



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0125007
(43) 공개일자 2019년11월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 41/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 41/0057 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2018-0049193

(22) 출원일자 2018년04월27일

심사청구일자 2018년04월27일

(71) 출원인

울산과학기술원

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

(72) 발명자

권태혁

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

이채현

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

(74) 대리인

특허법인 무한

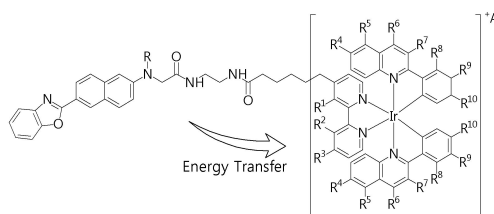
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 광감각제, 광감각제를 포함하는 조성물 및 광역동 치료 방법

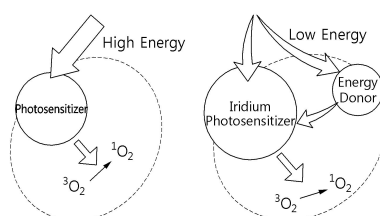
(57) 요약

본 발명은, 하기의 화학식 1로 표시되는 화합물인 광감각제, 광감각제를 포함하는 조성물 및 광역동 치료 방법에 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1

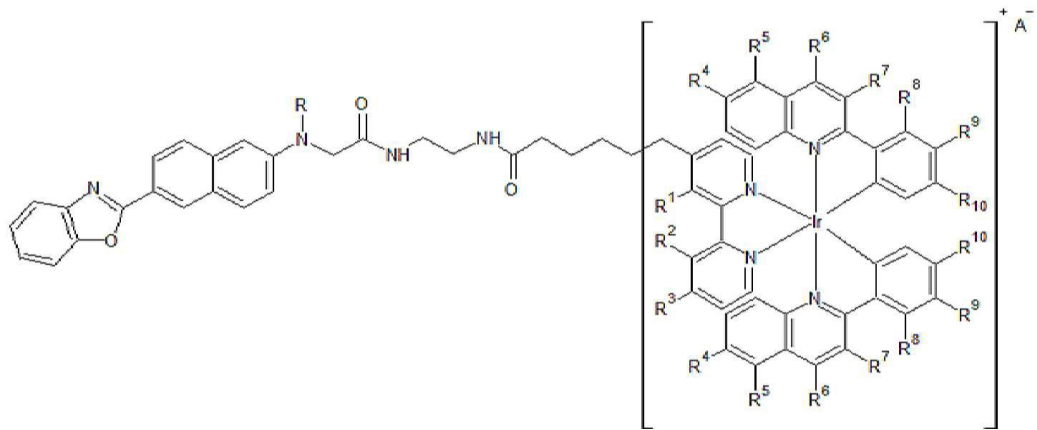


(a)



(b)

관한 것이다.



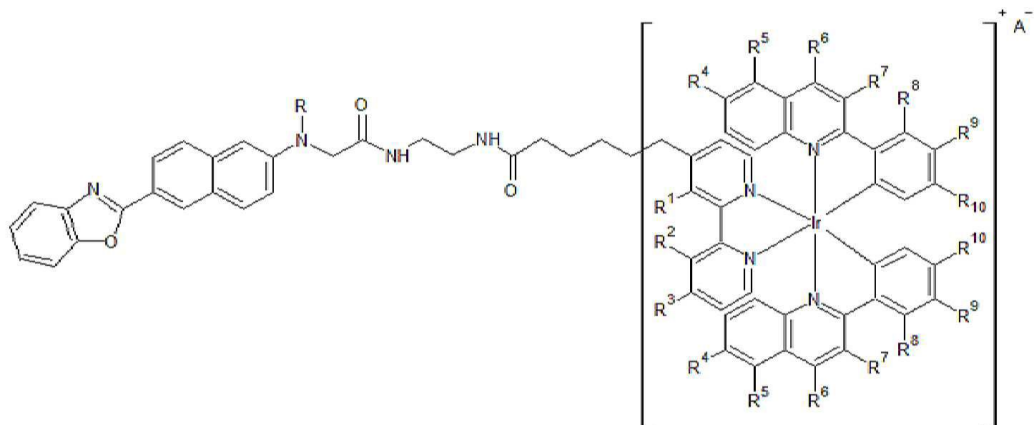
(여기서, R, R¹ 내지 R¹⁰ 및 A는 청구항 제1항에서 정의된 바와 같다.)

명세서

청구범위

청구항 1

하기의 화학식 1로 표시되는 화합물인, 광감각제.



(여기서, R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 할로젠, 아미드, 시아노, 하이드록실, 니트로, 아실, 탄소수 1 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알케닐, 탄소수 2 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알키닐, 탄소수 1 내지 30의 알콕시, 탄소수 1 내지 30의 알킬카보닐 및 탄소수 2 내지 20의 아릴에서 선택되고,

A는 할로젠, BF₄, BPh₄, PF₆, PCl₆, OAc, OTf, NO₃, ClO₄, SO₄, SCN, SbF₆ 및 NTf₂에서 선택된다.)

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 탄소수 1 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄 알케닐 및 탄소수 2 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄 알키닐에서 선택되는 것인, 광감각제.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 탄소수 1 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄 알케닐 및 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄 알키닐에서 선택되는 것인, 광감각제.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 광감각제는, 200 J/cm² 이하의 빛 에너지의 조사에서 활성산소를 생성하는 것인, 광감각제.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 광감각제는, 10 J/cm^2 이하의 빛 에너지의 조사에서 활성산소를 생성하는 것인, 광감각제.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 광감각제는, 500 nm 내지 600 nm 파장 영역의 발광 특성 및 이광자 흡수 특성을 갖는 것인, 광감각제.

청구항 7

제1항의 광감각제 중 1종 이상을 포함하는 유효 성분; 및

약제학적으로 허용되는 담체;

를 포함하는,

조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 조성물은, 광역동 치료용인 것인, 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 조성물은, 암 치료용인 것인, 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 조성물은, 흑색종, 피부암, 대장암, 췌장암, 담도암, 신경내분비종양, 폐암, 유방암, 난소암, 간암, 기관지암, 비인두암, 후두암, 위암, 방광암, 결장암, 자궁경부암, 뇌암, 전립선암, 골암, 두경부암, 갑상선암, 부갑상선암 및 요관암 치료용인 것인, 조성물.

청구항 11

제7항의 광역동 치료를 위한 조성물을 대상체에 투여하는 단계;

상기 투여하는 조성물이 대상체의 목표 세포 내에 축적되기 위한 소정의 시간을 허용하는 단계; 및

상기 대상체의 목표 세포 부위에 빛 에너지를 조사하는 단계;

를 포함하는,

광역동 치료 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 조사하는 단계는, 10초 이상 동안 총 200 J/cm^2 이하의 빛 에너지를 조사하는 것인, 광역동 치료 방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 투여하는 단계는, 경구적 또는 비경구적 방법으로 투여하는 것인, 광역동 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 광감각제, 광감각제를 포함하는 조성물 및 광역동 치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 광역동 치료는 광화학 반응을 이용하여 암 환자의 고통을 최소한으로 줄일 수 있는 치료법으로, 광감각제를 환자에 투여 후 빛을 암 조직에 조사하여 광감각제가 광화학 반응을 통해 활성산소종(Reactive oxygen species)을 생성함으로써 암세포의 생체분자를 산화시켜 사멸시키는 방법이다. 이 방법의 경우 환자의 체력적 부담이 적어 1개월 내 재치료가 가능하며, 기존 암 치료법과 병행하는 것 또한 가능하다.

[0003] 일반적으로 실제 광역동 치료에 사용되는 광감각제인 'Photofrin'과 'Radachlorin'은 포피린 염료(Porphyrin dye)를 기반으로 합성되며, 이 염료는 수계에서 활성산소종 생산 효율이 현저히 낮으므로 광역동 치료를 위해서 매우 강한 빛 에너지($> 200\text{--}300 \text{ J/cm}^2$)를 가해야 한다.

[0004] 따라서, 강한 빛 에너지에 의한 부작용, 레이저 조사시간을 최소화하기 위해서 수계에서 매우 높은 활성산소종 생산 효율을 보이는 이리듐 복합체가 광역동 치료의 광감각제로 많이 연구되고 있으나, 이리듐 복합체는 청색(400-450nm)에서 흡광 영역을 가지며 흡광계수가 매우 낮으므로 높은 활성산소종 생산 효율에 비해 절대적으로 낮은 활성산소 생산량을 가진다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 전술한 바와 같은 문제점을 해결하기 위한 것으로, 암 세포에 대한 선택적 결합 및 낮은 광 에너지에서 암 세포 사멸성이 우수한 광감각제를 제공하는 것이다.

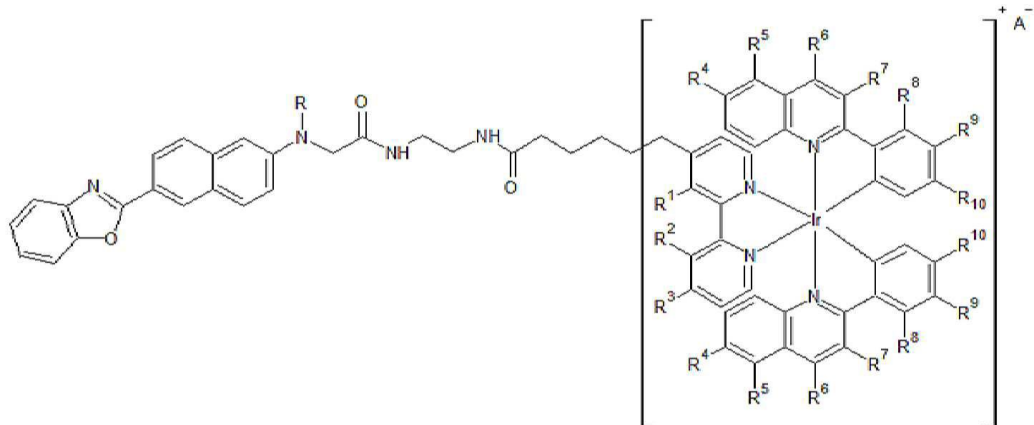
[0006] 본 발명은, 본 발명에 의한 광감각제를 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명은, 본 발명에 의한 조성물을 이용하는 광역동 치료 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 일 실시예에 따라, 하기의 화학식 1로 표시되는 화합물인, 광감각제에 관한 것이다.



[0010]

[0011] 여기서, R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 할로젠, 아미드, 시아노, 하이드록실, 니트로, 아실, 탄소수 1 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알케닐, 탄소수 2 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알키닐, 탄소수 1 내지 30의 알콕시, 탄소수 1 내지 30의 알킬카보닐 및 탄소수 2 내지 20의 아릴에서 선택되고, A는 할로젠, BF₄, BPh₄, PF₆, PCl₆, OAc, OTf, NO₃, ClO₄, SO₄, SCN, SbF₆ 및 NTf₂에서 선택된다.

[0012] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 탄소수 1 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄의 알케닐 및 탄소수 2 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄의 알키닐에서 선택되는 것일 수 있다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 탄소수 1 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄의 알킬, 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄의 알케닐 및 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄의 알키닐에서 선택되는 것일 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 광감각제는, 200 J/cm² 이하의 빛 에너지의 조사에서 활성산소를 생성하는 것일 수 있다.

[0015] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 광감각제는, 10 J/cm² 이하의 빛 에너지의 조사에서 활성산소를 생성하는 것일 수 있다.

[0016] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 광감각제는, 500 nm 내지 600 nm 파장 영역의 발광 특성 및 이광자 흡수 특성을 갖는 것일 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 광감각제 중 1종 이상을 포함하는 유효 성분; 및 약제학적으로 허용되는 담체;를 포함하는, 조성물에 관한 것이다.

[0018] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 조성물은, 광역동 치료용인 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 조성물은, 암 치료용인 것일 수 있다.

[0020] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 조성물은, 흑색종, 피부암, 대장암, 췌장암, 담도암, 신경내분비종양, 폐암, 유방암, 난소암, 간암, 기관지암, 비인두암, 후두암, 위암, 방광암, 결장암, 자궁경부암, 뇌암, 전립선암, 골암, 두경부암, 갑상선암, 부갑상선암 및 요관암 치료용인 것일 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명에 의한 광역동 치료를 위한 조성물을 대상체에 투여하는 단계; 상기 투여하는 조성물이 대상체의 목표 세포 내에 축적되기 위한 소정의 시간을 허용하는 단계; 및 상기 대상체의 목표 세포 부위에 빛 에너지를 조사하는 단계;를 포함하는, 광역동 치료 방법에 관한 것이다.

[0022] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 조사하는 단계는, 10초 이상 동안 총 200 J/cm² 이하의 빛 에너지를 조사하는 것일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 투여하는 단계는, 경구적 또는 비경구적 방법으로 투여하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0023] 본 발명은, 기존의 시판되는 광감각제에 비하여 월등하게 낮은 빛 에너지에서 활성산소종이 가능하고, 활성산소종의 생산성이 높고, 암 세포에 대한 사멸 효과가 뛰어난 광감각제를 제공할 수 있다. 또한, 상기 광감각제는, 기존의 광역동 치료에 이용되는 빛 에너지에 비하여 1/1000 정도 낮은 빛 에너지에서도 효과적인 암 세포 사멸 능력을 제공할 수 있으므로, 암 치료 시 비용, 시간 및 환자의 고통을 줄일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명의 광감각제의 분자 내 에너지 전달 과정 및 광역동 치료 메커니즘의 개념을 예시적으로 나타낸 것으로, (a) 본 발명에 의한 아세단-이리듐-복합체의 분자 내 에너지 전달 과정, (b) 종래의 광감각제를 이용한 광역동 치료 메커니즘 및 (c) 본 발명에 의한 아세단-이리듐-복합체의 광역동 치료 메커니즘이다.

도 2는, 본 발명의 평가예에 따른, 흡광 및 광 발광 스펙트럼을 나타낸 것으로, (a) Ir-bxACD, Ir-COOH 및 bxACD-COOH의 흡광 스펙트럼, (b) Ir-bxACD, Ir-COOH 및 bxACD-COOH의 광 발광 스펙트럼 및 (c) Ir-COOH 및 Ir-bxACD 물질의 광 발광 확대 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 3은, 본 발명의 평가예에 따른, Ir-COOH, bxACD-COOH 및 Ir-bxACD의 염료 투여 및 빛 조사 후 ABDA의 흡광 스펙트럼 및 시간에 따른 흡광도 감소 정도(0분 대비)를 나타낸 것이다.

도 4는, 본 발명의 평가예에 따른, Ir-bxACD 암 세포(HeLa) 이미징 및 Mitotracker를 이용한 미토콘드리아 타겟 모션을 나타낸 것이다.

도 5는, 본 발명의 평가예에 따라 Ir-bxACD의 암 세포(HeLa) 사멸 테스트를 나타낸 것으로, - Ir-bxACD/+ light, + Ir-bxACD/+ light, + Ir-bxACD/- light 조건에서 DIC 이미지(상), 요오드화프로피디움(중) 및 DIC 이미지 및 요오드화프로피디움 중첩 이미지(하)를 나타낸 것이다.

도 6은, 본 발명의 평가예에 따른, Ir-bxACD의 암 세포(HeLa) 사멸 테스트를 나타낸 것으로, DIC 이미지(상) 및 요오드화프로피디움 이미지(하)를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.

[0026] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0027] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

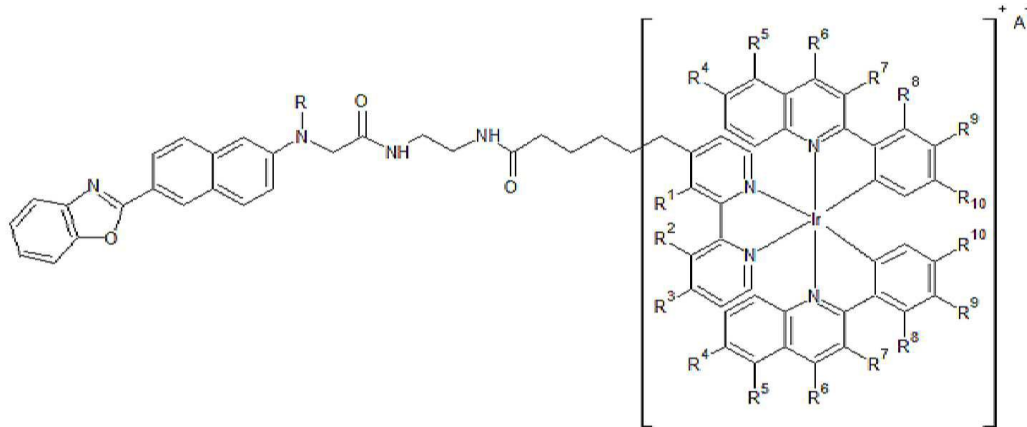
[0028] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0029] 본 발명은, 광감각제에 관한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 광감각제는, 이리듐 복합체(에너지 받개, Energy acceptor)에 아세단 염료(Acedan dye, 에너지 주개, Energy donor)를 공유결합적으로 결합한 아세단-이리듐 복합체이며, 아세단 염료의 결합에 따른 분자 내 에너지 전이 시스템(Intramolecular energy transfer)을 도입함으로써, 이리듐 복합체의 흡광 능력을 향상시키고, 빛 에너지에 의한 활성산소종 생성량을

향상시킬 수 있다.

[0030] 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 광감각제(Photosensitizer)는, 하기의 화학식 1로 표시된 화합물이며, 아세단 염료 및 이리듐 복합체가 결합된 아세단-이리듐 복합체일 수 있다.

[0031] [화학식 1]



[0033]

[0035] 여기서, R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 할로젠, 아미드, 시아노, 하이드록실, 니트로, 아실, 탄소수 1 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알케닐, 탄소수 2 내지 30의 직쇄 또는 분지쇄 알키닐, 탄소수 1 내지 30의 알콕시, 탄소수 1 내지 30의 알킬카보닐 및 탄소수 2 내지 20의 아릴에서 선택되고, A는 할로젠, BF₄, BPh₄, PF₆, PCl₆, OAc, OTf, NO₃, ClO₄, SO₄, SCN, SbF₆ 및 Ntf₂에서 선택된다.

[0036] 상기 R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 수소, 탄소수 1 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄 알케닐 및 탄소수 2 내지 20의 직쇄 또는 분지쇄 알키닐에서 선택되는 것일 수 있다. 더 바람직하게는, 상기 R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 각각, 탄소수 1 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄 알케닐 및 탄소수 2 내지 10의 직쇄 또는 분지쇄 알키닐에서 선택되는 것일 수 있다.

[0037] 여기서, R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 화학식 1의 화합물을 통해 구현하고자 하는 효과에 따라 상기 언급한 정의 중 하나의 작용기로 독자적으로 선택될 수 있다. 또한, R 및 R¹ 내지 R¹⁰은, 화학식 1의 화합물을 통해 구현하고자 하는 효과에 따라 상기 언급한 정의 중 하나 이상의 작용기(또는 원소)의 조합으로 선택될 수 있다. 이 때, 선택되는 작용기에 따라 구현되는 효과는 상이하게 구현될 수 있다.

[0038] 도 1을 참조하면, 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라, 본 발명의 광감각제의 분자 내 에너지 전달 과정 및 광역동 치료 메커니즘의 개념을 예시적으로 나타낸 것으로, 도 1의 (a)에서 상기 아세단 염료는 높은 흡광계수 및 청색 영역 (450~480 nm)에서 강한 양자효율(Quantum yield)과 광 발광(Photoluminescence)를 가지며, 이광자 흡수 특성을 나타내는 것으로, 상기 아세단 염료가 흡수한 빛 에너지는 이리듐 복합체에 전달하여 이리듐 복합체의 낮은 흡광 계수를 향상시킬 수 있다.

[0039] 상기 광감각제는, 광역동 치료(Photodynamic therapy, PDT)에 적용되며, 이는 기존의 광역동 치료에 비하여 극히 낮은 빛 에너지에서 효과적인 목표 세포의 사멸 효과를 제공할 수 있다. 즉, 도 1의 (b)의 광역동 치료 메커니즘에서 이리듐 복합체의 흡광 능력의 향상에 따라 기존의 광역동 치료에 비하여 낮은 빛 에너지를 이용하여 활성산소종의 생성을 증가시키고, 목표 세포의 효과적인 사멸 및/또는 성장/증식 억제체를 유도할 수 있다.

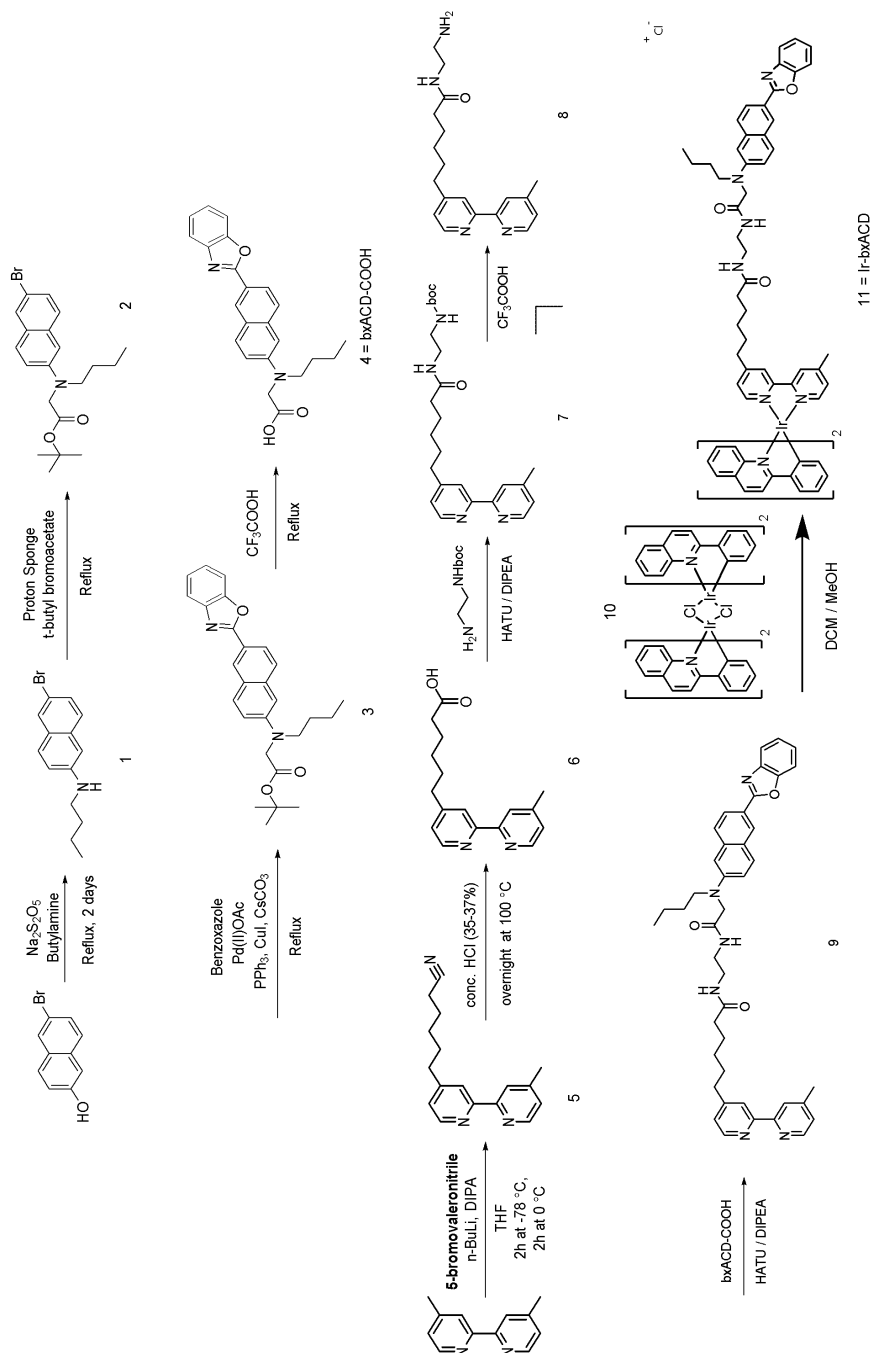
[0040] 상기 광감각제는, 200 J/cm² 이하; 100 J/cm² 이하; 50 J/cm² 이하; 10 J/cm² 이하; 0 초과 내지 1 J/cm²의 빛 에너지의 조사에서 활성산소종을 생성하고, 활성산소종의 생성량이 우수하여, 효과적으로 목표 조직 및/또는 세포의 사멸 및/또는 성장/증식 억제 특성을 제공할 수 있다.

[0041] 상기 광감각제는, 500 nm 내지 600 nm 파장 영역; 550 nm 내지 580 nm의 파장 영역에서 흡광 영역을 가지며, 발광 특성 및 이광자 흡수 특성을 제공하므로, 목표 조직 및/또는 세포의 선택적 결합 및/또는 축적에 대한 이미

징, 예를 들어, 생체 내(in vivo) 또는 생체 외(in vitro)의 생체 이미징이 가능할 수 있다.

- [0042] 상기 목표 조직 및 세포는, 암 조직 및 세포이며, 예를 들어, 흑색종, 피부암, 대장암, 췌장암, 담도암, 신경내분비종양, 폐암, 유방암, 난소암, 간암, 기관지암, 비인두암, 후두암, 위암, 방광암, 결장암, 자궁경부암, 뇌암, 전립선암, 골암, 두경부암, 갑상선암, 부갑상선암 및 요관암 조직 및 세포일 수 있다.
- [0043] 본 발명은, 본 발명에 의한 광감각제를 포함하는 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 광감각제는, 광역동 치료에 적용될 수 있다.
- [0044] 상기 조성물은, 본 발명에 의한 광감각제 중 1종 이상; 및 담체;를 포함하고, 상기 광감각제가 2종 이상을 포함할 경우에, 목표 세포의 선택적 결합 및 사멸을 효과적으로 달성하기 위해서 제1 광감각제 대 나머지 광감각제의 혼합비는 1:0.1 내지 1(w/w); 또는 1:0.1 내지 0.5(w/w) 일 수 있다.
- [0045] 상기 광감각제는, 상기 조성물 내에 약제학적 유효성분으로 포함되고, 상기 "약제학적 유효량"은, 본 발명에 의한 광감각제가 질환 및/또는 광역동 치료에 적용 시 치료적 효과를 달성하는데 충분한 양을 의미한다. 예를 들어, 상기 조성물의 100 중량부에 대해 0.001 중량부 내지 100 중량부 미만; 0.001 중량부 내지 50 중량부; 또는 0.1 중량부 내지 10 중량부로 포함될 수 있다.
- [0046] 상기 담체는, 광역동 치료에 적용 가능한 것으로, 약제학적으로 허용되는 담체이다. 예를 들어, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0047] 상기 조성물은, 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 더 포함할 수 있다.
- [0048] 상기 조성물은 비경구 투여가 가능하며, 예컨대 정맥 내 투여, 복강 내 투여, 근육 내 투여, 피하 투여 또는 국부 투여 될 수 있다. 또한, 그 밖에도 경구 투여, 직장 투여, 흡입 투여, 경비 투여 등이 가능할 수 있다.
- [0049] 상기 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 환자의 연령, 체중, 성, 질병 증상의 정도, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.
- [0050] 상기 조성물은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화됨으로써 단위 용량 형태로 제조되거나, 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성매질 중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태일 수 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0051] 상기 조성물은, 암 치료용이며, 예를 들어, 흑색종, 피부암, 대장암, 췌장암, 담도암, 신경내분비종양, 폐암, 유방암, 난소암, 간암, 기관지암, 비인두암, 후두암, 위암, 방광암, 결장암, 자궁경부암, 뇌암, 전립선암, 골암, 두경부암, 갑상선암, 부갑상선암 및 요관암 치료용일 수 있다.
- [0052] 본 발명은, 본 발명에 의한 광감각제를 이용한 광역동 치료 방법에 관한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따라, 상기 광역동 치료 방법은, 광역동 치료를 위한 조성물을 대상체(subject)에 투여하는 단계; 상기 투여하는 조성물이 대상체의 목표 세포 내에 축적되기 위한 소정의 시간을 허용하는 단계; 및 상기 대상체의 목표 세포 부위에 빛 에너지를 조사하는 단계; 를 포함할 수 있다.
- [0053] 상기 소정의 시간을 허용하는 단계 이후에 대상체의 목표 세포의 위치를 확인하기 위한 목표 조직을 이미징시키는 단계를 더 포함할 수 있다. 이는 광 조사에 의해 형광 또는 발광 이미지를 검출하여 시각화하여 목표 조직(또는, 세포)을 확인할 수 있다.
- [0054] 상기 조사하는 단계는, 1초 이상; 10초 이상; 또는 1초 내지 5시간 동안 총 200 J/cm^2 이하의 빛 에너지를 조사할 수 있다. 상기 투여하는 단계는, 경구적 또는 비경구적 방법으로 투여될 수 있다.
- [0055] 상기 "대상체"는 제한 없이 포유류이며, 예를 들어, 인간, 마우스, 래트, 기니아 피그, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 원숭이, 침팬지, 곰, 토끼, 비비 또는 붉은털 원숭이 등을 포함할 수 있다.
- [0056] 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하지만, 본 발명은 이에 한정되는 것이 아니고, 하기의 특허 청구의 범위, 발명의 상세한 설명 및 첨부된 도면에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있다.

[0057] <스킴 1>



[0058]

[0059] 실시예

[0060] 스킴 1에 따라 아세단 염료(4, bxACD-COOH) 합성, 연결부 및 아세단-이리듐 복합체(11, Ir-bxACD)의 합성으로 진행하였으며, 구체적인 합성 공정은 다음과 같다.

[0061] (1) 화합물 1

[0062] 6-브로모-2-N-부틸나프탈렌-2-아미(6-bromo-N-butyl-naphthalen-2-amine) 합성

[0063] 6-브로모-2-나프틸아민(6-bromo-2-naphthylamine, 2.00 g, 9.00 mmol)과 Na₂S₂O₅(3.07 g, 10.8 mmol), 부틸아민(butylamine, 5 ml, 45.0mmol)을 물(10ml)에 녹인 후 2일 동안 환류 반응시켰다. 그 후 조생성물(crude product)를 상온으로 온도를 낮추고 2N의 NaOH 용액에 부어 넣었다. 물질을 0 °C에 1시간 둔 후 생성되는 고체를 필터를 통해 걸러내고 차가운 물로 씻어내어 화합물 1을 획득하였다.

[0064] (2) 화합물 2

- [0065] **tert-부틸-N-(6-브로모나프탈렌-2-일)-N-부틸글리시네이트(tert-butyl N-(6-bromonaphthalen-2-yl)-N-butylglycinate)**
- [0066] 화합물 1(200 mg, 0.720 mmol), 양성자 스폰지(169 mg, 0.790 mmol), 그리고, tert-부틸 브로모아세테이트(tert-butyl bromoacetate, 384 μ l, 2.59 mmol)를 MeCN 20 ml에 녹인 후, 12시간 동안 환류 반응시켰다. 상온으로 온도를 낮춘 후, 물과 에틸아세테이트를 이용하여 유기층으로 생성물을 추출하고, 컬럼 크로마토그래피(Hex 5: EA 1)를 통해 화합물 2를 정제하였다.
- [0067] **(3) 화합물 3**
- [0068] **tert-부틸 N-(6-벤조옥사졸-2-일)나프탈렌-2-일)-N-부틸글리시네이트(tert-butyl N-(6-(benzoxazol-2-yl)naphthalen-2-yl)-N-butylglycinate)**
- [0069] 화합물 2(280 mg, 0.716 mmol), 벤조옥사졸(benzoxazole, 102 mg, 0.86 mmol), Pd(II)mg, 0.036 mmol), PPh₃(19 mg, 0.072 mmol), CuI(27 mg, 0.143 mmol) 그리고 CsCO₃(280 mg, 0.86 mmol)를 물과 산소를 제거한 DMF 10 ml에 녹인 후, Ar 환경에서 140 °C로 12시간 동안 환류 반응시켰다. 반응 조생성물(Crude product)의 고체를 필터를 통해 걸러 버리고, 물과 에틸 아세테이트(ethyl acetate)를 이용하여 유기층으로 생성물을 추출하였다. 그 다음 컬럼 크로마토그래피(Hex 5: EA 1)을 통해 화합물 3을 정제하였다.
- [0070] **(4) 화합물 4**
- [0071] **N-(6-(벤조옥사졸-2-일)나프탈렌-2-일)-N-부틸글리신(bxACD-COOH, N-(6-(benzoxazol-2-yl)naphthalen-2-yl)-N-butylglycine)**
- [0072] 화합물 3(100 mg, 0.232 mmol), CF₃COOH(1.5 ml)를 산소가 제거된 DCM(10 ml)에 녹인 후 24시간 동안 상온에서 교반시켰다. 그 후 회전 증류기를 이용하여 용매를 증발시키고 헥산(Hexane)으로 씻어내어 필터를 통해 고체(화합물 4)를 걸러내었다.
- [0073] **(5) 화합물 5**
- [0074] **6-(4'-메틸[[2,2'-비피리딘]-4-일]헥산니트릴(6-(4'-methyl-[2,2'-bipyridin]-4-yl)hexanenitrile)**
- [0075] 물이 제거된 THF에 디이소프로필아민(diisopropylamine, 1.79 ml, 12.7 mmol)을 녹이고 -78 °C에서 n-BuLi(2.5M, 4.65 ml)을 한 방울씩 떨어뜨려 넣었다. 20분 동안 교반시킨 후에 4,4'-디메틸-2,2'-디피리딜(4,4'-Dimethyl-2,2'-dipyridyl, 2 g, 10.6 mmol)을 THF에 녹여 한 방울씩 떨어뜨려 넣었다. 1시간 30분 동안 더 교반시킨 다음, 5-브로모발레로니트릴(5-bromovaleronitrile, 1.5 ml, 12.7 mmol)을 넣고 0 °C에서 2시간 동안 다시 교반시켰다. 혼합물에 10 ml의 물을 넣고 1N HCl 수용액으로 중화시킨 후 물과 에틸 아세테이트를 이용하여 유기층으로 추출하였다. 그 후 컬럼 크로마토그래피(Hex 10: EA 1)을 통해 화합물 5를 정제하였다.
- [0076] **(6) 화합물 6**
- [0077] **6-(4'-메틸-[2,2'-비피리딘]-4-일)헥산산(6-(4'-methyl-[2,2'-bipyridin]-4-yl)hexanoic acid)**
- [0078] 화합물 5(570 mg, 2.15 mmol)을 Conc. HCl(35~37%)에 넣고 100 °C에서 환류 반응시켰다. 혼합물의 온도를 상온으로 낮춘 후 6N NaOH 수용액으로 pH를 4~4.5로 맞추고 클로로폼(chloroform)과 물로 생성물을 유기층으로 추출시켰다. 회전 증류기를 이용하여 클로로폼을 모두 증발시켜 화합물 6을 얻었다.
- [0079] **(7) 화합물 7**
- [0080] **tert-부틸(2-(6-(4'-메틸-[2,2'-비피리딘]-4-일)헥산아미도)에틸)카바메이트(tert-butyl (2-(6-(4'-methyl-[2,2'-bipyridin]-4-yl)hexanamido)ethyl)carbamate)**
- [0081] 화합물 6(300 mg, 1.06 mmol), HATU(361 mg, 0.95 mmol), 디이소프로필에틸아민(Diisopropylethylamine, DIPEA, 409 mg, 3.17 mmol)을 DMF에 녹인 후 15분 동안 교반시켰다. 여기에 N-boc-에틸렌디아민(N-boc-ethylenediamine, 253 mg, 1.58 mmol)을 천천히 넣은 후 5 시간 동안 상온에서 교반시켰다. 그 후 에틸 아세테이트와 물을 이용하여 생성물을 유기층으로 추출시키고 용매를 회전 증류기를 이용하여 증발시켰다. 컬럼 크로마토그래피(Chloroform 10 : MeOH 1)를 통해 화합물 7을 정제하였다.

[0082] (8) 화합물 8

[0083] N-(2-아미노에틸)-6-(4'-메틸-[2,2'-비피리딘]-4-일)헥산아미드(N-(2-aminoethyl)-6-(4'-methyl-[2,2'-bipyridin]-4-yl)hexanamide)

[0084] 화합물 7(409 mg)을 DCM에 녹이고 CF₃COOH(8 ml)를 천천히 주입했다. 2시간 동안 교반시킨 후, 톨루엔 10ml를 넣고 회전 증류기로 모든 용매를 증발시켜서 화합물 8을 획득하였다.

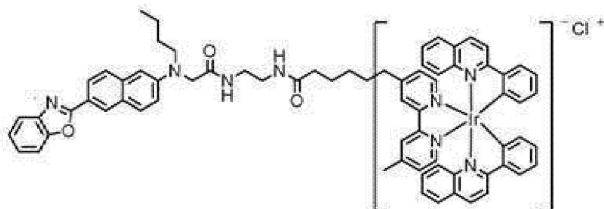
[0085] (9) 화합물 9

[0086] (N-(2-(2-((6-(벤조[d]옥사졸-2-일)나프탈렌-2-일)(부틸)아미노)아세트아미도)에틸)-6-(4'-메틸-[2,2'-비피리딘]-4-일)헥산아미드)(naphthalen-2-yl)(butyl)aminoacetamidoethyl)-6-(4'-methyl-[2,2'-bipyridin]-4-yl)hexanamide)

[0087] 화합물 4(139 mg, 0.372 mmol), HATU(159 mg, 0.418 mmol), DIPEA(180 mg, 1.392 mmol)을 DMF에 녹이고 15분 간 교반시켰다. 그 후에 화합물 8(204 mg, 0.464 mmol)를 천천히 주입하고 5시간 동안 상온에서 교반시켰다. 혼합물을 에틸 아세테이트와 물을 이용하여 유기층으로 추출하고 컬럼 크로마토그래피를 통해 화합물 9를 획득하였다.

[0088] (10) 화합물 11

[0089] (Ir-bxACD, 아세단-이리듐 복합체)



[0090]

[0091] 화합물 10은 “*J. Am. Chem. Soc.*, 2016, 138(34), 10968-10977” 동일한 방법으로 합성되었다. 화합물 10과 화합물 9를 DCM:MeOH = 1:1(v/v) 용매에 녹인 후, 12 시간 동안 환류 반응시켰다. 회전 증류기를 사용하여 용매를 모두 증발시킨 후 에탄올에 생성물을 녹이고 필터를 통해 남아있는 반응물을 제거했다. 다시 회전 증류기를 이용하여 에탄올을 모두 증발시킨 후 DCM과 헥산을 이용하여 고체화시키고 필터를 이용하여 화합물 11 (Ir-bxACD)을 획득하였다.

[0092] 평가예

[0093] <광화학적 특성 및 분자 내 에너지 전이>

[0094] 실시예의 Ir-bxACD 물질 및 Ir-COOH 및 bxACD-COOH의 흡광 및 광 발광 스펙트럼을 측정하여 도 2에 나타내었다. 도 2의 흡광 및 광 발광 스펙트럼에서 Ir-bxACD 물질의 높은 효율의 분자 내 에너지 전이(98.9%)을 확인할 수 있다.

[0095] 또한, 흡광 스펙트럼에서 Ir-bxACD의 오렌지색 스펙트럼은 나머지 Ir-COOH와 bxACD-COOH의 스펙트럼의 선형적인 합으로 나타나며, 이는 Ir-bxACD의 아세단 부분과 이리듐 부분이 서로 독립적으로 빛을 흡수하는 것으로, Ir-bxACD의 흡광 능력이 기존 이리듐 복합체(Ir-COOH)에 비해 향상되었음을 확인할 수 있다.

[0096] 또한, 광 발광 스펙트럼을 통하여 Ir-bxACD의 아세단 부분이 독립적으로 흡수한 빛 에너지를 이리듐 복합체에 효과적으로 전달할 수 있는지 확인할 수 있다. 즉, 가운데 광 발광 그래프에서 아세단 염료(bxACD-COOH)의 발광 스펙트럼에 비해 Ir-bxACD의 스펙트럼은 훨씬 작게 나타나는데, 이는 Ir-bxACD의 아세단 부분이 발광성 감쇠(Radiative decay)를 통해 들뜬 전자가 안정화되는 대신, 이리듐 복합체로 에너지 전이가 발생하며, 이는 Ir-bxACD의 광 발광 스펙트럼이 Ir-COOH에 비해 증가하는 경향을 통해 확인할 수 있다.

[0097] < 단일항 산소 생성 효율 >

[0098] ABDA(Anthracenediyl-bis(methylene)dimalonic acid) assay를 통하여 단일항 산소 생산량을 비교하여 도 3에 나타내었다. ABDA는 단일항 산소와 빠르게 반응하여 안트라센 중심 분자가 쉽게 붕괴된다. 따라서 안트라센 코어가 나타내는 400 nm에서의 흡광 스펙트럼이 감쇠하는 정도를 통해 단일항 산소 생성 능력을 비교할 수 있

다.

[0099] 도 3에서 아세단 염료(bxACD-COOH)를 넣고 빛을 조사한 경우에는 ABDA의 흡광 스펙트럼이 전혀 감쇠하지 않았으며 기존 이리듐 복합체(Ir-COOH)의 경우에는 어느정도 흡광 스펙트럼이 감쇠한 반면 이리듐-아세단 복합체(Ir-bxACD)의 경우 매우 급격하게 흡광 스펙트럼이 감쇠하는 것을 확인할 수 있으며, 이는 Ir-bxACD가 빛을 흡수하였을 때 가장 효과적으로 많은 단일항 산소를 생성한다는 것을 확인할 수 있다. 도 3의 실험 조건: [ABDA] = 66.7 μM , [Dye] = 6.67 μM in DMSO:H₂O solution (1:99 = v/v) Light source : Xe white Lamp (0.4 sun).

[0100] < 암 세포 공초점 이미징 >

[0101] Ir-bxACD를 실제 살아있는 암세포에 적용하여 암 세포 공초점 이미징을 측정하여 도 4에 나타내었다. 도 4에서 본 발명에 의한 아세단-이리듐-복합체인 Ir-bxAC이 암세포의 미토콘드리아에서 작용하는 것을 확인할 수 있다. 도 4의 실험 조건: Cell line = HeLa, [Ir-bxACD] = 2 μM , 60 min incubation, [Mitotracker] = 200 nM, 30 min incubation. Instrument : FV-1000 confocal microscopy.

[0102] < In vitro 암세포 사멸 실험 (12 J/cm^2)>

[0103] Ir-bxACD 물질을 암 세포에 투여한 후, 빛을 조사하였을 때 암 세포가 효과적으로 사멸하는지 확인하기 위하여 요오드화프로피디움(propidium iodide)로 죽은 암 세포를 염색하였다. 그 결과는 도 5에 나타내었다(실험 조건: Cell line = HeLa, [Ir-bxACD] = 4 μM , 100 min incubation, then 1 sun light irradiation for 2 min(Xe white lamp 12 J/cm^2), 5 hour incubation. [PI] = 1.5 μM , 30min).

[0104] 도 5에서 Ir-bxACD를 투여하지 않고 빛만 조사한 경우(Xe white lamp, 12 J/cm^2)와 Ir-bxACD를 투여하지만 빛을 조사하지 않은 두 가지 경우 (도 5의 좌, 우)에는 암 세포가 정상적인 모양을 유지하면서 잘 살아있는 것을 확인할 수 있었지만 Ir-bxACD를 투여하고 빛도 조사한 경우(Xe white lamp, 12 J/cm^2)에는 거의 모든 세포가 사멸하여 요오드화 프로피디움의 붉은 형광을 내는 것을 확인하였다. 따라서, 빛과 Ir-bxACD 모두 암 세포 사멸에 필수적인 요소인 것을 확인할 수 있다.

[0105] < In vitro 암세포 사멸 실험 (0.24 J/cm^2)>

[0106] 0.3 J/cm^2 미만의 매우 약한 빛 에너지로 암 세포를 효과적으로 사멸시킬 수 있는지 확인하기 위하여 Ir-COOH와 Ir-bxACD 및 요오드화프로피디움을 투여한 뒤, LED blue light를 1분 동안 조사(0.24 J/cm^2)한 뒤, 30분 간격으로 이미징을 진행하였다. 그 결과는, 도 6에 나타내었다. 실험 조건: Cell line = HeLa, [Ir-bxACD] = 4 μM , 120 min incubation, then Blue LED light irradiation for 1 min(0.24 J/cm^2). [PI] = 1.5 μM , 30min incubation

[0107] 도 6에서 빛을 조사한 후 60분간 incubation 하였을 때, Ir-bxACD는 붉은 요오드화 프로피디움의 형광을 거의 모든 세포에서 확인할 수 있는 반면에, Ir-COOH의 경우에는 대부분의 세포가 살아있는 것을 확인할 수 있었다. 이는, 실제 광역동 치료에 사용되는 빛 에너지($200\text{-}300 \text{ J/cm}^2$)의 1/1000 수준의 빛 에너지(0.3 J/cm^2)에서도 아세단-이리듐 복합체는 기존 이리듐 복합체보다 훨씬 효과적인 암 세포 사멸 능력을 갖는 것입니다. 따라서 높은 단일항 산소 생성 효율을 보이는 Ir-bxACD가 Ir-COOH보다 더 적은 빛 에너지로 효과적인 세포 사멸을 유도할 수 있고, 실제 광역동 치료에서 강한 빛 에너지로 인한 암 환자의 부작용 최소화하고, 광역동 치료 시술 시간을 감축할 수 있다.

[0108] 본 발명은, 이리듐 복합체(에너지 받개, Energy acceptor)에 아세단 염료(에너지 주개, Energy donor)를 공유결합적으로 연결하여 "분자 내 에너지 전이 시스템(Intramolecular energy transfer)"을 도입함으로써 기존의 광역동 치료에 비하여 극히 적은 빛 에너지(예를 들어, $< 0.3 \text{ J/cm}^2$)에서도 암 세포를 효과적으로 사멸시킬 수 있는 광역동 치료를 위한 광감각제, 이를 포함하는 조성물 및 이를 이용한 광역동 치료방법을 제공할 수 있다.

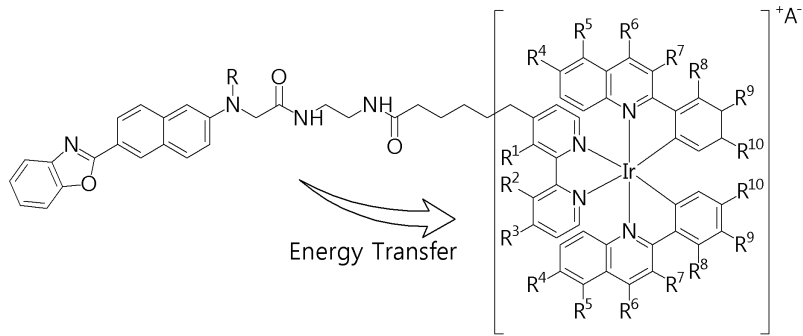
[0109] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될

수 있다.

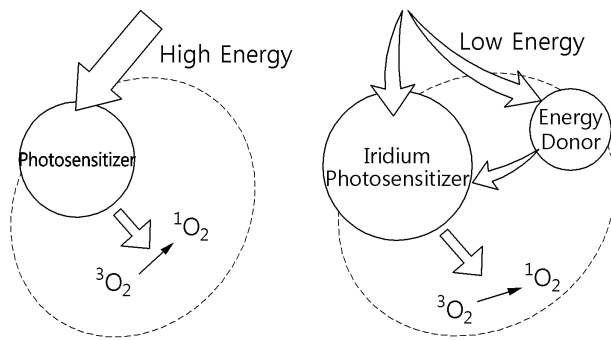
[0110] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

도면1

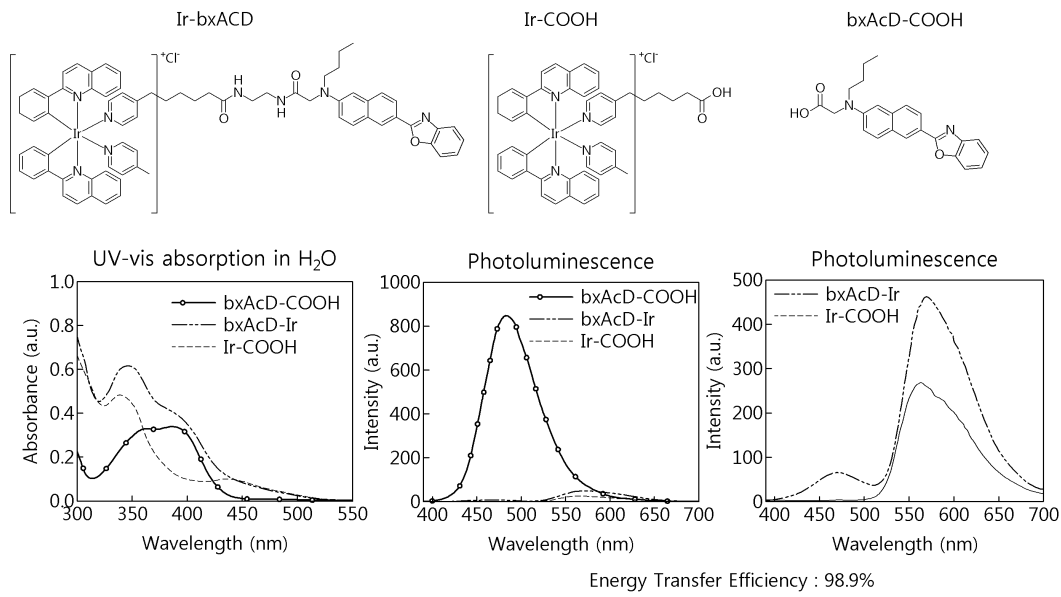


(a)

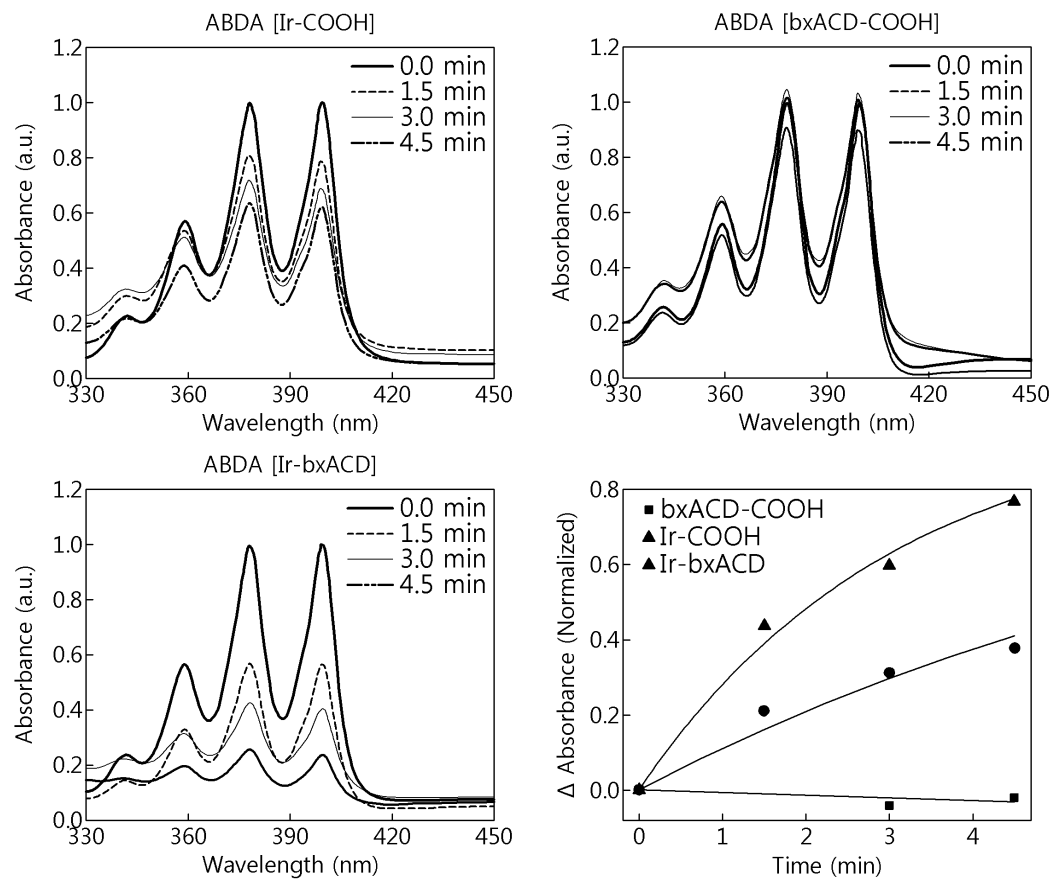


(b)

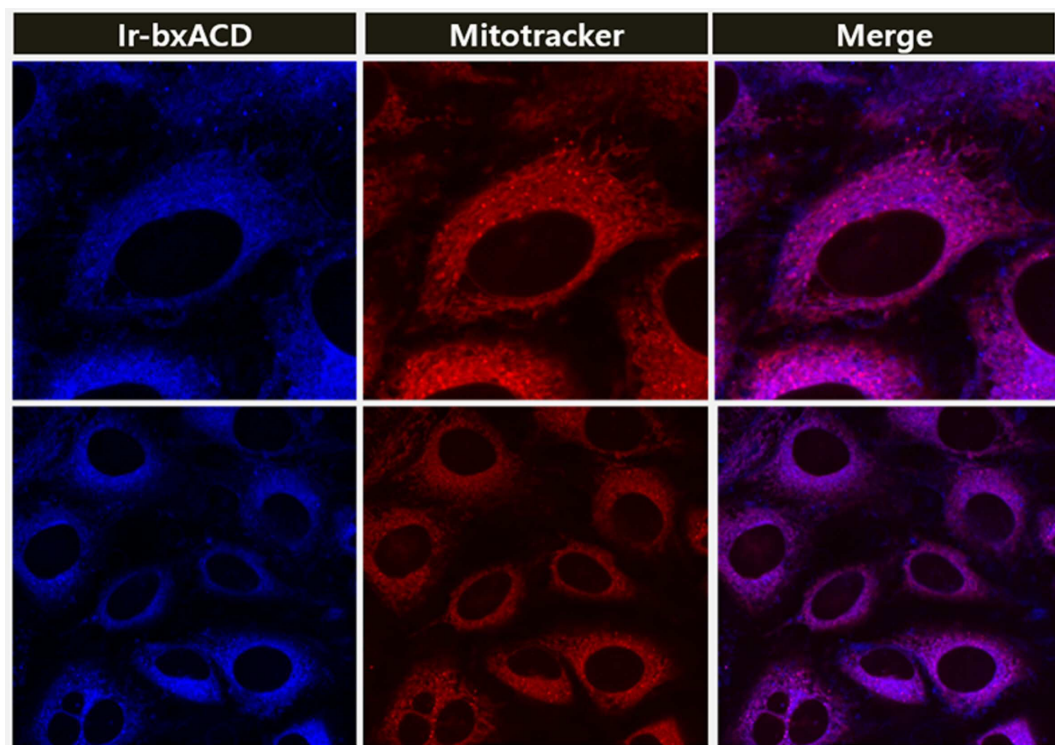
도면2



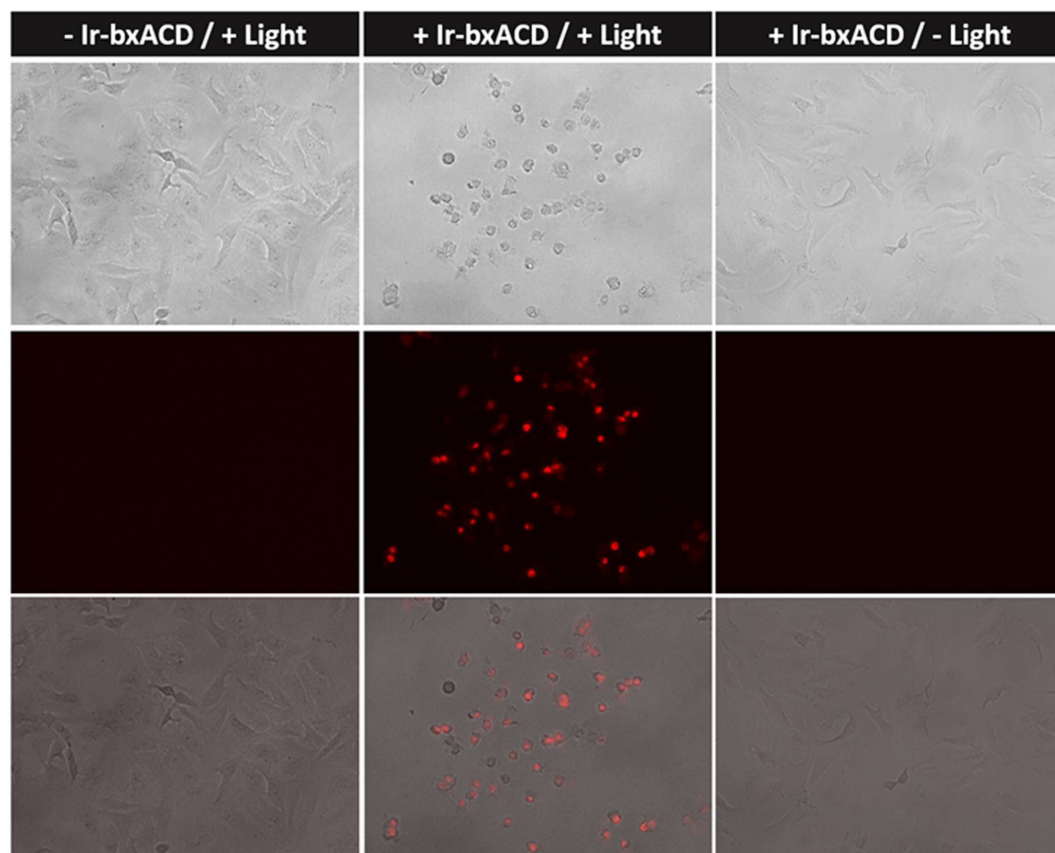
도면3



도면4



도면5



도면6

