(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년04월08일
(11) 등록번호 10-2237929
(24) 등록일자 2021년04월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/22 (2017.01) *A61K 31/704* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61K 47/54* (2017.01)
A61K 47/69 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 31/704 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0143949
(22) 출원일자 2019년11월12일
심사청구일자 2019년11월12일
(56) 선행기술조사문헌
비특허문헌 1 (ADV. FUNCT. MATER., 2015)
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 12 항

(73) 특허권자
인천대학교 산학협력단
인천광역시 연수구 아카데미로 119 (송도동)
(72) 발명자
이원종
대전광역시 유성구 엑스포로 448, 102동 202호(전민동, 엑스포아파트)
김하늘
인천광역시 서구 심곡로208번길 8-10, 가동 302호(공촌동, 동원빌라)
(74) 대리인
특허법인충현

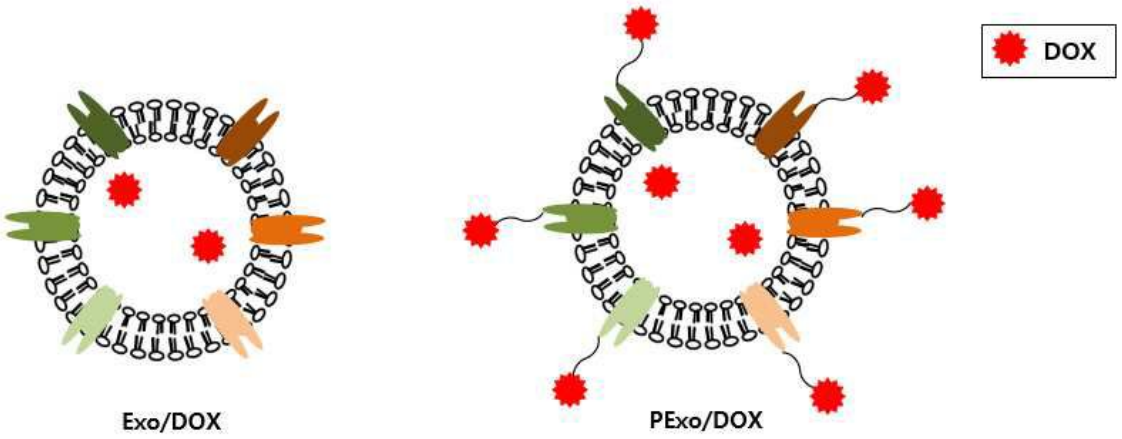
심사관 : 양웅철

(54) 발명의 명칭 **보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체 및 이를 포함하는 약물 전달체**

(57) 요 약

본 발명은 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 함유하는 약물전달체, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 약학조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 독소루비신을 포함한 여러 저분자 화합물에 결합하는 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 제조하고, 이를 이용하여 유효약물이 세포밖 소포체의 내부에 포집됨과 동시에 세포밖 소포체의 표면에도 결합함으로써 그 탑재량이 더욱 향상된 약물 전달체 및 이를 포함하는 약학조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/24 (2013.01)
A61K 47/46 (2013.01)
A61K 47/54 (2017.08)
A61K 47/545 (2017.08)
A61K 47/6901 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)

(56) 선행기술조사문헌
비특허문헌 2 (APPLIED BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2019)
KR1020190075389 A
KR1020170129463 A
US6051251 A

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	NRF-2019R1A2C1003111
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자 지원사업
연구과제명	천연 나노 입자 엑소좀 기반 고효율 표적 항암 치료제 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	인천대학교 산학협력단
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.29

명 세 서

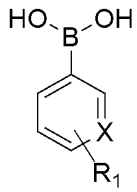
청구범위

청구항 1

40 내지 200 ㎚의 직경을 가지는 세포밖 소포체; 및

하기 화학식 1로 표시되는 화합물;을 포함하는 약물전달체.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, X는 질소 또는 탄소이고, R_1은 수소, NHR_2(R_2는 수소 또는 C_1-C_3알킬이다) 또는 카르복시기이며, X가 질소인 경우 R_1은 파라(para) 위치에 결합한다.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 세포밖 소포체는 면역세포 유래 세포밖 소포체인 것을 특징으로 하는 약물전달체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 X는 질소이고, 상기 R_1은 NH_2 또는 카르복시기인 것을 특징으로 하는 약물전달체.

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 상기 세포밖 소포체의 표면 단백질에 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 약물전달체.

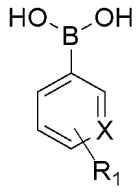
청구항 6

40 내지 200 ㎚의 직경을 가지는 세포밖 소포체;

하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 및

상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 결합된 유효약물을 포함하는 종양의 예방 또는 치료용 약학조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, X는 질소 또는 탄소이고, R_1은 수소, NHR_2(R_2는 수소 또는 C_1-C_3알킬이다) 또는 카르복시기이며, X가 질소인 경우 R_1은 파라(para) 위치에 결합한다.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 유효약물은 독소루비신, 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 발루비신, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 게피티니브, 보르테조밉, 수니티닙, 카보플라틴, 시스플라틴, 비스쿰알붐, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겜투주맵오조가마이신, 헵타플라틴, 메칠아미노레불린산, 암사크린, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀뮴 키토산, 젬시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토푸린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부설판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레트민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토락톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토락톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴 중에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 종양은 종양 세포 내에서 시알산(sialic acid)이 고발현되는 것을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 종양은 전립선암, 신장 세포암종, 간암, 폐암, 유방암, 대장암, 신경아세포종, 다형성신경교아종(glial blastoma multiforme), NUT 정중선 종양(NUT midline carcinoma) 및 NUT 재배열과 관련된 편평 상피암 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 10

삭제

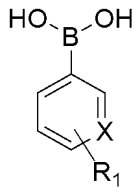
청구항 11

제1항에 따른 약물전달체의 제조방법으로서,

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride(EDC) 및 N-

Hydroxysuccinimide(NHS)를 포함하는 혼합 용액을 40 내지 200 nm의 직경을 가지는 세포밖 소포체를 포함하는 시료에 첨가하는 단계를 포함하는 약물전달체의 제조방법:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, X는 질소 또는 탄소이고, R_1은 수소, NHR_2(R_2는 수소 또는 C_1-C_3알킬이다) 또는 카르복시기이며, X가 질소인 경우 R_1은 파라(para) 위치에 결합한다.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물, EDC 및 NHS는 1 : 0.1 내지 2 : 1 내지 5의 몰비로 반응시키는 것을 특징으로 하는 약물전달체의 제조방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 혼합 용액을 상기 시료에 첨가하는 단계는 (i) 상온에서 1 내지 60 분 동안 반응시키는 단계, 및 (ii) 1 내지 10 ℃에서 1 내지 30 시간 동안 반응시키는 단계를 통하여 수행되는 것을 특징으로 하는 약물전달체의 제조방법.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 혼합 용액은 상기 세포밖 소포체를 포함하는 시료의 1 내지 10 부피%로 첨가하는 것을 특징으로 하는 약물전달체의 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 함유하는 약물전달체, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 약학조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 독소루비신을 포함한 여러 유효약물에 결합하는 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 제조하고, 이를 이용하여 유효약물이 세포밖 소포체의 내부에 포집됨과 동시에 세포밖 소포체의 표면에도 결합함으로써 그 탑재량을 더욱 향상시킨 약물전달체 및 이를 포함하는 약학조성물로 응용하는 기술에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 세포밖 소포체는 다양한 크기를 가지며, 특히 이중 크기가 가장 작은 엑소좀(exosome)은 40 ~ 200 nm의 작은 세포막성 수포이다. 세포밖 소포체는 인간과 동물은 물론, 곤충, 식물, 미생물 세포에서 분비된다. 특히 이들은 세포가 갖고 있는 단백질, 핵산, 지질, 탄수화물 등 특정 분자들을 포함하고 있으며, 지질 이중층으로 둘러싸여 있어 이들 분자들을 안정적으로 보호하면서, 분비 후 다른 세포로 이들을 전달할 수 있는 특징이 있다. 생체 내

혈액, 소변, 침 등과 같은 체액에서 고농도로 발견되는 세포밖 소포체는의 이런 특징으로 인해 새로운 생물학적 소재로서 가능성을 갖고 있다.

[0003] 한편, 페닐보론산은 정상세포보다는 암세포의 표면에 더 고발현 되어있는 시알산(sialic acid)과 결합하여 세포가 외부물질을 흡수하는 것을 유도하도록 하는 방식으로 많이 쓰이는 화합물이다. 현재까지 고분자, 금속 나노입자, 탄소 나노입자, 무기물을 포함하는 인위적으로 제작한 전달체(carrier)에 부착되어 유효약물을 암세포에만 선택적으로 전달할 수 있도록 하는 데 쓰이고 있다.

[0004] 종래에는 막에 162 번째 아미노산인 히스티딘이 아르기닌으로 치환된 VSV-G 변이체 단백질이 도입된 엑소좀에 독소루비신, 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 픽산트론, 사바루비신, 발루비신, 파클리탁셀 또는 도세탁셀을 포함한 항암제를 탑재한 지질 이중막 약물전달체 및 이를 포함하는 암치료용 약학조성물이 공지된 바 있고, 또한, 페닐보론산이 결합된 말레산 무수물 중합체를 포함하는 약물전달체 및 이를 포함하는 간암 치료용 약학조성물이 공지된 바 있다. 그러나, 현재까지는 생체유래 나노베지클(nanovesicle) 전달체에는 적용된 사례가 전무한 실정이다.

[0005] 따라서, 본 발명자는 독소루비신을 포함한 여러 유효약물에 결합하는 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 제조하고, 이를 이용하여 유효약물이 세포밖 소포체의 내부에 포집됨과 동시에 세포밖 소포체의 표면에도 결합함으로써 그 탑재량을 더욱 향상시킨 약물전달체 및 이를 포함하는 약학조성물로 응용할 수 있음에 착안하여 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

[0006] 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.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 한국 공개특허 공보 제10-2019-0037163호

(특허문헌 0002) 특허문헌 2. 한국 공개특허 공보 제10-2019-0075389호

발명의 내용

해결하려는 과제

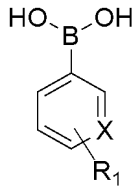
[0008] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 고려하여 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 독소루비신을 포함한 여러 유효약물에 결합하는 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 제조하고, 이를 이용하여 유효약물이 세포밖 소포체의 내부에 포집됨과 동시에 세포밖 소포체의 표면에도 결합함으로써 그 탑재량을 더욱 향상시킨 약물전달체 및 이를 포함하는 약학조성물로 응용하고자 하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 세포밖 소포체; 및 하기 화학식 1로 표시되는 화합물;을 포함하는 약물전달체에 관한 것이다.

[0011] **[화학식 1]**

[0012] 

[0013] 상기 화학식 1에서, X는 질소 또는 탄소이고, R_1은 수소, NHR_2(R_2는 수소 또는 C_1-C_3알킬이다) 또는 카르복시기이며, X가 질소인 경우 R_1은 파라(para) 위치에 결합한다.

[0014] 본 발명의 다른 측면은 세포밖 소포체; 상기 화학식 1로 표시되는 화합물; 및 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 결합된 유효약물을 포함하는 종양의 예방 또는 치료용 약학조성물에 관한 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride(EDC) 및 N-Hydroxysuccinimide(NHS)를 포함하는 혼합 용액을 세포밖 소포체를 포함하는 시료에 첨가하는 단계를 포함하는 약물전달체의 제조방법에 관한 것이다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따르면, 독소루비신을 포함한 여러 유효약물에 결합하는 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 제조하고, 이를 이용하여 유효약물이 세포밖 소포체의 내부에 포집됨과 동시에 세포밖 소포체의 표면에도 결합함으로써 그 탑재량이 더욱 향상된 약물전달체 및 이를 포함하는 약학조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1a는 본 발명의 실시예에 따라 아미노기가 달린 페닐보론산(APBA) 및 엑소좀의 EDC-NHS Coupling 반응에 의해 페닐보론산이 결합된 엑소좀(APExo)이 형성되는 반응 메커니즘을 나타낸 모식도이다.

도 1b는 본 발명의 실시예에 따라 카르복시기가 달린 페닐보론산(CPBA) 및 엑소좀의 EDC-NHS Coupling 반응에 의해 페닐보론산이 결합된 엑소좀(CPExo)이 형성되는 반응 메커니즘을 나타낸 모식도이다.

도 2는 본 발명의 본 발명의 실시예에 따라 엑소좀 표면의 단백질에 존재하는 반응기(NH_2- 또는 COOH-)를 이용하여 페닐보론산을 결합시키는 과정을 나타낸 모식도이다.

도 3은 본 발명의 실시예에 따라 제조된 보론산 화합물이 결합된 엑소좀(PExo) 및 종래 엑소좀에 DOX를 처리하여 탑재한 결과를 나타낸 모식도이다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따라 DMSO 용액에 보론산 화합물인 APBA 및 CPBA의 양이 각각 3.5 mg 및 2.5 mg으로 용해되어 있는 혼합용액을 엑소좀 용액의 4 부피% 만큼 첨가하였을 경우 한외여과 세척 후의 수득률을 나타낸 그래프이다[대조군: 종래 엑소좀(Exo)].

도 5a는 종래 엑소좀의 나노입자 추적분석(NTA)을 통한 입자 크기 분포도이다[엑소좀 4.09 × 10^8 입자/ml].

도 5b는 본 발명의 실시예에 따라 제조된 아미노기가 달린 보론산 화합물(APBA)이 결합된 엑소좀(APExo)의 나노입자 추적분석(NTA)을 통한 입자 크기 분포도이다[APExo, 6.73 × 10^8 입자/ml].

도 5c는 본 발명의 실시예에 따라 제조된 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo)의 나노입자 추적분석(NTA)을 통한 입자 크기 분포도이다[CPExo, 3.53 × 10^8 입자/ml].

도 6은 본 발명의 실시예에 따라 제조된 아미노기가 달린 보론산 화합물(APBA)이 결합된 엑소좀(APExo), 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo) 및 종래 엑소좀에 각각 독소루비신(DOX)를 로딩하여 그 로딩정도를 상대비교한 그래프이다.

도 7은 본 발명의 실시예에 따라 제조된 아미노기가 달린 보론산 화합물(APBA)이 결합된 엑소좀(APExo), 카르복

시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo) 및 종래 엑소좀(Exo)의 DOX의 첨가 농도에 따른 DOX 로딩(또는 결합) 농도를 비교한 그래프이다.

도 8a는 종래 엑소좀(Exo)에 독소루비신(DOX)을 탑재한 약물전달체와 Free DOX 및 대조군(종래 엑소좀)의 WST Assay 방법을 이용하여 세포활성 정도를 비교한 것으로, O.D 수치를 기반으로하여 생존률(%)로 환산하여 나타냈으며, Free DOX의 농도를 종래 엑소좀(Exo/DOX)에 로딩된 DOX의 양만큼 처리한 경우의 그래프이다.

도 8b는 도 8a와 동일한 조건으로 세포활성 정도를 비교하되, Free DOX의 농도를 APExo/DOX에 로딩된 DOX의 양만큼 처리한 경우의 그래프이다.

도 8c는 엑소좀(EXo)의 개수를 약 4 배 많게 처리하여 비교한 것으로 Free DOX의 농도는 APExo/DOX에 로딩된 DOX의 양만큼 처리하였고, Exo/DOX 또한 개수를 기준으로 동량을 처리한 경우의 그래프이다.

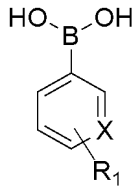
도 9는 본 발명의 실시예에 따른 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo) 및 종래 엑소좀(Exo)에 독소루비신(DOX)를 탑재한 약물전달체와 Free DOX 및 대조군(종래 엑소좀)의 WST Assay 방법을 이용하여 세포활성 정도(생존률)를 비교한 것으로, Free DOX의 농도를 CPExo/DOX에 로딩된 DOX의 양만큼 처리한 경우의 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하에서, 본 발명의 여러 측면 및 다양한 구현예에 대해 더욱 구체적으로 설명한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0019] 본 발명의 일 측면은 세포밖 소포체; 및 하기 화학식 1로 표시되는 화합물;을 포함하는 약물전달체에 관한 것이다.

[0020] **[화학식 1]**

[0021] 

[0022] 상기 화학식 1에서, X는 질소 또는 탄소이고, R_1은 수소, NHR_2(R_2는 수소 또는 C_1-C_3알킬이다) 또는 카르복시기이며, X가 질소인 경우 R_1은 파라(para) 위치에 결합한다. 구체적으로, 상기 파라 위치는 보론산($B(OH)_2$)이 결합된 탄소로부터 파라 위치이다.

[0023] 본 발명자들은 세포밖 소포체를 이용하여 유효약물, 구체적으로는 항 종양제를 다량으로 탑재하고 이를 종양세포로 효율적으로 전달하기 위한 우수한 약물 전달체를 개발하기 위하여 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 독소루비신을 다양한 저분자 화합물에 결합하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물이 결합된 세포밖 소포체를 제조할 경우, 이를 이용하여 유효약물이 세포밖 소포체의 내부에 포집됨과 동시에 세포밖 소포체의 표면에도 결합함으로써 그 탑재량을 더욱 향상될 수 있음에 착안하여 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

[0024] 본 명세서에서 용어 "알킬"은 직쇄 또는 분쇄의 포화 탄화수소기를 의미하며, C_1-C_3 알킬은 탄소수 1 내지 3의 알킬 유니트를 가지는 알킬기를 의미하며, C_1-C_3 알킬이 치환된 경우 치환체의 탄소수는 포함되지 않은 것이다.

[0025] 본 명세서에서 용어 "세포밖 소포체(extracellular vesicle)"는 다양한 세포들로부터 분비되는 막 구조의 작은 소낭을 의미하며, 대략 30 내지 1,000 ㎚ 범위의 직경을 가지고, 다낭체와 원형질막의 융합을 통해 세포 밖 환경으로 방출된다.

[0026] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 세포밖 소포체는 면역세포 유래 세포밖 소포체일 수 있다. 특히, 면역세포 유래 세포밖 소포체, 구체적으로는 면역세포 유래 엑소좀의 경우 종양 세포를 스스로 찾아가는 종양세포 표적 특성을 갖아 그 자체로서 암세포에 더 잘 흡수(uptake)되는 것으로 입증된 바가 있으므로, 면역세포 유래 엑소좀에 상기 화학식 1 화합물을 결합하여 유효약물 탑재기능 및 종양세포 표적 효과가 향상된 약물전달체로 응용할 수 있다.

[0027] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 X는 질소이고, 상기 R_1은 NH_2 또는 카르복시기일 수 있다.

[0028] 본 명세서에서 용어 "약물 전달체"는 스스로는 약리활성을 가지지 않거나 혹은 약리활성을 가지더라도 별도의 약리성분을 탑재하여 병변 부위 또는 목적 세포까지 이동함으로써 탑재된 약리성분의 약리활성을 더욱 증진시키기 위한 여하한 형태의 담체를 의미한다.

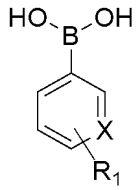
[0029] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 세포밖 소포체의 직경은 40 내지 200 nm인 엑소좀일 수 있고, 보다 구체적으로는 50 내지 150 nm의 직경을 가질 수 있다. 상기 엑소좀은 생체유래 나노베지클(nanovesicle)로서, 그 세포막에 있는 MHC가 면역세포들을 회피하도록 돕기 때문에 그 자체로 다른 고분자 또는 무기질 나노입자에 비하여 면역거부 반응이 덜하다. 이에 따라 혈액 속에서도 오랫동안 분해되지 않고 순환하면서 CTC(circulating tumor cell)까지 전달될 수 있다. 또한, 엑소좀은 그 막 표면에 다양한 수용체(receptor)와 단백질들이 존재하기 때문에 엑소좀과 유사한 지질 이중막(bilayer lipid)을 갖는 리포솜(liposome)보다 세포에 더 잘 흡수(uptake)되며, 독성 또한 낮은 것으로 이미 밝혀진 바 있다. 이에 따라, 엑소좀의 전달체로서의 기능은 리포솜과 다른 양상으로 일어나며, 효율에서도 차이가 크다. 또한, 리포솜에는 엑소좀의 세포막에 존재하는 다양한 리셉터 또는 단백질들이 존재하지 않기 때문에 상기한 이점을 가질 수 없다.

[0030] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 상기 세포밖 소포체의 표면 단백질에 결합되어 있을 수 있다(도 1 내지 3 참조).

[0031] 본 명세서에서 용어 "결합"은 두 분자 간 상호작용에 의해 화학적, 물리적 연결이 형성되는 것을 의미하며, 공유결합과 비공유결합을 모두 포괄하는 의미이다. 용어 "비공유결합"은 흡착(adsorption), 응집(cohesion), 사슬엉킴(entanglement) 및 잡힘(entrapment) 등과 같은 물리적 결합뿐만 아니라, 수소결합, 이온결합 및 반데르발스결합과 같은 상호작용이 단독으로 또는 상기 물리적 결합과 함께 작용하여 발생되는 결합을 포함하는 개념이다. 본 발명의 화학식 1 화합물은 세포밖 소포체 표면 단백질의 다양한 활성 작용기와 반응할 수 있으며, 구체적으로는 카르복시기와 반응하여 결합을 형성할 수 있다.

[0032] 본 발명의 다른 측면은 세포밖 소포체; 하기 화학식 1로 표시되는 화합물; 및 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 결합된 유효약물을 포함하는 종양의 예방 또는 치료용 약학조성물에 관한 것이다.

[0033] **[화학식 1]**

[0034] 

[0035] 본 발명의 화학식 1 화합물 및 세포밖 소포체에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0036] 본 명세서에서 용어 "치료"는 (a) 질환, 질병 또는 증상의 발전의 억제; (b) 질환, 질병 또는 증상의 경감; 또는 (c) 질환, 질병 또는 증상을 제거하는 것을 의미한다.

[0037] 본 발명의 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 결합된 유효약물이 종양세포의 활성을 억제하거나, 이를 제거하거나 또는 경감시키는 역할을 한다. 따라서, 본 발명의 조성물은 그 자체로 이들 질환 치료의 조성물이 될 수도 있고, 혹은 다른 약리성분과 함께 투여되어 상기 질환에 대한 치료 보조제로 적용될 수도 있다. 이에, 본 명세서에서 용어 "치료" 또는 "치료제"는 "치료 보조" 또는 "치료 보조제"의 의미를 포함한다.

[0038] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 유효약물은 독소루비신, 다우노루비신, 에피루비신, 이다루비신, 발루비신, 나이트로젠 머스타드, 이마티닙, 옥살리플라틴, 엘로티닙, 네라티닙, 라파티닙, 제피티닙, 반데타닙, 니로티닙, 세마사닙, 보수티닙, 악시티닙, 세디라닙, 레스타우르티닙, 게피티니브, 보르테조밉, 수니티닙, 카보플라틴, 시스플라틴, 비스쿰알붐, 아스파라기나제, 트레티노인, 하이드록시카바마이드, 다사티닙, 에스트라머스틴, 겜투주맵오조가마이신, 헵타플라틴, 메칠아미노레불린산, 암사크린, 프로카르바진, 알프로스타딜, 질산홀뮴키토산, 젬시타빈, 독시플루리딘, 페메트렉세드, 테가푸르, 카페시타빈, 기메라신, 오테라실, 아자시티딘, 메토트렉세이트, 우라실, 시타라빈, 플루오로우라실, 플루다가빈, 에노시타빈, 플루타미드, 데시타빈, 머캅토푸린, 티오구아닌, 클라드리빈, 카르모퍼, 랄티트렉세드, 도세탁셀, 파클리탁셀, 이리노테칸, 벨로테칸, 토포테칸, 비

노렐빈, 에토포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 테니포시드, 미톡산트론, 미토마이신, 블레로마이신, 닥티노마이신, 피라루비신, 아클라루비신, 페프로마이신, 템시롤리무스, 테모졸로마이드, 부설판, 이포스파미드, 사이클로포스파미드, 멜파란, 알트레트민, 다카바진, 치오테파, 니무스틴, 클로람부실, 미토락톨, 레우코보린, 트레토닌, 엑스메스탄, 아미노글루테시미드, 아나그렐리드, 나벨빈, 파드라졸, 타목시펜, 토레미펜, 테스토락톤, 아나스트로졸, 레트로졸, 보로졸, 비칼루타미드, 로무스틴 및 카르무스틴 중에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 구체적으로는 상기 화학식 1 화합물에 결합 또는 엑소좀 내에 탑재 가능한 유효약물로서, 화학식 1의 보론산($-B(OH)_2$)의 하나 또는 두 개의 하이드록시기와 반응할 수 있는 저분자 화합물이라면 제한없지 사용 가능하다. 더욱 구체적으로는, 본 발명의 유효 약물은 독소루비신이다.

[0039] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 종양은 종양 세포 내에서 시알산(sialic acid)이 고발현되는 것일 수 있다. 상기 화학식 1로 표현되는 화합물은 종양 세포의 표면에 존재하는 시알산을 표적으로 결합할 수 있어, 종양 세포 내에서 고발현되는 시알산에 결합하여 세포가 외부물질을 흡수(uptake)하는 것을 유도할 수 있다.

[0040] 본 명세서에서 용어 "고발현(overexpression)"이란 본 발명의 조성물이 사멸시키고자 하는 종양세포로 특이적, 선택적으로 전달될 수 있을 정도로 시알산이 유의적으로 높게 발현되는 것을 의미한다. 구체적으로는 정상세포(대조군)에 비하여 시알산의 발현 정도가 20% 이상 증가한 상태, 보다 구체적으로는 40% 이상 증가한 상태, 더욱 구체적으로는 60% 이상 증가한 상태를 의미할 수 있다.

[0041] 본 명세서에서 용어 "종양"은 체내의 세포가 자율성을 가지고 과잉으로 발육 또는 증식한 비정상적인 상태 또는 병태를 의미하며, 전립선암, 신장 세포암종, 간암, 폐암, 유방암, 대장암, 신경아세포종, 다형성신경교아종(glial blastoma multiforme), NUT 정중선 종양(NUT midline carcinoma) 및 NUT 재배열과 관련된 편평 상피암을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명에 따른 종양의 예방 또는 치료용 약학조성물은 다양한 경구 또는 비경구 투여 형태로 제형화할 수 있다.

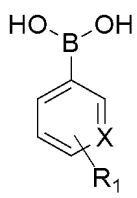
[0043] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경질, 연질 캅셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제 및 감미제를 함유할 수 있다. 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0044] 또한, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제제이며, 주사용 제제의 용매로서 물, 링거액, 등장성 생리식염수 또는 현탁액을 들 수 있다. 상기 주사용 제제의 멸균 고정 오일은 용매 또는 현탁 매질로서 사용할 수 있으며 모노-, 디-글리세라이드를 포함하여 어떠한 무자극성 고정오일도 이러한 목적으로 사용될 수 있다. 또한, 상기 주사용 제제는 올레산과 같은 지방산을 사용할 수 있다.

[0045] 또한, 본 발명에 따른 종양의 예방 또는 치료용 약학조성물물의 투여량은 환자의 연령, 성별, 체중, 질환의 중증도에 따라 달라지나, 본 발명의 약학조성물은 환자의 체중 1 kg 당 300 mg 이하, 바람직하게는 100 내지 200 mg을 1 일 1 내지 4 회 투여하나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0046] 본 발명의 또 다른 측면은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride(EDC) 및 N-Hydroxysuccinimide(NHS)를 포함하는 혼합 용액을 세포밖 소포체를 포함하는 시료에 첨가하는 단계를 포함하는 약물전달체의 제조방법에 관한 것이다.

[0047] **[화학식 1]**

[0048] 

[0049] 본 발명의 화학식 1 화합물에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0050] 상기 화학식 1에는 $-NH_2$, $-NHR_2$ 또는 카르복시기가 이미 존재하기 때문에, 인위적으로 관능기를 부착하는 화학적 변형 과정을 생략할 수 있다. 상기 제조방법에서는 상기 화학식 1 화합물에 존재하는 $-NH_2$, $-NHR_2$ 또는 카르복시기에 의한 세포밖 소포체와의 EDC-NHS 커플링 반응을 수행하여 상기 화학식 1 화합물을 결합할 수 있다(도 1a 및 1b 참조).

[0051] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, EDC 및 NHS는 1 : 0.1 내지 2 : 1 내지 5의 몰 비, 보다 구체적으로는 1 : 0.5 내지 1.8 : 1.5 내지 3의 몰비, 더욱 구체적으로는 1 : 1 내지 1.5 : 2 내지 2.5의 몰비로 반응시키는 것일 수 있다.

[0052] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 반응은 (ⅰ) 상온에서 1 내지 60 분, 보다 구체적으로는 5 내지 30 분, 더욱 구체적으로는 10 내지 20 분 동안 반응시키는 단계, 및 (ii) 1 내지 10 ℃, 보다 구체적으로는 2 내지 8 ℃, 더욱 구체적으로는 4 내지 6 ℃에서 1 내지 30 시간, 보다 구체적으로는 5 내지 20 시간, 더욱 구체적으로는 10 내지 15 시간 동안 반응시키는 단계를 통하여 수행될 수 있다.

[0053] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 혼합 용액은 상기 세포밖 소포체를 포함하는 시료의 1 내지 10 부피%, 보다 구체적으로는 2 내지 8 부피%, 더욱 구체적으로는 4 내지 6 부피%로 첨가할 수 있다. 상기 부피% 범위를 벗어날 경우에는 엑소좀의 손실율이 증가하는 문제가 발생할 수 있다.

[0054] 이하에서는 본 발명에 따른 제조예 및 실시예를 첨부된 도면과 함께 구체적으로 설명한다.

[0055] **제조예: HEK293T 세포의 엑소좀의 분리**

[0056] 실험에 필요한 엑소좀은 비암세포인 HEK239T 세포를 소 혈청의 엑소좀을 제거한 FBS를 10% 첨가한 DMEM 배지에서 80% 컨플루언시(confluency)로 시딩(seeding) 한 후 이틀간 배양하여 수득하였다. 이후 상기 수득한 배양액을 3000 ×g의 센트리퓨즈를 이용하여 세포 잔해를 제거하고, 0.2 μmm의 필터를 이용하여 필터링 해준 뒤 Exo-quick을 이용하여 최종적으로 HEK293T 세포의 엑소좀만을 분리하였다.

[0057] **실시예: 보론산 화합물이 결합된 엑소좀(PExo)의 제조**

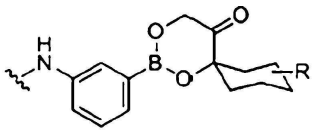
[0058] 엑소좀에 보론산 화합물(페닐보론산 또는 피리딘-3-보론산)을 결합하는 과정은 EDC-NHS coupling 반응에 기초하여 수행하였다. 먼저, 엑소좀의 개수는 1~6 × 10^{11} 개로 반응을 시작하였다. 반응비율은 본 발명에 따른 보론산 화합물 : EDC : NHS = 1 : 1.5 : 2의 몰비율로 진행하였다. 시료들의 용해도를 고려하여 100 μL의 디메틸설폭시드(DMSO) 용액에 해당 몰 비율 만큼의 시료들을 넣어(보론산 화합물 3.5mg 기준) 혼합용액을 제조한 후, DMSO에 의해 엑소좀의 구조가 터지지 않도록 엑소좀 용액의 4%에 해당하는 용액의 부피 만큼만 상기 혼합용액 엑소좀 용액에 첨가한 후 상온에서 15 분 및 4 ℃에서 6 시간 내지 하룻밤 동안 어두운 환경에서 반응시켜 주었다. 이 때 엑소좀 대조군에도 같은 조건을 적용시키기 위해 보론산 화합물 시료가 들어있지 않은 DMSO를 동일하게 4% 첨가하였다. 반응이 끝난 후 잔여 시료들을 제거해주기 위해 한외여과 튜브(Amicon-4, 100 kDa cut-off)에 넣고, PBS를 3 ml정도 첨가한 후 5000 ×g에서 원심분리하였다(엑소좀 대조군도 동일하게 진행).

[0059] 다음으로, 세척 및 농축된 엑소좀과 보론산 화합물이 결합된 엑소좀을 PBS에 용해시켰고, 이후 NTA 기기를 이용하여 엑소좀의 개수를 기준으로 동량을 처리할 수 있도록 정량한 후, 그로 인해 정해질 독소루비신(DOX)의 농도와 동일한 Free DOX를 따로 제조하여 비교 대조군으로 하였다.

[0060] 생체유래 나노베지클(nanovesicle)인 엑소좀에는 그의 세포막에 자체적으로 여러 가지 단백질이 박혀있다. 단백질의 기본 구조 상 아민기(NH_2-)혹 또는 카르복시기가(COOH-) 외부로 노출되어 있는 테트라스파닌(tetraspanin)과 같은 단백질이 존재하므로, 단백질 끝부분의 반응기에 EDC-NHS Coupling 반응을 통하여 아미노기가 부착된 페닐보론산(PBA)인 APBA(도 1a에서는 3-아미노페닐보론산) 또는 카르복시기가 부착된 페닐보론산(PBA)인 CPBA(도 1b에서는 4-카복시페닐보론산)를 연결시켜 주어 엑소좀에 PBA를 결합시킬 수 있다(도 1 내지 2 참조).

[0061] 이하에서는 상기와 같은 화학결합 과정을 거치지 않은 기존의 엑소좀은 Exo, 그리고 상기 APBA가 결합된 엑소좀은 APExo로, CPBA가 결합된 엑소좀은 CPExo로 명명하며, 상기 두 가지 엑소좀을 통칭하여 PExo라고 명명한다. 상기 인큐베이션(incubation) 방법(37 ℃)을 통하여 PExo에 독소루비신(DOX)을 로딩하면, 하기 화학식 2로 표시되는 화합물이 형성될 수 있다. 이때 엑소좀의 내부에 확산에 의한 DOX의 로딩뿐만 아니라, DOX는 보론산 화합물에 결합하려는 성질이 있기 때문에 보론산 화합물이 결합된 엑소좀의 표면에도 결합될 수 있다.

[0062] **[화학식 2]**

[0063] 

[0064] 상기 화학식 2의 구조와 같이 PExo 및 DOX가 결합된 PExo+DOX를 세포에 전달 또는 정맥주사 시 종래 엑소좀에 DOX를 로딩하여 전달할 때보다 같은 개수를 엑소좀을 처리하였을 경우 더 많은 양의 DOX가 전달될 뿐만 아니라, DOX가 결합하지 않은 일부 보론산 화합물에 의해 정상세포보다 암세포가 더 많이 흡수(uptake)될 수 있다.

[0065] 도 3은 본 발명의 실시예에 따라 제조된 보론산 화합물이 결합된 엑소좀(PExo) 및 종래 엑소좀에 DOX를 처리하여 탑재한 결과를 나타낸 모식도이다.

[0066] 도 3을 참조하면, 종래 엑소좀은 그 내부에만 유효약물을 로딩하는 반면, 본 발명에 따른 PExo는 그 내부에 유효약물을 로딩함과 동시에 그 표면에 부착된 보론산 화합물에 의해서도 결합하여 탑재됨을 확인할 수 있다.

[0067] 도 4는 본 발명의 실시예에 따라 DMSO 용액에 보론산 화합물인 APBA 및 CPBA의 양이 각각 3.5 mg 및 2.5 mg으로 용해되어 있는 혼합용액을 엑소좀 용액의 4 부피% 만큼 첨가하였을 경우 한외여과 세척 후의 수득률을 나타낸 그래프이다[대조군: 종래 엑소좀(Exo)].

[0068] 도 4에서는 EDC, NHS의 비율은 실시예에 명시된 것과 동일하게 유지하여 EDC-NHS coupling 반응을 진행한 후(Exo 대조군에서는 DMSO만 사용), PBS를 첨가하고 센트리퓨즈를 이용하여 한외여과 튜브로 세척한 후 처음 넣어준 엑소좀 대비 남은 엑소좀의 개수를 나노입자 추적분석(Nanoparticle Tracking Analysis, NTA)을 통하여 정량한 값을 환산하여 나타내었다. 도 4에 나타낸 바와 같이, 엑소좀의 개수가 대조군인 엑소좀/DMSO의 경우 만큼 보존됨을 확인하였다. 특히, 엑소좀의 손실을 줄이기 위해서는 PBA를 엑소좀 표면에 결합할 때 넣어주는 최대 시료의 양을 조절해야 하며, 본 실험 결과에서는 해당 조건에서 엑소좀에 PBA 결합반응 후 세척 과정을 거친 후에도 처음 넣어준 엑소좀의 양 대비 손실율이 크지 않다는 것을 확인하였다.

[0069] 도 5a는 종래 엑소좀[엑소좀 4.09×10^8 입자/ml], 도 5b는 본 발명의 실시예에 따라 제조된 아미노기가 달린 보론산 화합물(APBA)이 결합된 엑소좀(APExo)[APExo, 6.73×10^8 입자/ml], 도 5c는 본 발명의 실시예에 따라 제조된 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo)의 나노입자 추적분석(NTA)을 통한 입자 크기 분포도이다[CPExo, 3.53×10^8 입자/ml].

[0070] 도 5a 내지 5c를 참조하면, 상기 세 가지 종류 엑소좀의 크기 분포도는 모두 엑소좀의 크기(직경)인 50 내지 150 nm에서 유효피크를 나타내는 비슷한 양상을 보임을 확인하였다.

[0071] 도 6은 본 발명의 실시예에 따라 제조된 아미노기가 달린 보론산 화합물(APBA)이 결합된 엑소좀(APExo), 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo) 및 종래 엑소좀에 각각 독소루비신(DOX)를 로딩하여 그 로딩정도를 상대비교한 그래프이다.

[0072] 도 6을 참조하면, 종래 엑소좀에 DOX를 로딩한 경우보다 동일한 방법(37 ℃ incubation 2 hr)으로 APExo 및 CPExo에 로딩하였을 경우 각각 양 3 배 및 2 배 정도 더 많이 로딩된 것을 확인할 수 있고, 이는 실시예에 따라 제조된 APExo 및 CPExo는 엑소좀의 내부에 DOX가 로딩됨과 동시에, 내부보다도 DOX가 엑소좀 표면에 결합된 보

론산 화합물(PBA)에 결합하는 성질이 우세하여 엑소좀의 표면에 더 많은 양의 DOX가 결합하여 코팅된 것으로 판단된다.

[0073] 도 7은 본 발명의 실시예에 따라 제조된 아미노기가 달린 보론산 화합물(APBA)이 결합된 엑소좀(APExo), 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo) 및 종래 엑소좀(Exo)의 DOX의 첨가 농도에 따른 DOX 로딩(또는 결합) 농도를 비교한 그래프이다.

[0074] 도 7을 참조하면, 첨가되는 DOX의 농도가 증가할수록 APExo와 CPExo에 로딩되는 DOX의 농도는 증가하나, 종래 엑소좀의 경우에는 첨가되는 DOX의 농도가 증가하여도 로딩되는 정도에 한계가 있음을 확인할 수 있다. 이를 통하여 엑소좀이 터지지 않는 범위 내에서 DOX와 PBA의 비율을 높이면 더욱 많은 양의 DOX를 탑재할 수 있을 것으로 판단된다.

[0075] 도 8a는 종래 엑소좀(Exo)에 독소루비신(DOX)을 탑재한 약물전달체와 Free DOX 및 대조군(종래 엑소좀)의 WST Assay 방법을 이용하여 세포활성 정도를 비교한 것으로, O.D 수치를 기반으로하여 생존률(%)로 환산하여 나타냈으며, Free DOX의 농도를 종래 엑소좀(Exo/DOX)에 로딩된 DOX의 양만큼 처리한 경우의 그래프이고, 도 8b는 도 8a와 동일한 조건으로 세포활성 정도를 비교하되, Free DOX의 농도를 APExo/DOX에 로딩된 DOX의 양만큼 처리한 경우의 그래프이며, 도 8c는 엑소좀(Exo)의 개수를 약 4 배 많게 처리하여 비교한 것으로 Free DOX의 농도는 APExo/DOX에 로딩된 DOX의 양만큼 처리하였고, Exo/DOX 또한 개수를 기준으로 동량을 처리한 경우의 그래프이다.

[0076] 도 8a를 참조하면, 24 시간 동안 세포의 미토콘드리아 활성을 측정하는 WST assay를 이용하여 대조군 간 세포활성 정도의 차이를 비교할 수 있다. 엑소좀의 개수를 2×10^9 개로 모두 동일하게 하였고, Free DOX의 농도는 엑소좀(Exo/DOX)에 로딩된 DOX의 양만큼 처리하였다. 그 결과, 도 8a에 나타낸 바와 같이, 같은 농도의 Free DOX를 처리한 경우보다 엑소좀에 동량의 DOX를 로딩하여 전달되었을 때(Exo/DOX)에 암세포 사멸효과가 더 큰 것을 확인할 수 있다. 이를 통하여 엑소좀 그 자체가 이미 전달체(carrier)로서 DOX의 효과를 극대화하는 데 적합하다는 것을 증명할 수 있다.

[0077] 도 8b를 참조하면, Exo/DOX와 아민기(NH_2-)가 달린 보론산 화합물(PBA)인 APBA를 결합한 APExo/DOX를 엑소좀 개수 기준으로 동량을 처리하였을 경우에는 APBA에 더 많은 DOX가 로딩되어있기 때문에 더 큰 암세포 사멸 효과를 보이는 것을 확인할 수 있다. 특히, 암세포 선택적 전달 효과까지 기대할 수 있으며, PBA가 그 기능을 하지 못하더라도 면역세포에서 유래한 엑소좀은 그 자체로서 암세포에 더 잘 흡수(uptake)되는 것으로 입증된 바가 있으므로 면역세포 유래 엑소좀에 PBA를 결합하여 유효약물 탑재기능 및 암세포 표적 효과가 향상된 약물전달체로 응용할 수 있다.

[0078] 도 8c을 참조하면, 도 8b보다 엑소좀의 개수를 약 4 배로 증가시켜 처리하여도 종래 엑소좀에 DOX를 로딩하여 처리한 경우보다 APExo에 DOX를 로딩 및 결합시켜 전달한 경우의 WST 수치가 낮음을 확인할 수 있다. 즉, 엑소좀의 개수 기준 10^9 내지 10^{10} 개를 처리할 경우 동일한 경향성이 나오며, 용량효과(dose effect)에 따라서 생존률(%) 값이 차이를 보임을 증명할 수 있다.

[0079] 도 9는 본 발명의 실시예에 따른 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo) 및 종래 엑소좀(Exo)에 각각 독소루비신(DOX)을 탑재한 약물전달체와 Free DOX 및 대조군(종래 엑소좀)의 WST Assay 방법을 이용하여 세포활성 정도(생존률)를 비교한 것으로, Free DOX의 농도를 CPExo/DOX에 로딩된 DOX의 양만큼 처리한 경우의 그래프이다.

[0080] 도 9를 참조하면, 카르복시기가 달린 보론산 화합물(CPBA)이 결합된 엑소좀(CPExo) 또한 아미노기가 달린 보론산 화합물(APBA)이 결합된 엑소좀(APExo)과 동일하게 종래 엑소좀에 DOX를 로딩하여 처리한 경우보다 CPExo에 DOX를 로딩 및 결합시켜 전달한 경우의 WST 수치가 낮음을 확인할 수 있다.

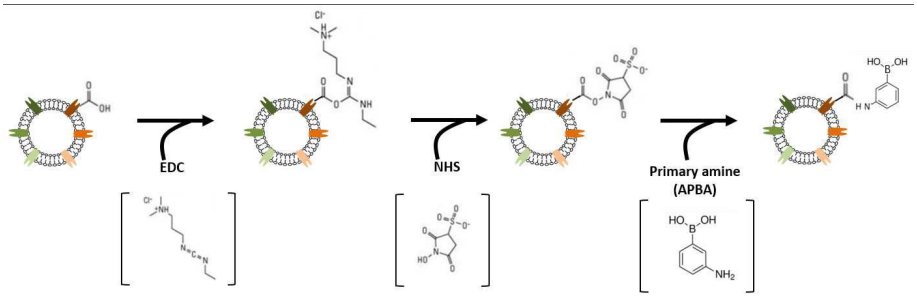
[0081] 그러므로 본 발명에 따르면, 독소루비신을 포함한 여러 유효약물에 결합하는 보론산 화합물이 결합된 세포밖 소

포체를 제조하고, 이를 이용하여 유효약물이 세포밖 소포체의 내부에 포집됨과 동시에 세포밖 소포체의 표면에도 결합함으로써 그 탑재량을 더욱 향상시킨 약물전달체 및 이를 포함하는 약학조성물로 응용할 수 있다.

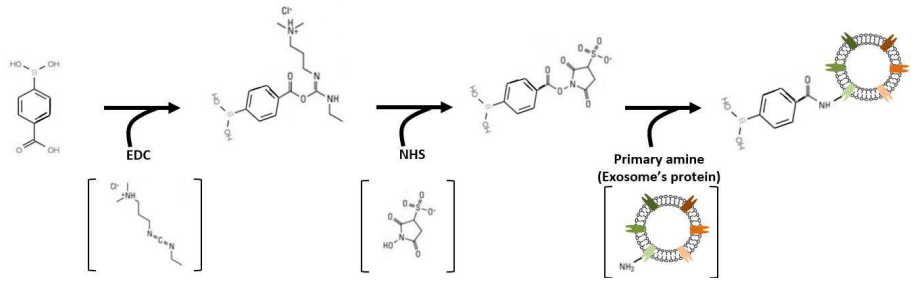
[0082] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

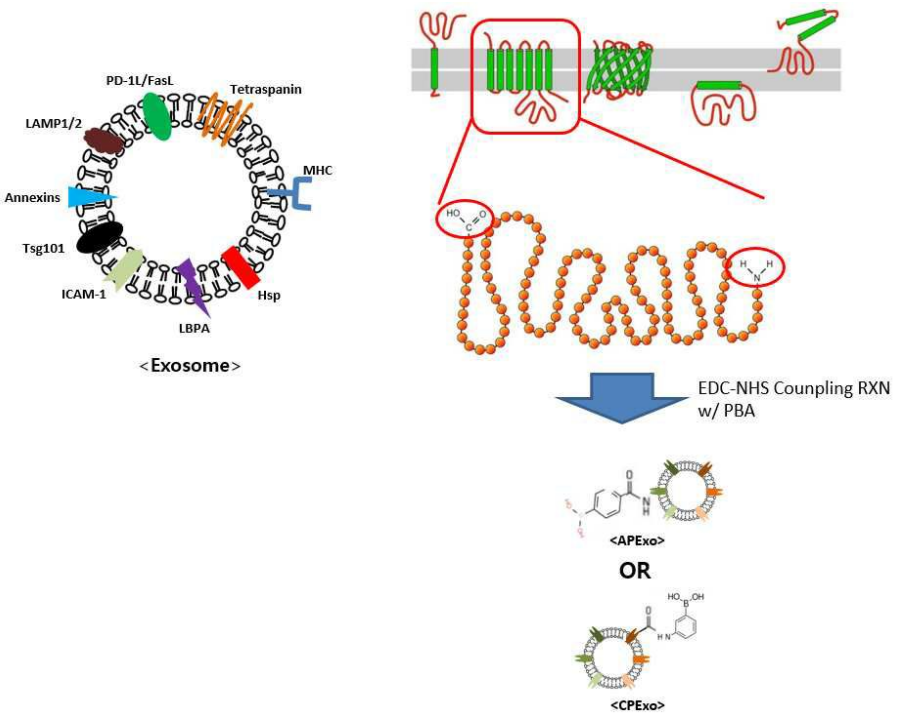
도면1a



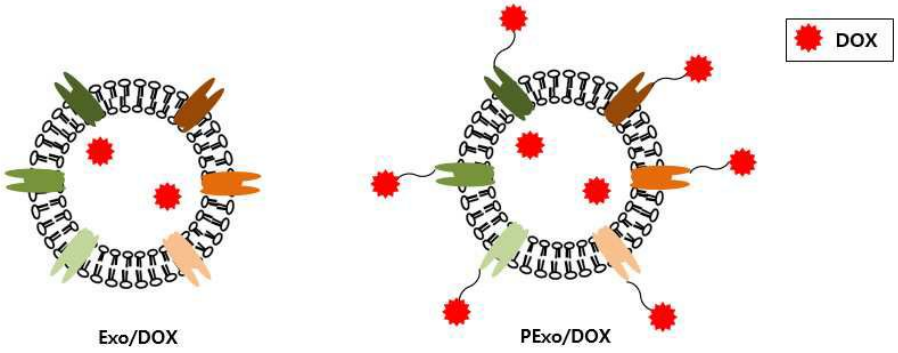
도면1b



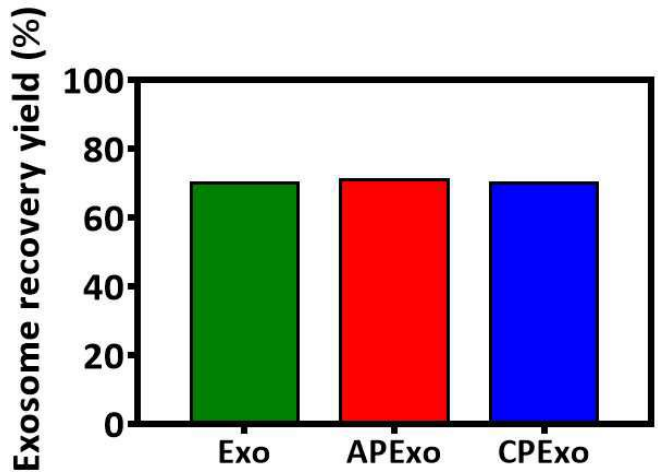
도면2



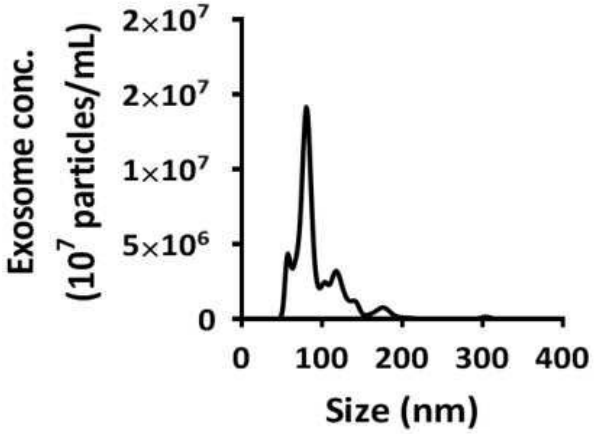
도면3


DOX
Exo/DOX
PExo/DOX

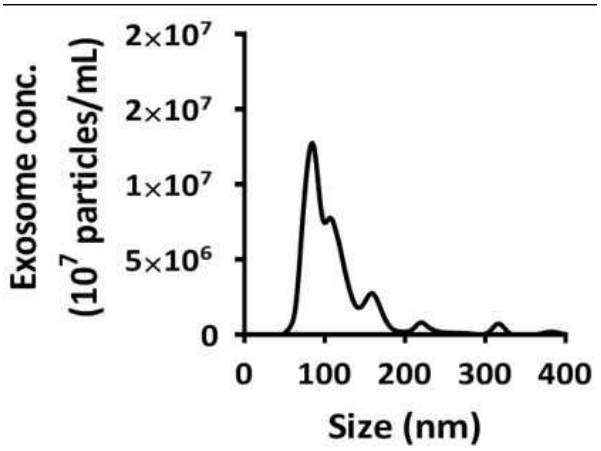
도면4


Exosome recovery yield (%)
100
80
60
40
20
0
Exo
APExo
CPExo

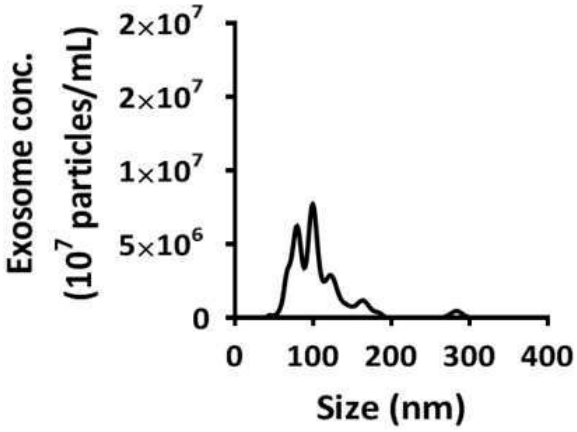
도면5a


Exosome conc.
(10^7 particles/mL)
2×10^7
2×10^7
1×10^7
5×10^6
0
0
100
200
300
400
Size (nm)

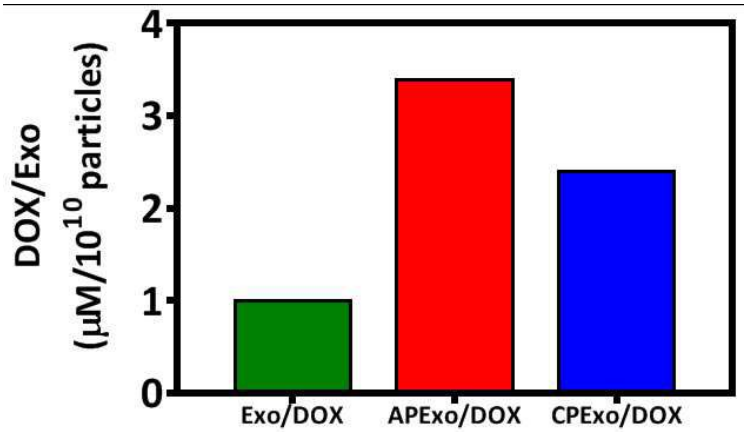
도면5b



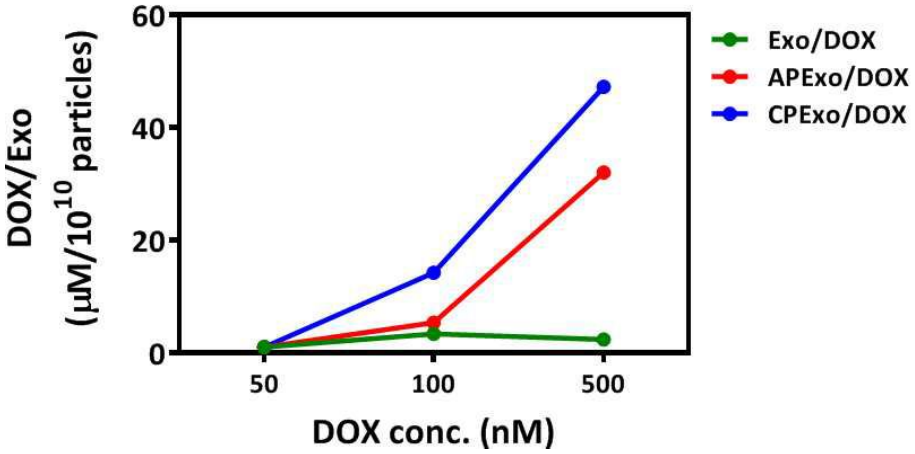
도면5c



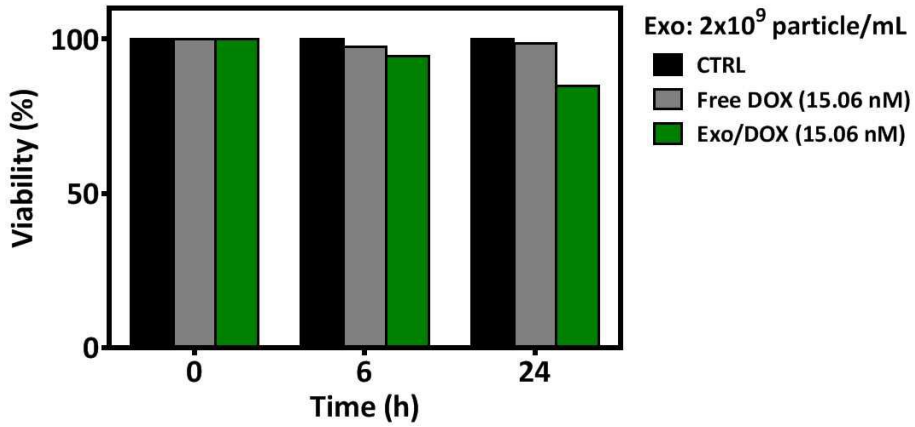
도면6



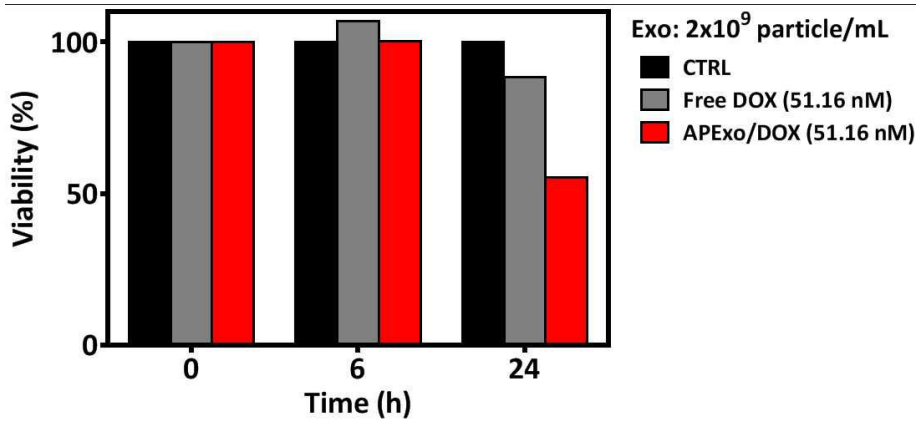
도면7



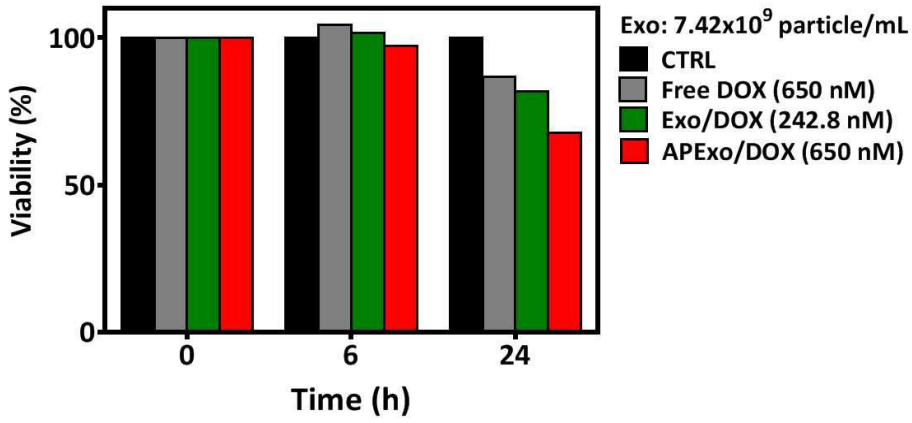
도면8a



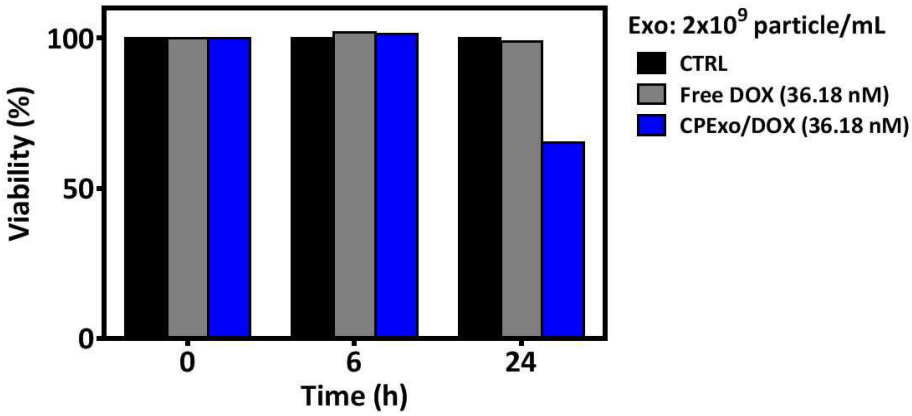
도면8b



도면8c


Exo: 7.42x10^9 particle/mL
CTRL
Free DOX (650 nM)
Exo/DOX (242.8 nM)
APExo/DOX (650 nM)
Viability (%)
100
50
0
0
6
24
Time (h)

도면9


Exo: 2x10^9 particle/mL
CTRL
Free DOX (36.18 nM)
CPExo/DOX (36.18 nM)
Viability (%)
100
50
0
0
6
24
Time (h)