을 제공하는 단계; 및

마이크로버블과 색전물질을 혼합하는 단계;를 포함하는, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 수용성 항암제가 담지된 마이크로버블은

수용성 항암제를 Computed Tomography 및 X-ray 조영제에 분산시키는 단계; 및

상기 분산된 수용성 항암제를 리피드 필름에 첨가 후 용융 및 혼합하는 단계를 포함하여 형성되는, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

청구항 10

수용성 항암제를 Computed Tomography 및 X-ray 조영제에 분산시키는 단계;

상기 분산된 수용성 항암제와 색전물질을 혼합하는 단계; 및

형성된 혼합물과 마이크로버블을 혼합하는 단계;를 포함하는, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서,

Computed Tomography 및 X-ray조영제는 이오파미돌(Iopamidol), 이오비트리돌(Iobitridol), 이오프로마이드(Iopromide), 이오딧사놀(Iodixanol), 이오헥솔(Iohexol), 이오버솔(Ioversol), 이오펜프롤(Iomeprol)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

청구항 12

제8항 또는 제10항에 있어서,

상기 색전물질은 리피오돌, Absolute ethanol, NBCA(N-butyl-2-cyanoacrylate, Sodium tetradecyl sulfate (sotradecol)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

청구항 13

제8항 또는 제10항에 있어서,

상기 수용성 항암제는 마이토마이신, 시스플라틴, 아드리아마이신, 및 젬시타빈으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

청구항 14

제8항에 있어서,

상기 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4인 것을 특징으로 하는 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

청구항 15

제10항에 있어서,

상기 분산된 수용성 항암제 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4인, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 간동맥 화학색전술에 대한 것으로 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블을 이용하여 간동맥 화학색전술의 효과를 상승시키는 것에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 최근 영상기술이 발전하여 몸 안에 숨어있는 암의 정확한 위치를 찾아내어 방사선 조사, 내시경 수술 등 여러 가지 방법으로 제거할 수 있게 되었다. 하지만, 암의 위치를 정확히 발견하더라도 암이 전체 장기에 퍼져있거

나, 다른 장기와 붙어 있는 경우 등 여러 가지 이유로 인해 수술적 제거가 불가능한 경우가 있다. 간암, 췌장암 등의 경우 발견하더라도 수술적 근치가 불가능한 경우가 많다.

[0004] 현재, 간 종양의 치료에 가장 많이 시행되고 있는 시술인 화학색전술은 간 종양에 영양을 공급하는 동맥을 찾아 항암제를 투여한 다음 혈관을 막아주는 치료법이다. 간 조직은 소장 및 대장 등을 돌아 나오는 문맥(portalvein)과 대동맥에서 직접 나오는 간동맥을 통하여 산소와 영양을 공급받는데, 정상 간 조직은 주로 문맥에서, 종양 조직은 주로 간동맥에서 혈액을 공급받는다. 따라서, 종양에 영양을 공급하는 간동맥에 항암제를 투여하고 혈관을 막아주면 정상 간 조직에 해를 입히지 않으면서 종양만을 선택적으로 괴사시킬 수 있다. 이러한 치료법은 암의 진행 정도에 따른 제약이 없어 적용범위가 넓고, 치료 대상의 제한이 적은 등 장점이 많기 때문에 현재 간암 치료를 향상에 가장 큰 기여를 하고 있는 방법이다. 화학색전술은 먼저 서혜부에 위치한 대퇴동맥에 카테터를 삽입하여 간동맥으로 접근한 후 혈관 조영제를 주사하여 종양의 위치, 크기 및 혈액 공급 양상 등 치료에 필요한 정보를 얻고, 치료 방침이 정해지면 약 1 mm 정도 굵기의 가는 관을 카테터에 삽입하여 표적이 되는 동맥을 찾아 시술한다.

[0005] 다만, 종래의 간동맥 화학 색전술에 따르면, 색전 물질이 일정시간 이후에 씻겨져 나간다는 한계를 나타내고, 혈관을 따라 순환하며 약물을 전신으로 퍼뜨려 정상세포의 사멸과 같은 부작용을 수반한다는 문제점이 있다.

[0006] 이를 해결하기 위하여 본 발명자는 현재 간동맥 화학색전술에 사용되는 수용성 항암제를 대신하여 이를 효과적으로 담지하는 마이크로버블을 이용함으로써, 간동맥 화학색전술의 효과가 상승되는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 기존의 간동맥화학색전술에 사용된 색전물질이 색전시행 후 일정시간이 지나면 씻겨져 나간다는 한계를 나타내므로, 본 발명은 이를 해결함과 동시에 지속적인 약물방출에 의하여 악효를 장시간 지속시켜 항암치료의 효과를 향상시키기 위한 발명이다.

[0009] 또한 종래기술은 상기한 바와 같은 한계로 인하여 혈관을 따라 순환하여 약물을 전신으로 퍼뜨려 정상세포의 사멸과 같은 부작용을 수반한다는 문제점이 있는 바 본 발명은 이를 해결하기 위한 것이다.

[0010] 구체적으로 본 발명은 간동맥 화학색전술에 사용되는 수용성 항암제를 효과적으로 담지하는 마이크로버블을 이용하여, 간동맥 화학색전술에 적용되는 새로운 조성물 및 그 제조방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명의 일 구현 예는 색전물질; 및 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블;을 포함하는 간동맥색전술용 조성물을 제공한다.

[0013] 상기 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다.

[0014] 본 발명의 다른 구현 예는 색전물질; 수용성 항암제; 및 마이크로버블;을 포함하는 간동맥색전술용 조성물을 제공한다.

[0015] 상기 수용성 항암제 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다.

[0016] 상기 색전물질은 리피오돌, Absolute ethanol, NBCA(N-butyl-2-cyanoacrylate, Sodium tetradecyl sulfate (sotradecol)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0017] 상기 수용성 항암제는 마이토마이신, 시스플라틴, 아드리아마이신, 및 젠시타빈으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0018] 상기 수용성 항암제의 농도는 1~20mg/mL일 수 있다.

[0019] 본 발명의 다른 구현 예는 수용성 항암제가 담지된 마이크로버블을 제공하는 단계; 및 마이크로버블과 색전물질

을 혼합하는 단계;를 포함하는, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법을 제공한다.

- [0020] 상기 수용성 항암제가 담지된 마이크로버블은 수용성 항암제를 Computed Tomography 및 X-ray 조영제에 분산시키는 단계; 및 상기 분산된 수용성 항암제를 리피드 필름에 첨가 후 용융 및 혼합하는 단계를 포함하여 형성될 수 있다.
- [0021] 상기 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명의 다른 구현 예는 수용성 항암제를 Computed Tomography 및 X-ray 조영제에 분산시키는 단계; 상기 분산된 수용성 항암제와 색전물질을 혼합하는 단계; 및 형성된 혼합물과 마이크로버블을 혼합하는 단계;를 포함하는, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법을 제공한다.
- [0023] 상기 분산된 수용성 항암제 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다.
- [0024] 상기 Computed Tomography 및 X-ray조영제는 이오파미돌(Iopamidol), 이오비트리돌(Iobitridol), 이오프로마이드(Iopromide), 이오딧사놀(Iodixanol), 이오헥솔(Iohexol), 이오버솔(Ioversol), 이오메프롤(Iomeprol)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0025] 상기 색전물질은 리피오돌, Absolute ethanol, NBCA(N-butyl-2-cyanoacrylate, Sodium tetradecyl sulfate (sotradecol)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0026] 또한, 상기 수용성 항암제는 마이토마이신, 시스플라틴, 아드리아마이신, 및 젬시타빈으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

발명의 효과

- [0028] 본 발명의 간동맥색전술용 조성물은 수용성 항암제를 담지한 마이크로버블을 이용함으로써 타겟 세포에서 항암제를 효과적으로 방출할 뿐 아니라, 마이크로버블에 의한 우수한 조영 효과 또한 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0030] 도 1은 본 발명의 일 구현 예로서, 수용성 항암제를 담지한 마이크로버블의 이미지이다.
- 도 2는 본 발명의 일 구현 예로서, 색전물질 및 수용성 항암제를 담지한 마이크로버블을 포함하는 간동맥색전술용 조성물의 모식도 및 이미지이다.
- 도 3은 본 발명의 일 구현 예로서, 색전물질, 수용성 항암제 및 마이크로버블을 포함하는 간동맥색전술용 조성물의 모식도 및 이미지이다.
- 도 4는 본 발명의 일 구현 예로서, 색전물질, 수용성 항암제 및 마이크로버블을 포함하는 간동맥색전술용 조성물을 확대한 이미지이다.
- 도 5는 본 발명의 각 제형의 크기 분포를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0031] 먼저 본 발명의 실시를 위하여 필요한 개념에 대하여 간략히 설명한다.
- [0032] 증류수의 종류는 몇 번 정제한 증류수인가에 따라 1차, 2차, 3차 증류수로 나뉜다. 본원발명에 사용되는 증류수는 3차 증류수로서 유기물 및 이온을 제거한 물입니다. 유기물에 대한 영향이 큰 생물학 관련발명이므로 3차 증류수를 사용한 것이다.
- [0033] 간은 간동맥과 문맥으로부터 이중 혈류공급을 받는 기관이다. 정상적인 간조직은 70~80%의 혈류와 50%의 필요 산소량을 문맥으로부터 공급받는 반면, 간세포암은 대부분 과혈관성 종양으로 90% 이상의 혈액을 간동맥으로부터 공급받는다. 따라서, 간동맥을 통하여 치료물질을 주입하면 정상 간조직에 비하여 간세포암에 고농도로 투여되고, 색전물질을 주입하여 간동맥 혈류를 비선택적으로 차단하였을 때에도 간세포암에만 심한 허혈이 초래되므로 비교적 선택적인 종양치료가 가능하다. 이것이 간동맥을 통한 간세포암치료법에 공통적으로 적용되는 이론적 근거이다.

- [0034] 구체적으로 본 발명에 대하여 살펴보면 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 색전물질, 및 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블을 포함하는 간동맥색전술용 조성물을 제공한다.
- [0035] 본 발명에 따르면, 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블이 담지한 항암제를 타겟세포에 집중적으로 방출하면서 동시에 마이크로버블에 의한 조영효과 또한 제공할 수 있다.
- [0036] 상기 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다. 바람직하게는 부피비는 1:2이다.
- [0037] 본 발명의 다른 구현 예는 색전물질, 수용성 항암제 및 마이크로버블을 포함하는 간동맥색전술용 조성물을 제공한다.
- [0038] 상기 수용성 항암제 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다. 바람직하게는 부피비는 1:2이다.
- [0039] 상기 색전물질은 리피오돌, Absolute ethanol, NBCA(N-butyl-2-cyanoacrylate, Sodium tetradecyl sulfate (sotradecol)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다. 상기 수용성 항암제는 마이트마이신, 시스플라틴, 아드리아마이신, 및 겐시타빈으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0040] 상기 수용성 항암제의 농도는 1~20mg/mL, 바람직하게 1~10mg/mL 일 수 있다.
- [0041] 본 발명의 다른 구현 예는 수용성 항암제가 담지된 마이크로버블을 제공하는 단계; 및 마이크로버블과 색전물질을 혼합하는 단계를 포함하는 간동맥색전술용 조성물의 제조방법을 제공한다.
- [0042] 상기 수용성 항암제가 담지된 마이크로버블은 수용성 항암제를 Computed Tomography 및 X-ray 조영제에 분산시키는 단계; 및 상기 분산된 수용성 항암제를 리피드 필름에 첨가 후 용융 및 혼합하는 단계를 포함하여 형성될 수 있다.
- [0043] 상기 수용성 항암제를 담지하는 마이크로버블 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다. 바람직하게는 부피비는 1:2이다.
- [0044] 또한, 본 발명의 다른 구현 예는 수용성 항암제를 Computed Tomography 및 X-ray 조영제에 분산시키는 단계; 상기 분산된 수용성 항암제와 색전물질을 혼합하는 단계; 및 형성된 혼합물과 마이크로버블을 혼합하는 단계;를 포함하는, 간동맥색전술용 조성물의 제조방법을 제공한다.
- [0045] 상기 분산된 수용성 항암제 대 색전물질의 부피비는 1:1 내지 1:4일 수 있다. 바람직하게는 부피비는 1:2이다.
- [0046] 상기 Computed Tomography 및 X-ray조영제는 이오파미돌(Iopamidol), 이오비트리돌(Iobitridol), 이오프로마이드(Iopromide), 이오딕사놀(Iodixanol), 이오헥솔(Iohexol), 이오버솔(Ioversol), 이오메프롤(Iomeprol)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있으며, 비중에 따라 다양하게 선택한다. 비중의 선택은 색전물질과 마이크로버블이 에멀전으로 고르게 분산될 수 있는 비중의 조영제를 선택한다.
- [0047] 또한, 혼합 과정에서 회석되는 것을 최소화하기 위해 마이크로버블은 원심분리를 통한 농축과정을 거치는 것이 바람직하다.
- [0048] 상기 원심분리는 225g으로 10분간 원심분리하는 것이 바람직하다.
- [0050] 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 당업계에서의 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0052] **제조예 1 - 마이크로버블의 제조**
- [0053] 지질로는 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DSPC), DSPE-PEG₂₀₀₀-NHS(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-n [poly(ethyleneglycol)]₂₀₀₀-N-hydroxysuccinimide)을 물 비율 (mole ratio)로 9:1이 되도록 비율을 맞춘 뒤 chloroform 에 녹인 후, rotary evaporator를 이용하여 chloroform 을 완전하게 증발시켜 지질박막을 형성한다.
- [0054] 이어서, 0.01M의 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)을 지질박막에 첨가하고 온도를 55-60℃로 유지하면

서 지질을 녹여 준다. 이후에 C_3F_8 gas를 혼합액이 든 용기에 넣어 충전한 후, 45초 동안 mechanical agitation을 가하여 마이크로버블을 제작한다.

[0056] **제조예 2 - DOX-loaded Microbubble in Lipiodol (DOX-MB-Lipiodol) 제조**

[0057] 1. Doxorubicin·HCl을 10mg/ml 농도가 되도록 pamiray로 녹여준다. Pamiray에 분산된 DOX-MB의 DOX 농도는 6.25mg/ml 이다. 이후, DOX in pamiray 용액에서 625 μ l (DOX 6.25mg)와 pamiray 375 μ l를 섞어 총 1ml을 만들고 이를 건조된 리피드 필름이 담겨있는 유리 vial에 넣는다. 리피드가 충분히 녹을 수 있도록 Water bath에서 30초 sonication을 가해주고 C_3F_8 기체를 액체 표면에 충분히 가해준다. 이후에 vial mixer로 agitating시켜 Doxorubicin·HCl이 로딩된 마이크로버블을 만든다. (DOX-MB)

[0058] 2. DOX-MB에서 100 μ l, Lipiodol에서 200 μ l를 따서 1.5ml 플라스틱 튜브에 같이 넣고 파이펫팅해준 뒤 돌이 충분히 섞이도록 15~20초 동안 vortexing 해준다. (예: DOX-MB : lipiodol = 1:2, v/v)

[0059] 3. 육안으로 층 분리가 일어나는 것 같으면 지속적으로 vortexing 해준다.

[0061] **제조예 3 - DOX in Lipiodol with Microbubble (cTACE-MB) 제조**

[0062] 1. Doxorubicin·HCl을 6.25mg/ml 농도가 되도록 pamiray로 녹여준다. Pamiray에 분산된 cTACE의 DOX 농도는 6.25mg/ml 이다. 이후에 DOX in pamiray 용액에서 100 μ l와 Lipiodol 200 μ l를 각각 1ml syringe에 담는다. 이후에 3 way pumping이 가능한 장치를 이용하여 syringe가 한 번 움직이는 것을 1회로 counting하여 총 15~20회 pumping을 해준다. (cTACE 제형 제작은 DOX in pamiray : lipiodol = 1:2, (v/v)로 가정)

[0063] 2. 마이크로버블 (0.5mg/ml 혹은 1mg/ml)을 제작하여 5ml syringe에 담고 마이크로버블이 담겨있던 유리 vial에 PBS 1ml을 추가로 넣어 남은 마이크로버블을 회수한 뒤 5ml syringe에 담는다.

[0064] 3. 마이크로버블이 담긴 5ml syringe를 원심 분리기(225g, 10분)의 조건으로 상층부에 마이크로버블이 모이도록 한다. 이후에 최상층부의 마이크로버블을 남기고 syringe안의 용액을 버린다.

[0065] 4. 사용할 양 만큼의 cTACE와 마이크로버블을 섞어 충분한 반응이 일어나도록 파이펫팅한다. 이후에 육안으로 관찰하면서 15~20초 동안 vortexing 해준다.

[0066] 5. 육안으로 층 분리가 일어나는 것 같으면 지속적으로 vortexing 해준다.

[0068] **실험 결과**

[0069] **실험예 1 - DOX-MB-Lipiodol 제형의 분석**

[0070] 토끼 1마리당 DOX 0.5mg 투여를 목표로 제작된 제형에 대한 이미지 분석 결과를 도 1 및 도 2에 나타낸다.

[0071] 도 1은 DOX 1mg를 pamiray 1ml에 녹인 뒤 마이크로버블 형성을 위한 리피드 필름에 1ml을 넣어 제작한 마이크로버블의 이미지 결과이다. DIC 이미지에서 마이크로버블이 제대로 형성된 것을 볼 수 있고 DOX 파장의 형광으로 확인했을 때 항암제인 DOX가 마이크로버블의 hydrophilic한 부분에 제대로 로딩되어 있음을 확인할 수 있다.

[0072] 색전술에 사용될 치료 농도 달성을 위해 로딩되지 않은 DOX를 거르는 Purification 과정은 거치지 않았다.

[0073] 또한, 도 2에서 빨간색 점선으로 표시된 부분이 에멀전이 형성된 것으로 그 내부에 항암제를 담지한 마이크로버블이 존재한다 (예: DOX-MB in 리피오돌 (DOX-MB-Lipiodol))

[0074] 여기서 DOX-MB가 에멀전 내부에 존재하기 때문에 DIC로 확인했을 때 에멀전 내부에 검은색으로 보이는 마이크로버블이 존재함을 알 수 있고 DOX 파장의 형광으로 관찰하였을 때 에멀전 내부에서 형광이 강하게 나타나는 것을 관찰할 수 있다.

[0076] **실험예 2 - cTACE-MB 제형의 분석**

- [0077] 토끼 1마리당 DOX 0.5mg 투여를 목표로 제작된 제형에 대한 이미지 분석 결과를 도 3 및 도 4에 나타낸다.
- [0078] 도 3에서 빨간색 점선으로 표시된 부분이 에멀전이 형성된 것으로 그 내부에 항암제와 마이크로버블이 각각 존재한다. (예: cTACE-MB)
- [0079] 도 3에서 항암제인 DOX와 마이크로버블이 에멀전 내부에 각각 존재하기 때문에 DIC로 확인했을 때 에멀전 내부에 빨간색을 띠는 DOX와 검은색으로 보이는 마이크로버블이 존재함을 알 수 있고 DOX 파장의 형광으로 관찰하였을 때 에멀전 내부에서 DOX로 인한 형광이 강하게 나타나는 것을 관찰 가능하다.
- [0080] 또한, 도 4는 상기 cTACE-MB 제형을 40배로 확대하여 관찰한 것이다. 에멀전 내부에 빨간색을 띠는 DOX와 검은색으로 보이는 마이크로버블이 존재함을 확실하게 관찰할 수 있고 DOX 파장의 형광으로 관찰하였을 때 에멀전 내부에서 DOX로 인한 형광이 강하게 나타나는 것을 알 수 있다.

[0082] **실험예 3 - 각 제형의 크기 분포 (Size distribution)**

- [0083] 각 제형에 대해 총 5회 이상 이미지를 얻은 뒤 현미경 프로그램상에서 각 배율에 대한 scale bar를 이용하여 제형의 평균 크기를 얻었다.

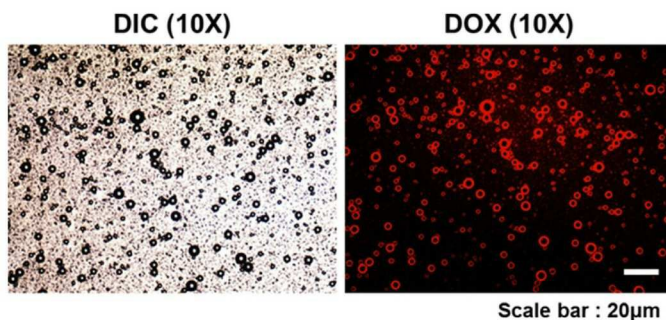
표 1

Sample	Size distribution (μm)
DOX-MB-Lipiodol	15.41 ± 9.39
cTACE-MB	11.87 ± 5.29

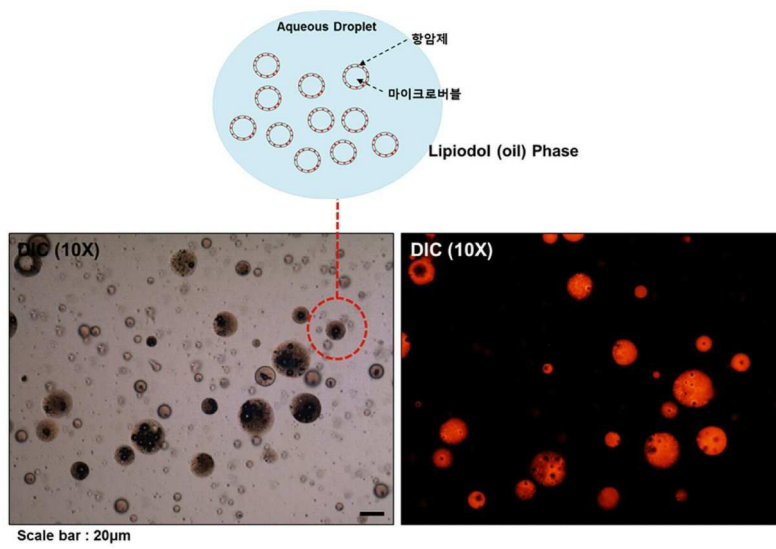
- [0085]
- [0086] 위 결과는 전체 모식도 (DOX-MB-Lipiodol, cTACE-MB)에 관한 크기 분포를 나타낸 것이다.
- [0087] DIC 이미지로부터 각 제형의 크기를 측정된 결과 평균적으로 DOX-MB-Lipiodol은 $15.41 \pm 9.39 \mu\text{m}$, cTACE-MB는 $11.87 \pm 5.29 \mu\text{m}$ 의 크기를 가지는 것으로 나타났다.
- [0088] 도 5는 표로 정리된 각 제형의 크기에 결과를 그래프로 나타낸 것이다.

도면

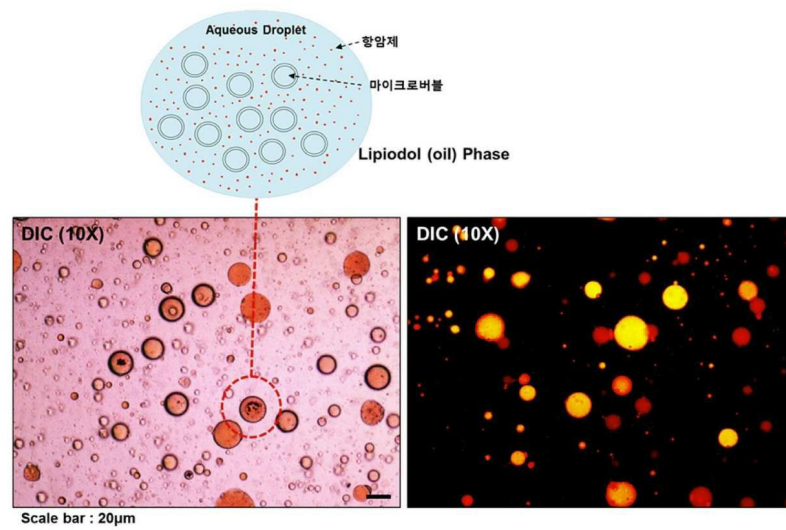
도면1



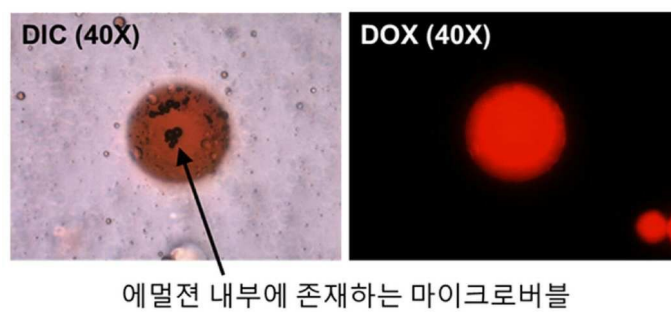
도면2



도면3



도면4



도면5

