(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2023 년 11 월 30 일 (30.11.2023)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2023/229368 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 41/00 (2006.01) *A61K 33/32* (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01) *A61K 33/26* (2006.01)
A61K 33/242 (2019.01) *A61K 33/34* (2006.01)
A61K 33/243 (2019.01) *A61K 9/14* (2006.01)
A61K 33/244 (2019.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2023/007066

(22) 국제출원일: 2023 년 5 월 24 일 (24.05.2023)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2022-0063450 2022 년 5 월 24 일 (24.05.2022) KR

(71) 출원인: **이화여자대학교 산학협력단 (EWHA UNIVERSITY-INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 03760 서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교), Seoul (KR). **서울대학교산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION)** [KR/KR]; 08826 서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동), Seoul (KR).

(72) 발명자: **김동하 (KIM, Dong-Ha)**; 03031 서울특별시 종로구 자하문로 131-30, 3동 201호 (청운동), Seoul (KR). **유수빈 (YU, Su-Bin)**; 03780 서울특별시 서대문구 연세로2다길 18 (창천동), Seoul (KR). **강하은 (KANG, Ha-Eun)**; 03765 서울특별시 서대문구 이화여대길 88-13, 202호 (대현동), Seoul (KR). **남기태 (NAM, Ki-Tae)**; 06275 서울특별시 강남구 도곡로 320, 107동 501호 (도곡동, 래미안도곡카운티), Seoul (KR). **김령명 (KIM, Ryeong-Myeong)**; 39397 경상북도 구미시 진평2길 33-4, 105호 (진평동), Gyeongsangbuk-do (KR).

(74) 대리인: **특허법인 엠에이피에스 (MAPS INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM)**; 06239 서울특별시 강남구 테헤란로8길 37, 8층 (역삼동, 한동빌딩), Seoul (KR).

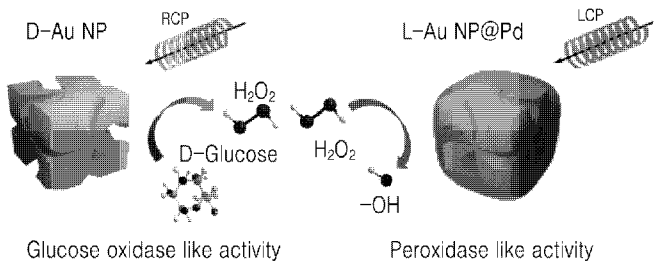
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, 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.

(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).

공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING CHIRAL NANOZYME AND METHOD FOR PREVENTION OR TREATMENT OF PROLIFERATIVE DISEASE, USING SAME

(54) 발명의 명칭: 카이랄 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법



(57) Abstract: The present application relates to a pharmaceutical composition containing a chiral nanozyme and a method for preventing or treating proliferative diseases by using same.

(57) 요약서: 본원은 카이랄 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

WO 2023/229368 A1

명세서

발명의 명칭: 카이랄 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법

기술분야

[1] 본원은 카이랄 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

배경기술

[2] 나노자임은 효소와 유사한 활성을 나타내는 물질을 말하며, Au, Ag와 같은 귀금속 및 Pd, Pt, Mn과 같은 전이 금속에서 나타나는 고유한 특성이다. 나노자임이 모사하는 반응은 대부분 산화, 환원 반응이며, 과산화효소, 산화효소, 카탈라아제(catalase), 슈퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase) 등의 활성을 모사함이 발표되었으며, 이 외에도 에스테레이스(esterase), 핵산분해효소, 인산가수분해효소(phosphatase), 단백질가수분해효소(protease) 등의 활성을 나타내는 나노 입자도 보고된 바 있다. 나노자임의 활성은 입자를 이루고 있는 원소의 촉매 활성에서 나타난다고 알려져 있으며, 그 활성의 크기 및 특성은 나노 입자의 형태, 크기, 구조, 표면상태 등에 의해 크게 달라질 수 있기 때문에, 응용 목적에 따라 일정 부분 나노자임의 활성 조절 역시 가능하다.

[3] 무기물 기반의 나노자임은 유기 효소에 비해 산도 및 온도 등의 외부 환경에 크게 안정한 활성을 보이며, 1,000 배 이하의 가격으로 값싸게 화학적으로 대량 합성될 수 있는 장점이 있기 때문에, 기존의 단백질 효소를 대체할 수 있는 새로운 인공 효소 패러다임으로서 각광받고 있다.

[4] 그러나, 나노자임은 본질적으로 활성 부위가 특징적으로 존재하지 않는 나노구조체이기 때문에 기질 선택성이 부족하며, 그 활성이 유기효소에 비해 아직까지는 일반적으로 낮다는 단점이 있다. 따라서, 최근의 연구는 이와 같은 단점을 극복할 수 있는 새로운 나노자임의 개발에 초점을 맞추어 진행되고 있으며, 실제 상품화를 위한 임상유용성 검증 연구도 진행되고 있다.

[5] [선행기술문헌]

[6] (특허문헌 1) 대한민국등록특허공보 제10-2081666호.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[7] 본원은 카이랄 나노자임을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 이용하는 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하고자 한다.

[8] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제 해결 수단

[9] 본원의 제 1 측면은, 카이랄 구조를 갖는 제 1 금속 나노 구조체를 포함하는 제 1 나노자임을 포함하는, 제 1 나노자임 약학적 조성물로서, 상기 제 1 나노자임은 원편광이 조사됨으로써 효소 활성이 향상되는 것이고, 증식성 질환의 예방 또는 치료용인, 제 1 나노자임 약학적 조성물을 제공한다.

[10] 본원의 제 2 측면은, 카이랄 구조를 갖는 제 2 금속 나노 구조체; 및 금속 코팅층을 포함하는 제 2 나노자임을 포함하는, 제 2 나노자임 약학적 조성물로서, 상기 제 2 나노자임은 원편광이 조사됨으로써 효소 활성이 향상되는 것이고, 증식성 질환의 예방 또는 치료용인, 제 2 나노자임 약학적 조성물을 제공한다.

[11] 본원의 제 3 측면은, 제 1 측면에 따른 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 제 2 측면에 따른 제 2 나노자임 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 일시적 또는 순차적으로 주입하는 것; 및 상기 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 상기 제 2 나노자임 약학적 조성물을 주입한 부위에 각각 우원편광 및 좌원편광을 순서대로 조사하는 것을 포함하는, 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

발명의 효과

[12] 본원의 구현예들에 따른 제 1 나노자임 및/또는 제 2 나노자임은, 카이랄 구조를 갖는 것으로서, 상기 제 1 나노자임 및/또는 제 2 나노자임의 방향성과 동일한 방향성을 갖는 원편광 빛을 조사하면 효소 활성이 극대화되는 특징이 있다.

[13] 본원의 구현예들에 따른 제 1 나노자임 및/또는 제 2 나노자임은 기질과 동일한 방향성을 가짐으로써 기질 선택성이 향상되는 특징이 있다. 일례로서, D-방향성을 갖는 금(Au)을 포함하는 카이랄 나노자임은, 인체 내의 D-글루코스(D-glucose)와 동일한 방향성을 가짐으로써 Au의 글루코스 산화효소 유사 활성(glucose oxidase like activity)이 향상되는 특징이 있다.

[14] 본원의 구현예들에 따른 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 제 2 나노자임 약학적 조성물은, 인간을 제외한 개체에 일시적 또는 순차적으로 주입하고, 상기 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 상기 제 2 나노자임 약학적 조성물을 주입한 부위에 각각 우원편광 및 좌원편광을 순서대로 조사하면, 연속적인 효소 반응에 의하여 D-글루코스를 기질로 하여 최종적으로 하이드록실 라디칼(·OH)를 생성하고, 생성된 ·OH는 암세포를 공격함으로써 암 예방 또는 치료 효과를 갖는 특징이 있다. 또한, 본원의 구현예들에 따른 제 1 나노자임 약학적 조성물 및/또는 제 2 나노자임 약학적 조성물은 글루코스 산화효소 유사 활성 반응을 통해 암 세포의 영양 공급원인 글루코스를 암 세포로부터 차단하여 기아요법(starvation therapy) 치료 효과를 갖는 특징이 있다.

[15] 본원의 구현예들에 따른 제 1 나노자임 약학적 조성물 및/또는 제 2 나노자임 약학적 조성물은, 무기 금속의 플라즈모닉스 특성을 통한 광열(photothermal) 치료 효과 및/또는 광역학(photodynamic) 치료 효과를 가질 수 있는 특징이 있다.

도면의 간단한 설명

[16] 도 1은, 본원의 일 구현예에 있어서, 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 제 2 나노자임 약학적 조성물의 연속적인 효소 반응을 나타내는 모식도이다.

[17] 도 2는, 본원의 일 실시예에 있어서, Pd 코팅층을 갖는 L-Au 나노 입자 (L-Au nano particle) (L-Au NP@Pd)의 제조 과정을 나타내는 모식도이다.

[18] 도 3의 a 및 b는, 본원의 일 실시예에 있어서, L-Au NP의 전자주사현미경 (scanning electron microscope; SEM) 이미지이다.

[19] 도 4의 a 및 b는, 본원의 일 실시예에 있어서, L-Au NP@Pd의 전자주사현미경 (scanning electron microscope; SEM) 이미지이다.

[20] 도 5의 a 내지 c는, 본원의 일 실시예에 있어서, 각각, L-Au NP@Pd의 SEM 이미지, Pd의 X-선 분광법 (energy dispersive x-ray; EDX) 이미지, 및 Au의 EDX 이미지이다.

[21] 도 6은, 본원의 일 실시예에 있어서, L-Au NP@Pd의 흡광 스펙트럼이다.

[22] 도 7은, 본원의 일 실시예에 있어서, L-Au NP@Pd의 원편광 이색성 (circular dichriosm; CD) 스펙트럼이다.

[23] 도 8은, 본원의 일 실시예에 있어서, L-Au NP@Pd의 과산화수소 및 808 nm 레이저 조사 하에서 테트라메틸벤지딘 (tetramethylbenzidine; TMB) 흡광 스펙트럼이다.

[24] 도 9는, 본원의 일 실시예에 있어서, L-Au NP@Pd의 우원편광 (right circularly polarized light; RCP), 좌원편광 (left circularly polarized light; LCP) 및 선형편광 (linear polarized light; LP) 하에서 TMB 흡광 스펙트럼이다.

[25] 도 10은, 본원의 일 실시예에 있어서, D-Au NP의 LCP, LP 및 RCP 하에서 엠플렉스 레드 (amplex red) 형광 스펙트럼이다.

[26] 도 11 및 도 12는, 본원의 일 실시예에 있어서, 각각, D-Au NP 및 L-Au NP에 앰플렉스 레드 분석 (Amplex red assay)을 수행하여 도출한 형광 스펙트럼이다.

[27] 도 13은, 본원의 일 실시예에 있어서, D-Au NP 및 L-Au NP@Pd을 포함하는 샘플에 D-글루코스를 처리하기 전후의 테레프탈산 (terephthalic acid; TA) 형광 스펙트럼이다.

[28] 도 14는, 본원의 일 실시예에 있어서, 폴리에티렌글리콜 (polyethylene glycol; PEG) 처리한, D-Au NP (D-Au NP@PEG) 및 L-Au NP@Pd (L-Au NP@Pd@PEG)의 다크 (dark) 인비트로(In vitro) 세포 독성 평가 그래프이다.

[29] 도 15는, 본원의 일 실시예에 있어서, D-Au NP@PEG, L-Au NP@Pd@PEG, 및 D-Au NP@PEG+L-Au NP@Pd@PEG의 빛 조사 조건에 따른 광 인비트로(In vitro) 세포 독성 평가 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[30] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하

는 구현예 및 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[31] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 "전기적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다.

[32] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.

[33] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[34] 본 명세서에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.

[35] 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 "~ 하는 단계" 또는 "~의 단계"는 "~를 위한 단계"를 의미하지 않는다.

[36] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 "이들의 조합(들)"의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.

[37] 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B"의 기재는, "A 또는 B, 또는 A 및 B"를 의미한다.

[38] 이하, 본원의 구현예를 상세히 설명하였으나, 본원이 이에 제한되지 않을 수 있다.

[39] 본원의 제 1 측면은, 카이랄 구조를 갖는 제 1 금속 나노 구조체를 포함하는 제 1 나노자임을 포함하는, 제 1 나노자임 약학적 조성물로서, 상기 제 1 나노자임은 원편광이 조사됨으로써 효소 활성이 향상되는 것이고, 중식성 질환의 예방 또는 치료용인, 제 1 나노자임 약학적 조성물을 제공한다.

[40] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 금속 나노 구조체는 D-방향성 또는 L-방향성을 갖는 것일 수 있고, 상기 제 1 나노자임은 상기 제 1 금속 나노 구조체의 방향성에 따라 D-방향성 또는 L-방향성을 갖는 것일 수 있다.

[41] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 원편광은 좌원편광 (left circularly polarized light) 또는 우원편광 (right circularly polarized light)일 수 있다.

[42] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 금속 나노 구조체는 Au, Pd, Pt, Ce, Mn, Ir 및 Rh에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다

[43] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 나노자임은 글루코스 산화 효소 유사 활성을 나타내는 것일 수 있다.

[44] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 글루코스 산화 반응은 암 세포의 영양 공급원인 글루코스를 차단하여 기아요법(starvation therapy)을 유도할 수 있다.

[45] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 나노자임은 D-방향성을 갖는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 나노자임은, 상기 제 1 금속 나노 구조체가 D-방향성을 가짐으로써, D-방향성을 갖는 것일 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 나노자임은 D-글루코스를 기질로 하여 H_2O_2를 생성하는 것일 수 있다.

[46] 본원의 제 2 측면은, 카이랄 구조를 갖는 제 2 금속 나노 구조체; 및 금속 코팅층을 포함하는 제 2 나노자임을 포함하는, 제 2 나노자임 약학적 조성물로서, 상기 제 2 나노자임은 원편광이 조사됨으로써 효소 활성이 향상되는 것이고, 증식성 질환의 예방 또는 치료용인, 제 2 나노자임 약학적 조성물을 제공한다.

[47] 본원의 제 1 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 본원의 제 1 측면에 대해 설명한 내용은 본원의 제 2 측면에서 그 설명이 생략되었더라도 동일하게 적용될 수 있다.

[48] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 금속 나노 구조체는 D-방향성 또는 L-방향성을 갖는 것일 수 있고, 상기 제 2 나노자임은 상기 제 2 금속 나노 구조체의 방향성에 따라 D-방향성 또는 L-방향성을 갖는 것일 수 있다.

[49] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 원편광은 좌원편광 (left circularly polarized light) 또는 우원편광 (right circularly polarized light)일 수 있다.

[50] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 금속 나노 구조체는 Au, Pd, Ce, Fe, Cu, Co, 및 Ir에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.

[51] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 코팅층은 Au, Pd, Pt, Ce, Fe, Cu, Mn, Mo, Co, Ir, Ru 및 Ag에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[52] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 금속 나노 구조체 및 상기 금속 코팅층은 서로 동일하거나; 또는 상이한 금속을 포함하는 것일 수 있다.

[53] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 나노자임은 과산화효소 유사 활성을 나타내는 것일 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 나노자임은 H_2O_2를 기질로 하여 하이드록실 라디칼 (·OH)을 생성하는 것일 수 있다.

[54] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 나노자임은 L-방향성을 갖는 것일 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 2 나노자임은, 상기 제 2 금속 나노 구조체가 L-방향성을 가짐으로써, L-방향성을 갖는 것일 수 있다.

[55] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 코팅층에 의하여 상기 제 2 나노자임의 성질이 결정될 수 있다.

[56] 본원의 제 3 측면은, 제 1 측면에 따른 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 제 2 측면에 따른 제 2 나노자임 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 일시적 또는 순차적으로 주입하는 것; 및 상기 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 상기 제 2 나노자임 약학적 조성물을 주입한 부위에 각각 우원편광 및 좌원편광을 순서대로 조사하는 것을 포함하는, 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[57] 본원의 제 1 측면 및/또는 제 2 측면과 중복되는 부분들에 대해서는 상세한 설명을 생략하였으나, 본원의 제 1 측면 및/또는 제 2 측면에 대해 설명한 내용은 본원의 제 3 측면에서 그 설명이 생략되었더라도 동일하게 적용될 수 있다.

[58] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 방법에 의하여 D-글루코스로부터 하이드록실 라디칼을 생성할 수 있다.

[59] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 제 1 금속 나노 구조체 및 상기 제 2 금속 나노 구조체는 각각 Au을 포함하는 것이고, 상기 제 2 나노자임의 금속 코팅층은 Pd를 포함하는 것이고, 상기 제 1 나노자임은 D-방향성을 갖는 카이랄 구조이며, 상기 제 2 나노자임은 L-방향성을 갖는 카이랄 구조인 것일 수 있다. 이 경우, 상기 제 1 나노자임에 우원편광을 조사하면 Au의 글루코스 산화효소 유사 활성을 통해 D-글루코스를 기질로 하여 H_2O_2를 생성하고, 상기 제 2 나노자임에 좌원편광을 조사하면 Pd의 과산화효소 유사 활성을 통해 H_2O_2를 산화시켜 하이드록실 라디칼(·OH)이 생성될 수 있으며, 이를 광역학 치료에 사용할 수 있다.

[60] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법은, 상기 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 상기 제 2 나노자임 약학적 조성물을 인간 또는 인간을 제외한 개체에 투여하는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 또한, 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법은, 상기 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 상기 제 2 나노자임 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 투여하는 것을 포함하는 것일 수 있다.

[61] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 약학적 조성물을 인간 또는 인간을 제외하는 개체에 투여하는 것은 적용 가능한 투여 방법이면 제한 없이 사용될 수 있다.

[62] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법은 광열(photothermal) 및/또는 광역학(photodynamic) 치료 효과를 갖는 것일 수 있다. 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법은, 상기 제 1 금속 나노 구조체 또는 상기 제 2 금속 나노 구조체인 무기 금속을 포함함으로써 플라즈모닉스 특성을 통하여 광열 치료 효과를 갖는 것일 수 있다.

[63] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 증식성 질환은 고형 종양, 혈액암, 결장직장암, 자궁암, 자궁근종, 수막종, 폐암, 소세포성 폐암, 위장관암, 대장암, 장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종 및 흑색종에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.

[64] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법은 연속적인 효소 반응을 통하여 암 환부 주변에서 글루코스로부터 많은 양의 활성 산소종을 생성할 수 있다.

[65] 이하, 본원에 대하여 실시예를 이용하여 좀더 구체적으로 설명하지만, 하기 실시예는 본원의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐, 본원의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

발명의 실시를 위한 형태

[66] **[실시예]**

[67] **실시예 1. D-Au 나노 입자 (D-Au Nano particle; D-Au NP)의 합성**

[68] 100 mM의 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(hexadecyltrimethylammonium bromide; CTAB) 0.8 mL을 3.95 mL의 물에 넣었다. 상기 용액에 10 mM의 금 전구체인 테트라클로로금(III)산 삼수화물(tetrachloroauric (III) trihydrate; $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$) 0.1 mL과 환원제인 L-아스코르브산 0.1 M, 0.475 mL를 혼합 후 볼텍스 믹서로 1 분간 교반하여 제 1 혼합 용액을 제조하였다. 물에 녹인 1mM D-글루타티온(D-Glutathione) 0.5 μL을 상기 제 1 혼합 용액에 첨가한 후 볼텍스 믹서로 1 분간 교반하여 제 2 혼합 용액을 제조하였다. 상기 제 2 혼합 용액에 45 nm의 크기를 갖는 정팔면체 또는 정육면체 Au 금속 시드 입자(cube nanoparticle)를 넣고 2 시간 후 D-글루타티온에 의해 제어된 카이랄 구조를 가지는 금속 나노 구조체가 합성되었다. 이후, 수득된 금속 나노 구조체는 30 초 동안 5000 rpm의 원심분리를 통하여 세척 및 분리하였다.

[69] **실시예 2. Pd 코팅층을 갖는 L-Au 나노 입자 (L-Au NP@Pd)의 합성**

[70] **2-1. L-Au 나노 입자 (L-Au NP)의 합성**

[71] 펩타이드로서 L-글루타티온을 첨가하는 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일한 제조 방법을 이용하여 L-방향성을 갖는 카이랄 구조의 Au 나노 입자 (L-Au NP)를 합성하였다.

[72] **2-2. L-Au NP@Pd의 합성(도 2 참조)**

[73] 상기 실시예 2-1에서 합성된 L-Au NP (OD: 2.0) 2 mL을 헥사데실트리메틸암모늄 클로라이드(hexadecyltrimethylammonium chloride; CTAC)에 분산시킨 후, $PdCl_2$ 10 mM과 환원제인 아스코르브산 10 mM을 넣고 교반한 후, 하루 동안 인큐베이션하였다. 이후, 원심분리를 통하여 잔여 $PdCl_2$을 제거한 뒤 CTAB에 재분산시켰다.

[74] 도 3a 및 3b는 L-Au NP의 SEM 이미지이며, 도 4a 및 4b는 Pd를 표면에 도입한 L-Au NP (L-Au NP@Pd)의 SEM 이미지이다. L-Au NP은 매끄러운 표면이 관찰되는 반면, L-Au NP@Pd은 표면에 Pd가 부착되어 있는 것을 확인할 수 있다. 또한, 도 5a 내지 5c는 L-Au NP@Pd의 에너지 분산형 X-선 분광법(energy dispersive x-ray; EDX) 분석 데이터로서, Pd의 도입을 확인할 수 있다.

[75] 또한, 도 6의 흡광 스펙트럼을 통하여, L-Au NP@Pd이 800 nm 내지 1000 nm의 근적외선영역에서 흡광이 있음을 확인할 수 있고, 도 7의 원편광 이색성 (circular dichriosm; CD) 스펙트럼을 통해 근적외선 영역(808 nm)에서 우원편광 (right circularly polarized light; RCP) 보다 좌원편광 (left circularly polarized light; LCP)을 더 강하게 흡수한다는 것을 확인할 수 있다.

[76] **실시예 3. D-Au NP 나노 입자 및 L-Au NP@Pd 나노 입자를 포함하는 카이랄 하이브리드 나노자임 조성물의 제조**

[77] 상기 실시예 1을 통해 제조된 D-Au NP 및 실시예 2를 통해 제조된 L-Au NP@Pd을 포함하는, 카이랄 하이브리드 나노자임 조성물을 제조하였다.

[78] **실험예 1. L-Au NP@Pd 및 D-Au NP의 효소 활성 평가**

[79] **1-1. 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine(TMB) 실험을 통한, L-Au NP@Pd의 과산화효소 유사 활성 평가**

[80] L-Au NP@Pd의 과산화효소 유사 활성을 확인하고자, L-Au NP@Pd를 TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine)와 반응시킨 뒤 흡광 스펙트럼을 확인하였다.

[81] **1) 실험 과정**

[82] 아세트산나트륨을 증류수(distilled water)에 녹여 0.1 M의 아세테이트 완충용액을 제조하고, 아세트산을 통하여 pH를 4.5로 조절하였다. 다이메틸 설폭사이드(dimethyl sulfoxide; DMSO)에 녹인 0.12 M의 테트라메틸벤지딘 (tetramethylbenzidine; TMB) 20 μL, L-Au NP@Pd 200 μL, 및 30% H_2O_2 8 μL를 상기 아세테이트 완충용액에 넣고, LCP, LP 및 RCP 레이저 하에서 반응시켰다. 반응 온도는 35℃ 내지 40℃로 유지하였으며, 30 분 동안 반응시킨 후 UV-Vis 흡광을 측정하였다.

[83] TMB는 과산화효소(peroxidase) 기질과 반응하여 ox-TMB (oxidized TMB)로 변화하며, 푸른색을 띄며 흡광 그래프 측정 시 약 650 nm에서 피크(peak)를 나타낸다.

[84] **2) 결과**

[85] 도 8을 참조하여 설명하면, L-Au NP@Pd는 과산화수소의 존재 하에서 808 nm 레이저를 조사하였을 때 과산화효소 유사 활성을 보이는 것을 확인할 수 있다.

[86] 도 9를 참조하여 설명하면, L-Au NP@Pd에 조사한 빛의 편광 방향에 따른 효소 활성 정도를 확인할 수 있다. L-Au NP@Pd는 LCP에서 효소 활성이 가장 크게 나타나고 LP, RCP 순으로 효소 활성이 점차 감소하였다. 이는, 도 7의 L-Au NP@Pd의 CD 스펙트럼의 근적외선 영역에서 RCP보다 LCP에서의 흡광이 더 큰 것과 동일한 결과이다.

[87] **1-2. 엠플렉스 레드 분석(Amplex Red Assay) 실험을 통한 D-Au NP의 글루코스 산화효소 유사 활성 평가**

[88] D-Au NP의 글루코스 산화효소 유사 활성(glucose oxidase like activity)을 확인하고자, Amplex Red assay를 수행하였다.

[89] **1) 작업 용액 제조**

[90] 엠플렉스 레드 과산화수소/과산화효소 분석 키트(Amplex® Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit) (써모피셔 사이언티픽 사)에 485 μL의 반응 완충액, 5 μL의 Amplex red 시약 및 10 μL의 HRP를 넣고 교반하여 작업 용액(working solution)을 제조하였다. Amplex Red는 과산화수소를 검출할 수 있는 시약으로서, 과산화수소와 반응하여 약 570 nm에서 형광 피크가 관찰된다.

[91] **2) 반응 조건**

[92] 증류수 1 mL에 D-Au NP (OD: 2) 200 μL 및 0.2 M의 D-글루코스 200 μL를 넣고, 808 nm 레이저 하에서 30 분 동안 반응시켜 샘플을 제조하였다. 또한, 증류수만 존재하는 것, D-Au NP만 존재하는 것 및 D-Au NP와 기질인 D-글루코스를 혼합하되 레이저를 조사하지 않은 것의 3 개의 비교군 샘플을 제조하여, 동일 조건에서 실험을 수행하였다. 상기 4 개의 샘플을 35℃의 핫플레이트에서 30 분 동안 반응시킨 후, 원심분리하여 상층액만 수득하였다. 증류수 950 mL에 수득한 상층액 25 μL 및 작업 용액 25 μL를 혼합한 후, 30℃ 오븐에서 30 분 동안 인큐베이션시킨 후 광루미네선스(photoluminescence)를 측정하였다.

[93] **3) 결과**

[94] 도 10을 참조하여 설명하면, D-Au NP는 RCP, LP 및 LCP의 순서로 형광이 크게 나타났다. 즉, 효소 활성이 RCP에서 가장 크게 나타난 것을 확인할 수 있다. 이는, 상기 TMB실험의 결과로서 나타난 L-Au NP@Pd의 활성과는 반대의 경향성으로서, 금 나노 입자의 카이랄성이 반대인 것으로부터 기인한다.

[95] **실험예 2. L-Au NP 및 D-Au NP의 기질 선택성 평가**

[96] 카이랄 나노자임의 기질 선택성에 대한 효과를 확인하기 위하여, D-Au NP 및 L-Au NP 각각에 대해 D-글루코스를 기질로 한 글루코스 산화효소 유사 활성을 평가하였다.

[97] 도 11 및 도 12는, 각각, D-Au NP 및 L-Au NP에 Amplex red assay를 수행하여 도출한 형광 스펙트럼이다. 도 11 및 도 12를 참조하면, D-Au NP 및 L-Au NP은, 각각, D-글루코스를 넣고 808 nm 레이저를 조사하였을 때 가장 높은 흡광을 나타냈으며, 이를 통해 글루코스 산화효소 유사 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[98] 그러나, 도 11의 D-Au NP와 도 12의 L-Au NP의 효소 활성 수치를 비교하면, D-Au NP에서 효소 활성이 현저하게 높게 나타난 것을 확인할 수 있다. 이는, D-Au NP가 D-글루코스에 더 높은 기질 선택성을 보인다는 것을 의미하며, 기질에 맞는 방향성을 가진 나노자임을 선택함으로써 효소 활성을 효과적으로 높일 수 있다는 것을 확인할 수 있다.

[99] **실험예 3. D-Au NP 및 L-Au NP@Pd을 포함하는 카이랄 하이브리드 나노자임 조성물의 하이드록실 라디칼 생성 평가**

[100] D-Au NP 및 L-Au NP@Pd을 포함하는 하이브리드 나노자임 조성물의 연속적인 효소 반응을 통해 D-글루코스에서 최종적으로 하이드록실 라디칼이 형성되는 것을 확인하기 위하여, 테레프탈산 (terephthalic acid; TA)을 이용하여 실험을

수행하였다. TA는 하이드록실 라디칼을 검출하는 시약으로서, 하이드록실 라디칼과 반응하여 약 450 nm에서 강한 형광 피크를 나타낸다.

[101] **1) 실험 과정**

[102] 0.1 M NaOH에 테레프탈산(terephthalic acid; TA)을 녹여 10 mM 테레프탈산 용액을 제조하였다. 증류수 300 μL에 D-Au NP (OD: 2) 500 μL 및 0.2 M D-글루코스 200 μL를 넣고 교반한 후, RCP 레이저를 15 분 동안 조사하였다. 상기 용액에 L-Au NP@Pd (OD: 2) 200 μL와 상기 10 mM 테레프탈산 용액 200 μL를 넣고 LCP 레이저를 15 분 동안 조사하여 광루미네선스를 측정하였다. 비교군으로서, D-글루코스를 넣지 않고 D-Au NP 및 L-Au NP@Pd 만을 포함하는 샘플을 동일하게 실험을 진행하였다.

[103] **2) 결과**

[104] 도 13을 참조하여 설명하면, D-글루코스를 넣은 샘플에서 강한 형광 피크가 관찰되었고, 이를 통하여, D-글루코스를 기질로 한 캐스케이드 효소 (cascade enzymatic) 활성을 통하여 하이드록실 라디칼을 효과적으로 형성한다는 것을 확인할 수 있다.

[105] **실험예 4. D-Au NP 및 L-Au NP@Pd을 포함하는 카이랄 하이브리드 나노자임 조성물을 이용한 세포 내 독성도 분석 (MTT assay)**

[106] ***In vitro* MTT 분석(In vitro MTT assay)**

[107] 실험예 1 내지 3을 통하여, D-Au NP 및 L-Au NP@Pd의 효소 활성을 확인한 뒤, *in vitro* 실험을 통해 실제 세포 내에서 독성을 나타내는지 확인하였다.

[108] D-Au NP 및 L-Au NP@Pd에 PEG(poly ethylene glycol)를 도입하여 세포에 처리한 후, Ez-cytox를 이용한 WST assay를 통하여 세포 독성을 측정하였다. Ez-cytox는 살아있는 세포 내의 미토콘드리아성 NADH-탈수소효소(mitochondrial NADH-dehydrogenase)와 반응하여 오렌지 색의 수용성 포르마잔(formazan)을 생성하고 450 nm에서 흡광을 갖는다. 이를 멀티 리더(multi-reader)로 측정하면 포르마잔의 생성을 계산할 수 있고, 포르마잔은 살아있는 세포 수와 상관관계를 가지기 때문에 독성을 측정할 수 있다. 암세포는 헬라 세포(Hela cell)를 사용했으며 세포 미디어는 글루코스를 포함한 DMEM(dulbeccos modified eagles media)을 사용하였다.

[109] **4-1. 다크 독성(dark toxicity) 조사**

[110] **1) 실험 과정**

[111] 레이저를 조사하지 않은 상태에서 세포 내 독성을 확인하기 위하여 하기 실험을 수행하였다. 물질의 생체 적합성을 높이기 위하여, D-Au NP (OD: 1) 및 L-Au NP@Pd (OD: 1)를 각각 준비하여 PEG-thiol (O-[2-(3-Mercaptopropionylamino)ethyl]-O´-methylpolyethylene glycol) 1 mg/mL에 재분산시켰다. 상기 용액을 하루 동안 인큐베이션시키고 원심분리를 통하여 세포 미디어(DMEM)로 재분산시켰다. PEG가 도입된, D-Au NP (D-Au NP@PEG) 및 L-Au NP@Pd(L-Au NP@Pd @PEG)을 DMEM을 이용하여 OD 0.01, 0.05, 0.1, 및 1의 농도로 희석하고, 이를

세포를 배양한 96-웰 플레이트(96-well plate)의 각 웰(well)에 넣었다. 이때, D-Au NP@PEG만 포함된 샘플군, L-Au NP@Pd@PEG만 포함된 샘플군, 및 D-Au NP@PEG와 L-Au NP@Pd@PEG가 모두 포함된 샘플군을 처리하였으며, 또한 상기 물질을 처리하지 않은 샘플군 및 레이저를 처리하지 않은 샘플군을 대조군 샘플로서 설정하여 실험을 진행하였다. 세포 내로 물질이 들어갈 수 있도록 하루 동안 기다린 후, Ez-cytox를 DMEM으로 10 배 희석하여 각 웰에 100 μL씩 넣고 30 분 동안 인큐베이션 시킨 후, 멀티 리더(multi-reader)로 450 nm에서 흡광을 측정하였다.

[112] **2) 결과**

[113] 레이저를 조사하지 않은 상태의 다크 독성은 도 14의 그래프로서 나타내었다. 도 14를 참조하면, D-Au NP@PEG와 L-Au NP@Pd@PEG는 OD 0.01 내지 OD 1의 범위에서 세포 내에서 큰 독성을 나타내지 않은 것을 확인할 수 있다.

[114] **4-2. 광 독성(light toxicity) 조사**

[115] **1) 실험 과정**

[116] 레이저 조사 하의 세포 내 독성을 확인하기 위하여 원편광(circularly polarized light; CPL) 레이저를 이용하여 하기 실험을 진행하였다. PEG를 도입하여 96-웰 플레이트의 세포에 처리하는 과정까지 상기 4-1의 1)에 명시한 과정과 동일하게 준비하였다. D-Au NP@PEG (OD: 1) 및 L-Au NP@Pd@PEG (OD: 1)을 세포에 처리한 뒤, 각각 원편광된 레이저를 10 분 동안 조사하고, Ez-cytox를 처리하여 독성을 측정하였다. 물질 및 레이저를 모두 처리하지 않은 샘플을 대조군 샘플로서 사용하였다. 레이저에 의한 독성을 확인하기 위하여, 물질을 처리하지 않고 레이저만 조사한 것을 비교군 샘플로서 사용하였으며, RCP를 10 분 조사한 샘플, LCP를 10 분 조사한 샘플, 및 RCP를 5 분 조사 후 LCP를 5 분 조사한 샘플을 비교군으로 설정하여 실험을 진행하였다. D-Au NP@PEG만 처리한 샘플에는 RCP를 10 분 동안 조사하였으며, L-Au NP@Pd@PEG 만 처리한 샘플에는 LCP를 10 분 동안 조사하였고, D-Au NP@PEG 및 L-Au NP@Pd@PEG을 모두 처리한 샘플에는 RCP 5 분 및 LCP 5 분을 순차적으로 조사하였다. 이후, Ez-cytox를 DMEM으로 10 배 희석하여 각 웰에 100 μL씩 넣고 30 분 동안 인큐베이션 시킨 뒤 멀티 리더(multi-reader)로 450 nm에서 흡광을 측정하였다.

[117] **2) 결과**

[118] 레이저를 조사한 상태의 광 독성은 도 15의 그래프로서 나타내었다. 도 15를 참조하면, 대조군 샘플과 레이저만 조사한 샘플에서는 독성이 나타나지 않은 반면, 물질 및 레이저를 동시에 처리한 샘플군에서 독성이 나타난 것을 확인할 수 있다. 특히, D-Au NP만 처리한 샘플 및 L-Au NP@Pd만 처리한 샘플과 비교하여 D-Au NP@PEG 및 L-Au NP@Pd@PEG을 모두 처리한 샘플에서 더 큰 독성이 나타난 것을 확인할 수 있으며, 이는 D-Au NP@PEG 및 L-Au NP@Pd@PEG의 연속적인 효소 반응을 통해 하이드록실 라디칼이 생성되어 효과적으로 암세포를 사멸한 것을 확인할 수 있다.

[119] 결론적으로, 상기 실험예 1 내지 4를 통하여, D-Au NP는 글루코스 산화효소 유사 활성 특성을 통해 D-글루코스를 산화하여 과산화수소를 생성하고, 생성된 과산화수소는 팔라듐이 도입된 L-Au NP(L-Au NP@Pd)의 기질이 되어 팔라듐의 과산화효소 유사 활성을 통하여 최종적으로 하이드록실 라디칼을 형성하며, 이는 암을 사멸하는 광역학 치료를 수행함을 확인하였다.

[120] 전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수도 있다.

[121] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

[청구항 1] 카이랄 구조를 갖는 제 1 금속 나노 구조체를 포함하는 제 1 나노자임
을 포함하는, 제 1 나노자임 약학적 조성물로서,
상기 제 1 나노자임은 원편광이 조사됨으로써 효소 활성이 향상되는 것이고,
증식성 질환의 예방 또는 치료용인, 제 1 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 2] 제 1 항에 있어서,
상기 제 1 금속 나노 구조체는 Au, Pd, Pt, Ce, Mn, Ir 및 Rh에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 제 1 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 3] 제 1 항에 있어서,
상기 제 1 나노자임은 글루코스 산화 효소 유사 활성을 나타내는 것인, 제 1 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 4] 제 1 항에 있어서,
상기 제 1 나노자임은 D-방향성을 갖는 것인, 제 1 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 5] 카이랄 구조를 갖는 제 2 금속 나노 구조체; 및 금속 코팅층을 포함하는 제 2 나노자임
을 포함하는, 제 2 나노자임 약학적 조성물로서,
상기 제 2 나노자임은 원편광이 조사됨으로써 효소 활성이 향상되는 것이고,
증식성 질환의 예방 또는 치료용인, 제 2 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 6] 제 5 항에 있어서,
상기 제 2 금속 나노 구조체는 Au, Pd, Ce, Fe, Cu, Co 및 Ir에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 제 2 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 7] 제 5 항에 있어서,
상기 금속 코팅층은 Au, Pd, Pt, Ce, Fe, Cu, Mn, Mo, Co, Ir, Ru 및 Ag에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 제 2 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 8] 제 5 항에 있어서,
상기 제 2 나노자임은 과산화효소 유사 활성을 나타내는 것인, 제 2 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 9] 제 5 항에 있어서,
상기 제 2 나노자임은 L-방향성을 갖는 것인, 제 2 나노자임 약학적 조성물.

[청구항 10] 제 1 항에 따른 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 제 5 항에 따른 제 2 나노자임 약학적 조성물을 인간을 제외한 개체에 일시적 또는 순차적으로 주입하는 것; 및

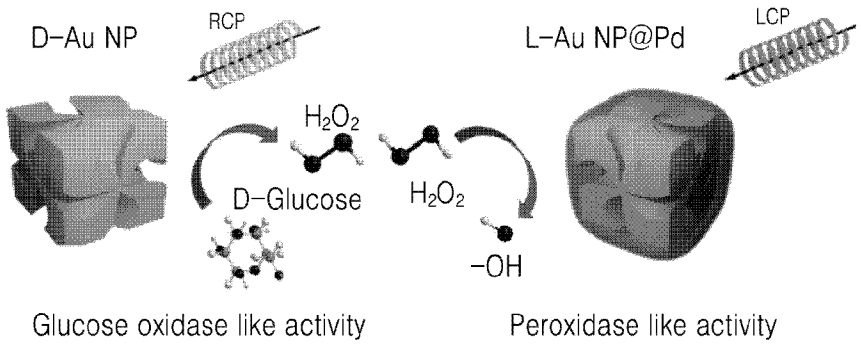
상기 제 1 나노자임 약학적 조성물 및 상기 제 2 나노자임 약학적 조성물을 주입한 부위에 각각 우원편광 및 좌원편광을 순서대로 조사하는 것을 포함하는, 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법.

[청구항 11] 제 10 항에 있어서,
상기 방법에 의하여 D-글루코스로부터 하이드록실 라디칼을 생성하는, 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법.

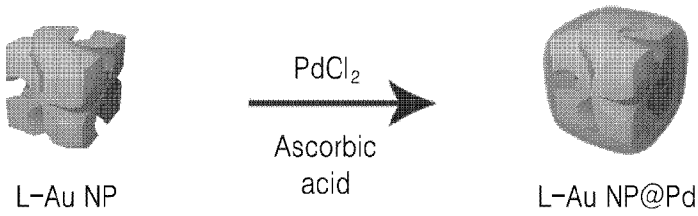
[청구항 12] 제 10 항에 있어서,
상기 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법은, 광열(photothermal) 및/또는 광역학(photodynamic) 치료 효과를 갖는 것인, 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법.

[청구항 13] 제 10 항에 있어서,
상기 증식성 질환은 고형 종양, 혈액암, 결장직장암, 자궁암, 자궁근종, 수막종, 폐암, 소세포성 폐암, 위장관암, 대장암, 장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종 및 흑색종에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인, 증식성 질환의 예방 또는 치료 방법.

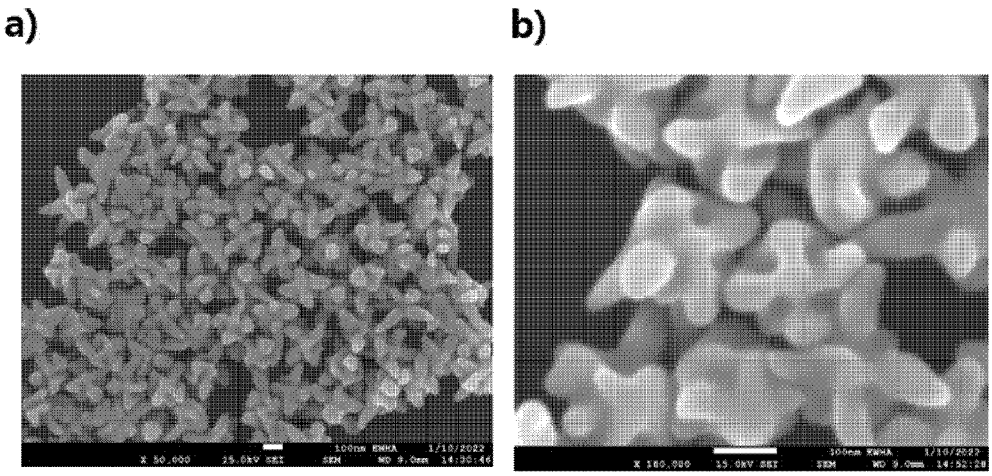
[도1]


D-Au NP
RCP
L-Au NP@Pd
LCP
H_2O_2
D-Glucose
H_2O_2
-OH
Glucose oxidase like activity
Peroxidase like activity

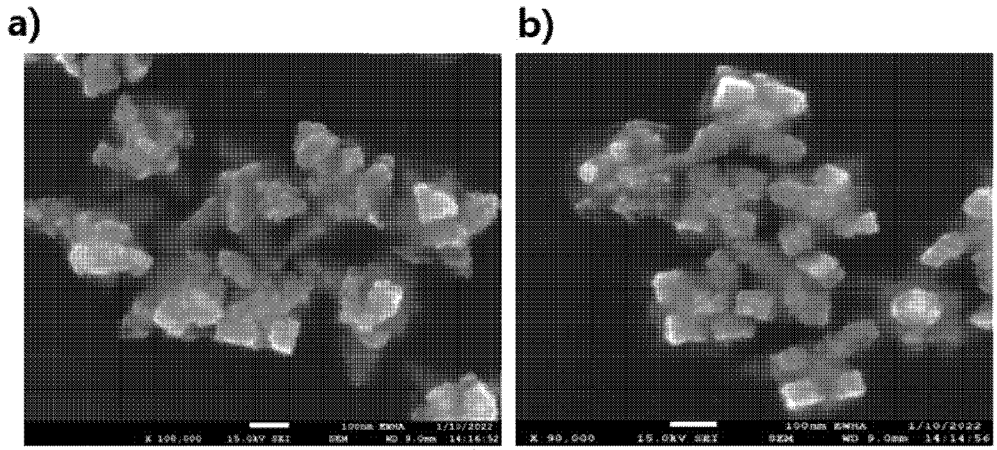
[도2]


$PdCl_2$
Ascorbic acid
L-Au NP
L-Au NP@Pd

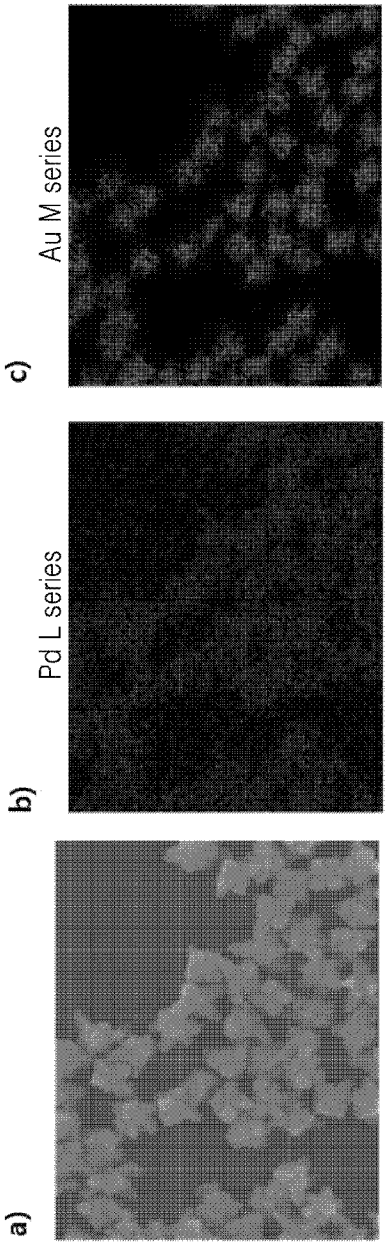
[도3]


a)
b)

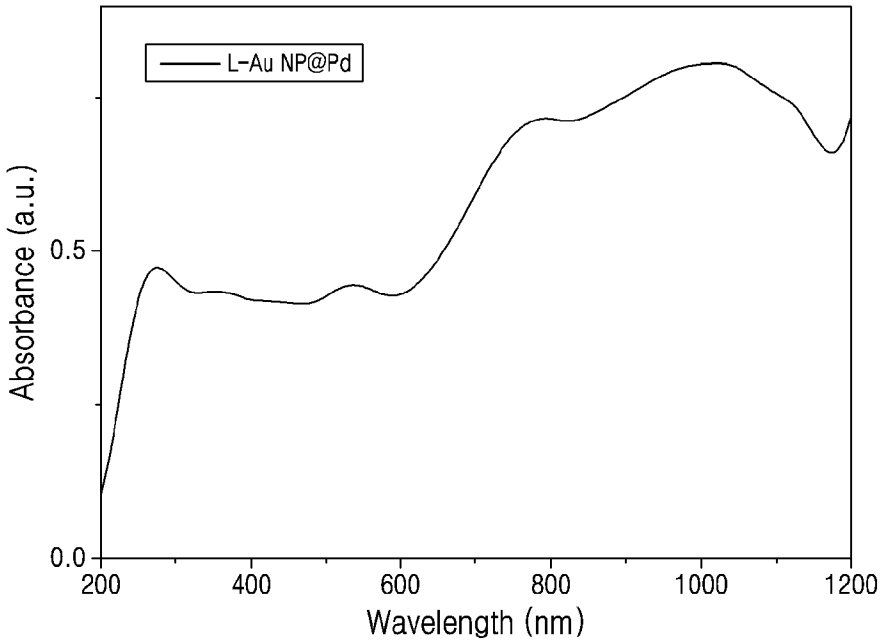
[도4]


a)
b)

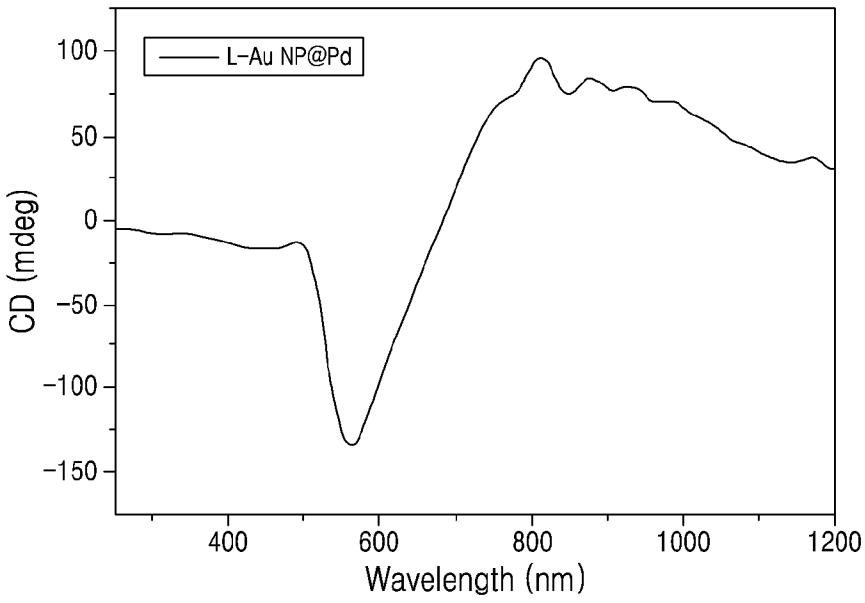
[도5]



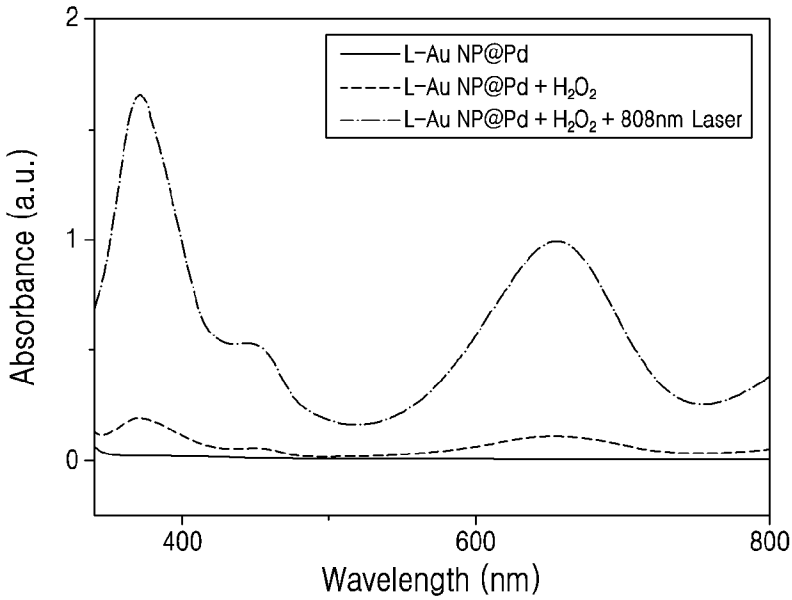
[도6]


L-Au NP@Pd
Absorbance (a.u.)
0.0
0.5
200
400
600
800
1000
1200
Wavelength (nm)

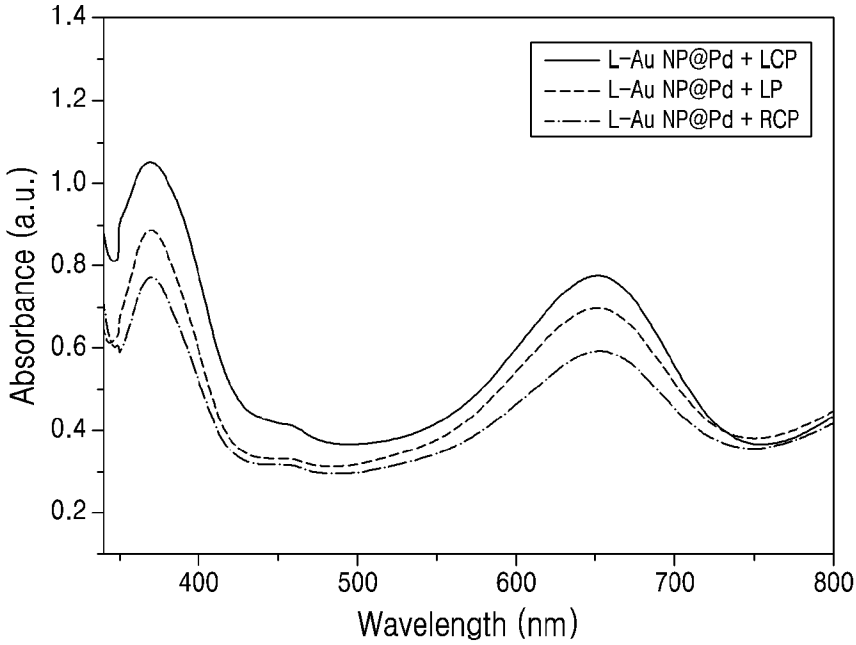
[도7]


L-Au NP@Pd
CD (mdeg)
100
50
0
-50
-100
-150
400
600
800
1000
1200
Wavelength (nm)

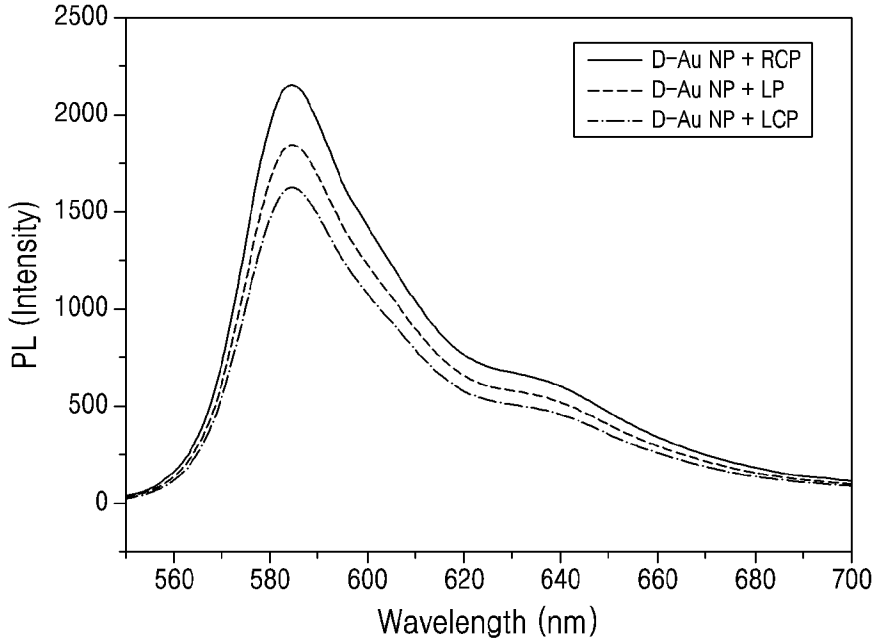
[도8]


L-Au NP@Pd
L-Au NP@Pd + H2O2
L-Au NP@Pd + H2O2 + 808nm Laser
Absorbance (a.u.)
Wavelength (nm)
0
1
2
400
600
800

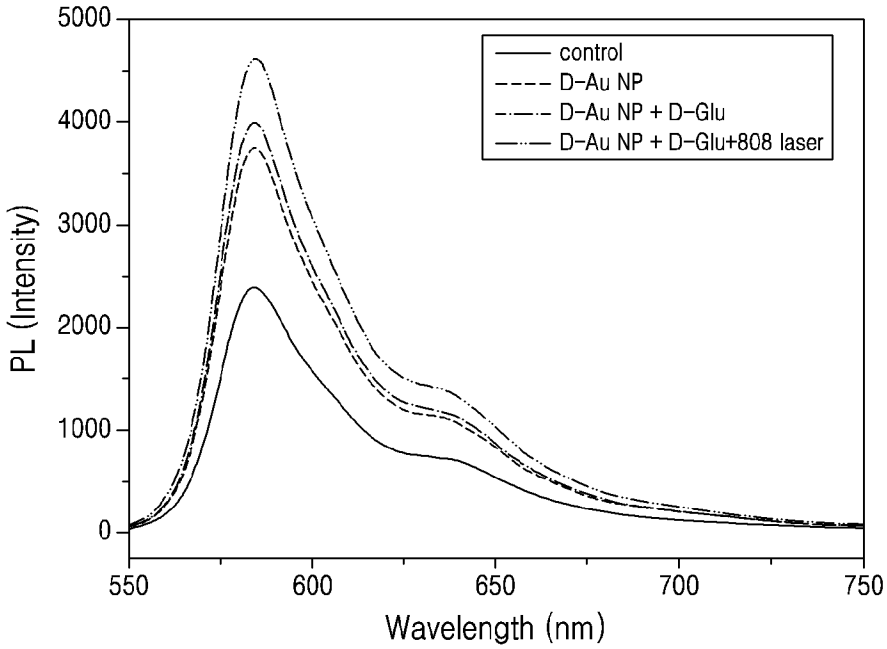
[도9]


L-Au NP@Pd + LCP
L-Au NP@Pd + LP
L-Au NP@Pd + RCP
Absorbance (a.u.)
Wavelength (nm)
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
400
500
600
700
800

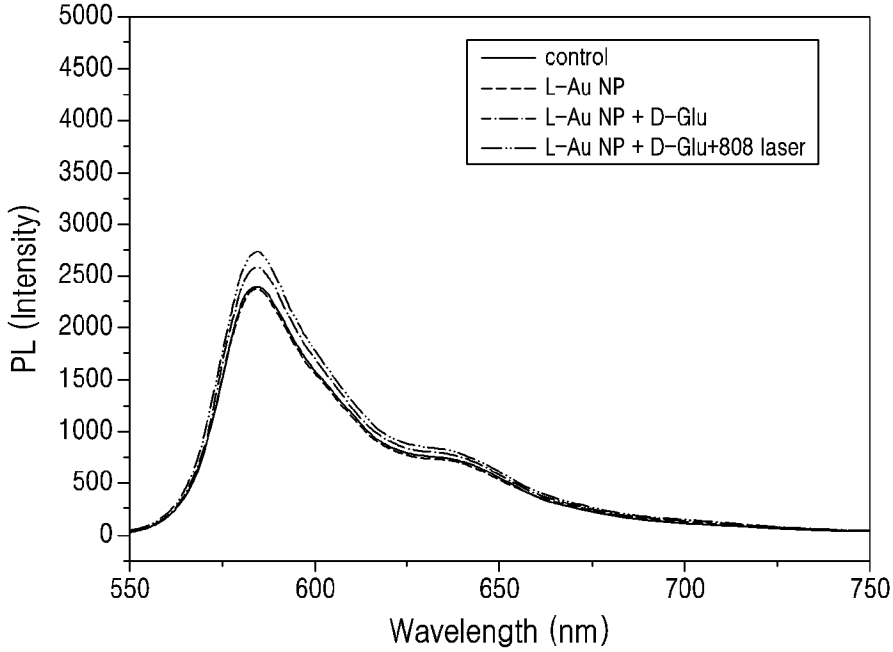
[도10]


D-Au NP + RCP
D-Au NP + LP
D-Au NP + LCP
PL (Intensity)
Wavelength (nm)
2500
2000
1500
1000
500
0
560
580
600
620
640
660
680
700

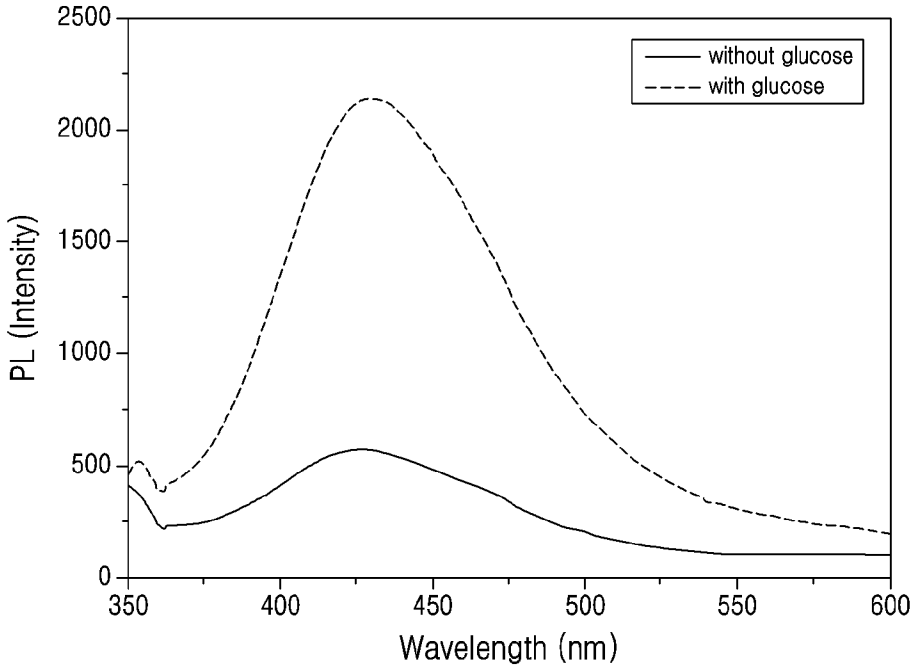
[도11]


control
D-Au NP
D-Au NP + D-Glu
D-Au NP + D-Glu+808 laser
PL (Intensity)
Wavelength (nm)
5000
4000
3000
2000
1000
0
550
600
650
700
750

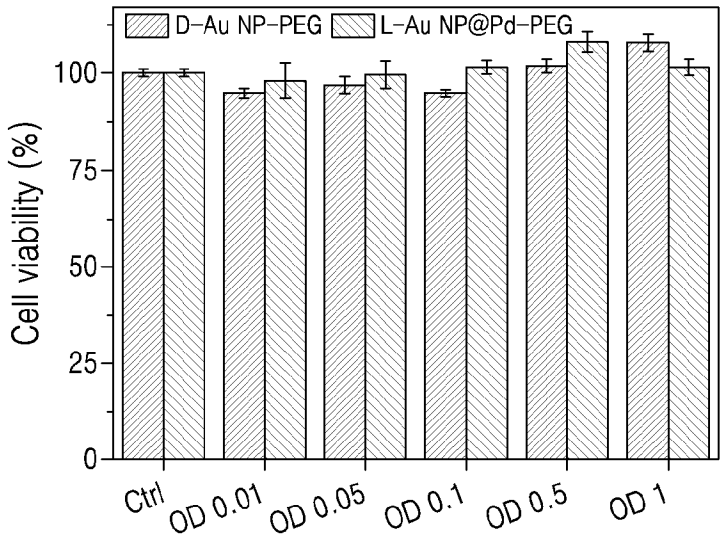
[도12]


control
L-Au NP
L-Au NP + D-Glu
L-Au NP + D-Glu+808 laser
PL (Intensity)
Wavelength (nm)
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
3500
4000
4500
5000
550
600
650
700
750

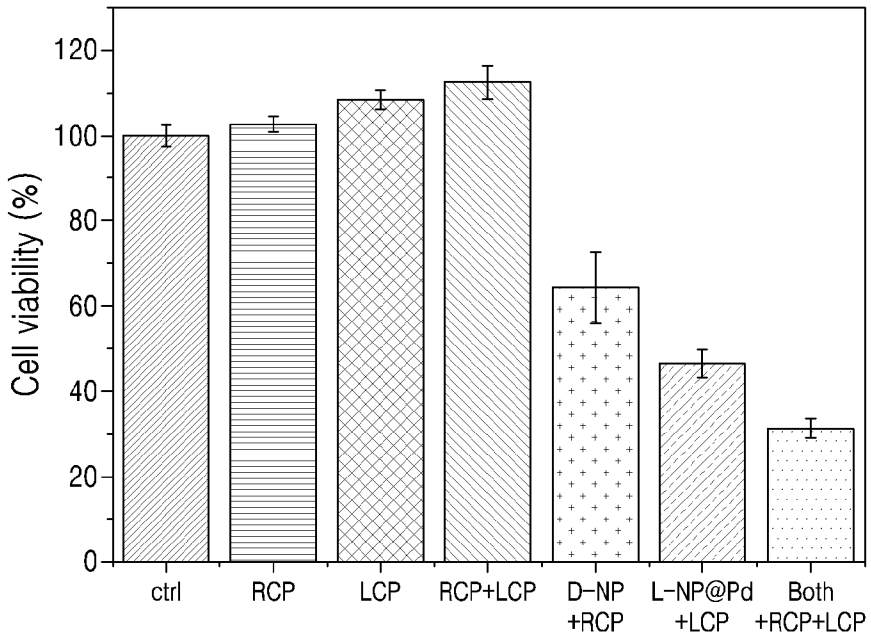
[도13]


without glucose
with glucose
PL (Intensity)
Wavelength (nm)
0
500
1000
1500
2000
2500
350
400
450
500
550
600

[도14]


D-Au NP-PEG
L-Au NP@Pd-PEG
Cell viability (%)
0
25
50
75
100
Ctrl
OD 0.01
OD 0.05
OD 0.1
OD 0.5
OD 1

[도15]


Cell viability (%)
0
20
40
60
80
100
120
ctrl
RCP
LCP
RCP+LCP
D-NP +RCP
L-NP@Pd +LCP
Both +RCP+LCP

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2023/007066

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 41/00(2006.01)i; **A61K 33/24**(2006.01)i; **A61K 33/242**(2019.01)i; **A61K 33/243**(2019.01)i; **A61K 33/244**(2019.01)i; **A61K 33/32**(2006.01)i; **A61K 33/26**(2006.01)i; **A61K 33/34**(2006.01)i; **A61K 9/14**(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 41/00(2006.01); A61K 33/242(2019.01)

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: 카이랄 구조(chiral structure), 금속 나노 구조체(metal nanoparticle), 금속 코팅(metal coating), 나노자임(nanozyme), 원편광(circular polarization), 글루코스산화효소(glucoseoxidase), 과산화효소(peroxidase), 효소 활성(enzyme activity), 향상(enhancement), 증식성 질환(proliferative disease)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2021-0116321 A (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION et al.) 27 September 2021 (2021-09-27) See claims 1-2, 10, 13 and 16-17, and paragraphs [0028]-[0036], [0065], [0081]-[0084] and [0097].	1-4,10-13
A		5-9
Y	KR 10-2021-0117043 A (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION et al.) 28 September 2021 (2021-09-28) See abstract, claims 1, 8 and 11, and paragraphs [0005] and [0012]-[0013].	1-4,10-13
X	KR 10-2021-0117020 A (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION et al.) 28 September 2021 (2021-09-28) See abstract, claims 1-3 and 5-9, paragraphs [0001], [0011]-[0012], [0014] and [0039], and figure 1.	5-9
Y		10-13

☑ 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	Date of mailing of the international search report
23 August 2023	**23 August 2023**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208**	
Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2021-0125928 A (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION et al.) 19 October 2021 (2021-10-19) See entire document.	1-13
A	WANG, H. et al. Selectively regulating the chiral morphology of amino acid-assisted chiral gold nanoparticles with circularly polarized light. ACS Applied Materials and Interfaces. 04 January 2022, vol. 14, no. 2, pp. 3559-3567. See entire document.	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2023/007066

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR 10-2021-0116321 A	27 September 2021	None	
KR 10-2021-0117043 A	28 September 2021	KR 10-2398253 B1	17 May 2022
KR 10-2021-0117020 A	28 September 2021	KR 10-2429744 B1	08 August 2022
KR 10-2021-0125928 A	19 October 2021	None	

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2023/007066

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 41/00(2006.01)i; **A61K 33/24**(2006.01)i; **A61K 33/242**(2019.01)i; **A61K 33/243**(2019.01)i; **A61K 33/244**(2019.01)i; **A61K 33/32**(2006.01)i; **A61K 33/26**(2006.01)i; **A61K 33/34**(2006.01)i; **A61K 9/14**(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 41/00(2006.01); A61K 33/242(2019.01)

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: 카이랄 구조(chiral structure), 금속 나노 구조체(metal nanoparticle), 금속 코팅(metal coating), 나노자임(nanozyme), 원편광(circular polarization), 글루코스산화효소(glucoseoxidase), 과산화효소(peroxidase), 효소 활성(enzyme activity), 향상(enhancement), 증식성 질환(proliferative disease)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2021-0116321 A (이화여자대학교 산학협력단 등) 2021.09.27 청구항 1-2, 10, 13, 16-17, 단락 [0028]-[0036], [0065], [0081]-[0084], [0097]	1-4,10-13
A		5-9
Y	KR 10-2021-0117043 A (이화여자대학교 산학협력단 등) 2021.09.28 요약, 청구항 1, 8, 11, 단락 [0005], [0012]-[0013]	1-4,10-13
X	KR 10-2021-0117020 A (이화여자대학교 산학협력단 등) 2021.09.28 요약, 청구항 1-3, 5-9, 단락 [0001], [0011]-[0012], [0014], [0039], 도면 1	5-9
Y		10-13
A	KR 10-2021-0125928 A (이화여자대학교 산학협력단 등) 2021.10.19 전체 문헌	1-13

☑ 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	국제조사보고서 발송일
2023년08월23일(23.08.2023)	**2023년08월23일(23.08.2023)**

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**

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2023/007066

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	WANG, H. 등, “Selectively regulating the chiral morphology of amino acid-assisted chiral gold nanoparticles with circularly polarized light”, ACS Applied Materials and Interfaces, 2022.01.04, 제14권, 제2호, 페이지 3559-3567 전체 문헌	1-13

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2023/007066

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2021-0116321 A	2021/09/27	없음	
KR 10-2021-0117043 A	2021/09/28	KR 10-2398253 B1	2022/05/17
KR 10-2021-0117020 A	2021/09/28	KR 10-2429744 B1	2022/08/08
KR 10-2021-0125928 A	2021/10/19	없음	