

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2024년 7월 25일 (25.07.2024)



(10) 국제공개번호

WO 2024/155158 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 36/31 (2006.01) A61K 36/63 (2006.01)
A61K 36/81 (2006.01) A61K 36/8962 (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01) A61K 36/45 (2006.01)
A61K 36/752 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 36/73 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)

AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(21) 국제출원번호: PCT/KR2024/000995

(22) 국제출원일: 2024년 1월 19일 (19.01.2024)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:

10-2023-0008154 2023년 1월 19일 (19.01.2023) KR
10-2024-0008911 2024년 1월 19일 (19.01.2024) KR

(71) 출원인: 넥스탭 주식회사 (NEXTAB, INC.) [KR/KR];
03908 서울특별시 마포구 월드컵북로 361, 12층, Seoul (KR).

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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).

(72) 발명자: 이지 (LEE, Ye Ji); 03938 서울특별시 마포구 월드컵로34길 18, 811호, Seoul (KR). 양상화 (YANG, Sanghwa); 10494 경기도 고양시 덕양구 충장로152번길 39, 1305호, Gyeonggi-do (KR).

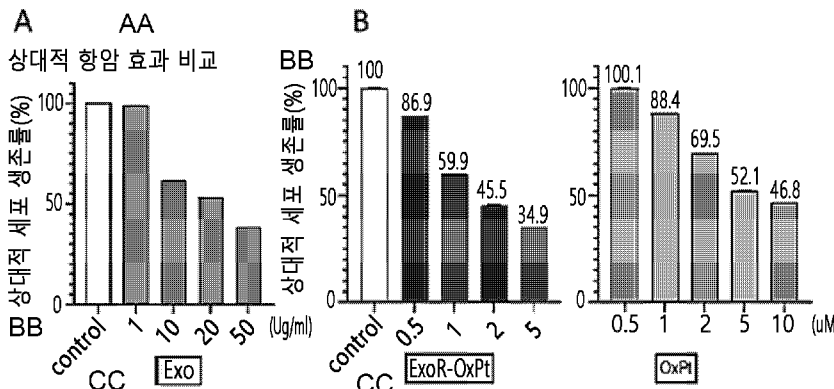
공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(74) 대리인: 특허법인한얼 (HANOL INTELLECTUAL PROPERTY AND LAW); 05836 서울특별시 송파구 법원로 135, 6층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT,

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTION OR TREATMENT OF CANCER, COMPRISING EXTRACELLULAR VESICLES DERIVED FROM EDIBLE CROPS

(54) 발명의 명칭: 식용작물에서 유래된 세포 외 소포를 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물



AA ... Comparison of relative anticancer effects
BB ... Relative cell viability (%)
CC ... Control

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for the prevention or treatment of cancer, comprising extracellular vesicles (EVs) derived from edible crops.

(57) 요약서: 본 발명은 식용작물에서 유래된 세포 외 소포(extracellular vesicle, EV)를 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

WO 2024/155158 A1

명세서

발명의 명칭: 식용작물에서 유래된 세포 외 소포를 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 식용작물에서 유래된 세포 외 소포(extracellular vesicle, EV)를 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] EV는 크기에 따라 엑소솜(exosome, 30~150nm 지름), 마이크로베지클(microvesicle/MV, 100~1,000nm 지름) 혹은 엑토솜(ectosome)과 apoptotic bodies (>1,000nm 지름)로 구분된다. 이들은 기원 세포 (originating cell)로부터 유래하는 DNA, RNA, small RNA, peptide, metabolites(2차 대사산물) 등을 포함한 채 주위의 세포 혹은 장거리에 위치한 세포로 이동, 투과하고 내부의 유전 및 생물학 기능을 보유한 물질들을 전달하여, 수용 세포(recipient cell)에서는 이의 결과로 형질 변화까지 발생하게 된다. 즉, EV는 제3의 신호전달 물질인 동시에, 유용 소재 전달체이며, 질환 특이적 현상에 대한 진단 소재이기도 하다. 세균 배양시 분리되는 EV와 인간 소변에서 분리되는 EV는 엑소솜이며, 해조류 유래 EV는 마이크로베지클이고, 육상 식용작물에서는 엑소솜과 마이크로베지클이 혼재하는 것으로 보인다.
- [3] 엑소솜, 마이크로베지클을 포함하는 EV는 multivesicular bodies (MVBs)와 세포막의 융합을 통하여 세포 밖으로 배출되며, 배출된 기원 세포의 특성을 대표하는 DNA, RNA, peptide/protein 및 metabolites(대사산물)들을 포함한다.
- [4] EV의 기본 기능은 단, 장거리 세포 간 물질 전달이다. EV는 기원 세포의 유전물질(genomic DNA, messenger/micro/long non-coding RNA), 대사물질(lipid/metabolite)과 단백질 등을 함유한 상태로 세포 밖으로 배출되며, 이들을 표적 세포로 전달한다. 전달된 유전물질, 예를 들어 mRNA의 경우는, 전사(translation)를 통하여 단백질로 합성되기 때문에 신규 단백질 유입 효과를 나타내며, miRNA의 경우는 유전자 발현 조절을 통하여, 종양 형성 등을 포함하는 다양한 범위의 세포 기능 변화를 유도하기도 한다.
- [5] EV는 육·해상 미생물, 동식물을 포함하는 살아있는 모든 세포에서 배출되며, 이와 같이, 다양한 생물 유래의 EV의 유용성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.
- [6] [선행기술문헌]
- [7] (비특허문헌 1) SCIENCE 7 Feb 2020, Vol 367, Issue 6478
- [8]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[9] 본 발명은 식용작물에서 유래된 세포 외 소포(extracellular vesicle, EV)를 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[10]

과제 해결 수단

[11] 본 발명의 목적은 식용작물 유래 세포 외 소포(extracellular vesicle)를 포함하는, 암 개선용 의약외품 조성물을 제공하는 것이다.

[12] 본 발명의 다른 목적은 식용작물 유래 세포 외 소포를 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[13] 본 발명의 또 다른 목적은 식용작물 유래 세포 외 소포를 포함하는, 암 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

발명의 효과

[14] 본 발명의 세포 외 소포는 그 자체로 내재적인 항암효과를 나타낼 뿐만 아니라, DDS로도 이용이 가능하므로 암의 예방, 개선 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[15] 도 1은 DLS를 이용한 엑소솜 크기 분포를 확인한 결과이다.

[16] 도 2는 투과 전자 현미경에서 무 엑소솜(A) 및 감자 엑소솜(B)의 형태를 확인한 결과이다.

[17] 도 3은 공초점 현미경 촬영을 통한 무 엑소솜 세포 투과성 확인 결과이다.

[18] 도 4는 무 엑소솜의 내재적 항암 효능(A) 과, 무 엑소솜에 옥살리플라틴을 탑재하여 항암 효능을 확인한 결과(B) 및 대조군으로 옥살리플라틴 단독의 효능(C)을 확인한 결과이다.

[19] 도 5는 감자 및 콩 엑소솜의 내재적 항암 효능을 확인한 결과이다.

[20] 도 6은 무 엑소솜과, 옥살리플라틴이 탑재된 무 엑소솜의 형태를 투과 전자 현미경에서 확인한 결과이다.

[21] 도 7은 무 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴과 단독 옥살리플라틴의 IC50 비교 결과이다.

[22] 도 8은 옥살리플라틴 (OxPt)과 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxP)을 처리하고 암세포 성장 억제율을 확인한 결과이다.

[23] 도 9은 엑소솜 내에 옥살리플라틴을 탑재한 경우와, 엑소솜과 옥살리플라틴을 단순 혼합하였을 때의 비교 결과이다.

[24]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[25] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 발명에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.

- [26] 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 발명에 기재된 본 발명의 특정 양태에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.
- [27] 또한, 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.
- [28]
- [29] 본 발명의 하나의 양태는 식용작물 유래 세포 외 소포(extracellular vesicle)를 포함하는, 암 예방 또는 개선용 의약외품 조성물이다.
- [30] 본 발명의 다른 하나의 양태는 식용작물 유래 세포 외 소포를 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물이다.
- [31] 본 발명의 다른 하나의 양태는 식용작물 유래 세포 외 소포를 포함하는, 암 예방 또는 개선용 건강기능식품이다.
- [32]
- [33] 본 발명에서 식용작물이란 인간의 식량이 될 수 있는 작물을 지칭하며, 식용을 목적으로 재배되는 원예식물과 공예작물을 모두 포함한다.
- [34] 일 구현예로, 본 발명의 식용작물은 무, 감자, 콩, 오렌지, 사과, 토마토, 올리브, 마늘, 베리 및 허브 중 선택되는 것일 수 있다. 그 예로, 본 발명의 식용작물은 무, 감자, 콩 중 선택되는 것일 수 있다.
- [35] 일 예로, 상기 식용작물의 식용으로 사용되는 부위를 사용할 수 있다. 그 예로, 상기 무는 이파리를 제외한 부분을 사용할 수 있다. 일 예로, 상기 감자는 껍질 부분을 사용할 수 있다. 일 예로, 상기 콩은 열매 부분을 사용할 수 있다.
- [36] 본 발명의 세포 외 소포(extracellular vesicles)는 본 발명의 식용 작물의 세포에서 자연 분비되는 이중 지질 막 구조의 원형체로, 지름이 50~1000nm의 크기를 갖는 나노 소포체를 지칭한다. 이 중 지름이 50~150nm의 크기를 갖는 나노 소포체를 엑소솜으로 지칭할 수 있다. 상기 엑소솜은 대사산물과 DNA, RNA 및 단백질 등 생물학적 활성물질들을 포함하는 제3의 신호전달 물질이다.
- [37] 일 구현예로, 본 발명의 세포 외 소포는 200nm 이하의 지름을 갖는 것일 수 있다. 일 예로, 본 발명의 세포 외 소포는 50 내지 150 nm의 지름을 갖는 것일 수 있다.
- [38] 본 발명의 "암(cancer)"은 세포가 정상적인 성장 한계를 무시하고 분열 및 성장하는 공격적(aggressive) 특성, 주위 조직에 침투하는 침투적(invasive) 특성, 및 체내의 다른 부위로 퍼지는 전이적(metastatic) 특성을 갖는 세포에 의한 질병을 총칭하는 의미이다. 본원에서 상기 암은 악성 종양(malignant tumor) 또는 악성 복수(malignant ascites)와 동일한 의미로도 사용될 수 있다.
- [39] 일 구현예로, 본 발명의 암은 위암(gastric cancer), 유방암(breast cancer), 폐암(lung cancer), 간암(liver cancer), 혈액암(blood cancer), 뼈암(bone cancer), 췌장암

(pancreatic cancer), 피부암(skin cancer), 머리 또는 목암(head or neck cancer), 피부 또는 안구 흑색종(cutaneous or intraocular melanoma), 자궁육종(uterine sarcoma), 난소암(ovarian cancer), 직장암(rectal cancer), 항문암(anal cancer), 대장암(colon cancer), 난관암(fallopian tube carcinoma), 자궁내막암(endometrial carcinoma), 자궁경부암(cervical cancer), 소장암(small intestine cancer), 내분비암(endocrine cancer), 갑상선암(thyroid cancer), 부갑상선암(parathyroid cancer), 신장암(adrenal cancer), 연조직종양(soft tissue tumor), 요도암(urethral cancer), 전립선암(prostate cancer), 기관지암(bronchogenic cancer) 및 골수암(bone marrow tumor)으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 그 예로, 전립선암일 수 있다.

[40] 전술한 구현예 중 어느 하나의 구현예로, 본 발명의 세포 외 소포는 항암제를 탑재한 것일 수 있다. 본 발명의 항암제를 탑재한 세포 외 소포는, 세포 외 소포를 항암제와 함께 저온에서 배양함으로써 제조될 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 항암제를 탑재한 세포 외 소포는 0°C 이하의 온도에서 세포 외 소포와 항암제를 혼방 배양함으로써 제조될 수 있다. 상기 배양 시간은 1시간 이상일 수 있다. 이에 따른 본 발명의 일 양태는 항암제를 탑재한 식용작물 유래 세포 외 소포를 제조하는 방법을 제공한다. 식용작물 및 세포 외 소포에 대해서는 전술한 바와 같다.

[41] 전술한 구현예 중 어느 하나의 구현예로, 본 발명의 세포 외 소포에 탑재되는 항암제의 종류는 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 세포독성항암제로 분류되는 것일 수 있고, 그 예로 시스플라틴(Cisplatin), 카보플라틴(Carboplatin), 옥살리플라틴(Oxaliplatin), 메클로레타민(Mechlorethamine, nitrogen mustard), 사이클로포스파마이드(Cyclophosphamide), 이포스파마이드(Ifosfamide), 멜팔란(Melphalan), 클로람부실(Chlorambucil), 티오테파(Thiotepa), 알트레타민(Altretamine), 프로카바진(Procarbazine), 부설판(Busulfan), 카무스틴(Carmustine, BCNU), 로무스틴(Lomustine, CCNU), 다카바진(Dacarbazine, DTIC) 중 선택되는 것일 수 있다. 그 예로, 옥살리플라틴일 수 있다.

[42] 본 발명자들은 특정 식용작물로부터 유래되는 세포 외 소포는 그 자체로 항암 활성이 존재하며, 항암제를 탑재하여 효율적으로 전달함으로써, 약물 전달 시스템 (Drug delivery system)으로서 사용될 수 있음을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

[43]

[44] 본 명세서에서 사용된 용어 "예방"은 본 발명의 조성물을 개체에 투여하여 암 발병을 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.

[45] 본 명세서에서 사용된 용어 "치료"는 본 발명의 조성물을 질환의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[46] 본 명세서에서 사용된 용어 "개선"은 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.

[47]

- [48] 본 발명의 의약품은 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 개선, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 물품들 중 의약품보다 작용이 경미한 물품들을 의미한다. 예를 들어 약사법에 따르면 의약품이란 의약품의 용도로 사용되는 물품을 제외한 것으로, 사람·동물의 질병 치료나 예방에 쓰이는 제품, 인체에 대한 작용이 경미하거나 직접 작용하지 않는 제품 등이 포함된다.
- [49] 본 발명의 약학 조성물은, 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명에서, 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화 할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는 데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [50] 본 발명의 조성물은 특별히 이에 제한되지 않으나, 목적하는 바에 따라 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여 등의 경로를 통해 투여 될 수 있다. 다만, 경구 투여 시에는 위산에 의해 유효성분이 변성될 수 있기 때문에 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화될 수 있다.
- [51] 본 발명의 건강기능식품은 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU) 과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 "기능(성)"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용

도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 암 예방 또는 개선 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[52] 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 조성물의 암 예방, 개선 또는 치료 용도를 제공한다. 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암 예방, 개선 또는 치료 방법을 제공한다. 상기 식용작물 유래 세포 외 소포(extracellular vesicle)를 포함하는 조성물, 예방, 개선, 치료에 대해서는 전술한 바와 같다.

[53]

발명의 실시를 위한 형태

[54] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[55]

[56] 실시예 1. 식용작물 엑소좀 분리

[57] 실시예 1-1. 무 엑소좀 분리

[58] 무는 이파리를 제외한 두꺼운 부분을 사용하였으며, 믹서기를 이용해 갈았다. 착즙액은 5,000~40,000 g, 4 °C에서 순차적으로 원심 분리하여 상층액을 0.8 μm 필터에 여과하였다. 이어서, 여과액을 100,000~180,000 g, 4 °C에서 초고속 원심 분리하여 엑소좀을 포함하는 침전된 펠렛 (pellet)을 취하여 PBS (인산 완충액, pH 6.5~7.5)에 용해하였다.

[59] 실시예 1-2. 감자 엑소좀 분리

[60] 감자는 주로 식용으로 사용되는 부위인 줄기 부위(괴경)를 사용하였으며 세척 후 껍질을 제거하고 믹서기를 이용해 갈았다. 착즙 액은 5,000~40,000 g, 4°C에서 순차적으로 원심 분리하여 상층액을 0.8 μm 필터에 여과하였다. 이어서, 여과액을 100,000~180,000 g, 4 °C에서 초고속 원심 분리하여 엑소좀을 포함하는 침전된 펠렛 (pellet)을 취하여 PBS (인산 완충액, pH 6.5~7.5)에 용해하였다.

[61] 실시예 1-3. 콩 엑소좀 분리

[62] 콩 열매 부위를 세척 후 껍질을 제거하고 믹서기를 이용해 갈았다. 착즙 액은 5,000~40,000 g, 4 °C에서 순차적으로 원심 분리하여 상층액을 0.8 μm 필터에 여과하였다. 이어서, 여과액을 100,000~180,000 g, 4°C에서 초고속 원심 분리하여

엑소좀을 포함하는 침전된 펠렛 (pellet)을 취하여 PBS (인산 완충액, pH 6.5~7.5)에 용해하였다.

[63] 실시예 1-4. DLS를 이용한 엑소좀 크기 측정

[64] DLS를 이용한 무, 감자 등의 식용작물 유래 엑소좀의 크기는 지름이 평균 66.8 nm이며, 최소 30nm에서 최대 150nm까지 분포한다 (도 1).

[65] 실시예 1-5. 투과 전자 현미경에 의한 무 엑소좀 형태 관찰

[66] 투과 전자 현미경에서 실시예 1-1에서 분리된 무 엑소좀은 이중 원형 구조를 지니며, 크기는 지름 200nm 이하로, DLS에서 측정한 크기와 일치하는 것을 확인하였다 (도 2A).

[67] 실시예 1-6. 투과 전자 현미경에 의한 감자 엑소좀 형태 관찰

[68] 감자 엑소좀 샘플은 1 % 우라닐 아세테이트 (uranyl acetate)로 15 초간 염색 후 적외선 램프 (infrared lamp)로 10 분 동안 건조 과정을 거치고 투과 전자 현미경 (HT7800, Hitachi, Japan)을 이용하여 촬영하였다.

[69] 그 결과, 나타난 바와 같이, 투과 전자 현미경 촬영을 하였을 때 약 100 nm 미만 크기의 이중막 형태의 타원형 엑소좀이 관측되어, 본 발명의 감자 엑소좀은 일반적인 엑소좀 크기와 형태를 나타냄을 확인하였다(도 2B).

[70] 실시예 2. 식용작물 엑소좀의 세포 투과성 확인

[71] 무 엑소좀 세포 투과성 확인을 위한 공초점 현미경 촬영을 수행하였다.

[72] 구체적으로, 실시예 1-1에서 분리된 무 엑소좀과 ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Deep Red (EX03, Dojindo, Japan)를 혼합 반응시키고, 결합되지 않은 형광은 제거 후, 표지된 엑소좀만 분리하였다. 3×10^5 개 cell/ml 농도의 PC3 세포주에 형광 표지된 엑소좀을 첨가하고 37°C, 5 % CO₂ 조건에서 24 시간 배양 후, 공초점 현미경 (LSM980, Carl Zeiss, Germany)을 이용하여 세포주 촬영을 하였다.

[73] 실험결과를 도 3에 나타내었다.

[74] 공초점 현미경 관찰에서, 세포 자체나 형광 염색물질만을 처리한 세포 (음성 대조군)에서는 형광이 감지되지 않는 반면 (도 3A), 형광 표지된 무 엑소좀 (50 µg/ml)을 처리한 세포에서는 형광이 인식됨을 확인하였다 (도 3B). 이는 본 발명의 무 엑소좀이 외부의 도움없이 자체적으로 PC3 세포주를 투과할 수 있음을 나타내는 것이다

[75]

[76] 실시예 3. 식용작물 유래 엑소좀의 항암 효능

[77] 실시예 3-1. 무 엑소좀의 내재적 항암 효능

[78] 인간 전립선 암 세포주 PC3를 배양하고 여기에 실시예 1-1에서 순수 분리된 무 유래 엑소좀 (도 4에서 "ExoR"로 표기)을 배양액에 처리할 때 1ug/ml의 무 엑소좀 처리에서는 암 세포 성장에 아무런 영향을 주지 않는 반면 (도 4A), 무 엑소좀을 10, 20, 50ug/ml 농도로 세포 배양액에 추가할 경우, 암 세포 성장률의 엑소좀 처리하지 않은 비교군에 비해 각각 61.5 %, 53.2 % 및 38.1 %로 감소한다. 이를 통해 무에서 추출한 엑소좀이 항암 효능을 나타냄을 보였다.

- [79] 실시예 3-2. 감자 및 콩 엑소솜의 내재적 항암 효능
- [80] 무 엑소솜 이외의 여러 종류의 육상식물 엑소솜에 의한 인간 전립선 암 세포주인 PC3 세포 사멸에 미치는 영향을 WST-1 어세이 (5015944001, Sigma Aldrich, USA)를 이용하여 측정하였다.
- [81] 구체적으로, PC3 (인체 유래 전립선 암 세포) 세포주를 각 96 well plate에 1×10^4 개 cell / 100 μ l의 농도로 분주한 후 10% FBS, 1% 페니실린 및 스트렙토마이신이 첨가된 RPMI1640 (LM 011-03, welgene, Republic of Korea) 배지에서 37°C, 5 % CO₂ 조건에서 배양하였다. PC3 배양액에 감자, 엑소솜 50, 20 μ g/ml의 농도, 콩 엑소솜 20 μ g/ml의 농도로 처리하고, 72시간이 이후, WST-1 어세이를 이용하여 세포 사멸을 측정하였다.
- [82] 인간 전립선 암 세포주 PC3를 배양하고 여기에 순수 분리된 육상 식물인 감자 및 콩 유래 엑소솜을 배양액에 처리하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- [83] 식물 엑소솜을 50, 20ug/ml 농도로 세포 배양액에 추가할 경우, 암 세포 성장률의 엑소솜 처리하지 않은 비교군에 비해 각각 87.4 %, 92.8 % 및 87.5 %로 감소한다. 이를 통해 육상식물인 감자 및 콩에서 추출한 엑소솜이 항암 효능을 나타냄을 보였다.
- [84]
- [85] 실시예 4. 약물이 탑재된 식용작물 엑소솜의 제조 및 효과 확인
- [86] 실시예 4-1. 약물 탑재 엑소솜의 제조
- [87] 무 엑소솜과 넣고자 하는 약물(본 실험에서는 옥살리플라틴(oxaliplatin))을 PBS에 혼합해 0°C 이하에서 1 시간 이상 혼방 방치 배양하였다. 엑소솜 내부로 탑재되지 않은 약물들을 제거 해 주기 위해 column을 이용해 수 차례 washing 해주었다.
- [88] 실시예 4-2. 무 엑소솜 및 oxaliplatin이 탑재된 무 엑소솜의 크기 측정
- [89] 무 엑소솜과 oxaliplatin이 탑재된 무 엑소솜을 최종 PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 6.5~7.5)에 희석시킨 후, 입도 & 제타 분석기 (ELS-1000ZS Particle Size & Zeta potential Analyzer, Otsuka Electronics, Japan)를 이용한 동적광산란 (Dynamic light scattering) 측정을 통하여 엑소솜의 크기를 측정하였다.
- [90] 그 결과 나타난 바와 같이, 본 발명의 무 엑소솜과 oxaliplatin이 탑재된 무 엑소솜은 각각 50-100nm로 일반적인 엑소솜 크기를 나타낸다(도 6).
- [91] 실시예 4-4. oxaliplatin이 탑재된 무 엑소솜에 의한 암 세포 사멸 효과 확인
- [92] 무 엑소솜과 oxaliplatin 결합 물질이 인간 전립선 암 세포주인 PC3 세포 무 엑소솜의 내재 항암 효능에도 불구하고, 해당 엑소솜이 약물 전달 시스템으로 작용 가능한 지 조사하기 위해서는 엑소솜 자체의 항암 효능이 유지되지 않는 환경을 조성해야 한다. 실시예 3-1의 결과에서 무 엑소솜(실시예1) 이 1ug/ml의 농도로 처리 되었을 경우 암 세포의 성장에는 아무런 변화가 없었기 때문에 약물 탑재 이후 이 엑소솜 농도를 유지하였다 (도 4B).

- [93] 옥살리플라틴(oxaliplatin. 그래프에서는 약자로 OxPt, 비교예1)은 0.5ug/ml 농도로 세포 배양액에 처리될 경우 암 세포주 PC3의 성장에 아무런 영향을 미치지 못한다. 하지만 무 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt, 실시예4-2)은 동일한 0.5ug/ml 농도에서 87%의 암세포 성장률을 보여 약 13%의 암 세포 성장 억제를 우위를 보였다. 옥살리플라틴 (비교예1) 농도를 각 1ug/ml으로 증가시킬 경우, 옥살리플라틴(OxPt)은 88.4% 암세포 성장율을 보이는 반면 무 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)은 59.9%의 세포성장율을 보여 암 세포 성장을 각 11.6% (OxPt), 40% (ExoR-OxPt) 억제하는 큰 차이의 효능을 보였다. OxPt 농도를 최대치 5ug/ml으로 증가할 경우, 옥살리플라틴(OxPt) 처리 PC3 세포주는 53.2% 성장을 보이는 반면, 무 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)이 처리된 PC3 세포주는 35%의 세포 성장을 보여 각 47% (OxPt), 65% (ExoR-OxPt)의 성장 억제를 보였다. 따라서 동일한 농도일 경우 무 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴이 월등한 항암 효능을 보여, 무 엑소솜은 우수한 약물전달시스템이 가능함을 보여준다.
- [94] 실시예 4-5. 무 엑소솜의 약물 전달 효능 확인
- [95] 전립선 암 세포 주 PC3에 옥살리플라틴 (OxPt)과 무 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)의 세포내 전달 차이를 IC50 조사를 통한 정량적 비교를 실행하였다.
- [96] IC50 (Inhibitory Concentration 50)은 in vitro 실험에서 타겟의 생물학적 혹은 생화학적 최대 활성을 50%로 줄이는데 소요되는 최소 물질 농도 값을 나타낸다. IC50가 낮은 저해제 일수록 해당 농도에서도 50% 억제능력(효능)을 보이기 때문에 더 많은 농도를 요구하는 IC50가 높은 물질보다 억제능력은 그만큼 더 좋다. 즉 IC50값은 약리효과를 나타내며 그 값이 낮을수록 약리효능은 높다고도 해석할 수 있다. 전립선암 세포주 PC3에 대한 옥살리플라틴 (OxPt)의 IC50값은 실험실마다 다르지만 일부 보고에서 29uM로 보고된다.
- [97] 옥살리플라틴 (OxPt)과 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)간의 항암 효능을 정성적으로 분석하기 위하여 동일 PC3세포주에 옥살리플라틴 기준으로 다양한 농도의 옥살리플라틴 (OxPt)과 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)를 72시간 처리 이후 두 반응의 IC50값을 각 구하고, 두 IC50값 간의 통계분석을 실행하였다 (도 7). 본 연구자들이 PC3에 농도별 옥살리플라틴 (OxPt)을 처리하고 IC50값을 구한 경우 26.9uM로 선행 보고된 내용과 유사한 값을 나타낸다. 동일한 실험 환경에서 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)을 PC3에 처리한 경우 IC50는 3.3uM로 약 8배 감소를 보인다. 즉 옥살리플라틴 (OxPt)이 무 엑소솜에 탑재된 경우(ExoR-OxPt)에는 1/8의 농도만으로도 옥살리플라틴 (OxPt)과 유사한 약효를 나타내게 된다. 이 두 IC50값간의 차이는 통계적으로 유의함이 계산된다 ($p < 0.0001$). 이러한 이유로 무 엑소솜이 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (OxPt)을 효율적으로 세포내로 전달하는 것으로 예상된다.

- [98] 실시예 4-6. oxaliplatin이 탑재된 무 엑소솜에 의한 암 세포 내 전달량 및 잔류량 효능 비교
- [99] 무 엑소솜이 세포내부로 옥살리플라틴을 전달한 이후에도 서방형약물(slow-release drug)의 형질을 유지하여 약효를 장시간 유지하여 최종적으로 약리효능을 증진시킬 가능성을 조사 하였다.
- [100] PC3 세포주에 옥살리플라틴 (OxPt, 비교예1)과 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt, 실시예4-2)을 PC3 (인체 유래 전립선 암 세포) 세포주를 각 96 well plate에 1×10^4 개 cell / 100 μ l의 농도로 분주한 후 10% FBS, 1% 페니실린 및 스트렙토마이신이 첨가된 RPMI1640 배지에서 37°C, 5 % CO₂ 조건에서 배양하였다. PC3 배양액에 대조군 oxaliplatin 10 μ M과 oxaliplatin이 탑재된 무 엑소솜은 oxaliplatin 농도를 기준으로 동일하게 10 μ M 양이 되도록 처리하였다. 각 배양 시간 (3, 6, 24, 30 시간) 이후 약물이 첨가 되어있던 배지를 모두 제거한 후, 동일한 RPMI1640 배지에서 총 합 시간 72시간 이후, WST-1 어세이를 이용하여 세포 사멸을 측정하였다 (도 8).
- [101] 약물을 처리하고 3시간 이후 약물 제거하여 추가 72시간까지 배양한 결과 옥살리플라틴 (OxPt)을 처리한 PC3 전립선암 세포주는 약물처리 하지 않은 대조군 PC3의 93.5%에 해당하는 상대적 성장률을 보였고, 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)을 동일조건 처리한 경우에는 71%의 세포 성장률을 보였다. 즉 3시간 이란 짧은 시간 조건에서는 엑소솜이 월등하게 옥살리플라틴의 세포주 내 전달을 돕는 것으로 해석된다. 이러한 패턴은 6, 24시간 배양에서도 유효하게 관찰되며 심지어는 30시간 배양후 약물 동시제거 후 추가 72시간 배양 조건에서도 유효하다. 30시간은 옥살리플라틴이 엑소솜에 탑재된 여부와 상관없이 세포 투과에 필요한 충분한 시간이라 해석된다. 그럼에도 옥살리플라틴 (OxPt) 30시간 처리한 경우 암세포 성장률이 52%인데 비해 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)을 처리한 경우에는 37.4%의 성장률을 보여 옥살리플라틴 (OxPt)은 48%의 세포성장 억제율을 보이고, 엑소솜에 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt)은 62.6%의 뛰어난 암세포 성장 억제율을 보인다. 이는 세포 투과성 외에도 엑소솜이 배양액내 약제의 안정성을 돕거나, 세포내 전달후 급격한 약물배출을 억제 하는 추가 기전을 통하여 전달된 옥살리플라틴의 약효를 증진 시키는 것으로 해석된다.
- [102] 실시예 4-7. 무 엑소솜의 약물 탑재 기술 재 확인
- [103] 무 엑소솜의 적극적 약물 탑재 기술을 재 확인하기 위해, 실시예 4-1과 동일한 엑소솜과 약물 동량을 실온으로 온도 외에는 같은 조건에서 혼방 방치 배양 (incubation)을 시킨 후, 동일한 방법으로 탑재되지 않은 약물을 제거해준다.
- [104] 앞의 실험에서 무 엑소솜(ExoR, 실시예1)에 적절하게 탑재된 옥살리플라틴 (ExoR-OxPt, 실시예4-2)은 우수한 항암 효능을 보인다. 단순한 엑소솜과 약물의 혼합물을 진탕배양후 남은 약물을 반응물에서 제거하고 처리하는 경우에도 엑소솜이 탑재되는지 재 확인 하기 위해 엑소솜(ExoR)만을 1, 10, 20, 50ug/ml 경우

(도 9A)와 옥살리플라틴 첨가 후 적극적 탑재 기술 없이 단순 진탕배양한 경우 (도 9B) 엑소좀에 의한 암세포 성장억제 효능과 다르지 않았으며, 앞서 관찰된 옥살리플라틴에 의한 항암 시너지 효과는 보이지 않았다. 따라서 무 엑소좀은 단순히 약물과의 혼합이 아니라, 적극적인 약물탑재 반응을 통해서만 약물을 효율적으로 전달할 수 있다.

[105]

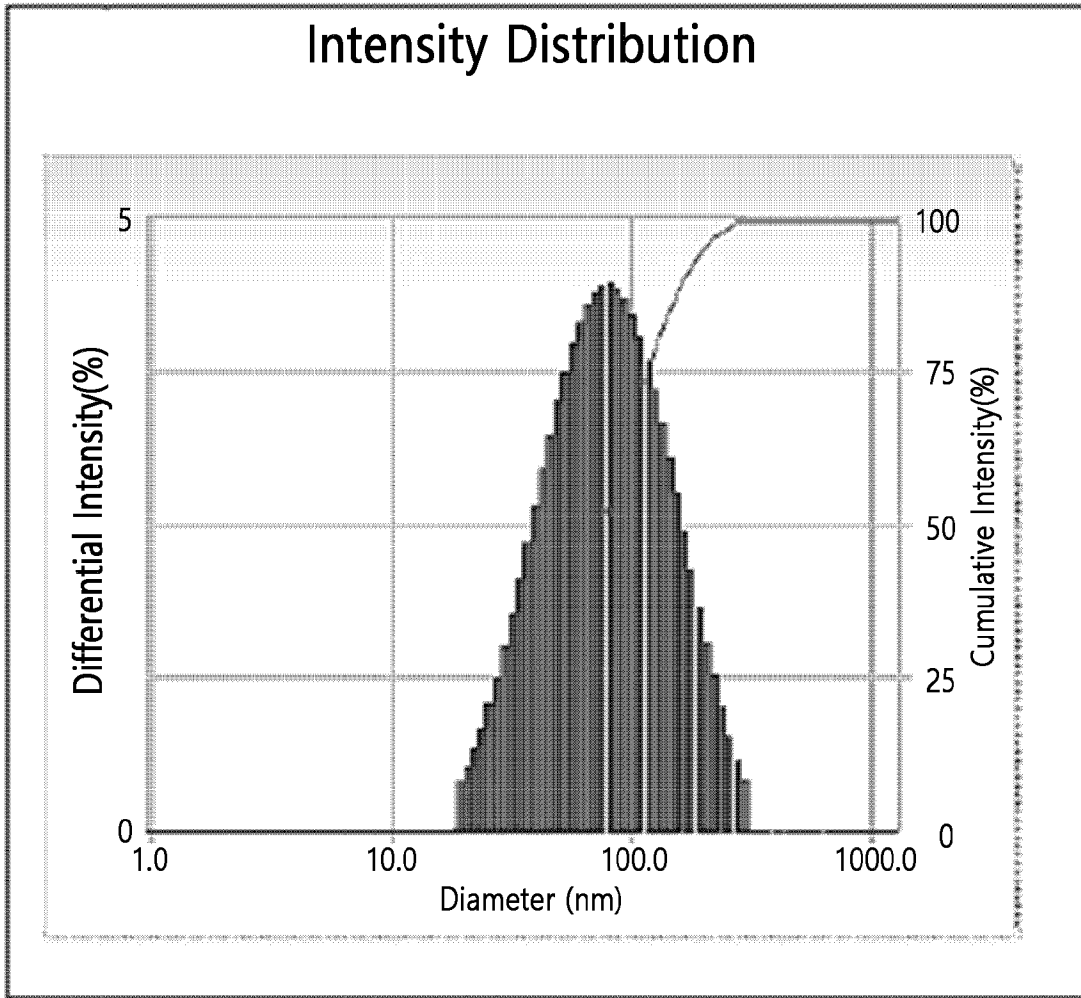
[106]

이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

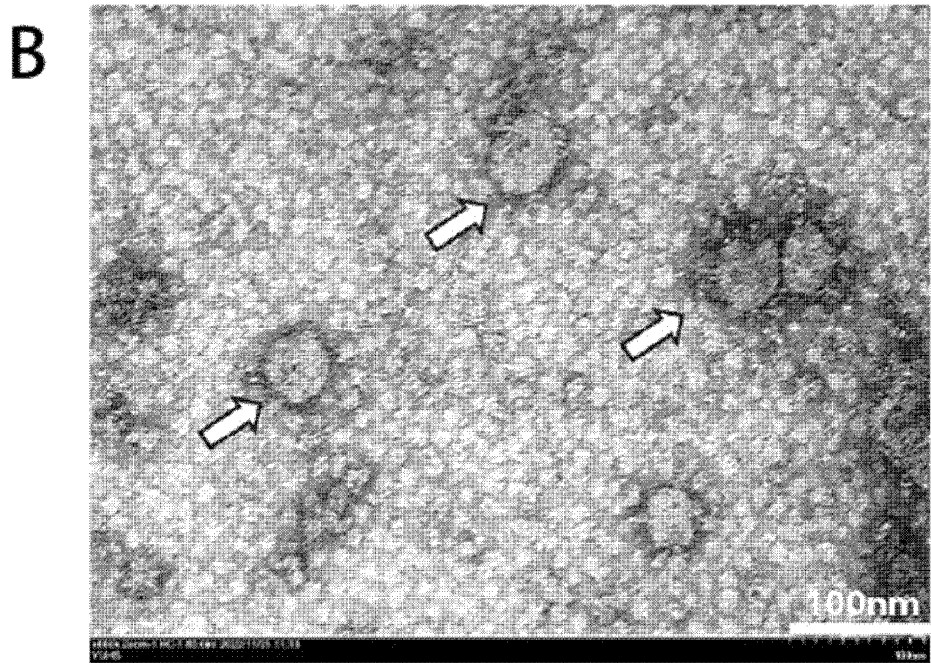
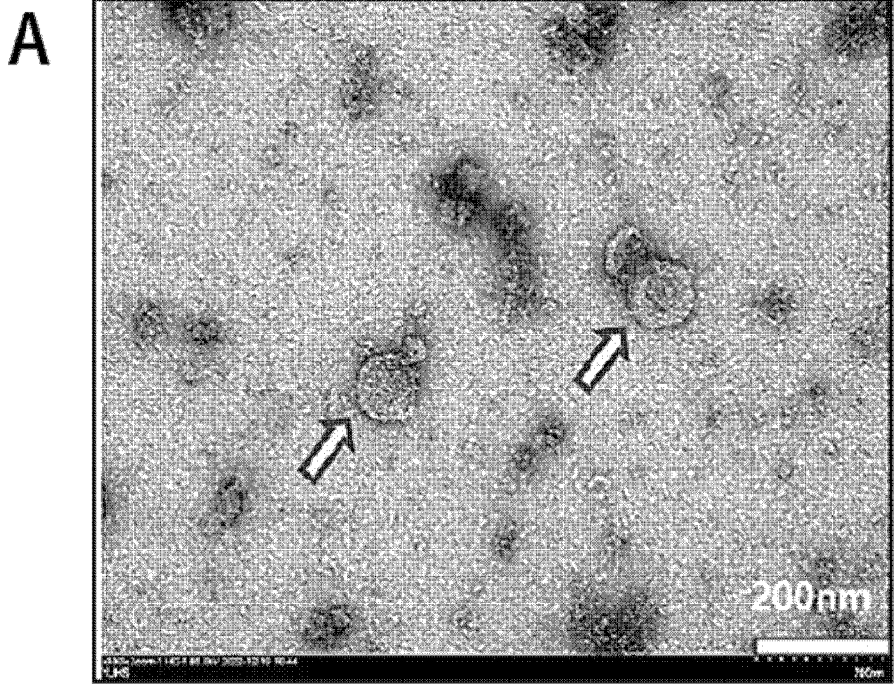
청구범위

- [청구항 1] 식용작물 유래 세포 외 소포(extracellular vesicle)를 포함하는, 암 예방 또는 개선용 의약외품 조성물로, 상기 식용작물은 무, 감자, 콩, 오렌지, 사과, 토마토, 올리브, 마늘, 베리 및 허브 중 선택되는 것인, 암 예방 또는 개선용 의약외품 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 식용작물은 무, 감자, 콩 중 선택되는 것인, 암 예방 또는 개선용 의약외품 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 세포 외 소포는 200nm 이하의 지름을 갖는, 암 예방 또는 개선용 의약외품 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 암은 전립선암인, 암 예방 또는 개선용 의약외품 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 세포 외 소포는 항암제를 탑재한 것인, 암 예방 또는 개선용 의약외품 조성물.
- [청구항 6] 식용작물 유래 세포 외 소포(extracellular vesicle)를 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 세포 외 소포는 항암제를 탑재한 것인, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 8] 식용작물 유래 세포 외 소포(extracellular vesicle)를 포함하는, 암 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

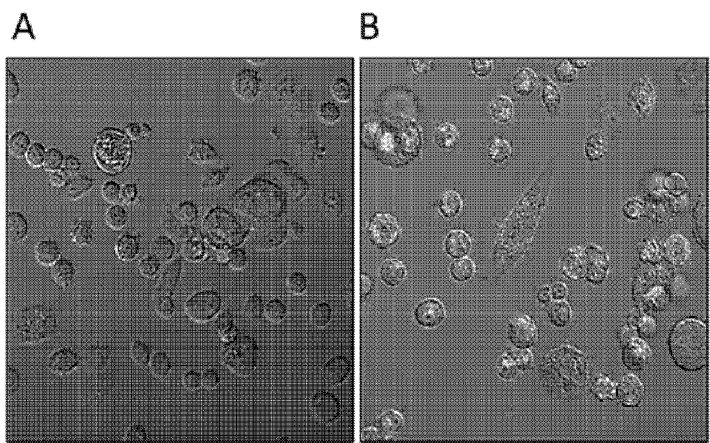
[도 1]



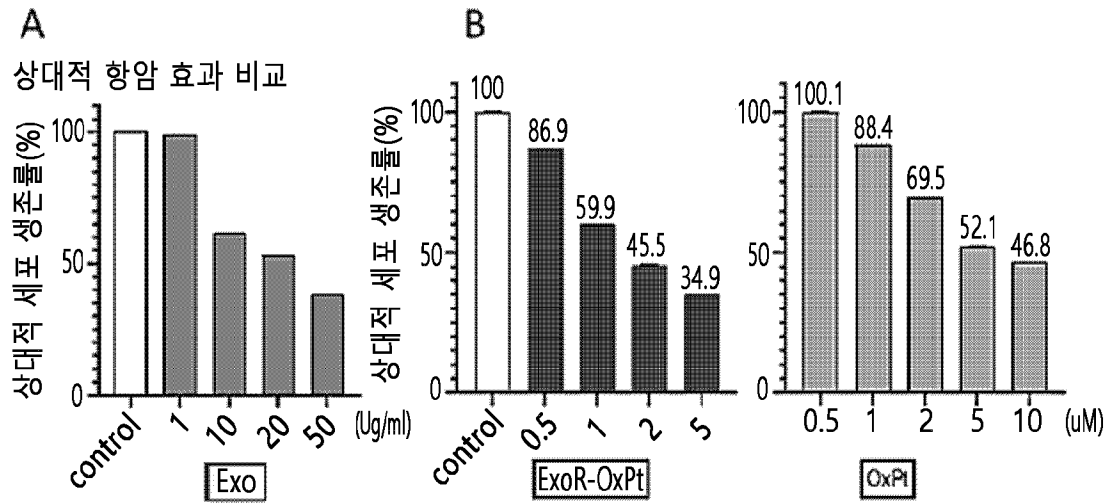
[도2]



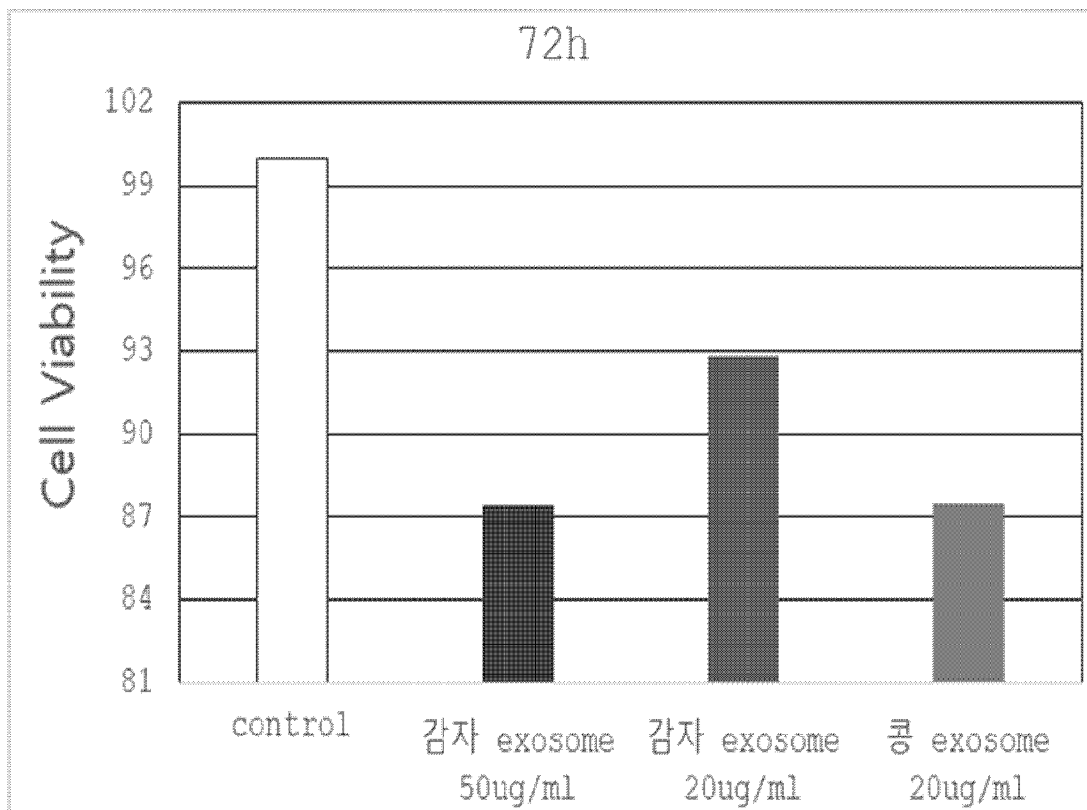
[도3]



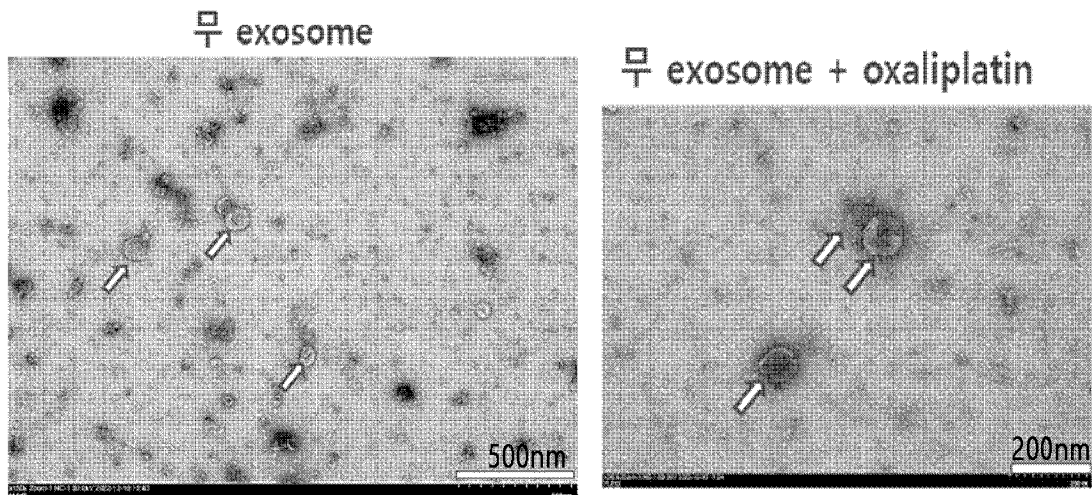
[도4]



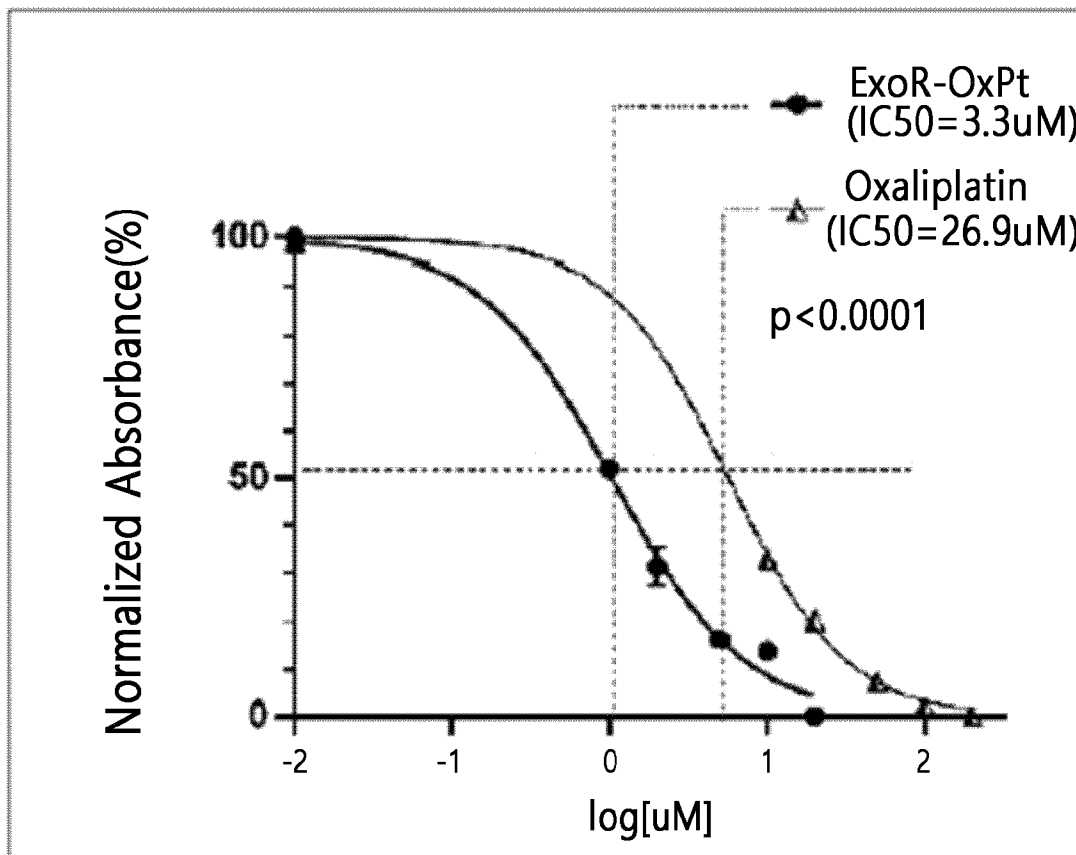
[도5]



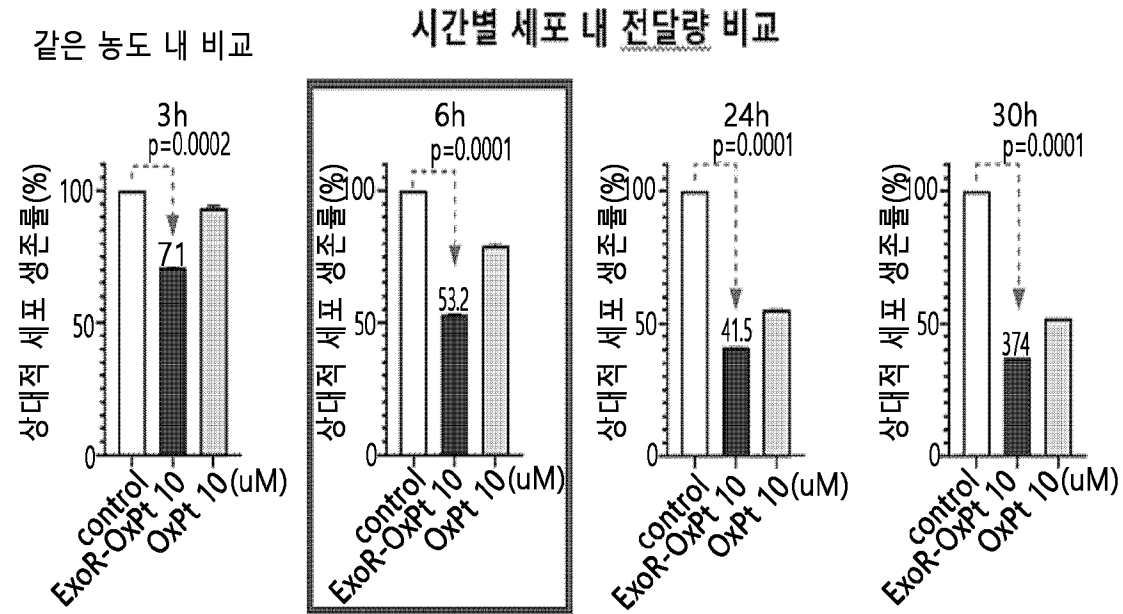
[도6]



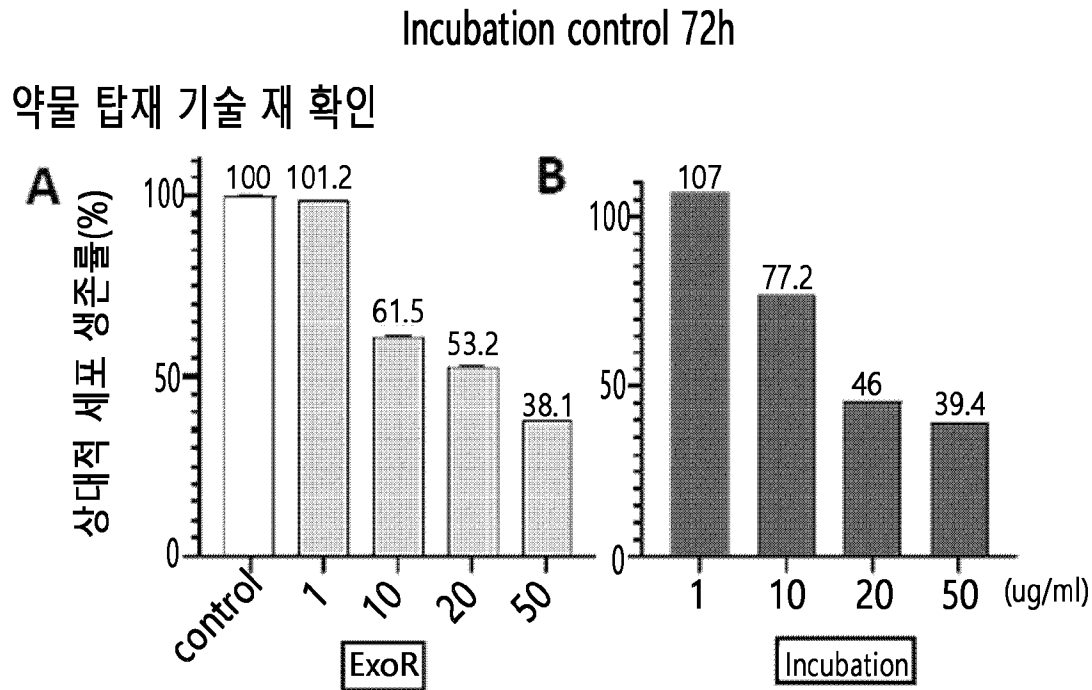
[도7]



[도8]



[도9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/000995**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

A61K 36/31(2006.01)i; **A61K 36/81**(2006.01)i; **A61K 36/48**(2006.01)i; **A61K 36/752**(2006.01)i; **A61K 36/73**(2006.01)i;
A61K 36/63(2006.01)i; **A61K 36/8962**(2006.01)i; **A61K 36/45**(2006.01)i; **A61P 35/00**(2006.01)i; **A23L 33/105**(2016.01)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 36/31(2006.01); A61K 31/7105(2006.01); A61K 36/185(2006.01); A61K 36/752(2006.01); A61K 47/20(2006.01);
A61K 47/46(2006.01); A61P 29/00(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: 세포외 소포(extracellular vesicle), 항암제(antitumor agent), 작물(crop), 전립선암
(prostatic carcinoma), 약물 전달(drug delivery)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2022-0077578 A (INCHEON NATIONAL UNIVERSITY RESEARCH & BUSINESS FOUNDATION) 09 June 2022 (2022-06-09) See claims 1, 3-4, 7 and 9-11; and paragraphs [0013], [0082]-[0083], [0087], [0089]-[0091] and [0113].	1-8
A	WO 2022-067223 A2 (UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, INCORPORATED) 31 March 2022 (2022-03-31) See entire document.	1-8
A	KR 10-2022-0055232 A (INCHEON NATIONAL UNIVERSITY RESEARCH & BUSINESS FOUNDATION) 03 May 2022 (2022-05-03) See entire document.	1-8
A	KR 10-2022-0087009 A (INCHEON NATIONAL UNIVERSITY RESEARCH & BUSINESS FOUNDATION) 24 June 2022 (2022-06-24) See entire document.	1-8

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

01 May 2024

Date of mailing of the international search report

01 May 2024

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

International application No.

PCT/KR2024/000995

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2021-0137523 A (EVOBIOTECH S.R.L.) 17 November 2021 (2021-11-17) See entire document.	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/000995

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR	10-2022-0077578	A	09 June 2022	None	
WO	2022-067223	A2	31 March 2022	AU	2021-350200 A1 08 June 2023
				CA	3193856 A1 31 March 2022
				CN	116600795 A 15 August 2023
				EP	4217073 A2 02 August 2023
				GB	2615671 A 16 August 2023
				JP	2023-543260 A 13 October 2023
				KR	10-2023-0079158 A 05 June 2023
				US	2024-0024227 A1 25 January 2024
				WO	2022-067223 A3 28 April 2022
KR	10-2022-0055232	A	03 May 2022	KR	10-2486043 B1 06 January 2023
KR	10-2022-0087009	A	24 June 2022	KR	10-2525384 B1 24 April 2023
KR	10-2021-0137523	A	17 November 2021	AU	2020-235247 A1 14 October 2021
				CA	3133375 A1 17 September 2020
				CN	113825523 A 21 December 2021
				EP	3937962 A1 19 January 2022
				IL	286260 A 31 October 2021
				IT	201900003639 A1 13 September 2020
				JP	2022-525131 A 11 May 2022
				US	2022-0142938 A1 12 May 2022
				WO	2020-182938 A1 17 September 2020

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 36/31(2006.01)i; A61K 36/81(2006.01)i; A61K 36/48(2006.01)i; A61K 36/752(2006.01)i; A61K 36/73(2006.01)i; A61K 36/63(2006.01)i; A61K 36/8962(2006.01)i; A61K 36/45(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A23L 33/105(2016.01)i		
B. 조사된 분야		
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 36/31(2006.01); A61K 31/7105(2006.01); A61K 36/185(2006.01); A61K 36/752(2006.01); A61K 47/20(2006.01); A61K 47/46(2006.01); A61P 29/00(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: 세포외 소포(extracellular vesicle), 항암제(antitumor agent), 작물(crop), 전립선암(prostatic carcinoma), 약물 전달(drug delivery)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2022-0077578 A (인천대학교 산학협력단) 2022.06.09 청구항 1, 3-4, 7, 9-11; 단락 [0013], [0082]-[0083], [0087], [0089]-[0091], [0113]	1-8
A	WO 2022-067223 A2 (UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, INCORPORATED) 2022.03.31 전체 문헌	1-8
A	KR 10-2022-0055232 A (인천대학교 산학협력단) 2022.05.03 전체 문헌	1-8
A	KR 10-2022-0087009 A (인천대학교 산학협력단) 2022.06.24 전체 문헌	1-8
A	KR 10-2021-0137523 A (에보바이오테크 에스.알.엔.) 2021.11.17 전체 문헌	1-8
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 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 2024년05월01일(01.05.2024)	국제조사보고서 발송일 2024년05월01일(01.05.2024)	
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 10-2022-0077578 A	2022/06/09	없음	
WO 2022-067223 A2	2022/03/31	AU 2021-350200 A1	2023/06/08
		CA 3193856 A1	2022/03/31
		CN 116600795 A	2023/08/15
		EP 4217073 A2	2023/08/02
		GB 2615671 A	2023/08/16
		JP 2023-543260 A	2023/10/13
		KR 10-2023-0079158 A	2023/06/05
		US 2024-0024227 A1	2024/01/25
		WO 2022-067223 A3	2022/04/28
KR 10-2022-0055232 A	2022/05/03	KR 10-2486043 B1	2023/01/06
KR 10-2022-0087009 A	2022/06/24	KR 10-2525384 B1	2023/04/24
KR 10-2021-0137523 A	2021/11/17	AU 2020-235247 A1	2021/10/14
		CA 3133375 A1	2020/09/17
		CN 113825523 A	2021/12/21
		EP 3937962 A1	2022/01/19
		IL 286260 A	2021/10/31
		IT 201900003639 A1	2020/09/13
		JP 2022-525131 A	2022/05/11
		US 2022-0142938 A1	2022/05/12
		WO 2020-182938 A1	2020/09/17