

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호
WO 2011/043502 A1

PCT

(43) 국제공개일
2011년 4월 14일 (14.04.2011)

(51) 국제특허분류:

A61K 49/00 (2006.01) A61K 33/24 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2009/005763

(22) 국제출원일: 2009년 10월 8일 (08.10.2009)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 국
립 암 센터 (NATIONAL CANCER CENTER)
[KR/KR]; 경기도 고양시 일산동구 정발산로 111,
410-769 Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: 겸

(75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 최용두 (CHOI, Yong-
Doo) [KR/KR]; 경기도 고양시 일산동구 정발산로
111, 410-769 Gyeonggi-do (KR). 장보승 (JANG, Bo-
Seung) [KR/KR]; 경기도 고양시 일산동구 정발산로
111, 410-769 Gyeonggi-do (KR). 김인후 (KIM, In-Hoo)
[KR/KR]; 경기도 고양시 일산동구 정발산로 111,
410-769 Gyeonggi-do (KR). 박진영 (PARK, Jin-
Young) [KR/KR]; 경기도 고양시 일산동구 정발산로
111, 410-769 Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 특허법인 이상 (E-SANG PATENT &
TRADEMARK LAW FIRM); 서울 서초구 양재동
82-2 우도빌딩 3층, 137-890 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, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유
럽 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,
NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

공개:

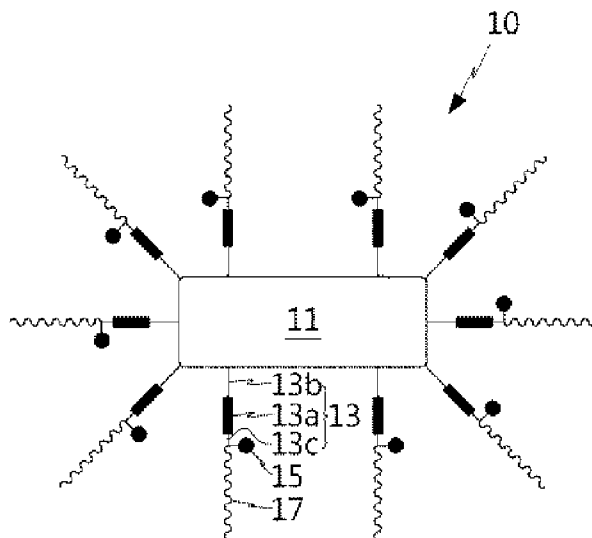
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITE OF PHOTOSENSITIZER-METAL NANOPARTICLES AND COMPOSITION FOR PHOTODY-
NAMIC THERAPY OR DIAGNOSIS COMPRISING SAME

(54) 발명의 명칭: 광감각제 - 금속나노입자 복합물 및 이를 함유하는 광역학 치료 또는 진단을 위한 조성물

[Fig. 1]



(57) Abstract: Provided herein are a composite of
photosensitizer-metal nanoparticles and a composi-
tion for photodynamic therapy or diagnosis compr-
ising the same. The composite of the present inven-
tion is comprised of a photosensitizer; metal nanopar-
ticles; and backbones which connect the photosensitizer
with the metal nanoparticles. The backbones comprise
polypeptide substrates which can be specifically de-
graded by protease. The composite inhibits fluorogen-
esis and generation of reactive oxygen species in nor-
mal tissues, whereas fluorogenesis and generation of
reactive oxygen species are activated in neoplastic tis-
sues. The composite can thus effectively destroy neo-
plastic tissues. Also, the selective fluorogenesis in
neoplastic tissues allows the accuracy of detection of
neoplasms using the composite to be enhanced.

(57) 요약서: 광감각제 - 금속나노입자 복합물 및
이를 함유하는 광역학 치료 또는 진단을 위한 조
성물을 제공한다. 상기 복합물은 광감각제, 금속
나노입자, 및 상기 광감각제와 상기 금속나노입
자를 연결하는 백본을 구비한다. 상기 백본은 단
백분해효소에 의해 특이적으로 분해될 수 있는
폴리펩티드 기질을 구비한다. 상기 복합물은 정
상조직에서는 형광발생 및 반응성 산소종의 생성
이 억제되고 종양조직에서는 형광발생 및 반응성

산소종의 생성이 활성화되어 종양조직을 효과적으로 파괴할 수 있다. 또한, 종양조직에서의 선택적 형광발생은 상기
복합체를 사용한 종양의 진단 정확도를 더욱 향상시킬 수 있다.



— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 광감각제 - 금속나노입자 복합물 및 이를 함유하는 광역학 치료 또는 진단을 위한 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 광감각제에 관한 것으로, 보다 상세하게는 광감각제 - 금속나노입자 복합물 및 이를 함유하는 광역학 치료 또는 진단을 위한 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 광감각제(photosensitizer)를 사용하는 광역학 치료법(photodynamic therapy)은 종래의 암치료법인 수술이나 방사선 요법, 약물요법의 부작용 및 암치료 이후의 후유증 문제를 해결할 수 있는 치료법으로서 관심을 얻고 있다.
- [3] 광감각제는 특정 파장의 빛에 조사되었을 때 여기되고, 여기 상태의 광감각제는 주변의 기질 또는 산소와 반응하여 반응성 산소종(reactive oxygen species)를 생성하고, 생성된 반응성 산소종은 주변 종양 세포를 자멸(apoptosis) 또는 괴사(necrosis)시킨다.
- [4] 그러나, 현재 암치료에 사용되는 광감각제의 경우, 광감각제 투여 후 환자가 빛에 노출되는 경우에 피부나 눈에 비특이적으로 축적되어 잔존하는 광감각제가 여기되고, 이로 인해 피부 또는 눈의 정상세포를 죽이는 피부 광민감성 부작용이 문제되고 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 발명은 광역학 반응이 표적 환부에서 보다 선택적으로 일어나 반응 부작용을 줄일 수 있는 광감각제 - 금속나노입자 복합물 및 이를 함유하는 광역학 치료 또는 진단을 위한 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [6] 상기 과제를 이루기 위하여 본 발명의 일 측면은 광감각제-금속나노입자 복합물을 제공한다. 상기 복합물은 광감각제, 금속나노입자, 및 상기 광감각제와 상기 금속나노입자를 연결하는 백본을 구비한다. 상기 백본은 단백분해효소에 의해 특이적으로 분해될 수 있는 폴리펩티드 기질을 구비한다.
- [7] 상기 과제를 이루기 위하여 본 발명의 다른 측면은 광역학 치료 또는 진단을 위한 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 광감각제-금속나노입자 복합물과 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함한다.

발명의 효과

- [8] 본 발명에 의하면, 정상조직에서는 광감각제-금속나노입자 복합물은 광감각제와 금속나노입자가 백본에 의해 연결된 상태로 존재하여 형광 및 반응성 산소종 생성이 억제될 수 있다. 그러나, 단백분해효소가 과발현되는

종양에서는 상기 백본 내의 폴리펩티드가 특이적으로 분해되므로, 상기 광감각제과 금속나노입자가 분리된 상태로 존재할 수 있어, 형광 및 반응성 산소종 생성이 활성화될 수 있다. 그 결과, 정상조직에서의 광민감성 반응은 억제할 수 있으면서도 종양조직은 효과적으로 파괴할 수 있다. 또한, 종양조직에서의 선택적 형광발생은 상기 복합체를 사용한 종양의 진단 정확도를 향상시킬 수 있다.

- [9] 본 발명의 효과들은 이상에서 언급한 효과들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 청구범위의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [10] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 광감각제 - 금속나노입자 복합물을 나타낸 개략도이다.
- [11] 도 2 및 도 3는 각각 정상조직 및 단백분해효소가 과발현된 환부에 축적된 본 발명의 일 실시예에 따른 광감각제 - 금속나노입자 복합물의 광에 의한 반응들을 나타낸 개략도이다.
- [12] 도 4은 제조예 1에 따라 제조된 골드 나노막대를 촬영한 투과전자현미경 사진이다.
- [13] 도 5는 제조예 2를 통해 제조된 MMP2 프로브의 HPLC 결과이며, 도 6는 제조예 2를 통해 제조된 MMP2 프로브의 질량 분석 결과이다.
- [14] 도 7는 제조예 1에 따른 골드 나노막대의 UV/Vis 흡수 스펙트럼이고, 도 8는 제조예 2에 따른 광감각제-금속나노입자 복합체의 UV/Vis 흡수 스펙트럼이다.
- [15] 도 9 및 도 10는 각각 광감각제-금속나노입자 복합체로 처리된 HT1080 세포주와 BT20 세포주의 형광을 촬영한 사진들이다.
- [16] 도 11 및 도 12는 각각 분석예들 2-1 및 2-2에 따른 조건별 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [17] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되어지는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다.

[18]

[19] 광감각제 - 금속나노입자 복합물

- [20] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 광감각제 - 금속나노입자 복합물을 나타낸 개략도이다.
- [21] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 광감각제 - 금속나노입자 복합물(10)은 금속나노입자(11), 광감각제(15), 및 상기 금속나노입자(11)와 상기 광감각제(15)를 연결하는 백본(backbone, 13)을 포함한다.
- [22] 상기 백본(13)은 질병과 관련된 특정 효소, 예를 들어 종양과 같은 병에 걸린

조직에서 과발현되는 단백분해효소(protease)에 의해 특이적으로 분해될 수 있는 폴리펩티드 기질(13a)을 포함한다. 일 예로서, 상기 종양은 증식성 세포들에 의해 구성될 수 있다.

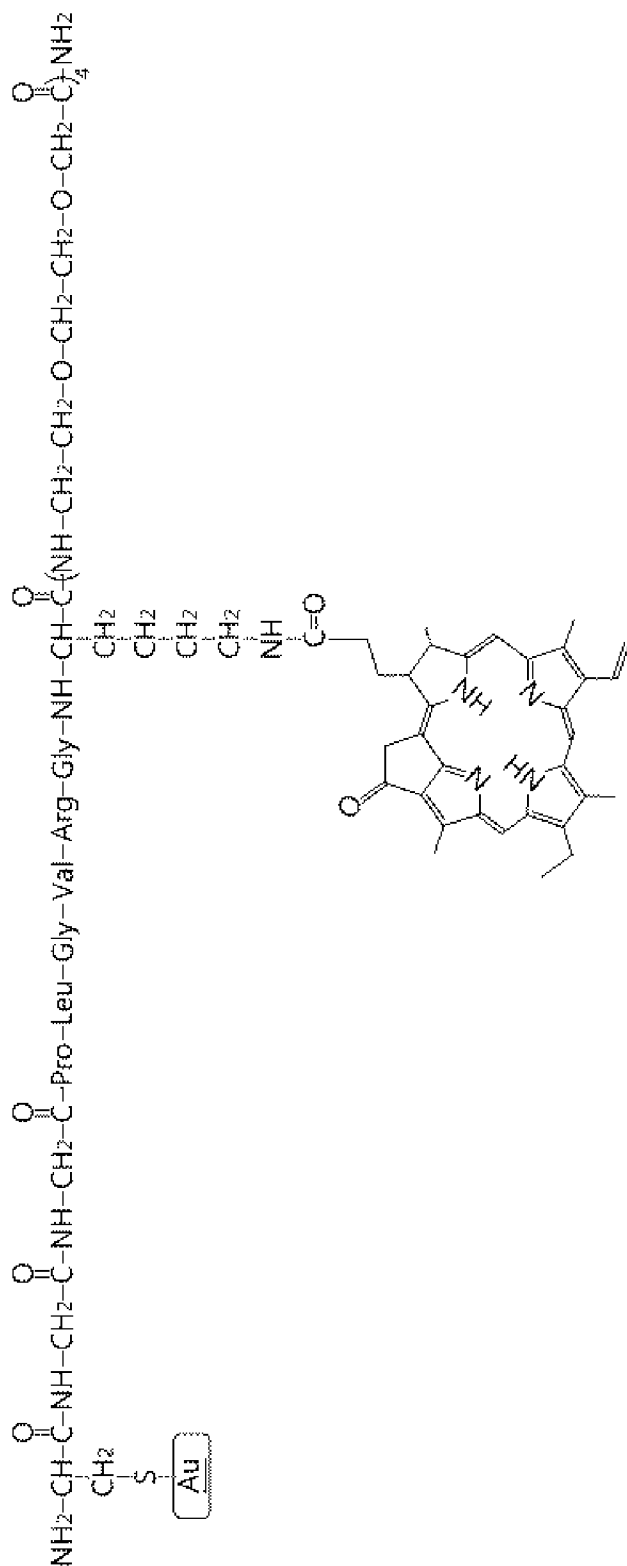
- [23] 이러한 단백분해효소의 예는 카텝신류 (cathepsins), MMP류(matrix metalloproteinases), 막 유형의 MMP류, 콜라게나아제류(collagenases), 젤라티나아제(gelatinases), 스트로멜리신류(stromelysins), 유로키나제-형 플라스미노겐 활성화제 (urokinase-type plasminogen activator, uPA), 카스파아제류(caspases), 바이러스성 단백분해효소류(viral proteases), HIV 단백분해효소류(HIV proteases), HSV 단백분해효소류(HSV proteases), 젤라틴분해효소(gelatinase), 유로키나아제(urokinases), 세크리타아제류(secretases), 엔도솜 가수분해효소(endosomal hydrolase), PSA(Prostate Specific Antigen), 플라스미노겐 활성화제(plasminogen activator), CMV (Cytomegalovirus) 단백분해효소, 및 트롬빈(thrombin)을 포함한다. 구체적으로, 상기 카텝신은 카텝신 A, 카텝신 B, 카텝신 D, 카텝신 H, 카텝신 K, 카텝신 L, 또는 카텝신 S일 수 있고, 상기 MMP는 MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, MMP10, MMP11, MMP12, 또는 MMP13일 수 있다.
- [24] 상기 폴리펩티드 기질(13a)은 RPLALWRS(서열번호 1), GGLGQRGRSANAILE(서열번호 2), GVSQNYPIVG(서열번호 3), LVLASSSFGY(서열번호 4), PLGMWSR(서열번호 5), PGNWT(서열번호 6), PAGLLGC(서열번호 7), LGGSGRSANAILE(서열번호 8), RR, RRG, GPICFFRLG(서열번호 9), HSSKLQG(서열번호 10), PIC(Et)FF(서열번호 11), HSSKLQ(서열번호 12), P(L/Q)G(I/L)AG(서열번호 13), GVVQASCRLA(서열번호 14), 또는 KK을 포함하나 이에 한정되지 않는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 이러한 폴리펩티드 기질(13a)의 예는 MMP2에 의해 특이적으로 분해될 수 있는 PLGVRG(서열번호 15, -Pro-Leu-Gly-Val-Arg-Gly-), 또는 카텝신 S(cathepsin S)에 의해 특이적으로 분해될 수 있는 LR(-Leu-Arg-)일 수 있다.
- [25] 상기 백본(13)은 상기 금속나노입자(11) 및 상기 광감각제(15)의 사이에서 이들에 화학적으로 결합되는데, 상기 폴리펩티드 기질(13a) 자체가 상기 금속나노입자(11) 및 상기 광감각제(15)에 화학적으로 결합할 수 있다. 또는 상기 백본(13)은 상기 폴리펩티드 기질(13a)과 상기 금속나노입자(11)를 화학적으로 연결하는 제1 연결자(13b)와 상기 폴리펩티드 기질(13a)과 상기 광감각제(15)를 화학적으로 연결하는 제2 연결자(13c) 중 적어도 하나를 더 포함할 수 있다. 일 예로서, 상기 금속나노입자(11) 및/또는 상기 광감각제(15)는 상기 백본(13)의 측쇄에 결합될 수 있다.
- [26] 구체적으로, 상기 백본(13)은 상기 금속나노입자(11)에 화학흡착될 수 있고, 상기 광감각제(15)에 공유결합될 수 있다. 일 예로서, 상기 제1 연결자(13b)는 상기 폴리펩티드 기질(13a)에는 펩티드 결합으로 연결되고, 상기 금속나노입자(11) 표면에는 티올(thiol)-금속 결합으로 연결될 수 있다. 이를 위한

상기 제1 연결자(13b)의 예는 측쇄에 티올기를 갖는 시스테인(Cystein), 또는 시스테인을 포함하는 폴리펩티드, 또는 주쇄(또는 측쇄)에 아미노기 또는 카르복시기를 갖고 측쇄(또는 주쇄)에 티올기를 갖는 알킬렌(alkylene)일 수 있다. 상기 제2 연결자(13c)는 상기 폴리펩티드 기질(13a)에는 펩티드 결합으로 연결되고, 상기 광감각제(15)에는 아마이드 결합으로 연결될 수 있다. 이를 위한 상기 제2 연결자(13c)의 예는 측쇄에 아미노기를 함유하는 리신(lysine), 또는 리신을 포함하는 폴리펩티드, 또는 측쇄 및/또는 주쇄에 아미노기들을 갖는 알킬 또는 알킬렌일 수 있다. 또한, 상기 광감각제(15)는 카복실기를 치환기로 함유하여 상기 카복실기는 상기 제2 연결자(13c)의 아민기와 반응하여 아마이드 결합을 형성할 수 있다. 그러나 이에 한정되지 않고, 상기 폴리펩티드 기질(13a)의 일측 말단 아미노산이 시스테인인 경우에는 상기 제1 연결자(13b)를 생략할 수 있고, 상기 폴리펩티드 기질(13a)의 타측 말단 아미노산이 리신인 경우에는 상기 제2 연결자(13c)를 생략할 수 있다.

- [27] 상기 백본(13)은 상기 금속나노입자(11)의 표면으로부터 상기 광감각제(15)가 약 20nm 이내의 거리에 위치하도록, 그 구성 아미노산 수 또는 알킬렌기의 탄소수를 적절하게 구비할 수 있다.
- [28] 상기 광감각제(15)는 유리 염기(free base) 또는 금속 착물(metal complex) 형태의 포르피린 기반(porphyrin-based) 화합물, 또는 비포르피린(nonporphyrin) 화합물일 수 있다. 상기 포르피린계(porphyrins) 화합물은 예를 들어, 포르피린 유도체들(porphyrin derivatives); 포르피린을 구성하는 적어도 하나의 피롤(pyrrole)이 피롤린(pyrroline)으로 환원된 환원 포르피린계(reduced porphyrins) 예를 들어, 클로린(chlorin), 박테리오클로린(bacteriochlorin); 또는 포르피린 유사체들(porphyrin analogues) 예를 들어, 프탈로시아닌(phthalocyanine), 나프탈로시아닌(naphthalocyanine)일 수 있다. 상기 비포르피린 화합물은 하이페리신(hypericin), 로다민(rhodamine), 로즈벵갈(rose Bengal), 프소랄렌(psoralen), 페노씨아지늄(phenothiazinium) 계열 염료 또는 메로시아닌(merocyanine)일 수 있다.
- [29] 상기 광감각제(15)는 기저상태에 있을 때는 독성을 나타내지 않으나, 특정 파장의 광을 흡수하면 일항 상태(single state)로 여기된다. 일항 상태의 광감각제 중 일부는 형광의 형태로 에너지를 발산하면서 기저상태로 돌아가고, 대부분은 계간 전이(intersystem crossing)를 통해 삼항 상태(triplet state)로 전이된다. 상기 일항 상태 또는 삼항 상태의 광감각제는 주변의 기질 또는 산소와 반응하여 반응성 산소종(reactive oxygen species), 예를 들어 일항 산소, 산소 라디칼, 슈퍼 옥사이드(super oxide) 또는 퍼옥사이드(peroxide)를 생성한다. 생성된 반응성 산소종은 주변 종양 세포를 사멸(apoptosis) 또는 괴사(necrosis)시킬 수 있다.
- [30] 상기 광감각제(15)는 조직내 광침투 가능성 및 반응성 산소종의 생성 효율을 고려할 때, 450 내지 950nm, 바람직하게는 600 내지 900nm의 파장을 갖는 광에 의해 여기되는 물질일 수 있다.

- [31] 상기 금속나노입자(11)는 적어도 일방향의 길이가 수 내지 수십 나노미터인 나노입자로서, 상기 광감각제(15)와의 공명 에너지 전이(resonance energy transfer)가 가능한 금속을 함유할 수 있다. 상기 금속나노입자(11)에 함유된 금속은 예를 들어, 금, 은, 구리, 백금, 팔라듐, 니켈, 철, 또는 이들 중 둘 이상의 혼합금속일 수 있다. 구체적으로, 상기 금속나노입자(11)와 상기 광감각제(15)가 상기 백본(13)에 의해 연결된 광감각제 - 금속나노입자 복합물(10)이 특정 파장의 광에 노출되는 경우, 일항 상태의 광감각제(15)에서 상기 금속나노입자(11)의 표면으로 에너지 전이가 발생할 수 있고, 이에 따라 상기 광감각제(15)는 형광을 내지 못할 뿐 아니라 반응성 산소종을 생성하지 못할 수 있다. 그 결과, 상기 금속나노입자(11)와 상기 광감각제(15)가 상기 백본(13)에 의해 연결된 광감각제 - 금속나노입자 복합물(10)은 세포 독성을 나타내지 못할 수 있다.
- [32] 일 실시예에서, 금속나노입자(11)에 함유된 금속은 몰흡광계수가 10^9 이상으로서 상기 광감각제(15)에 비해 만배 이상 효율적으로 광을 흡수할 수 있고, 또한 표면에 물질 도입이 용이한 금일 수 있다. 상기 금속나노입자(11)는 구(sphere)형, 막대(rod)형, 피라미드(pyramid)형, 별 모양(star-shaped), 코어-셸(core-shell) 형태일 수 있다. 이러한 금속나노입자(11)는 그의 구성물질, 모양 또는 크기에 따라서 흡수하는 파장영역이 달라질 수 있다. 따라서, 상기 광감각제(15)의 형광 스펙트럼과 상기 금속나노입자(11)의 흡광스펙트럼이 겹칠 수 있도록 상기 금속나노입자(11)의 구성물질, 모양 또는 크기를 조절할 수 있다.
- [33] 상기 백본(13)의 말단 구체적으로, 상기 광감각제(15)에 인접한 단부에 친수성 고분자(19)가 더 연결될 수 있다. 상기 친수성 고분자는 저면역원성(low immunogenicity)등의 생체적합성을 갖는(biocompatible) 폴리알킬렌글리콜(poly(alkylene glycol))일 수 있다. 상기 폴리알킬렌글리콜은 폴리에틸렌글리콜(PEG); 메톡시폴리에틸렌글리콜(MPEG); 메톡시폴리프로필렌 글리콜; 폴리에틸렌글리콜과 메톡시폴리프로필렌글리콜의 공중합체; 덱스트란(dextran); 히알루론산(hyaluronic acid); 폴리락틱-폴리글리콜릭 산 공중합체; 폴리에틸렌글리콜-이산(polyethylene glycol-diacid); 폴리에틸렌글리콜 모노아민; 메톡시폴리에틸렌글리콜 모노아민; 메톡시폴리에틸렌글리콜 하이드라자이드; 메톡시폴리에틸렌글리콜 이미다졸; 또는 폴리에틸렌글리콜, 메톡시폴리프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜-이산, 폴리에틸렌글리콜 모노아민, 메톡시폴리에틸렌글리콜 모노아민, 메톡시폴리에틸렌글리콜 하이드라자이드, 및 메톡시폴리에틸렌글리콜 이미다졸 중 둘 이상의 공중합체일 수 있다. 이에 더하여, 상기 친수성 고분자는 폴리알킬렌글리콜과 다른 폴리머의 공중합체 예를 들어, 폴리에틸렌글리콜과 폴리펩티드, 폴리에틸렌글리콜과 다당류(polysaccharide), 폴리에틸렌글리콜과 폴리아미도아민, 폴리에틸렌글리콜과 폴리에틸렌아민 또는 폴리에틸렌글리콜과 폴리뉴클레오티드와의 공중합체일 수 있다.

[35] 화학식 1



[36] 도 2 및 도 3는 각각 정상조직 및 단백분해효소가 과발현된 환부에 축적된 본 발명의 일 실시예에 따른 광감각제 - 금속나노입자 복합물의 광에 의한 반응들을

나타낸 개략도이다.

- [37] 도 2를 참조하면, 정상조직에 축적된 광감각제 - 금속나노입자 복합물(10)은 금속나노입자(11)와 광감각제(15)가 백본(13)에 의해 연결된 상태를 유지한다. 따라서, 상기 복합물(10)이 상기 광감각제(15)를 여기시킬 수 있는 파장을 갖는 광에 노출된 경우, 일항 상태의 광감각제(15)에서 금속나노입자(11)의 표면으로 에너지 전이 즉, 공명 에너지 전달(resonance energy transfer)이 발생할 수 있다. 이 경우, 상기 금속나노입자(11)는 소광제(quencher)로서 작용하여 상기 광감각제(15)의 형광 발생 및 반응성 산소종 생성을 억제할 수 있다. 그 결과, 상기 복합물(10)은 세포 독성을 나타내지 않을 수 있다.
- [38] 반면, 도 3를 참조하면, 환부에 축적된 광감각제 - 금속나노입자 복합물(10)은 환부에서 과발현된 단백분해효소(P)와 만나고, 상기 단백분해효소(P)는 상기 복합물(10)의 백본(13) 내의 폴리펩티드 기질(13a)를 특이적으로 분해하여, 금속나노입자(11)와 광감각제(15)를 분리시킨다. 그 결과, 상기 금속나노입자(11)의 표면과 상기 광감각제(15) 사이의 거리는 소광이 가능하지 않은 거리 예를 들어, 20nm를 초과하게 된다. 그 후, 상기 복합물(10)이 상기 광감각제(15)를 여기시킬 수 있는 파장을 갖는 광에 노출된 경우, 상기 광감각제(15)는 일항 상태(single state)로 여기된다. 일항 상태의 광감각제 중 일부는 형광의 형태로 에너지를 발산하면서 기저상태로 돌아가고, 대부분은 계간 전이(intersystem crossing)를 통해 삼항 상태(triplet state)로 전이된다. 상기 일항 상태 또는 삼항 상태의 광감각제는 주변의 기질 또는 산소와 반응하여 반응성 산소종(reactive oxygen species), 예를 들어 일항 산소, 산소 라디칼, 슈퍼 옥사이드(super oxide) 또는 퍼옥사이드(peroxide)를 생성한다. 생성된 반응성 산소종은 주변 종양 세포를 사멸(apoptosis) 또는 괴사(necrosis)시킬 수 있다.
- [39] 한편, 상기 광감각제 - 금속나노입자 복합물(10)을 종양을 지닌 생체 내로 투여하는 경우에, 상기 나노 사이즈를 갖는 복합물(10)은 종양 주변에 존재하는 느슨한 신생 혈관 조직으로 인해 상기 종양에 쉽게 침투하고 또한 림프관을 통한 배출기능의 부족으로 인해 상기 종양에 축적되고 또한 오래 머무를 수 있다. 그러나, 상기 복합물(10)은 눈 또는 피부 등의 정상조직에 비특이적으로 축적될 가능성도 있다.
- [40] 하지만, 상기 정상조직에서보다 상기 종양에서 단백분해효소가 과발현되므로, 도 2를 참조하여 설명한 바와 같이 상기 정상조직에서는 복합물(10)은 광감각제(15)과 금속나노입자(11)가 백본(13)에 의해 연결된 상태로 존재하여 상기 광감각제(15)를 여기시킬 수 있는 파장을 갖는 광에 노출된 경우에도 형광 및 반응성 산소종 생성이 억제될 수 있다. 그러나, 도 3를 참조하여 설명한 바와 같이 상기 종양에서는 상기 광감각제(15)와 금속나노입자(11)가 분리된 상태로 존재할 수 있어, 상기 광감각제(15)를 여기시킬 수 있는 파장을 갖는 광에 노출된 경우 형광 및 반응성 산소종 생성이 활성화될 수 있다. 그 결과, 정상조직에서의 광민감성 반응은 억제할 수 있으면서도 종양조직은 효과적으로 파괴할 수 있다.

또한, 종양조직에서의 선택적 형광발생은 상기 복합체를 사용한 종양 진단 정확도를 더욱 향상시킬 수 있다.

[41]

[42] 광감각제 - 금속나노입자 복합물을 함유하는 약제학적 조성물

[43] 본 발명의 또 다른 실시예는 도 1을 참조하여 설명한 광감각제 - 금속나노입자 복합물을 함유하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[44] 본 실시예에 따른 약제학적 조성물은 약제학적으로 유효량의 광감각제 - 금속나노입자 복합물과, 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 상기 담체는 희석제일 수 있다. 상기 조성물은 보존제, 습윤제, 유화제, 및 분산제 등의 보조제를 더 포함할 수 있다.

[45] 이러한 약제학적 조성물은 의도된 투여 경로와 조화되도록 제형화될 수 있다. 투여 경로의 예는, 비경구, 예를 들어 정맥내, 피부내, 피하, 비내, 경피(국소), 점막관통, 및 직장 투여를 포함하나, 이들에 한정되는 것은 아니다.

[46] 비경구 투여를 위해 사용될 수 있는 적절한 담체는 당업자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 염화나트륨 주사액, 링거 주사액, 텍스트로오스 주사액, 텍스트로오스 및 염화나트륨 주사액, 및 락테이트 함유 링거 주사액을 포함하나 이들에 한정되지 않는 수성 운반체(vehicle); 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리프로필렌 글리콜을 포함하나 이들에 한정되지 않는 수-혼화성 운반체; 및 옥수수 유, 면실 유, 땅콩 유, 참깨 유, 에틸 올레이트, 이소프로필 미리스테이트, 및 벤질 벤조에이트를 포함하나 이들에 한정되지 않는 비-수성 운반체일 수 있다.

[47] 이러한 약제학적 조성물은 종양 치료 또는 종양 진단을 위해 사용될 수 있다. 종양 치료 또는 종양 진단을 위해 사용되는 경우에, 유효량은 케이스 별로 의사에 의해 결정될 수 있다. 이 때, 환자의 나이, 성별, 체중, 또는 치료 또는 진단되어야 할 병태의 중증도가 고려될 수 있다. 일 예로서, 광감각제 - 금속나노입자 복합물은 광감각제의 당량 및 환자 체중을 기준으로 $0.001\mu\text{g} \sim 10\text{ mg/kg}$ 으로 투여될 수 있다. 특정 예에서 상기 복합물은 $0.1\text{mg} \sim 1\text{ mg/kg}$ 으로 투여될 수 있다.

[48]

[49] **실험예들(Examples)**

[50] 다음으로 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 다음의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 내용을 한정하는 것은 아니다.

[51] 제조예 1: 금속나노입자의 제조

[52] 금속나노입자는 시드 매개 방법(seed mediated method)을 사용하여 제조하였다. 구체적으로, CTAB(cetyltrimethylammonium bromide)를 3차 증류수에 100mM의 몰농도로 녹인 CTAB 수용액 7.5ml와 10mM의 HAuCl_4 수용액($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 250 μl 를 섞어준 후, 여기에 10mM의 NaBH_4 수용액 600 μl 를 넣어주었다. 이를

2분 동안 교반한 후, 25°C에서 2시간을 방치하여 시드 용액을 준비하였다.

[53] 한편, 100mM의 CTAB 수용액 40ml에 10mM의 H_{Au}Cl₄수용액(H_{Au}Cl₄·3H₂O) 1.7ml를 첨가한 후, 여기에 10mM의 AgNO₃ 수용액 250 μ l와 100mM의 아스코르브산(ascorbic acid) 270 μ l를 순차적으로 넣어주었다. 여기에, 상기 시드 용액 420 μ l를 넣어주고 12시간 동안 반응시킨 후, 15000g, 25°C, 15분 조건에서 원심 분리하여 골드 나노막대를 얻었다.

[54] 도 4는 제조에 1에 따라 제조된 골드 나노막대를 촬영한 투과전자현미경 사진이다.

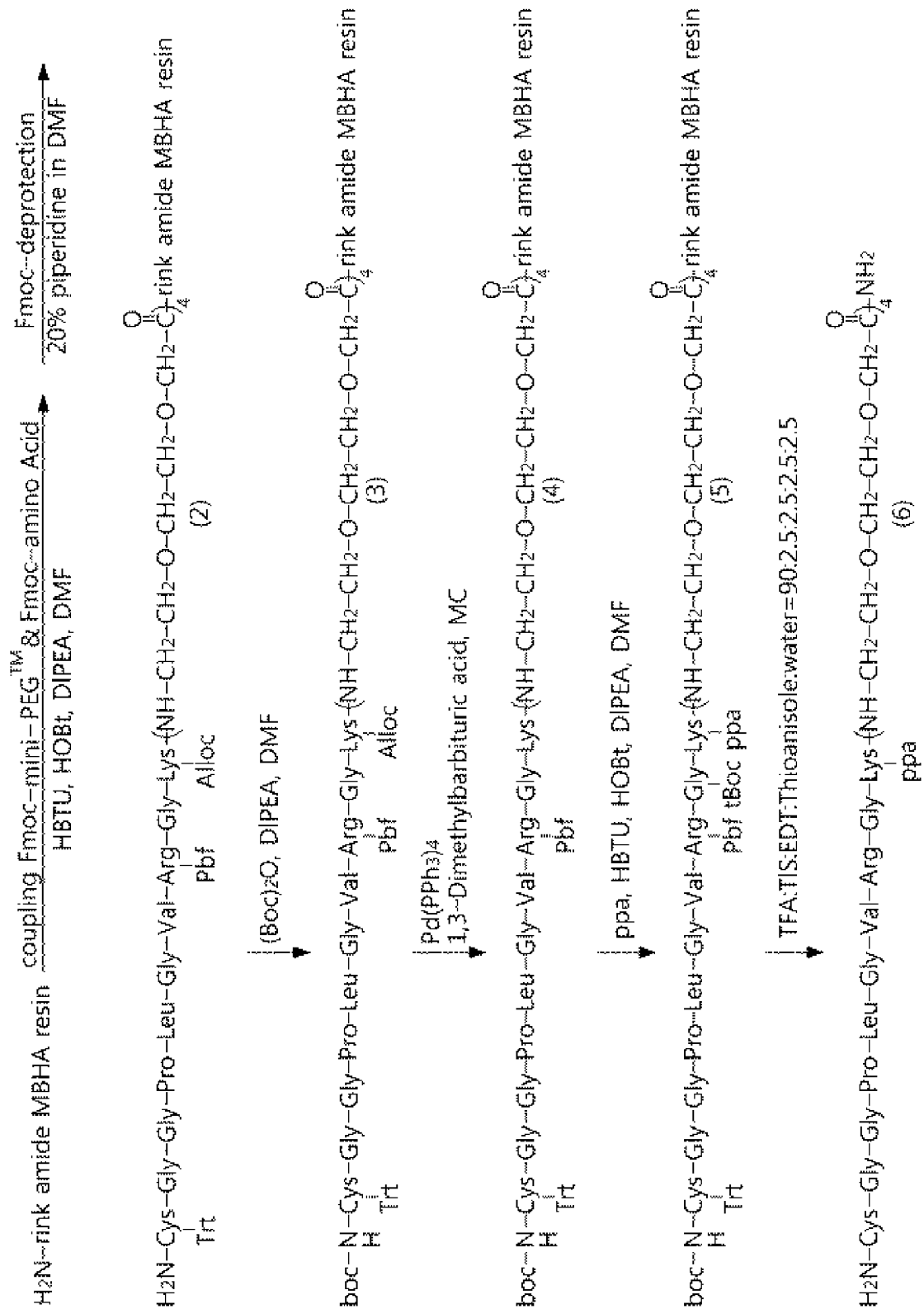
[55] 도 4를 참조하면, 평균 길이 34nm 및 너비 9nm인 골드 나노 막대가 형성됨을 알 수 있다.

[56]

[57] 제조에 2: 광감각제-폴리펩티드 결합체(MMP2 프로브) 제조

[58] [반응식 1]

[59]



- [60] 고체 지지상으로서의 링크 아마이드 MBHA 레진(rink amide MBHA resin), Fmoc-mini-PEGTM(PEPNET사, 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-8-Amino-3,6-Dioxaoctanoic Acid), 및 아미노기가 Fmoc(Fluorenylmethoxycarbonyl)기로 보호된 아미노산들을 사용하고, 통상적인

고체상 합성법(solid-phase synthesis)을 통해 (2)로 표시된 화합물을 얻었다. 구체적으로, (a) 20% 피페리딘 DMF(Dimethylformamide) 용액을 사용하여 Fmoc 탈보호, (b) Fmoc-mini-PEG™ 첨가, (c) DIPEA (N,N-Diisopropylethylamine), HOBT(Hydroxybenzotriazole), HBTU(O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate)를 포함하는 DMF 용액을 사용한 카르복시산 활성화 및 커플링을 반복적으로 4회 진행한 후, (d) 20% 피페리딘 DMF 용액을 사용하여 Fmoc 탈보호, (e) Fmoc-아미노산 첨가, (f) DIPEA, HOBT, 및 HBTU를 포함하는 DMF 용액을 사용한 카르복시산 활성화 및 커플링을 반복적으로 진행하여 (2)로 표시된 화합물을 얻었다. 상기 Fmoc-아미노산은 차례로, 잔기가 Alloc(allyloxycarbonyl)기로 보호된 리신인 Fmoc-Lys(Alloc), Fmoc-Gly, 잔기가 Pbf(pentamethyldihydro-benzofuran-5-sulfonyl)기로 보호된 아르기닌인 Fmoc-Arg(Pbf), Fmoc-Val, Fmoc-Gly, Fmoc-Leu, Fmoc-Pro, Fmoc-Gly, Fmoc-Gly, 잔기가 Trt(trityl)기로 보호된 Fmoc-Cys(Trt)이었다.

- [61] 화합물 (2)에 $(\text{Boc})_2\text{O}$ 과 DIPEA를 포함하는 DMF 용액을 첨가하여 화합물 (2)의 말단 아미노기를 Boc(t-butoxycarbonyl)기로 치환시켜, (3)의 화합물을 얻었다. 이후, 화합물 (3)에 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0))과 1, 3-디메틸바르비투르산(1,3-Dimethylbarbituric acid)을 포함하는 MC(Methylene Chloride)용액을 첨가하여 화합물 (3)의 리신의 잔기를 보호하는 Alloc를 탈보호시켜, (4)의 화합물을 얻었다. 이후, 화합물 (4)에 피로페오포르바이드 a(pyropheophorbide a, ppa), DIPEA, HOBT, 및 HBTU를 포함하는 DMF 용액을 첨가하여 화합물 (4)와 ppa를 커플링시켜 (5)의 화합물을 얻었다. 이후, 화합물 (5)에 TFA(Trifluoroacetic acid)/ TIS(triisopropylsilane)/ EDT(1,2-ethanedithiol)/ 티오아니졸(thioanisole)/ 물 (부피비 = 90:2.5:2.5:2.5:2.5)의 혼합물을 첨가하여 링크 아미드 MBHA 레진으로부터 (6)의 화합물을 절단시킨 혼합용액을 얻었다.
- [62] 얻어진 혼합용액을 디에틸에테르 용매를 과량처리하여 침전물을 생성시킨 후, 생성된 침전물을 원심분리시켜 완전히 침전시키고 과량의 TFA, TIS, EDT, 티오아니졸 등을 제거하는 절차를 2회 반복 진행하여 고형화된 침전물을 얻었다. 얻어진 침전물을 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여 정제하였다. 정제된 물질을 동결건조시켜 화합물 (6)인 광감각제-폴리펩티드 결합체 즉, MMP2 프로브(MMP2P)를 수득하였다.

[63]

- [64] 도 5는 제조예 2를 통해 제조된 MMP2 프로브의 HPLC 결과이며, 도 6는 제조예 2를 통해 제조된 MMP2 프로브의 질량 분석 결과이다.

- [65] 도 5 및 도 6를 참조하면, 제조예 2를 통해 제조된 MMP2 프로브는 약 98%의 순도를 나타내며, MMP2 프로브의 분자량은 2039g/mol인 것으로 확인되어 화합물 (6)이 생성된 것을 예측할 수 있다.

[66]

[67] 제조예 3: 광감각제-금속나노입자 복합체(MMP2P-GNR) 제조

[68] 제조예 1에서 제조된 골드 나노막대를 1ml의 증류수에 넣어 100nM의 농도의 골드 나노막대 분산액을 만들고, 여기에 제조예 2에서 제조된 MMP2 프로브를 1 mM의 농도로 녹인 수용액 200 μ l와 2mM K₂CO₃ 수용액 100 μ l를 첨가한 후, 실온에서 5일 동안 반응시켰다. 이 후, 증류수 상에서 분획분자량(MWCO)이 50,000인 여과막을 사용하여 투석하여 골드 나노막대와 반응에 참여하지 않은 MMP2 프로브를 제거하여, 골드 나노막대에 광감각제-폴리펩티드 결합체가 연결된 광감각제-금속나노입자 복합체 용액 즉, MMP2P-GNR을 얻었다.

[69]

[70] 도 7는 제조예 1에 따라 제조된 골드 나노막대들의 UV/Vis 흡수 스펙트럼이다.

[71] 도 7를 참조하면, 최대 흡수 파장이 약 750nm이었으며, 피로페오포르바이드 a의 형광 파장인 650 내지 780nm 영역대에서 강한 흡수 스펙트럼을 갖고 있음을 알 수 있다.

[72] 도 8는 제조예 3에 따른 광감각제-금속나노입자 복합체(MMP2P-GNR)의 UV/Vis 흡수 스펙트럼이다.

[73] 도 7 및 도 8를 참조하면, 제조예 1에 따른 골드 나노막대의 UV/Vis 흡수 스펙트럼(도 7)과 비교할 때, 제조예 3에 따른 광감각제-금속나노입자 복합체의 UV/Vis 흡수 스펙트럼(도 8)은 광감각제에 의한 흡수피크인 387nm(F₁, Soret 밴드)와 670nm(F₂, Q 밴드)에서 추가적인 흡수 피크를 나타낸다. 도 8의 UV/Vis 흡수 스펙트럼 분석으로부터 투석 후 얻어진 광감각제-금속나노입자 복합체 수용액 내의 광감각제 농도가 75 μ M 당량임이 확인되었다.

[74]

[75] 분석예 1: 광감각제-금속나노입자 복합체(MMP2P-GNR)의 형광 활성화 분석

[76] MMP2를 과발현하는 암 세포주인 HT1080 섬유육종과 MMP2를 저발현하는 세포주인 BT20 유선암(mammary adenocarcinoma)를 (참조: Bremer C et al., Nature Medicine 7(6) 743-748, 2001) 세포배양 용기(LebTek II Chambered coverglass)에 웰당 9만개씩 시딩한 후, 24 시간 동안 배양하였다. 이 후에 세포 배양액을 이용하여 제조예 2에 따른 광감각제-금속나노입자 복합체 용액을 광감각제가 5 μ M 당량으로 포함되도록 희석시켜 웰당 600 μ l씩 첨가 후, 15시간 동안 37°C의 인큐베이터에 두었다. 이 후, 상기 복합체가 포함된 세포 배양액을 제거하고, 새로운 세포 배양액으로 세포를 3번 세정 후, 컨포컬 현미경으로 형광을 관찰하였다(Ex. 405nm, Em. 646-753nm).

[77]

[78] 도 9 및 도 10는 각각 광감각제-금속나노입자 복합체로 처리된 HT1080 세포주와 BT20 세포주의 형광을 촬영한 사진들이다.

[79] 도 9 및 도 10를 참조하면, MMP2를 저발현하는 세포주인 BT20에 비해 MMP2를 과발현하는 암 세포주인 HT1080에서 훨씬 강한 형광이 발생하는 것을 알 수 있다. 이러한 결과로부터, MMP2로 인해 광감각제-금속나노입자 복합체의

폴리펩티드가 분해되면서 광감각제가 금속나노입자로부터 분리되고, 분리된 광감각제가 형광을 강하게 나타냄을 알 수 있다. 따라서, 상기 광감각제-금속나노입자 복합체를 환자에 투여하고 광조사에 따른 형광을 측정하는 경우, MMP2가 과발현되는 조직의 위치를 보다 정확하게 진단할 수 있음을 알 수 있다.

[80]

[81] 분석예 2: 광역학 치료 후 세포 생존 분석

[82] <분석예 2-1: 세포주 HT1080에 대한 분석>

[83] HT1080 (MMP2+)를 9,000 세포들/웰의 농도로 96 웰 플레이트에 시딩하였다. 다음날 세포 배양액을 이용하여 제조예 2에 사용된 광감각제-폴리펩티드 결합체와 제조예 2에서 제조된 광감각제-금속나노입자 복합체를 희석하여 최종농도가 광감각제 5uM 당량인 MMP2 프로브 (MMP2P) 용액과 광감각제-금속나노입자 복합체 (MMP2P-GNR) 용액을 제조하고, 일부 웰들에 웰당 200 μ l 씩 첨가 한 후, 37°C 에서 15시간 동안 두었다. 한편, 대조군은 광감각제가 함유되어 있지 않은 새로운 세포 배양액을 동일한 부피 첨가 하였다. 이 후에 세포배양액을 이용하여 2번 세척후에 광역학치료(PDT) 처리 그룹은, 670nm레이저를 이용하여 조사 선량밀도 40mW/cm² 및 선량 10J/cm²의 조건에서 광역학 치료를 시행하였다. 24시간 후에 MTT 분석을 시행하여 세포 생존율을 측정하였다.

[84]

[85] <분석예 2-2: 세포주 BT20에 대한 분석>

[86] BT20 (MMP2-)를 9,000 세포들/웰의 농도로 96 웰 플레이트에 시딩하였다. 다음날 세포 배양액을 이용하여 제조예 2에 사용된 광감각제-폴리펩티드 결합체와 제조예 2에서 제조된 광감각제-금속나노입자 복합체를 희석하여 최종농도가 광감각제 5uM 당량인 MMP2 프로브 (MMP2P) 용액과 광감각제-금속나노입자 복합체 (MMP2P-GNR) 용액을 제조하고, 일부 웰들에 웰당 200 μ l 씩 첨가 한 후, 37°C 에서 15시간 동안 두었다. 한편, 대조군은 광감각제가 함유되어 있지 않은 새로운 세포 배양액을 동일한 부피 첨가 하였다. 이 후에 세포배양액을 이용하여 2번 세척후에 광역학치료(PDT) 처리 그룹은, 670nm레이저를 이용하여 조사 선량밀도 40mW/cm² 및 선량 10J/cm²의 조건에서 광역학 치료를 시행하였다. 24시간 후에 MTT 분석을 시행하여 세포 생존율을 측정하였다.

[87] 상기 분석예들 2-1 및 2-2에서 분석한 그룹별 조건을 나타내었다.

[88] 표 1

세포주	조건 명칭	조건	
		세포주 처리조건	광역학 치료여부
HT1080	Media Control	세포 배양액	×
	(MMP2P-GNR) - PDT	광감각제-금속나노입자 복합체	×
	(MMP2P) - PDT	광감각제-폴리펩티드 결합체	×
	(MMP2P-GNR) + PDT	광감각제-금속나노입자 복합체	○
	(MMP2P) + PDT	광감각제-폴리펩티드 결합체	○
BT20	Media Control	세포 배양액	×
	(MMP2P-GNR) - PDT	광감각제-금속나노입자 복합체	×
	(MMP2P) - PDT	광감각제-폴리펩티드 결합체	×
	(MMP2P-GNR) + PDT	광감각제-금속나노입자 복합체	○
	(MMP2P) + PDT	광감각제-폴리펩티드 결합체	○

[89]

[90] 도 11 및 도 12는 각각 분석예들 1-1 및 1-2에 따른 조건별 세포 생존율을 나타낸 그래프이다.

[91] 도 11 및 도 12를 참조하면, 광감각제-폴리펩티드 결합체 처리한 후 광역학 치료를 시행한 경우(MMP2P+PDT)에는 HT1080 세포주 및 BT20 세포주 모두에서 낮은 세포 생존율을 나타내어 높은 광독성을 나타낸 것을 알 수 있다. 그러나, 광감각제-폴리펩티드 결합체를 금속나노입자에 결합시킨 광감각제-금속나노입자 복합체를 처리한 후 광역학 치료를 시행한 경우(MMP2P-GNR+PDT)에는 HT1080 세포주는 16% 세포 생존율을 보인 반면 BT20 세포주는 63%의 세포 생존율을 보였다. 이로부터 광감각제-금속나노입자 복합체의 광독성 유발력이 MMP2에 의해서 선택적으로 활성화된 것을 알 수 있다. 다시 말해서, 상기 광감각제-금속나노입자 복합체는 MMP2가 과발현되는 조직에서만 광독성이 유발되고, MMP2가 저발현되는 조직, 예를 들어 정상조직에서는 광독성이 유발되지 않음을 알 수 있다. 결론적으로, 상기 광감각제-금속나노입자 복합체를 환자에 투여하고 광역학치료를 시행하는 경우, MMP2가 과발현되는 조직만을 선택적으로 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[92] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예를 설명하였지만, 본 발명이

속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

- [청구항 1] 광감각제;
금속나노입자; 및
상기 광감각제와 상기 금속나노입자를 연결하고 단백분해효소에 의해 특이적으로 분해될 수 있는 폴리펩티드 기질을 구비하는 백분을 포함하는 광감각제-금속나노입자 복합물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 폴리펩티드 기질은 RPLALWRS(서열번호 1),
GGLGQRGRSANAILE(서열번호 2), GVSQNYPIVG(서열번호 3),
LVLASSSFGY(서열번호 4), PLGMWSR(서열번호 5),
PGNWT(서열번호 6), PAGLLGC(서열번호 7),
LGGSGRSANAILE(서열번호 8), RR, RRG, GPICFFRLG (서열번호 9), HSSKLQG (서열번호 10), PIC(Et)FF (서열번호 11), HSSKLQ (서열번호 12), P(L/Q)G(I/L)AG (서열번호 13), GVVQASCRLA (서열번호 14), KK, PLGVRG(서열번호 15), 또는 LR을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 광감각제-금속나노입자 복합물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 폴리펩티드 기질은 카텝신류(cathepsins), MMP류(Matrix metalloproteinases), 막 유형의 MMP류, 콜라게나아제류(collagenases), 젤라티나아제류(gelatinases), 스트로멜리신류(stromelysins), 유로키나제-형 플라스미노겐 활성화제 (urokinase-type plasminogen activator, uPA), 카스파아제류(caspases), 바이러스성 단백분해효소류(viral proteases), HIV 단백분해효소류(HIV proteases), HSV 단백분해효소류(HSV proteases), 젤라틴분해효소(gelatinase), 유로키나아제(urokinases), 세크리타아제류(secretases), 엔도솜 가수분해효소(endosomal hydrolase), PSA(Prostate Specific Antigen), 플라스미노겐 활성화제(plasminogen activator), CMV (Cytomegalovirus) 단백분해효소, 및 트롬빈(thrombin)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 단백분해효소에 의해 특이적으로 잘라지는 것인 광감각제-금속나노입자 복합물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 백분은 상기 폴리펩티드 기질과 상기 금속나노입자를 연결하는 제1 연결자와 상기 폴리펩티드 기질과 상기 광감각제를 연결하는 제2 연결자 중 적어도 하나를 더 포함하는 광감각제-금속나노입자 복합물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,

[청구항 6]

상기 제1 연결자는 티올기를 갖는 시스테인(Cystein), 또는 시스테인을 포함하는 폴리펩티드, 또는 측쇄 또는 주쇄에 티올기를 갖는 알킬렌(alkylene)인 광감각제-금속나노입자 복합물. 제4항에 있어서,

[청구항 7]

상기 제2 연결자는 측쇄에 아민기를 함유하는 리신(lysine), 또는 리신을 포함하는 폴리펩티드, 또는 측쇄 또는 주쇄에 아민기를 갖는 알킬 또는 알킬렌이고, 상기 광감각제는 치환기로서 카르복실기를 갖는 것인 광감각제-금속나노입자 복합물. 제1항에 있어서,

[청구항 8]

상기 광감각제는 유리 염기(free base) 또는 금속 착물(metal complex) 형태의 포르피린 기반(porphyrin-based) 화합물, 또는 비포르피린(nonporphyrin) 화합물인 광감각제-금속나노입자 복합물. 제7항에 있어서,

[청구항 9]

상기 광감각제는 피로페오포르바이드 a(pyropheophorbide a)인 광감각제-금속나노입자 복합물. 제1항에 있어서,

[청구항 10]

상기 금속나노입자는 금, 은, 구리, 백금, 팔라듐, 니켈, 철, 또는 이들 중 둘 이상의 혼합금속을 함유하는 광감각제-금속나노입자 복합물. 제9항에 있어서,

[청구항 11]

상기 금속 나노입자의 형태는 구(sphere)형, 막대(rod)형, 피라미드(pyramid)형, 별 모양(star-shaped), 코어-셸 (core-shell) 형태인 광감각제-금속나노입자 복합물. 제1항에 있어서,

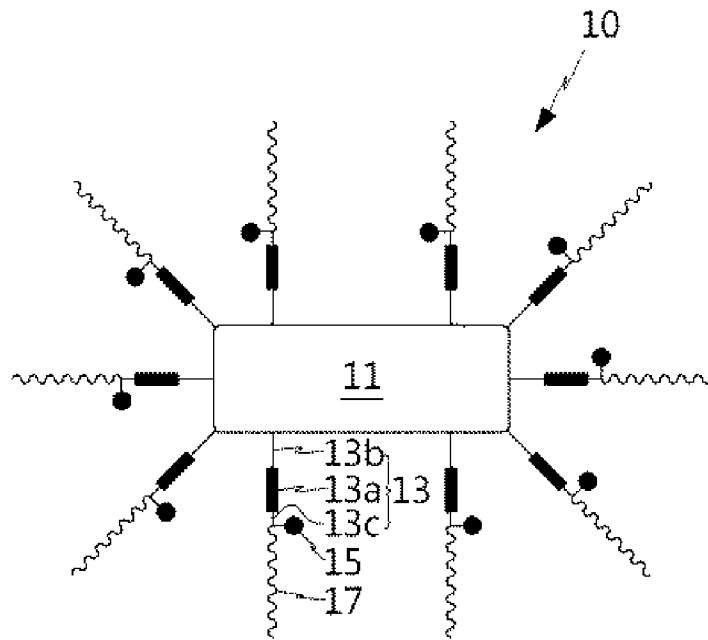
[청구항 12]

상기 백분의 상기 광감각제에 인접한 단부에 연결된 친수성 고분자를 더 포함하는 광감각제-금속나노입자 복합물. 제11항에 있어서, 상기 친수성 고분자는 폴리에틸렌글리콜(PEG); 메톡시폴리에틸렌글리콜(MPEG); 메톡시폴리프로필렌 글리콜; 폴리에틸렌글리콜과 메톡시폴리프로필렌글리콜의 공중합체; 덱스트란(dextran); 히알루론산 (hyaluronic acid); 폴리락틱-폴리글리콜릭 산 공중합체; 폴리에틸렌글리콜-이산(polyethylene glycol-diacid); 폴리에틸렌글리콜 모노아민; 메톡시폴리에틸렌글리콜 모노아민; 메톡시폴리에틸렌글리콜 하이드라자이드; 메톡시폴리에틸렌글리콜 이미다졸; 또는 폴리에틸렌글리콜,

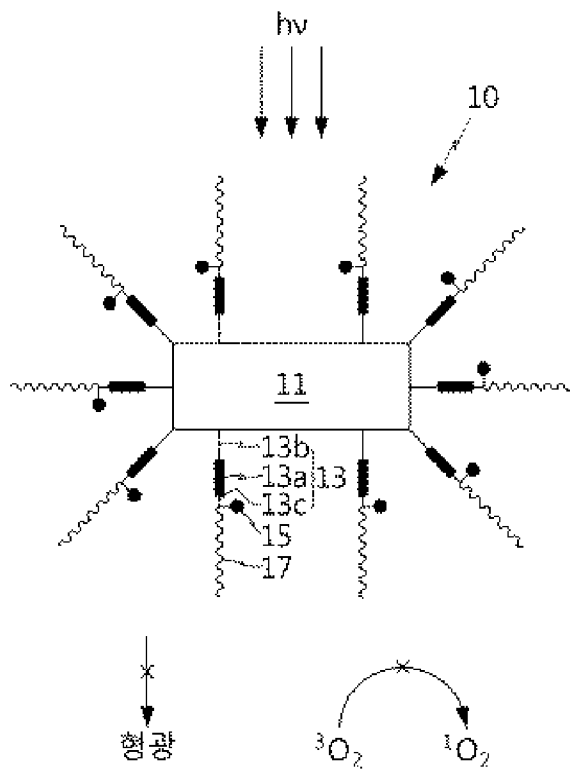
[청구항 13]

메톡시폴리프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜-이산,
 폴리에틸렌글리콜 모노아민, 메톡시폴리에틸렌글리콜 모노아민,
 메톡시폴리에틸렌글리콜 하이드라자이드, 및
 메톡시폴리에틸렌글리콜 이미다졸 중 둘 이상의 공중합체; 또는
 폴리에틸렌글리콜과 폴리펩티드, 폴리에틸렌글리콜과
 다당류(polysaccharide), 폴리에틸렌글리콜과 폴리아미도아민,
 폴리에틸렌글리콜과 폴리에틸렌아민 또는 폴리에틸렌글리콜과
 폴리뉴클레오티드의 공중합체인 광감각제-금속나노입자 복합물.
 제1항에 있어서,
 상기 광감각제-금속나노입자 복합물은 하기 화학식 1로 표시되는
 광감각제-금속나노입자 복합물.
 [화학식 1]

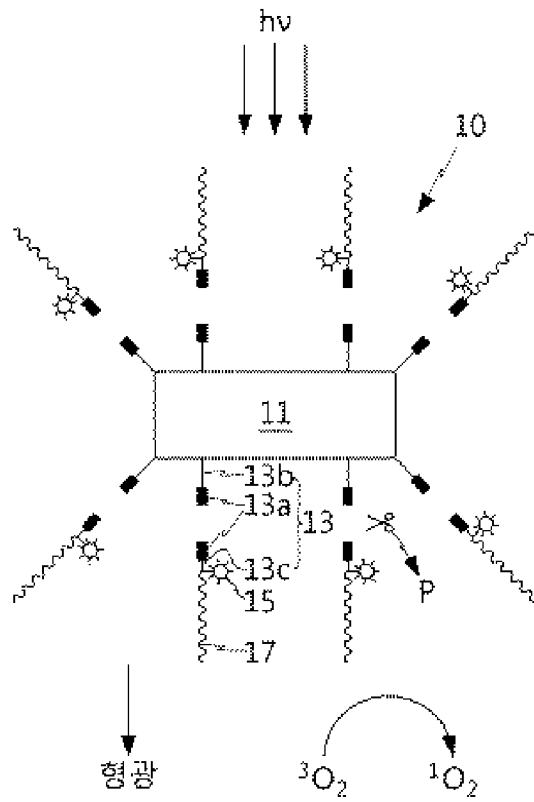
[Fig. 1]



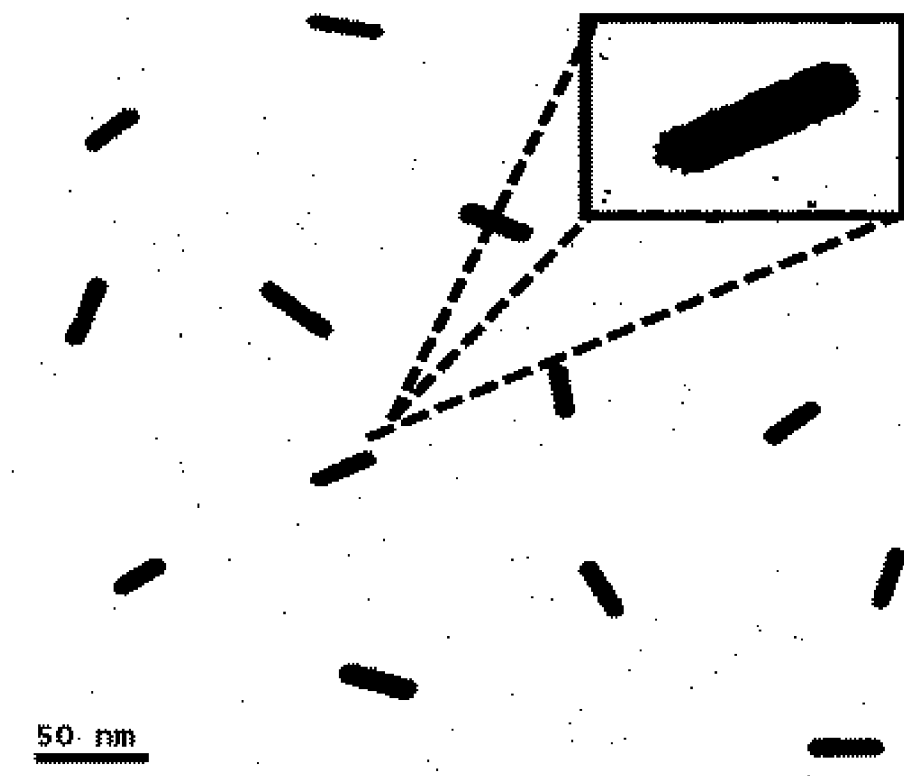
[Fig. 2]



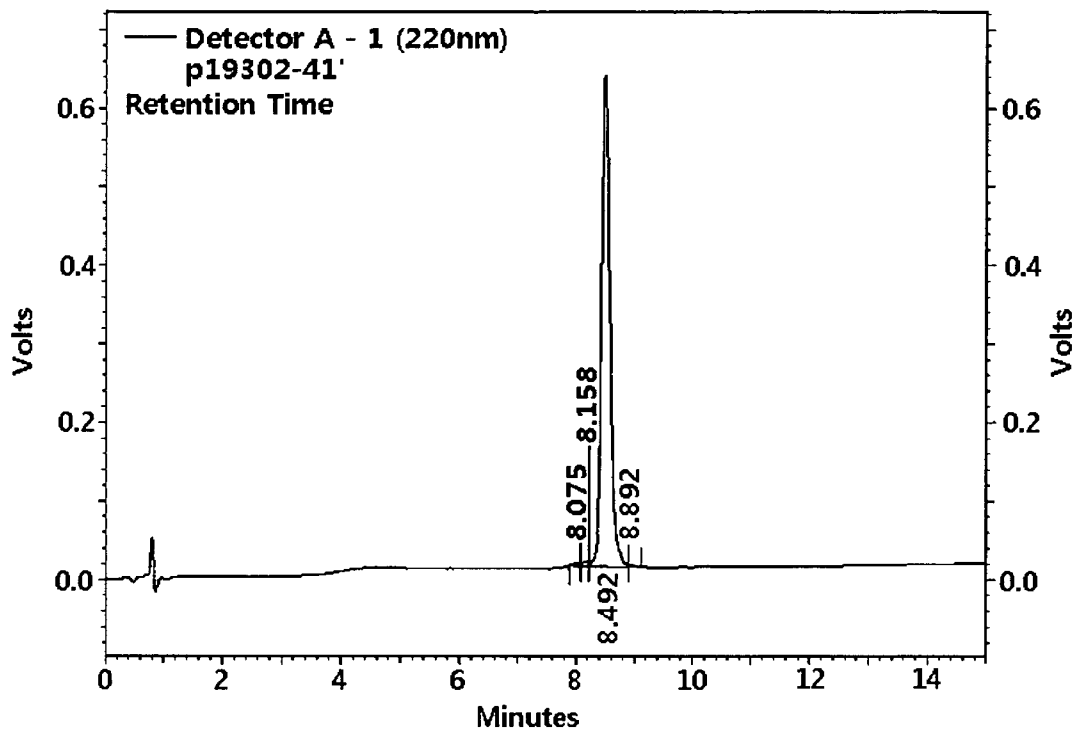
[Fig. 3]



[Fig. 4]

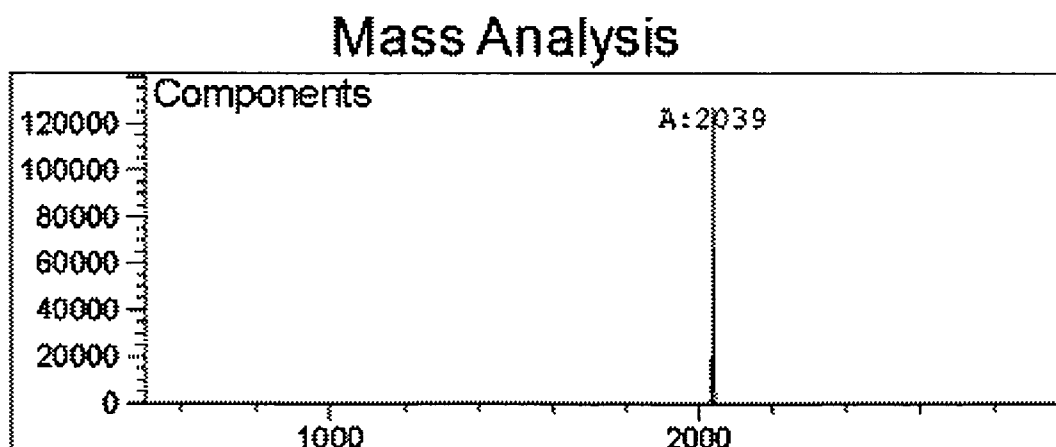


[Fig. 5]

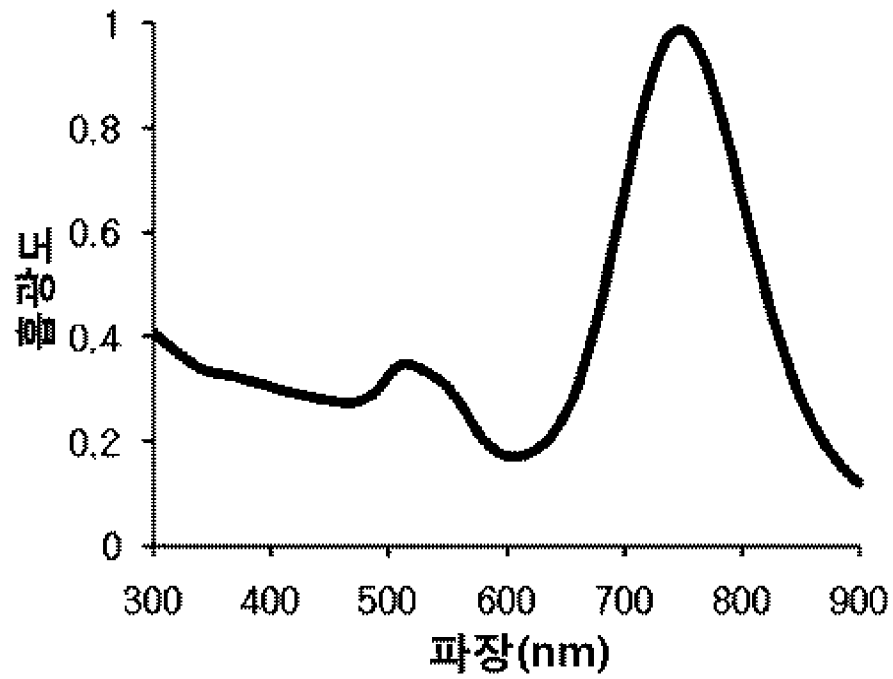


Detector A - 1 (220nm)					
Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	8.075	23884	0.382	3568	0.561
2	8.158	36059	0.577	4287	0.674
3	8.492	6166717	98.699	624703	98.193
4	8.892	21324	0.341	3642	0.572
Totals		6247984	100.000	636200	100.000

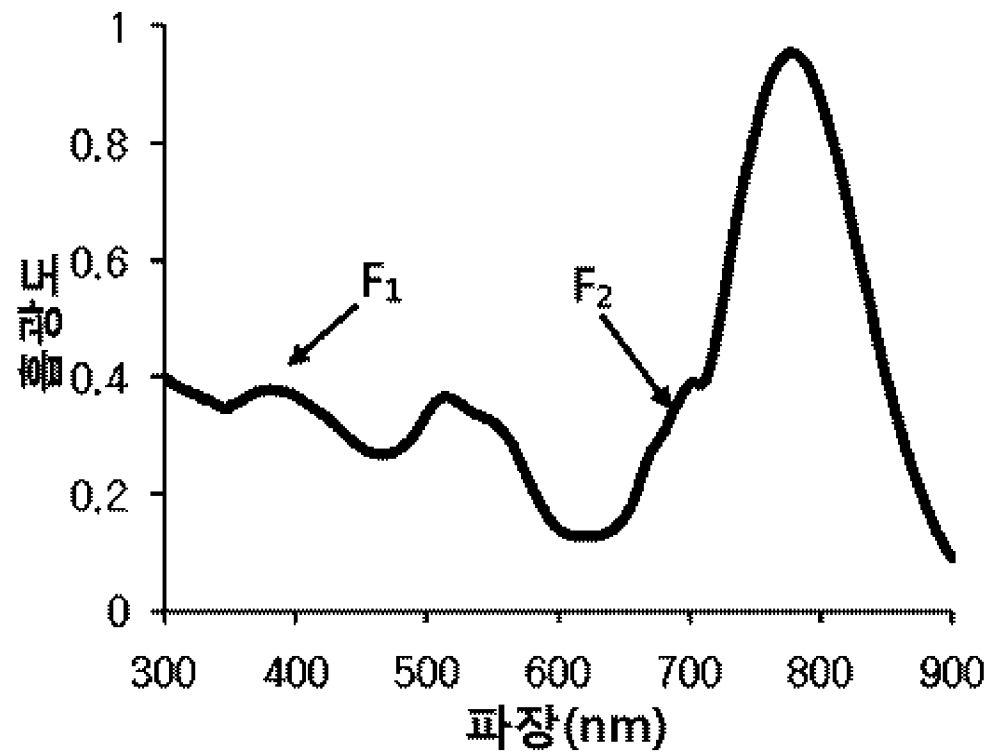
[Fig. 6]



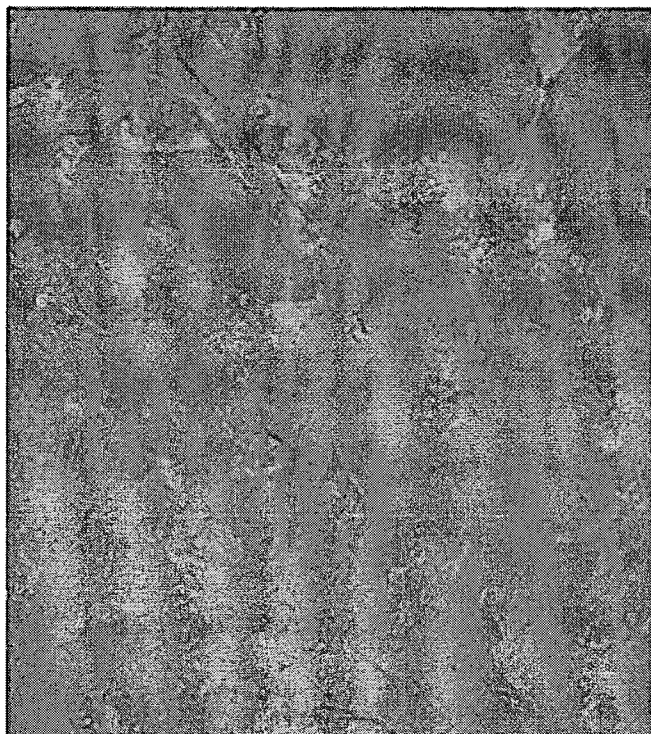
[Fig. 7]



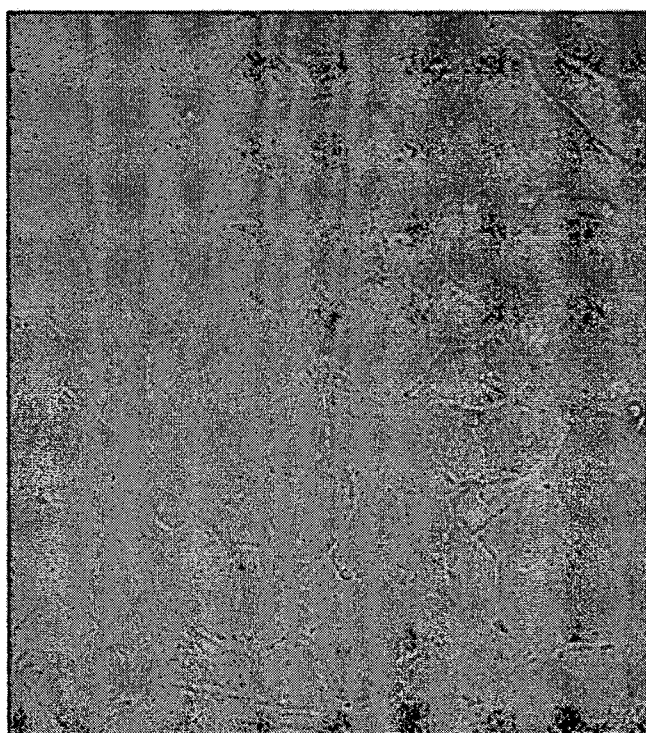
[Fig. 8]



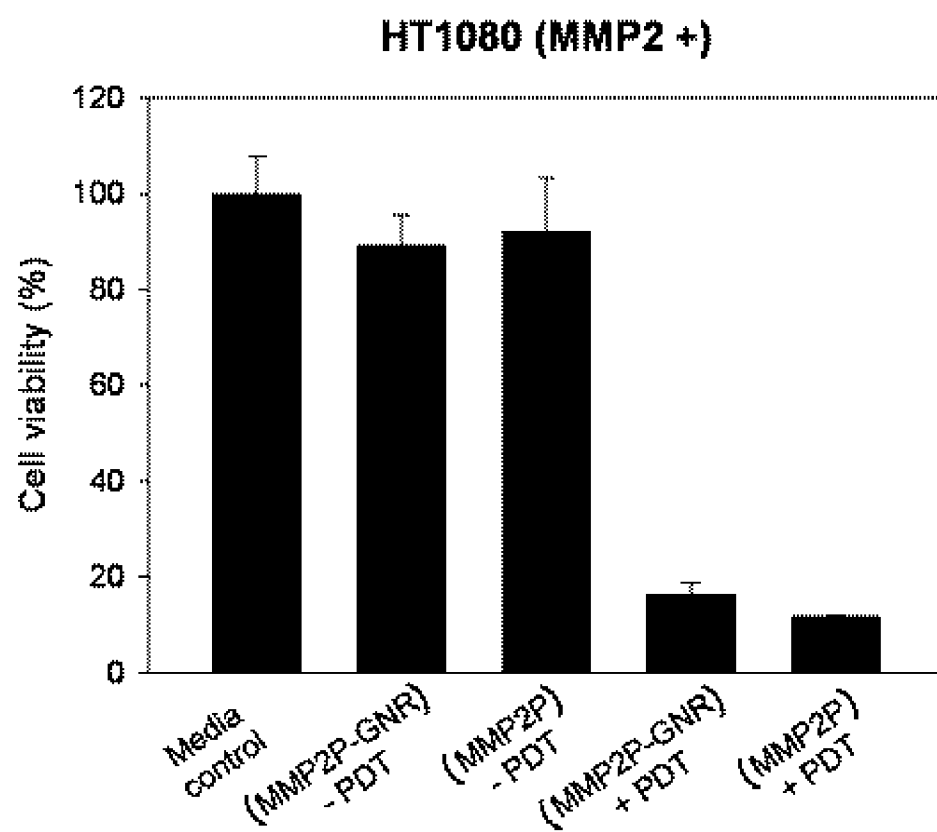
[Fig. 9]

HT1080 (MMP2 +)

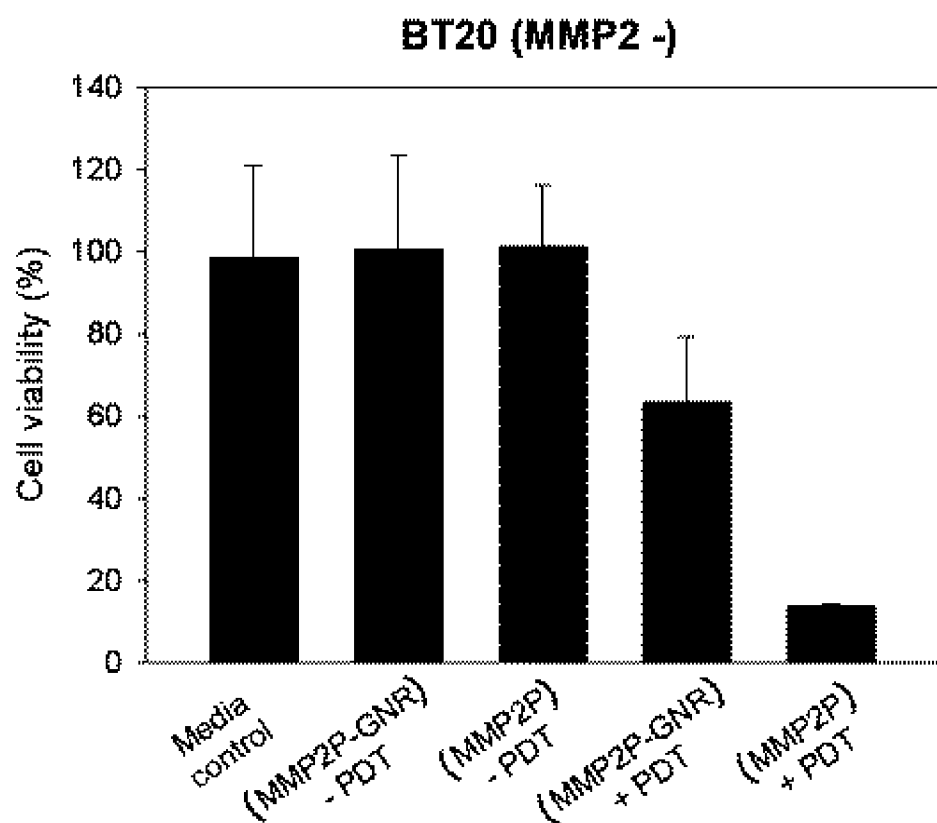
[Fig. 10]

BT20 (MMP2 -)

[Fig. 11]



[Fig. 12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2009/005763**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****A61K 49/00(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61K 33/24(2006.01)i, A61K 47/48(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 49/00; A61K 51/00; C12Q 1/68

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) & Google Scholar

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LAW, BENEDICT et al, Proteolysis: A Biological Process Adapted in Drug Delivery, Therapy, and Imaging, Bioconjugate Chemistry, 2009, Vol. 20, No. 8, pages 1683-1695. (Publication Date(Web) : 3 September 2009) See the entire document.	1-14
A	PARK, KYEONGSOON et al, New Generation of Multifunctional Nanoparticles for Cancer Imaging and Therapy, Advanced Functional Materials, 2009, No. 19, pages 1553-1566. (Publication Date(Web) : 14 April 2009) See the entire document.	1-14
A	BECHET, DENISE et al, Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents, Cell, 2008, Vol. 26, No. 11, pages 612-621. See the entire document.	1-14
A	KR 10-2003-0038814 A (TARGESOME, INC.) 16 May 2003 See the entire document.	1-14
A	KR 10-2006-0135719 A (INTEL CORPORATION) 29 December 2006 See the entire document.	1-14



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

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"I" 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

16 JULY 2010 (16.07.2010)

Date of mailing of the international search report

20 JULY 2010 (20.07.2010)

Name and mailing address of the ISA/

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2009/005763

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
KR 10-2003-0038814 A	16.05.2003	AU 2002-11649 A1	22.04.2002
		EP 1330268 A1	30.07.2003
		JP 2004-510830 A	08.04.2004
		WO 02-30473 A1	18.04.2002
KR 10-2006-0135719 A	29.12.2006	CN 1950516 A	18.04.2007
		CN 1950516 A	18.04.2007
		CN 1950516 C0	18.04.2007
		EP 1711625 A2	18.10.2006
		JP 2007-522799 A	16.08.2007
		US 2005-147981 A1	07.07.2005
		US 7381529 B2	03.06.2008
		WO 2005-066368 A2	21.07.2005
		WO 2005-066368 A3	21.07.2005

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 49/00(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61K 33/24(2006.01)i, A61K 47/48(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 49/00; A61K 51/00; C12Q 1/68

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) & Google Scholar

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	LAW, BENEDICT 외 1명, Proteolysis: A Biological Process Adapted in Drug Delivery, Therapy, and Imaging, Bioconjugate Chemistry, 2009, 제20권, 제8호, 페이지 1683-1695. (웹공개일자: 2009.9.3) 논문 전체 참고.	1-14
A	PARK, KYEONGSOON 외 5명, New Generation of Multifunctional Nanoparticles for Cancer Imaging and Therapy, Advanced Functional Materials, 2009, 제19호, 페이지 1553-1566. (웹공개일자: 2009.4.14) 논문 전체 참고.	1-14
A	BECHET, DENISE 외 5명, Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents, Cell, 2008, 제26권, 제11호, 페이지 612-621. 논문 전체 참고.	1-14
A	KR 10-2003-0038814 A (타게숨, 인크.) 2003.05.16 명세서 전체 참고.	1-14
A	KR 10-2006-0135719 A (인텔 코포레이션) 2006.12.29 명세서 전체 참고.	1-14

☐ 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

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2010년 07월 16일 (16.07.2010)

국제조사보고서 발송일

2010년 07월 20일 (20.07.2010)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

 대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 선사로 139,
정부대전청사
팩스 번호 82-42-472-7140

심사관

김은희

전화번호 82-42-481-5590



제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.

a. 출원시 또는 추후 제출된 서열목록

☐

서면

☒

전자적 형태

b. 제출시기

☒

출원시 국제출원에 포함

☐

전자적 형태로 국제출원과 함께 제출

☐

조사를 위해 본 기관에 추후 제출

2. ☐ 추가로 서열목록에 대하여 하나 이상의 버전이나 사본이 제출된 경우, 후속 버전 또는 추가된 사본에 기재되어 있는 정보가 출원시의 정보와 동일하거나 또는 출원시의 개시범위를 벗어나지 않는다는 진술서가 제출되었습니다.

3. 추가 의견:

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2003-0038814 A

2003.05.16

AU 2002-11649 A1

2002.04.22

EP 1330268 A1

2003.07.30

JP 2004-510830 A

2004.04.08

WO 02-30473 A1

2002.04.18

KR 10-2006-0135719 A

2006.12.29

CN 1950516 A

2007.04.18

CN 1950516 A

2007.04.18

CN 1950516 C0

2007.04.18

EP 1711625 A2

2006.10.18

JP 2007-522799 A

2007.08.16

US 2005-147981 A1

2005.07.07

US 7381529 B2

2008.06.03

WO 2005-066368 A2

2005.07.21

WO 2005-066368 A3

2005.07.21