

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2022 년 8 월 18 일 (18.08.2022) WIPO | PCT



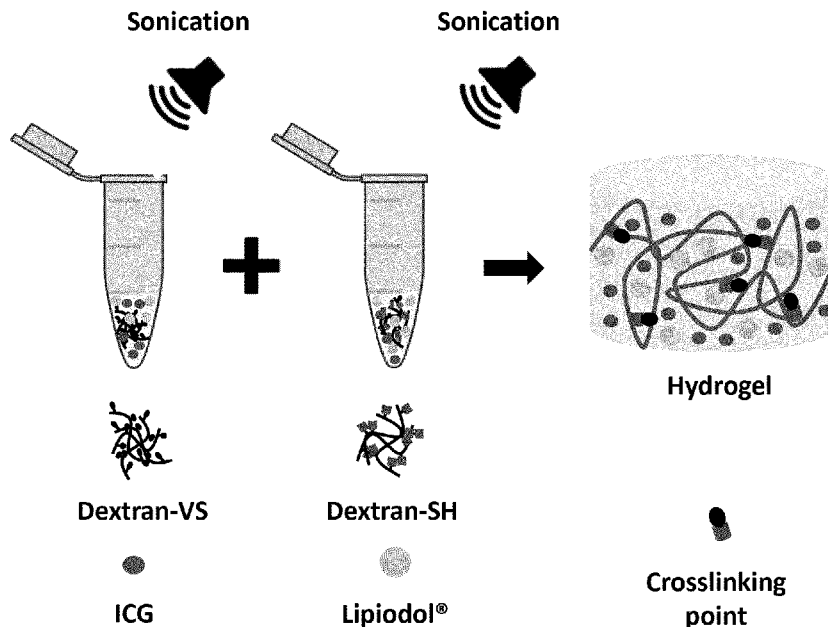
(10) 국제공개번호
WO 2022/173282 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 49/00 (2006.01) A61K 47/36 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2022/095025
- (22) 국제출원일: 2022 년 2 월 9 일 (09.02.2022)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2021-0018457 2021 년 2 월 9 일 (09.02.2021) KR
10-2022-0016515 2022 년 2 월 8 일 (08.02.2022) KR
- (71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 02841 서울특별시 성북구 안암로 145, Seoul (KR). 한국과학기술원 (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [KR/KR]; 34141 대전광역시 유성구 대학로 291, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 김현구 (KIM, Hyun Koo); 06579 서울특별시 서초구 반포대로39길 63-8, A동 402호, Seoul (KR). 채위

- 화 (QUAN, Yuhua); 08308 서울특별시 구로구 구로동로 148, 신관6층 6277호 흉부외과 의국, Seoul (KR). 노지윤 (RHO, Ji Yun); 08096 서울특별시 양천구 목동동로 100, 1329동 701호, Seoul (KR). 최병현 (CHOI, Byeong Hyeon); 08308 서울특별시 구로구 구로동로 148, 의생명연구원 3층 흉부외과 연구실, Seoul (KR). 박지호 (PARK, Ji Ho); 34141 대전광역시 유성구 대학로 291, Daejeon (KR). 백우진 (BACK, Woo Jin); 34141 대전광역시 유성구 대학로 291, Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 무한 (MUHANN PATENT & LAW FIRM); 06144 서울특별시 강남구 언주로 560, 8층, 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, 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,

(54) Title: LUNG LESION LOCALIZATION MULTI-IMAGING CONTRAST AGENT COMPOSITION FOR RESTRICTIVE LUNG RESECTION

(54) 발명의 명칭: 제한적 폐 절제술을 위한 폐 병변 국소화 다중영상조영제 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a multi-imaging contrast agent composition and a method for preparing same, in which the composition comprises a hydrogel formed by crosslinking a first dextran polymer and a second dextran polymer, wherein the hydrogel is loaded with a fluorescent dye and a contrast material. The composition comprises a dextran-based hydrogel in which a fat-soluble contrast material and a water-soluble fluorescent dye are simultaneously loaded, and has the advantage of enabling accurate localization of lung lesions.

(57) 요약서: 본 발명은 다중영상조영제 조성물과 이의 제조방법에 관한 것으로, 상기 조성물은 제1 텍스트란 고분자 및 제2 텍스트란 고분자가 가교되어 형성된 하이드로젤을 포함하고, 상기 하이드로젤은 형광염료 및 조영물질이 탑재된 것을 특징으로 한다. 상기 조성물은 지용성의 조영물질과 수용성의 형광염료를 동시에 탑재한 텍스트란 기반 하이드로젤을 포함하는 것으로, 폐 병변의 정확한 국소화가 가능한 장점이 있다.

[다음 쪽 계속]



WO 2022/173282 A1

PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 제한적 폐 절제술을 위한 폐 병변 국소화 다중영상조영제 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 제한적 폐 절제술을 위한 폐 병변 국소화 다중영상조영제 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 우리나라 사람들에게 가장 많이 발생하는 암은 위암, 대장암, 폐암, 갑상선암, 간암이다. 국가 암 발생 통계를 기초로 살펴보면 평생 암에 걸릴 확률이 남성은 3명 중 1명, 여성은 4명 중 1명으로 분석되는 등 암 발생에 대한 위험이 높아지고 있다. 특히 폐암의 경우, 산업화에 따른 대기오염의 악화와 함께 흡연자의 증가, 특히 청소년과 여성들의 흡연 증가 추세로 볼 때 폐암 환자의 수는 증가할 것으로 예상된다. 미국의 경우도 암 관련 사망 가운데 남녀 모두에게 폐암은 가장 흔한 원인이다.
- [3] 주요 형태의 폐암은 소세포 폐암(SCLC) 및 비소세포 폐암(NSCLC)이다. 소세포 폐암(SCLC)은 신속히 성장하는 유형의 폐암이다. 이는 비소세포 폐암보다 훨씬 더 빨리 퍼진다. 소세포 암종(연맥 세포 암), 혼합 소세포/대세포 암종 및 복합 소세포 암종의 3가지 상이한 유형의 소세포 폐암이 존재한다. 대부분의 소세포 폐암은 연맥 세포유형이다. 비소세포 폐암(NSCLC)은 가장 흔한 유형의 폐암이다. 선암, 편평상피세포암(squamous cell carcinoma) 및 대세포암(large-cell carcinoma)의 3가지 형태의 NSCLC가 존재한다. 선암은 폐 말초 부위에서 주로 발생하고, 여성 또는 비흡연자에게서도 잘 발생하며, 크기가 작아도 전이가 되어 있는 경우가 많고, 최근 이의 발생 빈도가 증가하는 추세에 있다. 다음으로, 편평상피세포암은 주로 폐 중심부에서 발견되고, 주로 기관지 내강으로 자라 기관지를 막는 증상을 나타내며, 남성에게 흔하고, 흡연과 밀접하게 관련된 것으로 알려져 있다. 대세포암은 폐 표면 근처(폐 말초)에서 주로 발생하고, 절반가량은 큰 기관지에서 발생하며, 전체 폐암의 4 내지 10% 정도를 차지하고, 세포 크기가 대체적으로 크며, 그 중 일부는 빠르게 증식 및 전이되는 경향이 있어 다른 비소세포 폐암에 비해 예후가 나쁜 것으로 알려져 있다. 폐암에 대한 통상의 치료는 완화 처치, 수술, 화학 요법 및 방사선요법을 포함한다.
- [4] 폐암이 조기에 진단될 경우에는 약물치료 및 방사선 치료 등을 통해 회복될 수 있으나, 일정 수준으로 병증이 악화된 경우에는 수술적 절제가 필수적이고 약물치료 및 방사선 치료를 병행하게 된다. 그런데 폐암의 조기 진단율은 약 20%로 높지 아니하다. 이에, 폐암 환자의 대부분은 폐 절제술을 시행하게 되는데 폐는 그 구조적 특성에 의해 원활하게 기능하는 특징을 가지고 있어 폐 절제술

시행 시 병변의 위치 및 크기를 정확하게 파악하여 종양과 적절한 거리를 절단하되 최소 절제하는 것이 유리하다.

- [5] 한편, 영상화 기술 중 근적외선 형광 영상기술은 비침습성 질병 진단과 모니터링 기술로서 주목받고 있는데, 근적외선 영역인 700~900nm 영역이 백그라운드 자가 형광이 낮고 광산란이 적으며 깊은 조직까지 영상이 가능한 장점이 있어 이상적인 생체 영상을 수행할 수 있다. 형광 영상을 위한 형광 염료 중 인도시아닌 그린(indocyanine green, ICG)은 임상을 통해 사용이 승인된 근적외선 형광 염료로서 주로 간 혈관 및 심장 염색에 사용되고 있으며 다양한 진단 및 영상기술에 응용되고 있다.
- [6] 1999년 ICG를 수술 전 정맥 주입하면 수술 중 근적외선 형광 영상 하에서 간암의 경계면 탐색이 가능함이 알려진 이래로, 최근 실제 임상에서 사용 가능한 패시브 타겟팅(passive targeting) 형광조영제를 이용한 암 탐색법이 활발하게 이용되고 있다.
- [7] 그러나, 정맥 주사를 통한 형광조영제의 주입은 암 탐색을 위하여 최소 5mg/kg의 고농도 형광조영제가 주입되어야 하며, 대장암, 유방암, 피부암, 폐암 등 여러 암종에서 일률적으로 적용되고 있지만, 폐암의 경우 그 탐색율이 매우 낮은 문제가 있다. 구체적으로, 폐암은 암 조직이 폐 표면으로부터 1 cm 이상의 깊이에 주로 위치하고 있어 암 탐색율이 10% 밖에 되지 않음을 보고되었다.
- [8] 본 발명과 관련한 비특허 선행기술로는 Onda N, Kimura M, Yoshida T, Shibutani M. Preferential tumor cellular uptake and retention of indocyanine green for in vivo tumor imaging. Int J Cancer. 2016 Aug 1;139(3):673-82. 가 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 수용성의 형광염료와 지용성의 조영물질이 동시에 탑재되어, 우수한 폐 병변 표지 효과를 갖는 다중영상조영제 조성물을 제공하는 것이다.
- [10] 본 발명의 다른 목적은 상기 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [11] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 형광염료와 조영물이 탑재되는 하이드로젤을 제공하는 것이다.
- [12] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

- [13] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 제1텍스트란 고분자 및 제2텍스트란 고분자가 가교되어 형성된 하이드로젤을 포함하고, 상기 제1텍스트란 고분자는 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 것이고, 상기 제2텍스트란 고분자는 하이드록실기가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 하이드로젤을 제공한다.

- [14] 상기 제1텍스트란 고분자는 하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 비닐설폰기로 치환될 수 있고, 상기 제2텍스트란 고분자는, 하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 것일 수 있다.
- [15] 또한 본 발명은 제1텍스트란 고분자 및 제2텍스트란 고분자가 가교되어 형성된 하이드로젤을 포함하고, 상기 하이드로젤은 형광염료 및 조영물질이 탑재된 것인, 다중영상조영제 조성물을 제공한다.
- [16] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 제1텍스트란 고분자는 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 것이고, 제2텍스트란 고분자는 하이드록실기가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 것일 수 있다.
- [17] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 제1텍스트란 고분자는, 하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 비닐설폰기로 치환된 것이고, 상기 제2텍스트란 고분자는, 하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 것일 수 있다.
- [18] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 형광염료는 시아닌 계열의 형광염료인 것일 수 있다.
- [19] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 형광염료는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), 알렉사 플루오르 647(Alexa Fluor 647), 알렉사 플루오르 660(Alexa Fluor 660), 알렉사 플루오르 680(Alexa Fluor 680), 알렉사 플루오르 700(Alexa Fluor 700), 알렉사 플루오르 780(Alexa Fluor 780), cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, 사이페이트(Cypate), ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, 크레실 바이올렛(Cresyl Violet), 나일 블루(Nile Blue), 옥사진 750(Oxazine 750) 및 로다민800(Rhodamine800), 텍사스 레드(Texas Red) 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것일 수 있다.
- [20] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 조영물질은 아이오다이즈드 오일인 것일 수 있다.
- [21] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 조영물질은 하이드로젤에 대하여 30 부피% 미만으로 포함되는 것일 수 있다. 상기 조영물질이 30 부피% 이상인 경우에는 불안정한 에멀전 형태가 되며(도 8), 상(phase)이 분리되어 체내에 투여하기 부적합할 수 있다.
- [22] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 형광염료는 0.005 mg/mL 내지 0.02 mg/mL의 농도로 포함되는 것일 수 있다. 상기 농도 범위를 벗어나는 경우에는 형광 세기가 감소하는 문제점이 발생할 수 있다.
- [23] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 조성물은 폐 병변의 표지용인 것일 수 있다.
- [24] 본 발명의 또다른 구현예로서, 상기 하이드로젤은, 제1텍스트란 고분자 및 제2텍스트란 고분자가 혼합된 후 20초 내지 250초 내에 젤화되어 형성된 것일 수 있다. 상기 시간을 벗어나는 경우, 임상 적용이 어려운 문제점이 발생할 수 있으며, 바람직하게는 20초 내지 250초 내에, 더욱 바람직하게는 20초 내지

180초, 가장 바람직하게는 30초 내지 40초 내에 젤화될 수 있어 임상에서 사용 시 빠른 젤화가 가능한 바 유용하게 사용될 수 있다.

- [25] 또한, 본 발명은 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 제1텍스트란 고분자; 조영물질 및 형광염료를 포함하는 제1조성을 준비하는 단계(S1);
- [26] 상기 제1조성에 음파처리하는 단계(S2);
- [27] 하이드록실기가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 제2텍스트란 고분자; 조영물질 및 형광염료를 포함하는 제2조성을 준비하는 단계(S3);
- [28] 상기 제2조성에 음파처리하는 단계(S4); 및
- [29] 음파처리가 완료된 제1조성 및 제2조성을 혼합하여 젤화하는 단계(S5)를 포함하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

- [30] 본 발명은 암탐색법에서 사용되었던 종래 형광조영제의 폐암의 탐색률이 낮았던 문제를 해결한 것으로, 본 발명의 다중영상조영제는 지용성 조영물질 및 수용성 형광염료를 동시에 탑재하는 하이드로젤을 포함한다. 상기 하이드로젤은 빠른 속도로 젤화되어 임상에서 사용이 용이하고, 폐암의 병변 부위에 장시간 유지되는 효과가 있다.
- [31] 본 발명의 효과는 이상에서 언급된 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 효과들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [32] 도 1은 텍스트란 기반 하이드로젤에 ICG 및 아이오다이즈드 오일이 탑재된 하이드로젤의 모식도를 나타낸 것이다.
- [33] 도 2a는 텍스트란을 치환하여 전구체를 합성하는 방법 및 하이드로젤 합성 방법을 나타낸 것이다.
- [34] 도 2b는 ICG 와 아이오다이즈드 오일을 하이드로젤에 탑재하는 방법을 나타낸 것이다.
- [35] 도 3은 비닐설폰기로 치환된 텍스트란 고분자의 핵자기공명분석 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- [36] 도 4는 비닐설폰기 및 티올기로 치환된 텍스트란 고분자의 핵자기공명분석 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- [37] 도 5는 젤 농도 및 작용기 치환 정도에 따른 젤화 되는 시간을 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- [38] 도 6은 10%와 20%의 아이오다이즈드 오일이 함유된 젤의 생체 내(in-vivo) 촬영 결과를 나타낸 것이다.
- [39] 도 7은 각각 다른양의 아이오다이즈드 오일이 포함된 하이드로젤의 젤화 되는 시간을 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- [40] 도 8은 각기 다른 양의 아이오다이즈드 오일이 함유된 하이드로젤의 안정성을

CT 시그널로 나타낸 것이다.

- [41] 도 9는 ICG 농도에 따른 형광 세기를 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- [42] 도 10은 ICG 및 아이오다이즈드 오일의 방출시간을 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- [43] 도 11은 본 발명의 조영제의 적용시 사용하는 듀얼 시린지를 나타낸 것이다.
- [44] 도 12a는 생체 내(In-vivo) 개 모델에서 다중영상조영제를 확인하는 과정을 나타낸 것이다.
- [45] 도 12b는 아이오다이즈드 오일의 농도에 따라 육안으로 보이는 사진을 나타낸 것이다.
- [46] 도 12c는 아이오다이즈드 오일의 농도에 따라 측정되는 형광을 나타낸 것이다.
- [47] 도 12d는 아이오다이즈드 오일의 농도가 10% 및 20%일 때의 공국소화도를 나타낸 것이다.
- [48] 도 13a는 생체 내(In-vivo) 토끼 폐암 모델에서 다중영상조영제를 확인하는 과정을 나타낸 것이다.
- [49] 도 13b는 토끼 폐암 모델의 병변부위를 조영제가 표지하는 것을 나타낸 것이다.
- [50] 도 13c는 CT촬영 결과 24시간 및 그 이상 동안 조영물질 및 ICG가 병변부위에서 유지되고 있음을 나타낸 것이다.
- [51] 도 13d는 조영제의 형광을 촬영한 체외(Ex-vivo) 이미지이다.

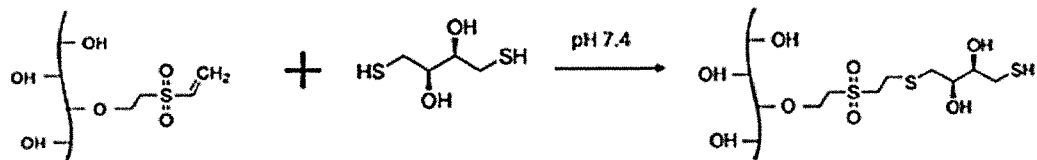
발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [52] CT (computed tomography) 스크리닝의 증가에 따른 초기 폐 결절 환자의 증가로 제한적 폐 절제술의 필요성이 증가됨에 따라, 수술 전 병변 위치를 확인하여 표지하는 폐 병변 국소화 (localization)의 중요성도 증가되었다. 따라서 수술 전 CT 유도 하에 방사선 조영제(radiocontrast)인 아이오다이즈드 오일이나 후크와이어(hookwire) 등을 이용한 폐 병변의 위치를 미리 표지하는 국소화 연구들이 활발히 진행되고 있지만 현재 사용되고 있는 폐 병변 국소화 방법들은 통증, 기흉과 같은 합병증을 유발, 기기사용의 번거로움, 폐 절제면 탐색의 어려움 등의 어려움을 겪고 있다.
- [53] 이와 같은 어려움을 줄이고자, 최근 ICG(indocyanine green)의 형광성질을 이용한 형광 영상 유도 하 폐 병변의 국소화를 진행한 연구들이 진행되고 있다. 상기 ICG는 FDA 승인 물질로서, 방사선 피폭이 없으며 흉강경을 이용한 수술 중 형광 영상 수술 장비를 이용하여 폐 병변의 위치를 쉽게 확인할 수 있는 조영제로 알려졌다. ICG를 이용하여 폐 결절을 국소화 할 경우, 수술 중 근적외선 형광 흉강경을 통해 실시간으로 폐 병변의 위치를 쉽게 파악할 수 있다.
- [54] 그러나 수용성 물질인 ICG를 폐 병변 국소화에서 단독 사용 시 주변 폐 조직으로 쉽게 퍼져 폐 병변의 정확한 위치 파악과 폐 절제면 확인이 어렵고, 1 cm 이상 깊이에 주입될 경우 ICG의 낮은 침투성(penetration) 때문에 수술 중 폐

병변의 위치 확인이 어렵다는 단점이 있다.

- [55] 반면, 임상에 주로 사용되는 X-선 조영제(X-ray contrast agent)인 아이오다이즈드 오일은 지용성(lipophilic) 물질이라, 수용성인 ICG 및 하이드로젤에 탑재가 용이하지 않다는 한계점을 내포하고 있다.
- [56] 그러므로 기존에 폐 병변 국소화에 사용되는 물질들의 한계를 극복할 수 있으며 ICG와 아이오다이즈드 오일을 동시에 탑재할 수 있는 형태의 조영제를 개발하기 위해 예의 연구한 결과, 하이드로젤 형태에 주목하였다.
- [57] 하이드로젤(hydrogel)이란, 수용성 고분자가 화학적 공유결합을 통해 3차원 구조를 형성한 후 많은 양의 물을 포함할 수 있는 물질이다. 이와 같은 특성 때문에 다년간 조직공학(tissue engineering), 재생의료(regenerative medicine), 진단의학(diagnostics) 및 약물전달(drug delivery) 분야에서 하이드로젤이 응용, 사용되고 있다. 특히 유기화학적 작용기 혹은 고분자의 물리화학적 특성을 변형하여 만든 “주사가능(injectable)”한 하이드로젤은 임상적으로 중요하게 고려되고 있다.
- [58] 따라서, 본 발명은, 제1텍스트란 고분자 및 제2텍스트란 고분자가 가교되어 형성된 하이드로젤을 포함하고, 상기 하이드로젤은 형광염료 및 조영물질이 탑재된 것인, 다중영상조영제 조성물을 제공한다.
- [59] 본 발명에서 상기 제1텍스트란 고분자는 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 것이고, 제2텍스트란 고분자는 하이드록실기가 비닐설폰기 및 티올기로 치환된 것이다. 상기 제1텍스트란고분자는 하이드록실기 중 10 내지 30 몰%가 비닐설폰기로 치환되고, 상기 제2텍스트란고분자는 하이드록실기 중 10 내지 30 몰%가 비닐설폰기 및 티올기로 치환된 것을 특징으로 한다. 상기 제1텍스트란 고분자와 제2텍스트란 고분자의 티올기 및 하이드록실기가 가교(crosslinking)되어, 하이드로젤이 형성될 수 있다. 즉, 상기 하이드로젤의 하이드록실기 중 10 내지 30 몰%가 치환된 형태인 것일 수 있다. 본 명세서에서 “하이드록실기가 비닐설폰기 및 티올기로 치환”되었다는 것은 구체적으로 하이드록실기에 비닐설폰기가 치환된 후, 상기 비닐설폰기의 이중결합탄소 부위에 티올기가 첨가반응한 것을 의미한다. 그 바람직한 예시를 하기 화학식 1에 나타내었다.

[60] [화학식 1]



- [61] 본 발명의 형광염료는 수용성 염료로서, 시아닌계열의 형광염료일 수 있다. 상기 형광염료는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), 알렉사 플루오르

647(Alexa Fluor 647), 알렉사 플루오르 660(Alexa Fluor 660), 알렉사 플루오르 680(Alexa Fluor 680), 알렉사 플루오르 700(Alexa Fluor 700), 알렉사 플루오르 780(Alexa Fluor 780), cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, 사이페이트(Cypate), ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, 크레실 바이올렛(Cresyl Violet), 나일 블루(Nile Blue), 옥사진 750(Oxazine 750) 및 로다민800(Rhodamine800), 텍사스 레드(Texas Red) 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다. 본 발명의 조영물질은 지용성의 조영물질로서, 바람직하게는 아이오다이즈드 오일일 수 있다.

- [62] 본 발명의 조성물은 보다 상세하게 CT 촬영이 가능한 수용성 염료인 ICG와 X-ray 조영제인 지용성의 조영물질로 아이오다이즈드 오일을 포함하여, 깊은 위치에 있는 폐 병변의 위치를 쉽게 파악할 수 있으며, 장시간 유지가 가능한 장점이 있다.
- [63] 상기 조영물질은 하이드로젤에 대하여 30 부피% 미만으로 포함되는 것일 수 있다. 바람직하게는 0.01 이상 30부피% 미만으로 포함될 수 있다. 상기 조영물질이 30 부피% 이상인 경우 상(phase)이 분리된 불안정한 에멀전 형태가 되어 사용이 어려운 문제점이 발생할 수 있다.
- [64] 상기 형광염료는 0.005 mg/mL 내지 0.02 mg/mL의 농도로 하이드로젤에 포함되는 것으로, 상기 농도 범위에서 최상의 세기(intensity) 값이 확인된다.
- [65] 본 발명은 또한, 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 제1덱스트란 고분자; 조영물질 및 형광염료를 포함하는 제1조성을 준비하는 단계(S1);
- [66] 상기 제1조성에 음파처리하는 단계(S2);
- [67] 하이드록실기가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 제2덱스트란 고분자; 조영물질 및 형광염료를 포함하는 제2조성을 준비하는 단계(S3);
- [68] 상기 제2조성에 음파처리하는 단계(S4); 및
- [69] 음파처리가 완료된 제1조성 및 제2조성을 혼합하여 젤화하는 단계(S5)를 포함하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법을 제공한다.
- [70] 본 발명의 S5단계의 젤화는, 20초 내지 250초 내에, 바람직하게는 20초 내지 180초, 더욱 바람직하게는 30초 내지 40초 내에 젤화될 수 있어 임상에서 사용 시 빠른 젤화가 가능한 바 유용하게 사용될 수 있다.
- [71] 본 발명의 조영제 조성물은 유효성분으로서 상술한 조영물질과 형광염료 이외에 공지된 조영물질 및 형광염료를 추가로 포함할 수 있고, 폐 질환의 병변에 대한 구체적인 정보 획득을 위한 공지된 다른 진단방법과 병용될 수 있다.
- [72] 한편, 본 발명의 형광 조영제가 근적외선 형광 다이(near infra-red fluorescent dye)인 경우, 근적외선 파장영역에서 형광 특성을 나타낸다. 따라서 본 발명의 조성물은 당해 분야의 기술자에게 공지된 근적외선 형광 영상(NIR imaging)방법을 통해 이미지를 획득할 수 있으며, 이에 제한되지 않으나 예를 들어 근적외선 광학영상 측정장치(NIR optical imaging system)를 이용하여

영상을 촬영하고, 형광 분광계(Fluorescence Spectrophotometer)를 이용하여 근적외선 형광 스펙트럼을 측정할 수도 있다.

[73] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안 된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[74] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[75] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[76]

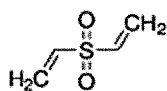
[77] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

발명의 실시를 위한 형태

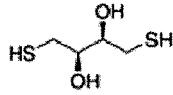
[78] 실시예 1. 하이드로젤의 제조방법

[79] 본 실시예에서는, 도 2a에 나타낸 것과 같이 하이드로젤의 합성을 위해 텍스트란 고분자의 하이드록실(hydroxyl) 작용기를 클릭화학기법(click chemistry)을 활용하여 하기 화학식 2의 비닐설폰기(전구체 1) 및 하기 화학식 3의 티올기(전구체 2)를 갖고 있는 고분자로 변형시켰다.

[80] [화학식 2]



[81] [화학식 3]



- [82] 보다 상세하게는, 덱스트란 고분자에 포함된 하이드록실기의 몰수 대비 1.25배의 다이비닐설폰(divinylsulfone, MW: 118.16 g/mol)을 0.1M NaOH (~pH 11 이상)에서 넣어준 후 원하는 비닐설폰기 치환 정도에 따라 반응시간을 달리하여 합성을 진행하였다. 상기 화학반응을 반응 시간에 따라 종료할때는 6M HCl을 넣어주어 pH를 7 이하로 떨어뜨려 주는 것으로 하였다. 이렇게 비닐설폰기로 치환된 덱스트란 고분자를 3일 정도 물로 투석(dialysis)시켜 주어 (3.5kDa molecular weight cut-off dialysis membrane) 반응시 소모되지 않은 화학물들을 제거해 주었다. 투석 후 동결건조를 통해 비닐설폰기로 치환된 고체형태의 제1 덱스트란 고분자를 획득하였다. 비닐설폰기로 치환이 잘 되었는지의 여부는 핵자기공명($^1\text{H NMR}$) 분석을 통해 확인하였다.
- [83] 도 3에 각각 10몰%, 20몰%, 그리고 30몰%의 비닐설폰기로 치환된 덱스트란 고분자의 $^1\text{H NMR}$ 스펙트럼을 나타내었다. 여기서 치환 정도는 $\delta = 6.9$ 와 at $\delta = 2$ 에 해당하는 피크(peak)의 곡선아래면적(area under curve)를 적분 후 비교하여 확인하였다.
- [84] 비닐설폰기 및 티올기로 치환된 제2 덱스트란 고분자를 합성하기 위해, 상기 10몰%, 20몰%, 그리고 30몰%의 비닐설폰기로 치환된 제1 덱스트란 고분자를 1M 포스페이트 버퍼(phosphate buffer saline)를 이용하여 pH 7.4로 맞추어 주었다. 치환된 비닐설폰기의 몰수 대비 5배 이상의 다이티오프레이톨(dithiothreitol, MW: 154.253 g/mol)을 첨가해 주어 약 40분간 반응을 진행하여 모든 비닐설폰기에 티올기가 첨가될 수 있도록 하였다. 40분 뒤 1M HCl을 첨가해 주어 pH를 약산성의 조건으로 만든 뒤 3일간의 투석(dialysis)을 통해 반응시 소모되지 않은 다이티오프레이톨을 제거해 주었다. 투석 후 티올기와 비닐설폰기로 치환된 제2 덱스트란 고분자를 동결건조하였다. 성공적인 티올기 치환 여부는 핵자기공명($^1\text{H NMR}$)을 활용하여 $\delta = 6.9$ 피크가 사라지는지 여부를 통해 확인하였다 (도 4).
- [85] 그 다음, 제조된 동결건조 상태의 제1 덱스트란 고분자 및 제2 덱스트란 고분자를 각각 PBS에 녹인 후, 각각 ICG 및 아이오다이즈드 오일을 첨가하였다. 이후 지용성인 아이오다이즈드 오일의 에멀전(emulsion)화를 위해 음파처리(sonication)를 각각 5분 동안 진행하였다. 음파처리 이후 얻어진 동일한 부피의 제1 덱스트란 고분자 용액과 제2 덱스트란 고분자 용액을 혼합하여 젤화될 수 있도록 하였다. 혼합조건은 pH 7.4 (생체 pH), 상온 (room temperature)에서 혼합하여 약 30 내지 40초 후에 젤 형성이 완료되었다 (도 2b).

[86]

[87] 실시에 2. 젤농도 및 작용기 치환 정도의 최적화

[88] 상기 방법에서 젤화되는 시간을 최적화하기 위하여, 고분자의 농도 및 작용기 치환 정도에 따른 젤화 시간을 확인하여 도 5에 나타내었다. 고분자의 농도는 PBS에 대하여 w/v %로 나타내었고, 작용기 치환정도(DM)는 각각 10, 20 및 30 몰%이다.

[89] 실험결과 10%(w/v)의 고분자 농도에서, 제1 텍스트란 고분자 및 제2 텍스트란 고분자의 작용기 치환 정도가 20몰%인 하이드로젤이 약 30초 정도의 임상적으로 최적화된 젤화시간을 갖는 것으로 확인되었다.

[90]

[91] 실시에 3. 아이오다이즈드 오일 함유량에 따른 하이드로젤의 최적화

[92] 아이오다이즈드 오일의 함유량에 따른 하이드로젤의 물성을 확인하였다. 아이오다이즈드 오일은 젤의 총 부피를 기준으로 각각 0, 10, 20 및 30%(v/v)로 실험하였으며, 30%(v/v) 이상이 되면 고르지 못한 에멀전(emulsion)이 되는 것이 확인되었다 (도 6 및 도 8). 또한 20%(v/v) 미만일때는 생체 내 실험결과상 젤의 부피에 따라 CT 시그널 확인이 되지 않는 것을 확인하였다 (도 6). 따라서 20%(v/v)의 아이오다이즈드 오일 농도를 최적화된 농도로 설정하였다. 20%(v/v)의 아이오다이즈드 오일 함유 시 젤화되는 시간이 변화없이 약 30초정도로 유지되는 것을 확인하였다(도 7).

[93]

[94] 실시에 4. ICG 농도의 최적화

[95] 또한 ICG 농도 설정을 위해, Hironobu Wada 등의 'Minimally Invasive Electro-Magnetic Navigational Bronchoscopy-Integrated Near-Infrared-Guided Sentinel Lymph Node Mapping in the Porcine Lung (PLoS ONE 10(5): e0126945. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126945>)' 논문을 참고하는 동시에 직접 최적화 실험을 진행하였다. 이때, ICG 농도가 약 0.005 mg/ml ~ 0.02 mg/ml 일 때 최상의 세기(intensity)값을 보이는 것을 확인하였다 (도 9).

[96]

[97] 실시에 5. ICG 및 아이오다이즈드 오일의 농도에 따른 하이드로젤의 형광성능 확인

[98] 상기 결과들로부터, 0.01mg/ml의 ICG 및 20%의 아이오다이즈드 오일을 포함하는 하이드로젤에 가장 효과적인 형광 성능이 있을 것임을 예상할 수 있다. 이에 0.01mg/ml의 ICG 및 20%의 아이오다이즈드 오일을 탑재한 하이드로젤 제형을 합성 후, ICG 및 아이오다이즈드 오일의 방출시간을 24시간동안 37 °C의 PBS(Phosphate Buffered Saline)에서 확인하였다.

[99] 그 결과, ICG 및 아이오다이즈드 오일이 24시간동안 성공적으로 하이드로젤에 탑재가 된 결과를 확보하였다 (도 10).

[100]

[101] 실시에 6. 다중영상조영젤의 생체 내(in-vivo) 효과 확인

- [102] 상기에서 최적화된 제형의 다중영상조영젤의 효능을 생체 내(in-vivo) 실험(개 및 토끼 폐암 모델)을 통해서도 확인하였다. 폐에 주입 후, ICG 및 아이오다이즈드 오일을 함유하고 있는 제1 텍스트란 고분자 용액과 제2 텍스트란 고분자 용액이 만나 하이드로젤 형성이 될 수 있도록 하기 위하여 듀얼 시린지(dual syringe)를 제작, 이를 in-vivo 실험에 활용하였다(도 11).
- [103] 구체적으로, 0.01mg/ml의 ICG를 포함하며, 0%, 10% 또는 20%의 아이오다이즈드 오일을 탑재한 하이드로젤을 이용하여 in vivo 실험을 수행하였다. 개를 활용한 in-vivo 실험을 수행하였으며(도 12a), 아이오다이즈드 오일 농도에 따른 사진촬영 및 형광비교를 각각 도 12b 및 도 12c에 나타내었다. 실험결과 대조군(하이드로젤 없이 아이오다이즈드 오일 및 ICG로만 에멀전(emulsion)을 만든 제형) 대비 다중영상조영젤 사용 시 아이오다이즈드 오일 및 ICG가 주입된 폐 조직에서 잘 유지되고 있는 것을 확인하였다(도 12b 및 도 12c). 더불어 시험관 내(in-vitro) 실험의 결과와 마찬가지로 10%의 아이오다이즈드 오일을 함유하고 있는 하이드로젤은 C-arm 촬영 시 거의 보이지 않았고, 20%의 아이오다이즈드 오일을 함유하고 있는 젤은 ICG 시그널과 병변 부위에 잘 유지됨과 동시에 병변 부위를 식별할 수 있는 CT 시그널을 보였다(도 12d).
- [104] 개를 활용한 추가적인 in-vivo 최적화 단계를 거쳐 토끼 폐암 모델에서의 다중영상조영젤의 효과를 확인하였다(도 13a). 실험결과 토끼 폐암 병변 부위를 잘 표지하고 있음을 도 13b에서 확인할 수 있으며, 24시간 동안 아이오다이즈드 오일 및 ICG가 폐암 병변 부위에서 잘 유지되고 있음을 확인하였다(도 13c). 생체의 이미지는 도 13d에 나타내었다.
- [105] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.
- [106] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

산업상 이용가능성

- [107] 본 발명은 폐 절제술 등의 의료술기를 적용함에 있어서 폐 병변부위를 국소화할 수 있는 다중영상 조영제 조성물 및 제조방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 형광염료와 조영물질이 텍스트란 기반의 하이드로젤에 탑재되어 우수한 폐 병변 표지능력과 체내 유지능력을 가진다. 따라서 본 발명의 다중영상조영제 조성물 및 그 제조방법은 체내 절제술 등에서 병변부위를 표지하는 목적으로 다양하게 응용될 수 있다.

청구범위

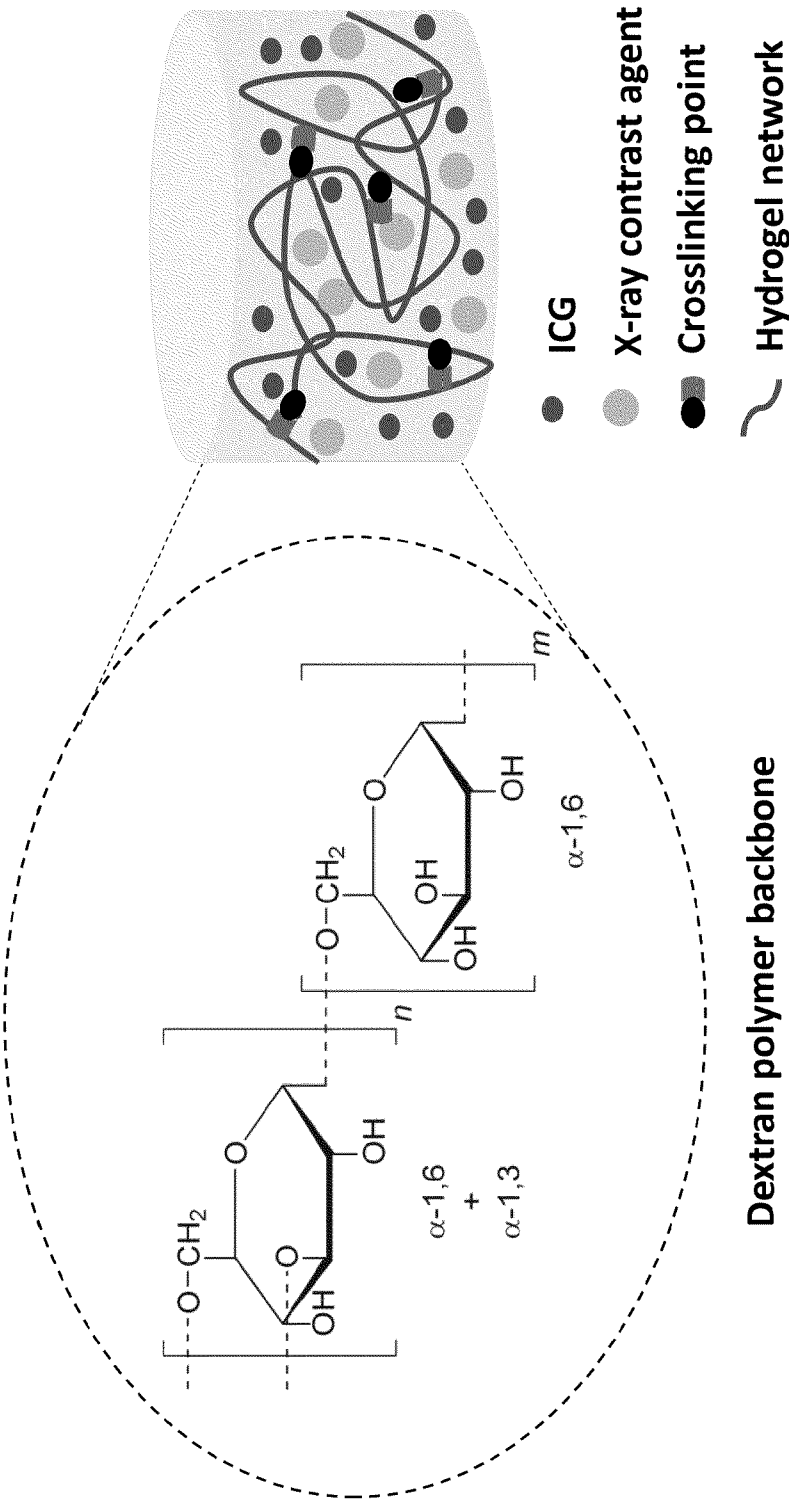
- [청구항 1] 제1텍스트란 고분자 및 제2텍스트란 고분자가 가교되어 형성된 하이드로젤을 포함하고,
상기 하이드로젤은 형광염료 및 조영물질이 탑재된 것인,
다중영상조영제 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 제1텍스트란 고분자는 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 것이고, 제2텍스트란 고분자는 하이드록실기가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 제1텍스트란 고분자는, 하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 비닐설폰기로 치환된 것이고, 상기 제2텍스트란 고분자는,
하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 형광염료는 시아닌계열의 형광염료인 것을 특징으로 하는,
다중영상조영제 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
상기 형광염료는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), 알렉사 플루오르 647(Alexa Fluor 647), 알렉사 플루오르 660(Alexa Fluor 660), 알렉사 플루오르 680(Alexa Fluor 680), 알렉사 플루오르 700(Alexa Fluor 700), 알렉사 플루오르 780(Alexa Fluor 780), cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, 사이페이트(Cypate), ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, 크레실 바이올렛(Cresyl Violet), 나일 블루(Nile Blue), 옥사진 750(Oxazine 750) 및 로다민800(Rhodamine800), 텍사스 레드(Texas Red) 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는,
다중영상조영제 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 조영물질은 아이오다이즈드 오일인 것을 특징으로 하는,
다중영상조영제 조성물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 조영물질은 하이드로젤에 대하여 30 부피% 미만으로 포함되는 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 형광염료는 0.005 mg/mL 내지 0.02 mg/mL의 농도로 포함되는 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물.

- [청구항 9] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 폐 병변의 표지용인 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물.
- [청구항 10] 제1항에 있어서,
상기 하이드로젤은, 제1텍스트란 고분자 및 제2텍스트란 고분자가 혼합된 후 20초 내지 250초 내에 젤화되어 형성된 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물.
- [청구항 11] 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 제1텍스트란 고분자; 형광염료 및 조영물질을 포함하는 제1조성을 준비하는 단계(S1);
상기 제1조성에 음파처리하는 단계(S2);
하이드록실기가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 제2텍스트란 고분자; 형광염료 및 조영물질을 포함하는 제2조성을 준비하는 단계(S3);
상기 제2조성에 음파처리하는 단계(S4); 및
음파처리가 완료된 제1조성 및 제2조성을 혼합하여 젤화하는 단계(S5)를 포함하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법.
- [청구항 12] 제11항에 있어서,
상기 제1텍스트란 고분자는, 하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 비닐설폰기로 치환된 것이고, 상기 제2텍스트란 고분자는,
하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법.
- [청구항 13] 제11항에 있어서,
상기 형광염료는 시아닌계열의 형광염료인 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법.
- [청구항 14] 제13항에 있어서,
상기 형광염료는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), 알렉사 플루오르 647(Alexa Fluor 647), 알렉사 플루오르 660(Alexa Fluor 660), 알렉사 플루오르 680(Alexa Fluor 680), 알렉사 플루오르 700(Alexa Fluor 700), 알렉사 플루오르 780(Alexa Fluor 780), cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, 사이페이트(Cypate), ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, 크레실 바이올렛(Cresyl Violet), 나일 블루(Nile Blue), 옥사진 750(Oxazine 750) 및 로다민800(Rhodamine800), 텍사스 레드(Texas Red) 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법.
- [청구항 15] 제11항에 있어서,
상기 조영물질은 아이오다이즈드 오일인 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법.
- [청구항 16] 제11항에 있어서,

상기 조영물질은 하이드로젤에 대하여 30 부피% 미만으로 포함되는 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법.

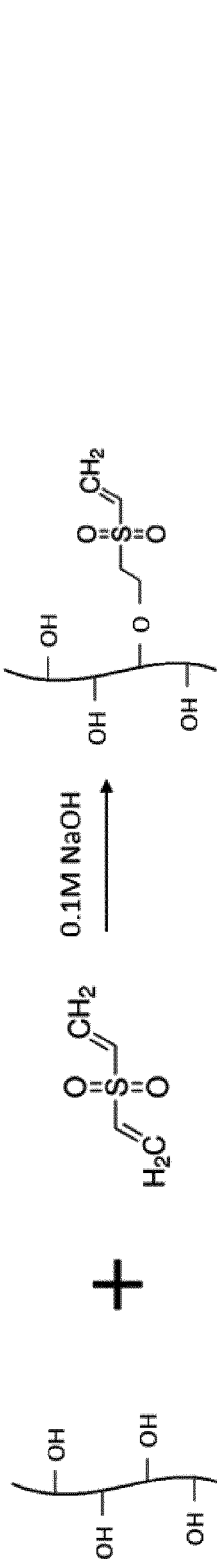
- [청구항 17] 제11항에 있어서,
상기 형광염료는 0.005 mg/mL 내지 0.02 mg/mL의 농도로 포함되는 것을 특징으로 하는, 다중영상조영제 조성물의 제조방법.
- [청구항 18] 제11항에 있어서,
상기 S5 단계의 젤화는, 20초 내지 250초 내에 이루어지는 것인,
다중영상조영제 조성물의 제조방법.
- [청구항 19] 하이드록실기가 비닐설폰기로 치환된 제1텍스트란 고분자; 및
하이드록실기가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 제2텍스트란 고분자가
가교되어 형성된 하이드로젤로,
상기 제1텍스트란 고분자는 하이드록실기의 10 내지 30 몰%가
비닐설폰기로 치환된 것이고, 상기 제2텍스트란 고분자는,
하이드록실기의 10 내지 30 몰%가 티올기 및 비닐설폰기로 치환된 것인
하이드로젤.

[도 1]

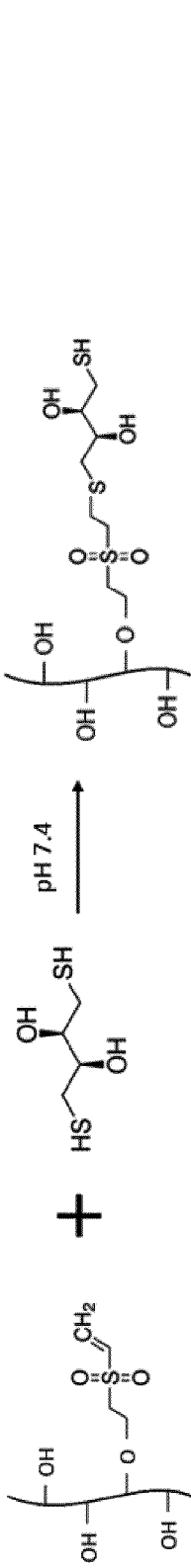


[도2a]

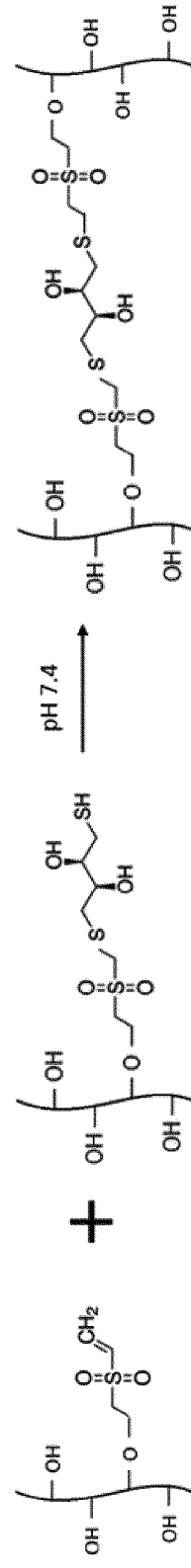
Synthesis of dextran-VS:



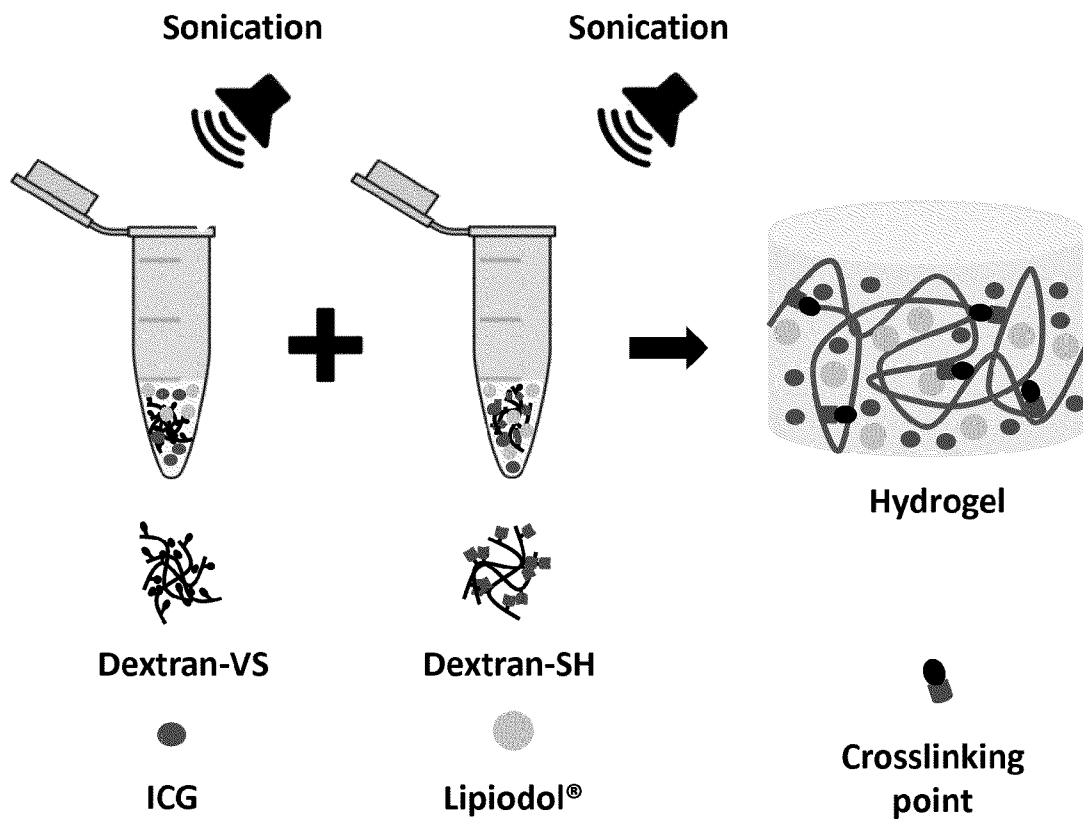
Synthesis of dextran-SH:



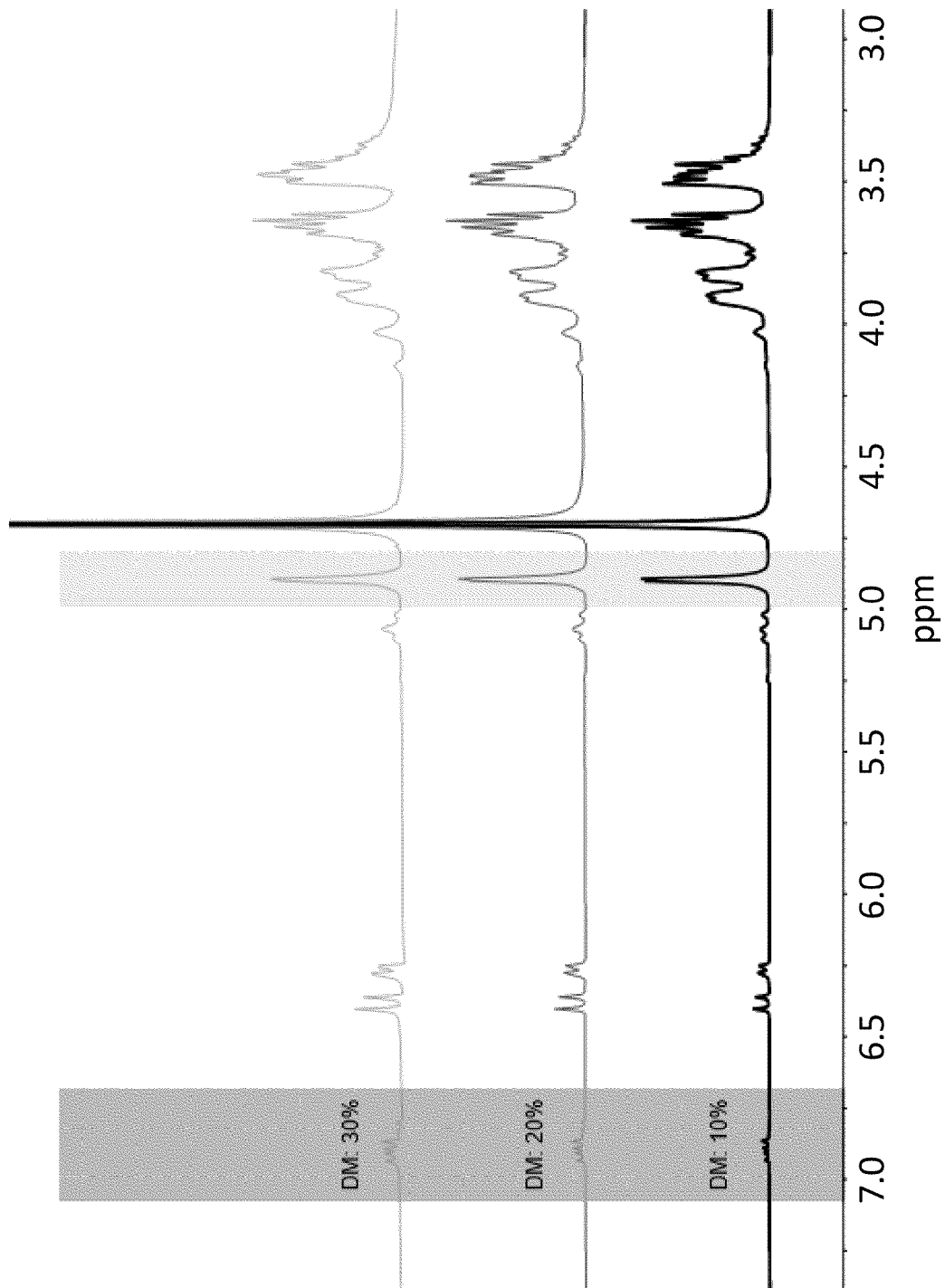
Hydrogel formation:



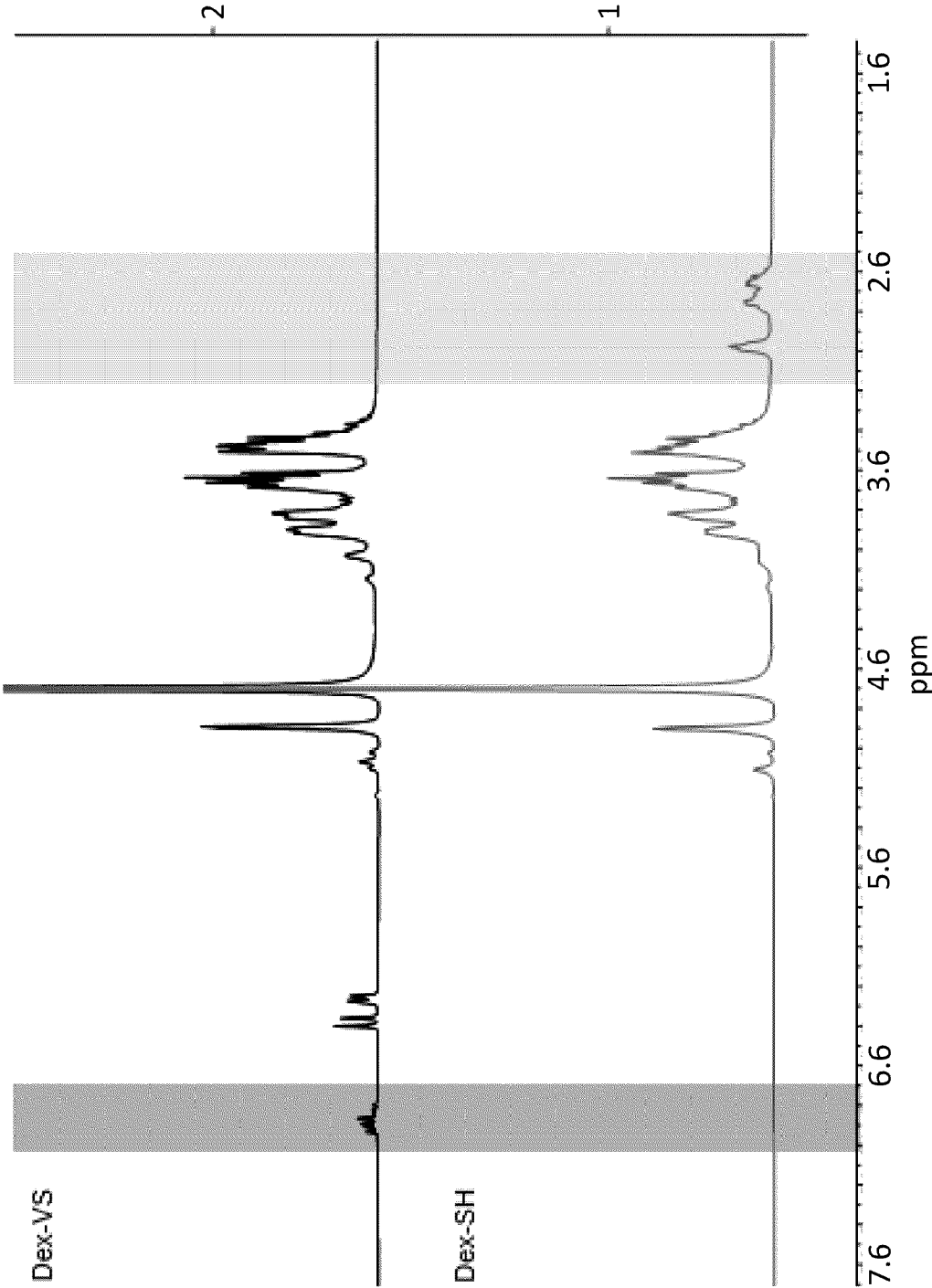
[도2b]



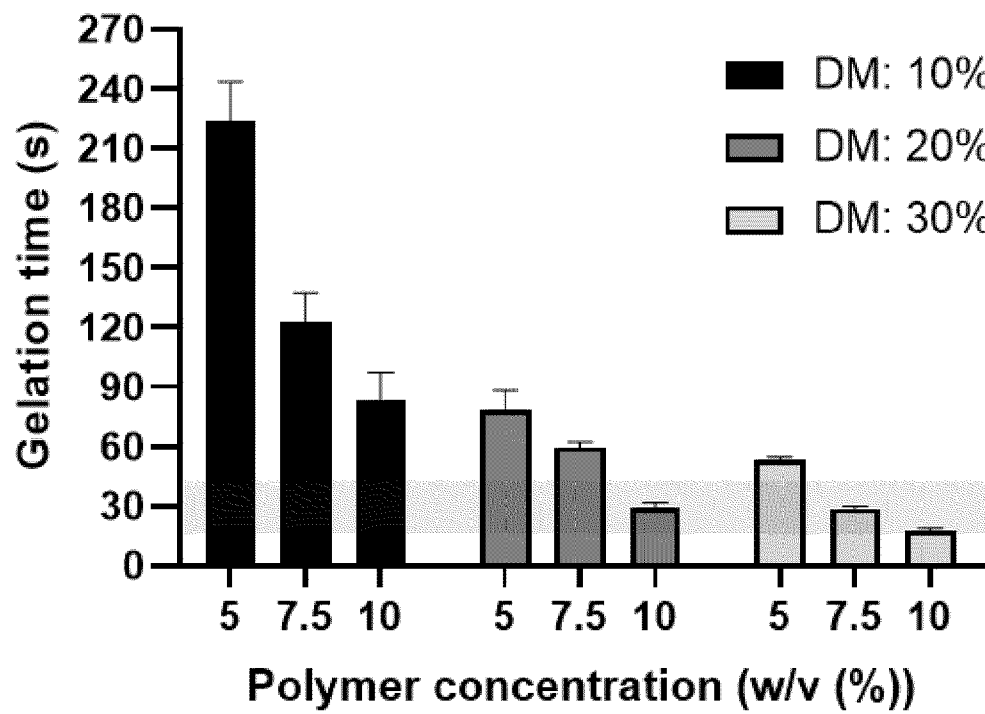
[도3]



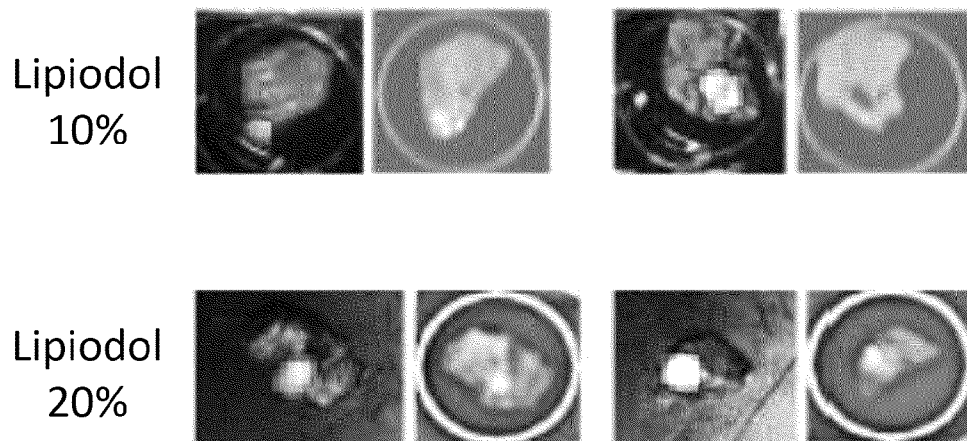
[도4]



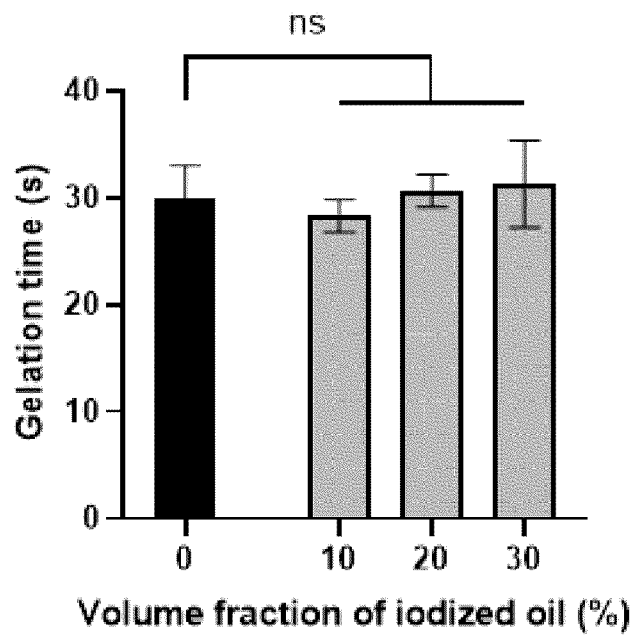
[도5]



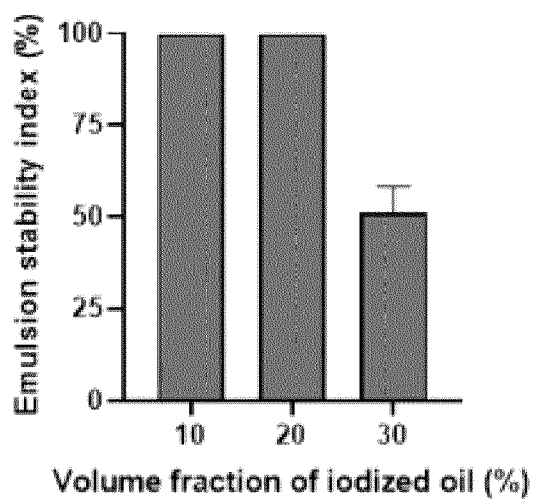
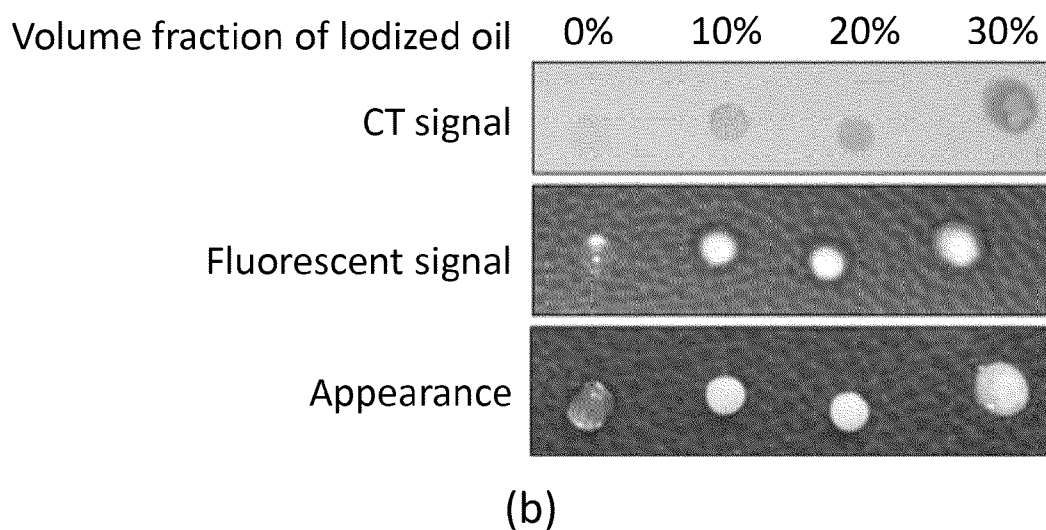
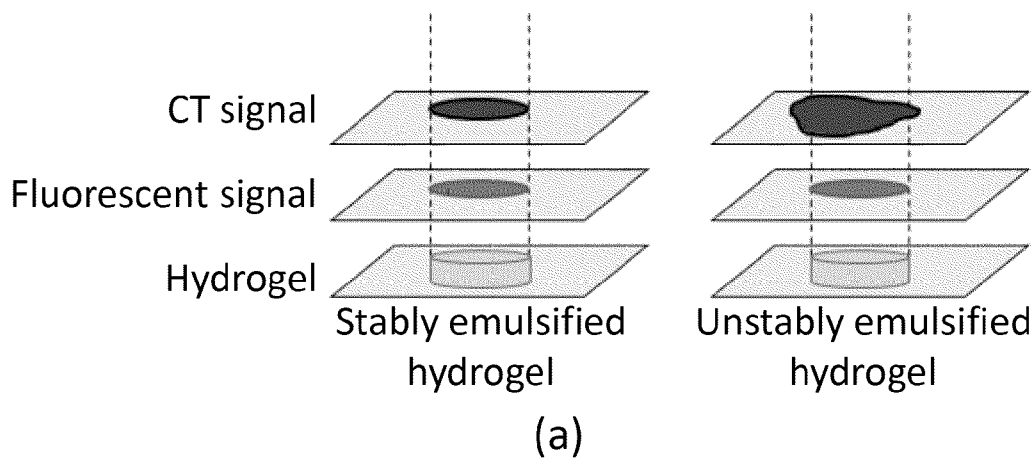
[도6]



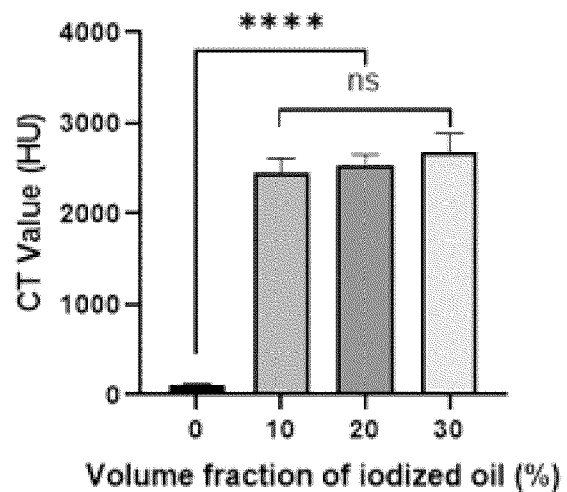
[도7]



[도8]

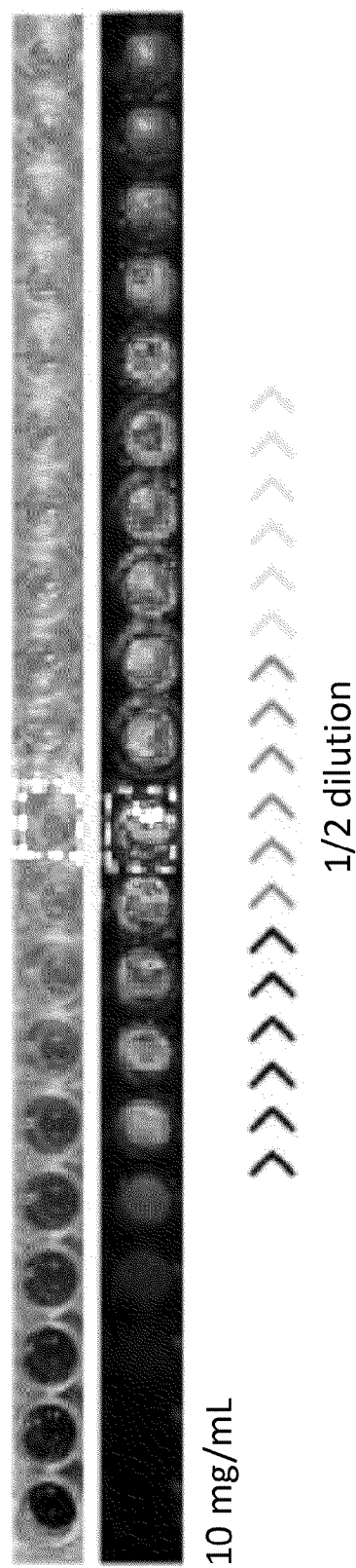


(c)

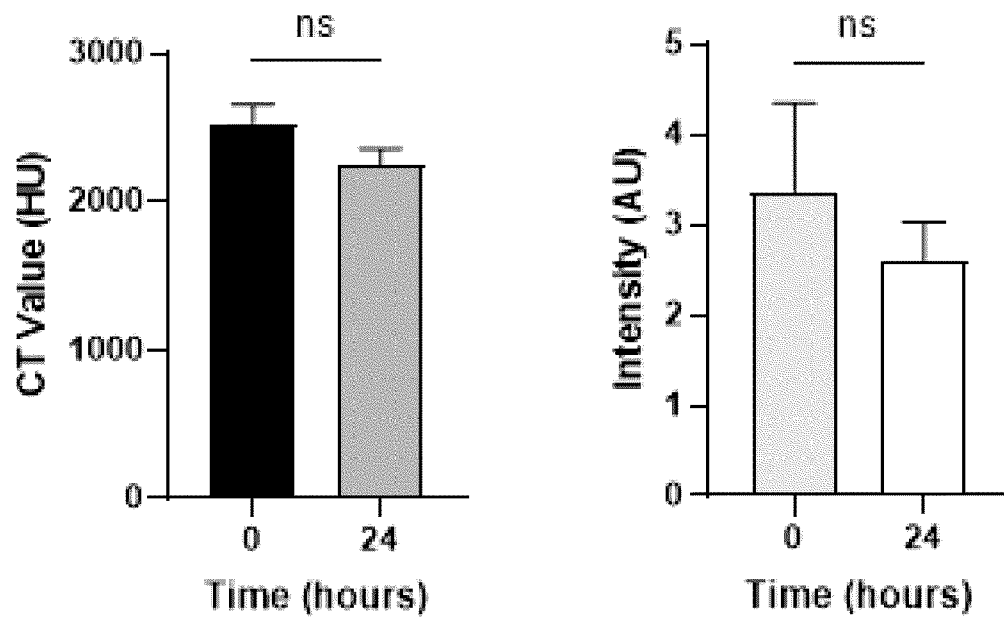


(d)

[도9]

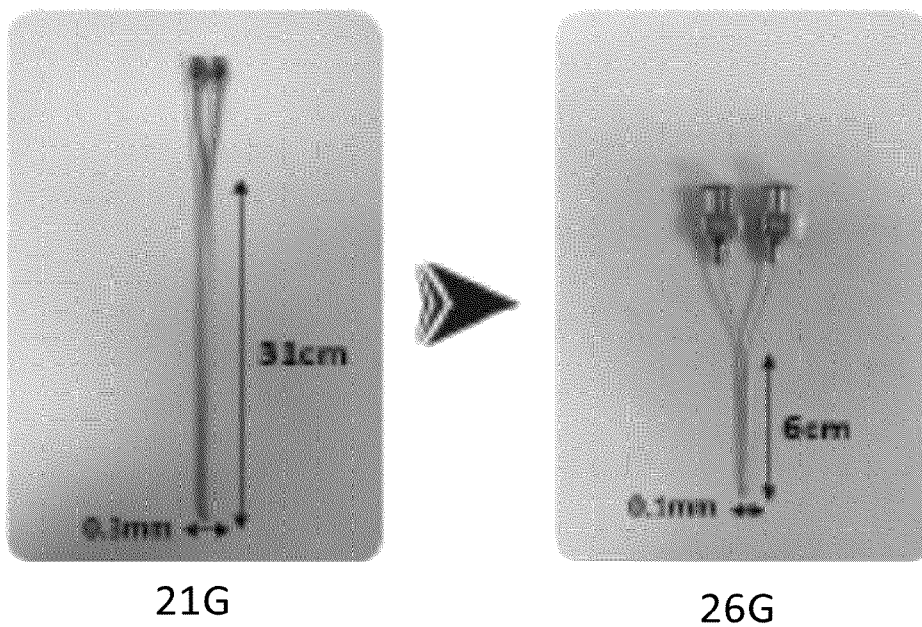


[도10]

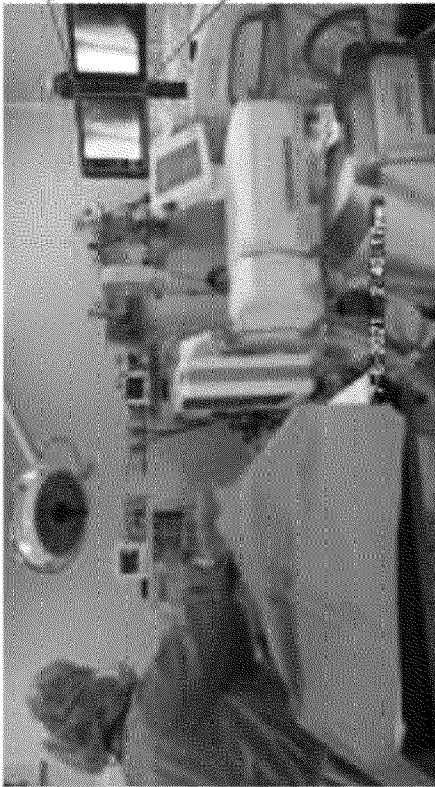
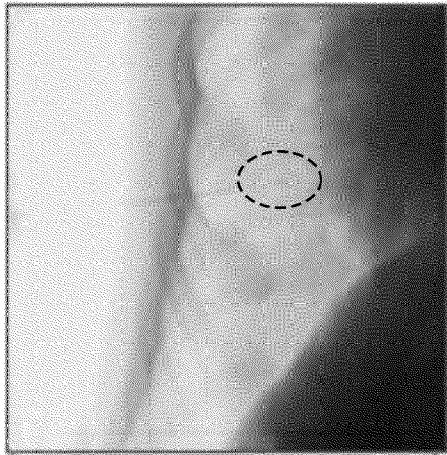


[도11]

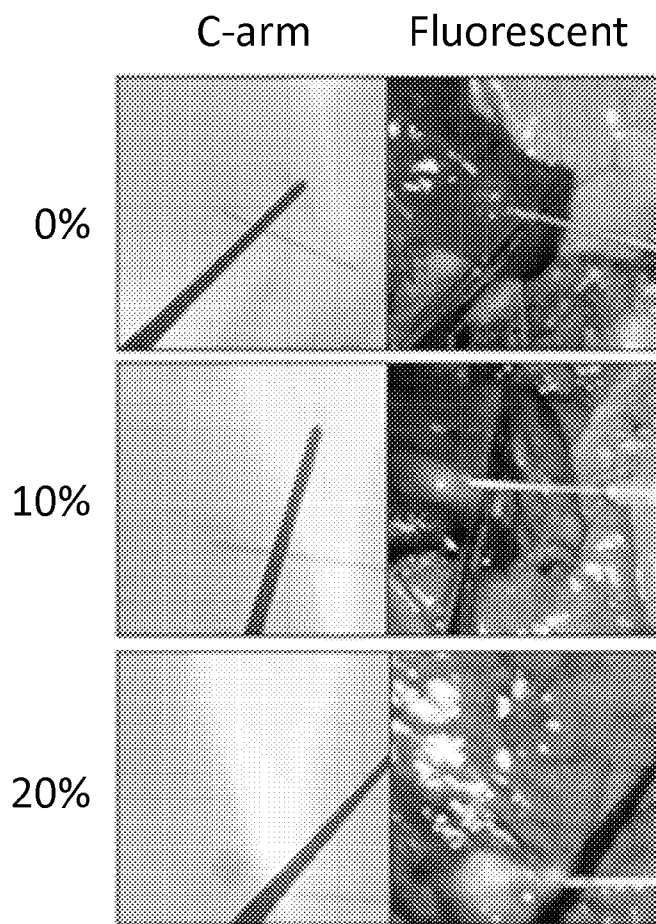
Custom-manufactured dual syringe



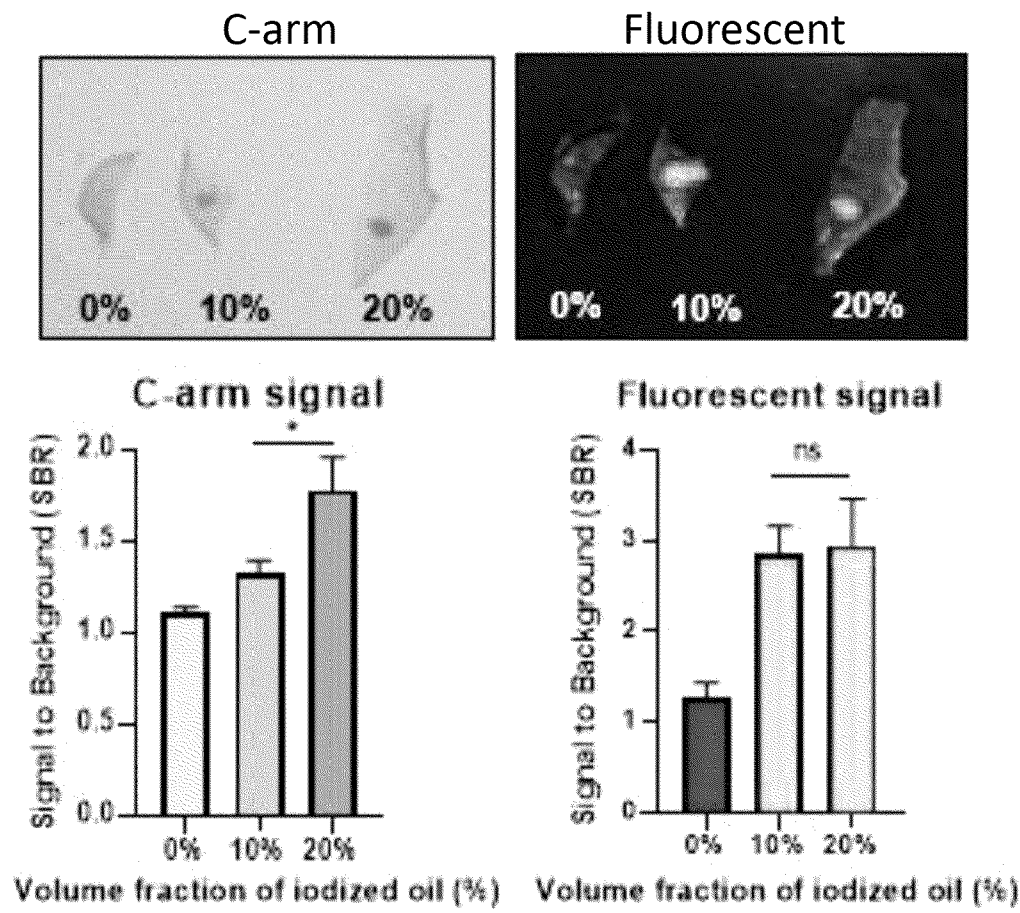
[도 12a]



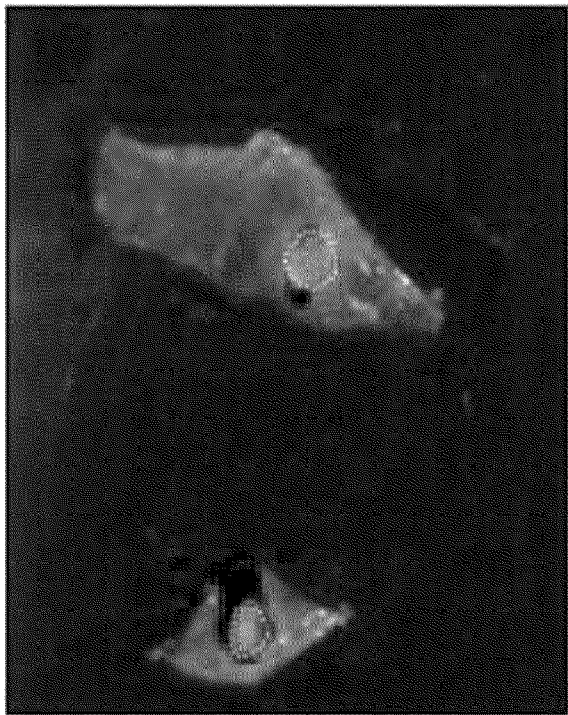
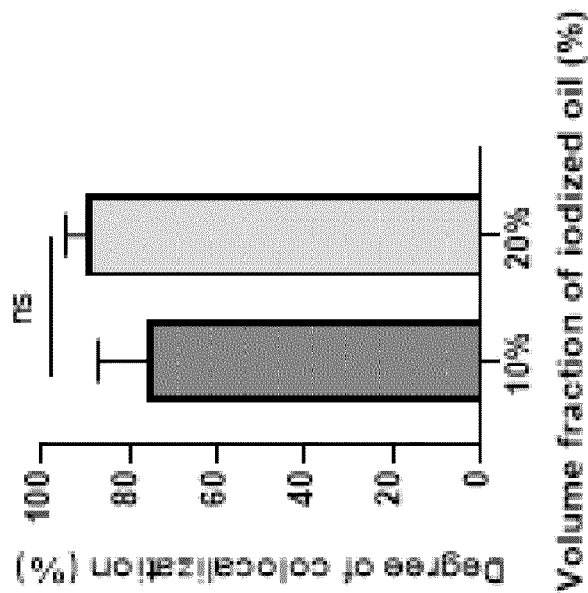
[도12b]



[도12c]



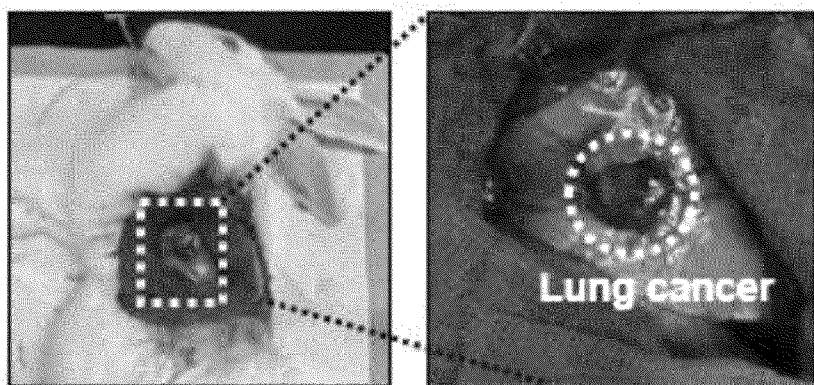
[도12d]



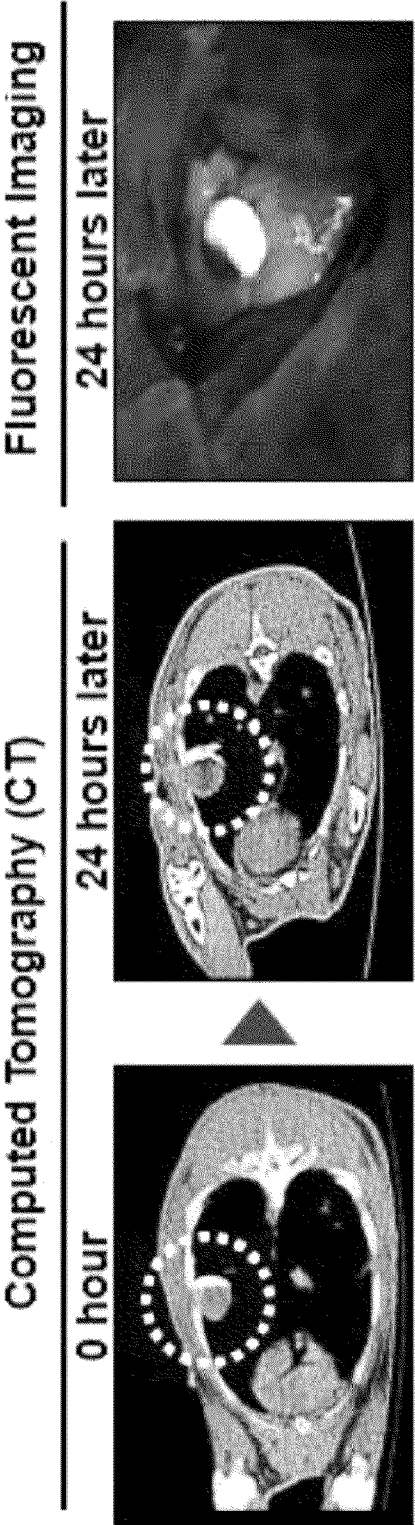
[도13a]



[도13b]

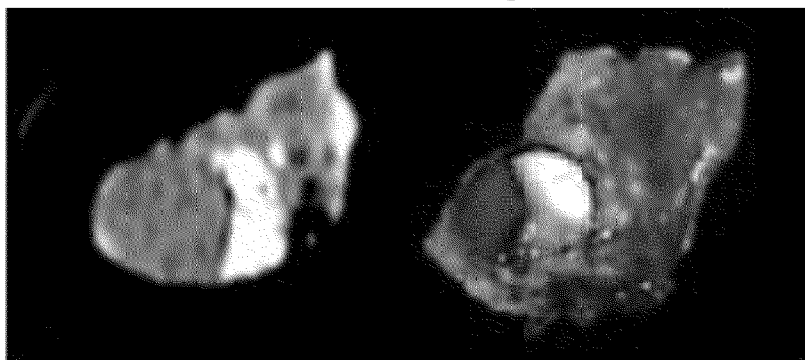


[도13c]



[도13d]

Ex-vivo image



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/095025

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 49/00(2006.01); A61K 47/36(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 49/00(2006.01); A61B 5/00(2006.01); A61K 31/403(2006.01); A61K 47/48(2006.01); A61K 9/127(2006.01) 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: 조영제 (contrast agent), 텍스트란 (dextran), 인도시아닌 그린 (indocyanine green: ICG), 아이오다이즈드오일 (iodized oil), 하이드로겔 (hydrogel)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2013-0095522 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) 28 August 2013 (2013-08-28) See abstract; paragraphs [0007]-[0008] and [0014]; and claims 1-6.	1-19
A	KR 10-2008-0019507 A (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 04 March 2008 (2008-03-04) See entire document.	1-19
A	KR 10-2020-0027895 A (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION et al.) 13 March 2020 (2020-03-13) See entire document.	1-19
A	WO 03-103631 A1 (MICRO THERAPEUTICS, INC.) 18 December 2003 (2003-12-18) See entire document.	1-19
DA	ONDA, N. et al. Preferential tumor cellular uptake and retention of indocyanine green for in vivo tumor imaging. International Journal of Cancer. 2016, vol. 139, pp. 673-682. See entire document.	1-19
☐ 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 20 May 2022		Date of mailing of the international search report 20 May 2022
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/095025

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2013-0095522	A	28 August 2013	KR	10-1454913	B1	03 November 2014
KR	10-2008-0019507	A	04 March 2008	KR	10-0825939	B1	29 April 2008
KR	10-2020-0027895	A	13 March 2020	KR	10-2021-0148966	A	08 December 2021
				US	2020-0101175	A1	02 April 2020
WO	03-103631	A1	18 December 2003	AU	2003-239390	A1	22 December 2003
				EP	1509202	A1	02 March 2005
				JP	2005-530815	A	13 October 2005
				US	2003-0228273	A1	11 December 2003
				US	7459142	B2	02 December 2008

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 49/00(2006.01)i; A61K 47/36(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 49/00(2006.01); A61B 5/00(2006.01); A61K 31/403(2006.01); A61K 47/48(2006.01); A61K 9/127(2006.01) 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: 조영제 (contrast agent), 덱스트란 (dextran), 인도시아닌 그린 (indocyanine green: ICG), 아이오다이즈드오일 (iodized oil), 하이드로겔 (hydrogel)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2013-0095522 A (한국생명공학연구원) 2013.08.28 요약, 단락 [0007]-[0008], [0014]; 청구항 1-6	1-19
A	KR 10-2008-0019507 A (한국과학기술원) 2008.03.04 전체문헌	1-19
A	KR 10-2020-0027895 A (고려대학교 산학협력단 등) 2020.03.13 전체문헌	1-19
A	WO 03-103631 A1 (MICRO THERAPEUTICS, INC.) 2003.12.18 전체문헌	1-19
DA	ONDA, N. 등, 'Preferential tumor cellular uptake and retention of indocyanine green for in vivo tumor imaging', International Journal of Cancer, 2016, 139권, 페이지 673-682 전체문헌	1-19
☐ 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 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 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 2022년05월20일(20.05.2022)		국제조사보고서 발송일 2022년05월20일(20.05.2022)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0095522 A	2013/08/28	KR 10-1454913 B1	2014/11/03
KR 10-2008-0019507 A	2008/03/04	KR 10-0825939 B1	2008/04/29
KR 10-2020-0027895 A	2020/03/13	KR 10-2021-0148966 A	2021/12/08
		US 2020-0101175 A1	2020/04/02
WO 03-103631 A1	2003/12/18	AU 2003-239390 A1	2003/12/22
		EP 1509202 A1	2005/03/02
		JP 2005-530815 A	2005/10/13
		US 2003-0228273 A1	2003/12/11
		US 7459142 B2	2008/12/02