(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017 년 4 월 13 일 (13.04.2017)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2017/061673 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 35/12 (2006.01) *A61K 9/16* (2006.01)
A61K 47/30 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2016/001903

(22) 국제출원일: 2016 년 2 월 26 일 (26.02.2016)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2015-0140469 2015 년 10 월 6 일 (06.10.2015) KR

(71) 출원인: **전남대학교 산학협력단 (INDUSTRY FOUNDATION OF CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY)** [KR/KR]; 61186 광주시 북구 용봉로 77, Gwangju (KR).

(72) 발명자: **이창문 (LEE, Chang-Moon)**; 59625 전라남도 여수시 상암로 16, 103-104, Jeollanam-do (KR).

(74) 대리인: **이재량 (LEE, Jea Ryang)**; 506-301 광주시 광산구 하남산단 8 번로 177, Gwangju (KR).

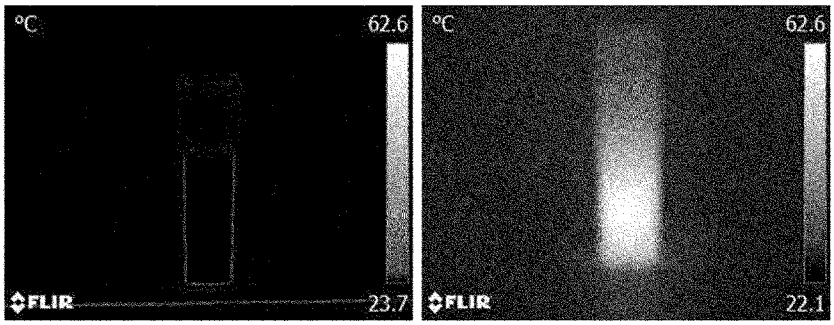
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, 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, ST, 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**: PHOTOTHERMAL THERAPY COMPOSITION USING MELANIN, AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) **발명의 명칭** : 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물과 이의 제조방법



(57) **Abstract**: The present invention relates to a photothermal therapy composition using melanin, and a preparation method therefor and, more specifically, to: a photothermal therapy composition capable of treating diseases by allowing a support, which is mixed with melanin or is coupled thereto, to be injected into a living body such that the same locally remains in focus, and then generating heat by emitting light; and a preparation method therefor. The photothermal therapy composition using melanin, of the present invention, contains: melanin capable of generating heat by light emission; and a support to be mixed with the melanin or to be coupled thereto.

(57) **요약서**: 본 발명은 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물과 이의 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 멜라닌을 혼합하거나 결합시킨 지지체를 생체 내로 주입하여 병소에 국소적으로 머물게 한 후 광을 조사하여 열을 발생시킴으로써 질환을 치료할 수 있는 광열치료용 조성물과 이의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명의 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물은 광조사에 의해 발열이 가능한 멜라닌, 상기 멜라닌과 결합 또는 혼합되는 지지체를 함유한다.

WO 2017/061673 A1

명세서

발명의 명칭: 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물과 이의 제조방법

기술분야

[1] 본 발명은 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물과 이의 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 멜라닌을 생체 내로 주입하여 병소에 국소적으로 머물게 한 후 광을 조사하여 열을 발생시킴으로써 질환을 치료할 수 있는 광열치료용 조성물과 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[2] 대한민국 2013년 통계청 자료에 의하면 인구 10만명 당 남성은 184.5명, 여성은 108.5명이 암으로 사망하고 있다. 암은 초기에 발견하더라도 수술로 절제하는 것이 표준치료법이다. 전체 암 환자 중 수술로 치료할 수 있는 환자의 수는 30% 이하이며, 나머지는 약물요법, 방사선요법, 고주파 온열치료법 등으로 치료를 시행하고 있다.

[3] 하지만, 치료에 따르는 부작용이 심하여 치료하는 동안과 치료 후에 삶의 질이 현저하게 저하된다. 현재 수술 및 약물의 부작용 및 암 치료 이후의 후유증 문제를 해결할 수 있으면서 환자의 생명연장과 삶의 질을 향상시킬 수 있는 새로운 치료법의 대안이 필요하다.

[4] 광열 치료법(photothermal therapy)은 빛을 흡수하여 열을 발생시킬 수 있는 물질(광열물질)을 병소 부위에 전달한 후 빛을 조사하여 열을 발생시킴으로써 암을 치료하는 기술이다. 이러한 광열 치료법은 암 세포가 정상세포에 비해 열에 약하다는 점을 이용하여 암세포만을 선택적으로 사멸시키는 방법이다. 최근에 광열 치료는 현대의학의 암 치료 분야에서 가장 급속하게 연구되고 있고 각광받고 있는 기술이다. 광열 치료에 사용되는 빛으로 근적외선이 이용되고 있으며, 이는 정상세포에 무해한 파장대로 비침습적인 치료가 가능하다.

[5] 하지만, 광열 치료의 가장 큰 문제점은 빛을 흡수하여 열을 발생시키기 위해 생체 내 투여되는 광열물질이 몸 안에 축적되어 몸 밖으로 배출되지 않고 길게는 수개월간 생체 내에 머문다는 점이다. 병소 표적 지향성을 가지도록 개발 중인 나노 신약 중에서 금속 나노입자를 이용한 광열 치료 분야가 주목을 받고 있다. 그러나 세계적으로 아직 연구 개발단계에 있고, 금속 나노입자와 같은 무기물질은 체외 배출이 원활하지 않아 잠재적으로 안전성의 문제점을 가지고 있다.

[6] 따라서, 광열치료를 위해 투여된 물질이 생체 내 축적되어 독성을 유발할 수 있는 문제점을 해결하기 위해서는 생체적합성이 우수하고 생분해성이 있는 광열물질을 개발하는 것이 필요하다. 또한, 높은 발열 효율을 보이는 광열 물질을 이용하여 암을 포함한 다양한 질환 치료에 유용한 기술을 개발하는 것이 필요하다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[7] 본 발명은 종래의 광열 치료에 응용되고 있는 무기 나노입자의 문제점을 극복하기 위해 생체 유래의 멜라닌을 광열 물질로 이용함으로써 독성을 가지지 않으며, 높은 발열 효율을 보이는 광열치료용 조성물을 제공하는 데 그 목적이 있다.

[8] 또한, 본 발명은 생체 적합성이 우수하며 생체 내에서 겔화될 수 있는 지지체에 멜라닌을 결합시켜 체내의 병소 부위에 국소적으로 축적되게 함으로써 빛을 조사하여 암 등의 질환을 비침습적으로 치료할 수 있는 광열치료용 조성물을 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

[9] 상기의 목적을 달성하기 위한 본 발명의 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물은 a)광조사에 의해 발열이 가능한 멜라닌; b)상기 멜라닌과 결합 또는 혼합되는 지지체;를 함유한다.

[10] 상기 멜라닌은 생체 유래 멜라닌이다.

[11] 상기 지지체는 온도변화에 따라 졸-겔 상전이 거동을 나타내는 온도감응성 고분자이다.

[12] 상기 온도감응성 고분자는 폴리에틸렌글리콜-폴리프로필렌옥사이드의 공중합체 또는 폴리에틸렌글리콜-폴리카프로락톤 공중합체이다.

[13] 상기 지지체는 하이드로겔로 형성된 것을 특징으로 한다.

[14] 상기 지지체는 나노입자로 형성된 것을 특징으로 한다.

[15] 상기 지지체에는 약물이 로딩된 것을 특징으로 한다.

[16] 상기 광열치료용 조성물은 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여, 병변내 주입 중에서 선택된 어느 하나의 방법으로 생체조직에 투여된다.

[17] 그리고 상기의 목적을 달성하기 위한 본 발명의 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물의 제조방법은 생체 내로 주입이 가능한 지지체를 용매에 용해시켜 용액을 형성하는 단계와; 광조사에 의해 발열특성을 갖는 멜라닌을 상기 용액에 첨가하여 교반하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[18] 상술한 바와 같이 본 발명은 생체 유래의 멜라닌을 광열 물질로 이용함으로써 생체 내에서 독성을 유발시키지 않고 근적외선 조사에 의해 높은 발열 특성을 가지므로 광열 치료에 유용하게 활용할 수 있다.

[19] 또한, 본 발명은 온도 감응성 고분자와 같은 지지체에 멜라닌을 혼합하거나 결합시킨 형태로 광열물질을 제공한다. 이러한 광열물질을 체내에 투입시 광열물질이 체내에서 겔화되어 병소 부위에 국소적으로 축적되므로 광열 치료에 효과적이다.

[20] 이와 같이 본 발명은 생체 유래 멜라닌과 생체 적합성이 우수한 지지체를

이용하여 난치성 질환 치료에 유용하게 활용이 가능하며, 종래의 광열물질이 갖는 독성유발의 문제점을 해결할 수 있어서 광열 치료의 응용을 확대시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[21] 도 1은 본 발명의 광열치료용 조성물을 플라스틱 용기에 담아 37℃의 온도로 가열하기 전과 가열한 후의 모습을 나타낸 사진이고,

[22] 도 2는 근적외선 레이저의 조사에 의한 본 발명의 광열치료용 조성물의 발열상태를 보여주는 열화상카메라 사진이고,

[23] 도 3 및 도 4는 본 발명의 광열치료용 조성물의 멜라닌 농도에 따른 온도 변화를 나타낸 그래프이고,

[24] 도 5는 본 발명의 광열치료용 조성물을 M21 암 동물 모델에 주사한 후 레이저를 조사하여 얻은 열화상카메라 사진이고,

[25] 도 6은 CT26-luc 암 동물 모델의 각 그룹별 bioluminescence image이고,

[26] 도 7은 CT26-luc 암 동물 모델의 15일 경과 후 각 그룹의 암 조직을 보여주는 마우스 사진이다.

발명의 실시를 위한 형태

[27] 이하, 본 발명의 바람직한 실시 예에 따른 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물과 이의 제조방법에 대하여 구체적으로 설명한다.

[28] 본 발명의 일 실시 예에 다른 광열치료용 조성물은 멜라닌과 지지체를 함유한다.

[29] 멜라닌(melanin)은 페놀화합물의 산화중합에 의하여 생성되는 흑갈색의 색소로서, 동물의 경우 피부 등에 분포하는 멜라노사이트(melanocyte)라고 하는 세포에서 티로시나아제(tyrosinase)에 의한 티로신(tyrosin)의 산화에 의해 생성된다. 이러한 멜라닌은 생체에서 유래된 것이므로 생체적합성이 우수하고, 독성이 없는 장점을 갖는다.

[30] 멜라닌은 식물 및 동물의 생체로부터 추출된 천연의 멜라닌 또는 인공적으로 합성된 멜라닌을 이용할 수 있다. 또한 멜라닌으로 상업화된 제품을 구입하여 이용할 수 있음은 물론이다.

[31] 멜라닌은 빛이 조사되면 발열하는 특성을 갖는다. 특히, 멜라닌은 808nm의 근적외선 파장의 빛을 흡수하여 발열한다. 이러한 멜라닌은 근적외선 조사에 의해 약 63℃까지 온도가 올라가므로 발열특성이 매우 우수한 생체 적합성 유기물질이다.

[32] 멜라닌은 지지체에 혼합 또는 결합된다.

[33] 본 발명에 적용가능한 지지체의 일 예는 생체적합성을 갖는 고분자 물질이다. 바람직한 고분자 물질로 온도변화에 따라 졸-겔 상전이 거동을 나타내는 온도감응성 고분자이다. 이러한 온도 감응성 고분자 물질은 용매에 용해시킨 용액의 형태로 이용할 수 있다.

[34] 온도 감응성 고분자가 용해된 용액은 낮은 온도에서는 액상의 졸(sol)을 유지하나 온도 상승에 따라 겔(gel)로 상전이한다. 이러한 졸-겔 거동은 가역적으로 이루어질 수 있다. 온도 감응성 고분자는 치료용 약물과 혼합이 용이하고 외과적 수술의 필요 없이 간편하게 필요한 부위에 주입하면 체온에 의해 겔을 형성한다.

[35] 이러한 온도감응성 고분자는 생체 내로 주입되어 35 내지 37℃에서 겔을 형성함으로써 멜라닌을 병소 부위에 국소적으로 머물게 하는 역할을 한다.

[36] 온도감응성 고분자로 폴리에틸렌글리콜-폴리프로필렌글리콜(Poly(ethylene glycol)/Poly(propylene glycol))의 공중합체 또는 폴리에틸렌글리콜-폴리카프로락톤(Poly(ethylene glycol)/(Polycaprolactone) 공중합체를 이용할 수 있다. 특히, 폴리에틸렌글리콜-폴리프로필렌글리콜의 공중합체로 플루로닉(Pluronic)이나 폴록사머(Poloxamer)라는 상품명으로 상업화된 제품을 이용할 수 있다.

[37] 이 외에도 인간의 생체 온도에서 겔을 형성할 수 있는 생체적합성 고분자라면 크게 제한이 없다. 가령,
폴리에틸렌글리콜-폴리에스터공중합체(poly(ethyleneglycol)/polyester),
키토산-글리세롤포스페이트(Chitosan/glycerol phosphate),
폴리포스파젠(Polyphosphazene), 폴리카프로락톤(Polycaprolactone),
폴리카르보네이트(Polycarbonate), 폴리시아노아크릴레이트(Polycyanoacrylate),
폴리오르소에스터(Polyorthoester),
폴리하이드록시에틸메타크릴아미드락테이트(Poly(N-(2-hydroxyethyl)methacrylamide-lactate)), 폴리프로필렌포스페이트(Poly(propylenephosphate)),
폴리펩티드(Polypeptides),
폴리에틸렌글리콜-(폴리락틱-글리콜산)-폴리에틸렌글리콜 3중 중합체,
(폴리락틱-글리콜산)-폴리에틸렌글리콜-(폴리락틱-글리콜산) 3중 중합체,
폴리에틸렌글리콜-폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜 3중 중합체,
폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜-폴리카프로락톤 3중 중합체로부터 선택된 어느 하나를 이용할 수 있다.

[38] 본 발명의 광열치료용 조성물은 멜라닌이 지지체에 물리적으로 혼합되거나, 멜라닌이 지지체에 화학적으로 결합된 형태일 수 있다. 가령, 고분자 물질로 이루어진 지지체의 3차원 망상 구조 내로 멜라닌이 포집되거나, 고분자 물질로 이루어진 지지체의 관능기에 멜라닌이 결합될 수 있다. 또한, 고분자 물질로 이루어진 지지체와 멜라닌 사이에 아마이드 결합(amide bond)을 만들어 결합시킬 수 있다.

[39] 본 발명의 광열치료용 조성물은 나노입자화된 고분자 물질로 이루어진 지지체에 멜라닌이 로딩된 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어 고분자 물질을 나노크기로 형성한 캡슐을 지지체로 이용하고, 멜라닌은 캡슐의 내부에 봉입되거나 캡슐의 외부에 결합될 수 있다. 가령, 상술한 온도감응성 고분자

물질이 용해된 용액에 멜라닌을 첨가하여 교반한 후 통상적인 나노캡슐화 방법에 의해 용액을 캡슐화시킬 수 있다.

[40] 또한, 본 발명의 광열치료용 조성물은 하이드로겔 형태의 지지체에 멜라닌을 결합시킨 형태로 제공할 수 있다. 하이드로겔(hydrogel)은 물을 분산 매체로 하는 삼차원 친수성 고분자 망상 구조를 가진 물질로서 다량의 멜라닌을 결합시킬 수 있고, 천연 조직과 같은 유연성을 가진다. 또한, 하이드로겔은 그에 함유된 물질의 전달을 제어할 수 있는 지능형 방출특성(Controlled Release) 등과 같은 기능이 추가될 수 있는 장점이 있다.

[41] 상술한 하이드로겔은 고분자 용액에 멜라닌을 첨가하여 형성시킬 수 있다. 고분자 용액으로 폴리비닐알콜(poly(vinyl alcohol)), 키토산, 알긴산 등이 녹아 있는 용액을 이용할 수 있다. 가령, 멜라닌이 첨가된 키토산 용액을 음이온성 용액에 가하여 하이드로겔을 제조할 수 있다. 또한, 멜라닌이 첨가된 멜라닌 용액을 칼슘과 같은 양이온성 이온이 함유된 용액에 가하여 하이드로겔을 제조할 수 있다.

[42] 본 발명의 광열치료용 조성물은 약물을 더 함유할 수 있다. 이 경우 약물은 지지체에 로딩될 수 있다. 약물은 인간을 포함한 동물에서 질병 또는 증상을 저해, 억제, 경감, 완화, 지연, 예방 또는 치료할 수 있는 물질로서, 대표적인 예로 항암제를 들 수 있다.

[43] 항암제로 파클리탁셀(paclitaxel), 독소루비신(doxorubicin), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 시스플라틴(cisplatin), 카보플라틴(carboplatin), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 테가푸르(tegafur), 이리노테칸(irinotecan), 도세탁셀(docetaxel), 사이클로포스파미드(cyclophosphamide), 셈시타빈(cemcitabine), 이포스파미드(ifosfamide), 미토마이신 C(mitomycin C), 빈크리스틴(vincristine), 에토포사이드(etoposide), 메토트렉세이트(methotrexate), 토포테칸(topotecan), 타모시펜(tamoxifen), 비노렐빈(vinorelbine), 캄토테신(camptothecin), 다누오루비신(danuorubicin), 클로람부실(chlorambucil), 브리오스타틴-1(bryostatin-1), 칼리케아미신(calicheamicin), 마이아탄신(mayatansine), 레바이솔(levamisole), DNA 재조합 인터페론 알파-2a(DNA recombinant interferon alfa-2a), 미토산트론(mitoxantrone), 니무스틴(nimustine), 인터페론 알파-2a(interferon alfa-2a), 독시플루리딘(doxifluridine), 포메스테인(formestane), 류프롤라이드 아세테이트(leuprolide acetate), 메게스트롤 아세테이트(megestrol acetate), 카모포르(carmofur), 테니포사이드(teniposide), 블레오마이신(bleomycin), 카무스틴(carmustine), 헵타플라틴(heptaplatin), 엑세메스탄(exemestane), 아나스트로졸(anastrozole), 에스트라무스틴(estramustine), 카페시타빈(capecitabine), 고세렐린 아세테이트(goserelin acetate), 폴리사카라이드 칼륨(polysaccharide potassuim), 메드록시포게스테론 아세테이트(medroxypogesterone acetate), 에피루비신(epirubicin),

레트로졸(letrozole), 피라루비신(pirarubicin), 토포테칸(topotecan), 알트레타민(altretamine), 토레미펜 시트레이트(toremifene citrate), BCNU, 탁소텔(taxotere), 악티노마이신 D(actinomycin D) 및 이들의 합성 아날로그 및 변형되거나 동일한 약효를 나타내는 물질로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나 이상일 수 있으나, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[44] 약물의 함량은 본 발명의 광열치료용 조성물 총 중량에서 0.01 내지 60중량%일 수 있다.

[45] 또한, 본 발명의 광열치료용 조성물은 약학적으로 허용가능한 적절한 담체, 부형제, 희석제 등을 더 포함할 수 있다.

[46] 본 발명의 광열치료용 조성물은 비경구 방식으로 인간을 포함하는 포유동물의 생체조직에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 가령, 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여, 병변내 주입 중에서 선택된 어느 하나의 방법으로 투여될 수 있다.

[47] 본 발명의 광열치료용 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 일 예로, 광열치료용 조성물의 1일 투여량은 0.0001 내지 1000㎎/㎏일 수 있다.

[48] 본 발명의 광열치료용 조성물을 생체에 주입한 후 빛을 조사하여 멜라닌을 발열시킴으로써 종양과 관련된 다양한 질병, 예를 들어 위암, 폐암, 유방암, 난소암, 간암, 기관지암, 비인두암, 후두암, 췌장암, 방광암, 결장암, 또는 자궁경부암 등을 치료하는데 이용할 수 있다. 또한, 본 발명의 광열치료용 조성물은 종양 치료를 위한 키트에 포함될 수 있다. 또한, 본 발명의 광열치료용 조성물은 암 외에도 관절염을 포함한 다양한 염증을 치료하는 데 이용될 수 있다.

[49] 본 발명의 광열치료용 조성물을 이용하여 광열치료를 하기 위해 인간 또는 인간을 제외한 포유동물의 체내에 본 발명의 광열치료용 조성물을 투입한 후 생체 외부에서 광을 조사한다. 조사할 수 있는 광으로 근적외선 광을 이용한다. 가령, 700 내지 1000nm 파장의 근적외선 레이저를 조사한다. 광 조사는 바람직하게는 1mW/cm^2 내지 100 W/cm^2 세기로 1 내지 30분간 실시할 수 있다.

[50] 광 조사를 통해 멜라닌은 70℃까지 온도가 올라가 주위에 열을 발생시켜 암 세포를 사멸 또는 괴사시킬 수 있다.

[51] 이와 같이 본 발명의 광열치료용 조성물은 암 등의 질병 치료에 효과적으로 이용될 수 있다.

[52] 본 발명의 광열치료용 조성물의 제조방법은 일 예로 생체 내로 주입이 가능한 지지체를 용매에 용해시켜 용액을 형성하는 단계와, 광조사에 의해 발열특성을 갖는 멜라닌을 용액에 첨가하여 교반하는 단계를 포함한다.

[53] 먼저, 지지체를 물 등과 같은 용매에 용해시켜 용액을 만든다. 온도감응성

고분자를 지지체로 사용하는 경우 용액 중의 고분자 농도는 10 내지 40%(w/v)일 수 있다. 온도감응성 고분자의 물질 종류에 따라 졸-겔 상전이가 가능하도록 상기 범위 내에서 적절하게 조절할 수 있다.

[54] 용액을 준비한 후 멜라닌을 용액에 첨가한 후 10 내지 40시간 정도 교반함으로써 광열치료용 조성물을 제조할 수 있다. 멜라닌의 첨가량은 용액 1ml당 0.01 내지 10mg일 수 있다.

[55] 이하, 본 발명에 따르는 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[56] (실시예)

[57] 지지체로 사용될 온도감응성 고분자 물질로서 폴리에틸렌글리콜-폴리프로필렌글리콜의 공중합체인 폴록사머(Poloxamer, Sigma-aldrich Co., USA)를 준비하였다. 그리고 멜라닌(Melanin)은 시그마-알드리치(Sigma-aldrich Co., USA)의 제품을 이용하였다.

[58] 폴록사머를 증류수에 용해하여 농도 20%(w/v)의 폴록사머 용액 2ml를 만들었다. 그리고 플록사머 용액에 멜라닌 1mg을 첨가한 다음 교반기를 이용하여 400rpm으로 12시간 정도 교반하여 졸(sol) 형태의 광열치료용 조성물을 제조하였다.

[59] <실험예>

[60] 1. 졸-겔 상전이 거동

[61] 실시 예의 광열치료용 조성물을 투명 플라스틱 용기에 담은 후 37℃로 가열하여 광열치료용 조성물의 sol-gel 상전이 거동을 관찰하였다.

[62] 광열치료용 조성물의 가열 전의 모습과 가열 후의 모습을 촬영하여 도 1에 나타내었다.

[63] 도 1을 참조하면, 상온(25℃)에서 졸(sol) 상태로 존재하던 광열치료용 조성물은 플라스틱 용기를 거꾸로 뒤집으면 아래로 이동하여 뚜껑 쪽으로 모이는 것을 관찰할 수 있었다. 반면에 광열치료용 조성물에 열을 가해 37℃로 온도를 상승시킨 상태에서 플라스틱 용기를 뒤집은 경우에는 광열치료용 조성물이 흘러내리지 않고 용기의 바닥에 그대로 머무르는 것으로 확인되었다. 이는 졸(sol) 상태로 생체 내로 주입된 광열치료용 조성물은 체온에 의해 겔(gel) 상태로 상전이가 일어나 생체 내에서 머물수 있음을 뒷받침하는 결과이다.

[64] 2. 광 조사에 의한 발열 특성

[65] 광열치료용 조성물에 빛을 조사한 후 광열치료용 조성물의 온도를 측정하여 광열치료용 조성물의 발열 특성을 관찰하였다.

[66] 실시 예의 광열치료용 조성물 2ml를 플라스틱 용기에 담은 후 상온(25℃)에서 열화상카메라(C2, FLIR, USA)로 촬영한 모습과, 808nm 근적외선 레이저를 2W/cm^{2}의 세기로 7분간 조사한 후 열화상카메라로 촬영한 모습을 도 2에 나타내었다.

[67] 도 2를 참조하면, 열화상카메라 촬열을 통해 레이저 조사 후 광열치료용

조성물의 온도는 62.6℃까지 상승하는 것으로 측정되었다. 이는 본 발명의 광열치료용 조성물이 광열치료용 제제로 유용하게 활용될 수 있음을 보여주는 결과이다.

[68] 3. 멜라닌 농도에 따른 발열 특성

[69] 실시 예와 같이 광열치료용 조성물을 제조하되 플록사머 용액에 첨가하는 멜라닌의 양을 달리하여 멜라닌의 농도가 다른 6종류의 광열치료용 조성물을 준비하였다. 즉, 플록사머 용액에 멜라닌을 0.167, 0.233, 0.267, 0.300, 0.333, 0.500mg/mL로 첨가하여 광열치료용 조성물을 제조하였다.

[70] 각 광열치료용 조성물 2ml에 808nm 근적외선 레이저를 2W/cm^2의 세기로 조사하면서 조사시간에 따른 온도변화를 관찰하여 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

[71] 도 3 및 도 4를 참조하면, 멜라닌의 농도가 증가함에 따라 발열 온도가 높아지는 것을 알 수 있었다.

[72] 4. 생체 내 발열 연구

[73] M21 세포(American Type Culture Collection, ATCC)는 10% fetal bovine serum과 2mM L-glutamine을 포함한 RPMI 1640 medium를 이용하여 5% CO_2, 37℃에서 배양하였고, 2×10^6cells을 포함한 matrigel 0.2mL을 누드마우스(4주령, female, Orient Bio Inc., Korea)의 뒷다리 근육에 주사하여 암 모델을 제조하였다. 암 조직이 1.1cm×1.2cm로 성장하였을 때, 케타민과 자일라진의 혼합액 0.05mL를 마우스에 복강 주사하여 마취하고, 상기 3번 실험예에서 사용한 멜라닌 0.333gm/mL의 광열치료용 조성물 0.2mL를 암 조직에 직접 주사하였다.

[74] 808nm 근적외선 레이저를 2W/cm^2 세기로 암 병변 부위로부터 3cm 떨어진 곳에서 암 조직에 7분간 조사한 후 열화상카메라(C2, FLIR, USA)로 촬영하여 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[75] 도 5를 참조하면, 레이저 조사 전에는 암 병변 부위의 온도 변화가 전혀 관찰되지 않았다. 하지만, 레이저 조사 후에는 암 병변 부위의 온도가 50.4℃까지 증가하였다. 이는 본 발명의 광열치료용 조성물이 레이저 조사에 의해 생체 내 조직에서 질환 치료에 충분한 열을 발생시킬 수 있음을 나타내는 결과이다.

[76] 5. 생체 내 암 치료 연구

[77] 암세포로 firefly luciferase를 발현하도록 유전적으로 변형된 CT26-luc 세포를 사용하였고, 10% fetal bovine serum과 2mM L-glutamine을 포함한 RPMI 1640 medium를 이용하여 5% CO_2, 37℃에서 배양하였고, 5×10^5cells를 포함한 matrigel 0.2mL을 마우스(4 주령, female, Orient Bio Inc., Korea)의 앞다리 근육에 주사하여 암 모델을 제조하고 다음과 같이 세 그룹으로 나누었다.

[78] A. 아무것도 처리하지 않은 그룹(control 그룹)

[79] B. 광열치료용 조성물을 암 병변 부위에 주사하고 레이저를 조사하지 않은 그룹(멜라닌 그룹)

[80] C. 광열치료용 조성물을 암 병변 부위에 주사하고 레이저를 조사한

그룹(멜라닌+레이저 그룹)

[81] 암 조직이 0.3cm X 0.4cm로 성장하였을 때, 마우스를 이소플로란으로 흡입 마취하고, 상기 3번 실험예에서 사용한 멜라닌 0.333mg/mL의 농도로 제조된 광열치료용 조성물 0.05mL를 암 조직에 직접 주사하였다. 808nm 근적외선 레이저를 2W/cm^{2}세기로 암 병변 부위로부터 3cm 떨어진 곳에서 암 조직에 7분간 조사한 후 암 치료효과를 평가하였다.

[82] 치료 후에 luciferin(Caliper Life Sciences, MA, USA)을 150mg/kg의 농도로 0.1mL을 정맥주사하고 IVIS in vivo animal optical imaging system(Caliper Life Sciences, IVIS spectrum, MA, USA)을 이용하여 exposure time 5 sec, F/stop-2의 조건으로 bioluminescence imaging을 시행하고 암의 크기를 관찰하였다.

[83] 도 6을 참조하면, A그룹 및 B그룹의 마우스 암조직에서는 bioluminescence signal이 잘 관찰되었다. 반면에 광열치료용 조성물을 주사하고 레이저를 조사한 C그룹의 마우스 암 조직에서만 bioluminescence signal이 관찰되지 않았다. 이는 광열치료용 조성물을 주사하고 레이저를 조사한 마우스의 암세포가 사멸했다는 결과를 보여주는 것이다.

[84] 도 7은 암 모델 제조 후 15일 경과시 각 그룹의 암 조직을 보여주는 마우스 사진이다. 도 7의 실물사진에서 볼 수 있듯이 A그룹과 B그룹의 암 조직은 성장한 반면, 광열치료용 조성물을 주사하고 레이저를 조사한 C그룹의 암 조직은 성장하지 않고 괴사된 것을 볼 수 있다. 이는 본 발명의 광열치료용 조성물이 생체 내 암 조직에서 레이저 조사에 의해 열을 발생시켜 암을 치료할 수 있다는 것을 보여준 것이다.

[85] 이상, 본 발명은 일 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 본 기술 분야의 통상의 지식을 가진 사람이라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 타 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서, 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 등록 청구 범위의 기술적 사상에 의해 정해져야 할 것이다.

청구범위

[청구항 1] a)광조사에 의해 발열이 가능한 멜라닌;
b)상기 멜라닌과 결합 또는 혼합되는 지지체;를 함유하는 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

[청구항 2] 제 1항에 있어서, 상기 멜라닌은 생체 유래 멜라닌인 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

[청구항 3] 제 1항에 있어서, 상기 지지체는 온도변화에 따라 졸-겔 상전이 거동을 나타내는 온도감응성 고분자인 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

[청구항 4] 제 3항에 있어서, 상기 온도감응성 고분자는
폴리에틸렌글리콜-폴리프로필렌옥사이드의 공중합체 또는
폴리에틸렌글리콜-폴리카프로락톤 공중합체인 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

[청구항 5] 제 1항에 있어서, 상기 지지체는 하이드로겔로 형성된 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

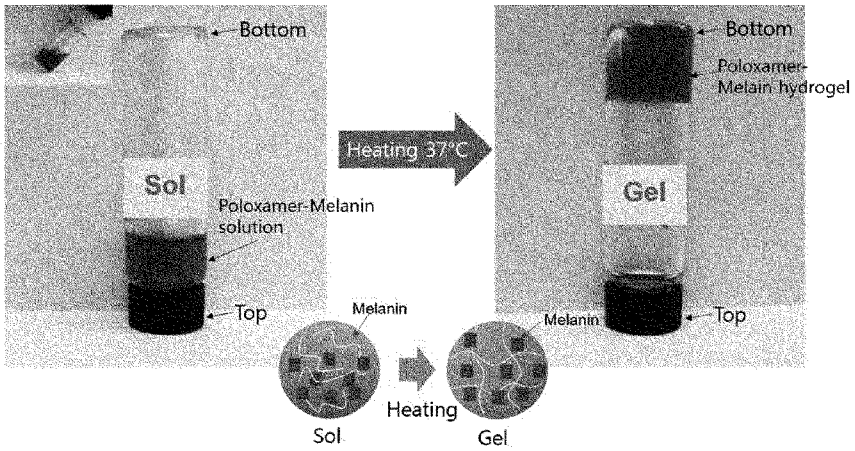
[청구항 6] 제 1항에 있어서, 상기 지지체는 나노입자로 형성된 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

[청구항 7] 제 1항에 있어서, 상기 지지체에는 약물이 로딩된 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

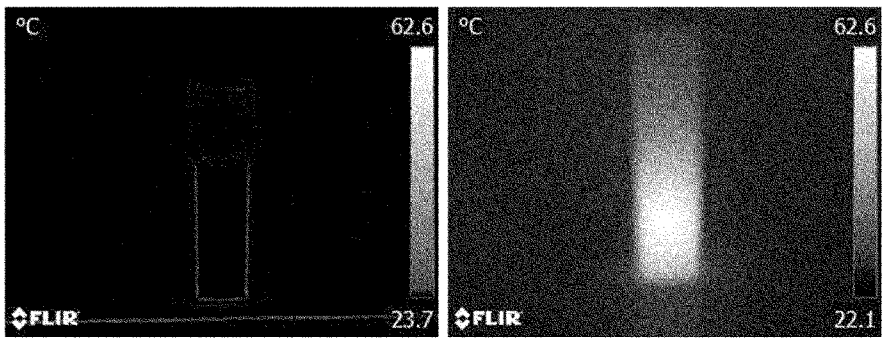
[청구항 8] 제 1항에 있어서, 상기 광열치료용 조성물은 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여, 병변내 주입 중에서 선택된 어느 하나의 방법으로 생체조직에 투여되는 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물.

[청구항 9] 생체 내로 주입이 가능한 지지체를 용매에 용해시켜 용액을 형성하는 단계와;
광조사에 의해 발열특성을 갖는 멜라닌을 상기 용액에 첨가하여 교반하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 멜라닌을 이용한 광열치료용 조성물의 제조방법.

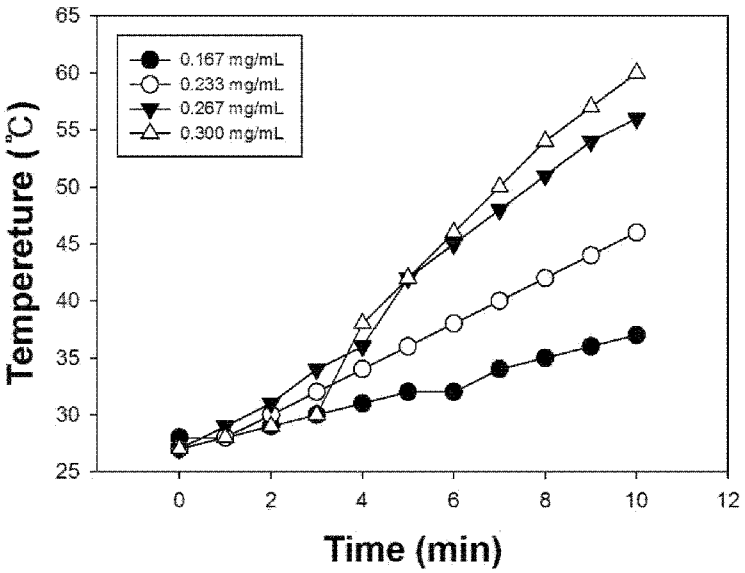
[도1]


Bottom
Sol
Poloxamer-Melanin solution
Top
Heating 37°C
Bottom
Poloxamer-Melain hydrogel
Gel
Melanin
Top
Melanin
Heating
Sol
Gel

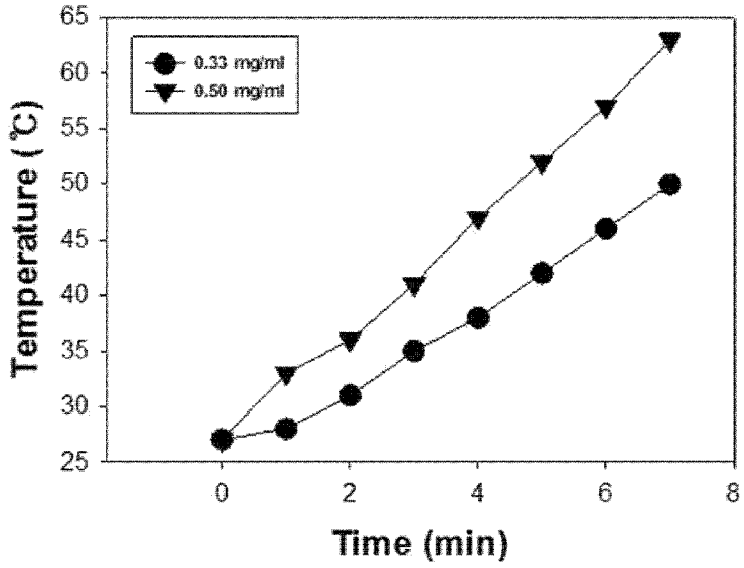
[도2]


°C
62.6
FLIR
23.7
°C
62.6
FLIR
22.1

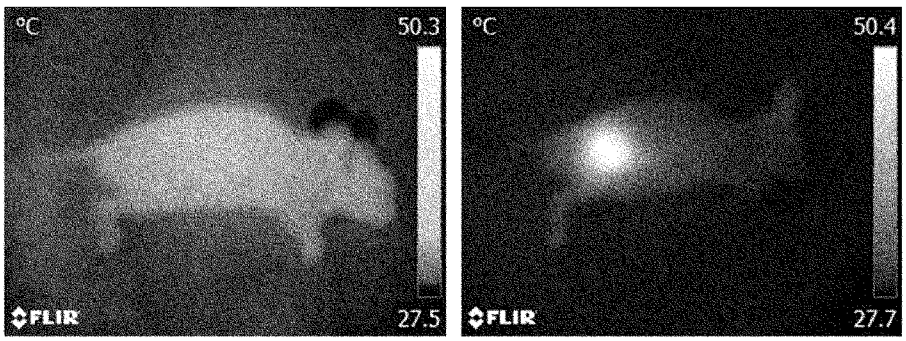
[도3]


0.167 mg/mL
0.233 mg/mL
0.267 mg/mL
0.300 mg/mL
Tempereture (℃)
Time (min)
65
60
55
50
45
40
35
30
25
0
2
4
6
8
10
12

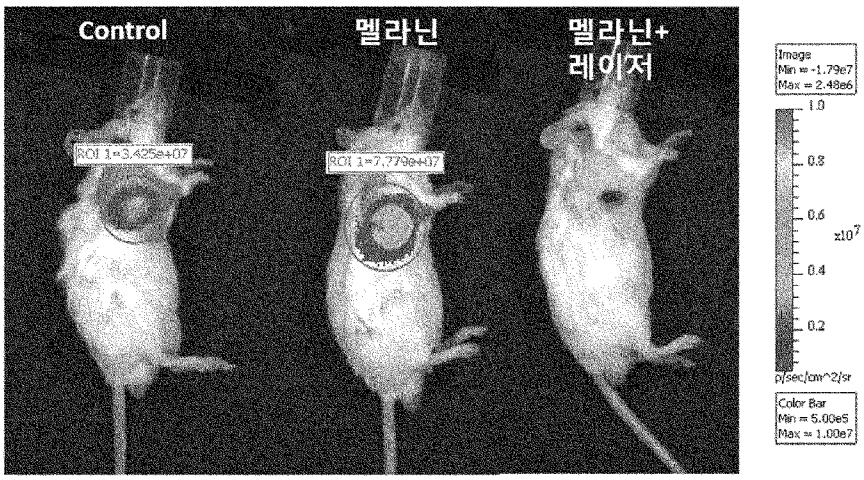
[도4]


0.33 mg/ml
0.50 mg/ml
Temperature (℃)
Time (min)
65
60
55
50
45
40
35
30
25
0
2
4
6
8

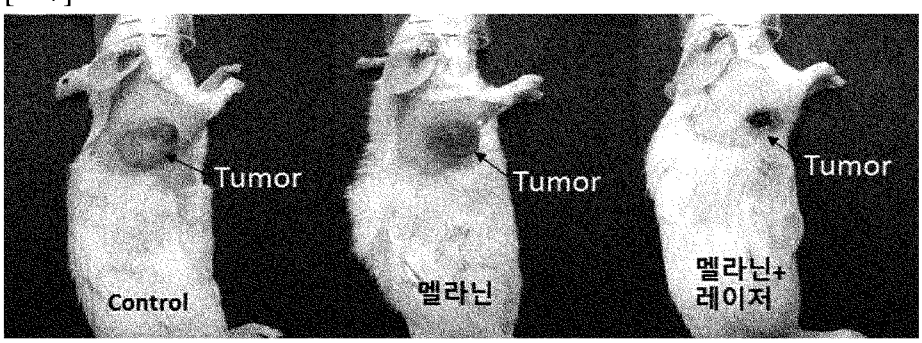
[도5]


°C
50.3
27.5
FLIR
°C
50.4
27.7
FLIR

[도6]


Control
멜라닌
멜라닌+
레이저
ROI 1=3.425e+07
ROI 1=7.779e+07
Image
Min = -1.79e7
Max = 2.48e6
1.0
0.8
0.6
x10^7
0.4
0.2
p/sec/cm^2/sr
Color Bar
Min = 5.00e5
Max = 1.00e7

[도7]


Tumor
Tumor
Tumor
Control
멜라닌
멜라닌+
레이저

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2016/001903

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/12(2006.01)i, A61K 47/30(2006.01)i, A61K 9/06(2006.01)i, A61K 9/16(2006.01)i, A61K 9/00(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 35/12; A61K 49/12; A61K 38/00; A61K 9/51; A61K 9/16; A61K 47/48; A61K 47/30; A61K 9/06; A61K 9/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: melanin, photothermal therapy, UV irradiation, support, thermo-sensitive polymer, hydrogel

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NINH, Chi et al., "Photoresponsive Hydrogel Networks Using Melanin Nanoparticle Photothermal Sensitizers", Biomaterials Science, 2014, vol. 2, pages 766-774 See pages 767, 772; and figure 1.	1-9
A	KR 10-2011-0038215 A (NATIONAL CANCER CENTER) 14 April 2011 See claims 1-13.	1-9
A	KR 10-2013-0087121 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) 06 August 2013 See claims 1-13.	1-9
A	KR 10-2008-0095182 A (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 28 October 2008 See claims 1-4.	1-9
A	KR 10-2013-0030229 A (THE CATHOLIC UNIVERSITY OF KOREA INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 26 March 2013 See claims 1-10.	1-9

☐ 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	Date of mailing of the international search report
21 SEPTEMBER 2016 (21.09.2016)	**22 SEPTEMBER 2016 (22.09.2016)**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2016/001903

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2011-0038215 A	14/04/2011	KR 10-1116570 B1	14/02/2012
KR 10-2013-0087121 A	06/08/2013	KR 10-1349360 B1	16/01/2014
KR 10-2008-0095182 A	28/10/2008	EP 2150278 A1	10/02/2010
		EP 2150278 A4	27/08/2014
		KR 10-1035269 B1	26/05/2011
		US 2010-0222538 A1	02/09/2010
		US 8614285 B2	24/12/2013
		WO 2008-130181 A1	30/10/2008
KR 10-2013-0030229 A	26/03/2013	KR 10-1419124 B1	11/07/2014

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2016/001903

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 35/12(2006.01)i, A61K 47/30(2006.01)i, A61K 9/06(2006.01)i, A61K 9/16(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 35/12; A61K 49/12; A61K 38/00; A61K 9/51; A61K 9/16; A61K 47/48; A61K 47/30; A61K 9/06; A61K 9/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 멜라닌, 광열치료, 광조사, 지지체, 온도감응성 고분자, 하이드로겔

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	NINH, CHI 등, `Photoresponsive hydrogel networks using melanin nanoparticle photothermal sensitizers', Biomaterials Science, 2014, 2권, 페이지 766-774 페이지 767, 772; 및 도면 1 참조.	1-9
A	KR 10-2011-0038215 A (국립암센터) 2011.04.14 청구항 1-13 참조.	1-9
A	KR 10-2013-0087121 A (연세대학교 산학협력단) 2013.08.06 청구항 1-13 참조.	1-9
A	KR 10-2008-0095182 A (한국과학기술연구원) 2008.10.28 청구항 1-4 참조.	1-9
A	KR 10-2013-0030229 A (가톨릭대학교 산학협력단) 2013.03.26 청구항 1-10 참조.	1-9

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2016년 09월 21일 (21.09.2016)	2016년 09월 22일 (22.09.2016)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
이기철
전화번호 +82-42-481-3353

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2016/001903

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2011-0038215 A	2011/04/14	KR 10-1116570 B1	2012/02/14
KR 10-2013-0087121 A	2013/08/06	KR 10-1349360 B1	2014/01/16
KR 10-2008-0095182 A	2008/10/28	EP 2150278 A1	2010/02/10
		EP 2150278 A4	2014/08/27
		KR 10-1035269 B1	2011/05/26
		US 2010-0222538 A1	2010/09/02
		US 8614285 B2	2013/12/24
		WO 2008-130181 A1	2008/10/30
KR 10-2013-0030229 A	2013/03/26	KR 10-1419124 B1	2014/07/11