

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

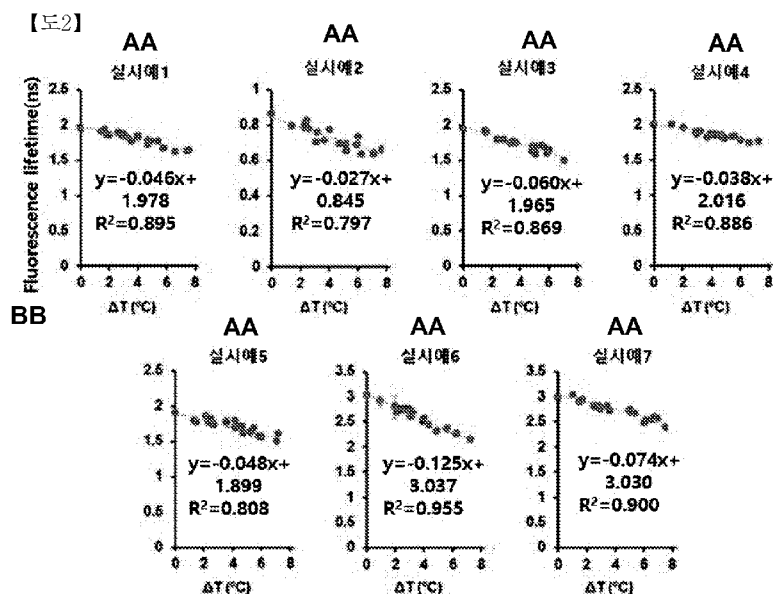
(43) 국제공개일
2023년 11월 30일 (30.11.2023) WIPO | PCT

WO 2023/229338 A1

- (51) 국제특허분류: *C07F 5/02* (2006.01) *G01K 11/16* (2006.01) *G01K 11/20* (2006.01) KANAZAWA) [JP/JP]; $\overline{\text{T}}9201192$ 이시카와현 카나자와시 카쿠마마치 누 7반치, Ishikawa (JP).
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2023/006990
- (22) 국제출원일: 2023년 5월 23일 (23.05.2023)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 63/344,861 2022년 5월 23일 (23.05.2022) US
- (71) 출원인: 기초과학연구원 (INSTITUTE FOR BASIC SCIENCE) [KR/KR]; 34126 대전광역시 유성구 엑스포로 55, Daejeon (KR). 포항공과대학교 산학협력단 (POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION) [KR/KR]; 37673 경상북도 포항시 남구 청암로 77, Gyeongsangbuk-do (KR). 가나자와 대학 (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION
- (72) 발명자: 장영태 (CHANG, Young-Tae); 34126 대전광역시 유성구 엑스포로 55, Daejeon (KR). 류사오 (LIU, Xiao); 37673 경상북도 포항시 남구 청암로 77, Gyeongsangbuk-do (KR). 사토시아라이 (SATOSHI, Arai); $\overline{\text{T}}9201192$ 이시카와현 카나자와시 카쿠마마치 누 7반치, Ishikawa (JP). 타케로야마자키 (TAKERU, Yamazaki); $\overline{\text{T}}9201192$ 이시카와현 카나자와시 카쿠마마치 누 7반치, Ishikawa (JP).
- (74) 대리인: 특허법인 플러스 (PLUS INTERNATIONAL IP LAW FIRM); 35209 대전광역시 서구 한밭대로 809, 10층, Daejeon (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,

(54) Title: BODIPY COMPOUND, AND TEMPERATURE-SENSITIVE FLUORESCENT SENSOR OF CELL ORGANELLES COMPRISING SAME

(54) 발명의 명칭: 보디피 화합물 및 이를 포함하는 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서



(57) Abstract: The present invention relates to a BODIPY compound, and a temperature-sensitive fluorescent sensor of cell organelles comprising same. A BODIPY compound according to one aspect can quickly detect minute temperature changes with high sensitivity and accurately target various cell organelles, and has no cytotoxicity. That is, the BODIPY compound according to one aspect can visualize the temperature for each cell organelle and is expected to be useful as a temperature-sensitive fluorescent sensor of cell organelles.

[다음 쪽 계속]

KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

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

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(57) 요약서: 본 개시는 보디피 화합물 및 이를 포함하는 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서에 관한 것으로, 일 양태에 따른 보디피 화합물은 미세한 온도 변화를 높은 감도로 신속하게 감지할 수 있으며, 상기 보디피 화합물은 다양한 세포 소기관을 정확하게 표적 할 수 있을 뿐만 아니라 세포 독성이 없다. 즉, 일 양태에 따른 보디피 화합물은 세포 소기관 별로 온도를 시각화 할 수 있으며, 세포 소기관의 온도 감응 형광 센서로 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

명세서

발명의 명칭: 보디피 화합물 및 이를 포함하는 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서

기술분야

- [1] 본 개시는 보디피 화합물 및 이를 포함하는 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 세포 내 온도는 세포의 확산, 신진대사, 분화 및 증식 등 세포 과정과 밀접한 관련이 있으며, 다양한 세포 소기관의 미세 온도를 각 소기관 별로 매핑하는 것은 다양한 생물학적 현상을 이해하는 데 매우 중요하다.
- [3] 이에 따라, 세포 내 온도를 조사하기 위한 다양한 유형의 온도계가 개발되어 왔으며, 이 중에서 온도에 따라 형광 강도, 이방성 및 수명과 같은 형광 신호의 변화를 나타내는 형광 물질을 이용하는 형광 온도계가 각광받고 있다. 형광 온도계는 온도 변화에 대한 감도가 우수하여 미세한 온도 변화를 감지할 수 있으며, 다양한 종에서 유래한 모든 유형의 세포에 고르게 분포할 수 있다는 장점이 있다.
- [4] 각기 다른 세포 소기관의 미세한 온도 변화를 알기 위해선 세포 소기관별 온도계의 개발이 필수적이지만, 현재까지 개발된 형광 온도계는 세포 소기관 특이성(organelle specificity)을 가지지 못하거나 소포체(ER) 또는 미토콘드리아와 같은 한 두 종의 세포 소기관에만 적용할 수 있고, 다양한 세포 소기관에 대한 특이성을 부여하고자 하면 감도가 저하되거나 세포 독성이 열화되는 등의 한계가 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

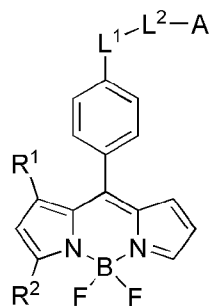
- [5] 본 발명의 일 양태는 신규한 구조의 보디피(BODIPY) 화합물 및 이를 포함하는 세포 소기관 별로 온도를 감지할 수 있는 형광 센서를 제공한다.
- [6] 또 다른 양태는 상기 형광 센서를 이용하여 세포 소기관의 온도를 측정하는 방법을 제공한다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명의 일 양태는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제공한다.

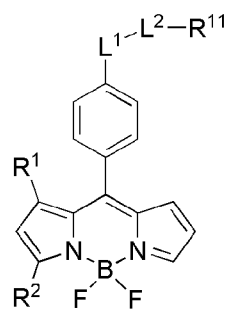
- [8] [화학식 1]

- [9]



- [10] 상기 화학식 1에서,
- [11] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 (C1-C7)알킬이고;
- [12] L^1 은 $-NR^3C(=O)-$, $-C(=O)NR^4-$ 또는 $-NR^5S(=O)_2-$ 이고;
- [13] R^3 내지 R^5 는 각각 독립적으로 수소, (C1-C7)알킬 또는 (C6-C12)아릴이고;
- [14] L^2 는 단일결합, (C1-C30)알킬렌 또는 (C1-C30)헤테로알킬렌이고;
- [15] 상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌의 $-CH_2-$ 는 $-C(=O)-$ 및 $-S(=O)_2-$ 에서 선택되는 하나 또는 둘 이상으로 대체될 수 있으며;
- [16] 상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있고;
- [17] A는 (C2-C30)알킬, (C2-C30)알케닐, (C6-C30)아릴, (C1-C7)알킬(C6-C30)아릴, (C2-C30)헤테로아릴, (C2-C30)헤테로시클로알킬, $*-L^3-L^4-Ar^1$, $*-P^+(Ar^2)_3$ 또는 $*-NR^6R^7$ 이고;
- [18] L^3 및 L^4 는 각각 독립적으로 (C2-C30)알케닐렌, (C6-C30)아릴렌 또는 (C2-C30)헤테로아릴렌이고;
- [19] Ar^1 은 (C6-C30)아릴, (C1-C7)알콕시(C6-C30)아릴, (C2-C30)헤테로아릴, (C3-C30)시클로알킬 또는 (C2-C30)헤테로시클로알킬이고;
- [20] Ar^2 는 (C6-C30)아릴 또는 (C2-C30)헤테로아릴이고;
- [21] R^6 및 R^7 는 각각 독립적으로 수소, (C1-C20)알킬, (C6-C20)아릴 또는 $*-(CH_2)_r-Ar^3-(CH_2)_s-N(C_{12}H_{25})CH_2CH_2CH_2SO_3^-$ 이고;
- [22] Ar^3 는 (C6-C30)아릴렌 또는 (C2-C30)헤테로아릴렌이고;
- [23] r 및 s는 각각 독립적으로 1 내지 5의 정수이다.
- [24] 일 예로, 상기 A는 (C2-C20)알킬, (C2-C20)알케닐, (C1-C7)알킬(C6-C20)아릴, (C2-C20)헤테로시클로알킬, $*-L^3-L^4-Ar^1$, $*-P^+(Ar^2)_3$ 또는 $*-N(C_{12}H_{25})CH_2CH_2CH_2SO_3^-$ 이고; L^3 는 (C6-C20)아릴렌 또는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고; L^4 는 (C2-C20)알케닐렌 또는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고; Ar^1 은 (C1-C7)알콕시(C6-C20)아릴 또는 (C2-C20)헤테로시클로알킬이고; Ar^2 는 (C6-C20)아릴이고; Ar^3 는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고; r 및 s는 각각 독립적으로 1 내지 5의 정수일 수 있다.
- [25] 일 양태에 따른 상기 화합물은 하기 화학식 2 내지 7 중 어느 하나로 표시되는 것일 수 있다.
- [26] [화학식 2]

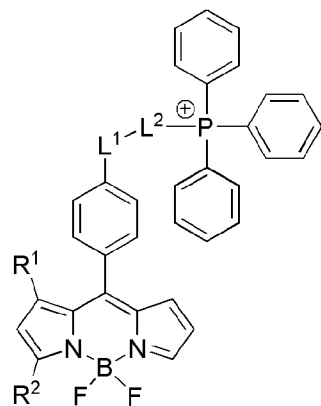
[27]



[28]

[화학식 3]

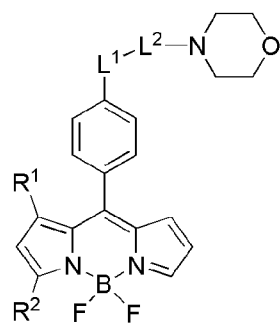
[29]



[30]

[화학식 4]

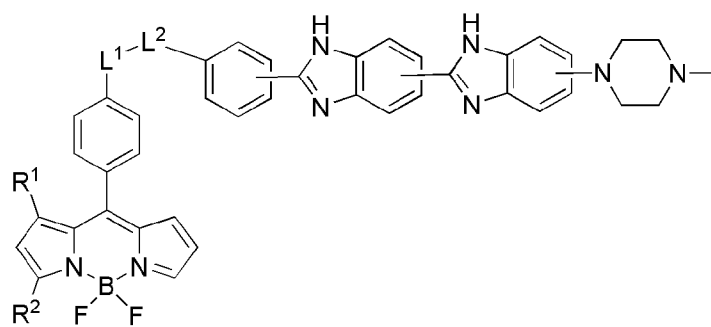
[31]



[32]

[화학식 5]

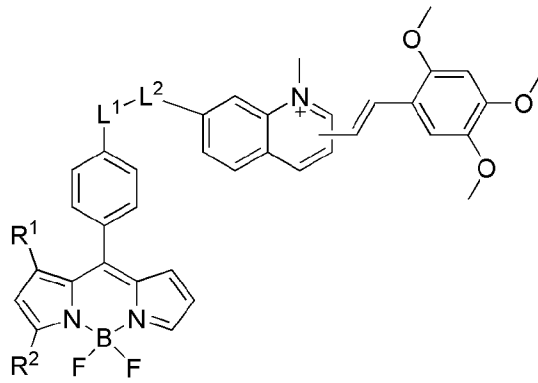
[33]



[34]

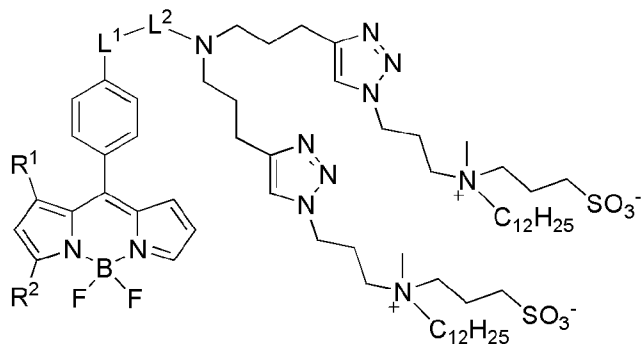
[화학식 6]

[35]



[36] [화학식 7]

[37]



[38] 상기 화학식 2 내지 7에서,

[39] R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 (C1-C7)알킬이고;

[40] R¹¹은 (C2-C20)알킬, (C2-C20)알케닐, (C6-C20)아릴 또는 (C1-C7)알킬(C6-C20)아릴이고;

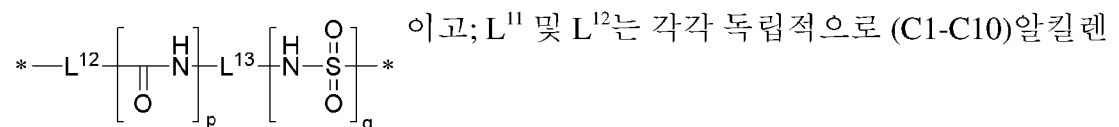
[41] L^1 은 $-NHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 또는 $-NHS(=O)_2-$ 의 고;

[42] L²는 단일결합, (C1-C20)알킬렌 또는 (C1-C20)헤테로알킬렌이고;

[43] 상기 L²의 알킬렌 및 헤테로알킬렌의 -CH₂-는 -C(=O)- 및 -S(=O)₂-에서 선택되는 하나 또는 둘 이상으로 대체될 수 있으며;

[44] 상기 L²의 알킬렌 및 헤테로알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있다.

[45] 일 예로, 상기 L²는 단일결합, (C1-C10)알킬렌, *-L¹¹-O-* 또는

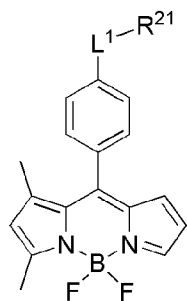


이고; L¹³은 단일결합, (C1-C10)알킬렌 또는 *-L¹⁴-o-* 이고; L¹⁴는 (C1-C10)알킬렌이고; L² 및 L¹¹ 내지 L¹³의 알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있고; p 및 q는 각각 독립적으로 0 또는 1의 정수이며, p 및 q 중 적어도 하나는 1일 수 있다.

[46] 일 양태에 따른 상기 화합물은 하기 화학식 11 내지 18 중 하나로 표시되는 것일 수 있다.

[47] [화학식 11]

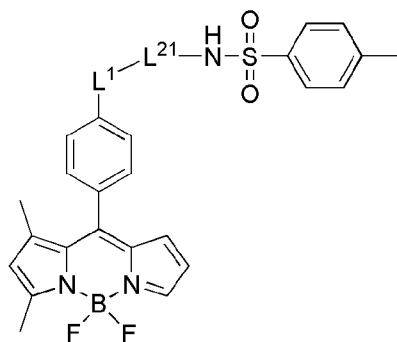
[48]



[49]

[화학식 12]

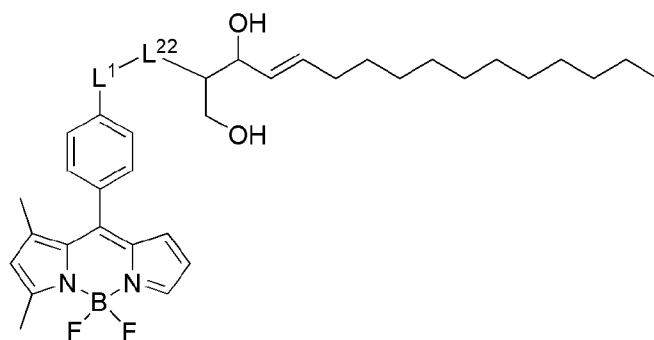
[50]



[51]

[화학식 13]

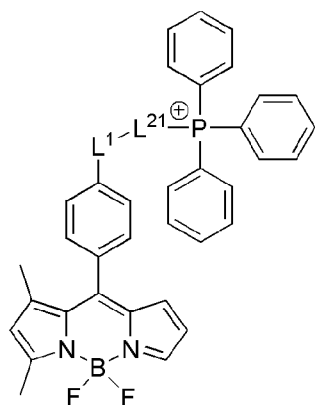
[52]



[53]

[화학식 14]

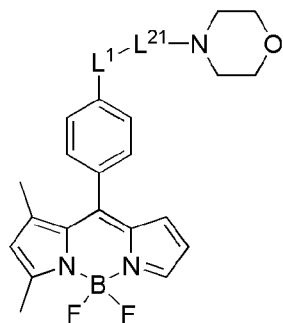
[54]



[55]

[화학식 15]

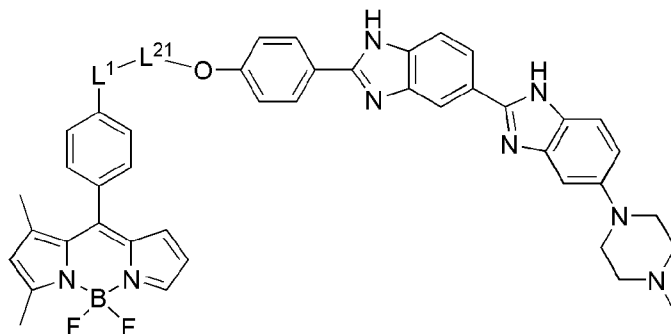
[56]



[57]

[화학식 16]

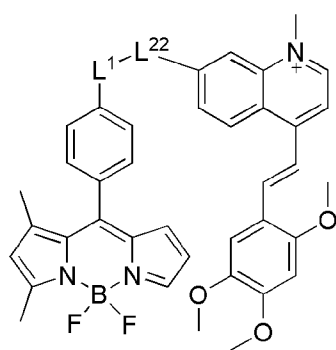
[58]



[59]

[화학식 17]

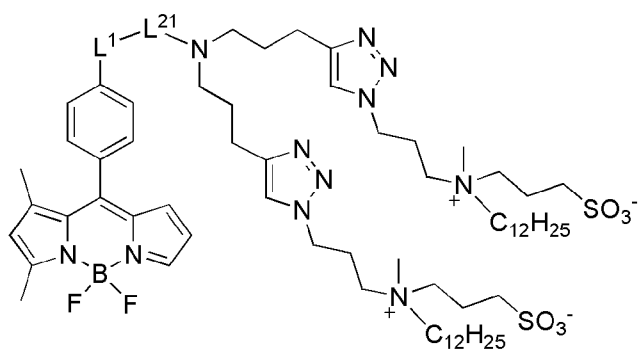
[60]



[61]

[화학식 18]

[62]



[63]

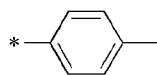
상기 화학식 11 내지 18에서,

[64]

L¹은 -NHC(=O)-, -C(=O)NH- 또는 -NHS(=O)₂-이고;

[65]

R²¹은 (C2-C10)알킬 또는



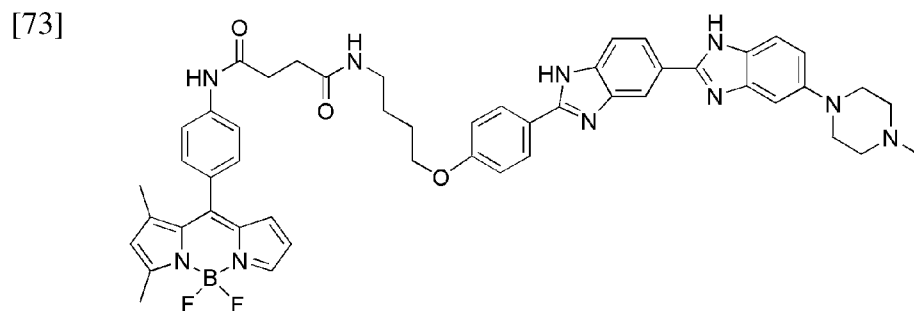
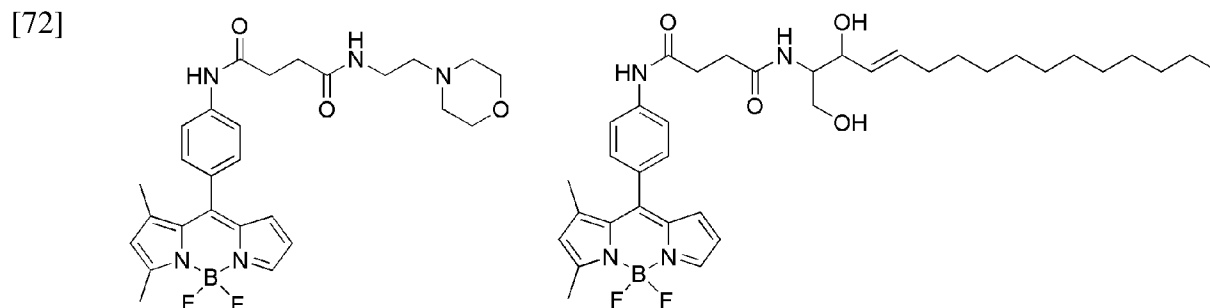
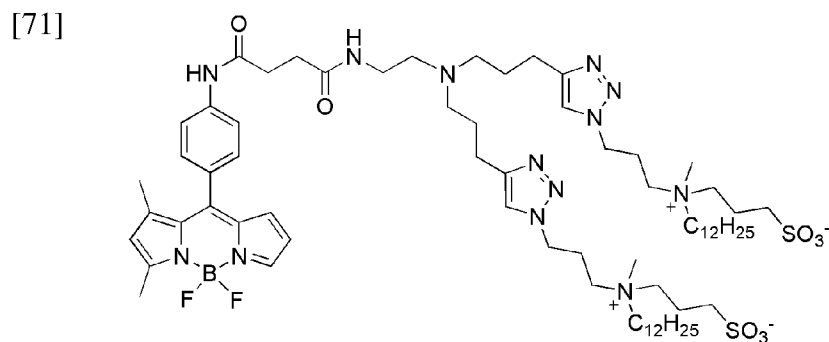
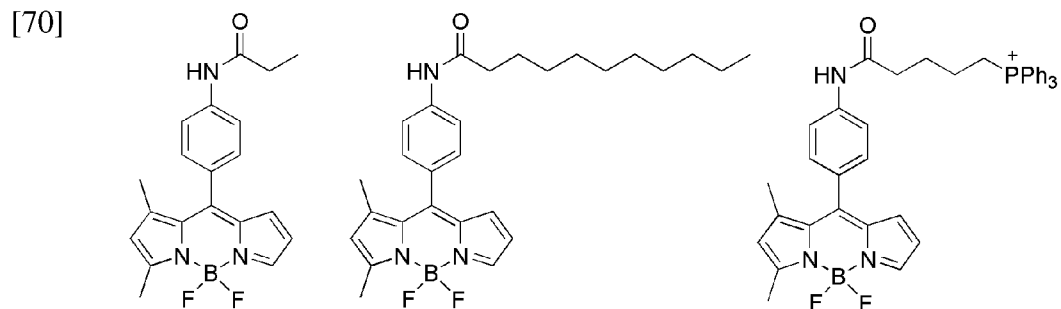
7

[66] L²¹은 (C1-C4)알킬렌 또는 $\text{*}-\text{L}^{31}-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{L}^{32}-\text{*}$ 이고;

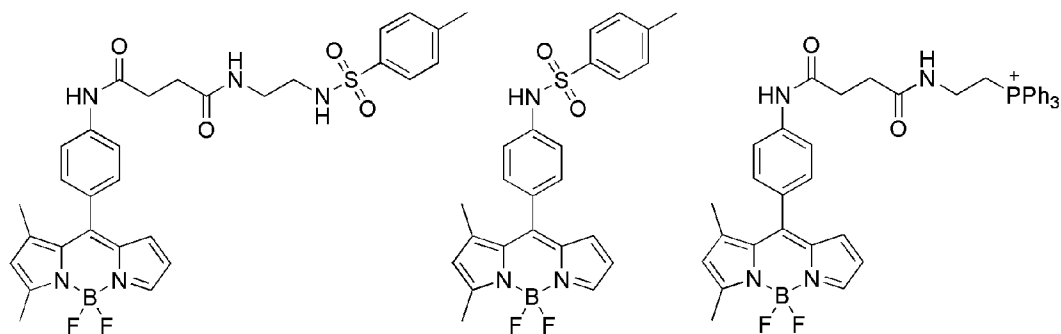
[67] L²²는 단일결합 또는 $\text{*}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{*}$ 이고;

[68] L³¹ 내지 L³³은 각각 독립적으로 (C1-C4)알킬렌이다.

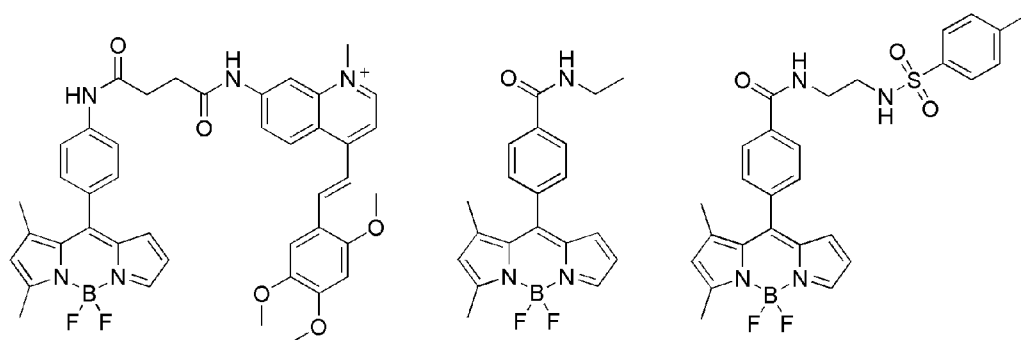
[69] 일 양태에 따른 상기 화합물은 하기 구조에서 선택되는 것일 수 있다.



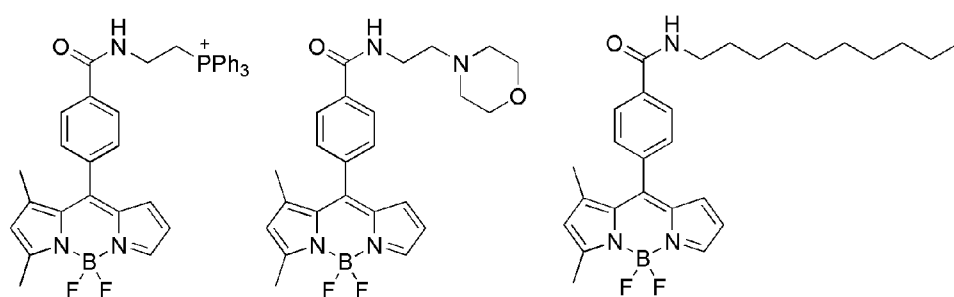
[74]



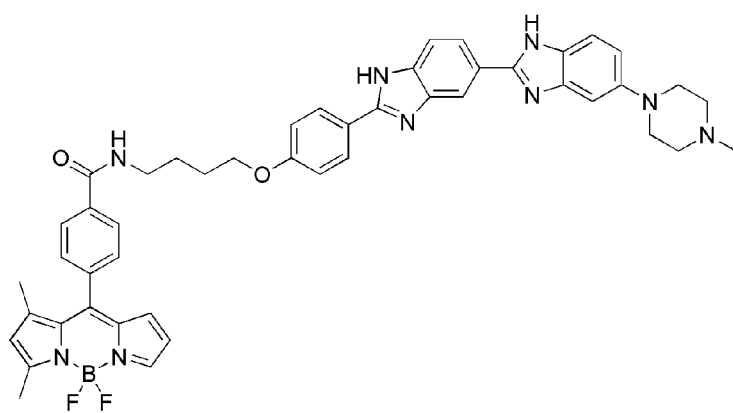
[75]



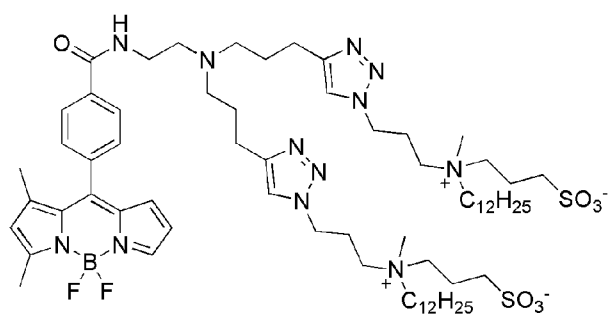
[76]



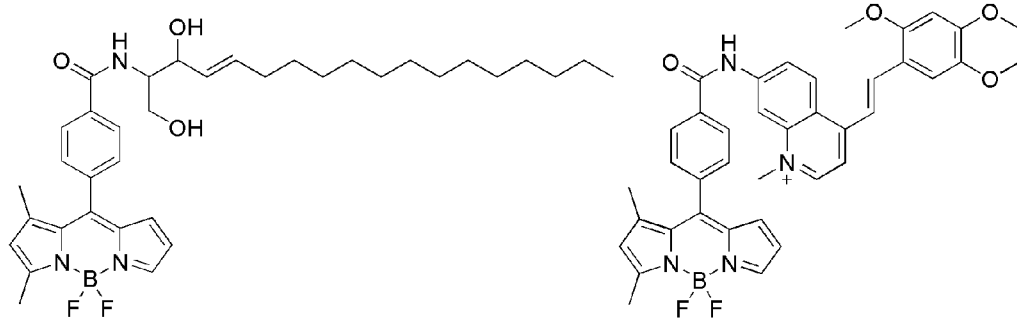
[77]



[78]



[79]



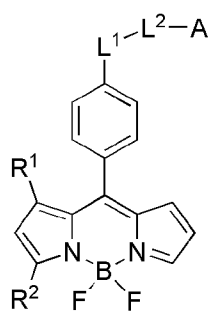
[80] 일 양태에 따른 상기 화합물은 서로 다른 세포 소기관을 표적하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[81] 일 양태에 따른 상기 화합물은 소포체(endoplasmic reticulum), 지질방울(lipid droplet), 골지체(golgi apparatus), 미토콘드리아(mitochondria), 리소좀(lysosome), 핵(nucleus), 핵소체(nucleolus) 및 세포막(plasma membrane)을 포함하는 세포 소기관을 표적하는 것일 수 있다.

[82] 또한, 본 발명의 일 양태는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 포함하는 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서를 제공한다.

[83] [화학식 1]

[84]



[85] 상기 화학식 1에서,

[86] R_1 , R_2 , L_1 , L_2 및 A 는 상기 정의와 동일하다.

[87] 상기 세포 소기관은 소포체(endoplasmic reticulum), 지질방울(lipid droplet), 골지체(golgi apparatus), 미토콘드리아(mitochondria), 리소좀(lysosome), 핵(nucleus), 핵소체(nucleolus) 및 세포막(plasma membrane)을 포함하는 것일 수 있다.

[88] 또한, 본 발명의 일 양태는 상기 형광 센서를 이용하여 세포 소기관의 온도를 측정하는 방법을 제공한다.

[89] 일 양태에 따른 상기 세포 소기관의 온도를 측정하는 방법은, 형광 센서를 세포와 접촉시켜 세포를 염색시키는 단계; 상기 염색된 세포의 형광 수명을 분석하는 단계; 및 분석된 형광 수명에 따른 세포 소기관의 온도를 산출하는 단계;를 포함하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[90] 일 양태에 따른 보디피 화합물은 미세한 온도 변화를 높은 감도로 신속하게 감지할 수 있다. 또한, 상기 보디피 화합물은 소포체, 미토콘드리아 뿐만 아니라 지질방울, 골지체, 리소좀, 핵, 핵소체 및 세포막 등 각각의 세포 소기관을 정확하게

표적 할 수 있을 뿐만 아니라 세포 독성이 없다. 즉, 일 양태에 따른 보디피 화합물은 세포 소기관 별로 미세한 온도 변화를 시각화 할 수 있으며, 세포 소기관의 온도 감응 형광 센서로 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

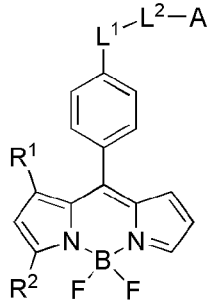
도면의 간단한 설명

- [91] 도 1은 실시예 1 내지 7에서 제조된 보디피 화합물의 세포 소기관 특이성 (organelle-specificity) 평가 결과이다.
- [92] 도 2는 실시예 1 내지 7에서 제조된 보디피 화합물의 온도에 따른 형광 수명을 도시한 그래프이다.
- [93] 도 3은 실시예 1 내지 7에서 제조된 보디피 화합물의 세포 생존력 테스트 결과이다.

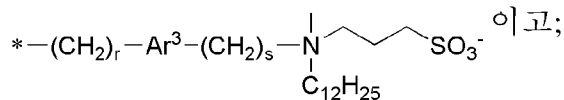
발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [94] 본 명세서에서 달리 정의되지 않는 한, 모든 기술적 용어 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 의미와 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서 설명에 사용되는 용어는 단지 특정 구체예를 효과적으로 기술하기 위함이고 본 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [95] 본 명세서에서 사용되는 단수 형태는 문맥에서 특별한 지시가 없는 한 복수 형태도 포함하는 것으로 의도할 수 있다.
- [96] 또한, 본 명세서에서 사용되는 수치 범위는 하한치와 상한치와 그 범위 내에서의 모든 값, 정의되는 범위의 형태와 폭에서 논리적으로 유도되는 증분, 이중 한정된 모든 값 및 서로 다른 형태로 한정된 수치 범위의 상한 및 하한의 모든 가능한 조합을 포함한다. 본 명세서에서 특별한 정의가 없는 한 실험 오차 또는 값의 반올림으로 인해 발생할 가능성이 있는 수치범위 외의 값 역시 정의된 수치범위에 포함된다.
- [97] 본 명세서의 용어, “포함한다”는 “구비한다”, “함유한다”, “가진다” 또는 “특징으로 한다” 등의 표현과 등가의 의미를 가지는 개방형 기재이며, 추가로 열거되어 있지 않은 요소, 재료 또는 공정을 배제하지 않는다.
- [98] 본 명세서의 용어, “헤테로알킬렌”은 헤테로알킬로부터 유도되는 2개의 결합 위치를 갖는 라디칼을 의미하며, 헤테로의 의미는 탄소가 B, O, N, P, S 및 Si 원자로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로 원자로 치환된 것을 의미한다.
- [99] 본 명세서의 용어, “알킬아릴”은 적어도 하나의 알킬로 치환된 아릴 라디칼을 의미하며, 일 예로, 톨릴, 메시틸 등을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.
- [100] 본 명세서의 용어, “알콕시아릴”은 적어도 하나 이상의 알콕시로 치환된 아릴 라디칼을 의미한다.
- [101] 일 양태는 세포 소기관 별로 미세한 온도 변화를 시각화 할 수 있는 보디피 화합물을 제공하며, 상기 보디피 화합물은 하기 화학식 1로 표시될 수 있다.
- [102] [화학식 1]

[103]



[104] 상기 화학식 1에서,

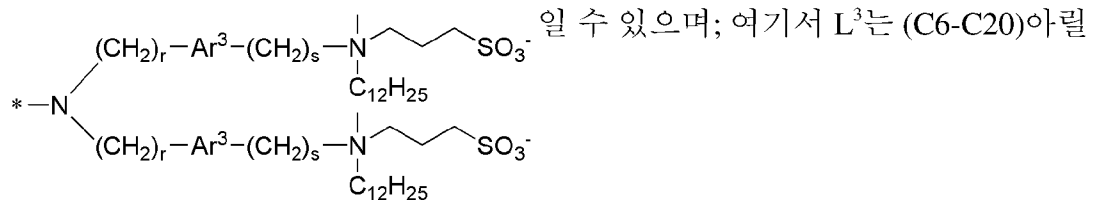
[105] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 (C1-C7)알킬이고;[106] L^1 은 $-NR^3C(=O)-$, $-C(=O)NR^4-$ 또는 $-NR^5S(=O)_2-$ 이고;[107] R^3 내지 R^5 는 각각 독립적으로 수소, (C1-C7)알킬 또는 (C6-C12)아릴이고;[108] L^2 는 단일결합, (C1-C30)알킬렌 또는 (C1-C30)헤테로알킬렌이고;[109] 상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌의 $-CH_2-$ 는 $-C(=O)-$ 및 $-S(=O)_2-$ 에서 선택되는 하나 또는 둘 이상으로 대체될 수 있으며;[110] 상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있고;[111] A는 (C2-C30)알킬, (C2-C30)알케닐, (C6-C30)아릴, (C1-C7)알킬(C6-C30)아릴, (C2-C30)헤테로아릴, (C2-C30)헤테로시클로알킬, $*-L^3-L^4-Ar^1$, $*-P^+(Ar^2)_3$ 또는 $*-NR^6R^7$ 이고;[112] L^3 및 L^4 는 각각 독립적으로 (C2-C30)알케닐렌, (C6-C30)아릴렌 또는 (C2-C30)헤테로아릴렌이고;[113] Ar^1 은 (C6-C30)아릴, (C1-C7)알콕시(C6-C30)아릴, (C2-C30)헤테로아릴, (C3-C30)시클로알킬 또는 (C2-C30)헤테로시클로알킬이고;[114] Ar^2 는 (C6-C30)아릴 또는 (C2-C30)헤테로아릴이고;[115] R^6 및 R^7 는 각각 독립적으로 수소, (C1-C20)알킬, (C6-C20)아릴 또는[116] Ar^3 는 (C6-C30)아릴렌 또는 (C2-C30)헤테로아릴렌이고;

[117] r 및 s는 각각 독립적으로 1 내지 5의 정수이다.

[118] 일 예로, 상기 R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 (C1-C5)알킬, (C1-C3)알킬, (C1-C2)알킬 또는 $-CH_3$ 일 수 있으며, 상기 R^1 및 R^2 는 서로 동일할 수 있다.[119] 일 예로, 상기 L^2 는 단일결합, (C1-C20)알킬렌 또는 (C1-C20)헤테로알킬렌이고; 상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌의 $-CH_2-$ 는 $-C(=O)-$ 및 $-S(=O)_2-$ 에서 선택되는 하나 또는 둘 이상으로 대체될 수 있으며; 상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있다.[120] 일 양태에 따른 상기 화합물은 상술한 바와 같은 구조적 특징, 예를 들어, 알킬기(R^1 및 R^2)가 비대칭적으로 치환된 보디피 모핵구조와 상기 보디피 모핵구조에

직접 연결된 페닐렌기를 가짐에 따라, 온도에 대한 감도가 매우 탁월할 수 있다. 일 예로, 대칭 구조의 보디피 모핵을 가지거나, 페닐렌 연결기를 포함하지 않을 경우 온도에 따른 형광 수명 변화가 현저하지 않아 온도 감지가 어려울 수 있다. 또한, 일 양태에 따른 보디피 화합물은 화학식 1의 A 치환기의 구조에 따라 소포체, 미토콘드리아, 지질방울, 골지체, 리소좀, 핵, 핵소체 및 세포막 등 각각의 세포 소기관을 정확하게 표적 할 수 있다.

- [121] 일 예로, 상기 A는 (C2-C20)알킬, (C2-C20)알케닐, (C1-C7)알킬(C6-C20)아릴, (C2-C20)헤테로시클로알킬, $*-L^3-L^4-Ar^1$, $*-P^+(Ar^2)_3$ 또는



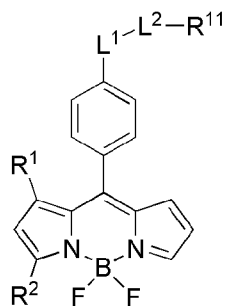
렌 또는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고; L^4 는 (C2-C20)알케닐렌 또는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고; Ar^1 은 (C1-C7)알콕시(C6-C20)아릴 또는 (C2-C20)헤테로시클로알킬이고; Ar^2 는 (C6-C20)아릴이고; Ar^3 는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고; r 및 s는 각각 독립적으로 1 내지 5의 정수일 수 있다.

- [122] 일 예로, 상기 L^3 는 (C6-C12)아릴렌, 페닐렌, 또는 (C2-C12)헤테로아릴렌이고; L^4 는 (C2-C10)알케닐렌, (C2-C7)알케닐렌, (C2-C5)알케닐렌, 에테닐렌 또는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고; Ar^1 은 (C1-C3)알콕시(C6-C12)아릴 또는 (C2-C12)헤테로시클로알킬이고; Ar^2 는 (C6-C12)아릴 또는 페닐이고; Ar^3 는 (C2-C12)헤테로아릴렌, 또는 (C2-C6)헤테로아릴렌일 수 있다.

- [123] 일 예로, 일 양태에 따른 보디피 화합물은 하기 화학식 2 내지 7 중 어느 하나로 표시되는 것일 수 있다.

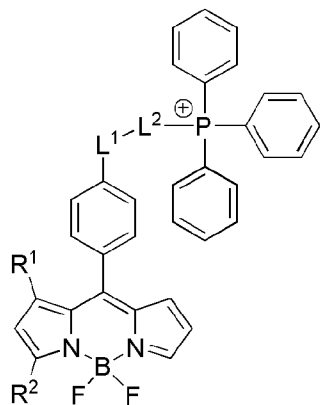
- [124] [화학식 2]

- [125]



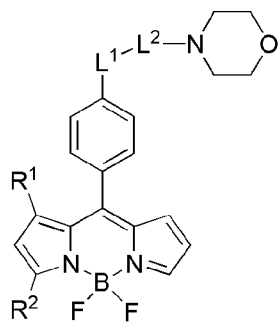
- [126] [화학식 3]

[127]



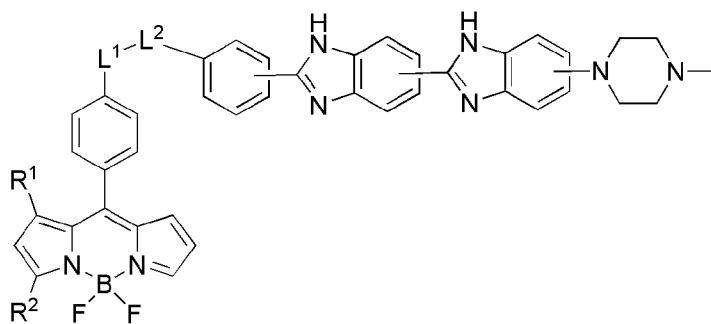
[128] [화학식 4]

[129]



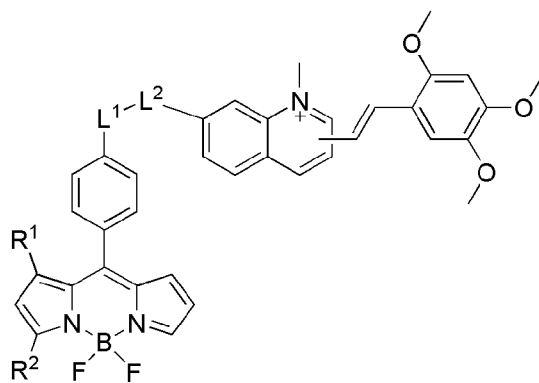
[130] [화학식 5]

[131]

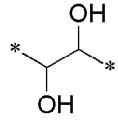


[132] [화학식 6]

[133]



[134] [화학식 7]

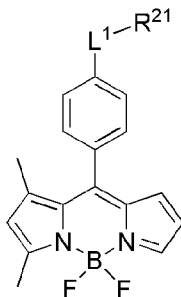
는  이고; L⁴⁵는 (C1-C10)알킬렌, (C1-C7)알킬렌, 또는 (C1-C4)알킬렌이

다.

- [147] 상기 화학식 2 내지 7로 표시되는 보디피 화합물은 서로 다른 세포 소기관을 표적하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 구체적으로, 상기 화학식 2로 표시되는 보디피 화합물은 R¹¹에 따라 소포체(endoplasmic reticulum, ER), 지질방울(lipid droplet, LD) 또는 골지체(golgi apparatus, Golgi)를 표적할 수 있고, 상기 화학식 3으로 표시되는 보디피 화합물은 미토콘드리아(mitochondria, Mito), 상기 화학식 4로 표시되는 보디피 화합물은 리소좀(lysosome, Lyso), 상기 화학식 5로 표시되는 화합물은 핵(nucleus, Nuc), 상기 화학식 6으로 표시되는 화합물은 핵소체(nucleolus), 상기 화학식 7로 표시되는 화합물은 세포막(plasma membrane, PM)을 정확하게 표적할 수 있다.
- [148] 구체적으로, 상기 화학식 2로 표시되는 보디피 화합물은 R¹¹이 (C2-C20)알케닐일 경우 골지체를 표적할 수 있고, 상기 R¹¹이 (C2-C20)알킬인 경우 소포체 또는 지질방울, 상기 R¹¹이 (C6-C20)아릴 또는 (C1-C7)알킬(C6-C20)아릴인 경우 소포체를 표적할 수 있다.
- [149] 구체적으로, 상기 R¹¹이 알킬인 경우, R¹¹이 (C2-C4)알킬인 보디피 화합물은 소포체를, R¹¹이 (C5-C20)알킬인 보디피 화합물은 지질방울을 표적할 수 있다.
- [150] 일 예로, 일 양태에 따른 보디피 화합물은 하기 화학식 11 내지 18 중 하나로 표시되는 것일 수 있다.

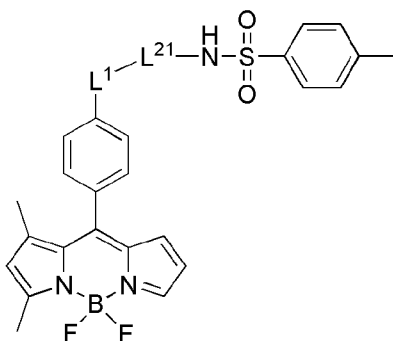
[151] [화학식 11]

[152]



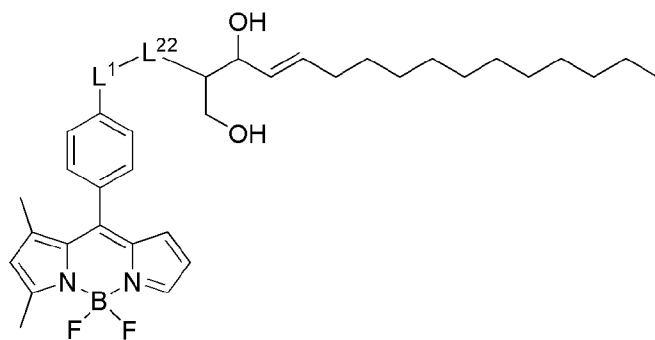
[153] [화학식 12]

[154]



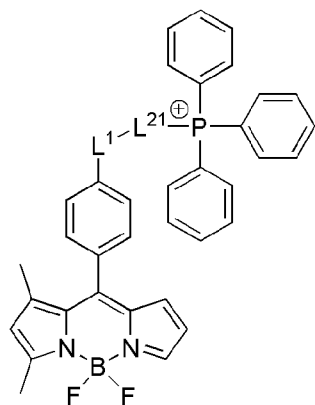
[155] [화학식 13]

[156]



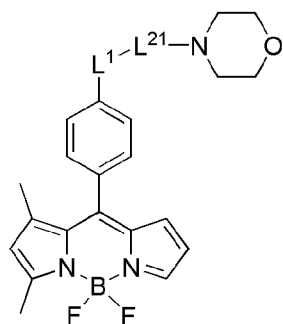
[157] [화학식 14]

[158]



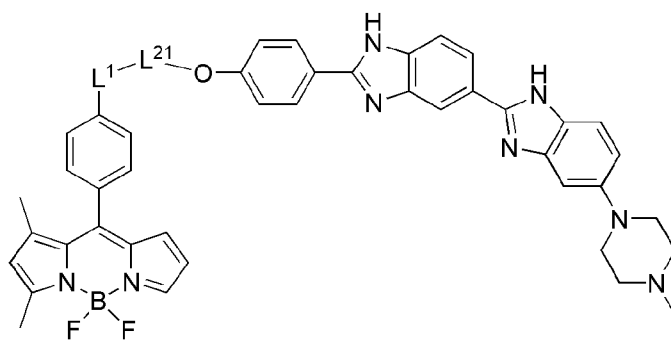
[159] [화학식 15]

[160]



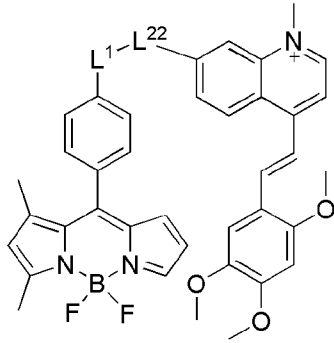
[161] [화학식 16]

[162]



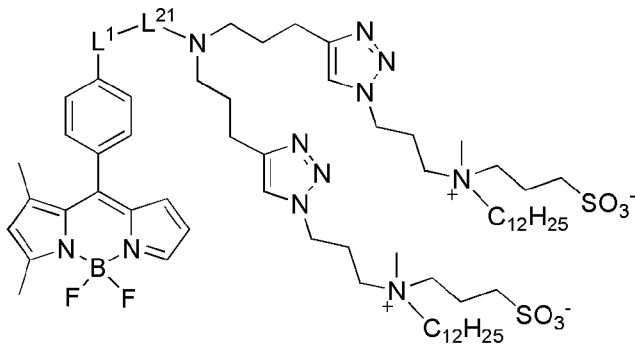
[163] [화학식 17]

[164]

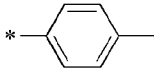
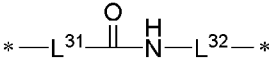
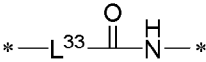


[165] [화학식 18]

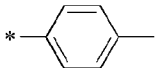
[166]



[167] 상기 화학식 11 내지 18에서,

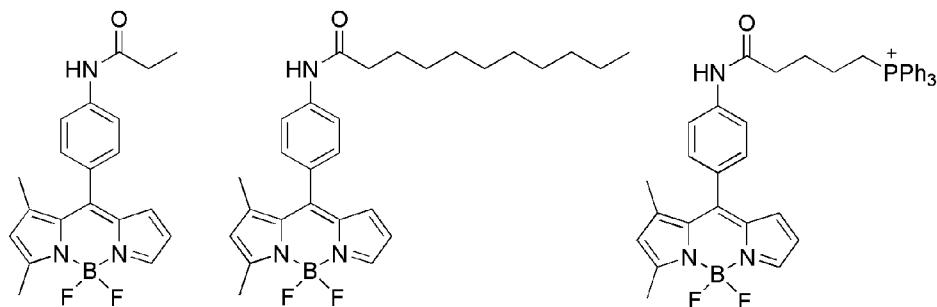
[168] L^1 은 $-NHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 또는 $-NHS(=O)_2-$ 이고;[169] R^{21} 은 (C2-C10)알킬 또는  이고;[170] L^{21} 은 (C1-C4)알킬렌 또는  이고;[171] L^{22} 는 단일결합 또는  이고;[172] L^{31} 내지 L^{33} 은 각각 독립적으로 (C1-C4)알킬렌이다.

[173] 일 양태에 따른 상기 화학식 11 내지 18로 표시되는 보디피 화합물은 서로 다른 세포 소기관을 표적하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 구체적으로, 상기 화학식 11로 표시되는 보디피 화합물은 R^{21} 에 따라 소포체 또는 지질방울을 표적할 수 있고, 상기 화학식 12로 표시되는 보디피 화합물은 소포체, 상기 화학식 13으로 표시되는 보디피 화합물은 골지체, 상기 화학식 14로 표시되는 보디피 화합물은 미토콘드리아, 상기 화학식 15로 표시되는 보디피 화합물은 리소좀, 상기 화학식 16으로 표시되는 보디피 화합물은 핵, 상기 화학식 17로 표시되는 보디피 화합물은 핵소체, 상기 화학식 18로 표시되는 화합물은 세포막을 정확하게 표적할 수 있다.

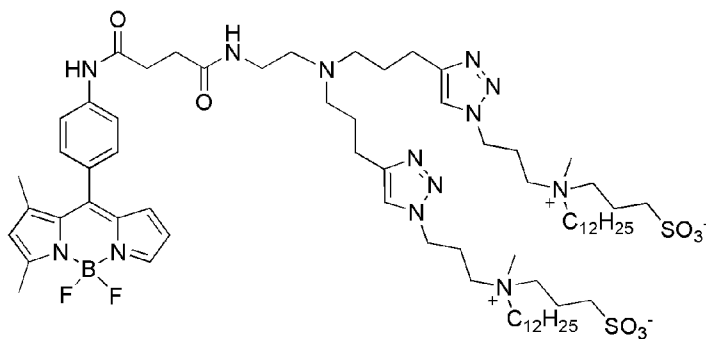
[174] 구체적으로, 상기 화학식 11로 표시되는 보디피 화합물은 R^{21} 이 (C2-C4)알킬 또는  인 경우, 소포체를 표적할 수 있고, 상기 R^{21} 이 (C5-C20)알킬인 경우 지질방울을 표적할 수 있다.

[175] 일 양태에 따른 상기 보디피 화합물은 하기 구조에서 선택되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

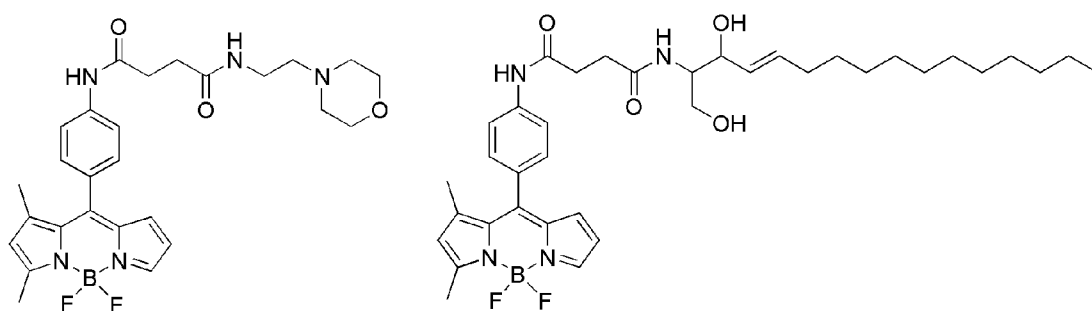
[176]



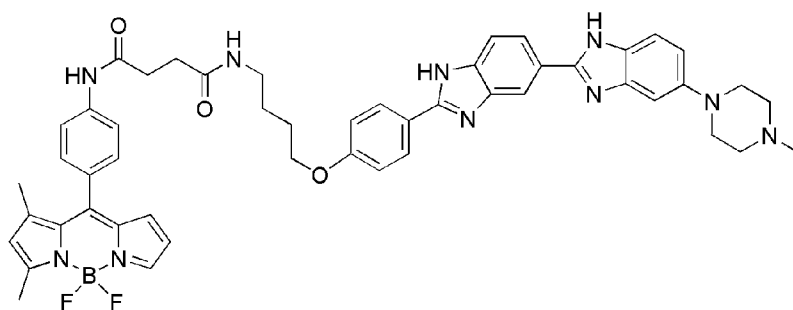
[177]



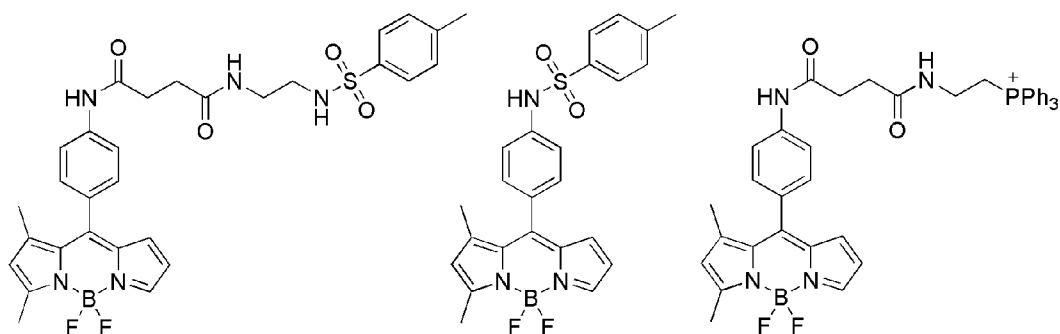
[178]



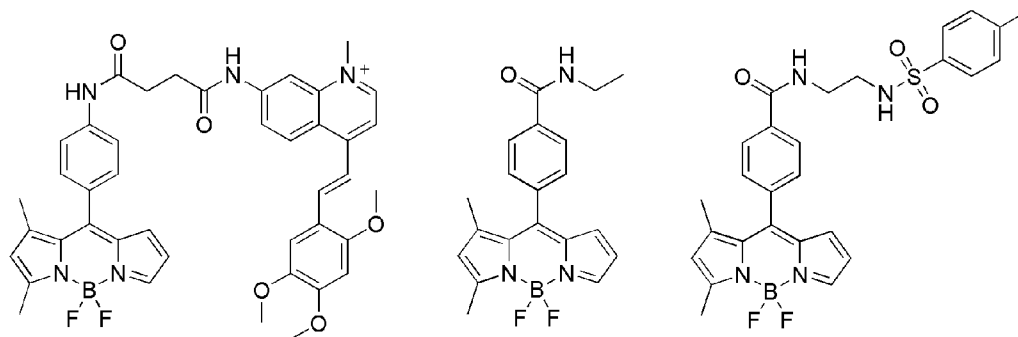
[179]



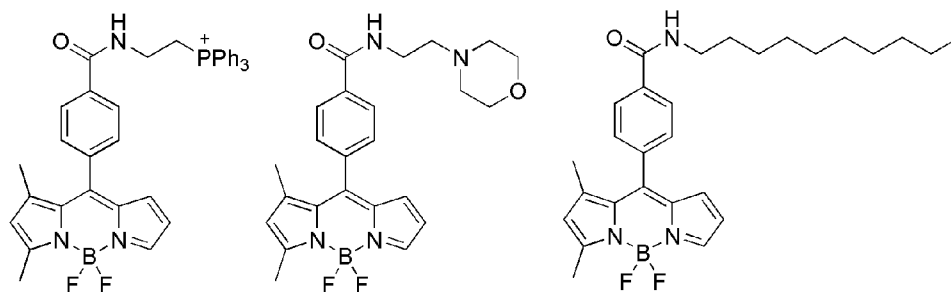
[180]



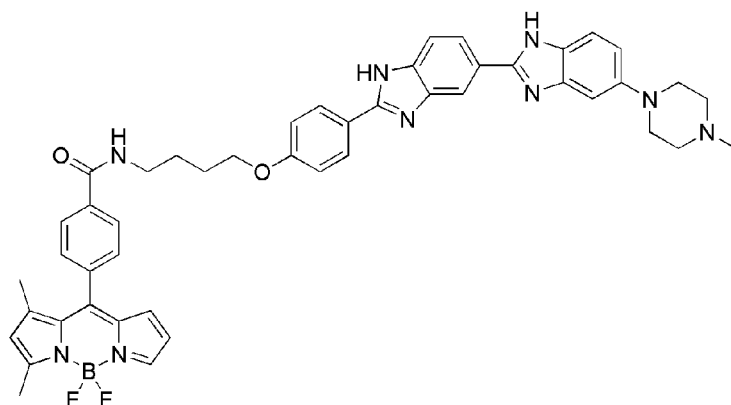
[181]



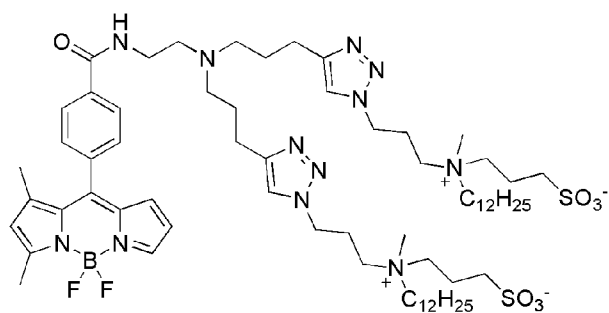
[182]



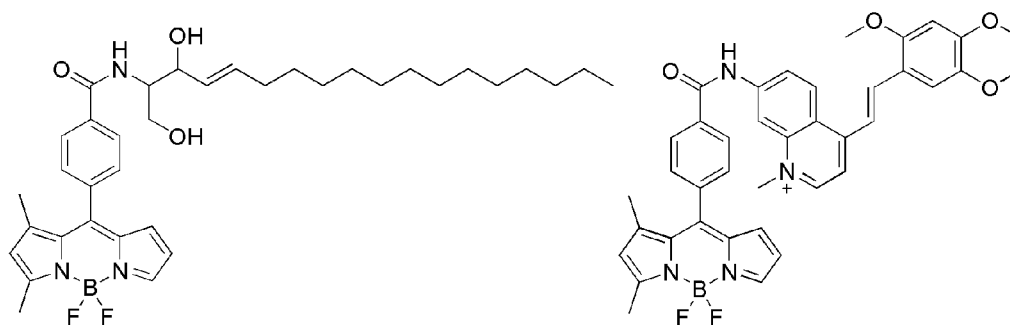
[183]



[184]



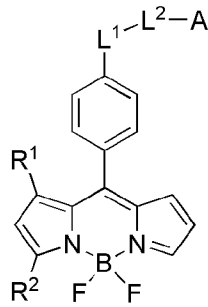
[185]



[186] 또한, 일 양태는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 포함하는 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서를 제공한다.

[187] [화학식 1]

[188]



[189] 상기 화학식 1에서,

[190] R_1 , R_2 , L_1 , L_2 및 A는 상기 화학식 1에서의 정의와 동일하다.

[191] 일 양태에 따른 화합물은 온도가 증가함에 따라 형광 수명이 감소하는 양태를 보이며, 미세한 온도 변화에도 형광 수명에 변화를 보여 온도 변화를 높은 감도로 신속하게 감지할 수 있는 형광 센서로 활용될 수 있다. 또한, 일 양태에 따른 화합물은 상기 A 치환기의 구조에 따라 서로 다른 세포 소기관을 정확하게 표적할 수 있으며, 상기 세포 소기관은 소포체(endoplasmic reticulum), 지질방울(lipid droplet), 골지체(golgi apparatus), 미토콘드리아(mitochondria), 리소좀(lysosome), 핵(nucleus), 핵소체(nucleolus) 및 세포막(plasma membrane)을 포함하는 것일 수 있다. 즉, 일 양태에 따른 화합물은 세포 소기관 별로 미세한 온도 변화를 시각화할 수 있으며, 세포 소기관의 온도 감응 형광 센서로 활용될 수 있다. 또한, 일 양태에 따른 화합물은 세포에 서로 다른 구조의 보디피 화합물 2개 이상을 동시에 처리하여, 한 번에 2개 이상의 소기관의 온도 변화를 감지할 수 있다.

[192] 또한, 일 양태는 상기 형광 센서를 이용하여 세포 소기관의 온도를 측정하는 방법을 제공한다.

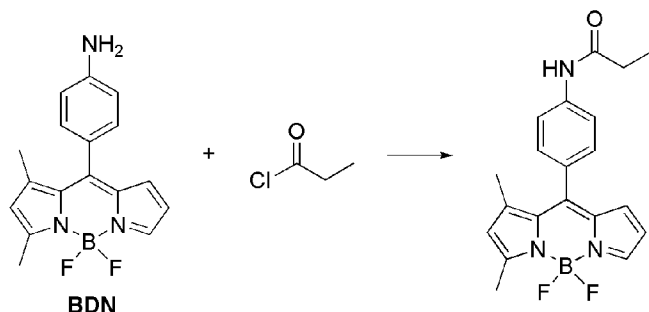
[193] 상기 방법은 형광 센서를 세포와 접촉시켜 세포를 염색시키는 단계; 상기 염색된 세포의 형광 수명을 분석하는 단계; 및 분석된 형광 수명에 따른 세포 소기관의 온도를 산출하는 단계;를 포함하는 것일 수 있다

[194] 구체적으로, 상기 소기관의 온도는, 온도에 따른 형광 센서의 형광 수명의 검량선으로부터 산출될 수 있으며, 상기 검량선은 형광 센서가 염색된 세포의 표준 온도에서의 형광 수명을 측정하고, 표준 온도로부터 변화하는 온도에 따른 형광 수명을 측정하여 산출될 수 있다. 여기서 표준 온도는 세포가 항상성(homeostasis)을 유지하는 온도, 또는 세포가 생존에 적합한 상태로 유지될 수 있는 최적 온도를 의미할 수 있으며, 예를 들어, 인체의 경우, 36.5 °C일 수 있다.

[195] 이하, 실시예를 통하여 상술한 구현예를 보다 상세하게 설명한다. 다만 하기의 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것이며 권리범위를 제한하는 것은 아니다.

[196] [실시예 1]

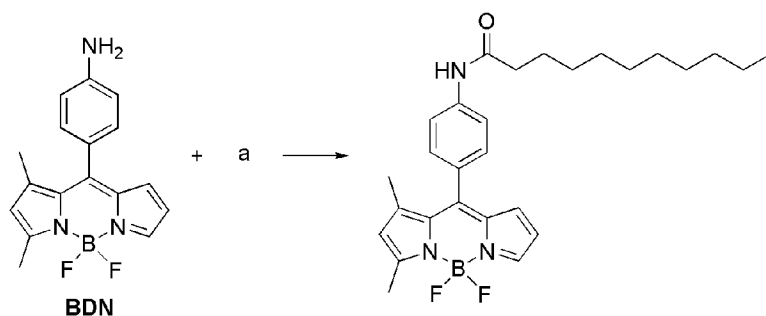
[197]



[198] BDN 화합물은 *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 8557-8560. 에 기재된 방법에 따라 제조하였다. BDN 화합물(48.2 μmol)을 5 mL 디클로로메탄(DCM)에 용해하고 0°C로 냉각한 뒤, 프로피오닐 클로라이드 (144.6 μmol)와 트리에틸아민(289.2 μmol)을 투입하였다. 0°C에서 10분, 상온에서 1시간 동안 반응시키고, 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 실시예 1 화합물(보디피 화합물 1)을 수득하였다.

[199] [실시예 2]

[200]



[201] (a): 운데카노일 클로라이드(undecanoyl chloride)

[202] BDN 화합물(48.2 μmol)을 5 mL 디클로로메탄(DCM)에 용해하고 0°C로 냉각한 뒤, 운데카노일 클로라이드 (144.6 μmol)와 트리에틸아민(289.2 μmol)을 투입하였다. 0°C에서 10분, 상온에서 1시간 동안 반응시키고, 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 실시예 2 화합물(보디피 화합물 2)를 수득하였다 (21.1 mg, 91.3 %).

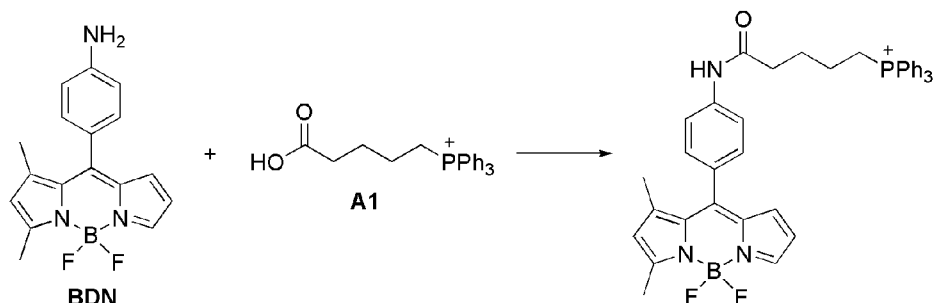
[203] ^1H NMR (850 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.68 (d, J = 7.7 Hz, 3H), 7.48 (s, 1H), 7.31 (s, 2H), 6.44 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 6.38 (s, 1H), 6.15 (s, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.41 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.77 (p, J = 7.5 Hz, 2H), 1.61 (s, 3H), 1.41 (p, J = 7.2 Hz, 2H), 1.38 - 1.34 (m, 2H), 1.31 (dd, J = 18.3, 11.6 Hz, 10H), 0.90 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

[204] ^{13}C NMR (214 MHz, Chloroform-*d*) δ 171.74, 161.94, 146.91, 143.01, 139.36, 138.56, 134.75, 133.60, 129.68, 129.31, 127.00, 123.26, 119.20, 116.08, 37.88, 31.89, 29.58, 29.50, 29.40, 29.31, 25.56, 22.68, 15.34, 15.16, 14.12.

[205] LC-MS m/z , calculated for $[\text{M}+\text{H}]^+$: 480.3. Found: 480.2.

[206] [실시예 3]

[207]



[208] A1 화합물은 J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 10027-10032. 에 기재된 방법에 따라 제조하였다. BDN 화합물 (14.3 mg, 45.9 μmol)을 5mL 디메틸포름아미드(DMF)에 용해하고, 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리다니움 3-옥시드 헥사플루오로포스페이트(HATU) (12.8 mg, 33.7 μmol)와 디에틸아이스프로필아민(11.72 μl , 67.3 μmol)을 1mL DMF에 녹인 용액을 투입하였다. 상온에서 12시간 반응을 진행하고 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 실시예 3 화합물 (보디피 화합물 3)을 수득하였다(16.9 mg, 47.8 %).

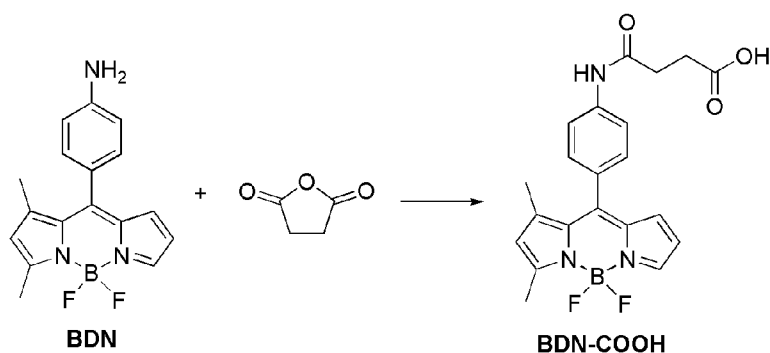
[209] ^1H NMR (850 MHz, Methanol- d_4) δ 7.91 - 7.88 (m, 3H), 7.85 - 7.81 (m, 6H), 7.77 (td, J = 7.9, 3.5 Hz, 6H), 7.73 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.36 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.44 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 6.42 (dd, J = 3.8, 2.0 Hz, 1H), 6.29 (s, 1H), 3.49 (td, J = 13.6, 8.3 Hz, 2H), 2.58 (s, 3H), 2.51 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 1.98 (p, J = 7.2 Hz, 2H), 1.81 (h, J = 8.3 Hz, 2H), 1.64 (s, 3H).

[210] ^{13}C NMR (214 MHz, Methanol- d_4) δ 172.25, 162.15, 147.10, 143.28, 139.97, 138.01, 134.93, 134.92, 134.58, 133.43, 133.39, 130.18, 130.12, 129.37, 129.11, 126.36, 123.10, 119.31, 118.65, 118.25, 115.62, 35.28, 26.03, 25.94, 21.67, 21.65, 21.33, 21.08, 14.05, 13.67.

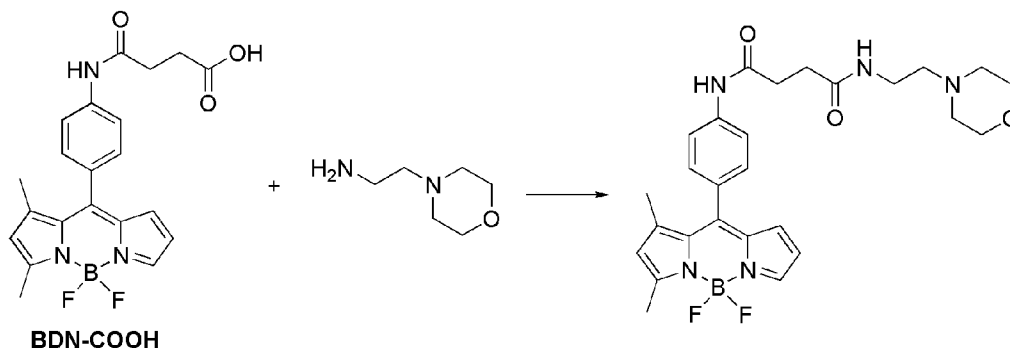
[211] LC-MS m/z , calculated for $[\text{M}]^+$: 656.3. Found: 656.2.

[212] [실시예 4]

[213]



[214]

[215] 단계 1: BDN-COOH 화합물의 제조

[216] BDN 화합물(100 mg, 321.4 μmol)을 50 mL 아세토나이트릴(ACN)에 용해하고, 무수숙신산(35.4 mg, 353.5 μmol)을 투입하였다. 상기 혼합 용액을 12시간 동안 reflux 하고, 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 BDN-COOH 화합물을 수득하였다 (126.1 mg, 92.0 %).

[217] ^1H NMR (850 MHz, Acetonitrile- d_3) δ 8.68 (s, 1H), 7.76 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.49 (s, 1H), 6.43 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 2.67 (d, J = 11.9 Hz, 4H), 2.58 (s, 3H), 1.63 (s, 3H).

[218] ^{13}C NMR (214 MHz, Acetonitrile- d_3) δ 173.62, 170.80, 162.50, 147.70, 143.60, 140.37, 137.83, 134.56, 133.62, 129.70, 128.44, 126.66, 123.56, 118.75, 116.00, 31.21, 28.43, 14.56, 14.33.

[219] LC-MS m/z , calculated for $[\text{M}+\text{H}]^+$: 412.2. Found: 412.2.

[220] 단계 2: 실시예 4 화합물의 제조

[221] 4-(2-아미노에틸)모르폴린 (4.8 μL , 36.5 μmol)을 5 mL DMF에 용해하고, 상기 BDN-COOH 화합물 (10 mg, 24.3 μmol), HATU (9.2 mg, 24.3 μmol) 및 디에틸이소프로필아민 (8.5 μL , 48.6 μmol)을 1mL DMF에 녹인 용액을 투입하였다. 상온에서 12 시간 반응하고 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 실시예 4 화합물(보디피 화합물 4)을 수득하였다 (7.4 mg, 58.0 %).

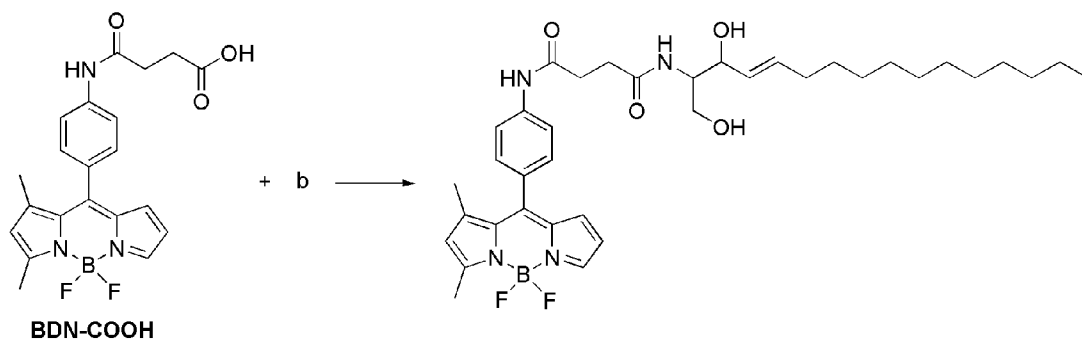
[222] ^1H NMR (850 MHz, Chloroform- d) δ 8.63 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.66 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.42 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.40 - 6.36 (m, 1H), 6.15 (s, 1H), 4.02 - 3.98 (m, 4H), 3.78 - 3.73 (m, 2H), 3.71 (d, J = 10.6 Hz, 2H), 3.34 - 3.28 (m, 2H), 2.94 (s, 2H), 2.84 - 2.78 (m, 2H), 2.72 - 2.67 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.60 (s, 3H).

[223] ^{13}C NMR (214 MHz, Chloroform- d) δ 174.27, 171.09, 162.08, 161.57, 161.39, 146.87, 142.82, 139.08, 138.60, 134.70, 133.59, 129.72, 129.63, 126.85, 123.30, 119.68, 116.08, 63.59, 57.98, 53.03, 33.70, 32.62, 31.17, 15.25, 15.17.

[224] LC-MS m/z , calculated for $[\text{M}+\text{H}]^+$: 524.3. Found: 524.2.

[225] [실시예 5]

[226]



[227] (b): D-스핑고신(D-Sphingosine)

[228] D-스핑고신(7.3 mg, 24.3 μmol)을 5mL DMF에 용해하고, HATU (11.1 mg, 29.2 μmol)와 디에틸이소프로필아민 (10.2 μL , 58.4 μmol)을 1mL DMF에 녹인 용액을 투입하였다. 상온에서 12 시간 반응하고 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 실시예 5 화합물(보디피 화합물 5)을 수득하였다 (10.6 mg, 63.0 %).

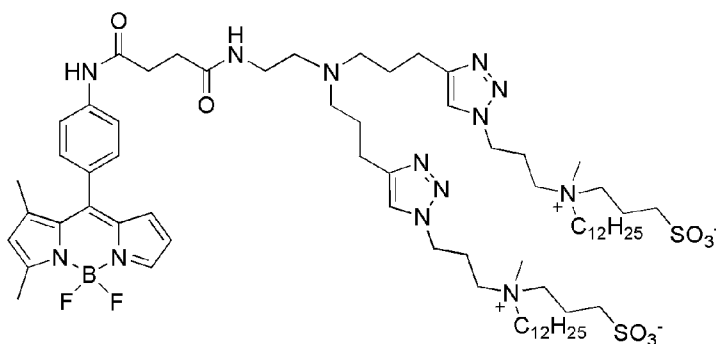
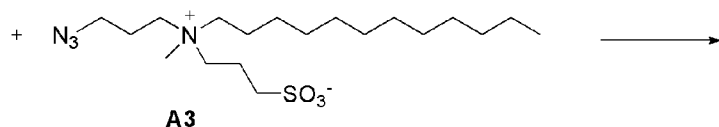
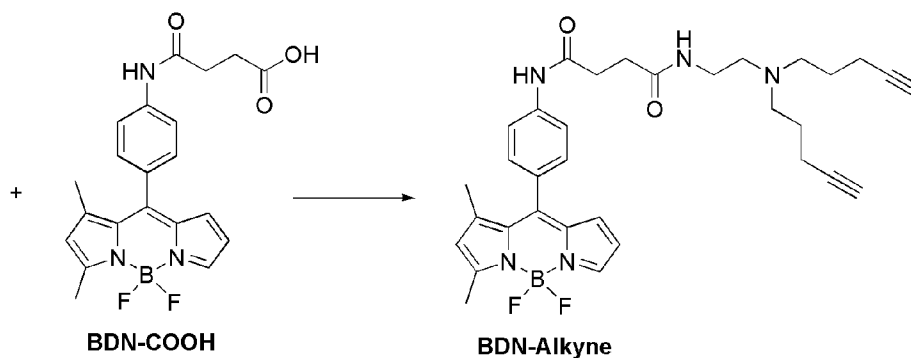
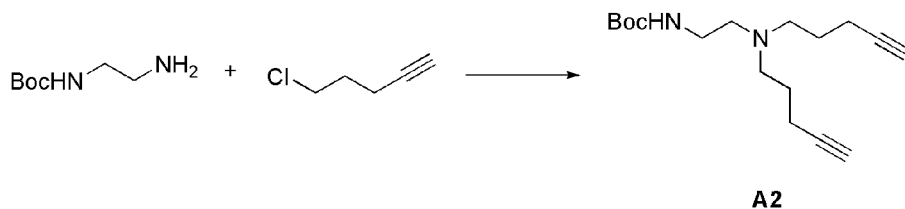
[229] ^1H NMR (850 MHz, Chloroform- d) δ 7.74 - 7.67 (m, 3H), 7.31 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.42 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 6.14 (s, 1H), 5.87 - 5.79 (m, 1H), 5.55 (dd, J = 15.3, 5.7 Hz, 1H), 4.40 (s, 1H), 4.03 - 3.98 (m, 1H), 3.98 - 3.93 (m, 1H), 3.77 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 2.85 (s, 2H), 2.75 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.07 (q, J = 6.8 Hz, 2H), 1.60 (s, 3H), 1.41 - 1.36 (m, 2H), 1.33 - 1.25 (m, 22H), 0.90 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

[230] ^{13}C NMR (214 MHz, Chloroform- d) δ 173.18, 171.23, 162.02, 146.81, 142.84, 139.13, 138.63, 134.70, 134.39, 133.57, 129.69, 128.30, 126.93, 123.26, 119.41, 116.07, 74.17, 61.81, 54.89, 32.84, 32.32, 31.93, 31.44, 29.70, 29.69, 29.66, 29.63, 29.50, 29.36, 29.25, 29.13, 22.69, 15.32, 15.16, 14.12.

[231] LC-MS m/z , calculated for $[\text{M-F}]^+$: 693.4. Found: 673.4.

[232] [실시예 6]

[233]

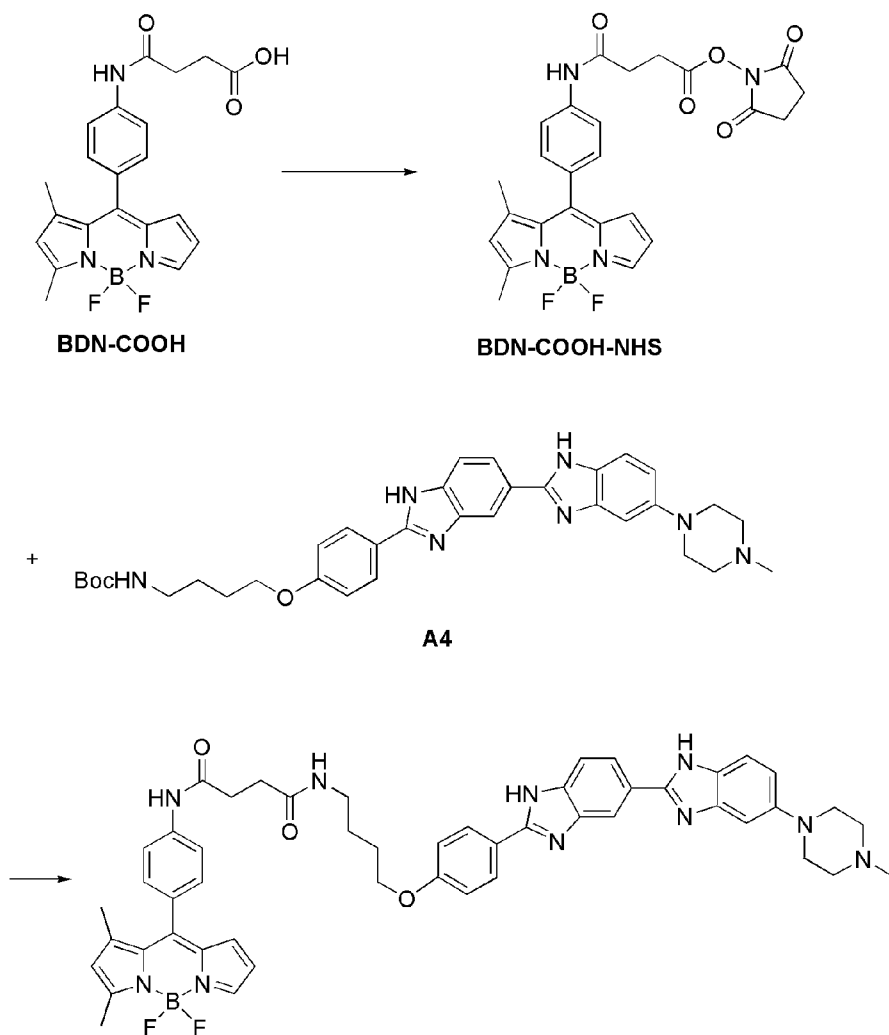
[234] 단계 1: A2 화합물의 제조

[235] N-Boc-에틸렌디아민(100 μl , 632 μmol), 5-클로로-1-펜틴(133.9 μl , 1264 μmol), 탄산 칼륨 (698.7 mg, 5056 μmol) 및 요오드화 칼륨 (419.6 mg, 2528 μmol)을 12mL DMF에 용하였다. 48시간 동안 reflux한 뒤, 반응 용액을 필터하고 진공 농축하여 A2 화합물을 수득하였다.

[236] ^1H NMR (500 MHz, Chloroform- d) δ 4.97 (s, 1H), 3.12 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.46 (q, J = 6.6 Hz, 6H), 2.19 (td, J = 7.0, 2.6 Hz, 4H), 1.92 (t, J = 2.6 Hz, 2H), 1.60 (p, J = 6.9 Hz, 4H), 1.40 (s, 9H).

- [237] ^{13}C NMR (126 MHz, Chloroform-d) δ 156.00, 84.07, 78.88, 68.61, 53.46, 52.38, 38.34, 28.39, 25.88, 16.07.
- [238] LC-MS m/z, calculated for $[\text{M}+\text{H}]^+$: 293.2. Found: 293.2
- [239] 단계2: BDN-Alkyne의 제조
- [240] A2 화합물 (30.6 mg, 104.6 μmol)을 20% TFA/DCM에 용해하고 상온에서 2시간 교반하였다. 이후 반응 용액을 진공 농축하고 5mL DMF에 다시 녹이고, BDN-COOH 화합물 (21.5 mg, 52.3 μmol), HATU (19.9 mg, 52.3 μmol) 및 디에틸이소프로필아민 (91.1 μl , 523 μmol)을 1mL DMF에 녹인 용액을 투입하였다. 상온에서 12 시간 반응하고 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 BDN-Alkyne 화합물을 수득하였다 (15.7 mg, 51.2 %).
- [241] ^1H NMR (850 MHz, Chloroform-d) δ 8.58 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.69 (d, J = 8.8 Hz, 3H), 7.31 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.43 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 6.38 (dd, J = 3.8, 2.0 Hz, 1H), 6.15 (s, 1H), 3.70 (q, J = 5.4 Hz, 2H), 3.39 - 3.32 (m, 4H), 3.30 (s, 2H), 2.83 - 2.79 (m, 2H), 2.70 - 2.66 (m, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.36 (td, J = 6.5, 2.5 Hz, 4H), 2.07 (t, J = 2.6 Hz, 2H), 1.98 (s, 4H), 1.60 (s, 3H).
- [242] ^{13}C NMR (214 MHz, Chloroform-d) δ 174.98, 170.96, 162.09, 146.92, 142.90, 139.22, 138.55, 134.69, 133.60, 129.63, 129.56, 126.89, 123.32, 119.55, 116.06, 81.04, 71.00, 55.34, 52.98, 35.30, 32.59, 31.21, 22.11, 15.77, 15.32, 15.17.
- [243] 단계3: 실시예 6 화합물의 제조
- [244] A3 화합물은 Chem. Commun. 2015, 51, 17136-17139. 에 기재된 방법에 따라 제조하였다. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (5 mg)와 아스코르브산나트륨 (5 mg)을 300 μl H_2O 에 용해하고 노란색이 되면, BDN-Alkyne 화합물(15.7 mg, 26.8 μmol)과 A3 화합물 (46.2 mg, 64.3 μmol)을 5mL DMF에 녹인 용액을 투입하였다. 60 $^\circ\text{C}$ 에서 12시간 동안 반응하고 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 실시예 6 화합물(보디피 화합물 6)을 수득하였다 (24.6 mg, 65.7 %).
- [245] ^1H NMR (850 MHz, Chloroform-d) δ 10.20 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.94 (s, 2H), 7.85 (s, 2H), 7.63 (s, 1H), 7.22 (s, 2H), 6.41 - 6.29 (m, 2H), 6.13 (s, 1H), 4.49 (s, 4H), 3.65 (s, 4H), 3.46 (d, J = 54.2 Hz, 6H), 3.26 (s, 4H), 3.11 (s, 8H), 2.89 (d, J = 64.9 Hz, 8H), 2.73 (d, J = 50.5 Hz, 6H), 2.59 (s, 5H), 2.48 (s, 4H), 2.13 (d, J = 20.4 Hz, 4H), 1.96 (s, 4H), 1.67 (s, 4H), 1.56 (s, 3H), 1.31 - 1.26 (m, 12H), 1.23 (d, J = 12.3 Hz, 24H), 0.87 (t, J = 7.2 Hz, 6H).
- [246] LC-MS m/z, calculated for $[(\text{M}+2\text{H})/2]^+$: 698.0. Found: 698.0.
- [247] [실시예 7]

[248]

[249] 단계 1: BDN-COOH-NHS의 제조

[250] BDN-COOH 화합물 (11.3 mg, 27.5 μmol), N-하이드록시석신이미드 (4.7 mg, 41.2 μmol) 및 N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드 (7.9 mg, 41.2 μmol)을 3mL DMF에 용해하였다. 상온에서 12시간 동안 반응하고 얻어진 crude BDN-COOH-NHS를 수득하였다.

[251] 단계 2: 실시예 7 화합물의 제조

[252] A4 화합물은 Nat. Commun. 2015, 6, 8497. 에 기재된 방법에 따라 제조하였다. A4 화합물 (18.3 mg, 30.7 μmol)을 20% 트리플루오로아세트산(TFA)/DCM 용액에 용해하고, 상온에서 2시간 교반하였다. 이후, 반응용액을 진공 농축하고, 다시 1mL DMF에 녹이고 상기에서 수득한 crude BDN-COOH-NHS와 디에틸이소프로필아민(47.9 μL , 275 μmol)을 투입하였다. 상온에서 12 시간 반응하고 진공 농축한 뒤 HPLC 정제를 통해 실시예 7 화합물(보디피 화합물 7)을 수득하였다 (10.6 mg, 43.3 %).

[253] ^1H NMR (850 MHz, Methanol- d_4) δ 8.33 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.07 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.98 - 7.94 (m, 1H), 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.70 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.55 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.26 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.24 - 7.19

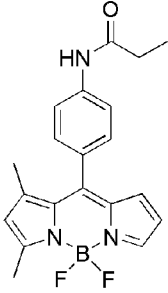
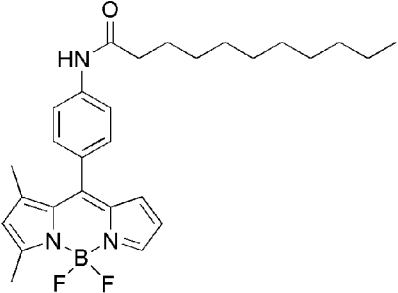
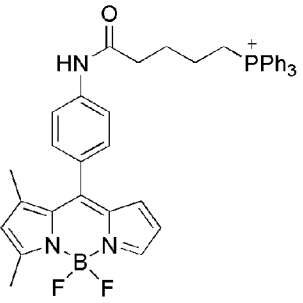
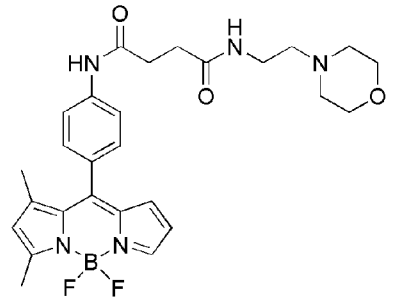
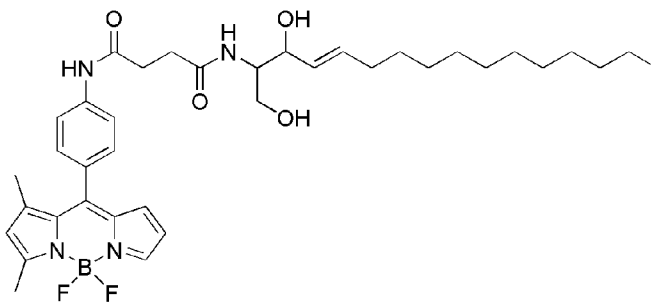
(m, 1H), 7.10 (dd, J = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.40 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.36 (dd, J = 3.5, 1.9 Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 4.06 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.44 (s, 4H), 3.37 (d, J = 4.7 Hz, 4H), 3.30 (q, J = 6.6 Hz, 2H), 2.91 (s, 3H), 2.74 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.60 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.47 (s, 3H), 1.89 - 1.83 (m, 2H), 1.76 - 1.70 (m, 2H), 1.54 (s, 3H).

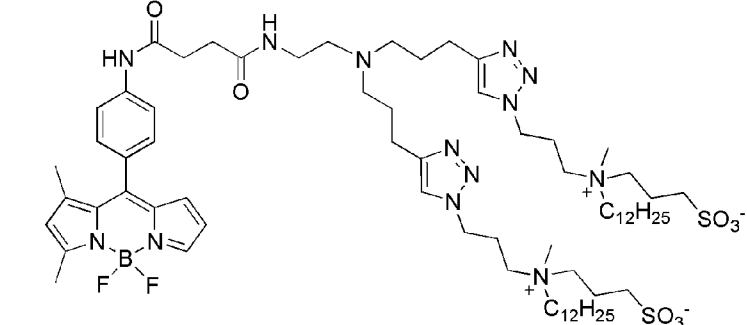
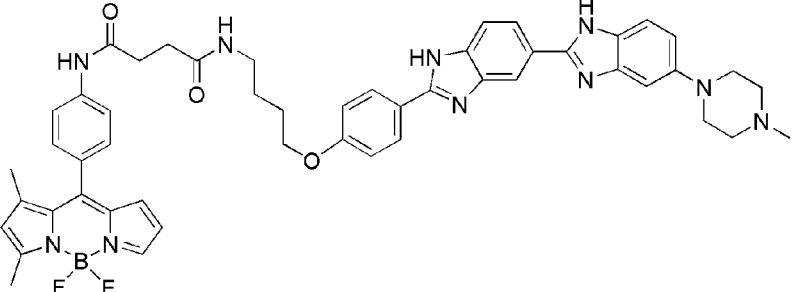
[254] ^{13}C NMR (214 MHz, Methanol- d_4) δ 174.64, 173.12, 167.22, 163.35, 162.62, 155.43, 154.09, 148.41, 148.40, 139.23, 135.93, 134.73, 130.69, 130.20, 129.61, 127.76, 125.16, 124.38, 122.77, 120.60, 116.93, 116.73, 116.13, 103.40, 68.88, 55.23, 50.13, 44.01, 40.05, 33.10, 31.88, 27.57, 27.03, 15.42, 14.99.

[255] LC-MS m/z, calculated for $[\text{M}+\text{H}]^+$: 889.4. Found: 889.4.

[256] 상기 실시예 1 내지 실시예 7 화합물을 하기 표 1에 정리하여 나타내었다.

[표1]

No.	화학식	No.	화학식
1		2	
3		4	
5			

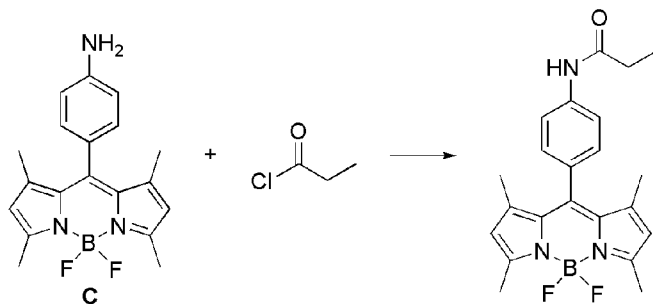
6	
7	

[258]

[259]

[비교예 1]

[260]

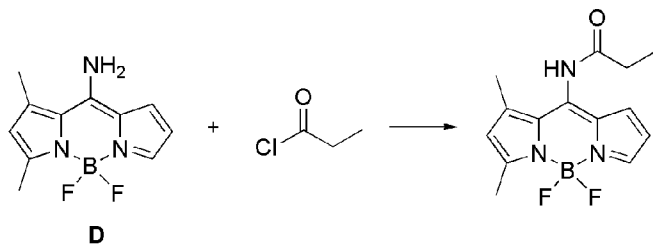


[261] BDN 화합물 대신 화합물 C를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일하게 실시하여 비교예 1 화합물을 수득하였다. 상기 화합물 C는 Spectrochim. Acta, Part A 2004, 60A, 987에 기재된 방법에 따라 제조하였다.

[262]

[비교예 2]

[263]



[264] 화합물 C 대신에 화합물 D를 사용한 것을 제외하고는 상기 비교예 1과 동일하게 실시하여 비교예 2 화합물을 수득하였다.

[265] 세포 배양

[266] 헬라 세포(HeLa cell)와 갈색 지방 세포(murine brown adipocyte)는 각각 소태아 혈청(10%)과 페니실린-스트렙토마이신을 첨가한 둘베코의 수정된 독수리 배지

(Dulbecco's modified eagle's medium, 이하 DMEM)에서 배양했으며, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 3.5cm 유리 기반 접시(glass-based dish)에서 배양하였다.

[267] <평가예>

[268] 평가 1. 세포 소기관 특이성(organelle-specificity) 평가

[269] 상기 실시예에서 제조된 보디피 화합물의 세포 소기관 특이성을 확인하기 위하여, 공동 국재화(co-localization) 시험을 수행하였으며, 그 결과를 도 1에 도시하였다. 공동 국재화 시험은 실시예의 보디피 화합물과 상업적으로 판매되는 소기관 추적기(소포체: ER-Tracker[™] Red, 골지체: BODIPY TR ceramide, 핵: SYTOTM61 red fluorescent nucleic acid, 미토콘드리아: MitoTracker Deep Red FM, 세포막: Cell Mask Orange, 리소좀: LysoTracker Red DND-99, 지질방울: Nile red)를 세포에 함께 염색하여 수행하였다. 구체적으로, 실시예 1, 실시예 3 내지 7의 보디피 화합물 800 nM, 그에 대응하는 소기관 추적기(소포체, 골지체, 핵, 미토콘드리아, 세포막 및 리소좀) 500 nM가 되도록 DMEM(HeLa 세포)에 첨가하고, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 30 분간 배양하여 세포를 염색하였다. 이후, 공초점 현미경(confocal microscope, FV1200, Olympus)를 이용하여 실시예의 보디피 화합물에 의한 형광 이미지(방출파장: 490-540 nm, laser: 473 nm)와 소기관 추적기에 의한 형광 이미지(방출파장: 575-675 nm, laser: 561 nm)를 비교 분석하였다. 또한, 실시예 2의 보디피 화합물과 지질방울 추적기를 활용한 공동 국재화 시험은 갈색 지방 세포(murine brown adipocyte)를 이용하여 동일하게 수행하였다.

[270] 도 1을 참조하면, 실시예 1의 보디피 화합물은 소포체(ER; endoplasmic reticulum), 실시예 2의 보디피 화합물은 지질방울(LD; lipid droplet), 실시예 3의 보디피 화합물은 미토콘드리아(Mito; mitochondria), 실시예 4의 보디피 화합물은 리소좀(Lyso; lysosome), 실시예 5의 보디피 화합물은 골지체(Golgi; golgi apparatus), 실시예 6의 보디피 화합물은 세포막(PM: plasma membrane), 실시예 7의 보디피 화합물은 핵(Nuc; nucleus)을 표적할 수 있음을 확인하였다.

[271] 평가 2. 세포에서의 온도 감도 평가

[272] 형광 수명 이미징 현미경(fluorescence lifetime imaging microscope; FLIM)을 이용하여 실시예 및 비교예에서 제조된 보디피 화합물의 세포 내에서의 온도 감도를 평가하였다.

[273] 구체적으로, 실시예 및 비교예의 보디피 화합물을 DMEM(HeLa 세포 또는 갈색 지방세포)에 최종농도 500 nM로 각각 첨가하고, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 30 분간 배양하여 세포를 염색하였다. 이후, 광열 물질인 흑연 플레이크 분말(98mm, M199.95, NSC)을 유리 접시 위 중앙에 놓고, 흑연 플레이크에 808 nm 레이저를 조사하여 염색된 세포의 온도 상승을 유도하였다. 808 nm 레이저(100mW, 레이저 코어 크기: 50mm, FiberLabs Inc.)는 흑연 플레이크에 15초 동안 조사하고, 15초 동안 휴식을 취하는 과정을 세 번 반복하였다. 15초 동안 레이저를 조사하면 국부적인 열점이 증가하고, 생성된 열이 흑연에서 주변 셀로 전달되어 가열 중심(고온)에서 주변 영역(저온)으로 온도 구배가 발생한다. FLIM 이미지는 485 nm

펄스 레이저를 사용하여 1.66초 마다 촬영하고, 형광 수명에 대한 모든 데이터는 심포타임 64(PicoQuant)로 분석했으며, 가열 중 각 ROI(region of interest)에서의 형광 수명을 분석하였다. 실시예 및 비교예의 보디피 화합물의 온도 증가(ΔT)에 대한 형광 수명(fluorescent life time) 변화 그래프를 도 2에 도시하고, 온도 감도($\text{ps}/^{\circ}\text{C}$)를 계산하여 하기 표 2에 기재하였다.

- [274] 도 2와 같이, 실시예의 보디피 화합물은 온도가 증가함에 따라 형광 수명이 현저히 감소하며, 실시예 보디피 화합물의 형광 수명은 온도 증가와 반비례하는 상관관계를 보이는 것을 알 수 있다. 또한, 온도가 더 높은 ROI에서는 흑연 플레이트 크와 멀리 떨어진 곳보다 더 낮은 수명 값을 보이는 것을 확인하였다. 즉, 본 발명에 따른 보디피 화합물은 마이크로 스케일에서 세포 내 온도 구배를 감지하는데 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

- [275] [표2]

	실시예						
	1	2	3	4	5	6	7
온도 감도 ($\text{ps}/^{\circ}\text{C}$)	46	27	60	38	48	74	125

- [276] 또한, 상기 표 2와 같이 본 발명에 따른 보디피 화합물은 온도 감도가 매우 높은 것을 알 수 있다. 즉, 일 양태에 따른 보디피 화합물은 세포 소기관 별로 미세한 온도 변화를 시각화 할 수 있으며, 세포 소기관의 온도 감응 형광 센서로 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다. 또한, 상기 비교예 1 및 2의 보디피 화합물은 실시예에 따른 보디피 화합물 대비 온도 감도가 저하되는 것을 확인하였다. 구체적으로, 비교예 1 및 2의 화합물은 본 발명의 실시예 1 화합물과 마찬가지로 ER을 표적할 수는 있지만 대칭 구조의 보디피 모핵을 가짐에 따라(비교예 1), 또는 페닐렌 연결기를 포함하지 않음에 따라(비교예 2) 실시예 1 대비 온도 감도가 현저히 저하되었는 것을 확인하였다.

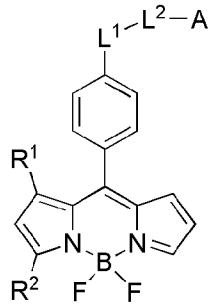
- [277] **평가 3. 세포 독성 평가**

- [278] 세포 독성 평가를 위해, 세포 생존력(cell viability) 테스트를 진행하였으며 그 결과는 3에 도시하였다. 구체적으로, 96웰 플레이트에 실시예의 보디피 화합물을 다양한 농도(500nM, 2 μM , 5 μM)로 HeLa 세포에 첨가하고 배양기에서 6시간(도3-(A)) 및 12시간(도3-(B)) 동안 배양하였다. 각 웰에 10 μl 의 CCK-8 용액을 추가하고 플레이트를 한 시간 더 배양한 후, 450nm에서 흡광도를 SpectraMax®M2e 플레이트 판독기를 사용하여 측정하여 세포 생존력을 분석하였다. 도 3을 참조하면, 발명에 따른 보디피 화합물은 세포에 독성을 야기하지 않는 것을 알 수 있다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 (C1-C7)알킬이고;

L^1 은 $-NR^3C(=O)-$, $-C(=O)NR^4-$ 또는 $-NR^5S(=O)_2-$ 이고;

R^3 내지 R^5 는 각각 독립적으로 수소, (C1-C7)알킬 또는 (C6-C12)아릴이고;

L^2 는 단일결합, (C1-C30)알킬렌 또는 (C1-C30)헤테로알킬렌이고;

상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌의 $-CH_2-$ 는 $-C(=O)-$ 및 $-S(=O)_2-$ 에서 선택되는 하나 또는 둘 이상으로 대체될 수 있으며;

상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있고;

A는 (C2-C30)알킬, (C2-C30)알케닐, (C6-C30)아릴, (C1-C7)알킬(C6-C30)아릴, (C2-C30)헤테로아릴, (C2-C30)헤테로시클로알킬, $*-L^3-L^4-Ar^1$,

$*-P^+(Ar^2)_3$ 또는 $*-NR^6R^7$ 이고;

L^3 및 L^4 는 각각 독립적으로 (C2-C30)알케닐렌, (C6-C30)아릴렌 또는 (C2-C30)헤테로아릴렌이고;

Ar^1 은 (C6-C30)아릴, (C1-C7)알콕시(C6-C30)아릴, (C2-C30)헤테로아릴, (C3-C30)시클로알킬 또는 (C2-C30)헤테로시클로알킬이고;

Ar^2 는 (C6-C30)아릴 또는 (C2-C30)헤테로아릴이고;

R^6 및 R^7 는 각각 독립적으로 수소, (C1-C20)알킬, (C6-C20)아릴 또는

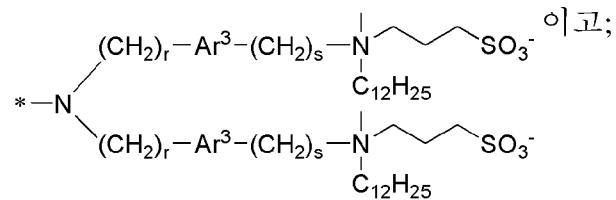
$*-(CH_2)_r-Ar^3-(CH_2)_s-N^+(C_{12}H_{25})SO_3^-$ 이고;

Ar^3 는 (C6-C30)아릴렌 또는 (C2-C30)헤테로아릴렌이고;

r 및 s는 각각 독립적으로 1 내지 5의 정수이다.

[청구항 2] 제1항에 있어서,

상기 A는 (C2-C20)알킬, (C2-C20)알케닐, (C1-C7)알킬(C6-C20)아릴, (C2-C20)헤테로시클로알킬, $*-L^3-L^4-Ar^1$, $*-P^+(Ar^2)_3$ 또는



L^3 는 (C6-C20)아릴렌 또는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고;

L^4 는 (C2-C20)알케닐렌 또는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고;

Ar^1 은 (C1-C7)알콕시(C6-C20)아릴 또는 (C2-C20)헤테로시클로알킬이고;

Ar^2 는 (C6-C20)아릴이고;

Ar^3 는 (C2-C20)헤테로아릴렌이고;

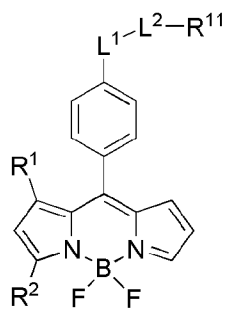
r 및 s는 각각 독립적으로 1 내지 5의 정수인, 화합물.

[청구항 3]

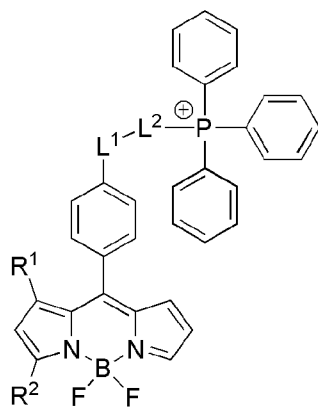
제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 2 내지 7 중 어느 하나로 표시되는 것인, 화합물.

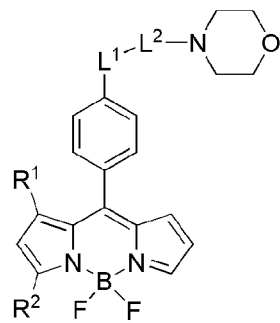
[화학식 2]



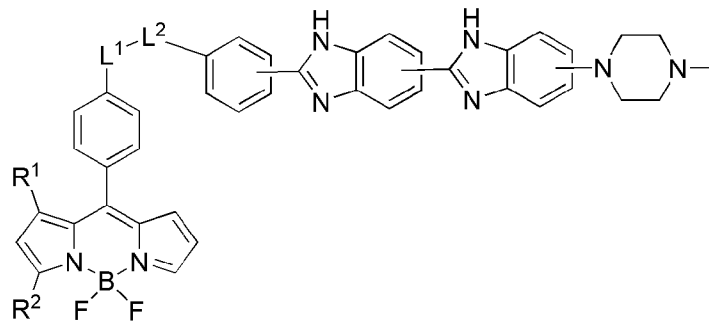
[화학식 3]



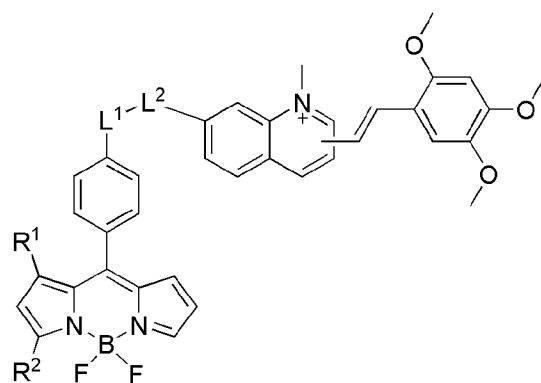
[화학식 4]



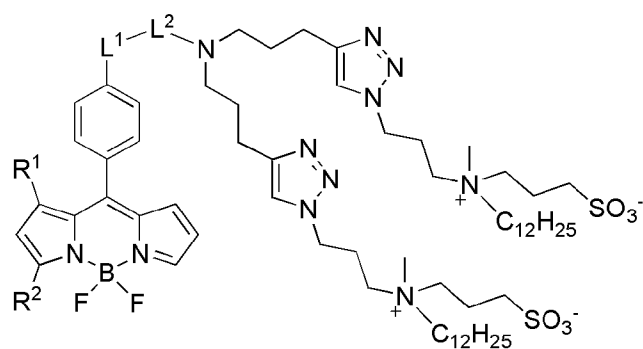
[화합식 5]



[화합식 6]



[화합식 7]



상기 화학식 2 내지 7에서,

R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 (C1-C7)알킬이고;

R^{11} 은 (C2-C20)알킬, (C2-C20)알케닐, (C6-C20)아릴 또는 (C1-C7)알킬(C6-C20)아릴이고;

L^1 은 $-NHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 또는 $-NHS(=O)_2-$ 이고;

L^2 는 단일결합, (C1-C20)알킬렌 또는 (C1-C20)헤테로알킬렌이고;

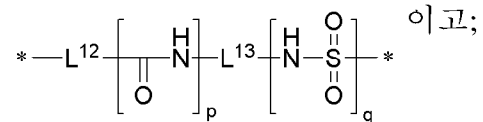
상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌의 $-CH_2-$ 는 $-C(=O)-$ 및 $-S(=O)_2-$ 에서 선택되는 하나 또는 둘 이상으로 대체될 수 있으며;

상기 L^2 의 알킬렌 및 헤테로알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있다.

[청구항 4]

제1항에 있어서,

상기 L^2 는 단일결합, (C1-C10)알킬렌, $*-L^{11}-O-*$ 또는



L^{11} 및 L^{12} 는 각각 독립적으로 (C1-C10)알킬렌이고;

L^{13} 은 단일결합, (C1-C10)알킬렌 또는 $*-L^{14}-O-*$ 이고;

L^{14} 는 (C1-C10)알킬렌이고;

L^2 및 L^{11} 내지 L^{13} 의 알킬렌은 히드록시기로 더 치환될 수 있고;

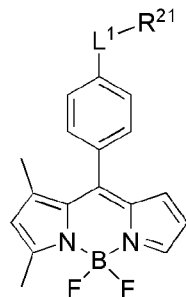
p 및 q 는 각각 독립적으로 0 또는 1의 정수이며, p 및 q 중 적어도 하나는 1인, 화합물.

[청구항 5]

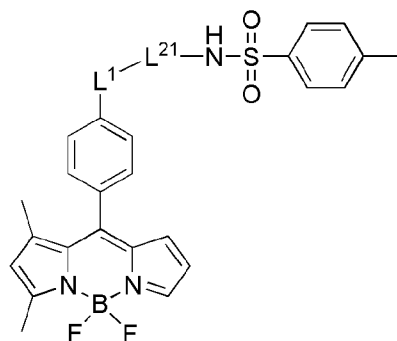
제3항에 있어서,

상기 화합물은 하기 화학식 11 내지 18 중 하나로 표시되는 것인, 화합물.

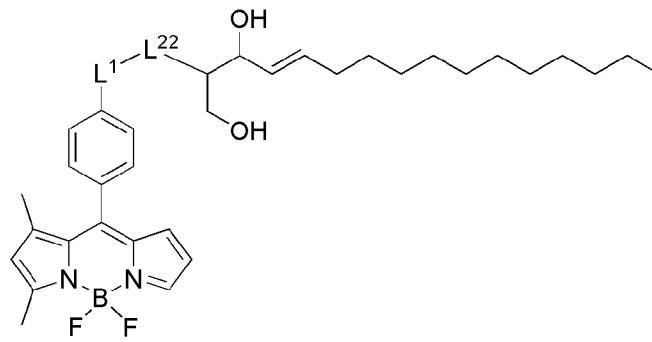
[화학식 11]



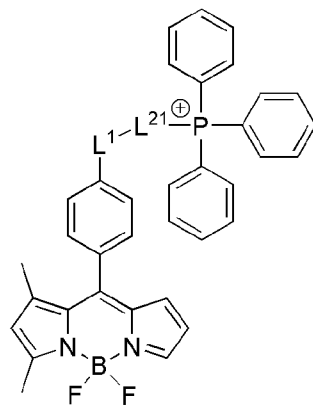
[화학식 12]



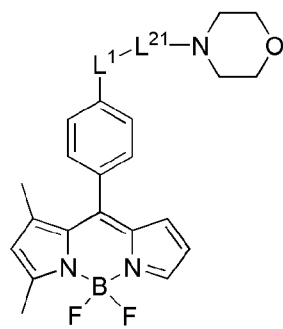
[화학식 13]



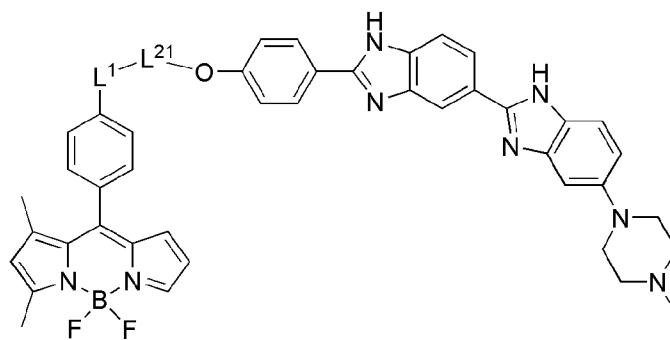
[화·학·식 14]



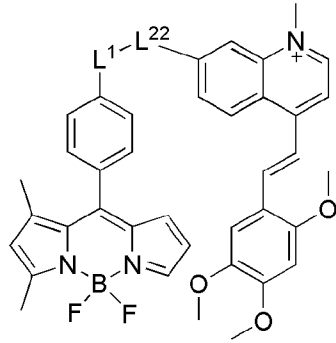
[화·학·식 15]



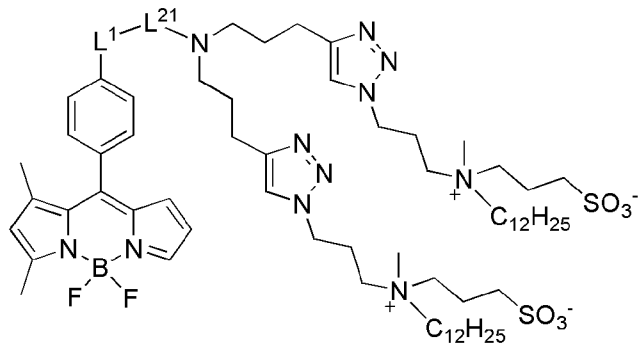
[화·학·식 16]



[화·학·식 17]

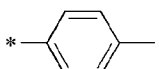


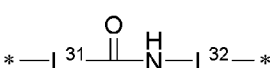
[화합식 18]

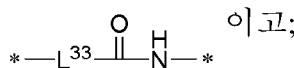


상기 화합식 11 내지 18에서,

L^1 은 $-NHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 또는 $-NHS(=O)_2-$ 이고;

R^{21} 은 (C2-C10)알킬 또는  이고;

L^{21} 은 (C1-C4)알킬렌 또는  이고;

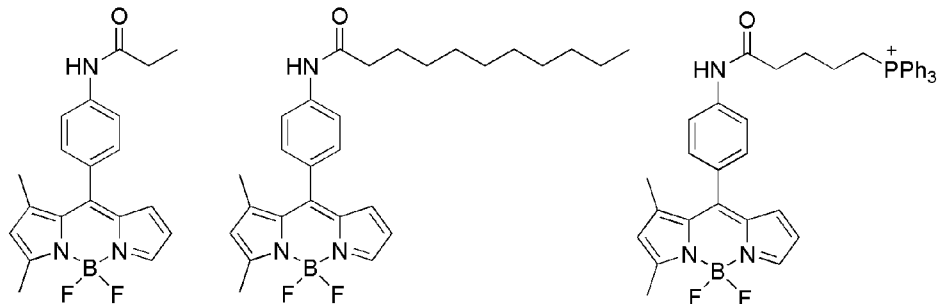
L^{22} 는 단일결합 또는  이고;

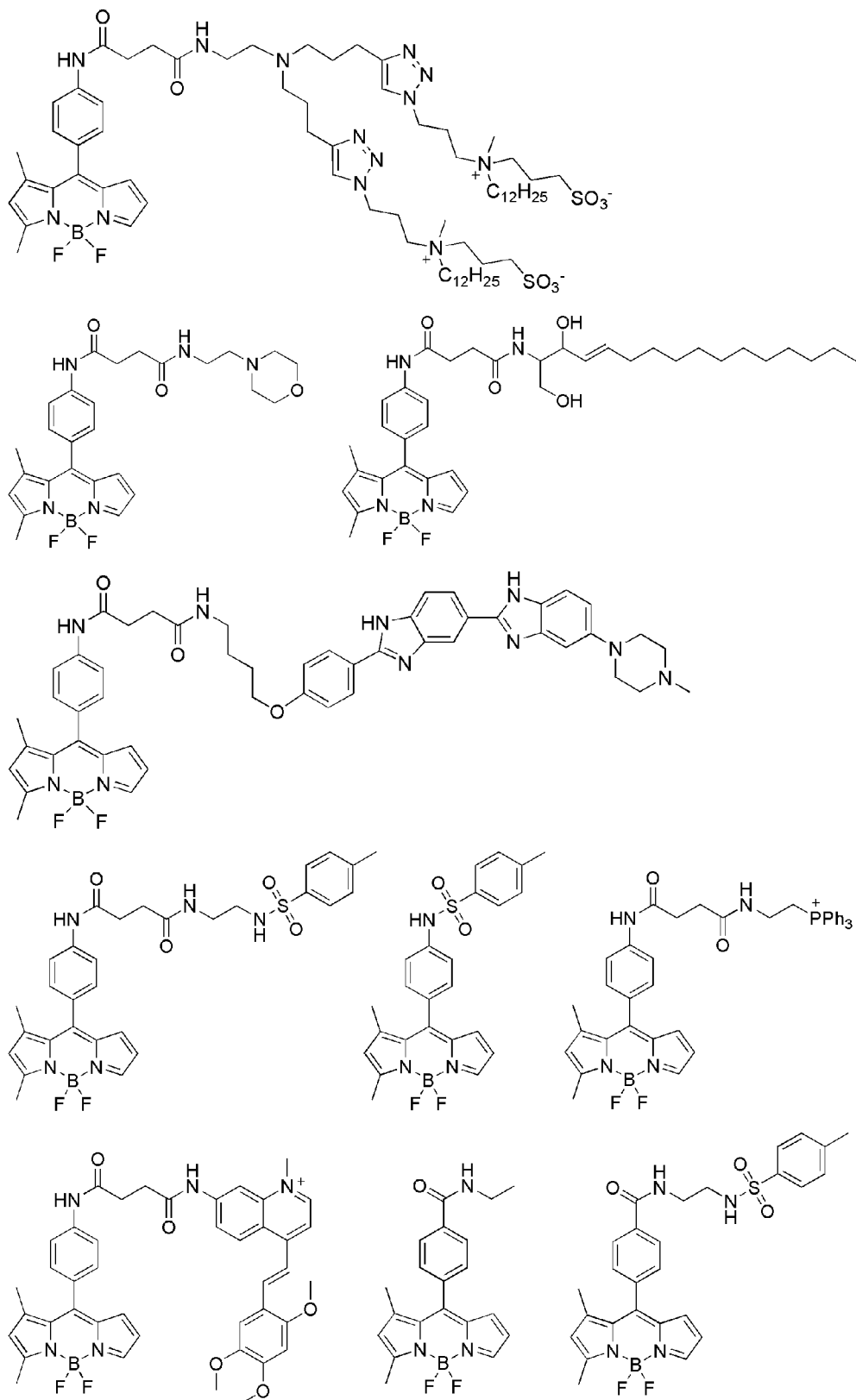
L^{31} 내지 L^{33} 은 각각 독립적으로 (C1-C4)알킬렌이다.

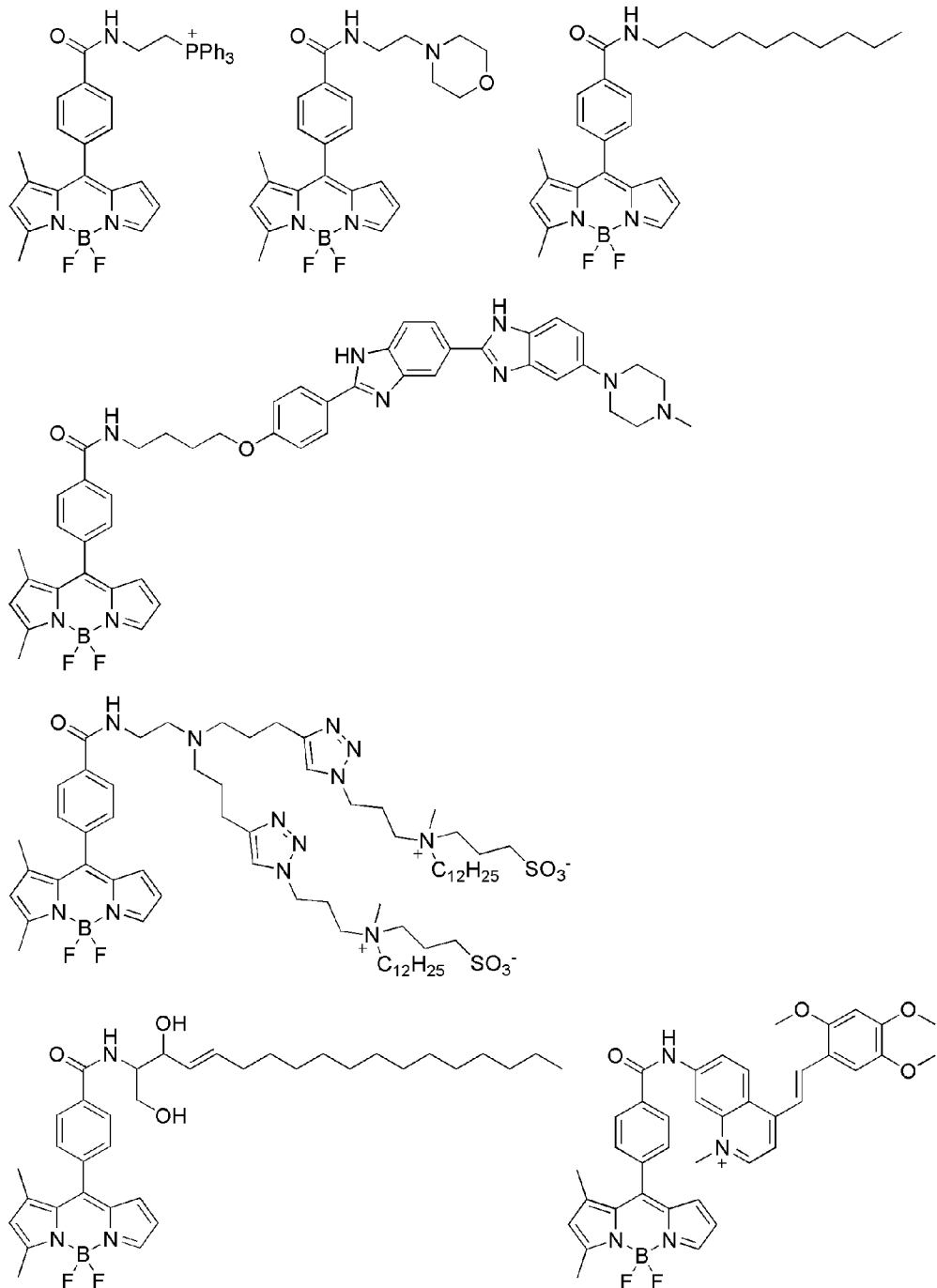
[청구항 6]

제1항에 있어서,

상기 화합물은 하기 구조에서 선택되는 것인, 화합물.





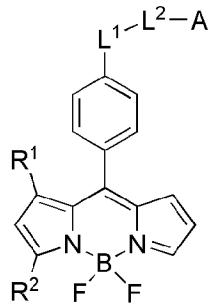


[청구항 7] 제3항에 있어서,
상기 화합물은 서로 다른 세포 소기관을 표적하는 것을 특징으로 하는, 화합물.

[청구항 8] 제7항에 있어서,
상기 화합물은 소포체(endoplasmic reticulum), 지질방울(lipid droplet), 골지체(golgi apparatus), 미토콘드리아(mitochondria), 리소좀(lysosome), 핵(nucleus), 핵소체(nucleolus) 및 세포막(plasma membrane)을 포함하는 세포 소기관을 표적하는 것인, 화합물.

[청구항 9] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 포함하는 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

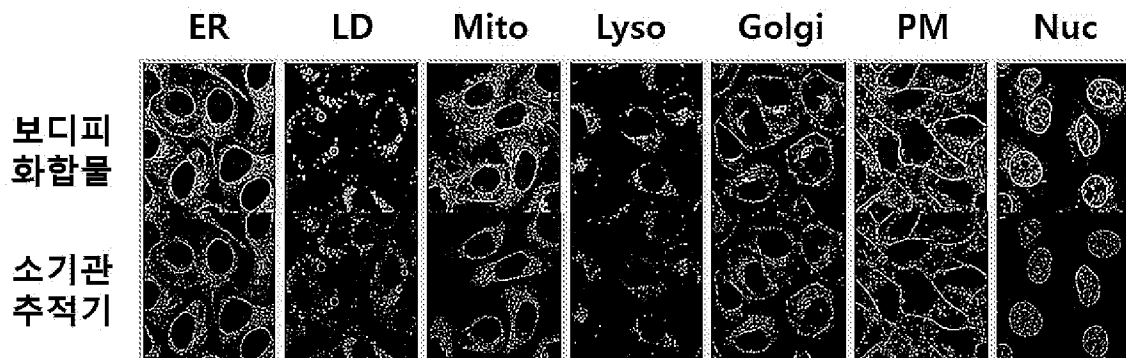
R_1 , R_2 , L_1 , L_2 및 A 는 제 1항의 화학식 1에서의 정의와 동일하다.

[청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 세포 소기관은 소포체(endoplasmic reticulum), 지질방울(lipid droplet), 골지체(golgi apparatus), 미토콘드리아(mitochondria), 리소좀(lysosome), 핵(nucleus), 핵소체(nucleolus) 및 세포막(plasma membrane)을 포함하는 것인, 세포 소기관의 온도 감응용 형광 센서.

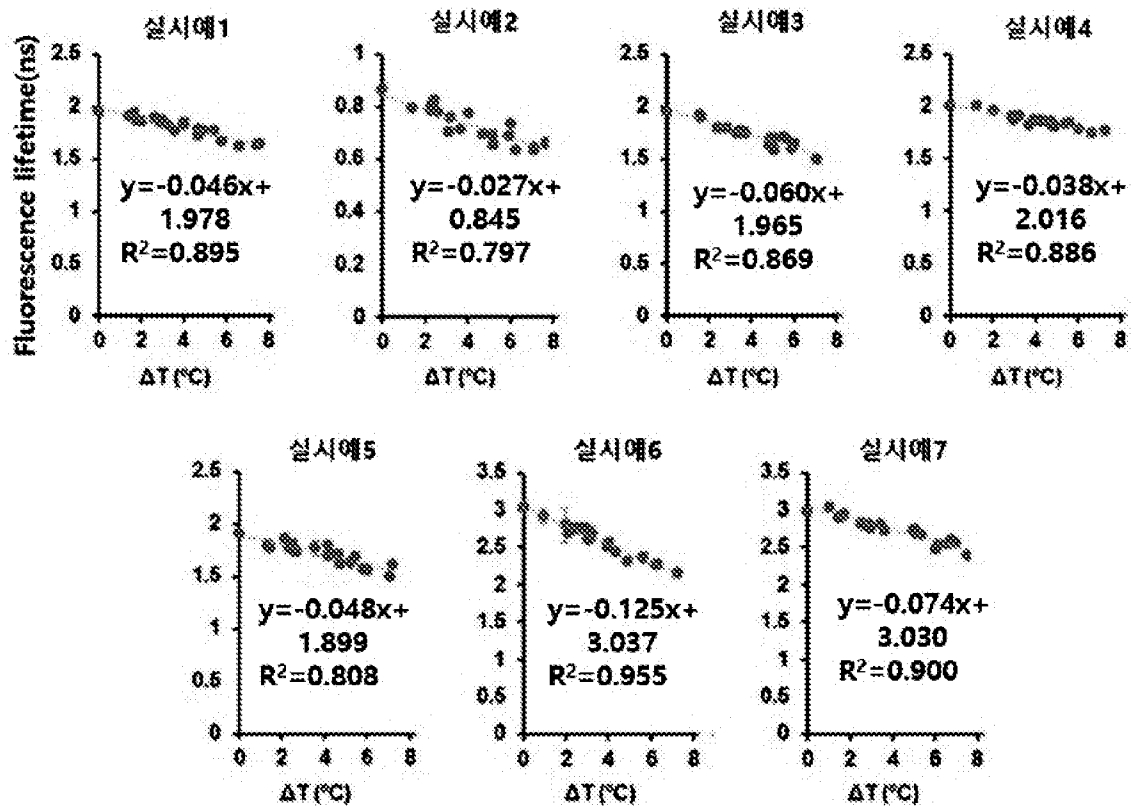
[청구항 11] 제9항에 따른 형광 센서를 이용하여 세포 소기관의 온도를 측정하는 방법:

[청구항 12] 제11항에 있어서,
형광 센서를 세포와 접촉시켜 세포를 염색시키는 단계;
상기 염색된 세포의 형광 수명을 분석하는 단계; 및
분석된 형광 수명에 따른 세포 소기관의 온도를 산출하는 단계;를 포함하는 세포 소기관의 온도를 측정하는 방법.

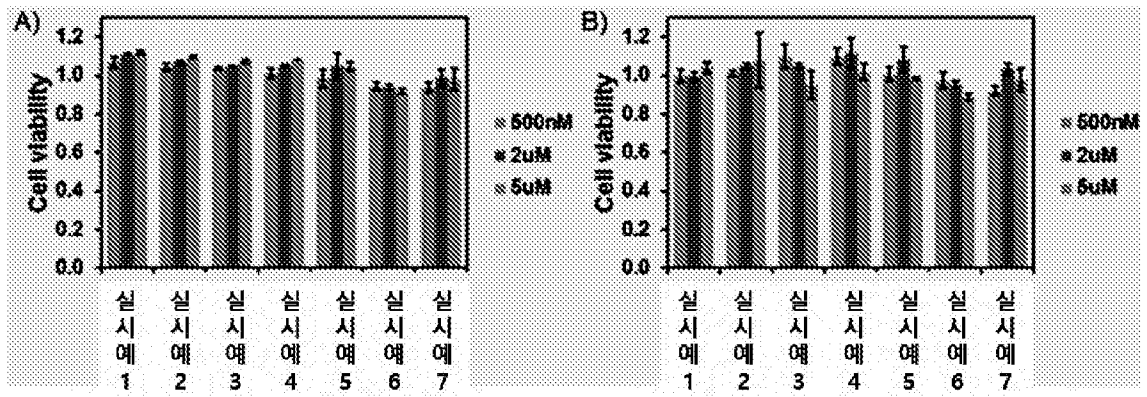
【도1】



【도2】



【도3】



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2023/006990

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07F 5/02(2006.01)i; G01K 11/20(2006.01)i; G01K 11/16(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) C07F 5/02(2006.01); C08F 222/38(2006.01); C12Q 1/02(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) & keywords: 보디피 화합물(BODIPY compound), 온도(temperature), 형광 센서(fluorescence sensor), 세포(cell)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	Chemical Abstract Compound. STNext. RN 2602662-20-2 (04 March 2021). See the compounds.	1,3,4,7,8 2,5,6,9-12
A	JP 2015-218304 A (KIRIN CO., LTD. et al.) 07 December 2015 (2015-12-07) See entire document.	1-12
A	TSUJI, G. et al. Design and synthesis of cell-permeable fluorescent nitrilotriacetic acid derivatives. Bioorganic & medicinal chemistry. 2018, vol. 26, no. 20, pp. 5494-5498. See entire document.	1-12
A	XIAO, Y. et al. Fluorescent macromolecular chemosensors for highly and selectively detecting of 2, 4, 6-trinitrophenol. Materials research express. 2020, vol. 7, no. 10, article no.: 105304, pp. 1-14. See entire document.	1-12
A	RAMKUMAR, K. et al. Mechanistic evaluation and transcriptional signature of a glutathione S-transferase omega 1 inhibitor. Nature communications. 2016, vol. 7, article no.: 13084, pp. 1-13. See entire document.	1-12
☐ 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 23 August 2023		Date of mailing of the international search report 23 August 2023
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2023/006990

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	2015-218304	A	07 December 2015	JP	6254045	B2	27 December 2017

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C07F 5/02(2006.01)i; G01K 11/20(2006.01)i; G01K 11/16(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C07F 5/02(2006.01); C08F 222/38(2006.01); C12Q 1/02(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) & 키워드: 보디피 화합물(BODIPY compound), 온도 (temperature), 형광 센서(fluorescence sensor), 세포(cell)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X A	Chemical Abstract Compound, STNext. RN 2602662-20-2 (2021.03.04) 화합물	1,3,4,7,8 2,5,6,9-12
A	JP 2015-218304 A (KIRIN CO., LTD. 등) 2015.12.07 전체 문헌	1-12
A	TSUJI, G. 등, "Design and synthesis of cell-permeable fluorescent nitrilotriacetic acid derivatives", Bioorganic & medicinal chemistry, 2018, 제26권, 제20호, 페이지 5494-5498 전체 문헌	1-12
A	XIAO, Y. 등, "Fluorescent macromolecular chemosensors for highly and selectively detecting of 2, 4, 6-trinitrophenol", Materials research express, 2020, 제7권, 제10호, 아티클 넘버: 105304, 페이지 1-14 전체 문헌	1-12
A	RAMKUMAR, K. 등, "Mechanistic evaluation and transcriptional signature of a glutathione S-transferase omega 1 inhibitor", Nature communications, 2016, 제7권, 아티클 넘버: 13084, 페이지 1-13 전체 문헌	1-12
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2023년08월23일 (23.08.2023)		국제조사보고서 발송일 2023년08월23일 (23.08.2023)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

국제출원번호

PCT/KR2023/006990

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

JP 2015-218304 A

2015/12/07

JP 6254045 B2

2017/12/27