(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2024 년 8 월 29 일 (29.08.2024)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2024/177415 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 47/64 (2017.01) *A61K 41/00* (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2024/002350

(22) 국제출원일: 2024 년 2 월 22 일 (22.02.2024)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2023-0024648 2023 년 2 월 23 일 (23.02.2023) KR

(71) 출원인: **주식회사 키텍바이오 (KYTECBIO CO., LTD.)** [KR/KR]; 03759 서울특별시 서대문구 북아현로 150, 산학협력관 124b, 125a, Seoul (KR). **이화여자대학교 산학협력단 (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 03760 서울특별시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR).

(72) 발명자: **윤주영 (YOON, Ju Young)**; 04428 서울특별시 용산구 이촌로 347, 2동 501호, Seoul (KR). **김관묵 (KIM, Kwan Mook)**; 22008 인천광역시 연수구 인천타워대로 253-25, 101동 3708호, Incheon (KR). **차선신 (CHA, Sun Shin)**; 03670 서울특별시 서대문구 증가로 150, 108동 503호, Seoul (KR). **김경미 (KIM, Gyoung Mi)**; 07752 서울특별시 강서구 강서로18길 71, 1층, Seoul (KR). **양멍야오 (YANG, Mengyao)**; 03721 서울특별시 서대문구 봉원사길 9-1, Seoul (KR). **쉬르바테무케시 에크나트 (SHIRBHATE, Mukesh Eknath)**; 03721 서울특별시 서대문구 봉원사길 41-15, 지하1층, Seoul (KR). **김유진 (KIM, Yu Jin)**; 07993 서울특별시 양천구 목동로 212, 725동 105호, Seoul (KR).

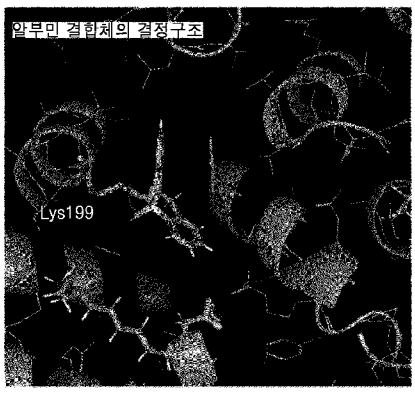
(74) 대리인: **리앤목 특허법인 (Y.P.LEE, MOCK & PARTNERS)**; 06292 서울특별시 강남구 언주로 30길 13 대림아크로텔 12층, Seoul (KR).

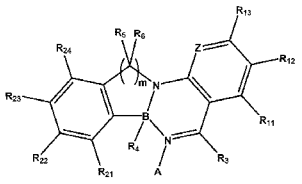
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ,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

(54) **Title:** ALBUMIN CONJUGATE, METHOD FOR PRODUCING SAME, AND COMPOSITION FOR TARGETING, DIAGNOSING, OR TREATING CANCER COMPRISING SAME

(54) **발명의 명칭:** 알부민 결합체, 이의 제조 방법 및 이를 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물

AA





AA ... Crystal structure of albumin conjugate

(57) **Abstract:** Provided is an albumin conjugate represented by chemical formula 1. <Chemical formula 1> In chemical formula 1, A is a group other than an amine group in albumin, and refer to the specification with regard to each of Z, R_{11} to R_{14}, R_{21} to R_{24}, R_3 to R_6, and m.

(57) **요약서:** 화학식 1로 표시된 알부민 결합체가 제공된다: <화학식 1> 화학식 1 중, A는 알부민 중 아민기를 제외한 그룹이고, Z, R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6 및 m 각각은 본 명세서에 기재된 바를 참조한다.

WO 2024/177415 A1

[다음 쪽 계속]

(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))

명세서

발명의 명칭: 알부민 결합체, 이의 제조 방법 및 이를 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물

기술분야

[1] 알부민 결합체, 이의 제조 방법 및 이를 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[2] 인간 혈청 알부민(human serum albumin, 이하 HSA)은 인체 혈액 중에 약 35g/L 내지 약 55g/L로 존재하며 생명 활동에 필요한 물질을 전달하는 역할을 수행할 수 있다. 알부민은 약 19일의 반감기를 가진 안정한 단백질이다. 암(암세포 및/또는 암조직)은 성장에 필요한 영양분을 알부민을 통해 공급받을 수 있다. 암은 알부민을 이용하기 위해 gp18, gp60, SPARC와 같은 알부민 수용체를 가질 수 있다. 암은 알부민 수용체를 통해 알부민을 끌어들일 수 있어, 암이 성장할 때 혈액 내 알부민 농도가 감소될 수 있다. 이러한 특성을 이용해, 항암제를 암세포 및/또는 암조직에 전달하기 위하여, 항암제를 알부민에 결합하는 것에 대한 연구가 지속되었다.

[3] 아브락산은 알부민과 항암제(예를 들어, 파클리탁셀)를 단순 혼합한 물질이다. 알부민과 단순 혼합된 항암제는 초기에 과도하게 방출될 수 있고, 알부민과 항암제의 결합 방식을 제어할 수 없으므로 재현성을 확보하기 어렵다는 문제가 있다.

[4] 알부민과 항암제(예를 들어, 독소루비신)를 공유 결합시키기 위해, 말레이마이드(maleimide)가 적용될 수 있다. 항암제와 결합된 말레이마이드는 알부민의 시스테인-34 사이트에서 -SH와 공유 결합한다. 다만, 말레이마이드는 pH에 따라 불안정하고, 알부민의 시스테인-34 사이트에 위치한 -SH는 산화(예를 들어, 개체의 체외에서)될 수 있다는 문제가 있다. 말레이마이드는 고리 구조가 불안정하여 시간이 지남에 따라 분해되는 성질이 있는 문제가 있다. 따라서, 알부민과 항암제를 안정적으로 결합시키는 것에 대한 요구가 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[5] 일 측면은 고재현성 및 고안정성을 갖는 항암제와 알부민의 결합체를 제공하는 것이다.

[6] 일 측면은 암 표적, 진단 또는 치료에 사용할 수 있는 알부민 결합체를 제공하는 것이다.

[7] 다른 측면은 상기 알부민 결합체의 제조 방법을 제공하는 것이다.

[8] 또 다른 측면은 상기 알부민 결합체를 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

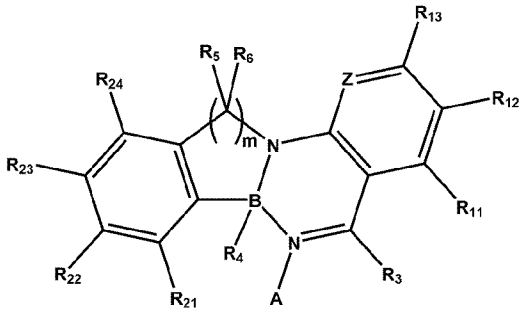
[9] 또 다른 측면은 붕소 함유 화합물을 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

[10] 일 측면에 따르면, 하기 화학식 1로 표시되는 알부민 결합체가 개시된다:

[11] <화학식 1>

[12]



[13] 상기 화학식 1 중,

[14] A는 알부민 중 아민기를 제외한 그룹이고,

[15] Z는 N, O 또는 $C(R_{14})$이고,

[16] R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6은 서로 독립적으로, 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 포밀기, 카르복실기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}알킬기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알키닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴티오기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}헤테로아릴기, $Si(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-B(Q_1)(Q_2)$, $-C(=O)(Q_1)$, $-S(=O)_2(Q_1)$ 및 $-P(=O)(Q_1)(Q_2)$ 중에서 선택되고,

[17] 선택적으로 i) R_{11}과 R_{12}, ii) R_{12}와 R_{13}, iii) R_{13}과 R_{14}, iv) R_{21}과 R_{22}, v) R_{22}와 R_{23}, vi) R_{23}과 R_{24}, 또는 vii) 이의 임의의 조합은 서로 결합하여 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10} 카보시클릭 그룹 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클릭 그룹을 형성하고,

[18] m은 1 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

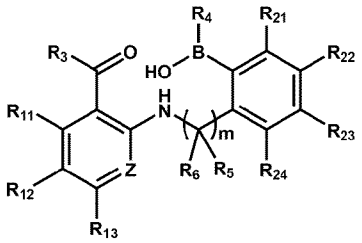
[19] Q_1 내지 Q_3은 서로 독립적으로,

[20] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기; 및

[21] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기 또는 이의 임의의 조합으로 치환 또는 비치환된, C_1-C_{10} 알킬기, C_2-C_{10}알케닐기, C_2-C_{10}알키닐기, C_1-C_{10}알콕시기, C_3-C_{10}시클로알킬기, C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, C_3-C_{10}시클로알케닐기, C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, C_6-C_{20}아릴기 및 C_1-C_{20}헤테로아릴기 중에서 선택된다.

[22] 다른 측면에 따르면, 하기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물과 알부민을 반응시키는 단계를 포함한, 상기 알부민 결합체의 제조 방법이 개시된다:

[23] <화학식 2>

[24] 

[25] 상기 화학식 2 중,

[26] Z는 N, O 또는 $C(R_{14})$이고,

[27] R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6은 서로 독립적으로, 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 포밀기, 카르복실기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}알킬기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알키닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴티오기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}헤테로아릴기, $Si(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-B(Q_1)(Q_2)$, $-C(=O)(Q_1)$, $-S(=O)_2(Q_1)$ 및 $-P(=O)(Q_1)(Q_2)$ 중에서 선택되고,

[28] 선택적으로 i) R_{11}과 R_{12}, ii) R_{12}와 R_{13}, iii) R_{13}과 R_{14}, iv) R_{21}과 R_{22}, v) R_{22}와 R_{23}, vi) R_{23}과 R_{24}, 또는 vii) 이의 임의의 조합은 서로 결합하여 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10} 카보시클릭 그룹 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클릭 그룹을 형성하고,

[29] m은 1 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

[30] Q_1 내지 Q_3은 서로 독립적으로,

[31] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기; 및

[32] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기 또는 이의 임의의 조합으로 치환 또는 비치환된, C_1-C_{10} 알킬기, C_2-C_{10}알케닐기, C_2-C_{10}알키닐기, C_1-C_{10}알콕시기, C_3-C_{10}시클로알킬기, C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, C_3-C_{10}시클로알케닐기, C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, C_6-C_{20}아릴기 및 C_1-C_{20}헤테로아릴기 중에서 선택된다.

[33] 또 다른 측면에 따르면, 상기 알부민 결합체 또는 상기 붕소 함유 화합물을 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물이 개시된다.

발명의 효과

[34] 상술한 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물은 알부민과 안정적으로 결합하여 화학식 1로 표시된 알부민 결합체를 형성할 수 있다. 상기 알부민 결합체는 개체

내의 암에 선택적으로 축적될 수 있고, 이로 인해 암세포 및/또는 암조직을 표적할 수 있다. 상기 알부민 결합체는 형광 특성을 가질 수 있고, 이로 인해 암조직을 시각화(형광 이미징)할 수 있다. 상기 알부민 결합체에 광이 조사되는 경우, 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)이 발생되어 암이 치료될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[35] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 따른 알부민 결합체의 X-ray 결정 구조를 도시한다.

[36] 도 2는 붕소 함유 화합물에 알부민의 농도를 증가시키며 측정한 형광 세기의 변화 및 이를 기초로 산출한 해리 상수를 나타낸 도면이다.

[37] 도 3a 내지 3c는 본 발명의 일 구현예에 따른 알부민 결합체에 광을 조사하여 발생되는 형광 세기를 도시한다.

[38] 도 4a 내지 4c는 붕소 함유 화합물에 광을 조사하여 발생되는 형광 세기를 도시한다.

[39] 도 5a 및 5b는 알부민 결합체 및 붕소 함유 화합물을 사용하지 않은 경우에 광을 조사하여 발생되는 형광 세기를 도시한다.

[40] 도 6은 도 3a 내지 3c, 4a 내지 4c, 5a 및 5b에 나타난 결과를 시간에 따른 특정 파장의 형광 세기 차이로 나타낸 도면이다.

[41] 도 7a 내지 7d는 붕소 함유 화합물과 혼합된 라이신의 농도에 따른 형광 세기의 차이를 나타낸 도면들이다.

[42] 도 8은 송아지 혈청 알부민 및 인간 혈청 알부민 각각을 이용한 알부민 결합체를 개체에 주사하여 형광 특성을 관찰한 결과를 나타낸 도면이다.

[43] 도 9a, 9b, 10a 내지 10c는 본 발명의 일 구현예에 따른 알부민 결합체의 암 치료 능력을 평가한 결과를 나타낸 도면들이다.

발명의 실시를 위한 형태

[44] 본 명세서에서 사용되는 모든 기술 용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한, 본 명세서에 기재된 수치는 명시하지 않아도 "약"의 의미를 포함하는 것으로 간주한다.

[45] 본 명세서에서 용어 "포함"은 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 추가 또는/및 개재할 수 있음을 나타내도록 사용된다.

[46] 본 명세서에서 용어 "임의의 조합"은 기재된 구성요소들 하나 이상과의 혼합 또는 조합되는 것을 의미한다.

[47] 본 명세서에서 용어 "상호작용"은 직접 또는 간접적일 수 있고, 직접 결합을 포함하거나 또는 간접적으로 결합할 수 있으며, 결합은 다른 분자에 의해 매개될 수도 있다.

[48] 본 명세서에서, 치환기는 치환되지 않는 모그룹(mother group)에서 하나 이상의 수소가 다른 원자나 작용기와 교환됨에 의하여 유도된다. 다르게 기재하지 않으면, 어떠한 작용기가 "치환된"것으로 여겨질 때, 그것은 상기 작용기가 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기, 탄소수 1 내지 40의 알킬기, 탄소수 2 내지 40의 알케닐기, 탄소수 2 내지 40의 알키닐기, 탄소수 3 내지 40의 시클로알킬기, 탄소수 3 내지 40의 시클로알케닐기, 탄소수 6 내지 40의 아릴기 및 탄소수 3 내지 40의 헤테로아릴기에서 선택된 하나 이상의 치환기로 치환됨을 의미한다.

[49] 작용기가 "선택적으로 치환된다"고 기재되는 경우에, 상기 작용기가 상술한 치환기로 치환될 수 있다는 것을 의미한다.

[50] 본 명세서에서, "탄소수 a 내지 b"의 a 및 b는 특정 작용기(group)의 탄소수를 의미한다. 즉, 상기 작용기는 a 부터 b까지의 탄소원자를 포함할 수 있다. 예를 들어, "탄소수 1 내지 4의 알킬렌기"는 1 내지 4의 탄소를 가지는 알킬렌기, 즉, $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-(CH_3)_2C-$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)-$ 및 $-(CH_3)_2C-$를 의미한다.

[51] 본 명세서에서, "알킬"이라는 용어는 분지된 또는 분지되지 않은 지방족 탄화수소를 의미한다. 일 구현예에서 알킬기는 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 알킬기는 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, 부틸기, 이소부틸기, tert-부틸기, 펜틸기, 헥실기, 시클로프로필기, 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 시클로헵틸기 등을 포함하나 반드시 이들로 한정되지 않으며, 이들 각각은 선택적으로 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 일 구현예에서 알킬기는 1 내지 6의 탄소원자를 가질 수 있다. 예를 들어, 탄소수 1 내지 6의 알킬기는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, 펜틸, 3-펜틸, 헥실 등일 수 있으나 반드시 이들로 한정되지 않는다.

[52] 본 명세서에서, "알케닐"이라는 용어는 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 갖는 분지형 또는 비분지형 탄화수소를 의미한다. 알케닐기의 비제한적인 예로는 비닐, 알릴, 부테닐, 이소프로페닐, 또는 이소부테닐 등을 들 수 있다.

[53] 본 명세서에서, "알키닐"이라는 용어는 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중결합을 갖는 분지형 또는 비분지형 탄화수소를 의미한다.

[54] 본 명세서에서, "알콕시"라는 용어는 상기 정의된 알킬기와 산소 원자가 결합된 형태로서, C_1-C_{20} 알콕시(기)를 포함하는 것일 수 있으며, 예를 들어, 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 펜톡시, 헥실옥시, 헵실옥시, 옥틸옥시, 노닐옥시, 데실옥시, 운데실옥시, 도데실옥시, 트리데실옥시, 테트라데실옥시, 펜타데실옥시, 헥사데실옥시, 헵타데실옥시, 옥타데실옥시, 노나데실옥시, 에이코사닐옥시, 또는 이들의 가능한 모든 이성질체를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

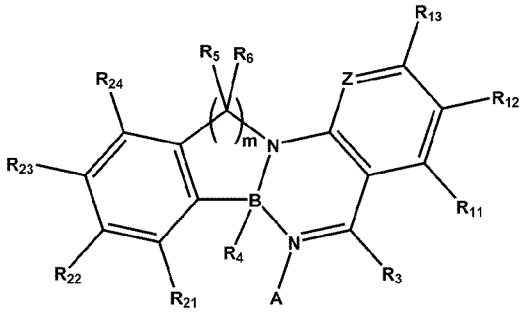
[55] 본 명세서에서, "시클로알킬"은 포화 탄화수소 고리를 가지는 1 가의 작용기의 형태로서, C_3-C_8 시클로알킬(기)을 포함하는 것일 수 있으며, 예를 들어, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵실, 시클로옥틸 또는 이들의 가능한 모든 이성질체를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[56] 본 명세서에서, "아릴"라는 용어는 고리 골격이 오직 탄소만을 포함하는 방향족 고리, 고리 시스템(즉, 2개의 인접하는 탄소 원자들을 공유하는 2 이상의 융합된(fused) 고리), 또는 복수의 방향족 고리가 단일결합, -O-, -S-, -C(=O)-, -$S(=O)_2$-, -Si(Ra)(Rb)-(Ra 및 Rb는 서로 독립적으로 탄소수 1 내지 10의 알킬기), 할로겐으로 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 10의 알킬렌기, 또는 -C(=O)-NH-에 의하여 서로 연결된 고리를 의미한다. 아릴기가 고리 시스템이면, 상기 시스템에서 각각의 고리는 방향족이다. 예를 들어, 아릴기는 페닐기, 비페닐기, 나프틸기, 페날트레닐기(phenanthrenyl), 나프타세닐기(naphthacenyl) 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 상기 아릴기는 치환되거나 치환되지 않을 수 있다.

[57] 본 명세서에서, "헤테로아릴"이라는 용어는 N, O, P 또는 S 중에서 선택된 하나 이상의 헤테로원자를 포함하고, 나머지 고리원자가 탄소인 모노시클릭(monocyclic) 또는 바이시클릭(bicyclic) 유기 화합물을 의미한다. 상기 헤테로아릴기는 탄소수는 특별히 한정되지 않으나 탄소수 2 내지 60일 수 있다. 상기 헤테로아릴기는 예를 들어, 치환 또는 비치환된 이미다졸릴기, 치환 또는 비치환된 트리아졸릴기, 치환 또는 비치환된 테트라졸릴기, 치환 또는 비치환된 옥사다이아졸릴기, 치환 또는 비치환된 옥사트리아졸릴기, 치환 또는 비치환된 싸이아트리아졸릴기, 치환 또는 비치환된 벤즈이미다졸릴기, 치환 또는 비치환된 벤조트리아졸릴기, 치환 또는 비치환된 피리디닐기, 치환 또는 비치환된 피리미디닐기, 치환 또는 비치환된 트리아지닐기, 치환 또는 비치환된 피라지닐기, 치환 또는 비치환된 피리다지닐기, 퀴놀린, 치환 또는 비치환된 이소퀴놀린, 치환 또는 비치환된 프탈라진, 치환 또는 비치환된 나프피리딘, 치환 또는 비치환된 퀴녹살린, 치환 또는 비치환된 퀴나졸린, 치환 또는 비치환된 아크리딘, 치환 또는 비치환된 페난트롤린 및 치환 또는 비치환된 페나진으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상 또는 이들의 조합된 구조일 수 있다.

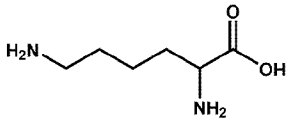
[58] 일 측면에 따른 알부민 결합체는 하기 화학식 1로 표시된다:

[59] <화학식 1>

[60] 

[61] 상기 화학식 1 중, A는 알부민 중 아민기를 제외한 그룹일 수 있다. 일 구현예에 따르면, 상기 아민기는 하기 화학식 3으로 표시된 라이신(lysine) 중 곁사슬에 포함된 아민기일 수 있다. 다른 구현예에 따르면, 상기 아민기는 하기 화학식 3으로 표시된 라이신 중 주사슬에 포함된 아민기일 수 있다.

[62] <화학식 3>

[63] 

[64] 일 구현예에 따르면, 상기 아민기는 상기 알부민의 SS1 사이트에 위치할 수 있다. 예를 들면, 상기 화학식 1 중 A는 상기 알부민 중 SS1 사이트에 위치한 라이신의 아민기를 제외한 모든 그룹일 수 있다. 상기 알부민의 SS1 사이트에 위치한 라이신은 라이신-199(Lysine-199 또는 Lys-199)로 지칭될 수 있다.

[65] 일 구현예에 따르면, 상기 알부민 결합체는 인간 혈청 알부민(human serum albumin; HSA) 또는 송아지 혈청 알부민(bovine serum albumin; BSA)을 포함할 수 있다. 즉, 상기 알부민은 인간 혈청 알부민(HSA) 또는 송아지 혈청 알부민(BSA)일 수 있다.

[66] 상기 화학식 1 중, Z는 N, O 또는 $C(R_{14})$일 수 있으며 R_{14}에 대한 설명은 후술된다. 일 구현예에 따르면, Z는 $C(R_{14})$일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[67] 상기 화학식 1 중, R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6은 서로 독립적으로, 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 포밀기, 카르복실기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}알킬기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알키닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴티오기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}헤테로아릴기, $Si(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-B(Q_1)(Q_2)$, $-C(=O)(Q_1)$, $-S(=O)_2(Q_1)$ 및 $-P(=O)(Q_1)(Q_2)$ 중에서 선택될 수 있고, Q_1 내지 Q_3에 대한 설명은 후술된다.

[68] 상기 화학식 1 중, 선택적으로 i) R_{11}과 R_{12}, ii) R_{12}와 R_{13}, iii) R_{13}과 R_{14}, iv) R_{21}과 R_{22}, v) R_{22}와 R_{23}, vi) R_{23}과 R_{24}, 또는 vii) 이의 임의의 조합은 서로 결합하여 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}카보시클릭 그룹 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클릭 그룹을 형성할 수 있다. 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1 중, R_{12}와 R_{13}은 서로 결합하여 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}카보시클릭 그룹 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클릭 그룹을 형성할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[69] 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1 중, R_{11} 내지 R_{14} 중 적어도 하나는 -F, -Cl, -Br, -I, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}알킬기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알케닐기 및

치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}알콕시기 중에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[70] 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1 중, R_{21} 내지 R_{24} 각각은 수소일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[71] 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1 중, R_3은 수소, 중수소 및 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴기 중에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[72] 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1 중, R_4는 히드록실기일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[73] 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 1 중, R_5 내지 R_6 각각은 수소일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[74] 화학식 1 중, m은 1 내지 5 중에서 선택된 정수일 수 있다. 일 구현예에 따르면, m은 1일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

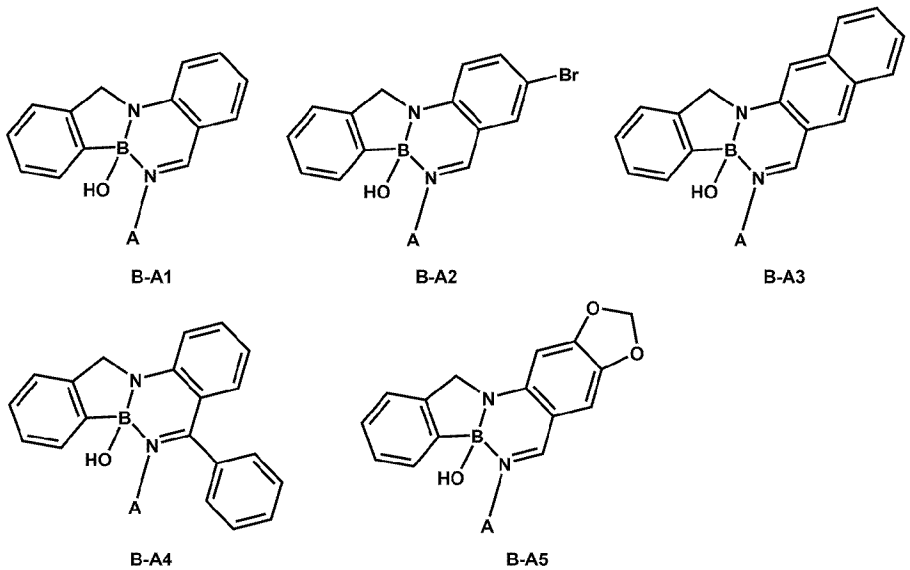
[75] Q_1 내지 Q_3은 서로 독립적으로,

[76] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기; 및

[77] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기 또는 이의 임의의 조합으로 치환 또는 비치환된, C_1-C_{10}알킬기, C_2-C_{10}알케닐기, C_2-C_{10}알키닐기, C_1-C_{10}알콕시기, C_3-C_{10}시클로알킬기, C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, C_3-C_{10}시클로알케닐기, C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, C_6-C_{20}아릴기 및 C_1-C_{20}헤테로아릴기 중에서 선택된다.

[78] 일 구현예에 따르면, 상기 알부민 결합체는 하기 알부민 결합체 B-A1 내지 B-A5 중 어느 하나일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다:

[79]



B-A1 B-A2 B-A3

B-A4 B-A5

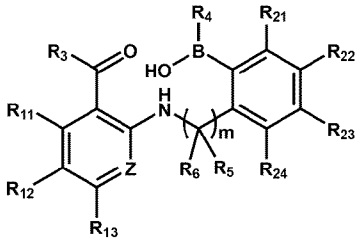
[80] 상기 알부민 결합체 B-A1 내지 B-A5 중, A는 본 명세서에 기재된 바와 동일하다.

[81] 일 구현예에 따르면, 상기 알부민 결합체는 형광 특성을 가질 수 있다.

[82] 일 구현예에 따르면, 상기 알부민 결합체는 광 조사 하에 활성 산소종을 생성할 수 있다.

[83] 다른 측면에 따르면, 하기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물과 알부민을 반응시키는 단계를 포함한, 알부민 결합체의 제조 방법이 개시된다:

[84] <화학식 2>

[85] 

[86] 상기 화학식 2 중,

[87] Z는 N, O 또는 $C(R_{14})$이고,

[88] R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6은 서로 독립적으로, 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 포밀기, 카르복실기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}알킬기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알키닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴티오기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}헤테로아릴기, $Si(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-B(Q_1)(Q_2)$, $-C(=O)(Q_1)$, $-S(=O)_2(Q_1)$ 및 $-P(=O)(Q_1)(Q_2)$ 중에서 선택되고,

[89] 선택적으로 i) R_{11}과 R_{12}, ii) R_{12}와 R_{13}, iii) R_{13}과 R_{14}, iv) R_{21}과 R_{22}, v) R_{22}와 R_{23}, vi) R_{23}과 R_{24}, 또는 vii) 이의 임의의 조합은 서로 결합하여 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10} 카보시클릭 그룹 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클릭 그룹을 형성하고,

[90] m은 1 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

[91] Q_1 내지 Q_3은 서로 독립적으로,

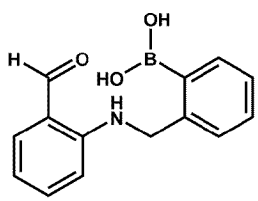
[92] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기; 및

[93] 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기 또는 이의 임의의 조합으로 치환 또는 비치환된, C_1-C_{10} 알킬기, C_2-C_{10}알케닐기, C_2-C_{10}알키닐기, C_1-C_{10}알콕시기, C_3-C_{10}시클로알킬기, C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, C_3-C_{10}시클로알케닐기, C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, C_6-C_{20}아릴기 및 C_1-C_{20}헤테로아릴기 중에서 선택된다.

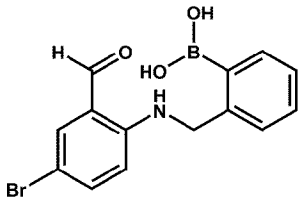
[94] 상기 화학식 2 중, Z, R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6 및 m 각각에 대한 설명은 화학식 1 중, Z, R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6 및 m 각각에 대한 설명을 참조한다.

[95] 일 구현예에 따르면, 상기 붕소 함유 화합물은 하기 화합물 B1 내지 B5 중 어느 하나일 수 있다:

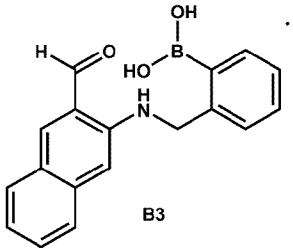
[96]



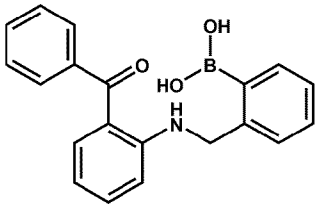
B1



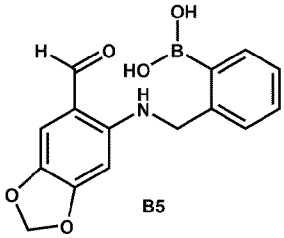
B2



B3



B4



B5

[97] 상기 알부민 결합체의 제조 방법은 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물과 인간 혈청 알부민(HSA)을 혼합하는 단계를 포함할 수 있다.

[98] 일 구현예에 따르면, 상기 화학식 2 중, 붕소(B)는 상기 알부민과 반응하여 4배위될 수 있다. 구체적으로, 3배위 붕소(B)는 알부민과 반응함으로써, 4배위 붕소(B)가 될 수 있다.

[99] 일 구현예에 따르면, 상기 붕소 함유 화합물과 알부민을 반응시키는 단계는 개체의 체외에서 수행될 수 있다.

[100] 일 구현예에 따르면, 상기 붕소 함유 화합물과 알부민을 반응시키는 단계는 개체의 혈액 내에서 수행될 수 있다. 예를 들면, 상기 알부민은 상기 개체의 혈액 내에 존재하고, 상기 붕소 함유 화합물을 상기 개체에 투여함으로써, 상기 붕소 함유 화합물과 상기 알부민이 반응할 수 있다. 즉, 상기 알부민 결합체는 상기 개체의 체내에서 제조될 수 있다.

[101] 또 다른 측면에 따르면, 상기 알부민 결합체 또는 상기 붕소 함유 화합물을 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물이 개시된다.

[102] 상기 암의 예로서는 유방암, 신장암, 고환암, 전립선암, 난소암, 자궁암, 자궁 경부암, 질암, 난관암, 직장암, 폐암, 위암, 간암, 식도암, 소장암, 췌장암, 구강암 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[103] 일 구현예에 따르면, 상기 알부민 결합체 또는 상기 붕소 함유 화합물은 형광 이미징 특성을 가질 수 있다. 예를 들면, 상기 알부민 결합체 또는 상기 붕소 함유 화합물은 형광을 방출하여 암(암세포 및/또는 암조직)을 시각화할 수 있다.

[104] 일 구현예에 따르면, 상기 알부민 결합체 또는 상기 붕소 함유 화합물은 활성 산소종 생성 특성을 가질 수 있다. 예를 들면, 상기 알부민 결합체 또는 상기 붕소 함유 화합물은 광 조사 하에 활성 산소종을 생성할 수 있다.

[105] 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물의 카르보닐기는 알부민의 SS1 사이트에 위치한 라이신(Lysine-199 또는 Lys-199)의 아민기와 반응하여 이민 결합을

형성할 수 있다. 이후, 이민 결합의 질소와 붕소 함유 화합물의 붕소가 결합하여 상기 화학식 1로 표시된 알부민 결합체를 형성할 수 있다.

[106] 상기 알부민 결합체는 상기 알부민 유래 그룹을 포함하므로, 알부민 수용체를 가진 암(암세포 및/또는 암조직)에 선택적으로 축적될 수 있다. 따라서, 상기 알부민 결합체는 암에 효과적으로 전달되어 암을 표적할 수 있다.

[107] 상기 알부민 결합체는 이민 결합 및 질소-붕소-질소(N-B-N) 그룹을 포함한 형광 발색단을 가지므로, 형광 특성을 가질 수 있다. 따라서, 상기 알부민 결합체는 암을 시각화 및/또는 형광 이미징할 수 있다.

[108] 상기 알부민 결합체는 광 조사 하에 활성 산소종을 생성할 수 있으므로, 광역학적으로 이용된 상기 알부민 결합체는 암을 치료할 수 있다.

[109] 또한, 상기 알부민 결합체는 상기 붕소 함유 화합물과 알부민을 단순 혼합함으로써 상대적으로 빠르게 생성되므로, 용이하게 제조될 수 있다. 따라서, 알부민은 개체의 혈액 내에 존재한다는 점에서, (예를 들어, 인간 혈청 알부민(HSA)은 인체 혈액 중에 약 35g/L 내지 약 55g/L로 존재함) 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물이 개체 내에 투여되는 경우, 개체 내에서 상기 화학식 1로 표시된 알부민 결합체가 상대적으로 빠르고 용이하게 생성될 수 있다.

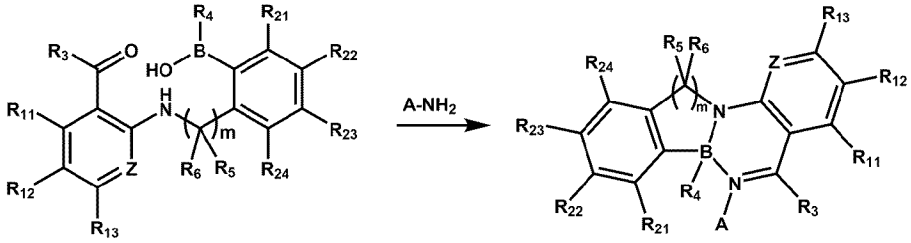
[110] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 따른 알부민 결합체의 X-ray 결정 구조를 도시한다.

[111] 도 1을 참조하면, 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물은 알부민의 SS1 사이트에 위치한 라이신(Lys-199)에 포함된 아민기와 공유 결합함을 알 수 있다. 즉, 알부민 중 시스테인-34 사이트의 -SH가 산화되는 경우 형성될 수 없는 결합체에 비해, 상기 붕소 함유 화합물과 알부민이 안정적으로 결합함으로써 본 발명에 따른 알부민 결합체는 안정적으로 형성될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 알부민 결합체는 약 pH 3 내지 12에서 안정하며, 알부민의 SS1 사이트는 공기 중에 노출되어도 산화되지 않는다.

[112] **<u>합성예 1 (알부민 결합체의 합성)</u>**

[113] PBS(phosphate-buffered saline) 완충용액 (pH 7.4)에 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물과 인간 혈청 알부민을 각각 200μM 용액이 되도록 1:1로 혼합하여 교반하였다. 이 용액을 냉장 또는 상온 보관하여 하기 반응식 1에 따라 상기 화학식 1로 표시된 알부민 결합체를 제조하였다:

[114] <반응식 1>

[115] 

[116] 상기 반응식 1 중,

[117] A-NH_2는 알부민이고,

[118] NH_2는 알부민 중 SS1 사이트에 위치한 라이신의 아민기이고,

[119] A는 알부민 중 상기 SS1 사이트에 위치한 라이신(Lysine-199 또는 Lys-199)의 아민기를 제외한 모든 그룹이다.

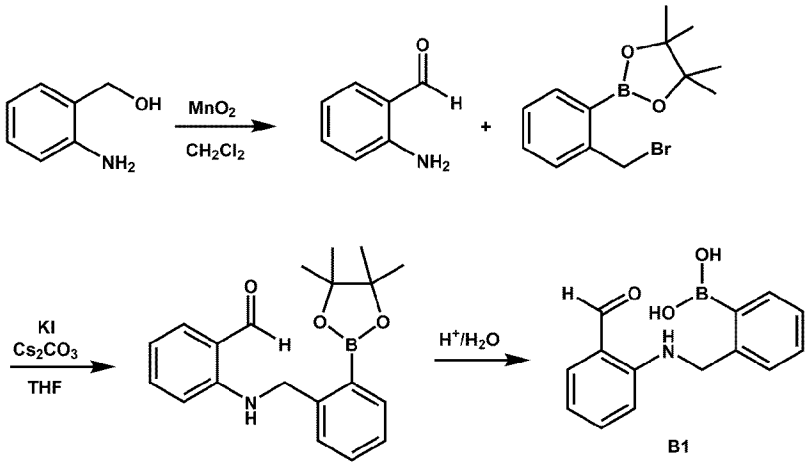
[120] 상기 반응식 1에 따라, 붕소 함유 화합물에 포함된 3배위 붕소가 알부민 결합체에 포함된 4배위 붕소로 변화함에 따라, 상기 알부민 결합체는 형광 특성을 가질 수 있다. 특히, 붕소 함유 화합물은 알부민 중 라이신(Lysine-199 또는 Lys-199)의 아민기와 결합됨으로써, 이민 결합이 생성되고, 질소-붕소-질소(N-B-N) 그룹이 생성되어 형광 발색단이 생성될 수 있다. 즉, 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물은 아민기와 반응하여 이민 결합을 형성할 수 있는 카르보닐기(C=O) 및 이민 결합과 4배위 형광 발색단을 생성할 수 있는 보론산기(-$B(OH)_2$)를 적절한 위치에 포함한다.

[121] **<u>합성예 2-1 (붕소 함유 화합물 B1의 합성)</u>**

[122] 화합물 B1을 합성하는 방법은 본 기술분야에 공지된 방법을 사용할 수 있으며, 예를 들어 하기 반응식 2-1의 방법으로 합성할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[123] <반응식 2-1>

[124]

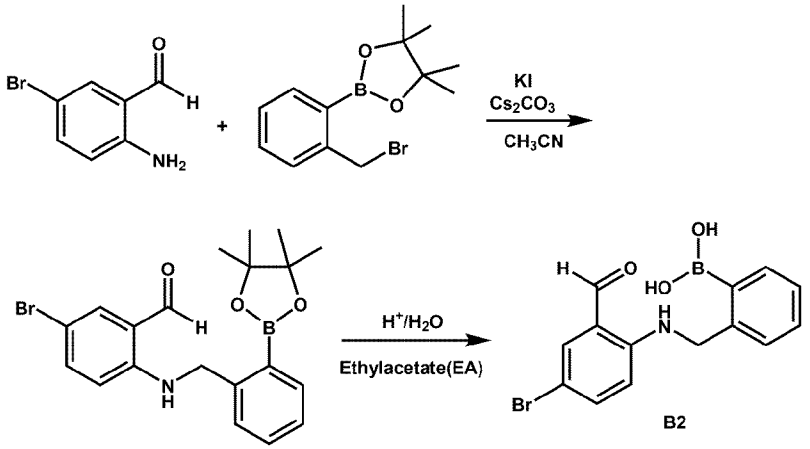


[125] **<u>합성예 2-2 (붕소 함유 화합물 B2의 합성)</u>**

[126] 화합물 B2를 합성하는 방법은 본 기술분야에 공지된 방법을 사용할 수 있으며, 예를 들어 하기 반응식 2-2의 방법으로 합성할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[127] <반응식 2-2>

[128]



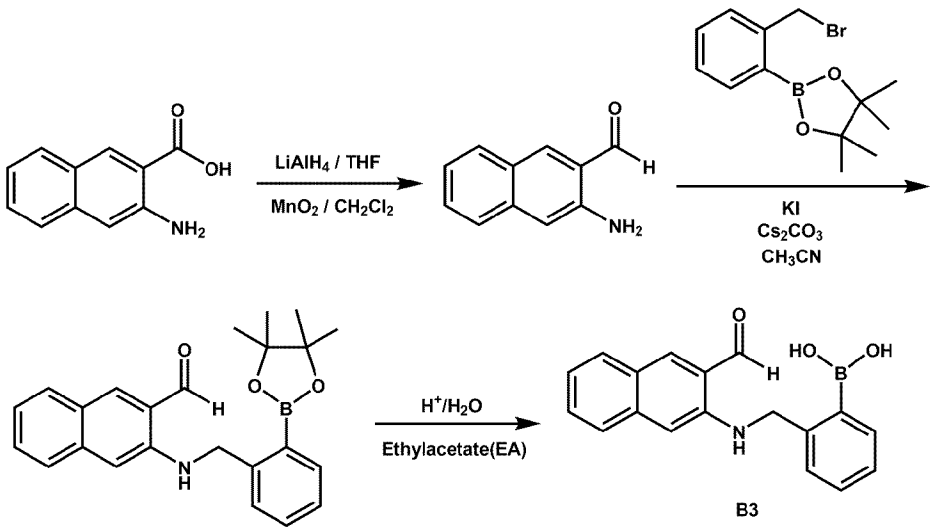
B2

[129] **합성예 2-3 (붕소 함유 화합물 B3의 합성)**

[130] 화합물 B3을 합성하는 방법은 본 기술분야에 공지된 방법을 사용할 수 있으며, 예를 들어 하기 반응식 2-3의 방법으로 합성할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[131] <반응식 2-3>

[132]



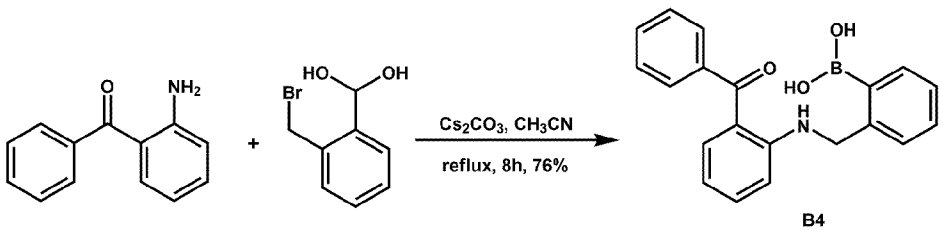
B3

[133] **합성예 2-4 (붕소 함유 화합물 B4의 합성)**

[134] 화합물 B4를 합성하는 방법은 본 기술분야에 공지된 방법을 사용할 수 있으며, 예를 들어 하기 반응식 2-4의 방법으로 합성할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[135] <반응식 2-4>

[136]



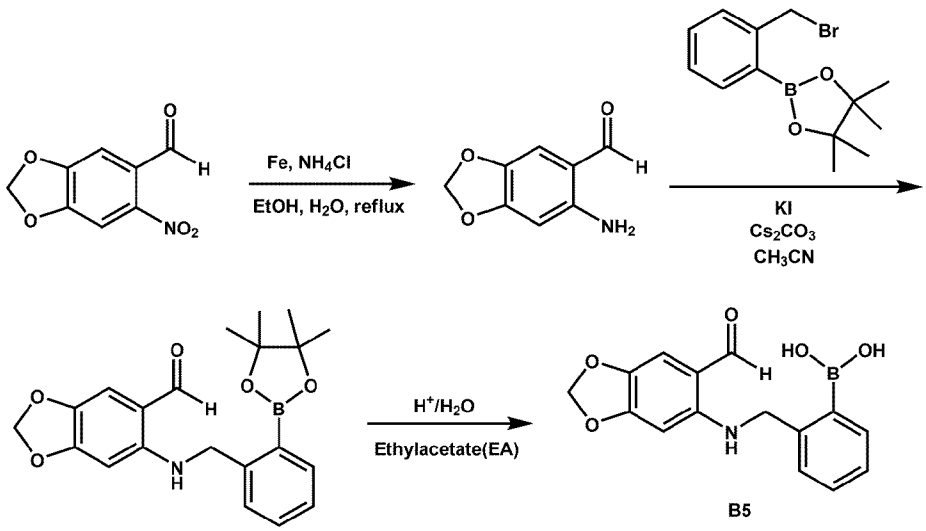
B4

[137] **합성예 2-5 (붕소 함유 화합물 B5의 합성)**

[138] 화합물 B5를 합성하는 방법은 본 기술분야에 공지된 방법을 사용할 수 있으며, 예를 들어 하기 반응식 2-5의 방법으로 합성할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 하기 반응식 2-5 중 EtOH는 에탄올이다.

[139] <반응식 2-5>

[140]



[141] **평가예 1 (결합능력 평가)**

[142] 95 부피%의 PBS 완충용액 및 5 부피%의 다이메틸 설폭사이드(dimethyl sulfoxide; DMSO)에 100nM의 붕소 함유 화합물 B1 및 알부민(HSA)을 혼합하여 2 시간 동안 혼합하였다. 상기 알부민의 농도를 증가시키며 형광 세기(fluorescence intensity; F.I.)의 변화를 측정하고, 이를 기초로 산출된 해리 상수(dissociation constant; K_d)를 도 2에 나타내었다.

[143] 도 2의 (a)는 100nM의 붕소 함유 화합물 B1에 대한 알부민의 농도 비율에 따른 형광 세기(F.I.)의 변화를 나타낸다. 예를 들어, 0:1은 붕소 함유 화합물을 사용하지 않고 100nM의 알부민(HSA)을 사용한 경우를 나타내며, 1:0은 100nM의 붕소 함유 화합물 B1을 사용하고 알부민(HSA)을 사용하지 않은 경우를 나타내고, 1:2는 100nM의 붕소 함유 화합물 B1 및 200nM의 알부민(HSA)을 사용한 경우를 나타내며, 1:16은 100nM의 붕소 함유 화합물 B1 및 1600nM의 알부민(HSA)을 사용한 경우를 나타낸다.

[144] 도 2의 (b)는 530nm에서의 상기 형광 세기(F.I.)의 변화를 기초로 fitting 프로그램을 이용하여 해리 상수(K_d)를 산출하는 것을 나타낸다.

[145] 붕소 함유 화합물 B1 대신 붕소 함유 화합물 B2 내지 B5에 대해서도 동일한 측정 방법에 의해 각각의 해리 상수(K_d)를 산출하였고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

[146] [표1]

붕소 함유 화합물	B1	B2	B3	B4	B5
알부민 결합체	B-A1	B-A2	B-A3	B-A4	B-A5
해리 상수	0.185	0.383	2.48	2.22	0.571

(μM)					

[147] 상기 표 1로부터, 알부민 결합체 B-A1 내지 B-A5 각각의 해리 상수(K_d)는 약 0.1μM 내지 약 2.5μM임을 알 수 있다. 따라서, 상대적으로 작은 해리 상수를 갖는 알부민 결합체 B-A1 내지 B-A5 각각은 우수한 결합 능력을 가짐을 알 수 있다. 이는, 붕소 함유 화합물 B1 내지 B5 각각은 알부민과 반데르발스 결합할 뿐만 아니라, 알부민의 SS1 사이트에 위치한 라이신(Lysine-199 또는 Lys-199)과 공유 결합하기 때문일 수 있다. 다만, 상기 화학식 1에 따른 알부민 결합체의 해리 상수는 약 0.1μM 내지 약 2.5μM의 범위에 한정되지 않으며, 상기 범위보다 작을 수 있고, 클 수도 있다.

[148] 반면에, 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물과 단량체 아미노산인 라이신의 해리 상수(K_d)는 대략 수 mM로서, 상기 붕소 함유 화합물은 알부민 이외의 단백질에 포함된 라이신과는 결합 능력이 매우 작을 수 있다. 실제로 일반적인 단백질에는 많은 라이신이 존재하지만, 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물들은 알부민 이외의 단백질들과는 결합 능력이 매우 작은 것으로 나타났다. 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물들이 인간 혈청 알부민(HSA)에 존재하는 199번의 라이신(Lysine-199)과 특히 강한 결합을 하는 것은 라이신과의 공유결합 이외에 화학식 2의 화합물들의 전체적인 구조와 인간 혈청 알부민(HSA)의 SS1 사이트의 공간적 상호 작용이 적합하기 때문일 수 있다는 것을 의미한다. 즉, SS1 사이트와의 반데르발스 결합 및 수소 결합에 의한 상호 작용을 통한 결합력과 라이신과의 공유 결합에 의한 결합력이 합쳐져서 화학식 2의 화합물과 인간 혈청 알부민(HSA)의 결합 능력이 강하게 나타난다고 볼 수 있다.

[149] **평가예 2 (양자 수율 평가)**

[150] 상기 알부민 결합체 B-A1 내지 B-A5 각각의 양자 수율(quantum yield, Φ)은 Angew. Chem. Int. ed. 2016, 55, 14728-14732를 참조하여 산출하였다. 구체적으로, 에탄올 용액에서 양자 수율이 약 79.0%로 알려진 플루오레세인(fluorescein)을 기준 시료로 하고, 상기 알부민 결합체 각각을 측정 시료로 하여 하기 식 1에 따라 산출하고, 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[151] <식 1>

[152] $\Phi = (\Phi_S) \times (I \times Ab_S \times \eta^2) / (I_S \times Ab \times (\eta_S)^2)$

[153] 상기 식 1 중,

[154] Φ는 측정 시료의 양자 수율이고,

[155] Φ_S는 기준 시료의 양자 수율이고,

[156] Ab는 측정 시료의 흡수 스펙트럼(absorption spectrum)에서의 흡광도(absorbance)이고,

[157] Ab_S는 기준 시료의 흡수 스펙트럼에서의 흡광도이고,

[158] I는 측정 시료의 방출 스펙트럼(emission spectrum)의 적분 면적(integration area)이고,

[159] I_s는 기준 시료의 방출 스펙트럼의 적분 면적이고,

[160] η는 측정시료의 굴절률이고,

[161] η_s는 측정시료의 굴절률이다.

[162] [표2]

붕소 함유 화합물	B1	B2	B3	B4	B5
알부민 결합체	B-A1	B-A2	B-A3	B-A4	B-A5
양자 수율 (%)	52.6	5.6	ND	3.3	91.1

[163] 상기 표 2 중, 붕소 함유 화합물 B3의 양자 수율은 상대적으로 낮아 측정되지 않았다(not detecting; ND).

[164] 상기 표 2로부터, 알부민 결합체 B-A1 및 B-A5는 상대적으로 높은 양자 수율을 가지므로, 우수한 형광 특성을 가짐을 알 수 있다. 따라서, 암(암세포 및/또는 암 조직)에 선택적으로 축적된 알부민 결합체 B-A1 및 B-A5에 의해, 상기 암의 위치는 시각적으로 확인될 수 있다. 즉, 본 발명의 일 구현예에 따른 알부민 결합체는 암의 위치를 형광 이미징할 수 있다.

[165] **<u>평가예 3-1 (ROS 생성 평가)</u>**

[166] DCFH-DA(2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate)는 생성되는 활성 산소종(reactive oxygen species; ROS)의 양에 비례하여 형광을 발생시킨다.

[167] PBS 완충용액 (pH 7.4)에 10μM의 알부민 결합체 B-A1-HSA 및 5μM의 DCFH-DA를 혼합하고, 530nm의 광을 조사하였다. 시간에 따라 발생되는 형광을 scinco FS-2를 이용하여 측정하고, 그 결과를 도 3a 및 6에 나타내었다. 도 6 중, "F.I. - $F.I._0$."는 "형광 세기 - 초기 형광 세기"를 의미한다. 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA는 붕소 함유 화합물 B1에 알부민을 반응시켜 제조된 알부민 결합체 B-A1 중, 상기 알부민이 인간 혈청 알부민(HSA)인 경우를 의미한다.

[168] 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA 대신 알부민 결합체 B-A2-HSA를 이용한 결과를 도 3b 및 6에 나타내었다. 상기 알부민 결합체 B-A2-HSA는 붕소 함유 화합물 B2에 알부민을 반응시켜 제조된 알부민 결합체 B-A2 중, 상기 알부민이 인간 혈청 알부민(HSA)인 경우를 의미한다.

[169] 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA 대신 알부민 결합체 B-A3-HSA을 이용한 결과를 도 3c 및 6에 나타내었다. 상기 알부민 결합체 B-A3-HSA는 붕소 함유 화합물 B3에 알부민을 반응시켜 제조된 알부민 결합체 B-A3 중, 상기 알부민이 인간 혈청 알부민(HSA)인 경우를 의미한다.

[170] 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA 대신 붕소 함유 화합물 B1을 이용한 결과를 도 4a 및 6에 나타내었다.

[171] 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA 대신 붕소 함유 화합물 B2를 이용한 결과를 도 4b 및 6에 나타내었다.

[172] 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA 대신 붕소 함유 화합물 B3을 이용한 결과를 도 4c 및 6에 나타내었다.

[173] 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA를 사용하지 않고, DCFH-DA를 사용한 결과를 도 5a 및 6에 나타내었다.

[174] 상기 알부민 결합체 B-A1-HSA 및 DCFH-DA를 사용하지 않고, 인간 혈청 알부민(HSA)을 사용한 결과를 도 5b 및 6에 나타내었다.

[175] 상기 도 3a 내지 3c, 4a 내지 4c, 5a 및 5b를 참조하면, 붕소 함유 화합물만(B1, B2 또는 B3)을 채용하거나, DCFH-DA만을 채용하거나, 또는 인간 혈청 알부민(HSA)만을 채용한 경우에 비하여, 본 발명의 일 구현예에 따른 알부민 결합체 B-A2-HSA를 채용한 경우에 활성 산소종의 생성양이 증가함을 알 수 있다. 특히, 대략 520nm 내지 대략 540nm의 광이 조사된 경우, 알부민 결합체 B-A2-HSA의 활성 산소종(ROS) 생성 능력이 우수함을 알 수 있다. 다만, 상기 화학식 1에 따른 알부민 결합체의 산소종(ROS) 생성 능력은 대략 520nm 내지 대략 540nm의 광이 조사된 경우에만 우수하다는 것으로 한정되지 않으며, 자외선, 가시광선, 근적외선, 적외선 등 임의의 파장을 갖는 광이 조사된 경우에도 상기 화학식 1에 따른 알부민 결합체의 산소종(ROS) 생성 능력이 우수할 수 있다.

[176] 도 6 및 상기 표 2를 참조하면, 알부민 결합체 B-A2-HSA는 상대적으로 낮은 양자 수율을 갖는 대신에 우수한 활성 산소종 생성 능력을 가짐을 알 수 있다.

[177] 알부민 결합체는 4배위 붕소를 포함하고, 붕소 함유 화합물은 3배위 붕소를 포함하기 때문에, 알부민 결합체의 활성 산소종 생성 능력이 붕소 함유 화합물의 활성 산소종 생성 능력보다 우수할 수 있다. 즉, 붕소 함유 화합물은 알부민과 반응(또는 결합)하여 알부민 결합체가 제조되기 전과 후에 활성 산소종 생성 능력의 차이가 발생함을 알 수 있다.

[178] 다만, 도 3c, 4c 및 5b를 참조하면, 알부민 결합체 B-A3-HSA의 활성 산소종 생성 능력은 붕소 함유 화합물 B3의 활성 산소종 생성 능력 또는 인간 혈청 알부민(HSA)의 활성 산소종 생성 능력과 상대적으로 유사해 보일 수 있으므로, 하기 평가예 3-2를 수행하였다.

[179] **<u>평가예 3-2 (라이신 농도에 따른 ROS 생성 평가)</u>**

[180] i) PBS 완충용액 (pH 7.4)에 1.0mM의 라이신(이하, Lys)을 혼합하고, 대략 530nm의 광을 조사하였다. 시간에 따라 발생되는 형광을 scinco FS-2를 이용하여 측정하고, 그 결과를 도 7a에 나타내었다.

[181] ii) 상기 1.0mM의 라이신(Lys) 대신 10μM의 붕소 함유 화합물 B3을 혼합한 결과를 도 7b에 나타내고, iii) 상기 1.0mM의 라이신(Lys) 대신 10μM의 붕소 함유 화합물 B3 및 0.1mM의 라이신(Lys)을 혼합한 결과를 도 7c에 나타내고, iv) 상기 1.0mM의 라이신(Lys) 대신 10μM의 붕소 함유 화합물 B3 및 1.0mM의 라이신(Lys)을 혼합한 결과를 도 7d에 나타내었다.

[182] 도 7a 내지 7d를 참조하면, 붕소 함유 화합물 B3는 상대적으로 큰 농도의 단량체 라이신(예를 들어, 대략 1.0mM)과 혼합되는 경우, 상대적으로 많은 양의 활성 산소종이 생성됨을 알 수 있다.

[183] 암세포 및/또는 암조직은 성장에 필요한 영양분을 알부민을 통해 공급받으므로, 알부민 결합체 B-A3가 암세포 내에서 분해되어 붕소 함유 화합물 B3이 생성될 수 있다. 암세포는 대략 1.0mM 이상의 단량체 라이신 및 아미노산을 포함하므로, 상기 생성된 붕소 함유 화합물 B3은 단량체 라이신 및 아미노산과 혼합되어 상대적으로 많은 양의 활성 산소종을 생성할 수 있다. 즉, 암세포에 축적된 알부민 결합체 B-A3(또는 붕소 함유 화합물 B3)는 광역학적으로 암을 치료할 수 있을 것으로 예상된다.

[184] **평가예 4 (암 표적 평가)**

[185] 6개체의 마우스(mouse)에 암 세포(MDA-MB-231 cell)를 이식하고 약 7~10일 후 암조직이 약 100~150mm^3으로 성장한 것을 확인하였다. 이후, i) vehicle, ii) 붕소 함유 화합물 B2와 송아지 혈청 알부민(bovine serum albumin; BSA)이 반응하여 제조된 알부민 결합체 B-A2-BSA (50μM) 및 iii) 붕소 함유 화합물 B2와 인간 혈청 알부민(human serum albumin; HSA)이 반응하여 제조된 알부민 결합체 B-A2-HSA (50μM) 각각을 마우스에 정맥 주사하였다. 일정 시간마다 마우스의 장기 조직을 적출하여 형광 특성을 관찰하고, 그 결과를 도 8에 나타내었다. 구체적으로, 마우스의 심장, 폐, 간, 신장, 비장 및 암조직 각각의 형광 특성을 관찰하였다.

[186] 나노 물질은 EPR(Enhacned Permeability and Retention) 효과에 의해 암조직에 선택적으로 축적될 수 있다. 다만, 일반적으로 나노 물질은 간에도 선택적으로 축적될 수 있어 간독성 등의 부작용이 발생할 수 있다.

[187] 도 8을 참조하면, B-A2-HSA는 우수한 효율로 암조직에만 선택적으로 축적되고, 상대적으로 간에는 축적되지 않음을 알 수 있다. 이는, B-A2-HSA는 단순히 EPR 효과에 의해 암조직에 축적되는 것이 아니라, 암조직이 알부민을 수용하는 능력으로 인해 암조직에만 선택적으로 축적된 것을 의미할 수 있다. 따라서, B-A2-HSA는 간에 축적되어 부작용을 발생시킬 가능성을 감소시킬 수 있다.

[188] 평가예 4는 붕소 함유 화합물 B2에 대해 실시되었으나, 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물은 동일한 상기 반응식 1에 의해 상기 화학식 1로 표시된 알부민 결합체로 제조될 수 있으므로, 본 발명에 따른 알부민 결합체가 암조직에 선택적으로 축적될 수 있음은 자명하다.

[189] 또한, 상기 화학식 1로 표시된 알부민 결합체 및 상기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물은 암조직에 선택적으로 축적될 수 있는 바, 상기 알부민 결합체 또는 상기 붕소 함유 화합물에 항암제를 결합하는 경우, 상기 항암제를 효과적으로 암조직에 선택적으로 축적(또는 이동)시킬 수 있음은 자명하다.

[190] **평가예 5 (암 치료 평가 1)**

[191] 6개체의 마우스에 암(MDA-MB-231 cell)을 이식하고 암조직이 약 100mm^3 이상으로 성장한 것을 확인하였다.

[192] i) 제1개체는 대조군이다.

[193] ii) 제2개체에 붕소 함유 화합물 B2를 정맥 주사(intravenous, 이하 I.V.)하였다. (B2(I.V.)

[194] iii) 제3개체에 붕소 함유 화합물 B2와 인간 혈청 알부민(HSA)이 반응하여 제조된 알부민 결합체 B-A2-HSA를 정맥 주사하였다. (B-A2-HSA(I.V.))

[195] iv) 제4개체에 B-A2-HSA를 직접 암조직에 주사(intratumor, 이하 I.T.)하였다. (B-A2-HSA(I.T.))

[196] v) 제5개체에 붕소 함유 화합물 B2와 송아지 혈청 알부민(BSA)이 반응하여 제조된 알부민 결합체 B-A2-BSA를 정맥 주사하였다. (B-A2-BSA(I.V.))

[197] vi) 제6개체에 B-A2-BSA를 직접 암조직에 주사하였다. (B-A2-BSA(I.T.))

[198] 주사 후 4시간이 경과한 때, 녹색광(약 490 내지 530nm)을 20분간 조사하였다. 상기 주사하는 것과 상기 녹색광을 조사하는 것은 일주일에 1회씩 진행되었고, 총 3회 진행되었다. 암을 이식한 시점으로부터 28일 후 각 마우스의 암조직 크기를 비교하였고, 그 결과를 도 9a 및 9b에 나타내었다.

[199] 도 9a 및 9b를 참조하면, 본 발명에 따른 알부민 결합체(B-A2-HSA, B-A2-BSA)는 정맥 주사하였는지 암조직에 직접 주사하였는지와 무관하게 암조직의 크기를 감소시킬 수 있음을 확인할 수 있다.

[200] 마우스는 인간 혈청 알부민을 포함하지 않으므로, 붕소 함유 화합물 B2를 주사한 경우보다 알부민 결합체(B-A2-HSA, B-A2-BSA)를 주사한 경우의 암 치료 효과가 우수할 수 있다. 다만, 마우스 이외의 개체가 인간 혈청 알부민을 포함한 경우, 붕소 함유 화합물 B2를 주사한 경우에 우수한 암 치료 효과를 가질 수 있음은 자명하다.

[201] **평가예 6 (암 치료 평가 2)**

[202] 8개체의 마우스에 암(MDA-MB-231 cell)을 이식하고 암조직이 약 100mm^3 이상으로 성장한 것을 확인하였다.

[203] i) 제1개체 및 제5개체 각각은 대조군이다.

[204] ii) 제2개체 및 제6개체 각각에 붕소 함유 화합물 B2를 정맥 주사하였다.

[205] iii) 제3개체 및 제7개체 각각에 붕소 함유 화합물 B2와 인간 혈청 알부민(HSA)이 반응하여 제조된 알부민 결합체 B-A2-HSA를 정맥 주사하였다.

[206] iv) 제4개체 및 제8개체 각각에 붕소 함유 화합물 B2와 송아지 혈청 알부민(BSA)이 반응하여 제조된 알부민 결합체 B-A2-BSA를 정맥 주사하였다.

[207] 정맥 주사 후 4시간이 경과한 때, 상기 제1개체 내지 제4개체 각각에 녹색광(약 490 내지 530nm)을 20분간 조사하고, 상기 제5개체 내지 제8개체에는 광을 조사하지 않았다. 상기 주사하는 것과 상기 녹색광을 조사하는 것은 일주일에 1회씩 진행되었고, 총 3회 진행되었다.

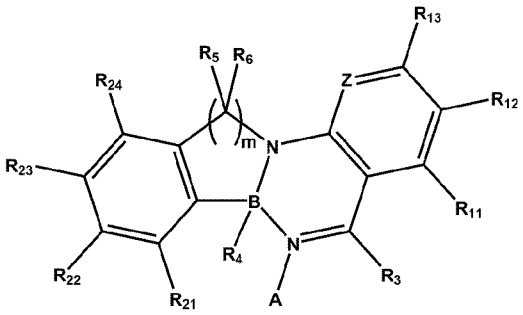
[208] 암을 이식한 시점으로부터 28일 후 각 마우스의 암조직 크기를 비교하였고, 그 결과를 도 10a 내지 10c에 나타내었다. 구체적으로 도 10a는 제1개체 내지 제8개체 각각의 암을 염색한 결과를 나타낸 도면이고, 도 10b는 제1개체 내지 제4개체 각각의 암을 적출한 도면이고, 도 10c는 제1개체 내지 제4개체 각각의 암의 크기를 시간에 따라 나타낸 도면이다.

[209] 도 10a 내지 10c를 참조하면, 본 발명에 따른 알부민 결합체(B-A2-HSA, B-A2-BSA)는 광 조사 하에 암조직의 크기를 효과적으로 감소시킬 수 있음을 확인할 수 있다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시된 알부민 결합체:

<화학식 1>



상기 화학식 1 중,

A는 알부민 중 아민기를 제외한 그룹이고,

Z는 N, O 또는 $C(R_{14})$이고,

R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6은 서로 독립적으로, 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 포밀기, 카르복실기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}알킬기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알키닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴티오기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}헤테로아릴기, $Si(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-B(Q_1)(Q_2)$, $-C(=O)(Q_1)$, $-S(=O)_2(Q_1)$ 및 $-P(=O)(Q_1)(Q_2)$ 중에서 선택되고,

선택적으로 i) R_{11}과 R_{12}, ii) R_{12}와 R_{13}, iii) R_{13}과 R_{14}, iv) R_{21}과 R_{22}, v) R_{22}와 R_{23}, vi) R_{23}과 R_{24}, 또는 vii) 이의 임의의 조합은 서로 결합하여 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}카보시클릭 그룹 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클릭 그룹을 형성하고,

m은 1 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

Q_1 내지 Q_3은 서로 독립적으로,

수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기; 및

수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기 또는 이의 임의의 조합으로 치환 또는 비치환된, C_1-C_{10}알킬기, C_2-C_{10}알케닐기, C_2-C_{10}알키닐기, C_1-C_{10}알콕시기, C_3-C_{10}시클로알킬기, C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, C_3-C_{10}시클로알케닐기, C_1-

C_{10}헤테로시클로알케닐기, C_6-C_{20}아릴기 및 C_1-C_{20}헤테로아릴기 중에서 선택된다.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 아민기는 라이신(lysine)에 포함된 아민기인, 알부민 결합체.

[청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 아민기는 상기 알부민의 SS1 사이트에 위치한, 알부민 결합체.

[청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 알부민 결합체는 인간 혈청 알부민(human serum albumin) 또는 송아지 혈청 알부민(bovine serum albumin)을 포함한, 알부민 결합체.

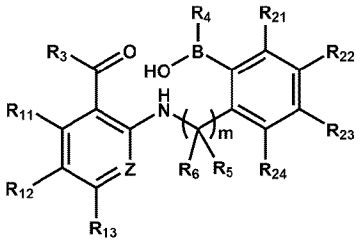
[청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 화학식 1 중,
m은 1인, 알부민 결합체.

[청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 알부민 결합체는 형광 특성을 갖는, 알부민 결합체.

[청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 알부민 결합체는 광 조사 하에 활성 산소종을 생성하는, 알부민 결합체.

[청구항 8] 하기 화학식 2로 표시된 붕소 함유 화합물과 알부민을 반응시키는 단계를 포함한, 알부민 결합체의 제조 방법:

<화학식 2>



상기 화학식 2 중,
Z는 N, O 또는 C(R_{14})이고,
R_{11} 내지 R_{14}, R_{21} 내지 R_{24} 및 R_3 내지 R_6은 서로 독립적으로, 수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 포밀기, 카르복실기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}알킬기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10}알키닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20}아릴티오기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20}헤테로아릴기, $Si(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-B(Q_1)(Q_2)$, $-C(=O)(Q_1)$, $-S(=O)_2(Q_1)$ 및 $-P(=O)(Q_1)(Q_2)$ 중에서 선택되고,

선택적으로 i) R_{11}과 R_{12}, ii) R_{12}와 R_{13}, iii) R_{13}과 R_{14}, iv) R_{21}과 R_{22}, v) R_{22}와 R_{23}, vi) R_{23}과 R_{24}, 또는 vii) 이의 임의의 조합은 서로 결합하여 치환 또는 비치환된 C_3-C_{10}카보시클릭 그룹 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10}헤테로시클릭 그룹을 형성하고,

m은 1 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

Q_1 내지 Q_3은 서로 독립적으로,

수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기; 및

수소, 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 히드록실기, 시아노기, 니트로기, 아미디노기, 히드라지노기, 히드라조노기 또는 이의 임의의 조합으로 치환 또는 비치환된, C_1-C_{10}알킬기, C_2-C_{10}알케닐기, C_2-C_{10}알키닐기, C_1-C_{10}알콕시기, C_3-C_{10}시클로알킬기, C_1-C_{10}헤테로시클로알킬기, C_3-C_{10}시클로알케닐기, C_1-C_{10}헤테로시클로알케닐기, C_6-C_{20}아릴기 및 C_1-C_{20}헤테로아릴기 중에서 선택된다.

[청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 붕소 함유 화합물과 알부민을 반응시키는 단계는 개체의 체외에서 수행되는, 제조 방법.

[청구항 10] 제8항에 있어서, 상기 붕소 함유 화합물과 알부민을 반응시키는 단계는 개체의 혈액 내에서 수행되는, 제조 방법.

[청구항 11] 제1항의 알부민 결합체를 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물.

[청구항 12] 제8항의 붕소 함유 화합물을 포함한 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물.

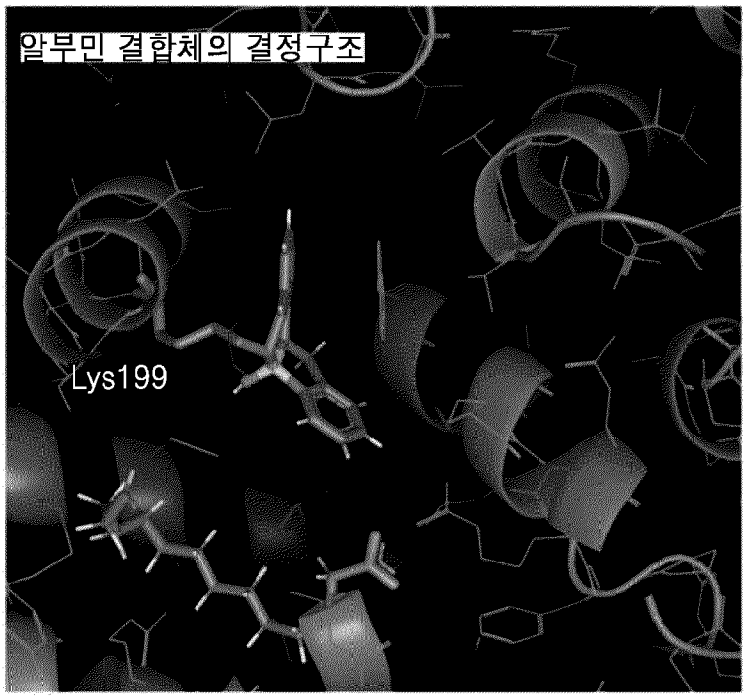
[청구항 13] 제11항에 있어서,

상기 알부민 결합체는 형광 특성을 갖는, 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물.

[청구항 14] 제11항에 있어서,

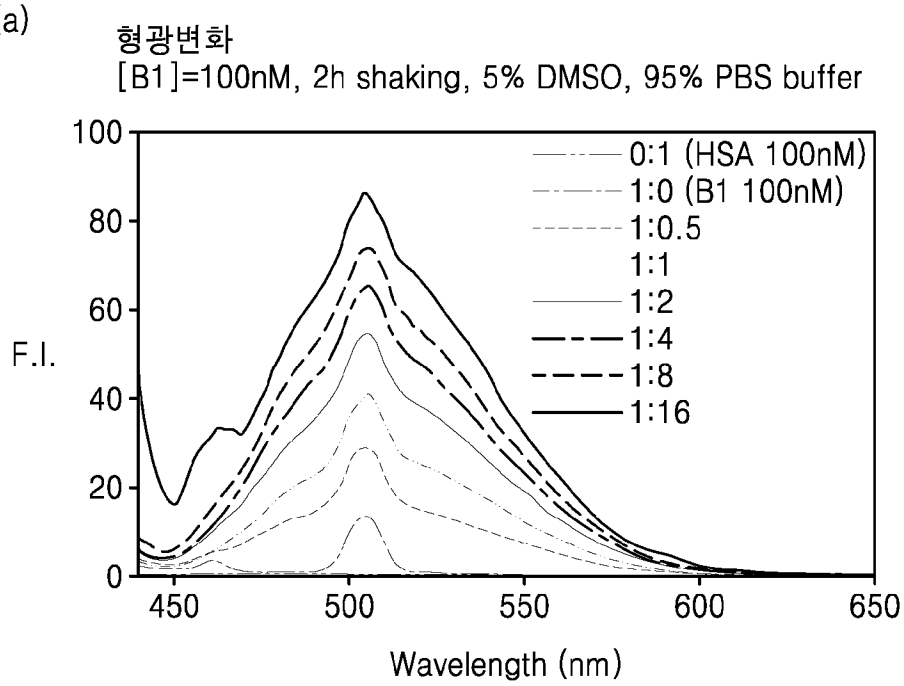
상기 알부민 결합체는 활성 산소종 생성 특성을 갖는, 암 표적, 진단 또는 치료용 조성물.

[도1]

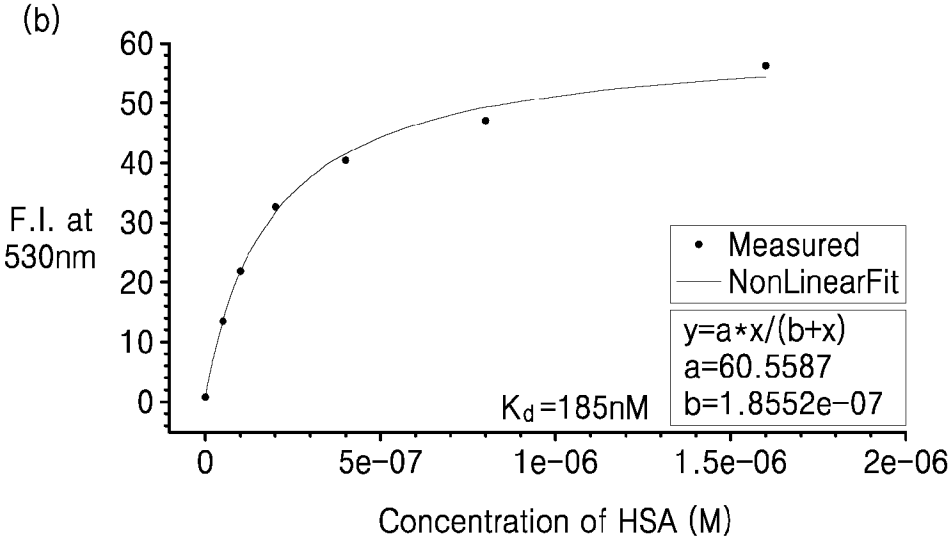


[도2]

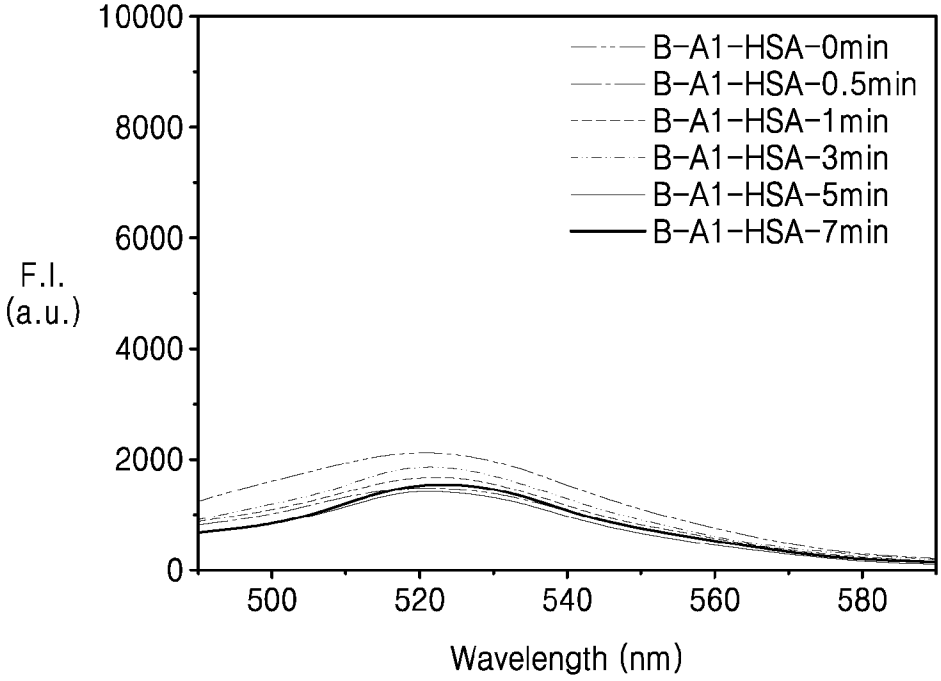
(a)


형광변화
[B1]=100nM, 2h shaking, 5% DMSO, 95% PBS buffer
F.I.
Wavelength (nm)
0:1 (HSA 100nM)
1:0 (B1 100nM)
1:0.5
1:1
1:2
1:4
1:8
1:16

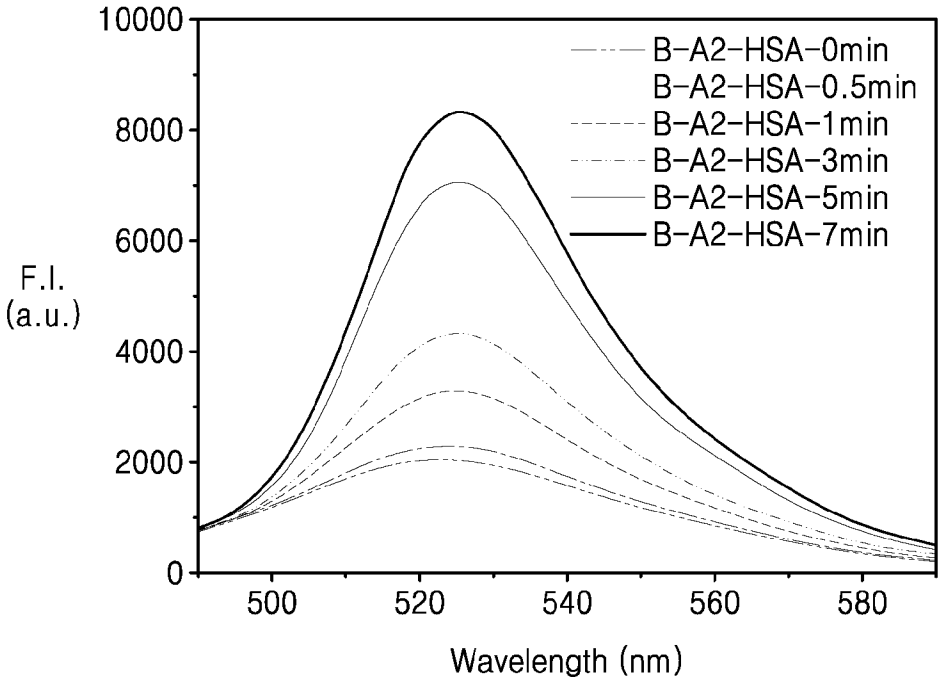
(b)


F.I. at 530nm
Concentration of HSA (M)
Measured
NonLinearFit
y=a*x/(b+x)
a=60.5587
b=1.8552e-07
Kd=185nM

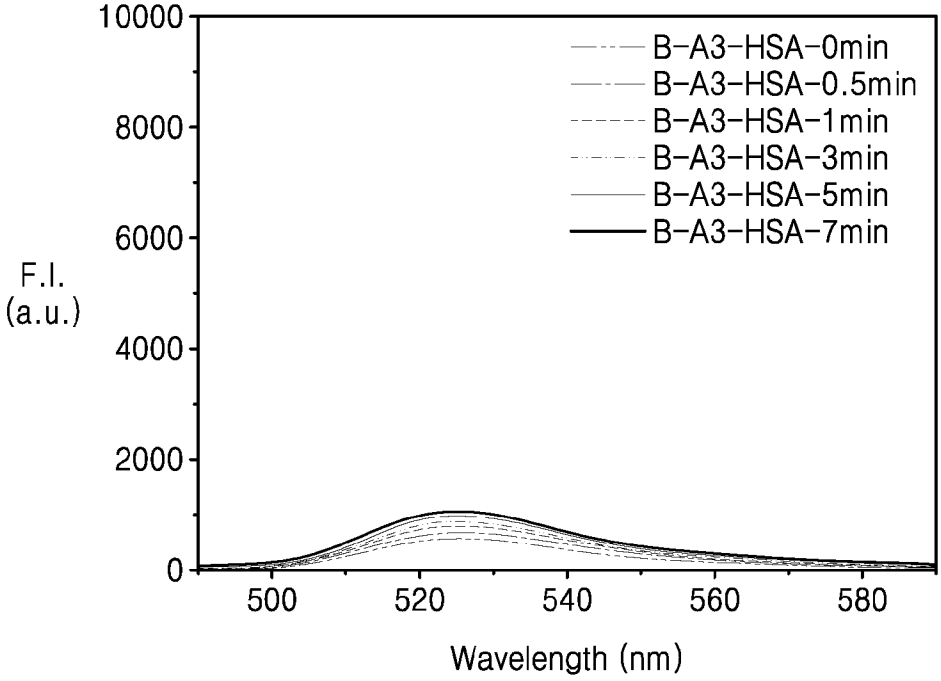
[도3a]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
B-A1-HSA-0min
B-A1-HSA-0.5min
B-A1-HSA-1min
B-A1-HSA-3min
B-A1-HSA-5min
B-A1-HSA-7min

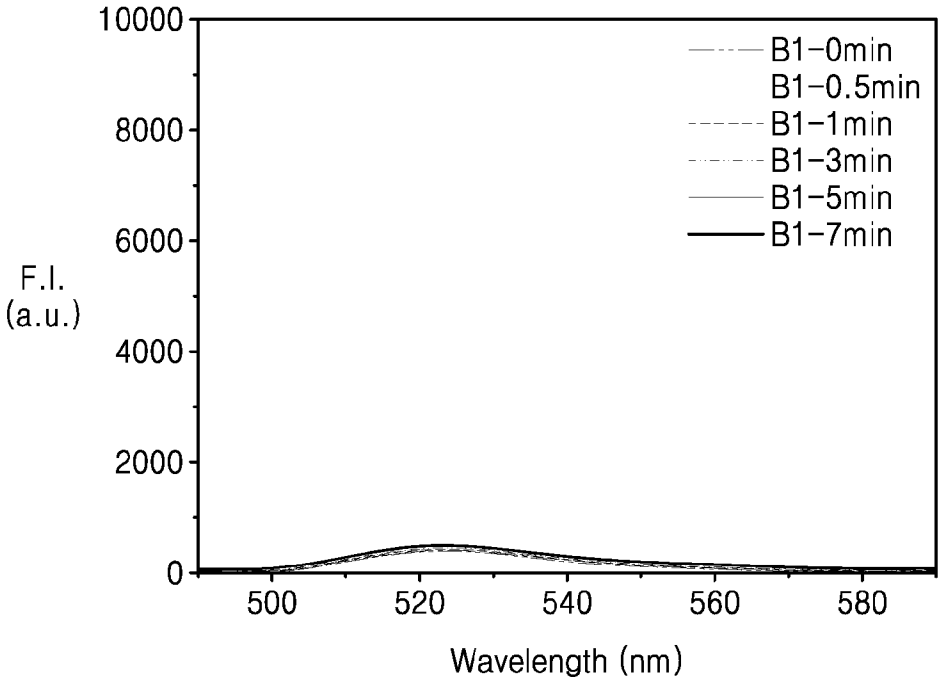
[도3b]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
B-A2-HSA-0min
B-A2-HSA-0.5min
B-A2-HSA-1min
B-A2-HSA-3min
B-A2-HSA-5min
B-A2-HSA-7min

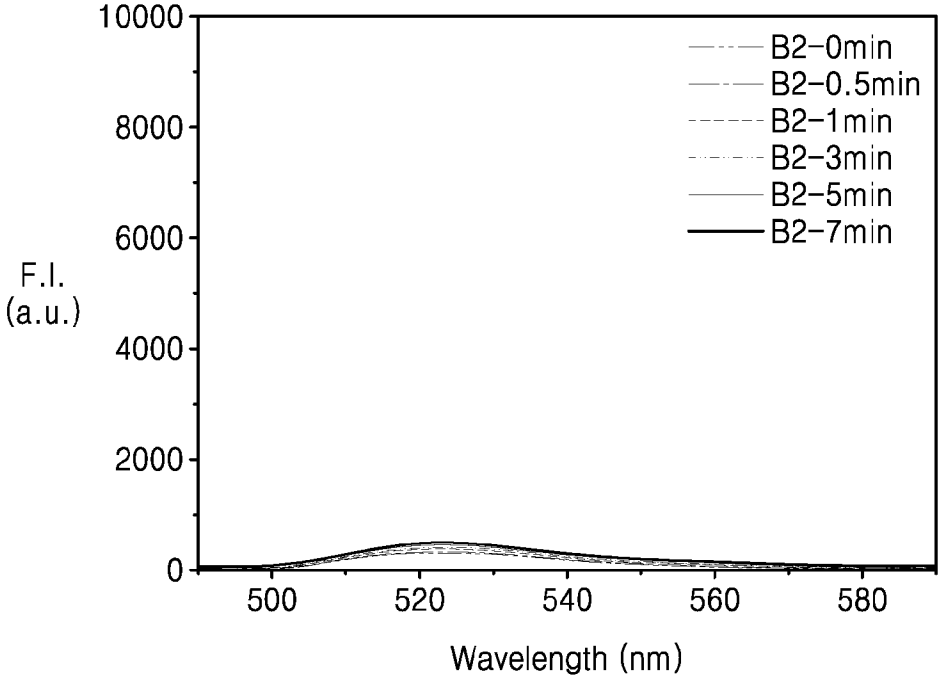
[도3c]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
B-A3-HSA-0min
B-A3-HSA-0.5min
B-A3-HSA-1min
B-A3-HSA-3min
B-A3-HSA-5min
B-A3-HSA-7min

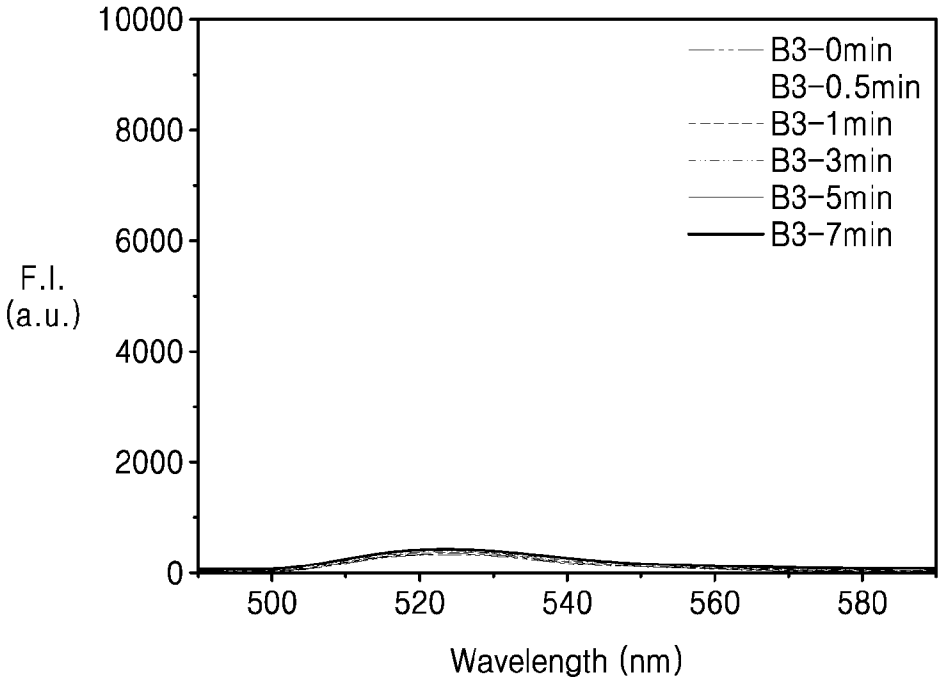
[도4a]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
B1-0min
B1-0.5min
B1-1min
B1-3min
B1-5min
B1-7min

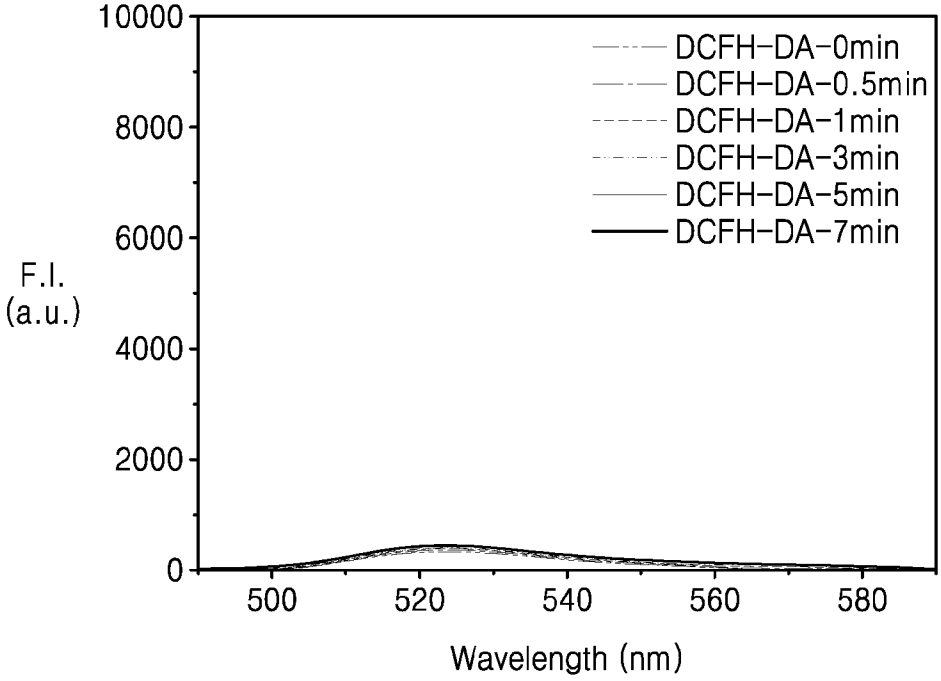
[도4b]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
B2-0min
B2-0.5min
B2-1min
B2-3min
B2-5min
B2-7min

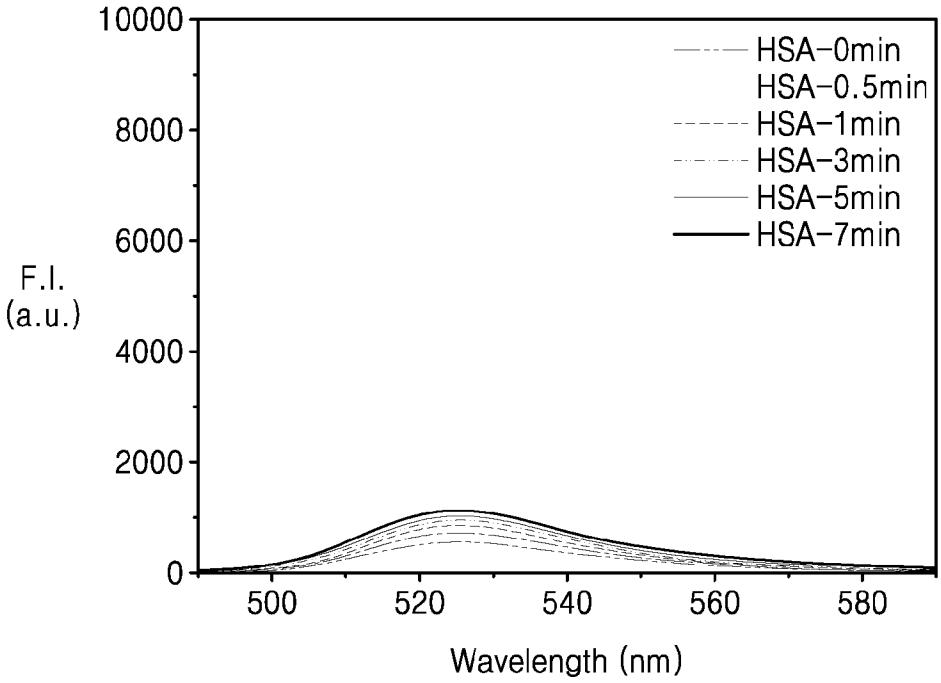
[도4c]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
B3-0min
B3-0.5min
B3-1min
B3-3min
B3-5min
B3-7min

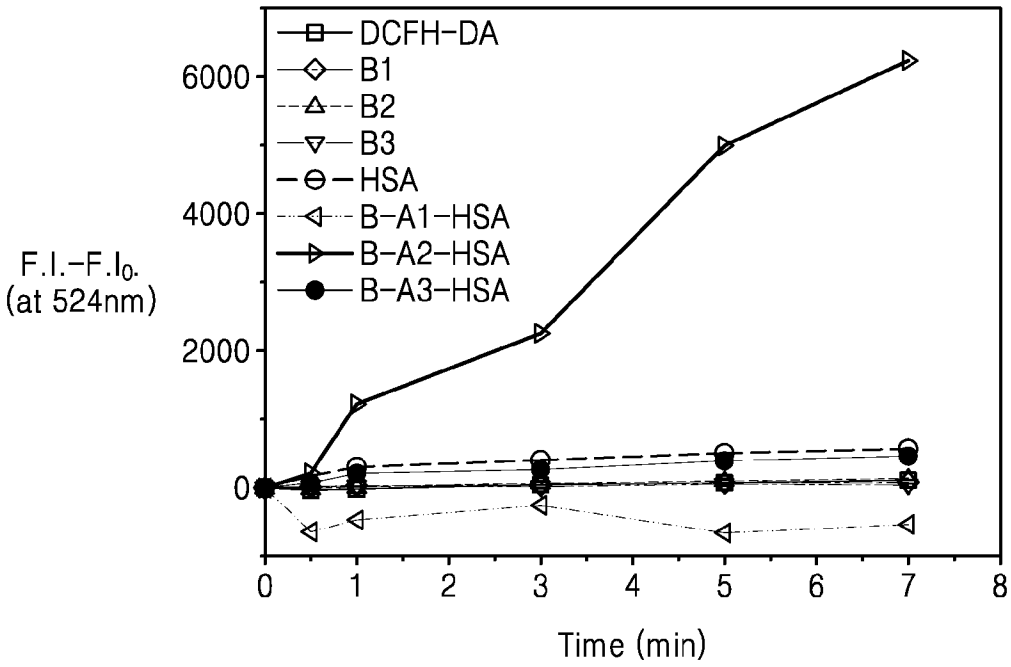
[도5a]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
DCFH-DA-0min
DCFH-DA-0.5min
DCFH-DA-1min
DCFH-DA-3min
DCFH-DA-5min
DCFH-DA-7min

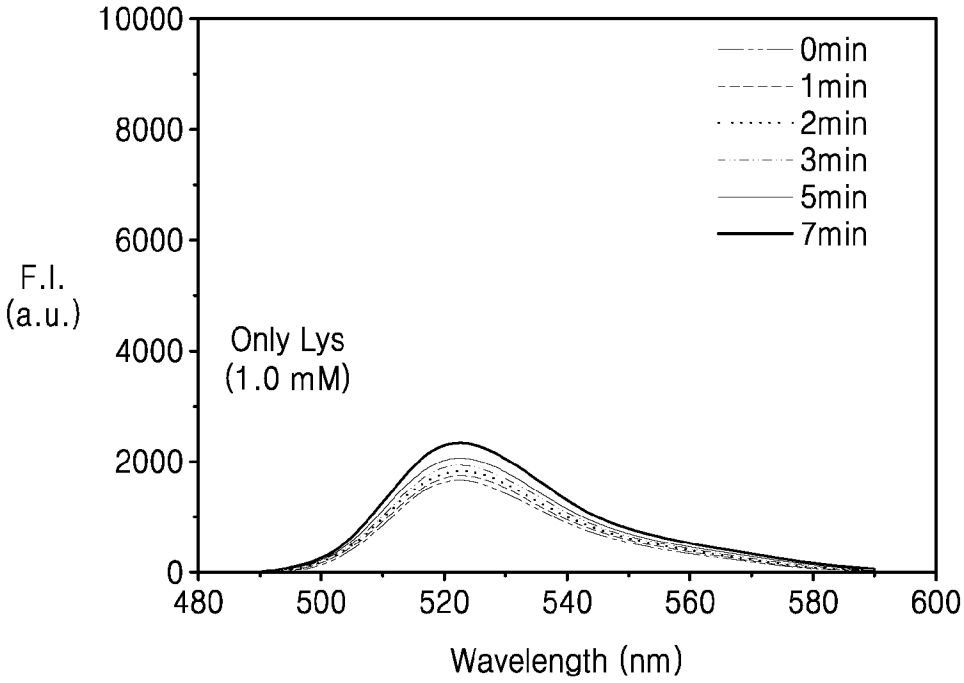
[도5b]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)
HSA-0min
HSA-0.5min
HSA-1min
HSA-3min
HSA-5min
HSA-7min

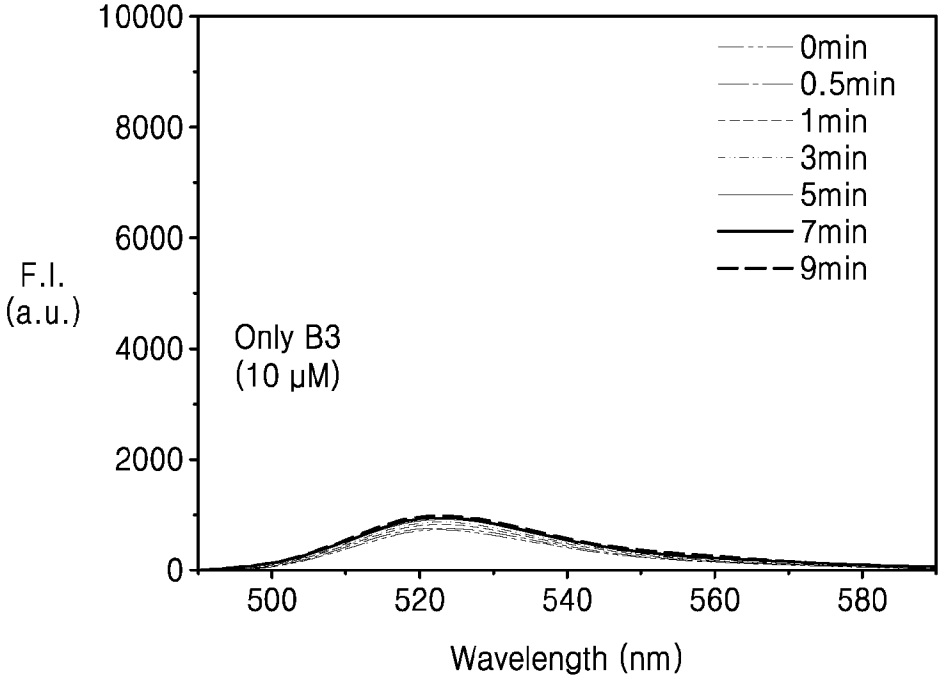
[도6]


DCFH-DA
B1
B2
B3
HSA
B-A1-HSA
B-A2-HSA
B-A3-HSA
F.I.-F.I0.
(at 524nm)
6000
4000
2000
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Time (min)

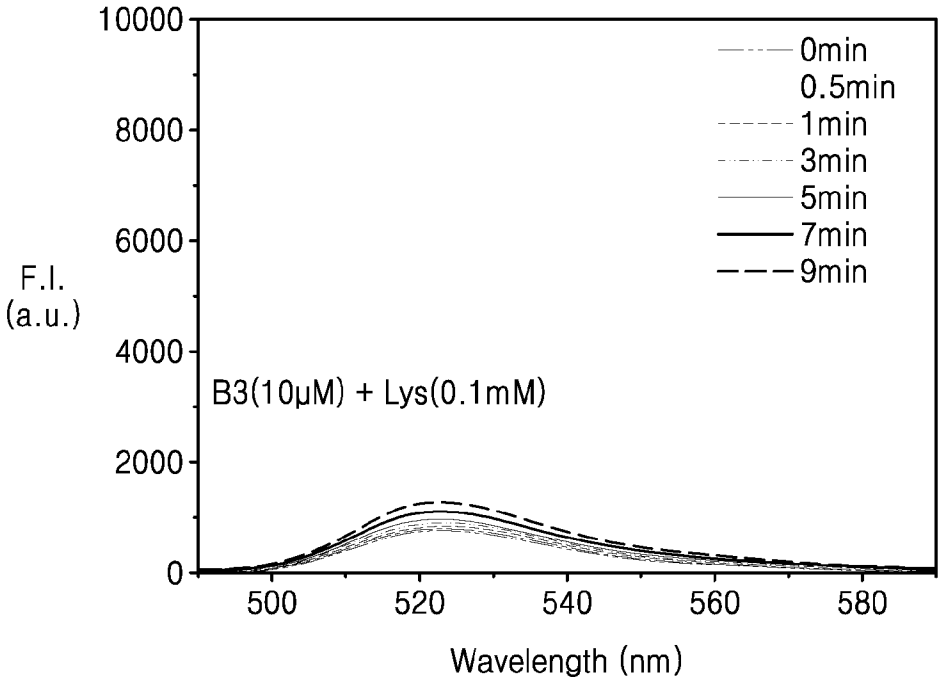
[도7a]


0min
1min
2min
3min
5min
7min
F.I.
(a.u.)
Only Lys
(1.0 mM)
10000
8000
6000
4000
2000
0
480
500
520
540
560
580
600
Wavelength (nm)

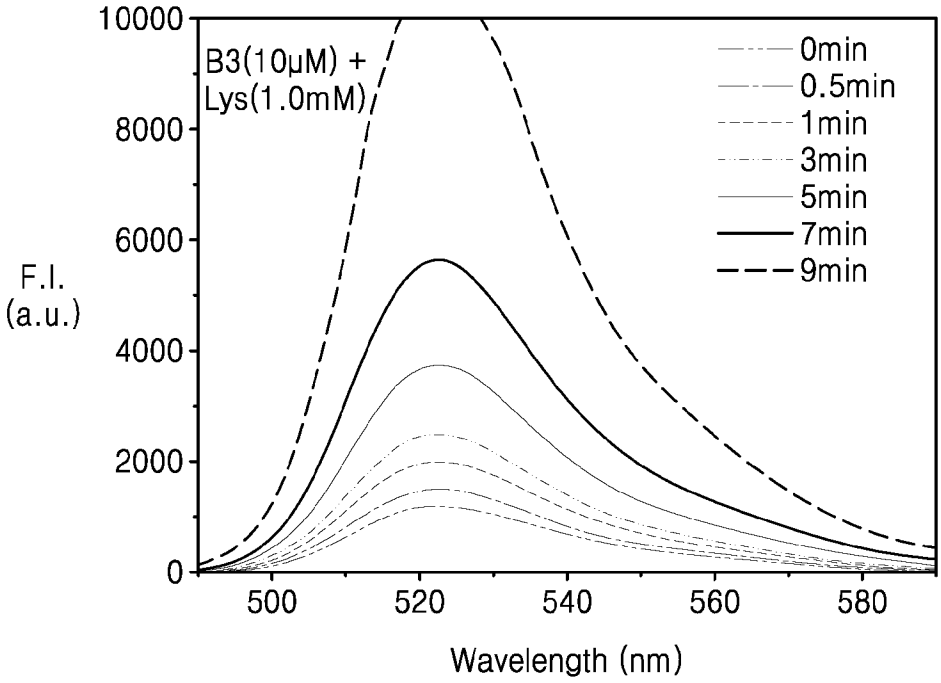
[도7b]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
Only B3
(10 μM)
0min
0.5min
1min
3min
5min
7min
9min
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)

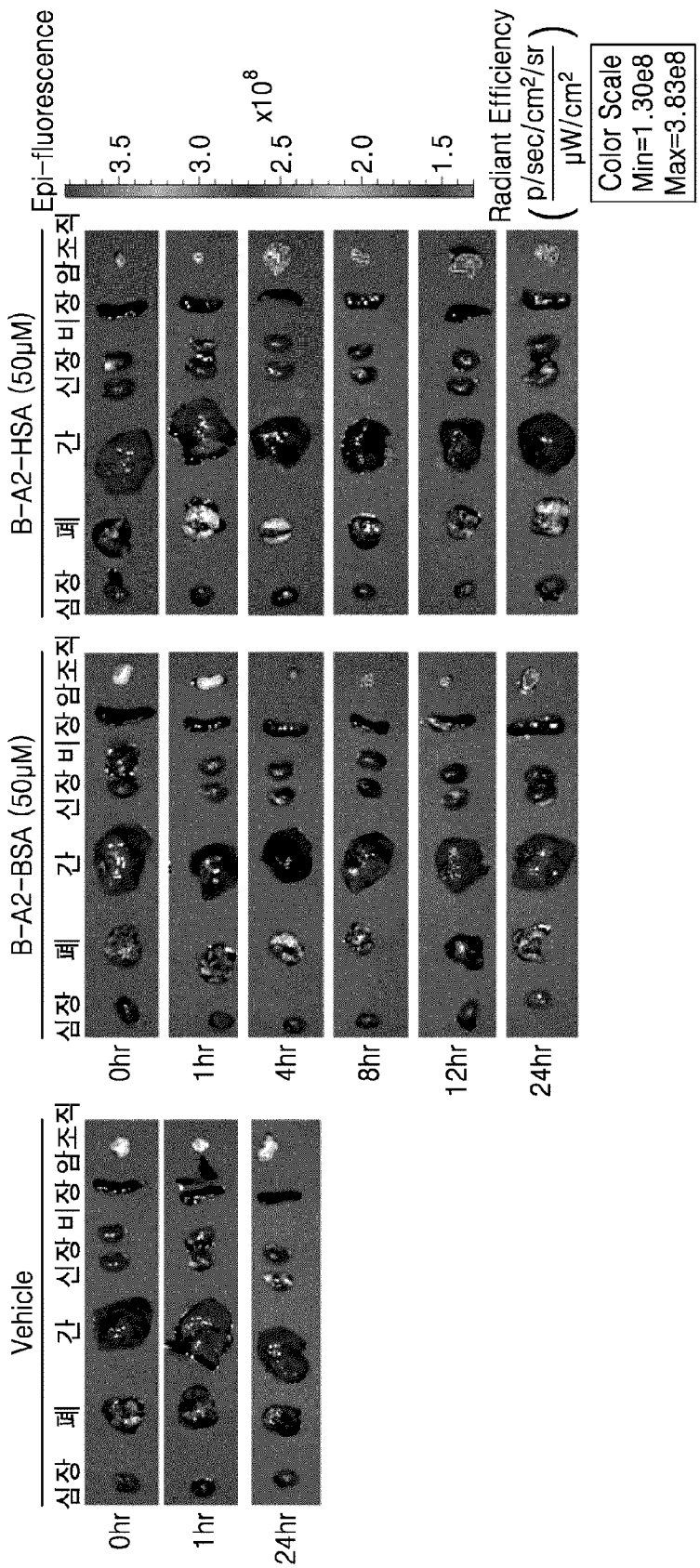
[도7c]


10000
8000
6000
4000
2000
0
F.I.
(a.u.)
B3(10μM) + Lys(0.1mM)
0min
0.5min
1min
3min
5min
7min
9min
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)

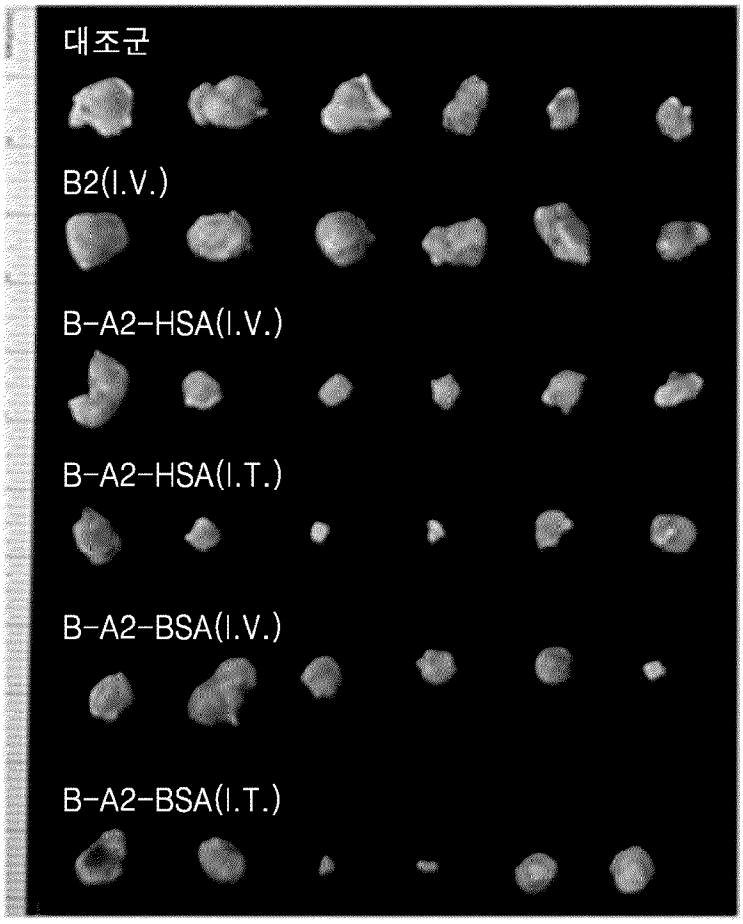
[도7d]


B3(10μM) +
Lys(1.0mM)
0min
0.5min
1min
3min
5min
7min
9min
F.I.
(a.u.)
10000
8000
6000
4000
2000
0
500
520
540
560
580
Wavelength (nm)

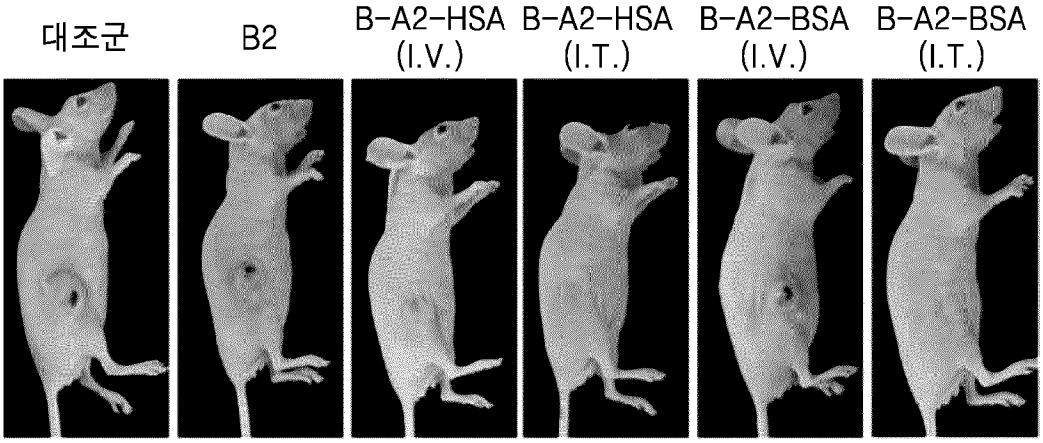
[도8]


Epi-fluorescence
3.5
3.0
x10^8
2.5
2.0
1.5
Radiant Efficiency
(p/sec/cm²/sr / μW/cm²)
Color Scale
Min=1.30e8
Max=3.83e8
B-A2-HSA (50μM)
B-A2-BSA (50μM)
Vehicle
심장 폐 간 신장 비장 암조직
0hr
1hr
4hr
8hr
12hr
24hr

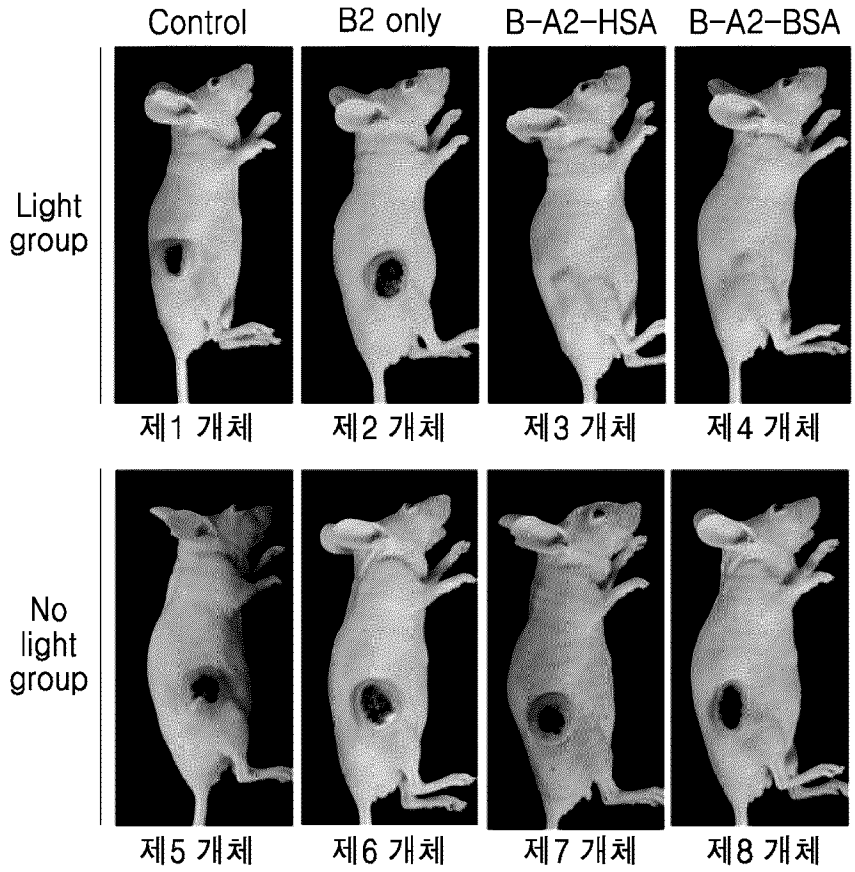
[도9a]


대조군
B2(I.V.)
B-A2-HSA(I.V.)
B-A2-HSA(I.T.)
B-A2-BSA(I.V.)
B-A2-BSA(I.T.)

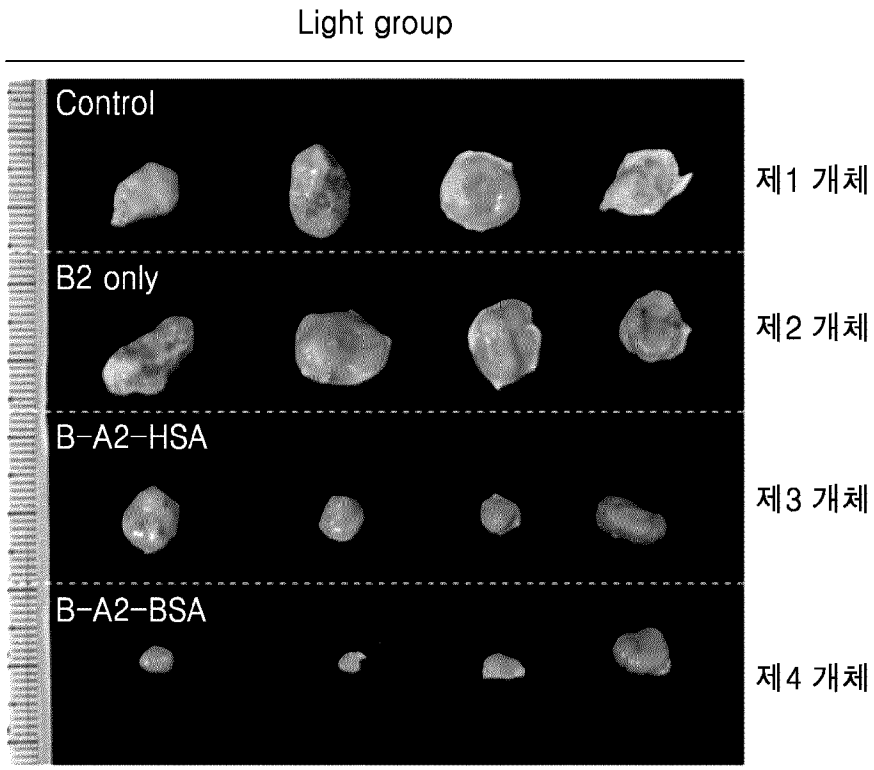
[도9b]


대조군
B2
B-A2-HSA (I.V.)
B-A2-HSA (I.T.)
B-A2-BSA (I.V.)
B-A2-BSA (I.T.)

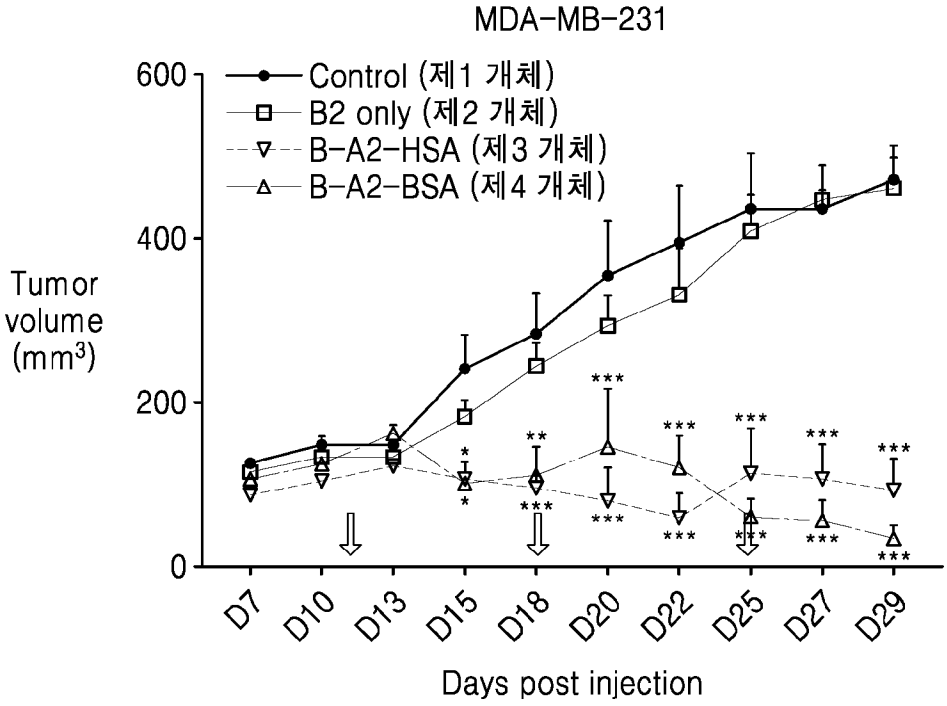
[도10a]


Control
B2 only
B-A2-HSA
B-A2-BSA
Light group
No light group
제1 개체
제2 개체
제3 개체
제4 개체
제5 개체
제6 개체
제7 개체
제8 개체

[도10b]


Light group
Control
B2 only
B-A2-HSA
B-A2-BSA
제1 개체
제2 개체
제3 개체
제4 개체

[도10c]



Significance was obtained by Two-way ANOVA test.
All data represents mean ± SEM.
*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

⇩약물 투여

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/002350

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 47/64(2017.01)i; **A61K 49/00**(2006.01)i; **A61K 41/00**(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 47/64(2017.01); C07F 5/02(2006.01); C09K 11/06(2006.01); C12Q 1/04(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), STN (Registry, Caplus), Google & keywords: 알부민(albumin), 아민기(amine group), 붕소 함유 화합물(boron-containing compound), 형광(fluorescence)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2413908 B1 (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) 29 June 2022 (2022-06-29) See claims 1, 4 and 6; and paragraphs [0026], [0029], [0056], [0057], [0096]-[0105], [0184] and [0185].	9,12
Y		1-7,11,13,14
Y	REJA, R. M. et al. Lysine-Targeting Reversible Covalent Inhibitors with Long Residence Time. J. Am. Chem. Soc. 2022, vol. 144, pp. 1152-1157. See figure 3a.	1-7,11,13,14
A	KR 10-2293339 B1 (EWHA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) 25 August 2021 (2021-08-25) See claims 4-7; and paragraphs [0180]-[0182].	1-7,9,11-14
A	QUACH, D. et al. Strategic Design of Catalytic Lysine-Targeting Reversible Covalent BCR-ABL Inhibitors. Angewandte Chemie International Edition. 2021, vol. 60, pp. 17131-17137. See abstract; and figure 1(B).	1-7,9,11-14

☑ 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
"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
29 May 2024	**30 May 2024**

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/002350

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SHIRBHATE, M. E. et al. Optical and Fluorescent Dual Sensing of Aminoalcohols by in Situ Generation of BODIPY-like Chromophore. J. Am. Chem. Soc. 2020, vol. 142, pp. 4975-4979.	1-7,9,11-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2024/002350

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☑ Claims Nos.: **8,10**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 8 and 10 pertain to a method for treatment or diagnosis of the human body by therapy, and thus pertain to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2024/002350

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
KR 10-2413908 B1	29 June 2022	CN 114729927 A	08 July 2022
		EP 4057002 A1	14 September 2022
		EP 4057002 A4	22 November 2023
		KR 10-2021-0057700 A	21 May 2021
		US 2022-0267670 A1	25 August 2022
		WO 2021-096263 A1	20 May 2021
KR 10-2293339 B1	25 August 2021	KR 10-2020-0122259 A	27 October 2020
		US 11780857 B2	10 October 2023
		US 2020-0347080 A1	05 November 2020

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/002350

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 47/64(2017.01)i; **A61K 49/00**(2006.01)i; **A61K 41/00**(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 47/64(2017.01); C07F 5/02(2006.01); C09K 11/06(2006.01); C12Q 1/04(2006.01)

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), STN (Registry, Caplus), Google & 키워드: 알부민(albumin), 아민기(amin group), 붕소 함유 화합물(boron-containing compound), 형광(fluorescence),

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2413908 B1 (이화여자대학교 산학협력단) 2022.06.29 청구항 1, 4, 6; 단락 [0026], [0029], [0056], [0057], [0096]-[0105], [0184], [0185]	9,12
Y		1-7,11,13,14
Y	REJA, R. M. 등, "Lysine-Targeting Reversible Covalent Inhibitors with Long Residence Time", J. Am. Chem. Soc., 2022, 제144권, 페이지 1152-1157 도면 3a	1-7,11,13,14
A	KR 10-2293339 B1 (이화여자대학교 산학협력단) 2021.08.25 청구항 4-7; 단락 [0180]-[0182]	1-7,9,11-14
A	QUACH, D. 등, "Strategic Design of Catalytic Lysine-Targeting Reversible Covalent BCR-ABL Inhibitors", Angewandte Chemie International Edition, 2021, 제60권, 페이지 16717-17217 초록; 도면 1(B)	1-7,9,11-14
A	SHIRBHATE, M. E. 등, "Optical and Fluorescent Dual Sensing of Aminoalcohols by in Situ Generation of BODIPY-like Chromophore", J. Am. Chem. Soc., 2020, 제142권, 페이지 4975-4979	1-7,9,11-14

☐ 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
"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 문헌과조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2024년05월29일(29.05.2024)	**2024년05월30일(30.05.2024)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소	심사관
대한민국 특허청 **(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)**	**허주형**
팩스 번호 **+82-42-481-8578**	전화번호 **+82-42-481-5373**

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2024/002350

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☑ 청구항: **8,10**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,

청구항 8, 10은 치료에 의한 인체의 처치 또는 진단방법에 관한 것이므로, PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2024/002350

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2413908 B1	2022/06/29	CN 114729927 A	2022/07/08
		EP 4057002 A1	2022/09/14
		EP 4057002 A4	2023/11/22
		KR 10-2021-0057700 A	2021/05/21
		US 2022-0267670 A1	2022/08/25
		WO 2021-096263 A1	2021/05/20
KR 10-2293339 B1	2021/08/25	KR 10-2020-0122259 A	2020/10/27
		US 11780857 B2	2023/10/10
		US 2020-0347080 A1	2020/11/05