



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0093451
(43) 공개일자 2019년08월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/52 (2017.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 47/65 (2017.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
C09K 11/65 (2006.01) G01N 33/50 (2017.01)

(52) CPC특허분류

A61K 47/52 (2017.08)
A61K 39/39558 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0013105

(22) 출원일자 2018년02월01일

심사청구일자 2018년02월01일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

권일근

서울특별시 노원구 중계로 184, 102동 401호 (중계동, 청구중계동아파트)

고나래

서울특별시 동대문구 회기로19길 23, 601호 (회기동, 유경빌딩)

이재서

경상남도 창원시 진해구 냉천로 262, 110동 1201호 (자은동, 중흥S-클래스아파트)

(74) 대리인

특허법인 하나

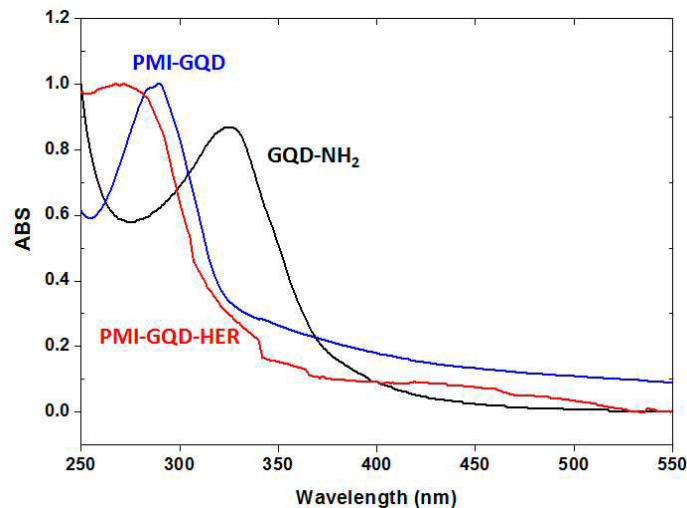
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 신규한 그래핀 양자점 복합체

(57) 요약

본 발명은 피엠아이캡타이드, 그래핀 양자점 및 암 표적화 항체를 포함하는 복합체에 대한 것으로, 상기 피엠아이캡타이드는 상기 그래핀 양자점의 아민기와 카보닐(-C=O-) 링커로 연결되어 있고, 상기 암 표적화 항체는 상기 그래핀 양자점과 펩티드 결합으로 연결되어 있다. 본 발명의 복합체는 암세포에 선택적으로 결합하여 사멸 효과를 나타낼 수 있다. 또한, 본 발명의 복합체는 발광을 나타내어 약물의 모니터링 및 암의 진단에도 사용될 수 있다. 더불어, 본 발명의 복합체는 광열 또는 광역학 치료에 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61K 47/65 (2017.08)
A61K 47/6855 (2017.08)
A61K 47/6863 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C09K 11/65 (2013.01)
G01N 33/5011 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2016R1A6A3A11934989
부처명	교육부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	학문후속세대양성사업(리서치펠로우)
연구과제명	자극민감성 생체적합성 양자점기반 유방암표적 나노복합체의 개발
기 여 율	1/1
주관기관	경희대학교 산학협력단
연구기간	2016.11.01 ~ 2018.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

하나 이상의 피엠아이캡타이드 (PMI) 또는 이의 유도체;

하나 이상의 암 표적화 항체; 및

표면에 아민기(-NH₂)를 가지는 그래핀 양자점을 포함하고,

상기 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체는 상기 그래핀 양자점의 아민기와 카보닐(-(C=O)-) 링커로 연결되어 있고, 상기 암 표적화 항체는 상기 그래핀 양자점과 펩티드 결합으로 연결되어 있는 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 피엠아이캡타이드는 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 암 표적화 항체는 트라스투주맙(trastuzumab), 퍼투주맙(pertuzumab), 리톡시맙(rituximab), 이필리무맙(ipilimumab), 베바시주맙(bevacizumab), 세톡시맙(cetuximab), 패니투무맙(panitumumab), 카툼악소맙(catumaxomab), 니모투주맙(nimotuzumab), 비바톡신(vivatuxin), 트레멜리무맙(tremelimumab), 오파투무맙(ofatumumab), 니볼루맙(nivolumab), 다세투주맙(dacetuzumab), 우렐루맙(urelumab), 람브롤리주맙(lambrolizumab), 블리나투모맙(blinatumomab) 또는 마투주맙(matuzumab)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상인 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 암 표적화 항체는 트라스투주맙(trastuzumab) 또는 퍼투주맙(pertuzumab) 중에서 선택된 어느 하나 이상인 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체의 직경이 10 내지 1000 nm인 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 암의 치료용 약학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 암은 유방암, 위암, 전립선암, 자궁경부암, 난소암, 피부암, 구강암, 식도암, 위암, 췌장암, 대장암, 방광암, 요관암, 간암, 폐암, 골육종, 신경교종, 뇌종양, 비호지킨성림프종, 골수이형성증후군, 다발성골수종, 또는 형질세포성종양으로 이루어진 군에서 선택된 어느하나 이상인 약학적 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 암은 유방암 또는 위암인 약학적 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 약물 모

니터링용 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 피엠피아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 암의 진단용 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 피엠피아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 광열 치료 또는 광역학 치료용 조성물.

청구항 12

S1) 표면에 아민기(-NH₂)를 가지는 그래핀 양자점, 피엠피아이펩타이드 (PMI) 또는 이의 유도체 및 1,1'-카보닐디이미다졸을 혼합하여 복합체를 제조하는 단계, 및

S2) S1에서 제조된 복합체와 암 표적화 항체를 혼합하는 단계

를 포함하는 제1항의 피엠피아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피엠피아이펩타이드, 그래핀 양자점 및 암 표적화 항체를 포함하는 복합체에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 탄소 원자들로 구성된 저차원 나노물질로는 풀러렌(fullerene), 탄소나노튜브(carbon nanotube), 그래핀(graphene) 및 흑연(graphite) 등이 존재한다. 탄소 원자들이 6 각형 모양의 배열을 이루면서 공 모양이 되면 0 차원 구조인 풀러렌, 1 차원적으로 말리면 탄소나노튜브, 2 차원 상으로 원자 한 층으로 이루어지면 그래핀, 3 차원으로 쌓이면 흑연으로 구분을 할 수 있다.

[0003] 이 중, 그래핀은 구조적·화학적 매우 안정할 뿐만 아니라, 원자 한 층의 두께를 가지면서 상대적으로 표면 결합이 적은 구조적 특성으로 인하여 탁월한 전도성을 보인다. 그래핀은 실리콘보다 100 배 빠르게 전자를 이동시키고, 이론적으로는 구리보다 약 100 배 정도 많은 전류를 흐르게 할 수 있다.

[0004] 한편, 양자점(Quantum Dot)은 화학 공정을 통해 만드는 나노미터 크기의 반도체 결정체로, 주로 초미세 반도체, 질병진단 시약, 디스플레이 등에 활용된다. 현재 양자점에 대한 연구는 주로 카드뮴이나 납과 같은 독성이 있는 중금속으로 만들어진 양자점이 주를 이룬다. 그러나, 중금속 양자점은 독성이 있어 체내에 직접 투여되는 물질에 적용하는데 한계가 존재한다.

[0005] 최근 나노-바이오 기술에서의 급격한 발전과 함께, 나노물질의 약물 전달체 및 영상화 물질로서의 응용이 주목을 받고 있으며, 양자점도 주목받는 나노물질 중의 하나이다. 그러나 중금속 양자점의 경우 앞서 기술한 바와 같이 독성 때문에 다양한 문제가 발생한다. 또한, 나노물질의 약물 전달체는 선택성이 우수하다고 하더라도 표적 내로 약물의 전달률이 떨어져 기대한 약효를 발휘하지 못하는 단점이 있다.

[0006] 이러한 배경 하에 본 발명자들은 독성이 적은 그래핀 양자점에 암 표적화 항체 및 생분자(biomolecule)를 결합시켜 암 치료 용도 및 암 조직의 영상화 등 다양한 용도로 사용될 수 있는 복합체를 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1407903호

(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제10-2014-0033794호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 하나 이상의 피엠아이펩타이드(PMI) 또는 이의 유도체;
- [0009] 하나 이상의 암 표적화 항체; 및
- [0010] 그래핀 양자점을 포함하고,
- [0011] 상기 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체는 상기 그래핀 양자점의 아민기와 카보닐($-(C=O)-$) 링커로 연결되어 있고, 상기 암 표적화 항체는 상기 그래핀 양자점과 펩티드 결합으로 연결되어 있는 피엠아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 다른 목적은 상기 복합체를 포함하는 암의 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 복합체를 포함하는 약물 모니터링용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 다른 목적은 상기 복합체를 포함하는 암의 진단용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 다른 목적은 상기 복합체를 포함하는 광열 치료 또는 광역학 치료용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 복합체의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0017] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은
- [0018] 하나 이상의 피엠아이펩타이드(PMI) 또는 이의 유도체 ;
- [0019] 하나 이상의 암 표적화 항체; 및
- [0020] 표면에 아민기($-NH_2$)를 가지는 그래핀 양자점을 포함하고,
- [0021] 상기 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체는 상기 그래핀 양자점의 아민기와 카보닐($-(C=O)-$) 링커로 연결되어 있고, 상기 암 표적화 항체는 상기 그래핀 양자점과 펩티드 결합으로 연결되어 있는 피엠아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 제공한다.
- [0022] 본 발명에서 "피엠아이펩타이드(PMI)"는 서열번호 1의 아미노산(TSFAEYWNLLSP)으로 이루어진 p53-MDM2/MDMX inhibitor로서, 종양 단백질인 MDM2 및 MDMX의 발현을 억제하고, 상기 단백질에 높은 결합력을 나타내 종양 억제 단백질인 p53과 MDM2 및/또는 MDMX와의 결합을 방해하여 p53의 종양 억제 활성을 유지시키는 역할을 하는 펩타이드를 의미한다. 일반적으로, p53은 종양 억제 활성을 나타내는 단백질인데, 암세포에서 p53이 MDM2 및/또는 MDMX와 결합하는 경우 종양 억제 활성이 낮아지거나, 상기 활성을 상실하여 암세포의 증식이 활발히 이루어지는 문제점이 있다. 상기 피엠아이펩타이드는 p53과 비교하여 MDM2 및 MDMX에 대하여 약 2배 이상 강한 결합력을 나타낸다. 따라서, 피엠아이펩타이드는 p53과 MDM2 및 MDMX와의 결합을 차단하여, p53의 기능을 유지시키는 역할을 통해 암 세포 사멸 효과를 향상시킬 수 있다.
- [0023] 본 발명에서 "피엠아이펩타이드의 유도체"는 피엠아이펩타이드의 서열번호 1의 아미노산에서 세린기를 제외한 나머지 위치의 하나 이상의 아미노산이 변이된 펩타이드를 의미한다. 상기 "변이된"은 특정부위의 돌연변이 유발 또는 그 밖의 통상적으로 널리 공지된 방법을 이용하여 하나 이상의 아미노산이 결실, 부가 또는 치환처리된 것을 의미한다.
- [0024] 본 발명의 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체는 생분자(biomolecule)로서 암세포로의 표적성을 가지지 못하는 단점이 있는데, 본 발명의 복합체의 암 표적화 항체에 의해 암세포에 선택적으로 도달하여 p53의 기능을 효과적으로 유지시킬 수 있다.
- [0025] 본 발명에 있어서, 상기 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체의 함량은 본 발명의 복합체에 존재하는 그래핀 양자점의 함량에 대하여 5 내지 95 %일 수 있으며, 바람직하게는 20 내지 80%일 수 있다.
- [0026] 본 발명에서 "그래핀(graphene)"은 탄소 원자들이 모여 2차원적 벌집격자구조를 가지고 있는 탄소의 동소체 중 하나이며, 원자 1개 두께의 얇은 막 형태를 이루고 있다.

- [0027] 상기 그래핀의 공급원은 통상적으로 탄소를 공급할 수 있는 성분이라면 그 종류가 제한되지 않으며, 예를 들어 탄소 섬유(carbon fiber, CF), 나노흑연, 고결정성 탄소나노파이버, 흑연 등이 사용될 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 "그래핀 양자점(graphene quantum dot)"은 그래핀을 구성요소로 하는 반도체 결정체를 의미한다. 기존의 양자점은 카드뮴 등의 중금속으로 이루어져 있어, 체내 투입시 독성을 야기할 수 있다는 문제점이 존재하였으나, 그래핀 양자점은 탄소를 구성성분으로 하여 체내 독성 문제를 해결 할 수 있다.
- [0029] 본 발명에서 상기 그래핀 양자점은 표면에 아민기(-NH₂)를 가지는 그래핀 양자점이 수 있다. 상기 아민기를 가지는 그래핀 양자점은 그래핀 양자점의 표면에 아민 작용기가 존재하는 그래핀 양자점을 의미하며, 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조될 수 있다.
- [0030] 구체적으로, 표면에 아민기(-NH₂)를 가지는 그래핀 양자점은 L-글루탐산을 열분해하여 제조된다. 상기 L-글루탐산의 열분해 온도는 80 내지 250 °C, 바람직하게는 100 내지 230 °C일 수 있다.
- [0031] 본 발명에서 "암 표적화 항체"는 암 세포 또는 조직에 존재하는 표적 또는 마커에 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다.
- [0032] 본 발명에서 상기 "표적" 또는 "마커"란 표적화 항체와 결합할 수 있는 임의의 독립체로, 정상 세포보다 암 세포에서 과발현되는 단백질, 펩티드, 탄수화물, 지질 또는 핵산 등을 의미한다.
- [0033] 상기 암 세포에서 과발현되는 단백질, 탄수화물, 지질 또는 핵산은 예를 들어, CD2, CD3, CD19, CD20, CD22, CD27, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD42, CD44, CD47, CD52, CD56, CD70, CD79, CD137, EGFR(ErbB1), HER2(ErbB2), ErbB3, ErbB4, EGFL7, EpCAM, EphA2, EphA3, EphB2, CTLA4, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, CEA(Carcinoembryonic) 항원, gp100, gpA33, TIM3, TRAILR1, TRAILR2, 4-1BB, 5T4, AGS-5, AGS-16, 안지오포이에틴(Angiopoietin) 2, B7.1, B7.2, B7DC, B7H1, B7H2, B7H3, BT-062, BTLA, CAIX, 크립토(Cripto), ED-B, FAP, 피브로넥틴, 엽산 수용체, 강글리오시드(Ganglioside) GM3, GD2, GITR, GPNMB, ICOS, IGFIR, 인테그린 α_v , 인테그린 $\alpha_v\beta$, KIR, LAG-3, 메소텔린(Mesothelin), c-MET, MN 탄산무수화효소 IX, MUC1, MUC16, 넥틴(Nectin)-4, NKG2, NOTCH, OX40, OX40L, PD-1, PDL1, PSCA, PSMA, RANKL, ROR1, ROR2, SLC44A4, 신데칸(Syndecan)-1, TACI, TAG-72, 테나신(Tenascin) 또는 이의 변이체를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명에서 상기 "특이적으로 결합"은 암 표적화 항체와 표적 또는 마커 사이의 결합이 선택적이며, 원하지 않거나 비-특이적인 상호작용들과 구분될 수 있음을 의미한다.
- [0035] 본 발명에서 항체는 자연 발생 또는 유전자 재조합 과정들로 형성된 면역글로불린 분자뿐만 아니라, 면역글로불린 분자의 면역학적 활성부위를 포함하는 항체 단편을 포함한다. 상기 항체는 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다가특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체), 및 항체 단편들을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명의 항체는 인간 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체 또는 항체 융합 단백질일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명에서 상기 "키메라 항체"는 항체 중쇄 및 경쇄 모두의 가변 도메인들을 함유하는 재조합 단백질을 의미한다.
- [0038] 본 발명에서 상기 "인간화된 항체"는 하나 이상의 이종의 항체를 인간의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인들로 변형시킨 재조합 단백질을 의미한다. 인간화된 항체 분자의 불변 도메인들은 인간 항체로부터 유래된다.
- [0039] 본 발명에서 상기 "항체 융합 단백질"은 2개 이상의 상동한 또는 상이한 자연 항체, 단일사슬 항체, 또는 상동한 또는 상이한 특이성들을 갖는 항체 단편 부분들이 연결된 항원-결합 분자를 의미한다.
- [0040] 본 발명의 구체적인 일 실시양태에서, 암 표적화 항체는 트라스투주맙(trastuzumab), 퍼투주맙(pertuzumab), 리투시맙(rituximab), 이필리무맙(ipilimumab), 베바시주맙(bevacizumab), 세특시맙(cetuximab), 패니투무맙(panitumumab), 카툼악소맙(catumaxomab), 니모투주맙(nimotuzumab), 비바톡신(vivatuxin), 트레멜리무맙(tremelimumab), 오파투무맙(ofatumumab), 니볼루맙(nivolumab), 다세투주맙(dacetuzumab), 우렐루맙(urelumab), 램브롤리주맙(lambrolizumab), 블리나투모맙(blinautumomab) 또는 마투주맙(matuzumab)일 수 있다. 본 발명의 보다 바람직한 실시양태에서, 암 표적화 항체는 트라스투주맙(trastuzumab) 또는 퍼투주맙(pertuzumab)이다.

- [0041] 상기 트라스투주맙 또는 퍼투주맙은 유방암 또는 위암 세포에서 과발현되는 HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2)에 결합하여 암세포를 사멸하는 효과를 나타내며, HER2와 결합한 후 엔도사이토시스를 통해 세포 내로 이동하는 것으로 알려져 있다. HER2는 유방암 및 위암세포 이외에, 난소암, 폐암 및 자궁암에서도 과발현되는 것으로 알려져 있다.
- [0042] 본 발명에 있어서, "피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체"복합체는, 그래핀 양자점에 하나 이상의 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체와 하나 이상의 암 표적화 항체가 결합되어 있는 형태를 의미한다.
- [0043] 본 발명의 복합체에 있어서, 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체는 표면에 아민기($-NH_2$)를 가지는 그래핀 양자점과 카보닐($-(C=O)-$) 링커로 연결되어 있으며, 바람직하게는 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체의 하나 이상의 히드록시기($-OH$)가 표면에 아민기($-NH_2$)를 가지는 그래핀 양자점의 아민기와 카보닐 링커로 연결되어 있다.
- [0044] 본 발명에서 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체와 그래핀 양자점 사이의 카보닐기는 카바메이트 결합의 형성에 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 도입될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 피엠아이캡타이드와 그래핀 양자점 사이의 카보닐기는 1,1'-카보닐디이미다졸(1,1'-carbonyldiimidazole)을 사용하여 도입되었다.
- [0046] 본 발명의 복합체에 있어서, 암 표적화 항체는 표면에 아민기($-NH_2$)를 가지는 그래핀 양자점과 펩티드 결합($-(C=O)-NH-$)으로 연결되어 있다.
- [0047] 본 발명에서 상기 펩티드 결합은 통상의 기술자 통상적으로 사용하는 방법에 의해 형성될 수 있으며, 바람직하게는 암 표적화 항체의 카복시기($-COOH$)가 그래핀 양자점의 아민기와 반응하여 형성될 수 있다.
- [0048] 상기 펩티드 결합은 산성 조건에서 분해될 수 있다. 일반적으로 체내 pH는 대략 7.4 내외이나, 암 조직의 경우 정상 조직보다 낮은 산성의 pH를 가지며, 보통 대략 6.5 이하의 pH를 나타낸다. 또한, 암세포의 세포질의 경우 대략 6 이하의 pH를 나타내며, 암세포의 리소솜은 약 5.5의 pH를 나타낸다. 따라서 본 발명의 복합체는 암세포에서 선택적으로 분해될 수 있다.
- [0049] 본 발명의 복합체의 직경은 10 내지 1000 nm일 수 있으며, 바람직하게는 30 내지 280 nm이고, 보다 바람직하게는 50 내지 250 nm이다. 복합체의 직경이 10 nm 보다 작으면 복합체가 신장을 통해 쉽게 체외로 빠져나가게 되며, 1000 nm 보다 클 경우 면역 반응에 의해 제거되어 암세포까지 도달하기 어렵다.
- [0050] 또한, 본 발명의 복합체는 그래핀 양자점과 암 표적화 항체가 펩티드 결합으로 연결되어 있고, 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체와 그래핀 양자점이 카바메이트 결합으로 연결되어 있어, 정상 부위에서는 잘 분해되지 않고, 산성 환경인 암세포에서 쉽게 분해된다. 따라서, 본 발명의 복합체는 암 부위에서 효과적인 약리 효과를 나타낼 수 있다. 본 발명의 복합체는 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체와 암 표적화 항체의 시너지 작용으로 현저히 우수한 암세포 사멸 및 암세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [0051] 또한, 본 발명의 복합체는 발광 성질을 가지고 있는 그래핀 양자점을 포함하고 있으므로, 복합체에 담지된 항암 약물의 모니터링에도 사용될 수 있으며, 또한 암조직의 영상화를 통해 암을 진단하는데도 유용하게 사용될 수 있다.
- [0052] 본 발명은 또한, 상기 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 암 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0053] 상기 피엠아이캡타이드 또는 이의 유도체, 그래핀 양자점, 암 표적화 항체 및 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체는 앞서 기술한 바와 같다.
- [0054] 본 발명의 약학적 조성물에서, 상기 암은 유방암, 위암, 전립선암, 자궁경부암, 난소암, 피부암, 구강암, 식도암, 위암, 췌장암, 대장암, 방광암, 요관암, 간암, 폐암, 골육종, 신경교종, 뇌종양, 비호지킨성림프종, 골수이형성증후군, 다발성골수종, 또는 형질세포성종양을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니며, 바람직하게는 유방암 또는 위암이다.
- [0055] 본 발명의 약학적 조성물은 투여를 위해서 상기 피엠아이캡타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체 외에 추가로 약제학적으로 허용가능한 담체를 1 종 이상 더 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가

할 수 있다.

- [0056] 또한 회석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 따라서, 본 발명의 약학적 조성물은 패치제, 액제, 환약, 캡슐, 과립, 정제, 좌제 등일 수 있다. 이들 제제는 당 분야에서 제제화에 사용되는 통상의 방법 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA 에 개시되어 있는 방법으로 제조될 수 있으며, 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 다양한 제제로 제제화될 수 있다.
- [0057] 본 발명의 약학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하고, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여할 수 있고, 수일에 한번 투여할 수도 있다. 본 발명의 약학적 조성물의 통상적인 1일 투여량은 크게 제한되지 않으나, 구체적으로 0.1 내지 10.0 mg/kg, 보다 구체적으로 2 내지 6 mg/kg 일 수 있다.
- [0058] 본 발명의 약학적 조성물에 포함된 복합체는 중금속이 함유되지 않은 생체 적합성 그래핀 양자점을 구성요소로 하므로 독성이 매우 낮다.
- [0059] 또한, 본 발명의 약학적 조성물에 포함된 복합체는 그래핀 양자점과 암 표적화 항체가 펩티드 결합으로 연결되어 있고, 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체와 그래핀 양자점이 카바메이트 결합으로 연결되어 있어, 정상 부위에서는 잘 분해되지 않고, 산성 환경인 암세포에서 쉽게 분해되어, 암 부위에서 효과적인 약리 효과를 나타낼 수 있다. 또한, 본 발명의 복합체는 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체와 암 표적화 항체의 시너지 작용으로 현저히 우수한 암세포 사멸 및 암세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [0060] 본 발명은 상기 피엠아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 약물 모니터링용 조성물을 제공한다.
- [0061] 상기 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체, 그래핀 양자점, 암 표적화 항체 및 피엠아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체는 앞서 기술한 바와 같다.
- [0062] 본 발명의 복합체의 그래핀 양자점은 반도체 물질로, 발광 성질을 가지고 있다. 따라서 투여된 복합체의 체내 모니터링에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0063] 본 발명은 또한, 상기 피엠아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 암의 진단용 조성물을 제공한다.
- [0064] 상기 피엠아이펩타이드 또는 이의 유도체, 그래핀 양자점, 암 표적화 항체 및 피엠아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체는 앞서 기술한 바와 같다.
- [0065] 본 발명에서 상기 "진단"은 특정 질병 또는 질환에 대하여 검사 대상자의 질환에 대한 감수성을 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 대상자의 예후(예를 들어, 트랜지션성 암 상태의 동정, 암의 단계 또는 진행상태 판별 또는 치료에 대한 암의 반응성 결정)를 판정하는 것, 질환의 치료 후 재발 여부 또는 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 피검체의 상태를 모니터링 하는 것을 포함한다.
- [0066] 본 발명의 진단용 조성물에 포함된 복합체는 암 표적화 항체를 함유하고 있어, 암 세포에 선택적으로 결합할 수 있으며, 또한 그래핀 양자점을 함유하고 있어 발광을 나타낸다. 따라서 본 발명의 복합체를 포함하는 조성물은 체내 조직을 영상화하여 암을 진단하는데 사용될 수 있다.
- [0067] 본 발명의 진단용 조성물은 주사, 주입 또는 임의의 다른 공지된 방법에 의해서 피검체에게 투여하는 조성물을 투여하는 단계, 및 해당 사건이 위치하는 피검체 내 구역을 영상화하는 단계를 포함하는 방법으로 사용될 수 있다.
- [0068] 투여되는 유용한 투여량 및 특정 투여 방식은 나이, 체중, 연령, 성별, 및 영상화되는 특정 영역, 뿐만 아니라 진단학적 용도 및 제제의 형태(예를 들어, 현탁액, 에멀전, 미소 구체, 리포솜 등)와 같은 인자들에 따라서 달라질 수 있다.
- [0069] 본 발명의 진단용 조성물에 포함된 복합체는 발광 성질을 가지고 있는 그래핀 양자점을 가지고 있으므로, 암조직의 영상화를 통해 암을 진단하는데도 유용하게 사용될 수 있다.

- [0070] 본 발명은 또한, 상기 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 포함하는 광열 치료 또는 광역학 치료용 조성물을 제공한다.
- [0071] 상기 피엠티아이펩타이드 또는 이의 유도체, 그래핀 양자점, 암 표적화 항체 및 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체는 앞서 기술한 바와 같다.
- [0072] 상기 광열 치료(photothermal therapy, PTT)는 광자로부터 에너지를 흡수하여 부분적으로 열의 형태로 이용하여 암을 치료하는 것으로, 작용제가 종양 근처에 가까이 다가갔을 때, 온도가 증가하여 암세포 사멸을 유도하는 방법이다.
- [0073] 상기 광역학 치료(photodynamic therapy, PDT)는 체내의 풍부한 산소와, 외부에서 공급되는 광자와, 빛에 민감한 반응을 보이는 광감작제(photosensitizer)와의 화학반응에 의하여 파생되는 단일상태 산소(singlet oxygen) 또는 자유 라디칼(free radical)이 병변 부위 및 암세포를 파괴하여 암을 치료하는 방법이다.
- [0074] 본 발명의 광열 치료 또는 광역학 치료용 조성물은 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여, 종양내 주입 또는 병변내(intralesional) 주입 등으로 투여될 수 있다.
- [0075] 본 발명의 광열 치료 또는 광역학 치료용 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율, 질환의 중증도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 조절될 수 있으며, 통상의 기술자가 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.
- [0076] 본 발명의 광열 치료 또는 광역학 치료용 조성물을 사용할 경우, 정상 세포는 보존하면서 암 세포만 선택적으로 제거할 수 있다.
- [0077] 본 발명은 또한, S1) 표면에 아민기(-NH₂)를 가지는 그래핀 양자점, 피엠티아이펩타이드 또는 이의 유도체 및 1,1'-카보닐다이이미다졸(1,1'-carbonyldiimidazole)을 혼합하여 복합체를 제조하는 단계, 및
- [0078] S2) S1에서 제조된 복합체와 암 표적화 항체를 혼합하는 단계를 포함하는 제1항의 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체의 제조방법을 제공한다.
- [0079] 본 발명에서 상기 S1)은 그래핀 양자점과 피엠티아이펩타이드 또는 이의 유도체를 카보닐 링커로 결합시키는 단계이다.
- [0080] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 상기 S1)의 복합체는 피엠티아이펩타이드와 1,1'-카보닐다이이미다졸(1,1'-carbonyldiimidazole)을 반응시킨 후, 표면에 아민기(-NH₂)를 가지는 그래핀 양자점을 첨가하여 제조되었다.
- [0081] 본 발명에서 상기 S2)는 그래핀 양자점 복합체에 암 표적화 항체를 결합시키는 단계이다. 구체적으로, 그래핀 양자점의 표면의 아민기(-NH₂)와 암 표적화 항체의 카복시기(-COOH)가 결합하여 펩티드 결합을 형성한다. 상기 펩티드 결합은 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 형성될 수 있다.
- [0082] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카보다이미드를 커플링 시약으로 사용하여 그래핀 양자점과 암 표적화 항체인 트라스트주맙을 결합하였다.
- [0083] 본 발명의 제조방법에 의하면 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체를 효과적으로 제조할 수 있다.
- 발명의 효과**
- [0084] 본 발명의 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체는 암세포에 특이적으로 결합할 수 있다. 또한, 그래핀 양자점과 암 표적화 항체 사이의 펩티드 결합 및 그래핀 양자점과 피엠티아이펩타이드 사이의 카바메이트 결합은 암세포의 산성 환경에서 분해되므로, 피엠티아이펩타이드 및 암 표적화 항체가 암세포에 도달한 후에 복합체로부터 분리된다. 따라서 정상 세포에서 복합체가 세포사멸 효과를 나타내지 않고, 암 세포에서 선택적으로 세포사멸 효과를 나타낼 수 있다. 특히, 본 발명의 복합체는 피엠티아이펩타이드 또는 이의 유도체와 암 표적화 항체의 시너지 작용으로 현저히 우수한 암세포 사멸 및 암세포 증식 억제 효과를 나타낸다.
- [0085] 또한 본 발명의 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체는 발광을 나타내는 성질이 있어, 복합체의 모니터링 및 암의 진단에도 사용될 수 있다.

[0086] 더불어, 본 발명의 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체는 그래핀 양자점이 광자로부터 에너지를 흡수하여 열을 낼 수 있어 광열치료에 사용될 수 있으며, 또한 광감작에 의해 단일상태 산소 또는 자유 라디칼을 유리하여 광역학 치료에 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0087] 도 1은 피엠티아이펩타이드(PMI)와 그래핀 양자점(GQD-NH₂)을 카보닐 링커로 연결하는 과정을 나타낸 도이다.
- 도 2는 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD)와 암 표적화 항체(HER)를 연결하는 과정을 나타낸 도이다.
- 도 3은 UV-Vis 분광 광도계 분석 결과, 실시예 1에서 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD) 및 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)가 정상적으로 형성되었음을 확인한 그래프이다.
- 도 4는 FT-IR 분석 결과, 실시예 1에서 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)가 정상적으로 형성되었음을 확인한 그래프이다.
- 도 5는 PAGE 분석 결과, 실시예 1에서 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD) 및 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)가 정상적으로 형성되었음을 확인한 도이다.
- 도 6은 동적 광산란 분석을 통해 그래핀 양자점(GQD-NH₂) 및 실시예 1에서 제조한 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)의 직경을 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 7은 주사 전자현미경 관찰을 통해 실시예 1에서 제조한 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)의 직경을 측정된 결과를 나타낸 도이다.
- 도 8은 전계 방출형 투과 전자현미경 관찰을 통해 실시예 1에서 제조한 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)의 입자 크기 및 개질두께를 측정된 결과를 나타낸 도이다.
- 도 9는 실시예 1에서 제조한 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)의 세포의 종류(MDA-MB-231 또는 SK-BR-3)에 따른 암세포 사멸 효과를 비교한 그래프이다.
- 도 10은 실시예 1에서 제조한 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)를 암세포에 처리한 결과 상기 복합체가 세포 내로 섭취되었음을 확인한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0088] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나, 이들 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0089] 실시예 1. 피엠티아이펩타이드(PMI)-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)의 제조
- [0090] 1-1. 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD)의 제조
- [0091] 도 1에 나타난 방법으로 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD)를 제조하였다.
- [0092] 구체적으로, 20 mL 바이알에서 증류수 12 mL에 그래핀 양자점(GQD)(166 mg)을 실온에서 용해시켰다. 그 후 1,1'-카보닐디이미다졸(CDI)(623.7 mg, 3.85 mmol)과 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)(469.9 mg, 3.85 mmol)을 첨가 후 교반하였다. 반응 혼합물에 ㈜에니젠에서 주문제작한 피엠티아이펩타이드(PMI)(9mg)를 실온에서 5일동안 교반한 후 분획 분자량 1 kDa의 투석막을 사용하여 증류수에서 5일동안 투석하였다. 그 후, 3일 간 동결건조하여 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD)를 제조하였다.
- [0093] 1-2. 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체와 암 표적화 항체의 결합
- [0094] 도 2에 나타난 방법으로, 실시예 1-1에서 합성한 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD)와 유방암 표적화 항체인 트라스투주맙(HER)을 결합하여 본 발명의 복합체인 피엠티아이펩타이드-그래핀 양자점-트라스투주맙 복합체(PMI-GQD-HER)를 제조하였다.
- [0095] 구체적으로, 20 mL 바이알에서 포스페이트 버퍼(PBS) 10 mL에 트라스투주맙(HER)(30 mg, 0.002 mmol)을 용해시

키고, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카보이미드(EDC)(225 mg, 1.45 mmol)와 N-하이드록시석신이미드(NHS)(167 mg, 1.45 mmol)를 첨가한 후, 실온에서 5분 동안 교반하였다. 그리고 반응 혼합물에 피엠티아이드-그래핀 양자점 복합체(PMI-GQD)를 5 mg 첨가하여 용해시킨 후 7일 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 분획 분자량 1 kDa의 투석막을 사용하여 증류수로 3일 간 투석한 후, 3일 동안 동결건조하여 피엠티아이드-그래핀 양자점-트라스투주맵 복합체(PMI-GQD-HER)를 제조하였다.

[0096] 실험예 1. 실시예 1에서 제조한 복합체의 형성 확인

[0097] 상기 실시예 1의 피엠티아이드-그래핀 양자점-암 표적화 항체 복합체(PMI-GQD-HER)의 제조 단계에서, 각 단계별로 복합체가 제대로 형성되었는지 확인하기 위해, 단계별 복합체 형성 여부를 UV-Vis 분광 광도계, FT-IR 및 PAGE 분석을 통해 확인하였다.

[0098] 1-1. UV-Vis 분광 광도계 분석

[0099] UV-Vis(UV-1650PC, SHIMADZU) 분광 광도계 분석 결과, GQD는 약 323 nm에서 최대 흡광도를 보이는데, 상기 실시예 1-1에 따라 GQD가 PMI와 결합한 후 PMI-GQD는 290 nm에서 최대 흡광도를 나타내었다. 또한, HER는 280 nm의 최대 흡광도를 보이는데, 상기 실시예 1-2에 따라 제조한 PMI-GQD-HER의 최대 흡광도는 267 nm에서 피크를 보였다. 상기 입자의 흡광도 이동에 따른 정성분석에 따라 실시예 1-1 및 1-2에서 각각 PMI-GQD와 PMI-GQD-HER 복합체가 정상적으로 합성되었음을 확인하였다 (도 3).

[0100] 1-2. 퓨리에 변환 적외선 분광학(FT-IR) 분석

[0101] Nicolet 380 spectrometer (high tech Thermo Scientific, 미국)를 사용하여 퓨리에 변환 적외선 분광 분석(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)을 수행하였다. KBr 펠렛 기술을 이용하여 500 내지 4000 cm^{-1} 파장에서 스펙트럼을 측정하였다.

[0102] 그 결과 도 4에 나타낸 바와 같이, 표면에 아민기를 가지는 그래핀 양자점(GQD-NH₂)은 3305 cm^{-1} (ν , N-H), 1720 cm^{-1} (δ , N-H)에서 흡수 밴드를 나타내었다. 한편, PMI-GQD-HER 복합체의 경우, 1643 및 1546 cm^{-1} 에서 두 개의 밴드가 나타났는데, 이는 각각 아마이드 I 및 아마이드 II 결합을 의미한다. 이러한 결과를 통해, 아마이드 결합으로 피엠티아이드와 HER이 그래핀 양자점에 성공적으로 고정되었음을 확인하였다.

[0103] 1-3. 전기 영동(PAGE) 분석

[0104] 젤 전기영동으로 PMI-GQD와 PMI-GQD-HER 복합체의 합성을 확인한 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이 그래핀 양자점과 PMI가 공유결합 후 PMI 위치에 PMI-GQD의 밴드가 형성되었다. 또한, PMI-GQD와 HER의 펩타이드 결합 후 PMI 위치에 밴드가 사라지고, HER 위치에 밴드가 형성되었음을 확인하였다. 이를 통해, 실시예 1-2에서 PMI-GQD-HER 복합체가 정상적으로 합성되었음을 확인하였다.

[0105] 실험예 2. 실시예 1에서 제조한 복합체의 입자크기 측정

[0106] 동적광 산란(Dynamic light scattering, DLS) 분석, 주사 전자현미경(Scanning Electron Microscopy, SEM) 및 전계 방출형 투사 전자현미경(Field-Emission Transmission Electron Microscopy, FE-SEM)을 사용하여, 본 발명의 복합체의 입자크기를 관찰하였다.

[0107] 2-1. 동적 광산란 분석

[0108] 633 nm He-Ne 가스 레이저가 장착된 Zetasizer Nano S 90 (ZEN1690)(Malvern Instruments, 영국)를 사용하여 동적 광산란 분석(Dynamic light scattering, DLS)을 수행하였다.

[0109] 구체적으로, 그래핀 양자점, PMI-GQD-HER 복합체를 각각 0.1 mg/mL의 농도로 하는 샘플을 제작하고 25 °C에서 고정 산란각 90°로 하여 각각의 직경을 측정하였다.

[0110] 그 결과, 도 6에 나타낸 바와 같이, 그래핀 양자점(GQD-NH₂)의 직경은 약 20 nm, PMI-GQD-HER의 직경은 약 220 nm으로 본 발명의 PMI-GQD-HER 복합체의 크기가 약물전달에 적합한 50-250 nm범위 내의 적절함을 알 수 있었다.

[0111] 2-2. 주사 전자현미경 관찰

[0112] 주사 전자현미경(Scanning Electron Microscopy, SEM)을 이용하여 입자 크기를 측정하였다.

[0113] 구체적으로, 실시예 1에서 제조한 PMI-GQD-HER를 0.1 mg/mL의 농도로 증류수에 분산시켜 샘플 용액을 제조 후,

샘플 용액을 실리콘 웨이퍼 위에 위치시키고 입자크기를 측정하였다.

[0114] 측정 결과, PMI-GQD-HER의 직경은 약 210 ± 50 nm 로서, 상기 실험에 2-1의 동적 광산란 분석 (도 6)의 측정 결과와 유사함을 확인하였다 (도 7).

[0115] 2-3. 전계 방출형 투과 전자현미경 관찰

[0116] 전계 방출형 투과 전자현미경(Field Emission Transmission Electron Microscope, FE-TEM)을 이용하여 실시예 1에서 제조한 PMI-GQD-HER 입자의 크기 및 표면 개질층의 두께를 측정하였다.

[0117] 구체적으로, 실시예 1에서 제조한 PMI-GQD-HER 를 0.1 mg/mL의 농도로 증류수에 분산시켜 샘플 용액을 제조 후, 카본-코팅된 구리 격자(copper grid)위에 떨어뜨려 건조시킨 후, 200 kV에서 전계 방출형 투과전자현미경 촬영을 수행하였다.

[0118] 측정 결과, PMI-GQD-HER 의 직경은 약 200 ± 50 nm 로서, 상기 실험에 2-1의 동적 광산란 분석 및 실험에 2-2의 주사 전자현미경 관찰의 측정 결과와 유사하며, PMI-GQD-HER 의 표면개질층의 두께가 약 18 nm임을 확인하였다 (도 8).

[0119] 따라서, 본 발명의 실시예 1의 PMI-GQD-HER는 성공적으로 표면이 개질되었음을 확인하였으며, 암세포까지 전달될 수 있는 적절한 크기를 가짐을 알 수 있었다.

[0120] 실험예 3. 실시예 1에서 제조한 복합체의 세포 사멸 유도

[0121] SK-BR-3 세포는 HER2 수용체를 과발현하는 반면, MDA-MB-231 세포는 HER2 발현이 상대적으로 낮아 HER의 민감성에 차이가 있다. 따라서, 이러한 차이점을 이용하여, 실시예 1에서 제조한 PMI-GQD-HER의 표적 효율성을 확인하였다.

[0122] 구체적으로, 실시예 1에서 제조한 PMI-GQD-HER의 농도를 0 내지 600 μ g/mL 범위로 설정하였다. 제조된 샘플을 SK-BR-3 세포와 MDA-MB-231 세포에 동일하게 48시간 동안 처리한 후, CCK assay를 이용하여 세포 생존율을 평가하였다.

[0123] 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이, HER2-음성 유방암세포인 MDA-MB-231에 비해 HER2가 과발현된 SK-BR3세포에서 PMI-GQD-HER 복합체가 높은 항암효과를 나타냄을 확인하였다.

[0124] 따라서 본 발명의 복합체가 특정 암세포에 선택적으로 항암활성을 나타낼 수 있음을 알 수 있었다.

[0125] 실험예 4. 그래핀 양자점의 세포 섭취 및 발광 효과 확인

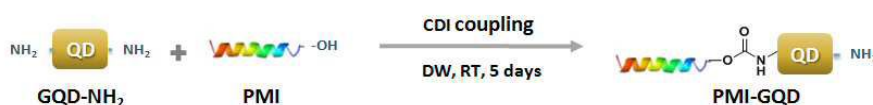
[0126] 공초점 레이저 스캐닝 현미경 (Confocal laser scanning microscopy, CLSM)으로 PMI-GQD-HER 복합체의 세포 섭취(cellular uptake) 및 세포 내 발광을 관찰하였다.

[0127] 5×10^3 개/웰의 SK-BR-3 세포와 MDA-MB-231 세포를 6-웰 플레이트에서 37 $^{\circ}$ C, 24 시간 동안 배양하였다. 그 후에 10 μ g/mL 농도의 PMI-GQD-HER 복합체와 2 mM 농도의 세포질 염색약인 라이조트레커를 첨가한 후 14 시간 동안 추가 배양하고 공초점 레이저 현미경으로 세포 섭취를 관찰하였다.

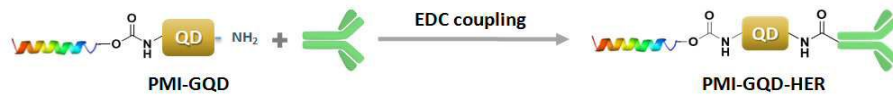
[0128] 그 결과, 도 10에 나타난 바와 같이, PMI-GQD-HER 복합체가 세포 내로 섭취되어 청색광을 나타냄을 확인하였다. 따라서 본 발명의 PMI-GQD-HER 복합체가 체내에 투여된 약물을 모니터링하는데 사용될 수 있고, 또한 암세포의 영상화에도 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

도면

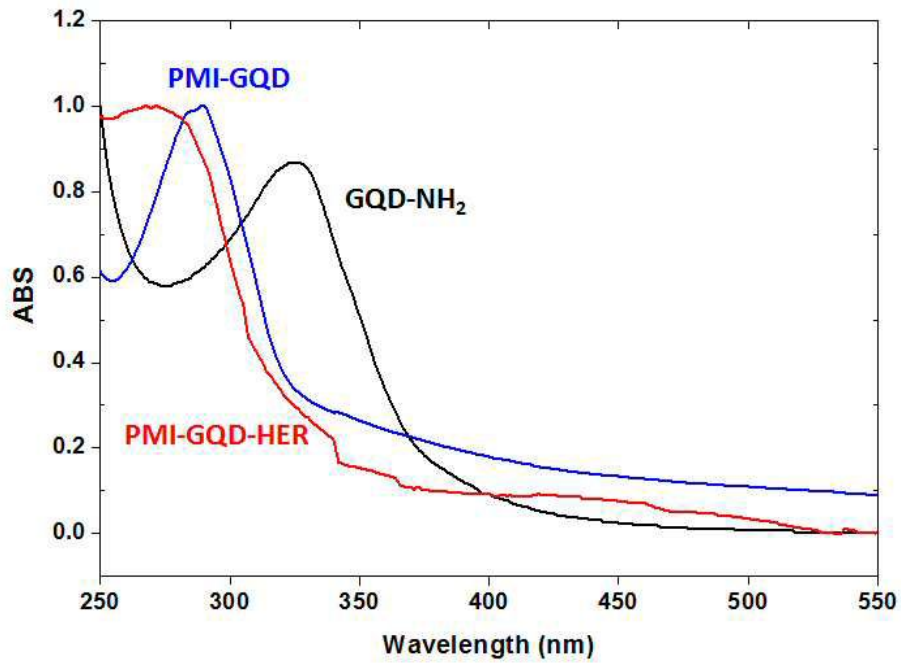
도면1



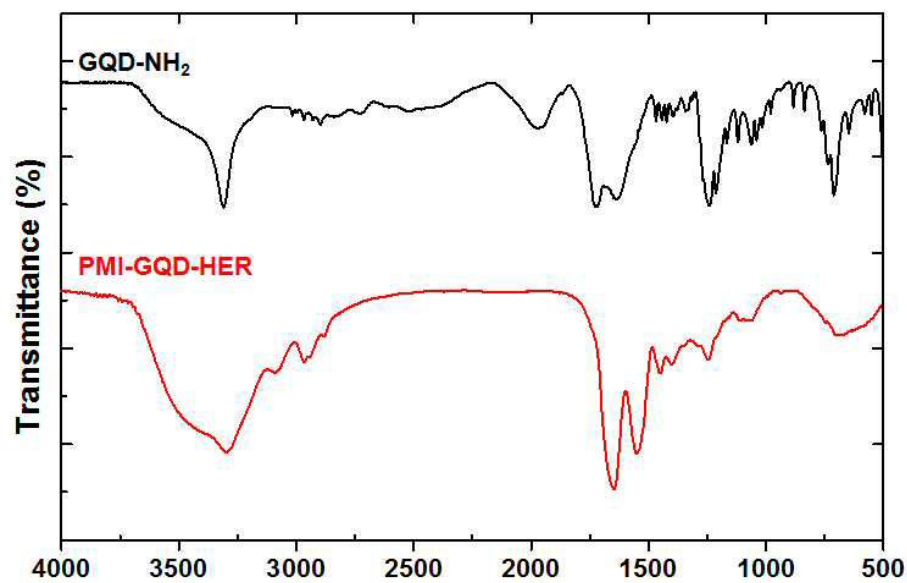
도면2



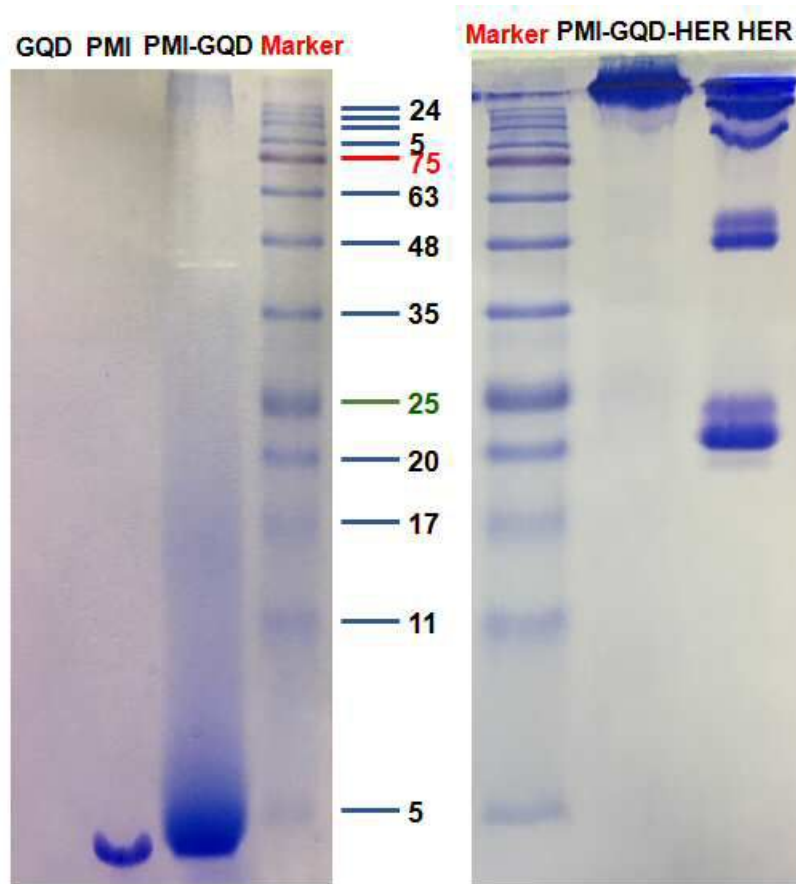
도면3



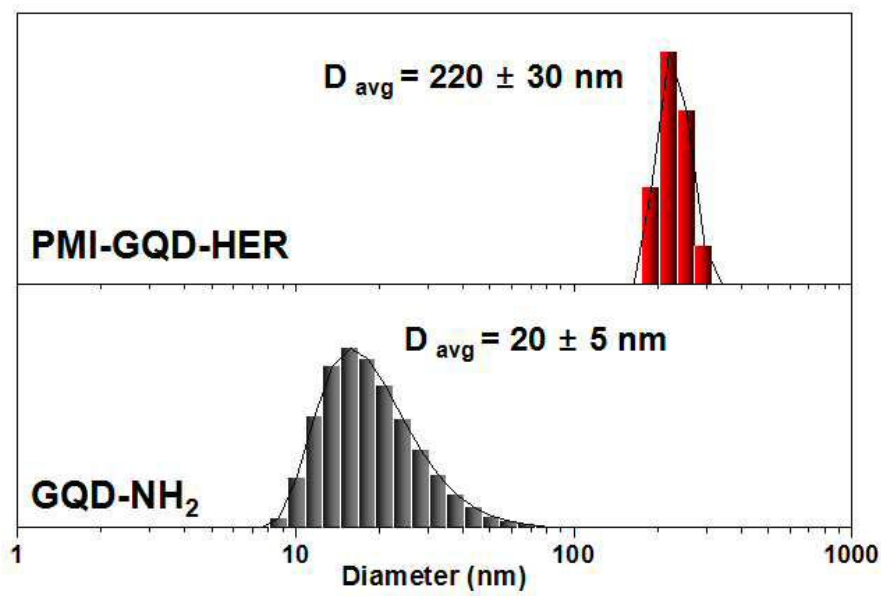
도면4



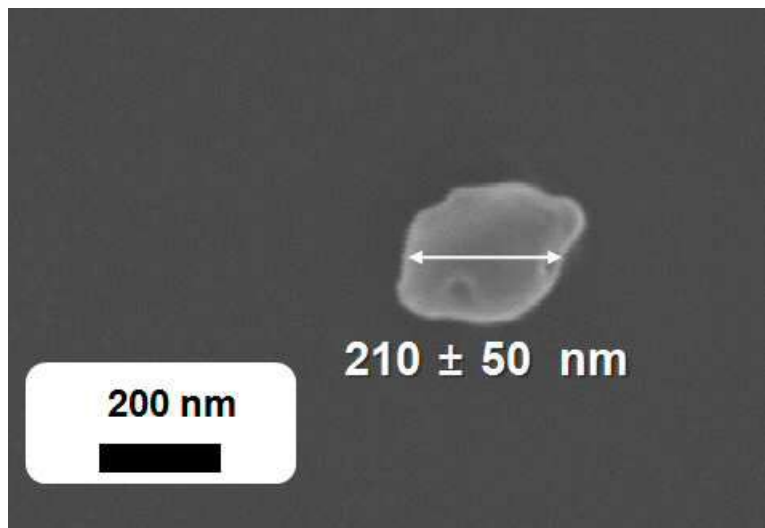
도면5



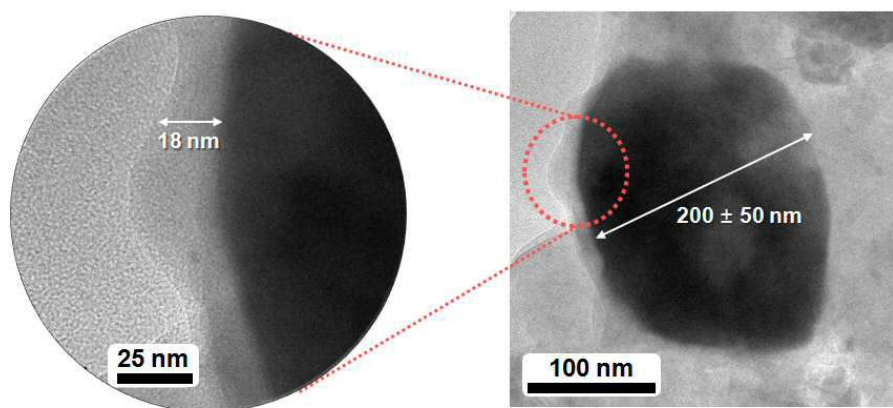
도면6



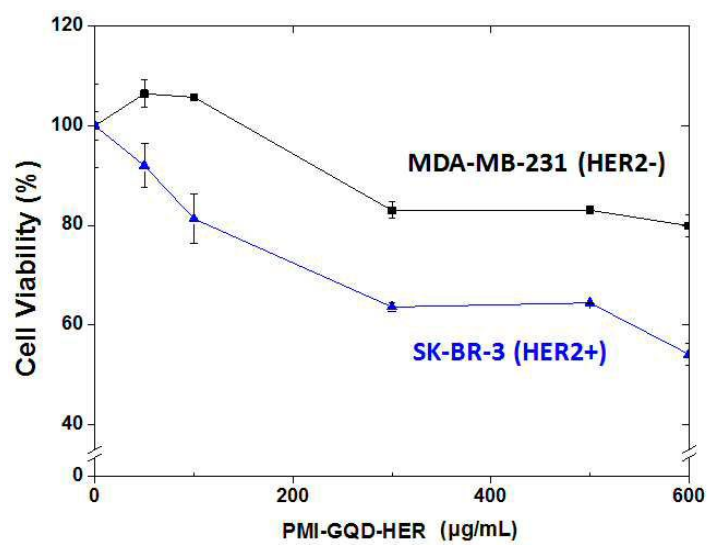
도면7



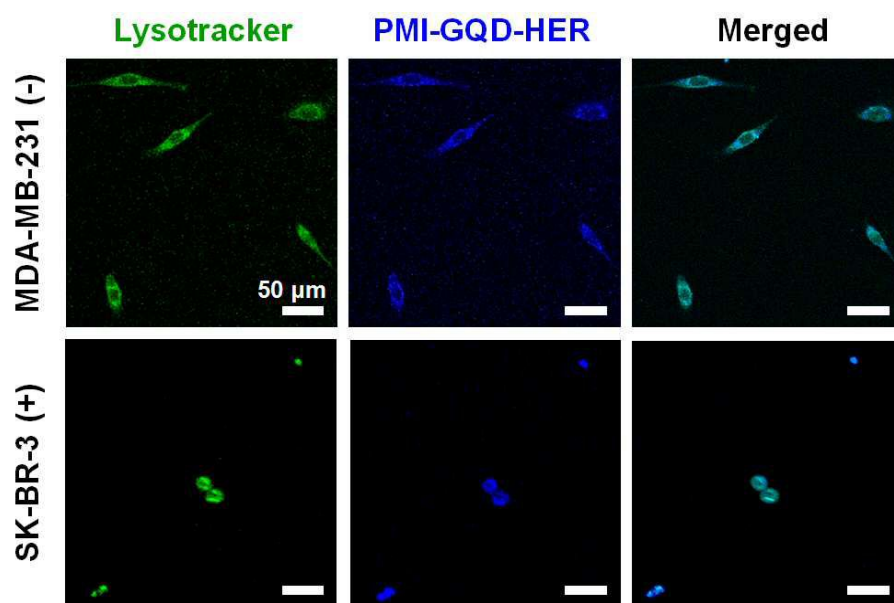
도면8



도면9



도면10



서열 목록

<110> UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY

<120> A novel graphene quantum dot complex

<130> P16-076-KHU

<160> 1

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PMI

<400> 1

Thr Ser Phe Ala Glu Tyr Trp Asn Leu Leu Ser Pro

1

5

10