



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0035781
(43) 공개일자 2024년03월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/555 (2006.01) A61K 33/242 (2019.01)
A61K 33/26 (2006.01) A61K 9/14 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) B01J 31/00 (2006.01)
B01J 31/16 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/555 (2013.01)
A61K 33/242 (2022.01)
- (21) 출원번호 10-2024-0031270(분할)
(22) 출원일자 2024년03월05일
심사청구일자 2024년03월05일
- (62) 원출원 특허 10-2021-0032677
원출원일자 2021년03월12일
심사청구일자 2021년03월12일
- (30) 우선권주장
1020200030795 2020년03월12일 대한민국(KR)
- (71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
한국과학기술연구원
서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
- (72) 발명자
김동하
서울특별시 마포구 서강로9길 45, 101동 703호 (창전동, 태영아파트)
유수빈
서울특별시 서대문구 연세로2다길 18 (창천동) (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인엠에이피에스

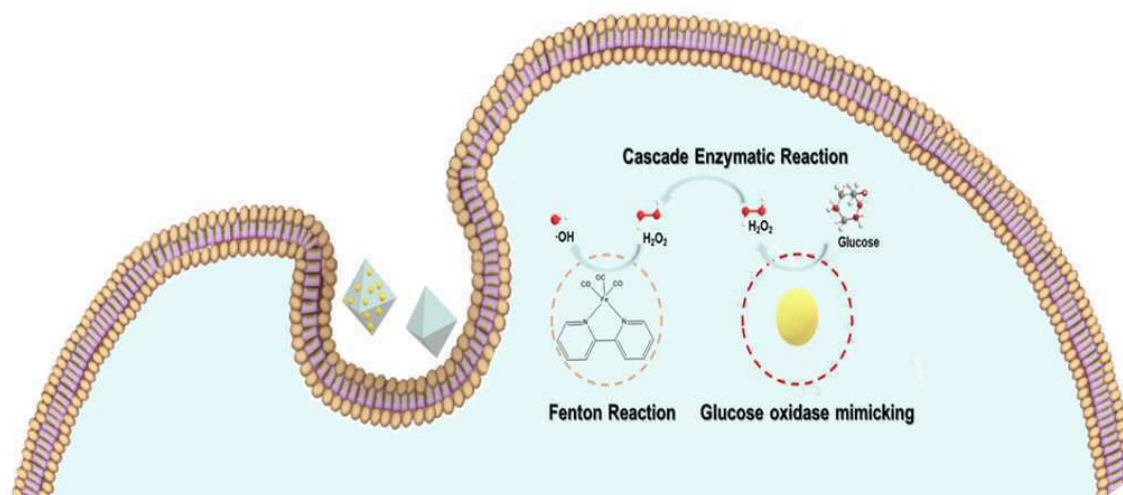
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법

(57) 요약

본원은, 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도9



(52) CPC특허분류

A61K 33/26 (2013.01)
A61K 9/145 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
B01J 31/003 (2013.01)
B01J 31/1691 (2013.01)
A61K 2300/00 (2023.05)
B01J 2531/48 (2013.01)

장도협

서울특별시 성북구 화랑로 94-12, 302호 (하월곡동)

(72) 발명자

김세훈

서울특별시 성북구 오패산로 90, 118동 402호 (하월곡동, 래미안월곡아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711115682
과제번호	2020R1A2C3003958
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(미래부)
연구과제명	융복합 키랄 플라즈모닉스 기반 새로운 페러다임의 빛-물질 상호작용 시스템 개발

연구

과제수행기관명	이화여자대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345330707
과제번호	2020R1A6C101B194
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국기초과학지원연구원
연구사업명	이공학학술연구기반구축(R&D)
연구과제명	핵심연구지원센터 조성 지원 과제(나노바이오·에너지 소재 센터)
과제수행기관명	이화여자대학교
연구기간	2020.06.01 ~ 2021.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465029431
과제번호	HI15C1540020019
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	임상연구인프라조성(R&D)
연구과제명	신약 전임상을 위한 이미징 프로브 및 분자영상 기술지원
과제수행기관명	한국과학기술연구원
연구기간	2019.06.01 ~ 2020.03.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711103674
과제번호	2017M3A9D8029942
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오·의료기술개발(R&D)
연구과제명	산화·환원 다중 활성화확종 감응 전기화학발광 나노센서 개발 및 질환 특이적 센싱

패턴 분석

과제수행기관명	한국과학기술연구원
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

금속-유기 프레임워크에 금 나노입자가 담지된 제 1 약학적 조성물, 및
금속-유기 프레임워크에 철 단원자가 담지된 제 2 약학적 조성물
을 포함하며,
암의 예방 또는 치료용인,
약학적 조성물로서,
상기 금속-유기 프레임워크의 중심 금속은 지르코늄인 것인,
약학적 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
상기 금속-유기 프레임워크는 UiO-67인 것인, 약학적 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
상기 금 나노입자는 상기 금속-유기 프레임워크에서 금속 상태로 존재하고,
상기 철 단원자는 상기 금속-유기 프레임워크에서 단원자 상태로 존재하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
상기 철 단원자는 상기 금속-유기 프레임워크에 킬레이팅된 것이며,
상기 금 나노입자는 상기 금속-유기 프레임워크에 담지된 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,
상기 제 2 약학적 조성물은 타겟팅 모이어티로서 염산이 도입된 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

금속-유기 프레임워크에 금 나노입자가 담지된 제 1 약학적 조성물 및 금속-유기 프레임워크에 철 단원자가 담지된 제 2 약학적 조성물을 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 체내에 주입하는 것을 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법으로서,

상기 방법은 인간을 제외하여 적용되는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 금속-유기 프레임워크의 중심 금속은 지르코늄인 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 금속-유기 프레임워크는 UiO-67인 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 9

제 6 항에 있어서,

상기 제 1 약학적 조성물은 미토콘드리아에 작용하는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 10

제 6 항에 있어서,

상기 제 2 약학적 조성물은 세포질에 작용하는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 11

제 6 항에 있어서,

상기 제 1 약학적 조성물은 미토콘드리아에 작용하는 것이고, 상기 제 2 약학적 조성물은 세포질에 작용하는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 12

제 6 항에 있어서,

상기 제 1 약학적 조성물은 글루코오스를 산화하여 과산화수소 및 글루콘산을 생성하고,

상기 제 2 약학적 조성물은 상기 과산화수소를 분해하여 하이드록시 라디칼을 형성하는 것을 포함하는,

암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 13

제 6 항에 있어서,

상기 제 1 약학적 조성물은 트리페닐포스포늄 용액으로 처리되는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 14

제 12 항에 있어서,

상기 하이드록시 라디칼은 살균, 암세포 사멸, 염증 반응 조절 및 노화 억제 중 하나 이상의 용도로서 작용하는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

청구항 15

제 6 항에 있어서,

상기 암은 고형 종양, 혈액암, 결장직장암, 자궁암, 자궁근종, 수막종, 폐암, 소세포성 폐암, 비소세포성 폐암, 위장관암, 대장암, 장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종 및 흑색종에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은, 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 단원자 촉매(SAC; single-atom catalyst)는 촉매 작용을 위한 단일 금속 원자 센터로 이용되고 있으며, 상기 금속의 함침은 일반적으로 배위 화학(coordination chemistry)을 통하여 이루어지고 있다. 상기 단원자 촉매에서 N-리간드, O-리간드, P-리간드 및 S-리간드가 가장 일반적으로 사용되고 있다. 0 차원인 단원자 촉매는, 현재 불균일 촉매를 능가하는 효율이 있으며, 균일 촉매보다는 덜 활성적이지만, 더 안정적인 장점이 있다. 단원자 촉매는 연료 전지, 물 분해 (water splitting), N_2 또는 CO_2 환원, 및/또는 생의학 응용에 사용될 수 있다.

[0003] 구체적으로, 단원자 촉매는 높은 선택성 및 반응성을 보유하도록 원자 활용을 극대화할 수 있고; 불용성 및/또는 저렴한 지지대 [예를 들어, 탄소, 세리아(Ceria), Al_2O_3]를 활용할 수 있으며; 높은 재활용성을 갖고; 리간드 및 내포된(embedded) 금속을 전환하여 캐도 구조를 쉽게 조정할 수 있으며; 및 배위/금속에 따라 상이한 화학 반응을 유발할 수 있다. 예시적으로, 상기 단원자 촉매는 효소, M-N/C (예를 들어, Fe-N/C), M@Metal Oxide (예를 들어, Au@Ceria) 및 제올라이트/MOF(metal organic framework) (예를 들어, Ir@Zeolite Y)로 분류될 수 있다.

[0004] 촉매 나노물질 기반 효소-유사 활성을 갖는 나노자임은 과산화수소 분해, 글루코오스 산화 효소 등의 촉매적 활성으로 활용되며, 항암 치료, 항균 필름, 항산화, 이미징, 바이오 센싱 및 조직 재생 등의 다양한 바이오의약 응용 분야에 활용되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 국제공개공보 WO 2018/186725호.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본원은, 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하고 자 한다.

[0007] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제

들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본원의 제 1 측면은, 금속-유기 프레임워크에 금 나노입자가 담지된 제 1 약학적 조성물, 및 금속-유기 프레임워크에 철 단원자가 담지된 제 2 약학적 조성물을 포함하며, 암의 예방 또는 치료용인, 약학적 조성물로서, 상기 금속-유기 프레임워크의 중심 금속은 지르코늄인 것인, 약학적 조성물을 제공한다.
- [0009] 본원의 제 2 측면은, 금속-유기 프레임워크에 금 나노입자가 담지된 제 1 약학적 조성물 및 금속-유기 프레임워크에 철 단원자가 담지된 제 2 약학적 조성물을 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 체내에 주입하는 것을 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법으로서, 상기 방법은 인간을 제외하여 적용되는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0010] 본원의 구현예들에 따른 제 1 약학적 조성물 및 제 2 약학적 조성물의 각각의 제조 방법은, 종래의 MOF-기반 나노자임의 제조 방법과 달리, 고온의 열처리가 필요하지 않으며, 단순 킬레이팅 방법으로 합성이 용이하다.
- [0011] 본원의 구현예들에 따르면, 상기 제 1 약학적 조성물 및 상기 제 2 약학적 조성물을 포함하는, 약학적 조성물은 높은 선택성과 활성을 가질 수 있다.
- [0012] 본원의 구현예들에 따르면, 상기 제 1 약학적 조성물은 미토콘드리아에 작용하며, 상기 제 2 약학적 조성물은 세포질에 작용할 수 있다.
- [0013] 본원의 구현예들에 따른 상기 제 1 약학적 조성물 및 상기 제 2 약학적 조성물을 포함하는 약학적 조성물은 증식성 질환의 예방 또는 치료에서 사용될 수 있다.
- [0014] 본원의 구현예들에 따르면, 상기 제 1 약학적 조성물에 포함된 상기 금 나노입자가 글루코오스 산화 효소 모방 반응 시, 증식성 질환을 일으키는 악성 세포 내의 글루코오스를 사용함에 따라 상기 악성 세포의 영양분을 감소시키며, 기아 요법(starvation therapy)을 통한 증식성 질환의 예방 또는 치료를 가능하게 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은, 본원의 실시예 1에 따른 금속 유기 프레임워크(MOF; metal organic framework)의 합성 모식도이다.
- 도 2(a)는, 본원의 실시예 1에 따른 MOF의 $^1\text{H-NMR}$ 데이터이고, 도 2(b)는, MOF의 투과전자현미경(TEM; transmission electron microscope) 이미지이다.
- 도 3(a)는, 본원의 실시예 2에 따른 Au 나노입자-MOF의 합성 과정을 나타낸 모식도이고, 도 3(b)는, Au 나노입자-MOF의 구조를 나타낸 이미지이다.
- 도 4(a)는, 본원의 실시예 2에 따른 Au 나노입자-MOF의 TEM 이미지들(스케일 바: 50 nm, 10 nm 및 5 nm)이며, 도 4(b)는 Au 나노입자-MOF의 UV-vis 흡광 스펙트럼이다.
- 도 5는, 본원의 실시예 2에 따른 Au 나노입자-MOF의 X-선 광전자 분광분석법(XPS; x-ray photoelectron spectroscopy)에 따른 분석 데이터이다.
- 도 6(a)는, 본원의 실시예 3에 따른 Fe 단원자-MOF의 합성 과정을 나타낸 모식도이며, 도 6(b)는, Fe 단원자-MOF의 구조를 나타낸 이미지이다.
- 도 7(a)는, 본원의 실시예 3에 따른 Fe 단원자-MOF의 주사투과현미경(STEM; scanning transmission electron microscopy) 이미지이며, 도 7(b)는, Fe 단원자-MOF의 에너지 분산형 X-선 분광분석법(EDS 또는 EDX; energy dispersive x-ray spectroscopy)에 따른 분석 데이터를 나타낸 것이다.
- 도 8(a) 및 도 8(b)는, 각각 본원의 실시예 3에 따른 Fe 단원자-MOF의 Fe 2p 및 N 1s의 X-선 광전자 분광분석법(XPS, x-ray photoelectron spectroscopy)에 따른 분석 데이터를 나타낸 것이다.
- 도 9는, 본원의 실시예 4에 따른 Au 나노입자-MOF 및 Fe 단원자-MOF가 도입된 MOF 기반 나노 구조체의 암치료 모식도이다.
- 도 10은, Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨가하지 않은 대조군(ctrl) 및 Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨

가한 경우(Au NP-MOF + glucose)의 글루코오스 산화 효소 모방(glucose oxidase mimicking) 나노자임의 활성을 나타낸 그래프이다.

도 11은, Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨가하지 않은 대조군(ctrl) 및 Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨가한 경우(Au NP-MOF + glucose)의 pH 변화를 나타낸 그래프이다.

도 12는, Au NP-MOF와 글루타티온이 함께 존재하는 경우(Au NP-MOF + GSH) 및 글루타티온이 존재하지 않는 경우(ctrl)의 티올기 흡광을 나타낸 그래프이다.

도 13은, Fe-MOF와 과산화수소를 반응시키는 경우(Fe-MOF + H₂O₂) 및 대조군(H₂O₂)의 과산화효소 모방(peroxidase mimicking) 활성을 나타낸 흡광도 그래프이다.

도 14는, Fe-MOF와 과산화수소를 반응시키는 경우(Fe-MOF + H₂O₂) 및 과산화수소를 반응시키지 않은 경우(Fe-MOF)의 하이드록시 라디칼의 형성을 나타낸 그래프이다.

도 15는, 대조군(TA + DI-water), Au NP-MOF + 글루코오스, Fe-MOF + 글루코오스, Au NP-MOF + Fe-MOF + 글루코오스, Au NP-MOF, Fe-MOF 및 Au NP-MOF + Fe-MOF 각각의 캐스케이드 효소(cascade enzymatic) 활성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 구현예 및 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.
- [0017] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 "전기적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다.
- [0018] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.
- [0019] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0020] 본 명세서에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.
- [0021] 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “~ 하는 단계” 또는 “~의 단계”는 “~를 위한 단계”를 의미하지 않는다.
- [0022] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 "이들의 조합(들)"의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.
- [0023] 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B"의 기재는, "A 또는 B, 또는 A 및 B"를 의미한다.
- [0025] 이하, 본원의 구현예를 상세히 설명하였으나, 본원이 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0027] 본원의 제 1 측면은, 금속-유기 프레임워크에 금 나노입자가 담지된 제 1 약학적 조성물, 및 금속-유기 프레임워크에 철 나노입자가 담지된 제 2 약학적 조성물을 포함하며, 암의 예방 또는 치료용인, 약학적 조성물로서, 상기 금속-유기 프레임워크의 중심 금속은 지르코늄인 것인, 약학적 조성물을 제공한다.
- [0028] 금속-유기 프레임워크(MOF; metal organic framework)는, 미세 다공성 물질에 포함되는 물질로서, 다가 배위 결합을 형성하는 유기 음이온(링커)에 의해 연결되는 양이온성 금속 이온 클러스터로 이루어진다. 상기 금속-유기

프레임워크는 인위적으로 제조되며, 3차원 구조를 형성함으로써 화학종의 분리, 가스 저장, 촉매, 약물 전달, 화학 센서 등의 다양한 기능을 할 수 있다.

- [0029] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속-유기 프레임워크는 UiO-67인 것일 수 있다.
- [0030] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금 나노입자는 상기 금속-유기 프레임워크에서 금속(metal) 상태로 존재하고, 상기 철 단원자는 상기 금속-유기 프레임워크에서 단원자 상태로 존재하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 금 나노입자는 산화 상태(oxidation state)가 0이며, 상기 철 단원자는 산화 상태가 +2 또는 +3일 수 있다.
- [0031] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 약학적 조성물 및 상기 제 2 약학적 조성물을 포함하는, 약학적 조성물은 높은 선택성과 활성을 가질 수 있다.
- [0032] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 철 단원자는 상기 금속-유기 프레임워크에 킬레이팅된 것이며, 상기 금 나노입자는 상기 금속-유기 프레임워크에 담지된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0033] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 약학적 조성물은 타겟팅 모이어티로서 염산이 도입된 것일 수 있다.
- [0034] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학적 조성물은 글루코오스 산화 효소 및 과산화수소 분해 효소의 활성을 가질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 제 1 약학적 조성물은 글루코오스 산화 효소의 활성을 가질 수 있으며, 상기 제 2 약학적 조성물은 과산화수소 분해 효소의 활성을 가질 수 있다.
- [0035] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금 나노입자는 펜톤 반응 촉진을 위한 과산화수소의 생성 유도 및 산성 환경 공급을 위한 글루코오스 산화 효소 모방(glucose oxidase mimicking)을 유도할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 금 나노입자가 상기 글루코오스 산화 효소 모방 반응 시, 증식성 질환을 일으키는 악성 세포 내의 글루코오스를 사용함에 따라 상기 악성 세포의 영양분을 감소시키며, 기아 요법(starvation therapy)을 통한 증식성 질환의 예방 또는 치료를 가능하게 한다.
- [0036] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 철 단원자는 활성 산소종(ROS; reactive oxygen species) 생성을 위한 펜톤 반응 유도 및 과산화수소 효소 모방(peroxidase mimicking)을 유도하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0037] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 철 단원자는 상기 과산화수소의 자발적 보충 하에 펜톤 반응을 통한 활성 산소종의 생성을 유도할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본원의 제 2 측면은, 금속-유기 프레임워크에 금 나노입자가 담지된 제 1 약학적 조성물 및 금속-유기 프레임워크에 철 단원자가 담지된 제 2 약학적 조성물을 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 체내에 주입하는 것을 포함하는, 암의 예방 또는 치료 방법으로서, 상기 방법은 인간을 제외하여 적용되는 것인, 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0040] 본원의 제 1 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 본원의 제 1 측면에 대해 설명한 내용은 본원의 제 2 측면에서 그 설명이 생략되었다더라도 동일하게 적용될 수 있다.
- [0041] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속-유기 프레임워크의 중심 금속은 지르코늄인 것일 수 있다.
- [0042] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속-유기 프레임워크는 UiO-67인 것일 수 있다.
- [0043] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학적 조성물은 세포에 직접적으로 주입되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학적 조성물을 체내에 주입하는 방법은, 본 발명에 특별히 반하지 않는 한, 통상의 약학적 조성물이 체내에 주입되는 방식을 제한 없이 적용할 수 있다.
- [0045] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 약학적 조성물 및 상기 제 2 약학적 조성물을 포함하는, 상기 약학적 조성물은 높은 선택성과 활성을 가질 수 있다.
- [0046] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 약학적 조성물에 포함되는 철 단원자는 상기 과산화수소의 자발적 보충 하에 펜톤 반응을 통한 활성 산소종 생성에 의한 증식성 질환 예방 또는 치료로 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0047] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 약학적 조성물은 미토콘드리아에 작용하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 약학적 조성물은 트리페닐포스포늄 용액으로 처리되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 트리페닐포스포늄 용액은 제 1 약학적 조성물을 미토콘드리아로 타겟팅할 수 있게 한다.
- [0049] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 약학적 조성물은 트리페닐포스포늄 용액으로 처리함으로써, 미토콘드리아 내에 존재하는 글루타티온(GSH; glutathione)의 고갈(depletion) 효율을 증폭시킬 수 있으며, 이에 따라 세포 내의 산화 스트레스(oxidative stress)를 가중시켜 증식성 질환의 치료 효과를 극대화할 수 있다.
- [0050] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 약학적 조성물은 세포질에 작용하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 약학적 조성물은 엽산(folic acid)을 타겟팅 모이어티(targeting moiety)로서 도입할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 엽산(folic acid)은 제 2 약학적 조성물을 세포 내로 타겟팅할 수 있게 한다.
- [0052] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 약학적 조성물은 미토콘드리아에 작용하는 것이고, 상기 제 2 약학적 조성물은 세포질에 작용하는 것일 수 있다.
- [0053] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 약학적 조성물은 글루코오스를 산화하여 과산화수소 및 글루콘산을 생성하고, 상기 제 2 약학적 조성물은 상기 과산화수소를 분해하여 하이드록시 라디칼을 형성하는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0054] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 하이드록시 라디칼은 살균, 암세포 사멸, 염증 반응 조절 및 노화 억제 중 하나 이상의 용도로서 작용하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0055] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금 나노입자에 의해 글루코오스가 산화됨에 따라, 하이드록시 라디칼에 의해 상기 증식성 질환의 성장 인자인 글루코오스 농도가 낮아지면서 기아 요법(starvation therapy) 효과를 수득할 수 있다.
- [0056] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 암은 고형 종양, 혈액암, 결장직장암, 자궁암, 자궁근종, 수막종, 폐암, 소세포성 폐암, 비소세포성 폐암, 위장관암, 대장암, 장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종 및 흑색종에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본원의 일 구현예에 따른 약학적 조성물은 예방 또는 치료의 대상으로서, 암종에 국한되지 않은 질환에 적용이 가능할 수 있다.
- [0058] 이하, 본원에 대하여 실시예를 이용하여 좀더 구체적으로 설명하지만, 하기 실시예는 본원의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐, 본원의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0060] [실시예]

[0061] 실시예 1: 금속 유기 프레임워크(MOF; metal organic framework)의 합성

[0062] 1) 금속 유기 프레임워크의 합성 물질

[0063] 2,2'-비피리딘-5,5'-디카르복실산(2,2'-bipyridine-5,5'-dicarboxylic acid) (98.0%, TCI), 비페닐-4,4'-디카르복실산(biphenyl-4,4'-dicarboxylic acid) (97%, Aldrich), 지르코늄(IV) 클로라이드(zirconium (IV) chloride) ($\geq 99.5\%$ 미량 금속 기준, Aldrich), 금(III) 클로라이드 트리하이드레이트(gold(III) chloride trihydrate) ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; $\geq 99.9\%$ 미량 금속 기준), 트리소듐 시트레이트 디하이드레이트(trisodium citrate dihydrate), 소듐 보로하이드라이드(sodium borohydride) (NaBH_4 , 99%), 철(II) 클로라이드(iron(II) chloride) (FeCl_2 , 98%), N,N-다이메틸포름아미드 무수화물(N,N-dimethylformamide anhydrous) (DMF, 99.8%)은 Aldrich에서 구입하였다.

- [0064] 2) UiO-67 금속 유기 프레임워크의 합성
- [0065] 도 1은, 금속 유기 프레임워크의 합성 모식도를 나타낸 것으로서, $ZrCl_4$ (9.3 mg, 0.04 mmol)를 아세트산(0.5 mL)과 함께 20 mL 유리 바이알에서 N, N'-디메틸포름아미드(DMF; N,N'-dimethylformamide, 5 mL)에 용해하였다. 리간드인 비페닐-4,4'-디카르복실산(biphenyl-4,4'-dicarboxylic acid), 2,2'-비피리딘-5,5'-디카르복실산(2,2'-bipyridine-5,5'-dicarboxylic acid) 및 DMF(5 mL)의 용액을 사용하여 리간드를 제조하였다.
- [0066] 상기 리간드를 제조한 후, 잘 분산된 리간드 용액을 금속 용액에 첨가한 후 밀봉된 바이알을 광(light) 없이 85 °C 오븐에서 12 시간 동안 유지하였다. 이후, 상온에서 냉각하고 원심 분리기로 고체를 분리하였다 (8,000 rpm, 10 분). 그 후, DMF로 1 회 세척 및 메탄올로 3 회 세척하였다. 세척 후, 생성물을 진공 오븐에서 건조하여 MOF를 수득하였다. 여기서 합성된 MOF는 Zr 기반이며, 상기 수득한 MOF의 크기는 약 50 nm이었다. 도 2(a)는, MOF의 1H -NMR 데이터를 나타낸 것으로서, 도 2(a)에 따르면, 상기 리간드인 비페닐-4,4'-디카르복실산 및 2,2'-비피리딘-5,5'-디카르복실산의 비율이 1:1임을 확인할 수 있다. 상기 2,2'-비피리딘-5,5'-디카르복실산에 있는 N-그룹으로 인해, Fe 금속의 킬레이팅이 가능할 수 있다. 도 2(b)의 투과전자현미경(TEM; transmission electron microscope) 이미지를 통해 MOF가 잘 합성되었음을 알 수 있다.
- [0068] **실시예 2: Au 나노입자-MOF**
- [0069] 1) Au 나노입자-MOF의 합성
- [0070] 도 3(a)는, Au 나노입자-MOF의 합성 과정을 나타낸 것이다. 먼저, 상기 실시예 1에서 합성한 MOF(1 mg/mL)을 DMF에 분산시킨 후, $HAuCl_4$ (1 mg/mL)를 첨가하여 혼합하였다. 하루 동안 인큐베이션한 후, 원심 분리 방법으로 잔여 $HAuCl_4$ 를 제거한 뒤, 환원제인 $NaBH_4$ (0.6 M)을 첨가하여 하루 동안 교반함으로써 Au 나노입자를 합성하였다. 그 후, 다시 원심 분리하고 세척하여 글루코오스 산화 효소 모방(glucose oxidase mimicking) 나노자임인 Au 나노입자-MOF를 수득하였다. 도 3(b)는, 수득한 Au 나노입자-MOF의 구조를 나타낸 이미지이다.
- [0071] 도 4(a)는, Au 나노입자-MOF의 TEM 이미지들(스케일 바: 50 nm, 10 nm 및 5 nm)를 나타낸 것으로서, 도 4(a)의 TEM 이미지를 통해 상기 Au 나노입자가 MOF 내에 잘 합성되었음을 확인할 수 있다. 또한, 도 4(b)는 Au 나노입자-MOF의 UV-vis 흡광 스펙트럼으로서, 상기 Au 나노입자의 흡수 피크인 약 540 nm에서 흡수 피크가 관찰된 것을 보았을 때, Au 나노입자가 MOF 내에 잘 합성되었음을 알 수 있다.
- [0072] 2) Au 나노입자-MOF의 특성
- [0073] 도 5는, Au 나노입자-MOF의 X-선 광전자 분광분석법(XPS; x-ray photoelectron spectroscopy)에 따른 분석 데이터를 나타낸 것이다. 도 5에서 Au $4f_{7/2}$, Au $4f_{5/2}$ 의 각각의 피크인 84 eV 및 87.3 eV의 피크가 모두 나타남을 보았을 때, Au의 산화 상태(oxidation state)가 0임을 알 수 있으며, 이는 Au가 금속(metal) 형태로 존재하는 것을 알 수 있다.
- [0075] **실시예 3: Fe 단원자-MOF**
- [0076] 1) Fe 단원자-MOF의 합성
- [0077] 도 6(a)는, Fe 단원자-MOF의 합성 과정을 모식도이며, 상기 실시예 1에서 합성한 MOF(1 mg/mL)을 DMF에 분산시킨 후, $FeCl_2$ (1 mg/mL)과 첨가하여 혼합하였다. MOF와 상기 $FeCl_2$ 의 비율은 상기 MOF 100 중량부 기준으로 5.5 wt%이다. 하루 동안 인큐베이션한 후, 원심 분리하고 세척하여 과산화수소 효소 모방(peroxidase mimicking) 나노자임인 Fe 단원자-MOF를 수득하였다. 도 6(b)는, Fe 단원자-MOF의 구조를 나타낸 것이다.
- [0078] 도 7(a)는, Fe 단원자-MOF의 주사투과현미경(STEM; scanning transmission electron microscopy) 이미지이고, 도 7(b)는, Fe 단원자-MOF의 에너지 분산형 X-선 분광분석법(EDS 또는 EDX; energy dispersive x-ray spectroscopy)에 따른 분석 데이터를 나타낸 것이다. 도 7(a) 및 도 7(b)에 따르면, 상기 Fe 단원자가 MOF 내에 잘 도입되었음을 확인할 수 있다. 구체적으로, 도 7(a)에서 적색 원 안에 밝은 스팟(spot)이 관찰됨에 따라, 상기 MOF의 기공(pore)에 Fe 단원자가 존재함을 알 수 있고, 도 7(b)의 EDX 분석에서, 각 구조체를 이루는 Zr 및 Fe이 관찰됨을 확인할 수 있어, 상기 MOF의 기공(pore)에 Fe 단원자가 잘 도입되었음을 알 수 있다.

- [0079] 2) Fe 단원자-MOF의 특성
- [0080] 도 8(a) 및 도 8(b)는, 각각 Fe 단원자-MOF의 Fe 2p 및 N 1s에 따른 X-선 광전자 분광분석법(XPS, x-ray photoelectron spectroscopy)에 따른 분석 데이터를 나타낸 그래프로서, 도 8(a)에서, Fe 2p_{3/2}, Fe 2p_{1/2}의 각각의 피크인 709 eV 및 722.6 eV를 나타내며, 도 8(b)의 XPS에서 피리디닉(pyridinic) N과 Fe-N을 확인할 수 있다.
- [0082] **실시예 4: Au 나노입자-MOF 및 Fe 단원자-MOF을 포함하는 약학적 조성물을 이용한 암치료**
- [0083] (1) Au 나노입자-MOF 및 Fe 단원자-MOF을 포함하는 약학적 조성물을 이용한 암치료 방법
- [0084] 도 9는, Au 나노입자-MOF 및 Fe 단원자-MOF가 도입된 MOF 기반 나노 구조체의 암치료 모식도이다. 나노 구조체가 전달된 후, 상기 Au 나노입자-MOF의 글루코오스 산화 효소 모방 특성에 의해 암 세포 내에 과량으로 존재하는 글루코오스가 산화되며, 상기 산화된 글루코오스는 과산화수소 및 글루콘산으로 분해된다. 이때, 형성된 과산화수소와 암 세포에 과량으로 존재하는 과산화수소는 단원자 나노자임인 Fe 단원자-MOF에 의해 분해되어 하이드록시 라디칼을 형성한다. 상기 형성된 하이드록시 라디칼(활성 산소종, reactive oxygen species, ROS)에 의해 암이 사멸되고, 암 세포의 성장 인자인 글루코오스 농도가 낮아지면서 기아 요법(starvation therapy) 효과를 수득할 수 있다.
- [0085] (2) Au 나노입자-MOF 나노자임의 활성화
- [0086] 상기 Au 나노입자-MOF에 미토콘드리아를 타겟팅할 수 있는 트리페닐포스포늄(TPP; triphenylphosphonium)을 추가 처리하여 상기 미토콘드리아 내에 존재하는 글루타티온(GSH; glutathione)의 고갈(depletion) 효율을 증폭시킬 수 있다. 또한, 상기 Au 나노입자-MOF의 특성으로 Au-S기 형성에 의해 미토콘드리아 내에 존재하는 글루타티온을 고갈시켜 세포 내의 산화 스트레스(oxidative stress)를 가중시켜, 상기 활성 산소종에 의한 암 치료 효과를 극대화할 수 있다. 상기 Au 나노입자-MOF는 세포 실험 및 동물 실험을 위해 표면 처리를 진행할 수 있다.
- [0087] Amplex red는 과산화수소를 검출할 수 있는 시약으로서 과산화수소와 반응하면 형광 피크가 약 570 nm에서 관찰된다. 상기 amplex red를 사용하여 Au 나노입자-MOF 나노자임이 과산화수소를 형성하였는지 확인하였으며, 그 결과를 도 10에 나타내었다. 도 10은, Au 나노입자-MOF의 글루코오스 산화 효소 모방(glucose oxidase mimicking) 나노자임의 활성을 나타낸 것이다. 도 10에 따르면 확인할 수 있듯이, 글루코오스를 첨가하지 않은 대조군 샘플(ctrl)에 비해 Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨가한 경우(Au NP-MOF + glucose), 약 570 nm에서 강한 형광 피크가 관찰되는 것을 보았을 때 Au 나노입자-MOF가 글루코오스를 효과적으로 산화시켜 과산화수소를 형성하는 것을 확인할 수 있다.
- [0088] 도 11은, Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨가하지 않은 대조군(ctrl) 및 Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨가한 경우(Au NP-MOF + glucose)의 pH 변화를 나타낸 그래프이다. Au 나노입자-MOF에 의해 글루코오스가 산화되는 과정에서 과산화수소뿐만 아니라 글루콘산 또한 형성된다. 도 11에 따르면, Au 나노입자-MOF에 글루코오스를 첨가한 경우(Au NP-MOF + glucose)가 글루코오스를 첨가하지 않은 대조군 샘플(ctrl)보다 시간이 지남에 따라 pH가 점점 더 낮아지는 것을 확인할 수 있고, 이를 통해 Au 나노입자-MOF에 의해 산화된 글루코오스가 글루콘산으로 변화하는 것을 알 수 있다. 산성 pH는 Fe-MOF의 과산화수소 효소 모방(peroxidase mimicking) 나노자임 활성을 향상시키는 데 도움을 줄 수 있다.
- [0089] 엘만 시약[Ellman's test, DTNB; 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)]은 티올(thiol)기의 (-SH)를 검출하는 시약으로서, 상기 티올기가 있을 경우 약 420 nm에서 흡광 피크를 나타낸다. 상기 엘만 시약을 사용하여 Au 나노입자-MOF를 통해 상기 티올기의 고갈(depletion)을 도 12에서 확인하였으며, 도 12를 통해, Au NP-MOF와 글루타티온이 함께 존재하는 경우(Au NP-MOF + GSH) 및 글루타티온이 존재하지 않는 경우(ctrl)의 티올기 흡광을 확인하였다. 도 12에 따르면 확인할 수 있듯이, Au 나노입자-MOF와 글루타티온이 함께 존재하는 경우(Au NP-MOF + GSH)에는, 약 420 nm에서 흡광 피크가 관찰되지 않았으며(티올기의 흡광 피크 없음), 이를 통해 글루타티온이 고갈되었음을 알 수 있다. 상기 글루타티온의 고갈을 통하여 세포 내의 산화 스트레스(oxidative stress)를 증가시켜 암 치료 효과를 더욱 증가시킬 수 있다.
- [0090] (3) Fe-MOF 나노자임의 활성화
- [0091] 상기 Fe 단원자-MOF는 세포 및 쥐 실험을 위해 엽산(folic acid)을 타겟팅 모이어티(targeting moiety)로서 도

입할 수 있다.

[0092] 3,3', 5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB; tetramethylbenzidine)은 기질으로서, 과산화수소와 반응 시 oxTMB(oxidized TMB)로 변화하며 이때 약 650 nm에서 흡광 피크를 나타낸다. 도 13을 통해, Fe-MOF와 과산화수소를 반응시키는 경우($\text{Fe-MOF} + \text{H}_2\text{O}_2$) 및 대조군(H_2O_2)의 과산화효소 모방(peroxidase mimicking) 활성을 나타내었다. 도 13을 보면, Fe-MOF와 과산화수소를 반응시키는 경우($\text{Fe-MOF} + \text{H}_2\text{O}_2$), TMB가 oxTMB로 변화하여 약 650 nm에서 강한 흡광 피크를 나타내는 것을 확인할 수 있으며, 대조군(H_2O_2)은, $\text{Fe-MOF} + \text{H}_2\text{O}_2$ 보다 약 650 nm에서 약한 피크를 나타낸다. 이를 통해 단위자 Fe가 킬레이팅된 MOF가 과산화수소를 효과적으로 분해하는 것을 알 수 있다.

[0093] 테레프탈산(TA; terephthalic acid)은 하이드록시 라디칼을 검출하는 시약으로서, 하이드록시 라디칼과 반응하여 약 450 nm에서 강한 형광 피크를 나타낸다. 도 14를 통해, Fe-MOF와 과산화수소를 반응시키는 경우($\text{Fe-MOF} + \text{H}_2\text{O}_2$) 및 과산화수소를 반응시키지 않은 경우(Fe-MOF)의 하이드록시 라디칼의 형성을 나타내었다. 도 14를 보면 알 수 있듯이, Fe-MOF와 과산화수소를 반응시키는 경우($\text{Fe-MOF} + \text{H}_2\text{O}_2$)는 약 450 nm에서 강한 형광 피크를 관찰할 수 있으며, 이를 통해 Fe-MOF가 과산화수소를 효과적으로 분해하여 하이드록시 라디칼을 형성한다는 것을 확인할 수 있다. Fe-MOF와 과산화수소를 반응시키지 않은 경우(Fe-MOF)는 약 450 nm에서 $\text{Fe-MOF} + \text{H}_2\text{O}_2$ 보다 약한 피크를 나타낸다.

[0094] (4) 이중 단위자 나노자임의 활성

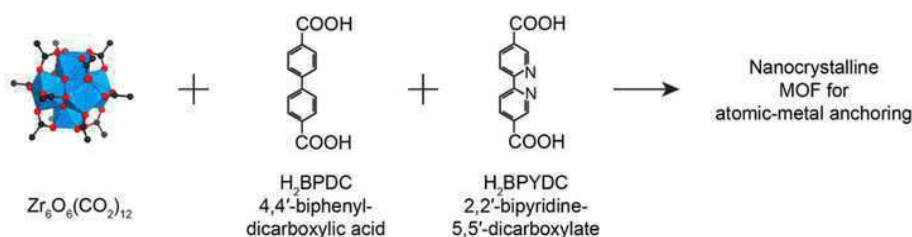
[0095] 도 15는, 대조군(TA + DI-water), Au 나노입자-MOF + 글루코오스, Fe-MOF + 글루코오스, Au 나노입자-MOF + Fe-MOF + 글루코오스, Au 나노입자-MOF, Fe-MOF 및 Au 나노입자-MOF + Fe-MOF의 캐스케이드 효소(cascade enzymatic) 활성을 나타낸 그래프이다. 대조군(TA + DI-water)은, 하이드록실 라디칼이 없는 경우, TA에 의한 형광 피크가 나타나지 않음을 확인할 수 있다. Au 나노입자-MOF는 글루코오스를 산화시켜 발생하는 과산화수소를 Fe-MOF가 분해하여 하이드록시 라디칼을 형성할 수 있다. 도 15에서, 상기 TA를 통해 하이드록시 라디칼을 검출하여 확인한 결과, Au 나노입자-MOF + Fe-MOF + 글루코오스(주황색)에서 가장 강한 형광 피크가 관찰된 것을 통해 캐스케이드 효소 활성이 효과적으로 일어난다는 것을 확인할 수 있었다. 이를 통해 세포 실험에서 효과적인 암 치료 효율을 나타낼 수 있다.

[0097] 전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수도 있다.

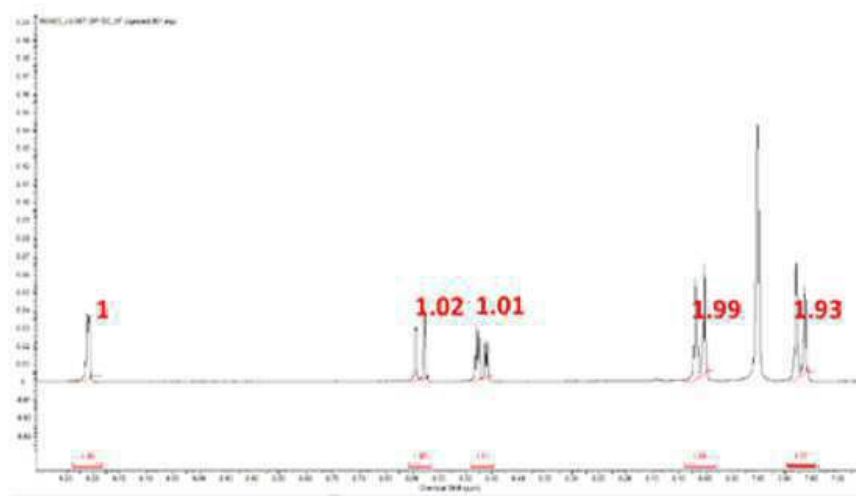
[0098] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

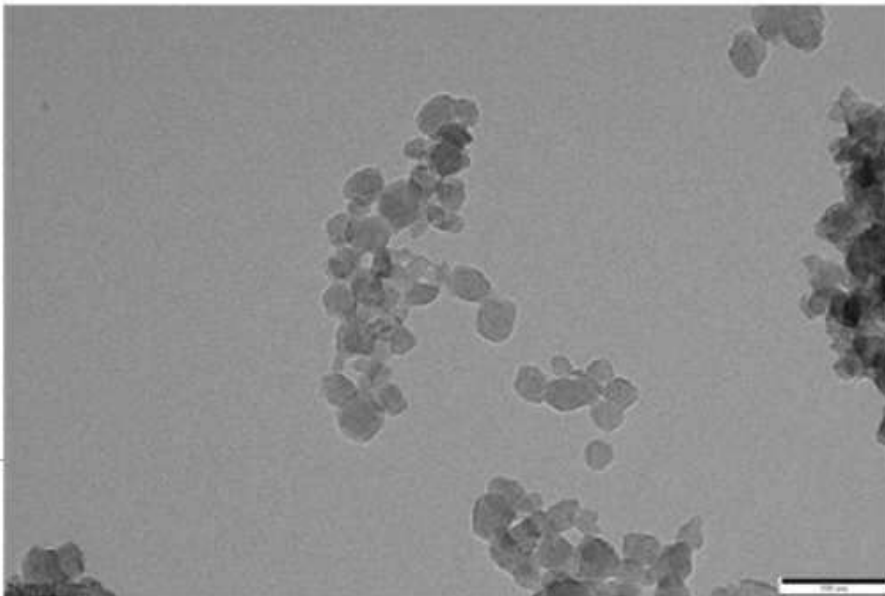
도면1



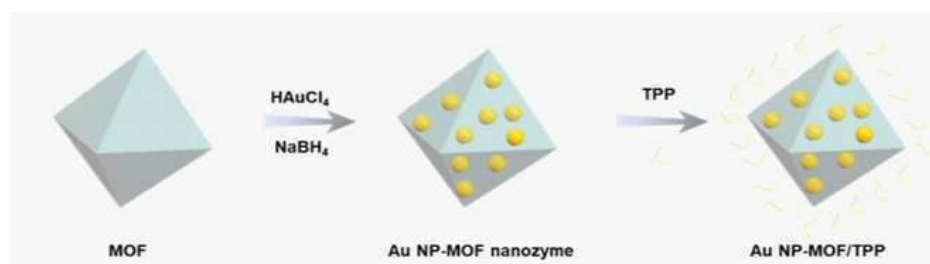
도면2a



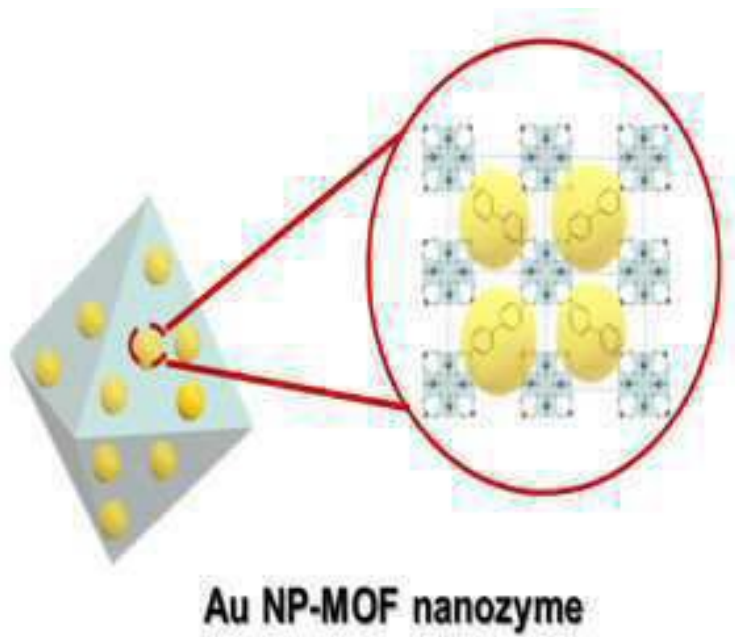
도면2b



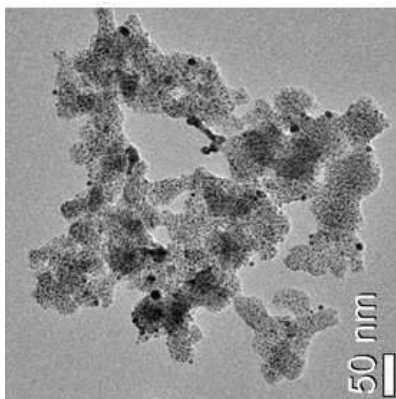
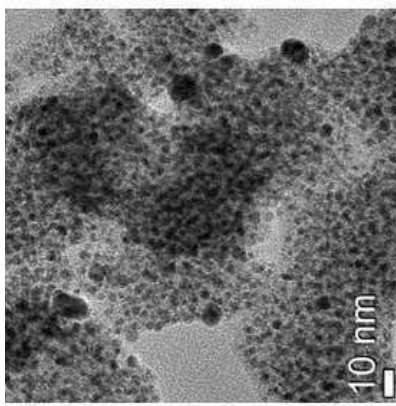
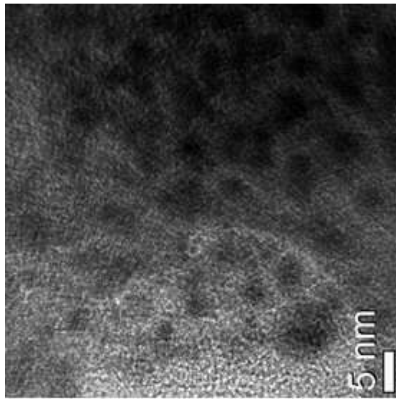
도면3a



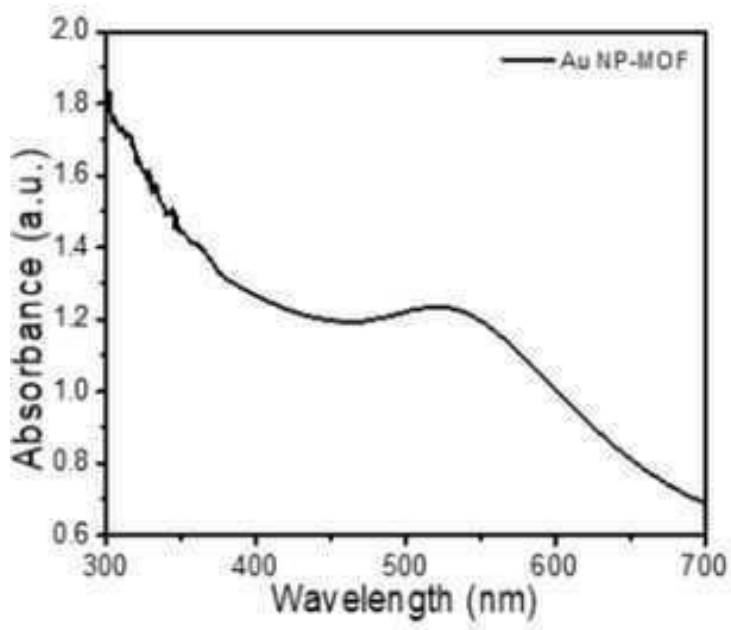
도면3b



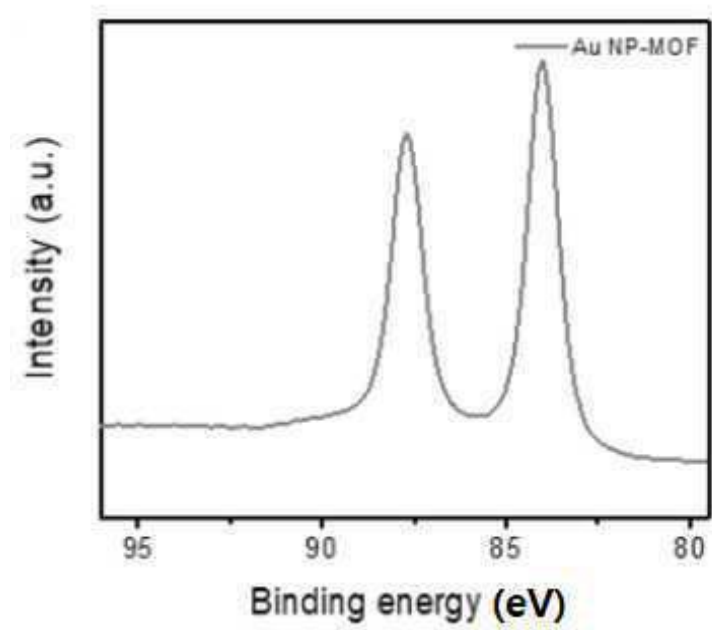
도면4a



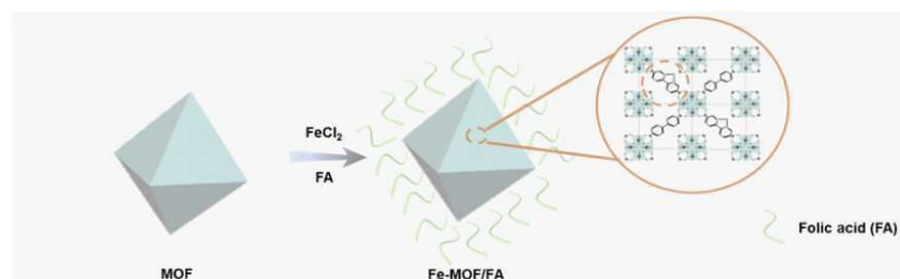
도면4b



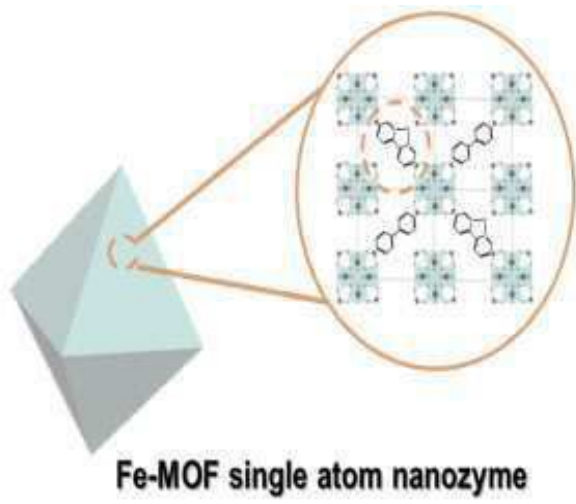
도면5



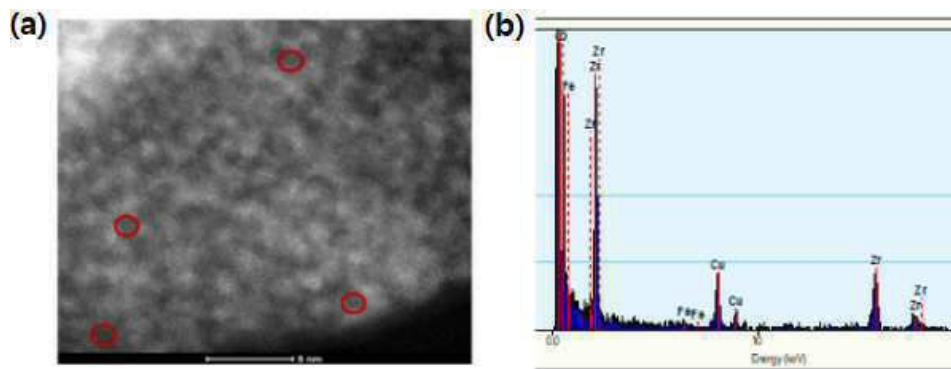
도면6a



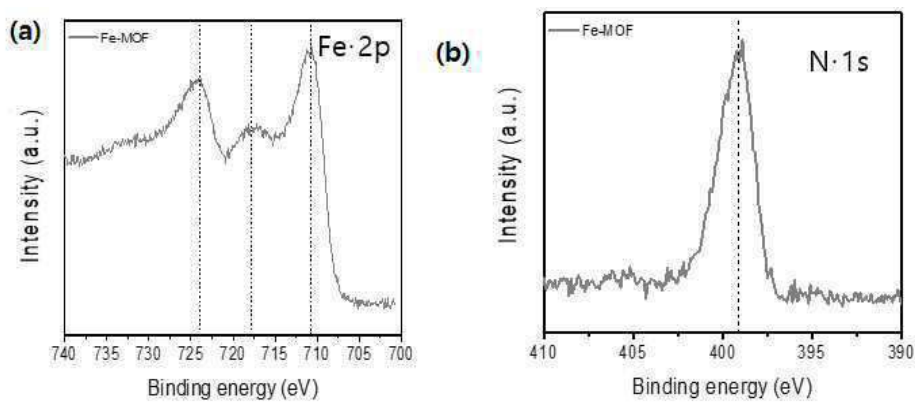
도면6b



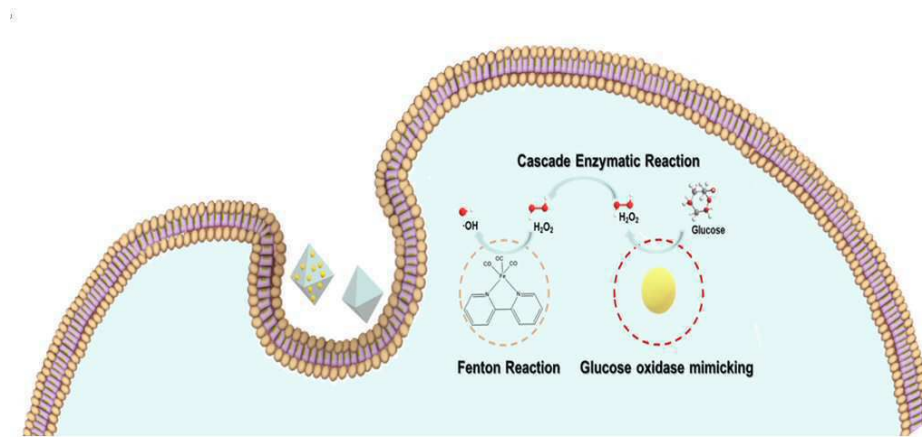
도면7



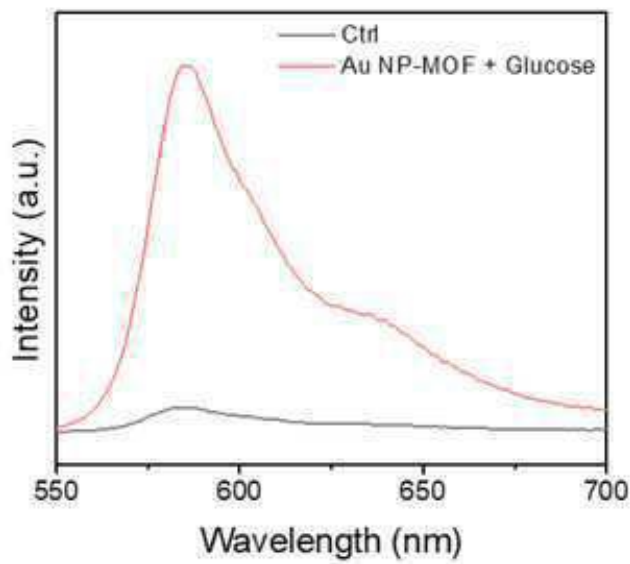
도면8



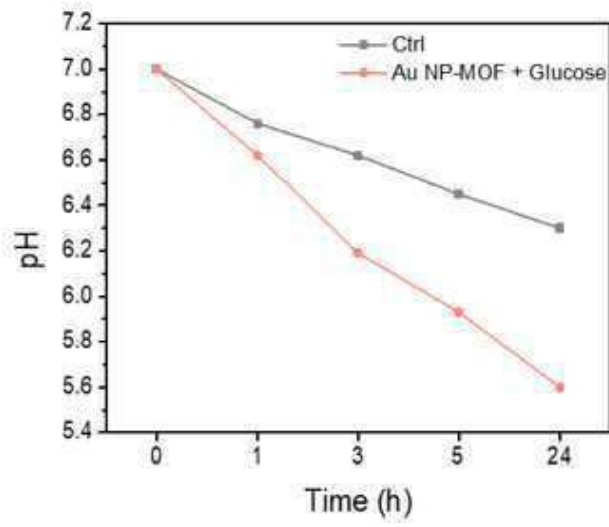
도면9



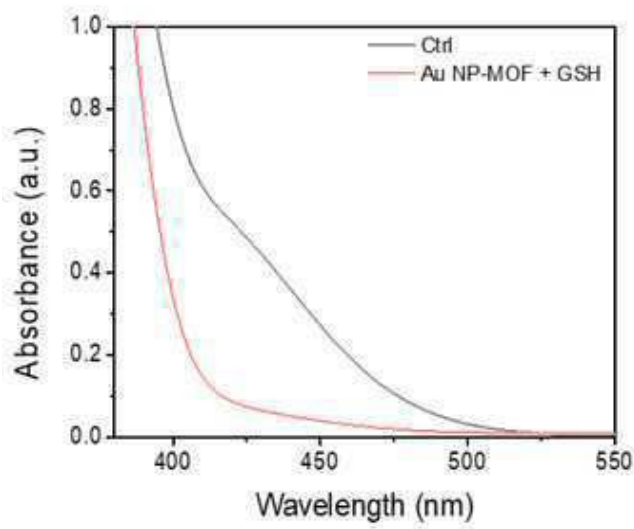
도면10



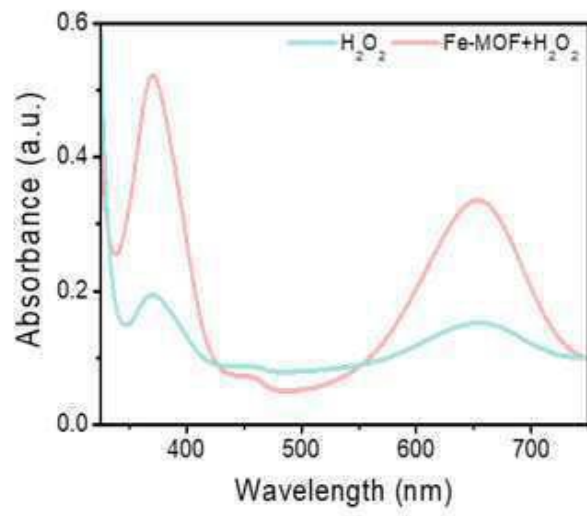
도면11



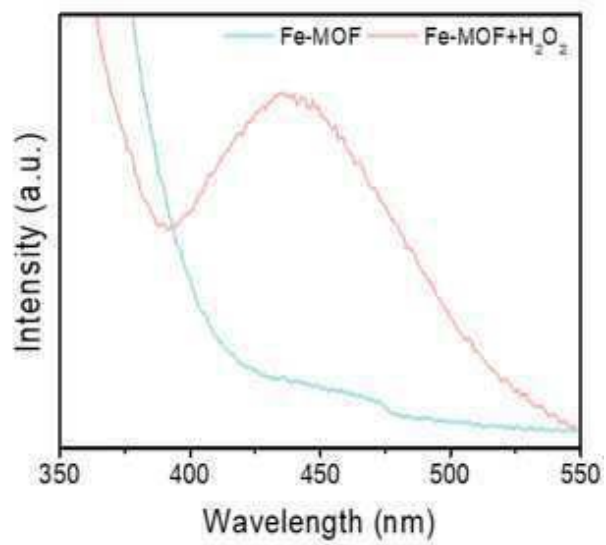
도면12



도면13



도면14



도면15

