



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0132281

(43) 공개일자 2019년11월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 9/00 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 9/0082 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0058115

(22) 출원일자 2019년05월17일

심사청구일자 2019년05월17일

(30) 우선권주장

1020180057010 2018년05월18일 대한민국(KR)

(71) 출원인

한국과학기술원

대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

박지호

대전광역시 유성구 대학로 291 (구성동)

임지영

대전광역시 유성구 대학로 291 (구성동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

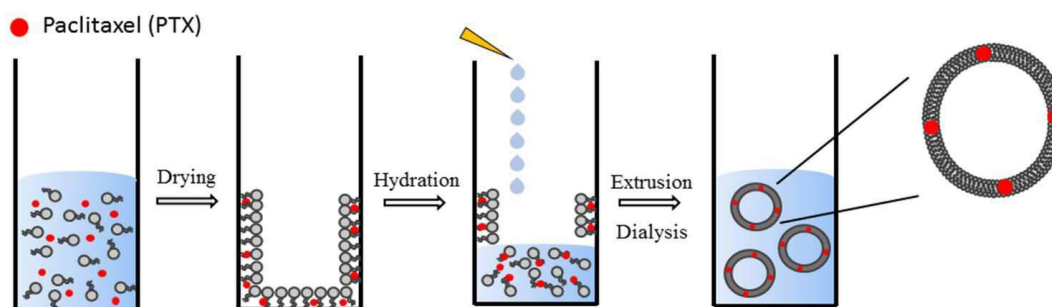
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 폐 계면활성제 기반 항암제

(57) 요약

폐 계면활성제 기반 항암제에 관한 것으로, 폐 계면활성제로 제조되는 리포솜에 항암제를 봉입한 항암제는 폐암 세포, 그중에서도 특히 타입 II 폐포세포 유래의 선암(adenocarcinoma)을 효과적으로 표적할 수 있을 뿐만 아니라, 독성이 적고 구조 안정성이 우수한 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/1272 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

오찬희

대전광역시 유성구 대학로 291 (구성동)

정대호

대전광역시 유성구 대학로 291 (구성동)

김현구

서울특별시 성북구 고려대로 73(안암동 5가)

전옥화

서울특별시 성북구 고려대로 73(안암동 5가)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015R1A2A2A04005760

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공분야기초연구사업

연구과제명 폐 계면활성제 성분기반 박막층체 모방형 나노입자를이용한 호흡항암치료법 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2015.05.01 ~ 2018.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

생체 유래의 폐 계면활성제(pulmonary surfactant) 및 항암제의 복합체를 함유하는, 항암용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 폐 계면활성제(pulmonary surfactant)는, 타입 II 폐포세포(type II alveolar cells)에서 생성되는 지질 단백질 복합체(lipoprotein complex)인 것을 특징으로 하는, 항암용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 폐 계면활성제(pulmonary surfactant)는, 막 단백질(membrane protein)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 항암용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 복합체는 타입 II 폐포세포 유래의 선암(adenocarcinoma)을 표적하는 것을 특징으로 하는, 항암용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 복합체는 생체 유래의 폐 계면활성제(pulmonary surfactant)로 제조되는 리포솜에 항암제가 봉입된 복합체이고,

상기 항암제는, 상기 폐 계면활성제(pulmonary surfactant)로 제조되는 리포솜 100 중량부에 대해 0.1 내지 10 중량부만큼 봉입되는 것을 특징으로 하는, 항암용 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 복합체의 평균 직경 범위는 200 내지 400 nm인 것을 특징으로 하는, 항암용 약학적 조성물.

청구항 7

항암제가 용해된 제1 용액을 준비하는 단계;

폐 계면활성제가 용해된 제2 용액을 준비하는 단계;

제1 용액과 제2 용액을 혼합하고, 혼합 용액을 건조시켜 필름(film)을 형성시키는 단계; 및
상기 필름(film)에 증류수를 처리하여 수화(hydration)시켜 항암제가 봉입된 복합체를 제조하는 단계; 를 포함하는, 제1항에 따른 항암용 약학적 조성물의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 수화(hydration)는 40 내지 90℃ 온도에서 수행되는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

수화(hydration) 단계를 수행한 후, 복합체의 직경을 조절하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 폐 계면활성제(pulmonary surfactant)는, 막 단백질(membrane protein)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 폐 계면활성제 기반 항암제에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 매년 암 환자 증가량이 대폭 증가하고 있으며, 암 환자 전체 중 폐암에 걸린 환자가 사망률이 가장 높은 부류에 속한다. 이에, 폐암에 대한 효과적인 치료법이 요구되고 있다.

[0005] 폐암 중, 선암종(Adenocarcinoma)은 전체 폐암의 40% 정도를 차지하며, 주로 폐포 영역(alveolar region)에서 발생한다. 선암종의 유래는 타입 II 폐포 세포(alveolar type II cell)인 경우가 많다.

[0007] 상기 타입 II 폐포 세포(alveolar type II cell)는 폐 계면활성제(Pulmonary surfactant)를 분비 및 저장하는 기능을 수행하며, 상기 폐 계면활성제는 호흡하는 과정에서 폐의 장력을 조절하는 역할을 수행한다. 폐 계면활성제는 지질(lipid)과 막 단백질(membrane protein)로 구성되어 있다(비특허문헌, Eur Respir J. 1999 Jun;13(6):1455-76).

[0009] 이러한 폐 계면활성제를 사용하여 항암제를 타겟 세포에 전달할 경우, 폐 계면활성제를 분비 및 저장하는 기능을 수행하는 타입 II 폐포 세포(alveolar type II cell)에 항암제를 효과적으로 표적할 수 있을 것이라 예상되어,

[0010] 폐 계면활성제로 제조되는 리포솜에 항암제를 봉입한 항암제를 제조함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) Eur Respir J. 1999 Jun;13(6):1455-76.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 일 측면에서의 목적은 항암제를 폐포 세포에 효율적으로 전달할 수 있으며, 생체 적합성이 우수하여 독성이 적고, 구조 안정성이 우수한 항암제를 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 다른 일 측면에서의 목적은 상기 항암제의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0018] 본 발명의 일 측면은,

[0019] 생체 유래의 폐 계면활성제(pulmonary surfactant) 및 항암제의 복합체를 함유하는, 항암용 약학적 조성물을 제공한다.

[0021] 또한, 본 발명의 다른 일 측면은,

[0022] 항암제가 용해된 제1 용액을 준비하는 단계;

[0023] 폐 계면활성제가 용해된 제2 용액을 준비하는 단계;

[0024] 제1 용액과 제2 용액을 혼합하고, 혼합 용액을 건조시켜 필름(film)을 형성시키는 단계; 및

[0025] 상기 필름(film)에 증류수를 처리하여 수화(hydration)시켜 항암제가 봉입된 복합체를 제조하는 단계; 를 포함하는, 상기 항암용 약학적 조성물의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

[0027] 폐 계면활성제로 제조되는 리포솜에 항암제를 봉입한 복합체는 폐암 세포, 그중에서도 특히 타입 II 폐포세포 유래의 선암(adenocarcinoma)을 효과적으로 표적할 수 있을 뿐만 아니라, 독성이 적고 구조 안정성이 우수한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 실시예 1에 따르는 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자의 제조과정을 표현한 그림이다.

도 2는 실시예 1에서 제조되는 입자 자체의 질량 대비 1%, 2%, 5%, 10% (중량 %)의 파클리탁셀을 탑재하고, 입자 내 탑재되지 못한 파클리탁셀은 제거한 후, 입자 내 탑재된 파클리탁셀의 양을 확인할 결과를 나타내는 그래프이다.

도 3은 비교예 1에서 제조되는 입자 자체의 질량 대비 1%, 2%, 5%, 10% (중량 %)의 파클리탁셀을 탑재하고, 입자 내 탑재되지 못한 파클리탁셀은 제거한 후, 입자 내 탑재된 파클리탁셀의 양을 확인할 결과를 나타내는 그래프이다.

도 4는 실시예 1과 비교예 1에서 제조한 입자의 안정성을 평가한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 5는 실시예 1과 비교예 1에서 제조한 입자의 크기와 형태를 전자 현미경을 통해 촬영한 사진이다.

도 6은 형광 염료가 탑재된 폐 계면활성제 입자의 세포 내 섭취 평가 결과를 나타내는 그래프이다.

도 7은 정상세포와 암세포 간 섭취효율을 비교 평가한 결과를 나타내는 그림이다.

도 8은 입자 자체의 독성을 확인한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 9는 다양한 폐암세포주 중 A549 세포주에 대한 선택성을 평가한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 10은 다양한 폐암세포주 중 A549 세포주에 특이적인 세포독성을 나타내는지 확인한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 11은 DiR 형광을 탑재한 실시예 1의 폐 계면활성제 입자를 증기화하고, 이를 쥐 모델에게 흡입시킨 후, 시간 경과에 따라 관찰되는 DiR 형광 신호를 기관 별로 평가한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 12는 A549 쥐 폐암 모델 제작과정과 실험 스케줄을 나타내는 그림이다.

도 13은 약물이 탑재된 입자를 활용한 A549 폐암 모델에서의 치료 효능 확인 실험의 결과를 나타내는 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명의 일 측면은, 생체 유래의 폐 계면활성제(pulmonary surfactant) 및 항암제의 복합체를 함유하는, 항암용 약학적 조성물을 제공한다.

이때, 상기 복합체의 형태는 특별히 제한되는 것은 아니나, 몇 가지 구체예를 들면, 리포솜 형태일 수도 있고, 폐 계면활성제와 항암제가 공유결합을 통해 결합된 형태일 수도 있다.

또한, 상기 폐 계면활성제는, 타입 II 폐포세포(type II alveolar cells)에서 생성되는 지질단백질 복합체(lipoprotein complex)일 수 있다. 즉, 상기 폐 계면활성제는 포유류의 폐로부터 수집된 포유류 폐 계면활성제를 포함할 수 있다. 이때 포유류란 사람일 수 있고, 사람을 제외한 동물, 구체적으로 돼지나 소일 수 있다. 일반적으로 천연 폐 계면활성제는 상기 타입 II 폐포 세포(alveolar type II cell)에서 분비되고 저장되므로, 폐 계면활성제 기반인 상기 항암제는 폐포 세포를 효율적으로 표적하여 항암제를 전달할 수 있다.

상기 지질단백질 복합체(lipoprotein complex)에서 지질이라는 용어는, 일반적으로 양친매성인 천연 발생이거나, 합성 또는 반-합성(즉, 개질된 천연) 화합물을 의미한다. 지질은 전형적으로 친수성 성분과 소수성 성분을 포함한다. 예시적인 지질에는 인지질, 지방산, 지방 알코올, 중성 지방, 포스파티드, 오일, 당지질, 지방족 알코올, 왁스, 테르펜 및 스테로이드가 포함되지만, 이로 한정되지 않는다. "반-합성(또는 개질된 천연)"이라는 어구는 어떠한 방법으로 화학적으로 개질된 천연 화합물을 나타낸다.

인지질의 예에는 천연 및/또는 합성 인지질이 포함된다.

사용될 수 있는 인지질에는 포스파티딜콜린(포화 및 불포화), 포스파티딜글리세롤, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티드산, 포스파티딜이노시톨, 스펡고지질, 디아실글리세라이드, 카르디올리핀, 세라마이드 및 세레브로사이드 등이 포함되지만, 이로 한정되지 않는다. 예시적인 인지질에는 디팔미토일 포스파티딜콜린(DPPC), 디라우릴 포스파티딜콜린(DLPC) (C12:0), 디미리스토일 포스파티딜콜린(DMPC) (C14:0), 디스테아로일 포스파티딜콜린(DSPC), 디피타노일 포스파티딜콜린, 노나데카노일 포스파티딜콜린, 아라키도일 포스파티딜콜린,

디올레오일 포스파티딜콜린(DOPC) (C18:1), 디팔미톨레오일 포스파티딜콜린(C16:1), 리노레오일 포스파티딜콜린(C18:2), 미리스토일 팔미토일 포스파티딜콜린(MPPC), 스테로일 미리스토일 포스파티딜콜린(SMPC), 스테로일 팔미토일 포스파티딜콜린(SPPC), 팔미토일올레오일 포스파티딜콜린(POPC), 팔미토일 팔미토올레오일 포스파티딜콜린(PPoPC), 디팔미토일 포스파티딜에탄올아민(DPPE), 팔미토일올레오일 포스파티딜에탄올아민(POPE), 디올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 디미리스토일포스파티딜에탄올아민(DMPE), 디스테아로일 포스파티딜에탄올아민(DSPE), 디올레오일 포스파티딜글리세롤(DOPG), 팔미토일올레오일 포스파티딜글리세롤(POPG), 디팔미토일 포스파티딜글리세롤(DPPG), 디미리스토일 포스파티딜글리세롤(DMPG), 디스테아로일 포스파티딜글리세롤(DSPG), 디미리스토일포스파티딜세린(DMPS), 디스테아로일포스파티딜세린(DSPS), 팔미토일올레오일 포스파티딜세린(POPS), 대두 레시틴, 난황 레시틴, 스펡고미엘린, 포스파티딜이노시톨, 디포스파티딜글리세롤, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티드산 및 달걀 포스파티딜콜린(EPC)이 포함되지만, 이로 한정되지 않는다.

[0042] 지방산 및 지방 알코올의 예에는 스테롤, 팔미트산, 세틸 알코올, 라우르산, 미리스트산, 스테아르산, 피탄산 및 디팔미트산 등이 포함되지만, 이로 한정되지 않는다. 예시적인 지방산에는 팔미트산이 포함된다.

[0043] 지방산 에스테르의 예에는 메틸 팔미테이트, 에틸 팔미테이트, 이소프로필 팔미테이트, 콜레스테릴 팔미테이트, 팔미틸 팔미테이트, 나트륨 팔미테이트, 칼륨 팔미테이트 및 트리팔미틴 등이 포함되지만, 이로 한정되지 않는다.

[0045] 한편, 상기 폐 계면활성제(pulmonary surfactant)는, 막 단백질(membrane protein)을 포함하는데, 이 막 단백질의 존재로 인하여 타입 II 폐포세포 유래의 선암(adenocarcinoma)을 선택적이고 효과적으로 표적할 수 있게 된다. 상기 막 단백질은 SP-A, SP-B, SP-C 및 SP-D로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 천연 계면활성제 폴리펩타이드, 이들의 일부분 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 예시적인 펩타이드는 천연 계면활성제 폴리펩타이드의 적어도 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개의 아미노산 절편을 포함할 수 있다. 예시적인 SP-B 폴리펩타이드는 SP-B의 적어도 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개의 아미노산 절편을 포함할 수 있다. SP-B 펩타이드는 아미노-말단 펩타이드일 수도 있고 카르복시-말단 펩타이드일 수도 있다. 예시적인 SP-B 펩타이드는 25-아미노산 아미노 말단 펩타이드일 수 있다.

[0047] 다른 실시 형태에서, 상기 폐 계면활성제는 재조합적으로 생성되는 계면활성제 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 재조합 SP-A, SPB, SP-C, SP-D 또는 그의 일부분이 각종 공지된 기술을 이용하여 적합한 원핵생물 또는 진핵생물 발현 시스템에서 SP-A, SP-B, SP-C, SP-D 또는 그의 일부분을 암호화하는 DNA 서열을 발현시킴으로써 획득 가능하다. 계면활성제 폴리펩타이드 또는 그의 일부분을 인코딩하는 단리된 핵산을 포함하도록 용이하게 적합화된 재조합벡터들, 재조합 벡터들을 함유하는 숙주 세포들 및 그러한 벡터들 및 숙주 세포들을 제조하는 방법과, 이외에도 재조합 기술에 의한 인코딩된 폴리펩타이드의 생성에 있어서의 그들의 사용은 익히 공지되어 있다. 계면활성제 폴리펩타이드 또는 그의 일부분을 인코딩하는 핵산은, 적어도 하나의 조절 서열에 작동 가능하게 연결되는 계면활성제 폴리펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터에서 제공될 수 있다. 발현 벡터의 설계는 형질전환될 숙주 세포의 선택 및/또는 발현되기를 원하는 단백질의 유형과 같은 인자들에 달려 있을 수 있음이 이해되어야 한다. 벡터 카피 수, 그 카피 수의 제어 능력, 및 벡터에 의해 인코딩된 임의의 다른 단백질(예를 들어, 항생제 마커(antibiotic marker))의 발현이 고려되어야 한다. 예를 들어, 융합 단백질 또는 폴리펩타이드를 포함한 단백질 또는 폴리펩타이드를 생성하기 위해서, 배양으로 증식된 세포에서 키나아제 및 포스파타아제 폴리펩타이드의 발현 및 과잉발현을 야기시키는 데 대상의 핵산이 사용될 수 있다.

[0048] 계면활성제 폴리펩타이드 또는 그의 일부분을 발현하기 위해서, 숙주 세포들이 재조합 유전자로 형질감염될 수 있다. 숙주 세포는 임의의 원핵생물 또는 진핵생물 세포일 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드는 세균성 세포, 예를 들어 E. 콜리(E. coli), 곤충 세포, 효모 또는 포유류 세포에서 발현될 수 있다. 이러한 예들에서, 숙주 세포가 사람일 경우, 그것은 살아 있는 대상에서 일 수도 있고 아닐 수도 있다. 다른 적합한 숙주 세포가 당업자들에게 공지되어 있다. 추가적으로, 숙주 세포는 폴리펩타이드의 발현을 최적화하도록 하기 위해서, 숙주에서는 전형적으로는 발견되지 않는 tRNA 분자들로 보충될 수 있다. 폴리펩타이드의 발현을 최대화하는 데 적합한 다른 방법들이 당업자들에게 공지되어 있을 것이다.

[0049] 폴리펩타이드를 생성하는 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다. 예를 들어, 계면활성제 폴리펩타이드 또는 그의

일부분을 인코딩하는 발현 벡터로 형질감염된 숙주 세포가 폴리펩타이드의 발현이 일어나게 하는 적절한 조건 하에서 배양될 수 있다. 폴리펩타이드는 세포들과 폴리펩타이드를 함유하는 배지의 혼합물로부터 분리되고 분리될 수 있다. 대안적으로, 폴리펩타이드는 세포질적으로 그대로 유지될 수 있다. 이어서, 세포가 수집되고, 용해되고, 단백질이 세포 용해물로부터 분리된다.

- [0051] 상기 계면활성제 폴리펩타이드와 계면활성제 지질은 정수압 상호작용(hydrostatic interaction)에 의해 상호작용한다. 하전된 아미노산은 지질의 극성 머리 기와 상호작용하고, 소수성 아미노산은 인지질 아실 측쇄와 상호작용한다. 예를 들어, SP-B 및 SP-C는 소수성 단백질이다. SP-B 및 SP-C 둘 모두 음이온성 지질(예를 들어, 포스파티딜글리세롤(PG))이며, DPPC는 아님)과 우선적으로 결합한다. SP-A 및 SP-D는 친수성 단백질이며, 글리세로 인지질, 스펡고인지질, 스펡고당지질, 지질 A 및 리포글리칸을 포함한, 넓은 범위의 양친매성 지질들과 상호작용한다. SP-A는 DPPC와 결합한다. 예로서, SP-B 모방체인 KL4과 천연 계면활성제 중의 지질들 또는 표면 활성제 중에 포함된 지질들의 정수압 상호작용이 관찰된다. 예를 들어, KL4 펩타이드 중의 리신 잔기는 DPPC의 하전된 머리 기와 상호작용하고, 소수성 류신 잔기는 포스파티딜글리세롤의 인지질 아실 측쇄와 상호작용한다.
- [0053] 한편, 상기 항암제는 상기 폐 계면활성제(pulmonary surfactant)로 제조되는 리포솜 100 중량부에 대해 0.1 내지 10 중량부만큼 봉입될 수 있으나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니고, 환자의 상태에 따라 항암제의 탑재량을 적절히 조절할 수 있다. 또한, 상기 복합체의 직경은 200 내지 400 nm일 수 있고, 220 내지 400 nm일 수 있고, 240 내지 400 nm일 수 있고, 260 내지 400 nm일 수 있고, 280 내지 400 nm일 수 있고, 300 내지 400 nm일 수 있고, 320 내지 400 nm일 수 있고, 200 내지 380 nm일 수 있고, 200 내지 360 nm일 수 있고, 200 내지 340 nm일 수 있고, 200 내지 320 nm일 수 있고, 220 내지 380 nm일 수 있고, 240 내지 360 nm일 수 있고, 260 내지 340 nm일 수 있고, 280 내지 320 nm일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0055] 상기 항암제는 공지된 항암제라면 제한 없이 모두 사용할 수 있다. 이때, 상기 항암제의 구체예로는 소수성 항암제, 면역 항암제 등을 들 수 있다.
- [0056] 소수성 항암제의 구체적인 예시로는 다음과 같다: 파클리탁셀 (paclitaxel), 독소루비신(doxorubicin), 시스플라틴(cis-platin), 도세탁셀(docetaxel), 타목시펜(tamoxifen), 캄토세신(camtothecin), 아나스테로졸(anastrozole), 카보플라틴(carboplatin), 토포테칸(topotecan), 베로테칸(belotecan), 이리노테칸(irinotecan), 글리벡(gleevec), 빈크리스틴(vincristine).
- [0058] 일 측면에서, 상기 항암제는 흡입에 의해 폐로 전달될 수 있다. 흡입 장치, 예를 들어 흡입기(건조 분말 흡입기 및 정량식 흡입기를 포함함) 및 네블라이저(아토마이저로도 알려짐)가 상기 항암제를 폐로 전달하는 데 사용될 수 있다.
- [0059] 예시적인 건조 분말 흡입기는 인헤일 테라퓨틱 시스템즈(Inhale Therapeutic Systems)으로부터 획득할 수 있다. 건조 분말 흡입기는 쓰리엠(3M)으로부터 또한 획득할 수 있다.
- [0061] 또한, 본 발명의 다른 일 측면은,
- [0062] 항암제가 용해된 제1 용액을 준비하는 단계;
- [0063] 폐 계면활성제가 용해된 제2 용액을 준비하는 단계;
- [0064] 제1 용액과 제2 용액을 혼합하고, 혼합 용액을 건조시켜 필름(film)을 형성시키는 단계; 및
- [0065] 상기 필름(film)에 증류수를 처리하여 수화(hydration)시켜 항암제가 봉입된 복합체를 제조하는 단계; 를 포함하는, 상기 항암용 약학적 조성물의 제조방법을 제공한다.
- [0067] 이때, 상기 수화(hydration)는 40 내지 90℃ 온도에서 수행할 수 있고, 60 내지 70℃ 온도에서 수행하는 것이

더욱 바람직하다.

- [0068] 또한, 상기 단계를 모두 수행한 후, 항암제의 직경을 조절하는 단계를 더 수행할 수 있으며, 직경 조절 목적으로 압출 키트를 사용할 수 있다.
- [0070] 폐 계면활성제로 제조되는 리포솜에 항암제를 봉입한 항암제는 폐암 세포, 그중에서도 특히 타입 II 폐포세포 유래의 선암(adenocarcinoma)을 효과적으로 표적할 수 있을 뿐만 아니라, 독성이 적고 구조 안정성이 우수한 효과가 있으며, 이러한 효과는 후술하는 실시예, 실험예에 의해 입증된다.
- [0072] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예를 통해 상세히 설명한다.
- [0073] 단, 후술하는 실시예 및 실험예는 본 발명을 일 측면에서 구체적으로 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0075] <실시예 1> 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자 제조
- [0076] 강력한 제암성 효능을 나타내며 소수성이 매우 높은 수난용성 약물인 파클리탁셀(Paclitaxel)을 약물로 사용하여, 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자를 하기와 같은 과정을 통해 제조하였다.
- [0078] 파클리탁셀 가루를 메탄올에 10 mg/ml 농도로 용해시켰다(제1 용액).
- [0079] 클로로폼(chloroform)과 메탄올을 2:1(v:v)의 부피비로 혼합한 용액에, 폐 계면활성제 가루(제조사: Mitsubishi / 제품명: Surfacten)를 10 mg/ml 농도로 용해시켰다(제2 용액).
- [0081] 폐 계면활성제와 파클리탁셀이 질량 기준 20:1(w:w) 비율로 혼합될 수 있도록 제1 용액과 제2 용액을 혼합하고, 이 혼합용액을 유리병에 넣은 뒤 건조시켰다. 이때, 필요에 따라 폐 계면활성제와 파클리탁셀을 혼합하는 질량 비는 최적의 약물 탑재를 위해 적절한 범위에서 조절할 수 있다.
- [0083] 건조된 폐 계면활성제가 3 mg/ml 농도가 되도록 증류수로 수화(hydration)시켰다. 단, 수화할 때 핫 플레이트(hot plate) 위에서 실험을 진행하였고, 온도는 60-70 ℃로 유지하였다. 수화 과정에서 만들어지는 입자는 압출기 키트(extruder kit)를 사용하여 평균 직경이 400 nm가 되도록 하였다.
- [0085] 이후, 100 kDa 막을 이용하여 투석(dialysis) 기법을 통해, 입자 속 봉입되지 못한 약물을 12시간 동안 분리하였다. 이로써, 약물(파클리탁셀)이 봉입된 폐 계면활성제 입자를 제조하였다(도 1).
- [0087] 실시예 1과 같이 폐 계면활성제와 약물을 질량 기준 20:1 비율로 혼합하는 과정을 통해 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자를 제조할 경우, 최종 제조되는 입자 내 약물은, 입자 자체의 질량 대비 약 1 중량% 만큼의 약물이 봉입될 수 있다. 즉, 실시예 1은 입자 자체의 질량 100 중량부에 대해 1 중량부의 약물이 봉입된다.
- [0089] 한편, 후술하는 세포 내 섭취를 관측하기 위해 소수성이 매우 높은 수난용성 염료인 DiI를 사용하여, 염료가 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자를 하기와 같은 과정을 통해 제조하였다.
- [0090] 붉은 염료 DiI를 메탄올에 1 mg/ml 농도로 용해시켰다(제1 용액). 클로로폼(chloroform)과 메탄올을 2:1의 부피비로 혼합한 용액에, 폐 계면활성제 가루를 10 mg/ml 농도로 용해시켰다(제2 용액).
- [0091] 폐 계면활성제와 염료가 질량 기준 1000:1 비율로 혼합될 수 있도록 제1 용액과 제2 용액을 혼합하고, 이 혼합

용액을 유리병에 넣은 뒤 건조시켰다.

[0092] 건조된 폐 계면활성제가 3 mg/ml 농도가 되도록 증류수로 수화(hydration)시켰다. 단, 수화할 때 핫 플레이트(hot plate) 위에서 실험을 진행하였고, 온도는 60-70℃로 유지하였다. 수화 과정에서 만들어지는 입자는 압출기 키트(extruder kit)를 사용하여 직경이 400 nm가 되도록 하였다.

[0094] <실시예 2> 약물이 봉입되지 않은 폐 계면활성제 기반 입자 제조

[0095] 파클리탁셀(Paclitaxel)을 사용하지 않는 것을 제외하고,

[0096] 상기 실시예 1과 동일한 과정을 수행하여 약물이 봉입되지 않은 폐 계면활성제 입자를 제조하였다.

[0098] <비교예 1> 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 모방(Mimetic) 입자 제조

[0099] 실시예 1에서 제조한 '약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자'와 기능 비교를 위해, 하기와 같은 과정을 통해 인공적으로 모방 입자를 제조하였다.

[0101] 폐 계면활성제의 주요 성분인 DPPC(lipid), DOPC(lipid), DPPG(lipid), 콜레스테롤(Cholesterol) 만을 사용하여 모방 입자를 제조하였다. 이에, 실시예 1에 따르는 폐 계면활성제 기반 입자와 비교예 1에 따르는 모방 입자의 주요 차이는 막 단백질(membrane protein)의 존재 유무이다.

[0102] DPPC:DOPC:DPPG:콜레스테롤 = 52.2:22.1:11.2:14.4 몰 비(mol ratio)로 혼합하고, 이를 클로로폼에 용해시켰다(제3 용액).

[0104] 모방 입자 성분(DPPC, DOPC, DPPG, 콜레스테롤)과 약물이 질량 기준 20:1 비율로 혼합될 수 있도록 상기 실시예 1의 제1 용액과, 상기 준비한 제3 용액을 혼합하고, 이 혼합용액을 유리병에 넣은 뒤 건조시켰다.

[0106] 모방 입자 성분이 3 mg/ml 농도가 되도록 증류수로 수화(hydration)시켰다. 단, 수화할 때 핫 플레이트(hot plate) 위에서 실험을 진행하였고, 온도는 60-70℃로 유지하였다. 수화 과정에서 만들어지는 입자는 압출기 키트(extruder kit)를 사용하여 직경이 400 nm가 되도록 하였다.

[0108] 이후, 100 kDa 막을 이용하여 투석(dialysis) 기법을 통해, 입자 속 봉입되지 못한 약물을 12시간 동안 분리하였다. 이로써, 약물(파클리탁셀)이 봉입된 폐 계면활성제 모방(Mimetic) 입자를 제조하였다.

[0110] 한편, 후술하는 세포 내 섭취를 관측하기 위해 실시예 1의 제조 과정을 채택하여, DiI가 봉입된 모방 입자도 제조하였다.

[0112] <비교예 2> 약물이 봉입되지 않은 폐 계면활성제 모방(Mimetic) 입자 제조

[0113] 파클리탁셀(Paclitaxel)을 사용하지 않는 것을 제외하고,

[0114] 상기 비교예 1과 동일한 과정을 수행하여 약물이 봉입되지 않은 폐 계면활성제 모방(Mimetic) 입자를 제조하였다.

[0116] <실험예 1> 입자의 크기와 표면 전하 평가

[0117] DLS(Dynamic Light Scattering)를 이용하여 실시예 1 및 2, 비교예 1 및 2에서 제조한 입자의 크기와 표면 전하를 측정하였다. 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

	실시에 1 (PTX 5 wt% 탑재)	실시에 2 (PTX 탑재 ×)	비교예 1 (PTX 5 wt% 탑재)	비교예 2 (PTX 탑재 ×)
평균직경 (nm)	424.9	321.8	322.6	301.3
표면전하, ZP(mV)	-53.5	-45.6	-36.8	-40

[0120] <실험예 2> 폐 계면활성제 입자 내 봉입된 약물의 농도 평가

[0121] HPLC 기법을 통해 실시에 1에서 제조한 폐 계면활성제 입자 내 봉입된 약물의 농도를 정량, 평가하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0122] 도 2는 실시에 1에서 제조되는 입자 자체의 질량 대비 1%, 2%, 5%, 10% (중량 %)의 파클리탁셀을 탑재하고, 입자 내 탑재되지 못한 파클리탁셀은 제거한 후, 입자 내 탑재된 파클리탁셀의 양을 확인할 결과를 나타내는 그래프이다.

[0123] 도 2에 나타난 바와 같이, 5 중량% 농도를 사용한 경우 이상에서는 조금의 변동폭은 존재하지만 탑재되는 양이 포화 됨을 알 수 있다. 약물은 폐 계면활성제 1 mg 당 약 12 µg이 탑재됨을 알 수 있다.

[0124] 따라서, 5 중량% 농도의 약물을 사용하여 약물의 탑재를 유도하는 것이 가장 효율적이라 판단하고 향후 실험을 진행하였다.

[0126] 한편, 비교예 1에서 제조한 입자 내 봉입된 약물의 농도도 정량, 평가하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0127] 도 3은 비교예 1에서 제조되는 입자 자체의 질량 대비 1%, 2%, 5%, 10% (중량 %)의 파클리탁셀을 탑재하고, 입자 내 탑재되지 못한 파클리탁셀은 제거한 후, 입자 내 탑재된 파클리탁셀의 양을 확인할 결과를 나타내는 그래프이다.

[0128] 도 3의 결과를 보면, 폐 계면활성제 때와는 달리 5% 농도 이상에서도 약물이 많이 탑재됨을 알 수 있다. 이는 모방입자에는 기존 폐 계면활성제가 가지고 있는 막단백질들이 없기 때문에 약물들이 탑재될 수 있는 공간이 많기 때문이다. 모방 입자의 경우 1 mg당 약물이 약 25 µg이 탑재됨을 알 수 있다.

[0130] <실험예 3> 입자 안정성 평가 및 전자 현미경 확인

[0131] 실시에 1과 비교예 1에서 제조한 입자에 각각 소태아혈청(Fetal Bovine Serum, FBS)을 전체 부피의 10%로 혼합하였다. 이후, 이들을 각각 37℃의 배양기에 넣고, 시간대별로 입자의 크기를 DLS 장비를 이용하여 측정하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0132] 도 4는 실시에 1과 비교예 1에서 제조한 입자의 안정성을 평가한 결과를 나타내는 그래프이다.

[0133] 도 4에 나타난 바와 같이, 실시에 1과 비교예 1에서 제조한 입자는 시간이 지남에 따라 발생하는 입자 크기 변화의 정도가 매우 작으므로, 입자 안정성이 우수함을 알 수 있다.

[0135] 그 후, 전자 현미경 촬영을 위해 입자와 글루타르알데히드(glutaraldehyde)를 2.5 % 부피비로 섞고 2시간 동안 상온에서 고정(fixation)을 진행하였다. 그리고, 탄소 그리드(carbon grid)에 입자를 올리고 2% PTA 용액으로 염색하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0136] 도 5는 실시에 1과 비교예 1에서 제조한 입자의 크기와 형태를 전자 현미경을 통해 촬영한 사진이다.

[0137] 도 5에 나타난 바와 같이, 실시예 1과 비교예 1에서 제조한 입자는 원형의 200 내지 300 nm 크기의 입자인 것을 알 수 있다.

[0139] <실험예 4> 폐 계면활성제 입자의 세포 내 섭취 평가

[0140] 폐 계면활성제는 alveolar type 2 cell 유래이기 때문에, 같은 종류인 A549 세포에 섭취능이 높음을 증명하고자 하였다. 비교를 위해 정상 폐 세포인 HPAEpic 세포도 활용하였다.

[0141] - A549: human lung adenocarcinoma cell line from type 2 alveolar cell

[0143] A549 세포를 6 웰 플레이트(well plate)에 웰(well) 당 2만 마리씩 계대배양(subculture)하고, 하루 뒤에 DiI (붉은 형광)가 들어있는 3 mg/ml 농도의 실시예 1, 또는 비교예 1 입자를 세포에 60 µg/ml 농도가 되도록 처리하였다. 37℃ 배양기에 4시간 동안 위치시킨 후, 배지(media)를 교체해 주었다. 배지를 교체한 뒤 24시간 후에 세포를 획스트(Hoechst) 염색제를 이용해 세포핵을 염색하였다. 공초점(Confocal) 현미경(60x 렌즈)을 이용해 세포 내 섭취 정도를 확인하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0145] 도 6은 약물이 탑재된 폐 계면활성제 입자의 세포 내 섭취 평가 결과를 나타내는 그래프이다.

[0147] 도 6에 나타난 바와 같이, 비교예 1의 모방 입자의 경우 A549 세포와 친화력이 적어 세포 내 섭취가 별로 이루어지지 않는 것으로 나타났다.

[0148] 반면, 동일한 농도를 처리한 실시예 1의 폐 계면활성제 기반 입자 처리군의 경우, 비교예 1에 비해 상대적으로 훨씬 많은 세포 내 섭취가 이루어짐을 확인하였다.

[0150] 이는 폐 계면활성제가 가지는 특이적 성질이자 폐 계면활성제 속 막 단백질(membrane protein)이 세포 내 섭취에 중요한 역할을 수행하기 때문이다.

[0152] <실험예 5> 정상세포와 암세포 간 섭취효율 비교 평가

[0153] 실시예 1에서 제조한 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자와, 비교예 1에서 제조한 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 모방(Mimetic) 입자가, 정상세포와 암세포간 섭취효율에 차이가 있는지 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0155] 정상세포인 HPAEpic(Human Pulmonary Alveolar Epithelial Cells) 또는 상기 실험예에서 사용한 A549 세포를 6 웰 플레이트에서 20000 셀/웰로 시딩하고, DiI가 라벨링된 실시예 1, 비교예 1 리포솜 입자 3 mg/ml를 상기 세포에 60 µg/ml 농도로 처리하였다. 4시간 후, 배지를 세척하고, 24시간 후에 공초점 현미경을 통해 결과를 관찰하였다. 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0157] 도 7은 정상세포와 암세포 간 섭취효율을 비교 평가한 결과를 나타내는 그림이다.

[0159] 도 7에 나타난 바와 같이, 정상세포인 HPAEpic(Human Pulmonary Alveolar Epithelial Cells)에는 실시예 1, 비교예 1의 입자가 대부분 잔류하지 않는 것으로 확인되지만, 폐암 세포인 A549에는 실시예 1, 비교예 1 입자가 상대적으로 많은 양으로 축적되어 있음을 확인하였다. 이는, 정상세포의 경우 입자를 흡수했다가 배출하는 작용이 활발한 반면, 암세포의 경우 입자를 흡수한 후 지속적으로 보유하고 있는 특성으로 인한 것으로 이해된다.

- [0161] 실시예 1과 비교예 1의 입자를 비교하면, 실시예 1의 입자가, 모방 입자인 비교예 1에 비해 상대적으로 많은 양이 암세포에 축적된 것으로 확인된다.
- [0163] <실험예 6> 입자 자체 독성 실험
- [0164] 입자와 입자 속 약물의 독성 평가를 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- [0165] A549 세포를 96 웰 플레이트(well plate)에 웰(well)당 3천마리씩 계대 배양(subculture)하고, 하루 뒤에 다양한 농도로 폐 계면활성제 기반 입자와, 모방 입자를 처리하였다.
- [0167] 먼저, 입자 자체의 독성을 확인하기 위해, 약물이 들어가 있지 않은 실시예 2의 폐 계면활성제 기반 입자와, 비교예 2의 모방 입자를 상기 세포에 각각의 농도로 처리하였다(농도: 1 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 75 $\mu\text{g/ml}$, 150 $\mu\text{g/ml}$, 300 $\mu\text{g/ml}$, 600 $\mu\text{g/ml}$, 1200 $\mu\text{g/ml}$ 농도).
- [0169] 37°C 배양기에 4시간 동안 위치시킨 후, 배지(media)를 교체하였다. 배지를 교체한 뒤 24시간 후에 MTT assay를 통해 세포 사멸 정도를 확인하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.
- [0171] 도 8에 나타난 바와 같이, 두 가지 입자 모두 1200 $\mu\text{g/ml}$ 까지 70% 이상의 세포 생존을 확인할 수 있다.
- [0173] <실험예 7> 다양한 폐암세포주 중 A549 세포주에 대한 선택성 평가
- [0174] 실시예 1에서 제조한 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자와, 비교예 1에서 제조한 약물이, 다양한 폐암세포주 중 A549 세포주에 특이적인 선택성을 나타내는지 확인하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- [0176] 하기 폐암 세포주들을 6 웰 플레이트에서 50000 셀/웰로 시딩하고, DiI가 라벨링된 실시예 1, 비교예 1 리포솜 입자를 상기 세포에 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 처리하였다. 2시간 후, 배지를 세척하고, 획스트(Hoechst)로 세포핵을 염색한 후, 공초점 현미경을 통해 결과를 관찰하였다. 그 결과를 도 9에 나타내었다.
- [0177] - A549 cell line (Adenocarcinoma / Human lung cancer)
- [0178] - H460 cell line (Large cell carcinoma / Human lung pleural effusion)
- [0179] - PC9 cell line (Adenocarcinoma / Human lung cancer)
- [0181] 도 9는 다양한 폐암세포주 중 A549 세포주에 대한 선택성을 평가한 결과를 나타내는 그래프이다.
- [0182] 도 9에 나타난 바와 같이, 실시예 1에 따른 입자는 H460, PC9 폐암 세포주보다도, 특히 A549 세포주에 대하여 현저한 흡수가 발생함을 알 수 있다.
- [0184] 또한, 실시예 1에서 제조한 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자와, 비교예 1에서 제조한 약물이, 다양한 폐암세포주 중 A549 세포주에 특이적인 세포독성을 나타내는지 확인하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- [0186] 상기 폐암 세포주들을 96 웰 플레이트에 3000 셀/웰로 시딩하고, 실시예 1, 비교예 1 리포솜 입자를 상기 세포에 15 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 처리하였다. 2시간 후, 배지를 세척하고, 세포 생존률(%)을 평가하였다. 그 결과를 도 10에 나타내었다.

[0188] 도 10은 다양한 폐암세포주 중 A549 세포주에 특이적인 세포독성을 나타내는지 확인한 결과를 나타내는 그래프이다. (Mime와 Sur은 각각 비교예 2, 실시예 2의 입자이고; Mi-PTX, Sur-PTX는 각각 비교예 1, 실시예 1의 입자이다)

[0189] 도 10에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조한 약물이 봉입된 폐 계면활성제 기반 입자는 H460, PC9 폐암 세포주보다도, 특히 A549 세포주에 대하여 현저한 세포독성을 나타냄을 알 수 있다. 이는 폐 계면활성제 입자가, 모방 입자보다 A549 세포 내 섭취가 많이 발생하기 때문이다.

[0191] <실험예 8> 약물이 탑재된 폐 계면활성제를 이용한 in vivo 실험

[0192] 8-1. 증기화 전/후 입자의 안정성 실험

[0193] in vivo 실험의 경우, 쥐 모델에게 입자를 폐에 전달하기 위해 흡입 기법이 이용되었다. 이때, SCIREQ 회사의 inExpose 제품 (nebulizer)을 활용하였다.

[0194] 해당 기기의 경우, sonication을 통해 액상의 입자를 증기화 시키는데 이때 입자가 나노 크기의 형태를 유지하는지 확인하기 위해 증기화 전/후에 입자 크기를 확인해 보았다. 이때 증기화 된 입자의 경우 50 ml tube에 모아 액화시켜서 그 크기를 DLS 장비로 측정했다. 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

	sonication 전 크기 (nm)	sonication 후 크기 (nm)
실시예 1 (Surfactant-PTX)	223.4	185.8
실시예 2 (Surfactant)	214.1	218.5
비교예 1 (Mimetic-PTX)	216.1	188.3
비교예 2 (Mimetic)	223.3	223

[0197] 상기 표 2에 나타난 바와 같이,

[0198] 입자가 증기화가 되었음에도 불구하고, 증기화 전/후의 입자 크기는 거의 변동이 없음을 알 수 있다. 이로부터, 본 발명에 따른 나노 입자는 증기화되어 안정적으로 쥐 모델 내에 전달됨을 알 수 있다.

[0200] 8-2. 증기화 된 입자의 쥐 모델 내 폐 잔류 정도 확인 실험

[0201] 증기화된 폐 계면활성제 입자가 쥐 모델 폐 내에 오래 잔류함과 동시에 다른 장기에 거의 전달되지 않음을 확인하기 위해 폐 계면활성제에 DiR 형광을 탑재한 뒤, 쥐 모델에게 증기화를 통해 입자를 전달하였다.

[0202] 증기화 직후, (0 h), 1 시간 이후, 3 시간 이후, 6 시간 이후, 24 시간 이후에 쥐 모델에서 장기들을 적출하여 DiR 형광 신호 (800 nm)를 Li-CoR 장비를 통해 측정하였다. 그 결과를 도 11에 나타내었다.

[0204] 도 11은 DiR 형광을 탑재한 실시예 1의 폐 계면활성제 입자를 증기화하고, 이를 쥐 모델에게 흡입시킨 후, 시간 경과에 따라 관찰되는 DiR 형광 신호를 기관 별로 평가한 결과를 나타내는 그래프이다.

[0206] 도 11에 나타난 바와 같이,

[0207] 증기화된 입자는 폐 내에 24 시간동안 오래 잔류함을 알 수 있으며 다른 장기로는 거의 전달되지 않음을 알 수

있다.

[0209] 8-3. 약물 탑재된 입자를 활용한 A549 폐암 모델에서의 치료 효능 확인 실험

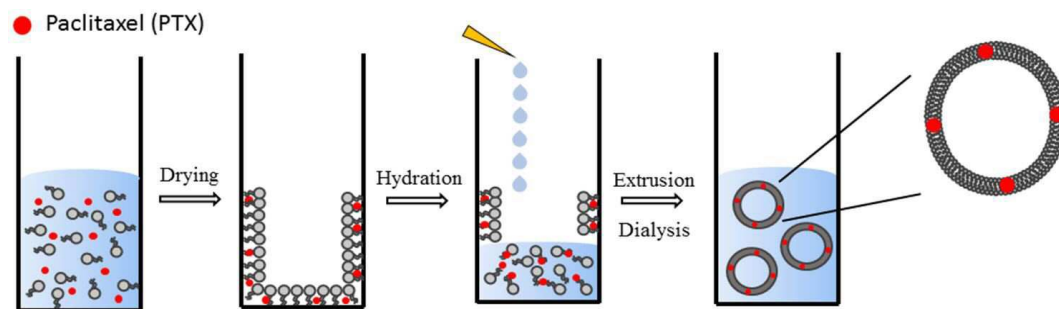
[0210] A549 폐암 모델을 만들기 위해 nude mouse에 A549 세포 100만 마리를 꼬리정맥주사를 통해 주입하였다. 그로부터 약 5 주 후, 항암제 1 mg/kg 농도로 일주일에 2 번씩 흡입 기법을 통해 전달하였다. 이때, 물을 주입하는 대조군 (DW), 약물이 탑재된 모방입자(비교예 1)을 주입하는 군 (Mi-PTX), 약물이 탑재된 폐 계면활성제 입자(실시에 1)을 주입하는 군 (Sur-PTX)으로 나누었다. 약 5 번의 흡입 후 쥐 모델을 희생시켜 폐를 적출하고, H&E 염색을 통해 폐를 염색하였다. 그 후 병리학자의 분석을 통해 치료 정도를 확인하였다.

[0211] A549 폐암 모델 제작과 실험 스케줄을 도 12에 나타내었고, 상기 치료 정도를 확인한 결과를 도 13에 나타내었다.

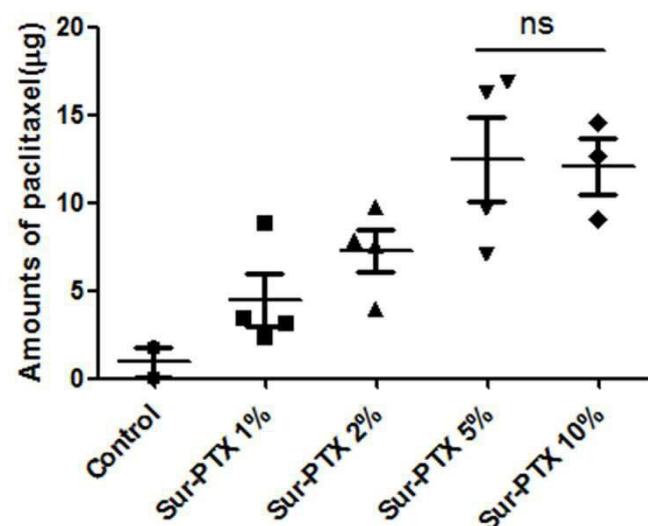
[0213] H&E 염색을 통해 폐를 분석해봤을 때, 폐 내 밀집된 원형 부위가 A549 폐암 부위이다. 도 13에 나타난 바와 같이, 대조군(DW)과 약물이 탑재된 모방입자(비교예 1)를 흡입해 준 군들의 경우 폐 전반적으로 폐 내 많은 폐암이 보이며 치료 정도가 미비하다. 해당 사진들을 통해 분석한 병리학자의 의견을 통해 약물이 탑재된 폐 계면활성제 입자(실시에 1)를 흡입했을 시 대조군 대비 30% 더 폐암이 적음을 확인하였다. 이를 통해 약물이 탑재된 폐 계면활성제 입자가 A549 폐암 모델 치료에 있어 효과가 있음을 알 수 있다.

도면

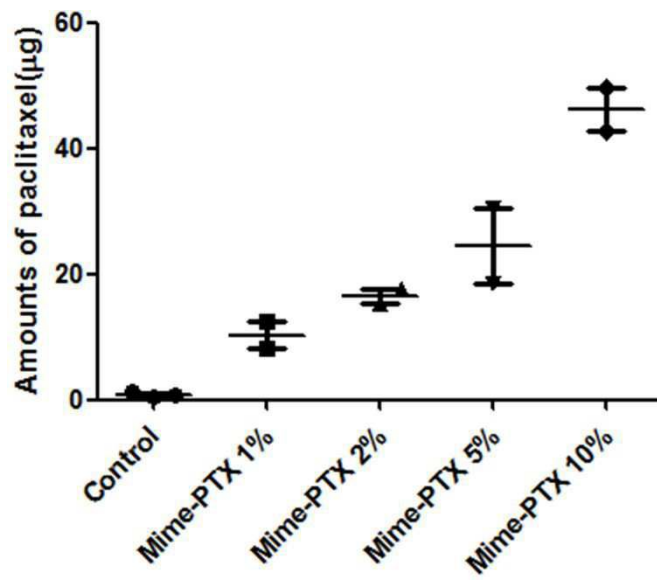
도면1



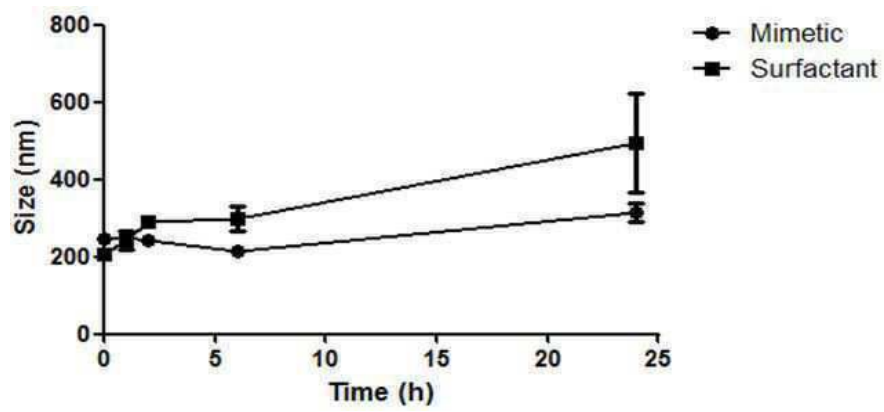
도면2



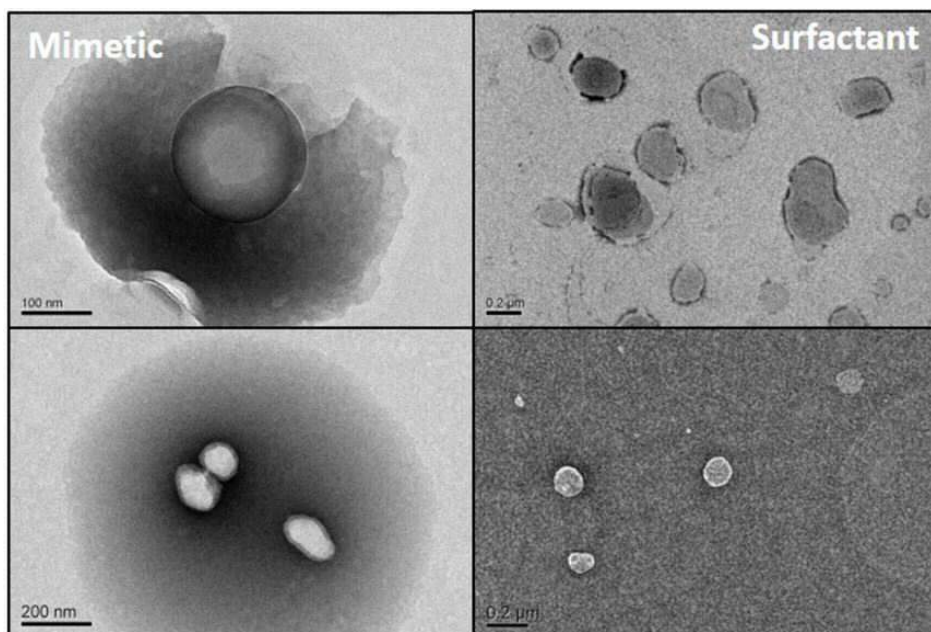
도면3



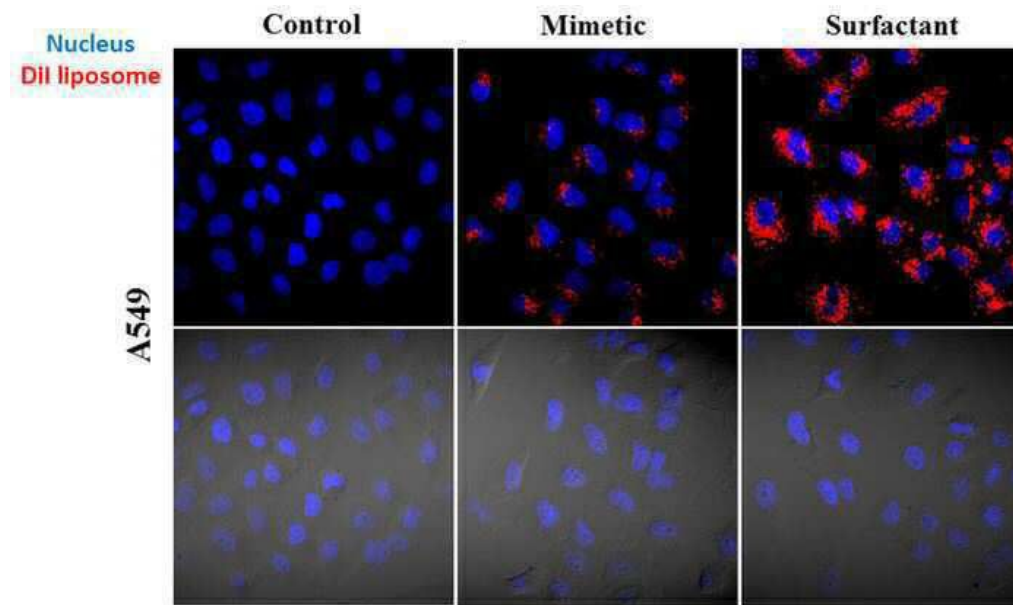
도면4



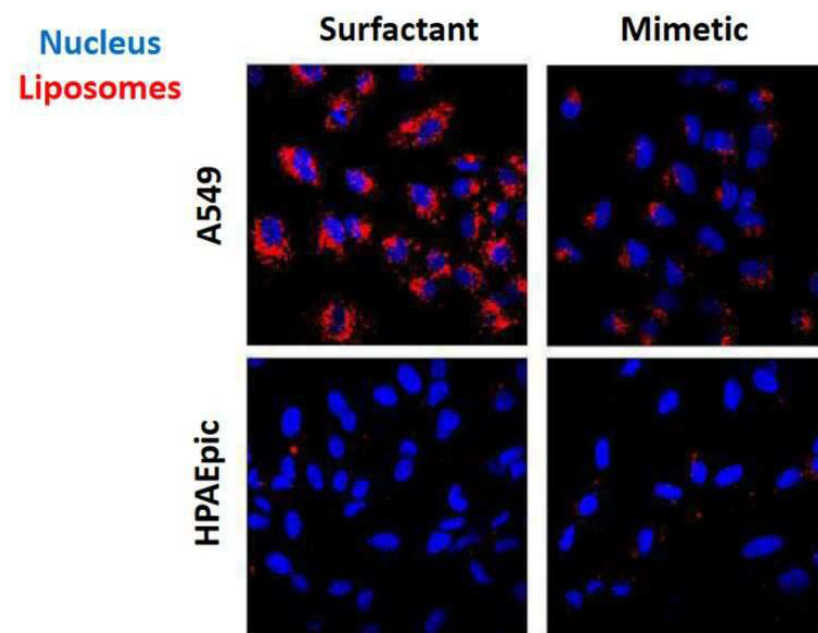
도면5



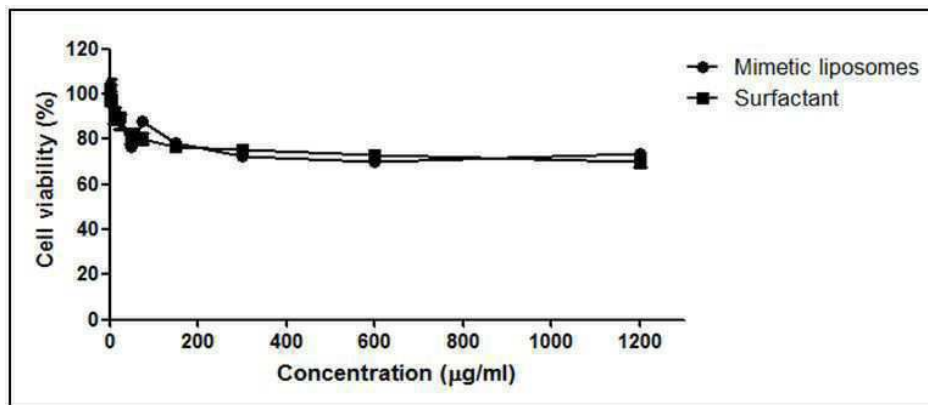
도면6



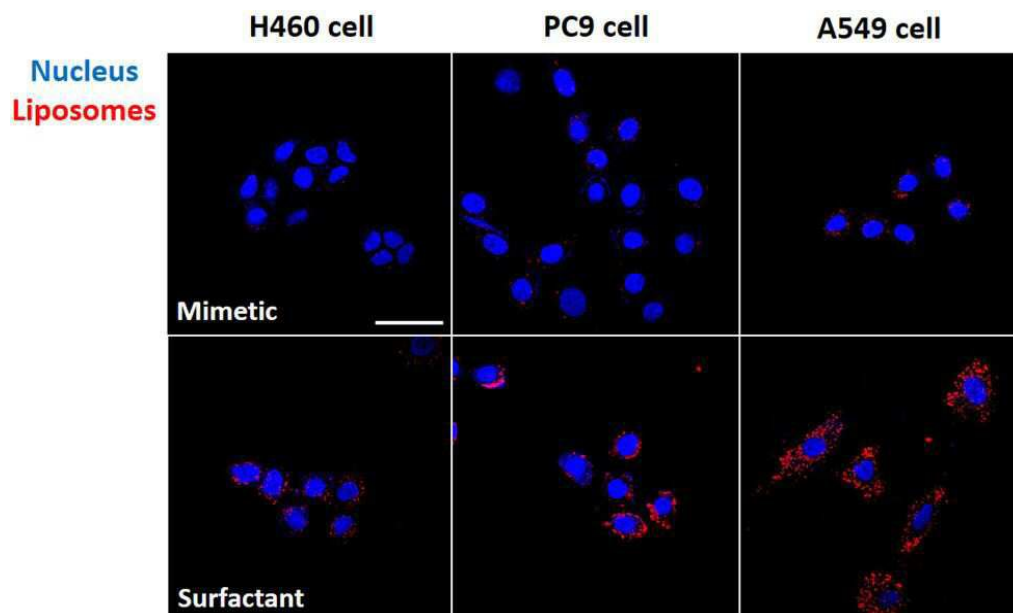
도면7



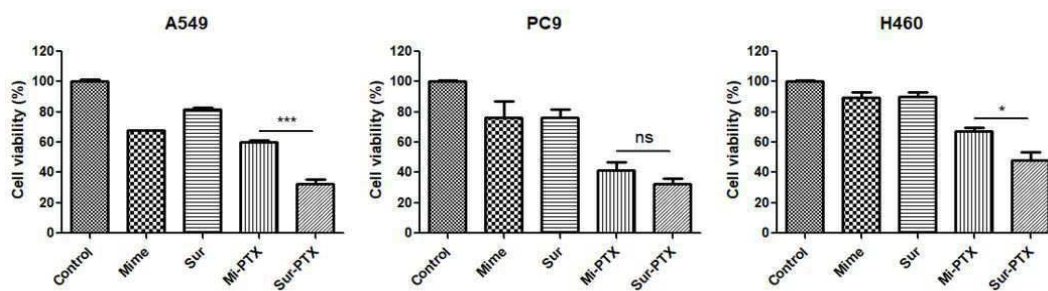
도면8



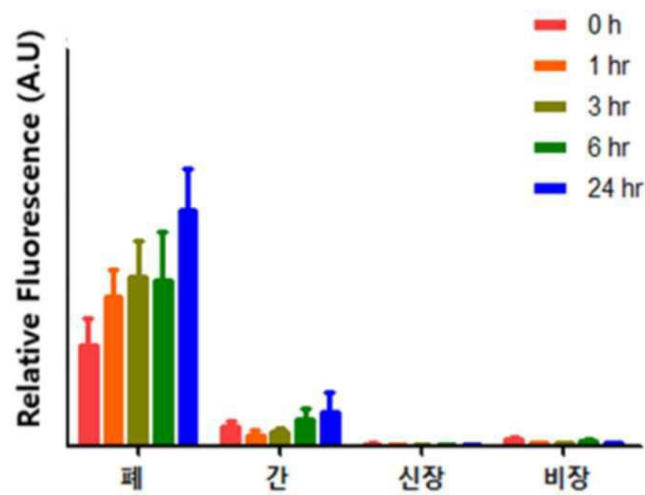
도면9



도면10

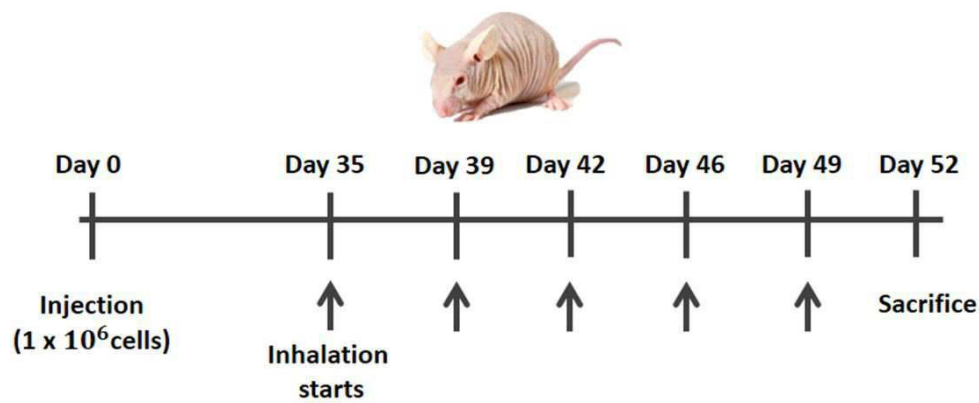


도면11



도면12

• A549 nude mouse model



도면13

