

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014년 6월 5일 (05.06.2014)

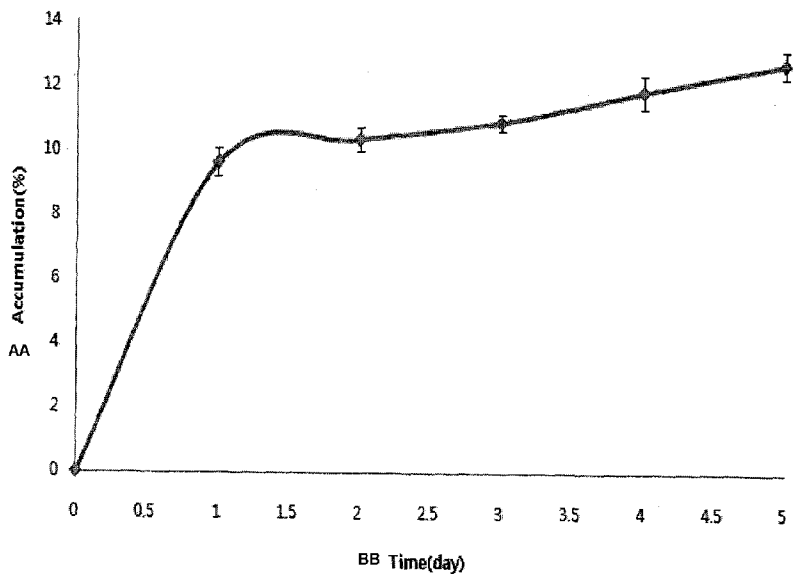


(10) 국제공개번호
WO 2014/084530 A1

- (51) 국제특허분류: A61K 9/16 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 47/30 (2006.01)
 - (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/010420
 - (22) 국제출원일: 2013년 11월 15일 (15.11.2013)
 - (25) 출원언어: 한국어
 - (26) 공개언어: 한국어
 - (30) 우선권정보: 10-2012-0135456 2012년 11월 27일 (27.11.2012) KR
 - (71) 출원인: 재단법인 유타 인하 디디에스 및 신의료기술 개발공동연구소 (UTAH-INHA DDS & ADVANCED THERAPEUTICS RESEARCH CENTER) [KR/KR]; 406-840 인천시 연수구 갯벌로 12, 송도테크노파크 미추홀 타워 별관 B-403, Incheon (KR).
 - (72) 발명자: 김세윤 (KIM, Se Yoon); 429-440 경기도 시흥시 월곶중앙로 14 번길 9, 풍림 4 차아이원아파트 402 동 1005 호, Gyeonggi-do (KR). 이돈행 (LEE, Don Haeng); 140-011 서울시 용산구 한강대로 211, 대우월드마크용산아파트 101 동 2902 호, Seoul (KR). 양수근 (YANG, Su-Geun); 406-840 인천시 연수구 컨벤시아대로 42 번길 35, 더샵그린에비뉴 701 동 1501 호, Incheon (KR).
 - (74) 대리인: 양부현 (YANG, Boo-Hyun); 151-832 서울시 관악구 인현동 1659-2, 청동빌딩 301 호, 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, IR, 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, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, 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).
- 공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) Title: BIODEGRADABLE MICROBEAD COMPRISING ANIONIC POLYMER FOR IMPROVING ADSORPTIVE POWER TO ANTICANCER DRUGS, AND METHOD FOR PREPARING SAME

(54) 발명의 명칭 : 음이온성 고분자를 포함하는 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드 및 이의 제조방법



AA ... Accumulation (%)
BB ... Time (day)

(57) Abstract: The present invention relates to a biodegradable microbead having improved adsorptive power to anticancer drugs, to a method for preparing same, and to a method for treating cancer using same. According to the present invention, a rigid bead having excellent adsorptive power to anticancer drugs can be prepared through cross-linking and an amide bond between an albumin and an anionic polymer. Also, the microbead of the present invention is prepared by a biocompatible and biodegradable polymer so as to be safe when applied to the human body. Further, the microbead of the present invention can effectively inhibit the growth of a tumor by effectively blocking a blood vessel which supplies nutrients to a liver tumor, while continuously releasing anticancer drugs which are adsorbed into the surface of the bead. Thus, the present invention can be usefully applied to a chemoembolization of liver cancer.

(57) 요약서: [다음 쪽 계속]

WO 2014/084530 A1

본 발명은 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드, 이의 제조방법 및 이를 이용한 암 치료방법에 관한 것이다. 본 발명에 의하면, 알부민과 음이온성 고분자와의 아마이드 결합 및 가교결합에 의하여 우수한 항암제 흡착능력을 갖는 견고한 비드를 제조할 수 있다. 또한, 본 발명의 마이크로 비드는 생체적합성 및 생분해성 고분자로 제조되어 인체에 적용시 안전하며, 간 종양에 영양을 공급하는 혈관을 효과적으로 막는 동시에 비드의 표면에 흡착되어 있는 항암제를 지속적으로 방출함으로써 종양의 성장을 유효하게 억제시킬 수 있다. 따라서, 본 발명은 간암의 화학색전술에 유용하게 활용될 수 있다.

【명세서】

【발명의 명칭】

음이온성 고분자를 포함하는 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드 및 이의 제조방법

5

【기술 분야】

본 발명은 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드, 이의 제조방법 및 이를 이용한 암 치료방법에 관한 것이다.

10 【배경 기술】

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 퍼져있거나, 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.

15

현재, 간 종양의 치료에 가장 많이 시행되고 있는 시술인 화학색전술(Transarterial Chemoembolization, TACE)은 간 종양에 영양을 공급하는 동맥을 찾아 항암제를 투여한 다음 혈관을 막아주는 치료법이다. 간 조직은 소장 및 대장 등을 돌아나오는 문맥(portal vein)과 대동맥에서 직접 나오는 간동맥을 통하여 산소와 영양을 공급 받는데, 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. 이 치료법은 암의 진행 정도에 따르는 제약이 없어 적용 범위가 넓고, 치료 대상의 제한이 적은 등 장점이 많기 때문에 현재 간암 치료율 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.

20

25

30

현재, 대표적으로 리피오들을 이용한 간 색전법이 임상적으로 가장 빈번하게 응용되어 왔으며, 이를 이용한 특허기술 또한 상당히 많이 보고되고 있다. 리피오들은 구성성분으로 요오드를 다량 함유하고 있어 CT 영상이 가능하다는 장점이 있어 시술의 편의성을 제공한다. 하지만, 독소루비신을 로딩하기 위해 수술 직전에 약물을 녹인 주사액과 오일상의 리피오들을 진탕하여 혼합하여야 하는 단점이 있다. 또한, 시술 후 수상에 녹아 있는 독소루비신이 간암부위에서 축적되지 못하고 급속히 전신혈로 빠져나가 충분한 항암효과를 얻지 못할 뿐 아니라, 환자의 부작용도 상당한 것으로 임상에 보고되고 있다.

미국특허 7442385호는 폴리비닐알코올(poly vinyl alcohol, PVA)을 가교하여 마이크로 사이즈의 파티클을 제조한 후 항암제인 독소루비신을 비드의 표면에 전기적 인력에 의하여 흡착시켜 간암부위에 전달함으로써 지속적인 항암제의 방출과 색전효과를 동시에 달성하는 방법에 대해 기술하고 있다. 이를 위하여 폴리비닐 알코올의 가교 과정에서 음이온성 단량체인 2-아크릴아미도-2-메틸-1-프로판-설포닉에시드 (2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid, AMPS)를 가교말단에 공유결합시켜 폴리머를 개질함으로써 독소루비신과 같은 양이온성 약물을 흡착할 수 있도록 하였다. 그러나, 폴리비닐알코올을 이용한 간색전술은 가교된 PVA가 체내에서 분해되지 않기 때문에 간 종양의 괴사 후 PVA 비드들이 체내에 불특정하게 퍼져서 염증을 일으키거나, 더 우려스럽게는 혈관을 타고 다른 장기로 퍼져 나가 뇌혈전 등을 일으킬 수 있는 문제가 있다. 따라서, 이러한 문제점을 개선할 수 있는 항암전달체로서의 기능과 혈관색전 기능을 동시에 달성할 수 있는 약물전달체가 요구된다.

본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

30 **【발명의 내용】**

【해결하려는 과제】

본 발명자들은 종래 암 국소치료용 마이크로 비드가 갖는 생체 내에서 분해되지 않는 문제를 해결하고, 마이크로 비드에 보다 많은 양의 항암제를 흡착시킬 수 있으며 제조공정이 간단하여 경제성 있는 마이크로 비드의 제조방법을 개발하기 위하여 연구 노력하였다. 또한, 본 발명자들은

5 음이온성 고분자를 포함하는 마이크로 비드를 보다 견고하게 제조하기 위하여 연구 노력하였다. 그 결과, 알부민과 셀포네이트기를 갖는 생체적합성 음이온성 고분자가 아미드 결합된 키크뉴게이트를 제조하고, 이를 에멀전화 하여 제조한 마이크로 크기의 버블을 가교하여 알부민이 가교결합된 마이크로 비드를 제조함으로써, 본 발명을 완성하였다.

10 따라서, 본 발명의 목적은 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드를 제공하는 데 있다.

본 발명의 다른 목적은 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드의 제조방법을 제공하는 데 있다.

15 본 발명의 또 다른 목적은 상기 마이크로 비드를 투여하여 암을 치료하는 방법을 제공하는 데 있다.

본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

20 **【과제의 해결 수단】**

본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 알부민과 음이온성 고분자가 아미드 결합된 알부민-음이온성 고분자 키크뉴게이트를 포함하고; 상기 음이온성 고분자는 생체적합성이고, 셀포네이트기를 가지며, 및 아민기 또는 카르복실기를 가지며; 그리고 상기 알부민은 가교결합된 것을

25 특징으로 하는 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드를 제공한다.

본 발명자들은 종래 암 국소치료용 마이크로 비드가 갖는 생체 내에서 분해되지 않는 문제를 해결하고, 마이크로 비드에 보다 많은 양의

30 항암제를 흡착시킬 수 있으며 제조공정이 간단하여 경제성 있는 마이크로 비드의 제조방법을 개발하기 위하여 연구 노력하였다. 또한, 본 발명자들은

음이온성 고분자를 포함하는 마이크로 비드를 보다 견고하게 제조하기
 위하여 연구 노력하였다. 그 결과, 알부민과 설포네이트기를 갖는
 생체적합성 음이온성 고분자가 아미드 결합된 컨쥬게이트를 제조하고, 이를
 에멀전화 하여 제조한 마이크로 크기의 버블을 가교하여 알부민이 가교결합
 5 된 마이크로 비드를 제조하였다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 상기 마이크로 비드는 상기 음이온성
 고분자와의 정전기적 인력에 의해서 비드 표면에 흡착된 항암제를
 추가적으로 포함한다.

하나의 특정예에서, 상기 항암제는 안트라사이클린계 항암제이다.
 10 상기 안트라사이클린계 항암제에는, 예를 들면, 독소루비신, 다우노루비신,
 에피루비신, 이다루비신, 켈시타빈, 미토산트론, 피라루비신 및 발루비신
 등이 있다.

다른 특정예에서, 상기 항암제는 이리노테칸이다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 본 발명의 마이크로 비드는 고행암
 15 치료를 위한 화학색전용 비드이다.

하나의 특정예에서, 본 발명의 마이크로 비드는 간암
 화학색전술(간동맥색전술)용 비드이다. 간암 치료 외에 적용 가능한
 고행암으로는 직장 동맥을 통해 직장 세포 암종을 치료하는 방법을 들 수
 있다(K. Tsuchiya, *Urology*. Apr;55(4):495-500(2000)).

본 발명의 마이크로 비드는 구성성분으로서 알부민 및 상기 알부민과
 아미드 결합된 생체적합성 음이온성 고분자를 포함한다. 상기 알부민은
 음이온성 고분자의 카르복실기 또는 아민기와 아미드 결합되고 가교결합
 되어 마이크로 비드의 형태를 형성하고 유지하는 지지체로서 역할을 한다.
 상기 음이온성 고분자는 알부민의 아민기 또는 카르복실기와 아미드
 25 결합되고, 항암제를 비드의 표면에 흡착시키는 역할을 한다. 상기 알부민
 및 음이온성 고분자는 모두 생체적합성 고분자 물질로서 체내에서 분해가
 가능하기 때문에, 종래 폴리비닐알코올을 이용한 비드가 갖는 체내에
 분해되지 않음으로써 발생하는 문제점, 예컨대 폴리비닐알코올이
 불특정하게 퍼져서 염증을 일으키거나, 혈관을 타고 다른 장기로 퍼져 나가
 30 뇌혈전 등을 일으킬 수 있는 문제점을 해결할 수 있다.

본 명세서에서 사용된 용어, "생분해성"이란 생리적

용액(physiological solution)에 노출되었을 때 분해될 수 있는 성질을 의미하며, 예컨대 인간을 포함한 포유동물의 생체 내에서 체액 또는 미생물 등에 의해서 분해될 수 있는 성질을 의미한다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 상기 알부민은 생체세포나 체액 중에 넓게 분포되어 있는 단백질로서 동물성 알부민 및 식물성 알부민을 포함한다.

하나의 특정예에서, 상기 동물성 알부민은 오브알부민, 혈청 알부민, 락토알부민 및 미오겐을 포함하며, 상기 식물성 알부민은 류코신(보리 씨), 레구멜린(완두콩) 및 리신(피마자 씨)을 포함한다. 상기 알부민에는 알부민의 변이체도 포함된다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 상기 생체적합성 음이온성 고분자는 글라이코스아미노글라이칸(glycosaminoglycan)류 고분자를 포함한다.

하나의 특정예에서, 상기 글라이코스아미노글라이칸류 고분자는 콘드로이틴 설페이트(chondroitin sulfate), 더마탄 설페이트(dermatan sulfate), 헤파란 설페이트(heparan sulfate), 헤파린(heparin), 케라탄 설페이트(keratan sulfate) 및 히알루로난(hyaluronan)으로 구성된 군으로부터 선택된다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 상기 알부민의 가교는 열가교에 의한 것이다.

본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 알부민의 가교는 알데히드류 가교제에 의한 것이다. 하나의 특정예에서, 상기 알데히드류 가교제는 글루타알데히드, 포르말데히드, 디알데히드전분, 숙신산알데히드, 아크릴알데히드, 옥살알데히드, 2-메틸아크릴알데히드 및 2-옥소프로판알로 구성된 군으로부터 선택된다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 본 발명의 마이크로 비드의 항암제 흡착능력은 비드 1 ml당 10-100 mg이다. 하나의 특정예에서는 마이크로 비드 1 ml당 20-60 mg이고, 다른 특정예에서는 마이크로 비드 1 ml당 20-55 mg이며, 또 다른 특정예에서는 마이크로 비드 1 ml당 20-50 mg이다.

본 발명의 마이크로 비드는 용액과 함께 바이알에 패키징할 수 있으며(습식 마이크로 비드), 선택적으로 분말화하여 이용할 수도 있다(건식 마이크로 비드).

본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 단계를 포함하는 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드의 제조방법을 제공한다:

(a) 알부민과 음이온성 고분자를 아미드 결합하여 알부민-음이온성 고분자 컨쥬게이트를 얻는 단계, 상기 음이온성 고분자는 (i) 생체적합성이고, (ii) 설포네이트기를 가지며, 및 (iii) 아민기 또는 카르복실기를 가지며;

(b) 단계 (a)의 알부민-음이온성 고분자 컨쥬게이트를 에멀전화 하여 마이크로 크기의 버블을 형성시키는 단계; 및

(c) 단계 (b)의 마이크로 크기의 버블을 가교하여 알부민이 가교결합된 마이크로 비드를 형성시키는 단계.

본 발명의 일구현예에 따르면, 본 발명의 방법은 상기 단계 (c) 이후에 단계 (c)의 마이크로 비드에 항암제를 접촉시켜 마이크로 비드의 음이온성 고분자의 정전기적 인력에 의해 항암제를 비드 표면에 흡착시키는 단계 (d)를 추가적으로 포함한다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 본 발명의 단계 (a)의 알부민과 음이온성 고분자의 조성비는 두 성분을 함유하는 용액(비드 제조용 용액)을 기준으로 10-25:15-10 %농도(W/V)일 수 있다. 비드 제조용 용액 내 알부민의 양이 음이온성 고분자에 비하여 현저히 적을 경우에는 비드가 견고하게 형성되지 않으며, 음이온성 고분자의 양이 알부민에 비하여 현저히 적을 경우에는 항암제의 흡착효율이 떨어지게 된다. 본 발명은 알부민과 음이온성 고분자와의 아미드 결합을 통하여 견고하게 비드를 제조하기 때문에 음이온성 고분자를 알부민과 동일 또는 유사한 양으로 사용하여 비드를 제조할 수 있으며, 이를 통하여 항암제의 흡착효율을 높일 수 있다.

하나의 특정예에서, 상기 알부민과 음이온성 고분자의 조성비는 12-25:15-10 %농도(W/V)이고, 다른 특정예에서는 12-23:15-10 %농도(W/V)이며, 또 다른 특정예에서는 15-23:15-10 %농도(W/V)이고, 또 다른 특정예에서는 15-20:15-10 %농도(W/V)다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 본 발명의 단계 (b)에서 알부민-음이온성 고분자 컨쥬게이트의 에멀전화는 천연오일 또는 점도증가제를 함유하는 유기용매를 사용하여 수행한다.

사용가능한 천연오일의 예로는 MCT 오일, 면실유, 옥수수유, 아몬드유, 살구유, 아보카도유, 바바수야자유, 카모마일유, 카놀라유, 코코아 버터유, 코코넛유, 대구 간유, 커피유, 어유, 아마씨유, 호호바유, 조롱박유, 포도씨유, 헤이즐넛유, 라벤더유, 레몬유, 망고씨유, 오렌지유, 올리브유, 밉크유, 종려나무유, 로즈마리유, 참깨유, 시어 버터유, 콩유, 해바라기유 및 호두유 등을 들 수 있다.

사용가능한 유기용매로는 아세톤, 에탄올 및 부틸 아세테이트 등을 들 수 있다. 상기 유기용매는 적절한 점도를 부여하기 위하여 점도증가제를 포함한다. 상기 점도증가제의 예로는 하이드록시 메틸셀룰로오스, 하이드록시 프로필 메틸셀룰로오스, 셀룰로오스 아세테이트 부틸레이트 등의 셀룰로오스 계열의 폴리머를 들 수 있다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 본 발명의 단계 (b)의 마이크로 크기의 버블은 마이크로 플루이딕 시스템 또는 인캡슐레이터를 이용하여 형성될 수 있다. 마이크로 플루이딕 시스템은 미세구조의 칩을 이용하여 비드를 제조하는 방법으로 큰 관의 내부에 더 작은 관을 위치시킨 후 서로 반대 방향으로 수상과 유상을 흘려주면 서로의 장력에 의해 비드가 형성된다. 즉, 비드 제조용 용액(알부민-음이온성 고분자 컨주게이트를 함유하는 용액)을 내부 유체로 하고 동시에 상기 천연오일 또는 유기용매(수집용액)를 외부 유체로 하여 흘려주면 장력에 의해 비드가 형성되며, 이를 다시 수집용액에 수집하고 가교반응을 통하여 비드를 제조할 수 있다.

인캡슐레이션은 전기방사와 유사한 방법으로 노즐과 수집용액 사이에 전기장을 형성하여 장력에 의해 생성되는 물방울을 잘게 쪼개어 매우 작은 크기의 방울들로 분산시키는 것을 그 특징으로 한다. 상기 비드 제조용 용액을 용량에 맞는 주사기에 옮기고 이를 주사기 펌프에 장착한 후 인캡슐레이터와 연결한다. 그리고, 수집용액 또한 용량에 맞는 디쉬에 옮긴 후 교반기 위에 위치시키고, 인캡슐레이터의 환경을 적절하게 설정한 후 비드 제조용 용액을 수집용액에 분사하여 버블을 형성시킨다. 인캡슐레이터의 조건은 유속 1-5 ml/분, 가하여 주는 전력 1,000-3,000V, 초음파 2,000-6,000Hz, 회전수 100 rpm 이하가 적합하며, 방출노즐의 크기는 제조하려는 비드의 크기에 맞게 선택하여 사용한다.

본 발명의 다른 일구현예에 따르면, 본 발명의 단계 (b)의 마이크로 크기의 버블은 상기 비드 제조용 용액과 수집용액을 혼합한 후 적절한 회전수로 교반하는 유화법으로 제조할 수 있다. 이때, 비드의 크기는 회전수와 교반시간에 의존한다. 적절한 크기의 버블이 형성되면 버블을
5 가교하여 마이크로 비드를 형성시킨다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 알부민의 가교반응이 완료될 때까지 계속 교반하여 반응을 유지하여 주며, 반응이 완료되면 수집용액의 세척을 위하여 과량의 아세톤 혹은 에탄올을 이용하여 비드를 수 회 세척하여 준다.

본 발명의 단계 (c)에서는, 단계 (b)에서 수득한 마이크로 크기의 버블을 가교하여 알부민이 가교결합 된 마이크로 비드를 제조한다.
10

본 발명의 일구현예에 따르면, 상기 가교는 알데히드류 가교제를 사용하여 수행하거나, 또는 열가교에 의한 것이다. 본 발명의 마이크로 비드를 열가교하여 제조하는 경우, 체내에 유해한 화학적 가교제를 사용하지 않아 신체적합성이 우수하고, 화학적 가교제의 제거공정을 생략할
15 수 있어 경제적이다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 상기 열가교 온도는 60℃ 이상이고, 열가교 시간은 1 내지 4시간이다. 하나의 특정예에서, 상기 열가교 온도는 60-160℃이다.

본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 알부민과 음이온성 고분자가 아미드 결합된 알부민-음이온성 고분자 컨쥬게이트 및 상기 음이온성 고분자와의 정전기적 인력에 의해서 비드 표면에 흡착된 항암제를 포함하고; 상기 음이온성 고분자는 생체적합성이고, 설포네이트기를 가지며, 아민기 또는 카르복실기를 가지고; 및 상기 알부민은 가교결합 된 것을
25 특징으로 하는 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 치료방법을 제공한다.

본 발명에 따르면, 본 발명의 마이크로 비드를 암 환자에게 투여하여 화학색전을 통하여 암을 치료할 수 있다.

본 발명의 일구현예에 따르면, 상기 환자는 간암 환자이고, 상기 마이크로 비드는 환자의 간동맥으로 투여된다.
30

【발명의 효과】

본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

(i) 본 발명은 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드, 이의 제조방법 및 이를 이용한 암 치료방법을 제공한다.

5 (ii) 본 발명에 의하면, 알부민과 음이온성 고분자와의 아미드 결합 및 가교결합에 의하여 우수한 항암제 흡착능력을 갖는 견고한 비드를 제조할 수 있다.

(iii) 본 발명의 마이크로 비드는 생체적합성 및 생분해성 고분자로 제조되어 인체에 적용시 안전하며, 간 종양에 영양을 공급하는 혈관을 10 효과적으로 막는 동시에 비드의 표면에 흡착되어 있는 항암제를 지속적으로 방출함으로써 종양의 성장을 유효하게 억제시킬 수 있다.

(iv) 따라서, 본 발명은 간암의 화학색전술에 유용하게 활용될 수 있다.

15 **【도면의 간단한 설명】**

도 1은 본 발명에 의하여 제조된 마이크로 비드를 보여준다.

도 2는 본 발명에 의하여 제조된 독소루비신이 흡착된 마이크로 비드를 보여준다.

20 도 3은 독소루비신이 흡착된 알부민/콘드로이틴 설페이트 비드의 용출거동을 보여준다.

【발명을 실시하기 위한 구체적인 내용】

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 25 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

실시예

실시예 1. 화학색전용 마이크로 비드의 제조

30 알부민의 아민기(NH₂-)와 콘드로이틴 설페이트의 카르복시기(COOH-)를 아미드 결합시키기 위하여 SCBH (sodium cyanoborohydride) 또는 EDC

(1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)carbodiimide) / NHS (N-Hydroxy succinimide)를 사용하였다. 먼저, 음이온성 고분자를 SCBH 또는 EDC/NHS 를 이용하여 활성화시킨 후 하기 표 1 의 조성 1-5 와 같이 알부민과 반응시켜 결합시켰다. 이후, 이를 1-2 일간 투석하여 미반응물을 제거하여 비드 제조용 용액을 수득하였다.

【표 1】

비드 제조 용액의 조성

W/V %		조성1	조성 2	조성3	조성4	조성5
알부민	인혈청 알부민	15	20			10
	우혈청 알부민			15	20	10
음이온성 고분자	콘드로이틴 설페이트	15	10	15	10	10
	티마탄 설페이트	15	10	15	10	10
	헤파란 설페이트	15	10	15	10	10
	헤파린	15	10	15	10	10

마이크로 입자는 인캡슐레이터(encapsulator)를 이용하여 제조하였으며, 제조조건은 유속 3 ml/분, 가하여 주는 전력 1,000V, 초음파 3,000 Hz, 회전수 100 rpm 이었다. 방출노즐의 크기는 제조하려는 비드의 크기에 맞게 선택하여 사용하였다. 비드 제조 용액을 용량에 맞는 주사기에 옮기고, 이를 주사기 펌프에 장착한 후 인캡슐레이터(B-390, BUCHI)와 연결하고, 수집용액을 용량에 맞는 디쉬에 옮긴 후 교반기 위에 위치시켰다. 인캡슐레이터의 환경을 설정한 후 비드 제조 용액을 수집용액에 분사하고, 수집용액을 120℃로 가열하여 열가교 시켜 비드를 형성시켰다. 가교 시간은 2 시간이었으며, 수집용액으로 10% 셀룰로오스 아세테이트 뷰틸레이트가 용해된 n-뷰틸 아세테이트를 사용하였다.

또한, 화학적 가교의 방법으로, 비드 제조 용액을 수집용액에 분사하고, 글루타알데히드 또는 포름알데히드 등의 알데히드류 가교제를 사용하여 24 시간 동안 가교하였다.

실시에 2. 독소루비신 흡착 실험

독소루비신 흡착실험을 다음과 같이 진행하였다. 먼저, 50 mg 의 독소루비신을 2 ml의 증류수에 용해하였다. 1 ml의 비드를 정확히 취하여 독소루비신 용액에 넣고 혼합하여 주었다. 20 분간 상온에서 방치한 후 상층액을 취하여 자외선 분광기로 483 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 미리 작성해 둔 검량선에 대비하여 농도를 계산하면 50 mg/2 ml의 독소루비신 용액에서 빠져나간 독소루비신의 양을 계산할 수 있으며, 이 값은 독소루비신이 비드에 흡착된 양이다. 실험결과는 표 2에 나타내었다.

【표 2】

구분	조성	콘드로이틴 설페이트	더마란 설페이트	헤파란 설페이트	헤파린
열가교	15:15	47±2 mg/ml	42±1 mg/ml	45±3 mg/ml	42±2 mg/ml
	20:10	42±3 mg/ml	38±2 mg/ml	40±1 mg/ml	36±3 mg/ml
알데하이드류 가교제 사용	15:15	36±3 mg/ml	33±2 mg/ml	34±3 mg/ml	32±2 mg/ml
	20:10	30±2 mg/ml	28±1 mg/ml	29±2 mg/ml	26±3 mg/ml

10

표 2 에 나타난 바와 같이, 독소루비신 흡착량은 다양한 글루코스아미노글라이칸류 음이온성 고분자를 사용한 결과 유사한 양상을 나타내었으며, 음이온성 고분자의 함량에 비례하는 것으로 확인되었다.

15

같은 방법으로 다우노루비신과 에피루비신 흡착량을 측정한 결과, 독소루비신과 동등한 양으로 흡착하는 것으로 확인되었다(표 3).

【표 3】

구분	구분	조성	콘드로이틴 설페이트	더마탄 설페이트	해파란 설페이트	해파란
독소루비신	열가교	15:15	47±2 mg/ml	42±1 mg/ml	45±3 mg/ml	42±2 mg/ml
		20:10	42±3 mg/ml	38±2 mg/ml	40±1 mg/ml	36±3 mg/ml
	가교제 사용	15:15	36±3 mg/ml	33±2 mg/ml	34±3 mg/ml	32±2 mg/ml
		20:10	30±2 mg/ml	28±1 mg/ml	29±2 mg/ml	26±3 mg/ml
다우노루비신	열가교	15:15	46±3 mg/ml	44±2 mg/ml	44±2 mg/ml	42±2 mg/ml
		20:10	43±2 mg/ml	38±3 mg/ml	41±1 mg/ml	35±2 mg/ml
	가교제 사용	15:15	36±3 mg/ml	33±2 mg/ml	34±3 mg/ml	33±1 mg/ml
		20:10	29±3 mg/ml	28±2 mg/ml	31±1 mg/ml	25±3 mg/ml
에피루비신	열가교	15:15	46±1 mg/ml	42±2 mg/ml	44±2 mg/ml	41±3 mg/ml
		20:10	41±3 mg/ml	39±1 mg/ml	41±1 mg/ml	37±2 mg/ml
	가교제 사용	15:15	35±2 mg/ml	35±2 mg/ml	34±3 mg/ml	32±2 mg/ml
		20:10	30±2 mg/ml	28±1 mg/ml	29±1 mg/ml	24±3 mg/ml

실시에 3. 독소루비신 용출 실험

- 5 약물의 용출거동을 확인하기 위하여 용출시험을 진행하였다. 실험방법은 다음과 같았다. 독소루비신으로 4.0 mg 에 해당하는 비드를 50 ml 코니칼 튜브에 넣고 용출액(PBS, pH 7.4) 50 ml를 채워 37°C에서 인큐베이션 하였다. 용출액은 회수시점에서 모두 회수한 후 새로운 용출액으로 바꾸어주었으며, 이에 따라 용출곡선을 누적값으로 산출하였다.
- 10 용출된 약물의 분석은 HPLC로 하였으며, 용출 결과는 도 3에 나타내었다.

이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

알부민과 음이온성 고분자가 아미드 결합된 알부민-음이온성 고분자
5 컨쥬게이트를 포함하고;

상기 음이온성 고분자는 생체적합성이고, 설포네이트기를 가지며, 및
아민기 또는 카르복실기를 가지며; 그리고

상기 알부민은 가교결합 된 것을 특징으로 하는 항암제 흡착능력이
향상된 생분해성 마이크로 비드.

10

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 상기 마이크로 비드는 상기 음이온성 고분자와의
정전기적 인력에 의해서 비드 표면에 흡착된 항암제를 추가적으로 포함하는
것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

15

【청구항 3】

제 2 항에 있어서, 상기 항암제는 안트라사이클린계 항암제인 것을
특징으로 하는 마이크로 비드.

20 【청구항 4】

제 3 항에 있어서, 상기 안트라사이클린계 항암제는 다우노루비신,
독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 챔시타빈, 미토산트론, 피라루비신
및 발루비신으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 마이크로
비드.

25

【청구항 5】

제 2 항에 있어서, 상기 항암제는 이리노테칸인 것을 특징으로 하는
마이크로 비드.

30

【청구항 6】

제 1 항에 있어서, 상기 음이온성 고분자는 글라이코스아미노글라이칸(glycosaminoglycan)류 고분자인 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

5

【청구항 7】

제 6 항에 있어서, 상기 글라이코스아미노글라이칸류 고분자는 콘드로이틴 설페이트(chondroitin sulfate), 더마탄 설페이트(dermatan sulfate), 헤파란 설페이트(heparan sulfate), 헤파린(heparin), 케라탄 설페이트(keratan sulfate) 및 히알루로난(hyaluronan)으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

10

【청구항 8】

제 1 항에 있어서, 상기 마이크로 비드는 화학색전용 마이크로 비드인 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

15

【청구항 9】

제 8 항에 있어서, 상기 화학색전은 간암 화학색전인 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

20

【청구항 10】

제 1 항에 있어서, 상기 알부민의 가교는 열가교에 의한 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

25

【청구항 11】

제 1 항에 있어서, 상기 알부민의 가교는 알데히드류 가교제에 의한 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

【청구항 12】

제 11 항에 있어서, 상기 알데히드류 가교제는 글루타알데히드, 포르말데히드, 디알데히드전분, 숙신산알데히드, 아크릴알데히드,

30

옥살알데히드, 2-메틸아크릴알데히드 및 2-옥소프로판알로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

【청구항 13】

5 제 1 항에 있어서, 상기 마이크로 비드의 항암제 흡착능력은 마이크로 비드 1 ml당 10-100 mg인 것을 특징으로 하는 마이크로 비드.

【청구항 14】

10 다음의 단계를 포함하는 항암제 흡착능력이 향상된 생분해성 마이크로 비드의 제조방법:

(a) 알부민과 음이온성 고분자를 아미드 결합하여 알부민-음이온성 고분자 컨쥬게이트를 얻는 단계, 상기 음이온성 고분자는 (i) 생체적합성이고, (ii) 설포네이트기를 가지며, 및 (iii) 아민기 또는 카르복실기를 가지며;

15 (b) 단계 (a)의 알부민-음이온성 고분자 컨쥬게이트를 에멀전화 하여 마이크로 크기의 버블을 형성시키는 단계; 및

(c) 단계 (b)의 마이크로 크기의 버블을 가교하여 알부민이 가교결합된 마이크로 비드를 형성시키는 단계.

20 【청구항 15】

제 14 항에 있어서, 상기 단계 (c) 이후에 단계 (c)의 마이크로 비드에 항암제를 접촉시켜 마이크로 비드의 음이온성 고분자의 정전기적 인력에 의해 항암제를 비드 표면에 흡착시키는 단계 (d)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

25

【청구항 16】

제 15 항에 있어서, 상기 항암제는 안트라사이클린계 항암제인 것을 특징으로 하는 제조방법.

【청구항 17】

제 16 항에 있어서, 상기 안트라사이클린계 항암제는 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 켐시타빈, 미토산트론, 피라루비신 및 발루비신으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제조방법.

5

【청구항 18】

제 15 항에 있어서, 상기 항암제는 이리노테칸인 것을 특징으로 하는 제조방법.

10 【청구항 19】

제 14 항에 있어서, 상기 음이온성 고분자는 글라이코사아미노글라이칸(glycosaminoglycan)류 고분자인 것을 특징으로 하는 제조방법.

15 【청구항 20】

제 19 항에 있어서, 상기 글라이코사아미노글라이칸류 고분자는 콘드로이틴 설페이트(chondroitin sulfate), 더마탄 설페이트(dermatan sulfate), 헤파란 설페이트(heparan sulfate), 헤파린(heparin), 케라탄 설페이트(keratan sulfate) 및 히알루로난(hyaluronan)으로 구성된
20 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제조방법.

【청구항 21】

제 14 항에 있어서, 상기 마이크로 비드는 화학색전술용 마이크로 비드인 것을 특징으로 하는 제조방법.

25

【청구항 22】

제 21 항에 있어서, 상기 화학색전은 간암 화학색전인 것을 특징으로 하는 제조방법.

【청구항 23】

제 14 항에 있어서, 상기 단계 (c)의 가교는 열가교인 것을 특징으로 하는 제조방법.

5 【청구항 24】

제 14 항에 있어서, 상기 단계 (c)의 가교는 알데히드류 가교제에 의한 가교인 것을 특징으로 하는 제조방법.

【청구항 25】

10 제 24 항에 있어서, 상기 알데히드류 가교제는 글루타알데히드, 포름알데히드, 디알데히드전분, 숙신산알데히드, 아크릴알데히드, 옥살알데히드, 2-메틸아크릴알데히드 및 2-옥소프로판알로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제조방법.

15 【청구항 26】

제 1 항에 있어서, 상기 마이크로 비드의 항암제 흡착능력은 마이크로 비드 1 ml당 10-100 mg 인 것을 특징으로 하는 제조방법.

【청구항 27】

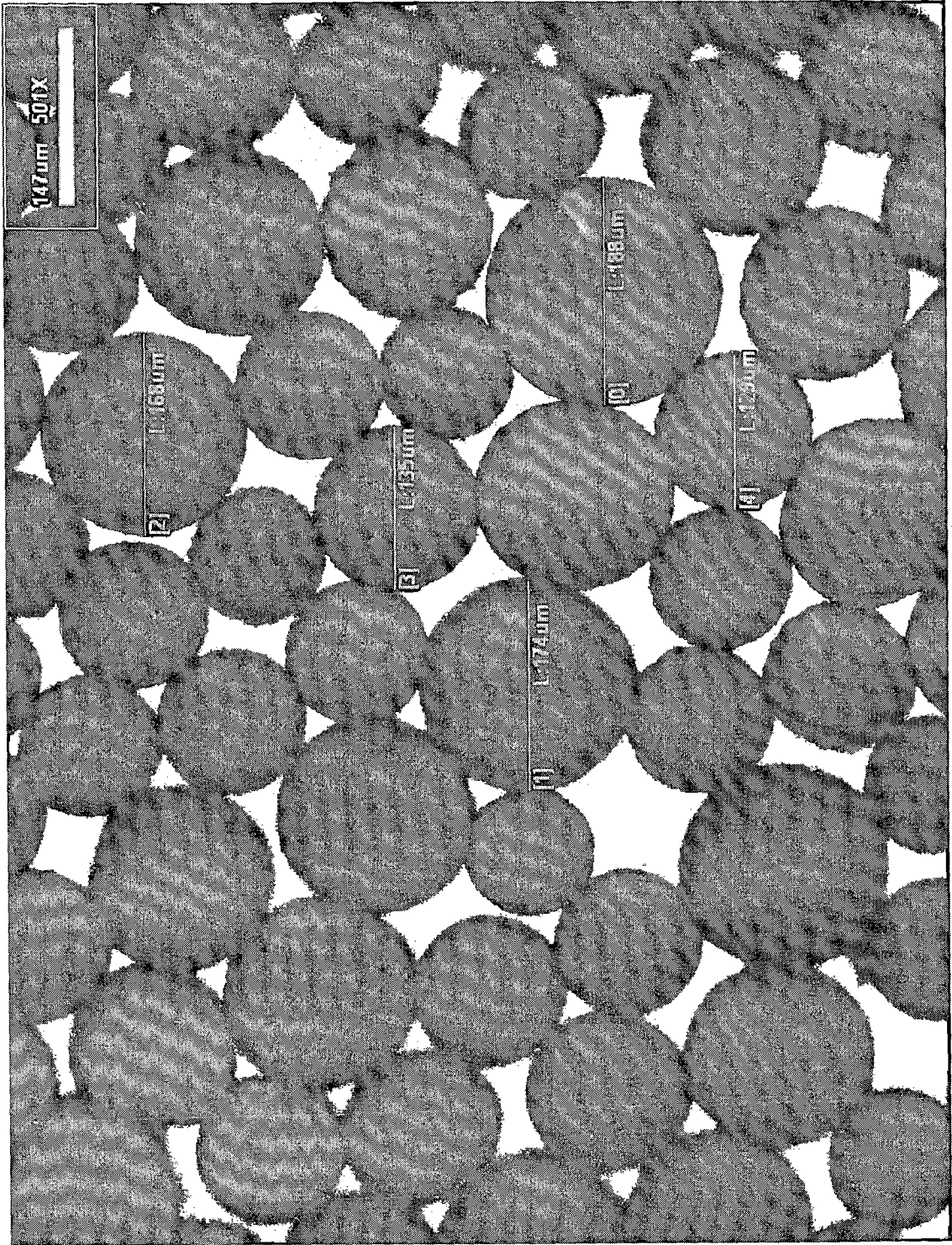
20 알부민과 음이온성 고분자가 아미드 결합된 알부민-음이온성 고분자 컨쥬게이트 및 상기 음이온성 고분자와의 정전기적 인력에 의해서 비드 표면에 흡착된 항암제를 포함하고; 상기 음이온성 고분자는 생체적합성이고, 설포네이트기를 가지며, 아민기 또는 카르복실기를 가지고; 및 상기 알부민은 가교결합 된 것을 특징으로 하는 항암제 흡착능력이 향상된
25 생분해성 마이크로 비드를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 치료방법.

【청구항 28】

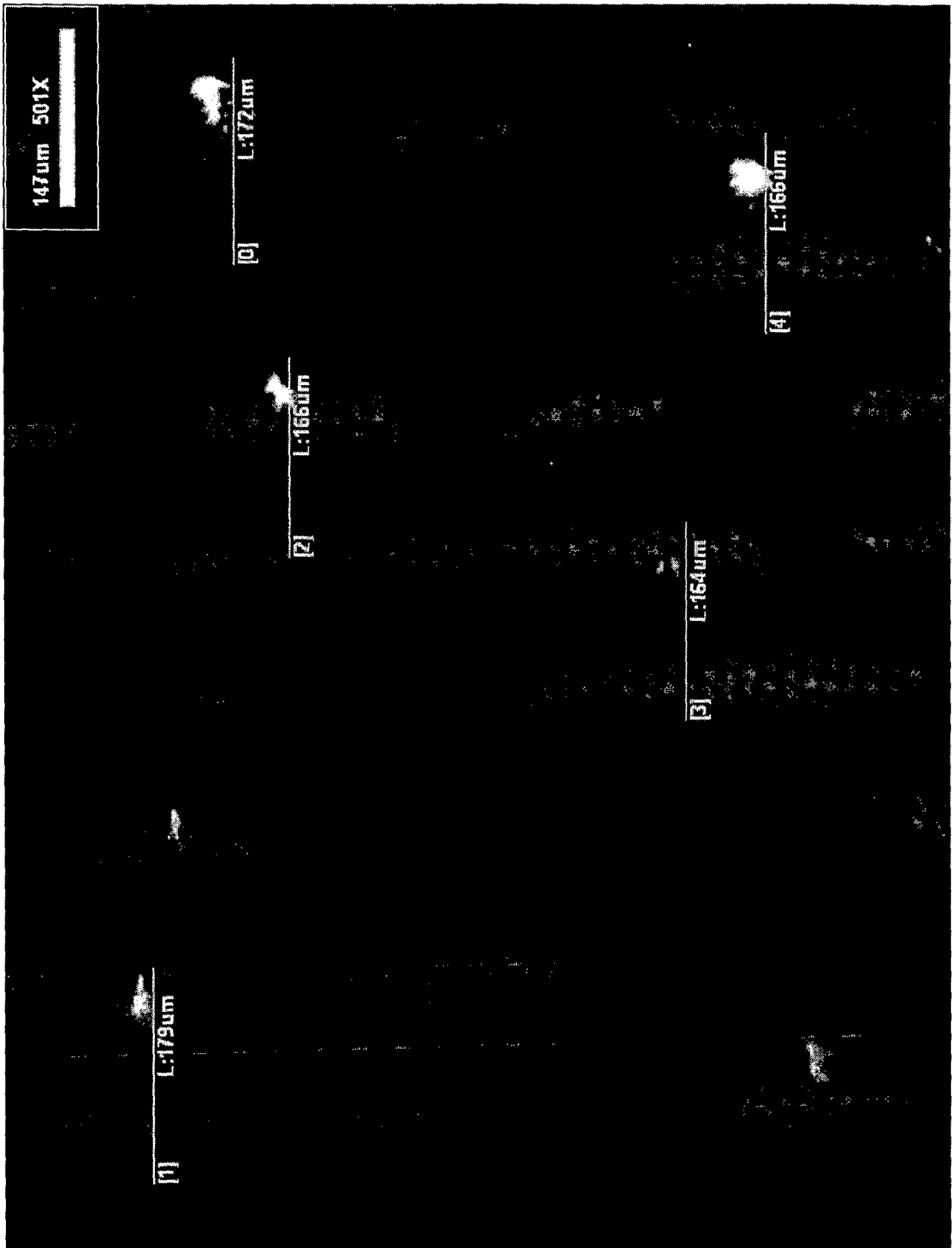
제 27 항에 있어서, 상기 환자는 간암 환자이고, 상기 마이크로 비드는 환자의 간동맥으로 투여되는 것을 특징으로 하는 치료방법.

30

도. 1

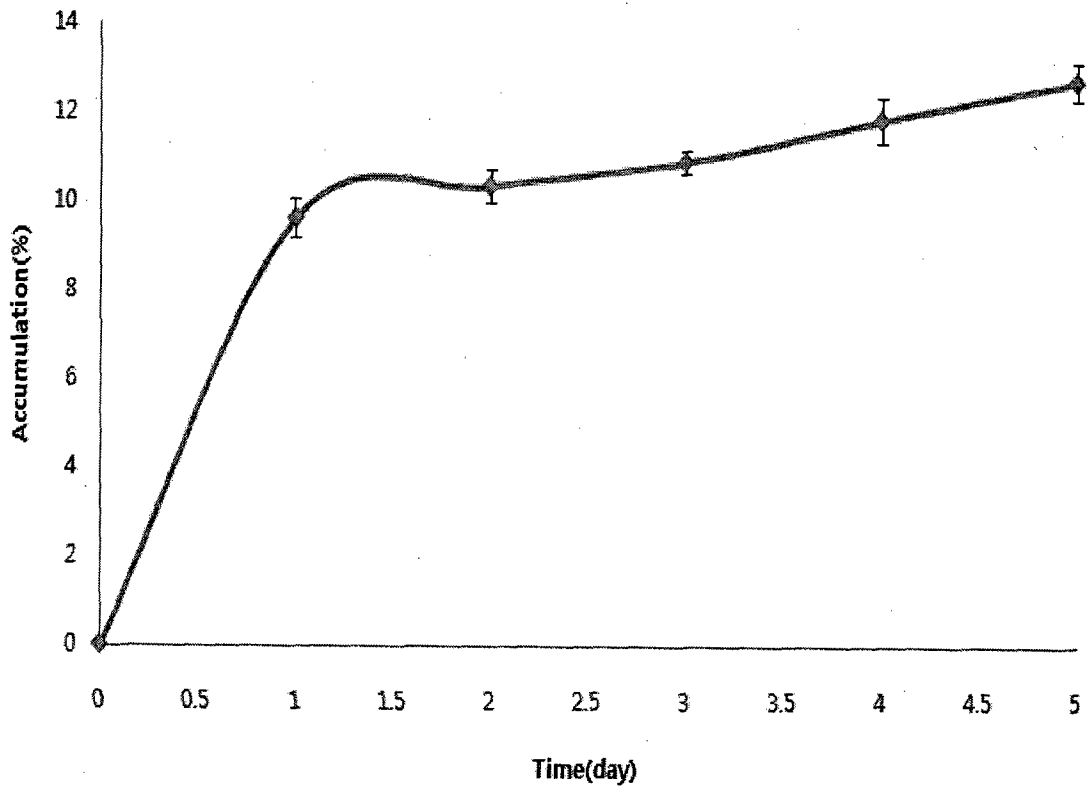


도. 2



3/3

도 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/010420

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/16(2006.01)i, A61K 47/30(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)

A61K 9/16; A61K 49/06; A61K 49/12; A61K 31/722; A61K 47/30; 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), GOOGLE & Keywords: albumin, polymer, bead, conjugate, heparin, glutaraldehyde, transarterial chemoembolization, albumin, bead, anticancer, conjugate, heparin, sulfate, chemoembolization

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	H. F. M. CREMERS et al., "Albumin-heparin microspheres as carriers for cytostatic agents", Journal of Controlled Release, vol. 11 (1990) pp. 167-179. See abstract, right column line 30 on page 168- left column line 14 on page 169, "Synthesis, purification and characterization of soluble conjugates of albumin and heparin" on page 169, "Microsphere preparation" and "Drug loading" on pages 169-171, the results and discussion.	1-13
A		14-26
A	KR 10-0478227 B1 (HAN, Sang Moon et al.) 21 March 2005 See the entire document.	1-26
A	KR 10-1125231 B1 (SNU R&DB FOUNDATION CHUNG-ANG UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMY COOPERATION FOUNDATION) 21 March 2012 See the entire document.	1-26
A	CHANGGUANG WANG et al., "Pingyangmycin loaded bovine serum albumin microspheres for chemoembolization therapy-in vitro and in vivo studies". International Journal of Pharmaceutics, vol. 351 (2008) pp. 219-226. See the entire document.	1-26



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

10 FEBRUARY 2014 (10.02.2014)

Date of mailing of the international search report

10 FEBRUARY 2014 (10.02.2014)

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/KR2013/010420**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **27-28**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 27-28 pertain to a method for treatment of the human by surgery or therapy, or to a diagnostic method, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/010420

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-0478227 B1	21/03/2005	KR 20030012742 A WO 2003-013552 A1	12/02/2003 20/02/2003
KR 10-1125231 B1	21/03/2012	KR 20110035136 A	06/04/2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
A61K 9/16(2006.01)i, A61K 47/30(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A61K 9/16; A61K 49/06; A61K 49/12; A61K 31/722; A61K 47/30; 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), 구글 & 키워드: 알부민, 고분자, 비드, 컨주게이트, 헤파린, 글루타르알데히드, 화학색전, albumin, bead, anticancer, conjugate, heparin, sulfate, chemoembolization

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	H.F.M. CREMERS et al., "Albumin-heparin microspheres as carriers for cytostatic agents", Jorunal of Controlled Release, vol.11 (1990) pp.167-179. 초록, 페이지 168의 오른쪽 컬럼 제30행- 페이지 169의 왼쪽 컬럼 제14행, 페이지 169의 "Synthesis, purification and characterization of soluble conjugates of albumin and heparin", 페이지 169-171의 "Microsphere preparation" 및 "Drug loading", 결과 및 고찰 참조.	1-13
A		14-26
A	KR 10-0478227 B1 (환상문 외 2명) 2005.03.21 전체 문헌 참조	1-26
A	KR 10-1125231 B1 (서울대학교 산학협력단 및 중앙대학교 산학협력단) 2012.03.21 전체 문헌 참조	1-26
A	CHANGGUANG WANG et al., "Pingyangmycin loaded bovine serum albumin microspheres for chemoembolization therapy-in vitro and in vivo studies". International Journal of Pharmaceutics, vol.351 (2008) pp.219-226. 전체 문헌 참조	1-26

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 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌
 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일 2014년 02월 10일 (10.02.2014)	국제조사보고서 발송일 2014년 02월 10일 (10.02.2014)
--------------------------------------------	-------------------------------------------

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140	심사관 한정희 전화번호 +82-42-481-5604
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------

제2기제란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. 청구항: 27-28
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제27-28항은 수술 또는 치료에 의한 사람의 처치방법 또는 진단방법에 관한 것이므로 PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당하는 것으로 인정됩니다.
2. 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기제란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-0478227 B1	2005/03/21	KR 20030012742 A WO 2003-013552 A1	2003/02/12 2003/02/20
KR 10-1125231 B1	2012/03/21	KR 20110035136 A	2011/04/06