

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A61K 49/00 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년06월01일 10-0585370 2006년05월24일
---	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2001-7003501	(65) 공개번호	10-2001-0075203
(22) 출원일자	2001년03월17일	(43) 공개일자	2001년08월09일
번역문 제출일자	2001년03월17일		
(86) 국제출원번호	PCT/EP1999/007088	(87) 국제공개번호	WO 2000/16810
국제출원일자	1999년09월16일	국제공개일자	2000년03월30일

(81) 지정국 국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 도미니카, 남아프리카, 그라나다, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장 98-283301 1998년09월18일 일본(JP)

(73) 특허권자 웨링 악티엔게젤샤프트
독일 베를린 물레르스트라쎄 178 (우편번호 : 데-13353)

후지 사진 필름 가부시기가이샤
일본국 가나가와켄 미나미아시가라시 나카누마210반지

(72) 발명자 미와,나오토
일본569-1031오사카후다까쓰끼시마쓰가오까2-22-16

이나가끼,미찌히토
일본562-0001오사카후미노시미노3쵸메16-10-303

에구찌,히로아끼

일본666-0143효고깁가와니시시세이와다이니시2쵸메1-72

오꾸무라, 마사후미
일본520-0111시가깁오쓰시찌노1쵸메4-21

이나가끼, 요시오
일본250-0193가나가와켄미나미아시가라시나카누마210후지샤신필름
가부시기가이샤

하라다, 토루
일본250-0193가나가와켄미나미아시가라시나카누마210후지샤신필름
가부시기가이샤

(74) 대리인 장수길
 김영

심사관 : 김윤경

(54) 근적외 형광 조영제 및 형광 영상화

요약

본 발명은 분자내에 3 개 이상의 술포산 기를 가지는 화합물을 포함하는 근적외 형광 조영제 및 본 발명의 근적외 형광 조영제를 생체에 도입시키고, 신체를 여기 광원에 노출시켜 조영제로부터 근적외 형광을 검출하는 것을 포함하는 형광 영상화 방법을 제공한다. 본 발명의 근적외 형광 조영제는 여기 광원에 의해 여기되며, 근적외 형광을 방출한다. 이러한 적외 형광은 생체 조직을 통과하는 투과성이 우수하다. 따라서, 생체의 깊은 부위에 있는 병소의 검출이 가능해졌다. 또한, 본 발명의 조영제는 수용해도가 우수하며, 독성이 낮아 안전하게 사용될 수 있다.

색인어

근적외 형광 조영제, 형광 영상화 방법, 수용해도, 급성 독성, 여기 광원.

명세서

본 발명은 근적외 형광 조영제 및 이 조영제를 사용하는 형광 영상화에 관한 것이다.

질병을 치료하는 데 있어서, 질병의 초기 단계에 생체내의 질병으로 인해 야기되는 형태학적이고 기능적인 변화를 탐지하는 것이 중요하다. 특히 암을 치료할 때, 종양의 부위와 크기는 효과적인 치료 설계의 상당히 중요한 결정 요인이다. 이러한 목적으로 공지된 방법은 천공 등에 의한 생체검사 및 X-선 영상, MRI, 초음파 영상 등과 같은 영상화 진단법이 있다. 생체검사는 최종 진단에는 효과적이거나, 동시에 시험 피검자를 큰 부담에 놓이게 하며, 병소내의 시간-경과 변화를 추적하는데 적합하지 않다. X-선 영상 및 MRI는 방사선 및 전자기파에 시험 피검자를 부득이하게 노출시킨다. 또한, 상기 언급된 바와 같이 종래의 영상화 진단법은 복잡한 조작과 측정 및 진단에 장시간을 필요로 한다. 또한, 상기 목적으로 사용되는 대부분의 장비는 조작하는 동안에 이러한 방법을 적용하는 데 어려움이 있다.

영상 진단법 중 하나는 형광 영상화이다 (Lipsbn R. L. et al., J. Natl. Cancer Inst., 26, 1-11 (1961)). 이 방법은 조영제로서, 특정 파장을 가지는 여기 광에 노출시켜 형광을 방출하는 물질을 사용한다. 이에, 신체는 체외에서 여기 광에 노출되며, 체내의 형광 조영제로부터 방출되는 형광이 감지된다.

상기 형광 조영제는 예를 들어, 종양에 축적되는 헤마토포르피린과 같은 포르피린 화합물일 수 있으며, 이는 광역학적 치료법 (PDT)에 사용된다. 다른 예로는 포토프린과 벤조포르피린이 있다 (Lipspn R.L. et al., 상기 문헌, Meng T.S. et al., SPIE, 1641, 90-98 (1992), WO84/04665 등 참조). 상기 화합물들은 PDT에 요구되는 것이기 때문에 원래 PDT에 사용되며, 광독성을 가진다. 결국, 이들은 바람직한 진단 제제가 아니다.

반면에, 플루오레스세인, 플루오레스카민 및 리보플라빈과 같은 공지된 형광 염료를 사용한 망막 순환 미세혈관조영법이 공지되어 있다 (US 특허 제4945239호). 상기 형광 염료는 400 내지 600 nm의 가시 광선 영역에서 형광을 방출한다. 이 영역에서, 생체 조직을 통한 광 투과도는 매우 낮으며, 신체의 깊은 부분의 병소의 탐색은 거의 불가능하다.

또한, 형광 조영제로서, 시아닌 화합물의 사용은 인도시아닌 그린 (이하, 약어 ICG로 나타냄)을 포함하고, 이는 간 기능 및 심장의 박동을 측정하는 데 사용되며, 이는 문헌 [Haglund M.M. et al, Neurosurgery, 35, 930 (1994), Li, X. et al., SPIE, 2389, 789-797 (1995)]에 기재되어 있다. 시아닌 화합물은 근적외광 영역 (700 내지 1300 nm)에서 흡수를 나타낸다.

근적외광은 생체 조직을 통한 고투과도를 나타내며, 이는 약 10 cm 크기의 두개골을 통과할 수 있다. 이로 인해, 임상 의학에 있어서의 관심이 점차 증대되어 왔다. 예를 들어, 매질의 광학 투과성을 이용한 광학 CT 기술은 신규 기술로서 임상 분야에서 꾸준히 관심이 있어 왔다. 이는 근적외광이 생체를 통과할 수 있고, 체내의 산소 농도 및 순환을 모니터링하는 데 사용될 수 있기 때문이다.

시아닌 화합물은 근적외 영역에서 형광을 방출한다. 이 영역에서의 형광은 생체 조직을 통과할 수 있으며, 형광 조영제로서의 잠재력을 제공한다. 다양한 시아닌 화합물이 최근 발달되어 왔으며, 형광 조영제로서 시도되어 왔다 (WO96/17628, WP97/13490 등). 그러나, 물에서 충분한 용해도를 가지고, 생체에서 안전할 뿐 아니라 병든 조직과 정상 조직을 구별해 내는 능력 (표적 부위를 영상화하여 선별)을 가지는 제제는 존재하지 않는다.

<발명의 요약>

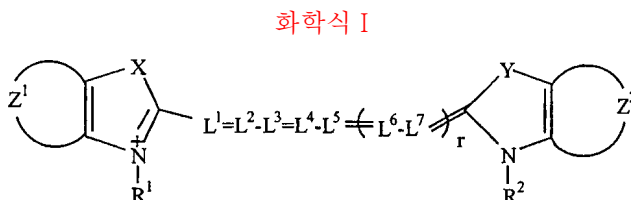
그러므로, 본 발명의 목적은 형광 조영제를 제공하는 것이다. 본 발명의 제제는 독성이 낮고, 물에서 우수한 용해도를 가진다. 또한, 생체 조직을 통과할 수 있는 근적외 영역에서 형광을 방출하며, 이는 종양 및(또는) 혈관의 특정 영상을 허용한다.

본 발명의 다른 목적은 상기 근적외 형광 조영제를 사용하는 형광 영상화 방법을 제공하는 것이다.

본 발명은 3 개 이상의 술포산 기를 시아닌 염료 화합물에 도입하는 것이 물에서 높은 용해도를 가지는 형광 조영제를 제공한다는 것을 발견했다. 또한, 형광 영상화 방법은 이 조영제가 사용될 때 확립될 수 있다는 것을 알았다.

또한, 본 발명은 하기를 제공한다.

(1) 화학식 I로 표현되는, 분자내에 3 개 이상의 술포산 기를 가지는 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염을 포함하는 근적외 형광 조영제.



식중, R¹ 및 R²는 동일하거나 상이하며, 각각은 치환 또는 비치환 알킬이며,

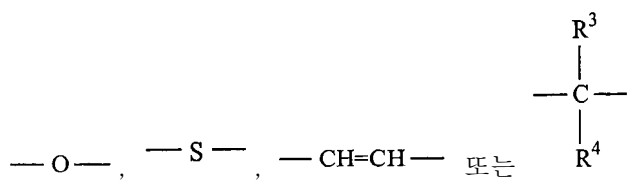
Z¹ 및 Z²는 각각 치환 또는 비치환 축합 벤조 고리 또는 축합 나프토 고리를 형성하는 데 필요한 비금속 원자이며,

r은 0, 1 또는 2이고,

L¹ 내지 L⁷은 동일하거나 상이하며, 각각은 치환 또는 비치환 메틴이되,

r이 2일 때, 이중으로 생성되는 L⁶ 및 L⁷은 동일하거나 상이하며,

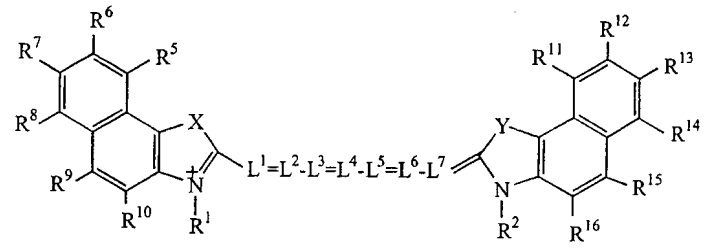
X와 Y는 동일하거나 상이하며, 각각 하기 화학식의 기이다.



여기서, R³ 및 R⁴는 동일하거나 상이하며, 각각은 치환 또는 비치환 알킬이다.

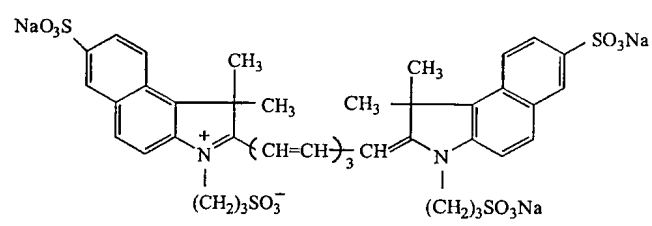
- (2) 분자내에 카르복실산 기가 없는 상기 (1)의 근적외 형광 조영제.
- (3) 화학식 I에서 r이 1인 상기 (1) 또는 (2)의 근적외 형광 조영제.
- (4) 분자내에 4 개 이상의 술폰산 기가 함유되어 있는 상기 (1) 내지 (3) 중 어느 하나의 근적외 형광 조영제.
- (5) 분자내에 10 개 이하의 술폰산 기가 함유되어 있는 상기 (1) 내지 (4) 중 어느 하나의 근적외 형광 조영제.
- (6) 분자내에 8 개 이하의 술폰산 기가 함유되어 있는 상기 (1) 내지 (4) 중 어느 하나의 근적외 형광 조영제.
- (7) 제약상 허용가능한 염이 나트륨 염인 상기 (1) 내지 (6) 중 어느 하나의 근적외 형광 조영제.
- (8) 종양 영상화 및(또는) 혈관조영법용인 상기 (1) 내지 (7) 중 어느 하나의 근적외 형광 조영제.
- (9) 하기 화학식의 군을 제외한, 분자내에 3 개 이상의 술폰산 기를 가지는 화학식 II의 화합물의 나트륨 염.

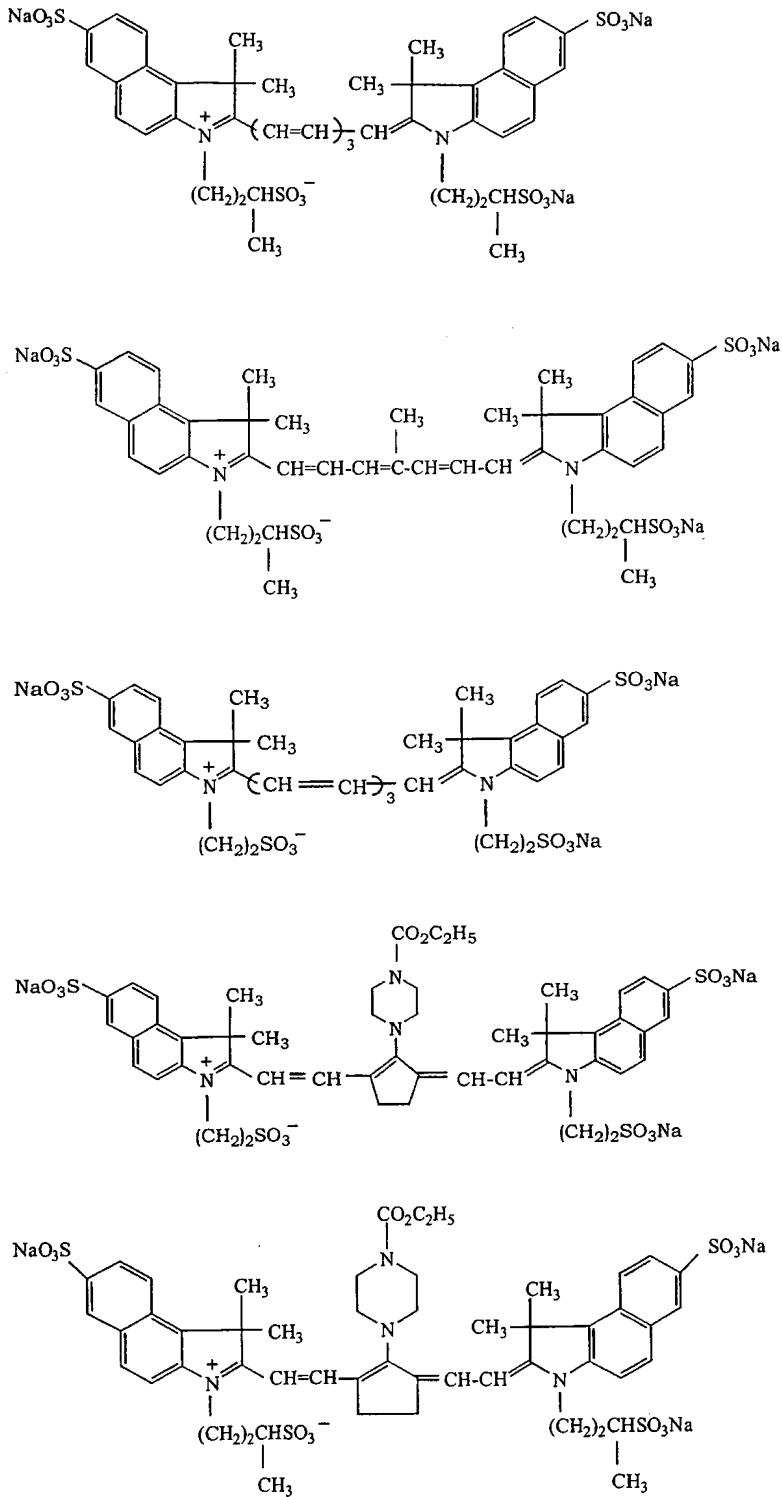
화학식 II



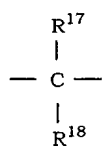
식중, R¹, R², L¹ 내지 L⁷, X 및 Y는 상기 정의된 바와 같고,

R⁵ 내지 R¹⁶은 동일하거나 상이하며, 각각은 수소 원자, 술폰산 기, 카르복실 기, 히드록실 기, 알킬(술폰알킬)아미노기, 비스(술폰알킬)아미노 기, 술폰알콕시 기, (술폰알킬)술폰닐 기 또는 (술폰알킬)아미노술폰닐 기이다.



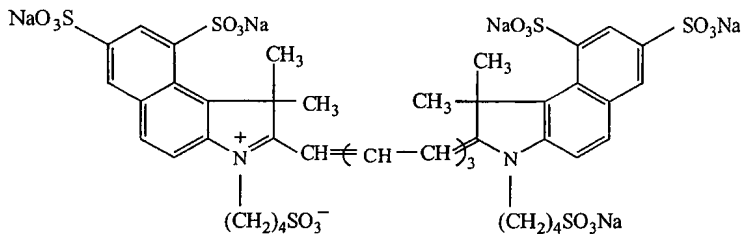


(10) 화학식 II에서, R^1 및 R^2 가 각각 술폰산 기로 치환되는 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 저급 알킬이며, X와 Y는 동일하거나 상이하며, 각각은 화학식



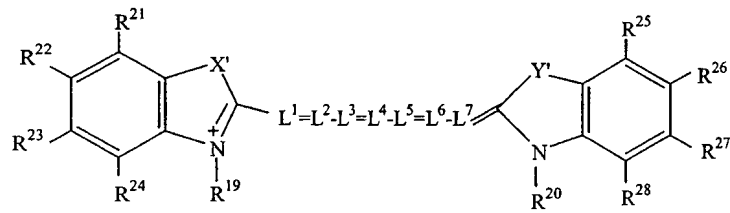
의 기이고, R^{17} 및 R^{18} 이 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 비치환 저급 알킬인 상기 (9)의 나트륨 염.

(11) 하기 화학식을 가지는 상기 (10)의 나트륨 염.

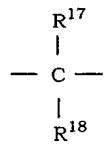


(12) 하기 화학식의 군을 제외한, 분자내 3 개 이상의 술폰산 기를 가지는 화학식 III-1의 화합물의 나트륨 염.

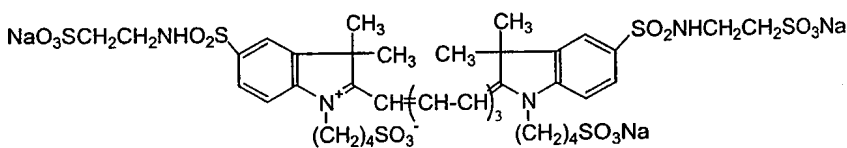
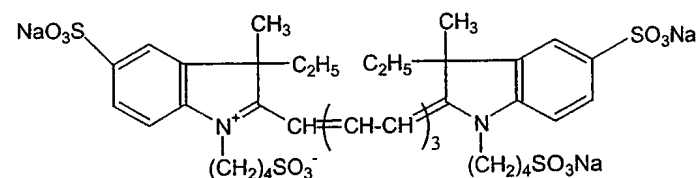
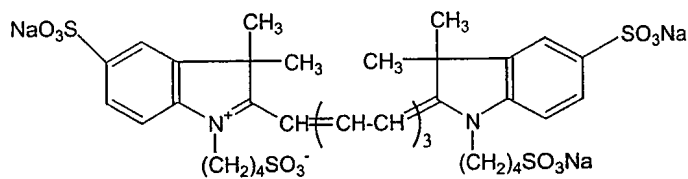
화학식 III-1

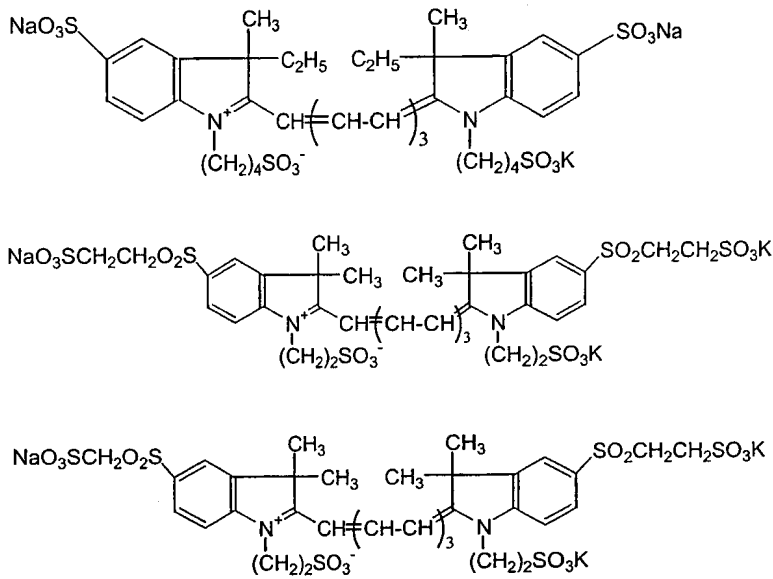


식중, L^1 내지 L^7 은 상기 정의된 바와 같으며, R^{19} 및 R^{20} 은 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 저급 알킬이며, 술폰산 기로 치환되며, R^{21} - R^{28} 은 동일하거나 상이하며, 각각은 수소 원자, 술폰산 기, 카르복실 기, 히드록실 기, 알킬(술폰알킬)아미노기, 비스(술폰알킬)아미노기, 술폰알콕시 기, (술폰알킬)술폰닐 기 또는 (술폰알킬)아미노술폰닐 기이며, X' 와 Y' 는 동일하거나 상이하며, 각각은 화학식



의 기이고, R^{17} 및 R^{18} 이 상기 정의된 바와 같다.

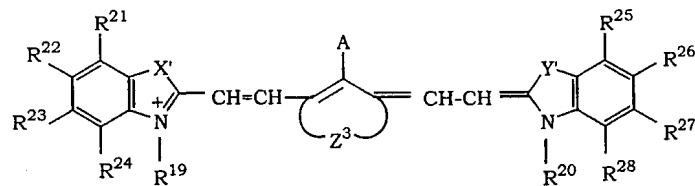




(13) 화학식 III-1에서 L_4 가 1 내지 4 개의 탄소 원자를 가지는 알킬로 치환되는 메틴인 상기 (12)의 나트륨 염.

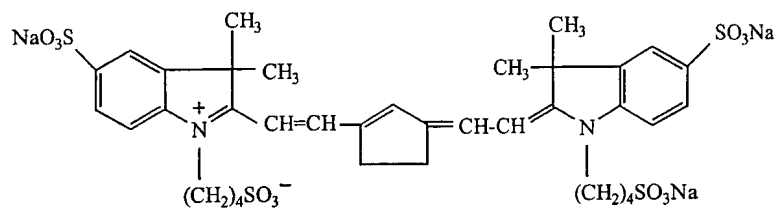
(14) 분자내 3 개 이상의 술폰산 기를 가지는 화학식 III-2의 화합물의 나트륨 염인 상기 (12)의 나트륨 염.

화학식 III-2

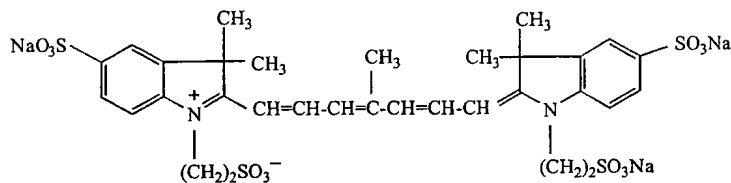


식중, $\text{R}^{19}-\text{R}^{28}$, X' 와 Y' 는 상기 정의된 바와 같으며, Z^3 는 5- 또는 6-원 고리를 형성하는 데 필요한 비금속 원자 기이며, A 는 수소 원자 또는 1가 기이다.

(15) 하기 화학식을 가지는 상기 (14)의 나트륨 염.

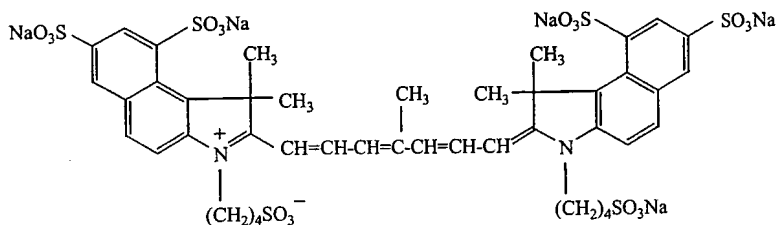
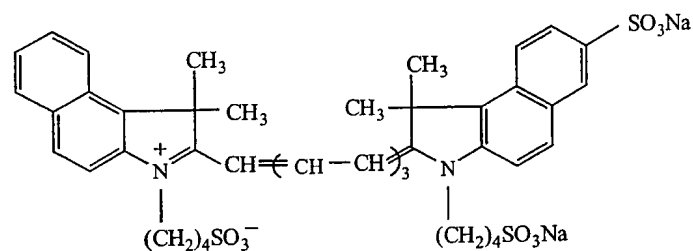
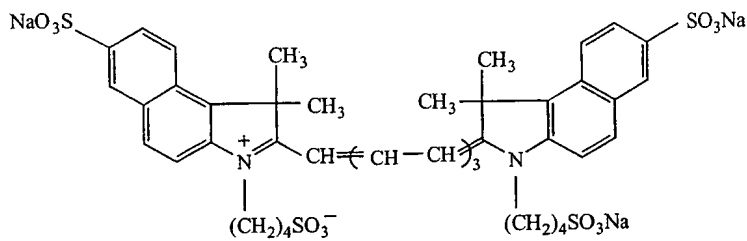
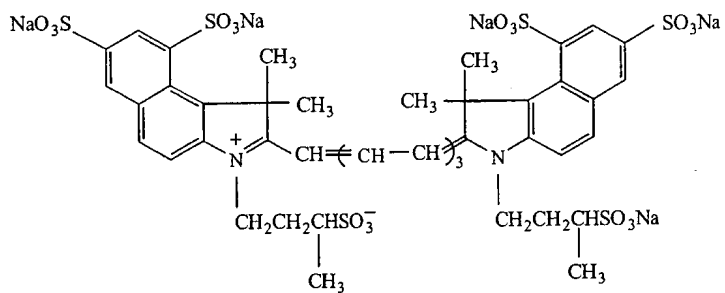


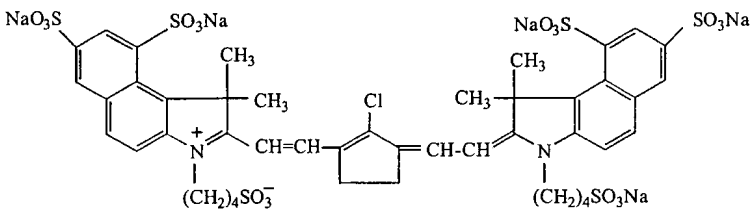
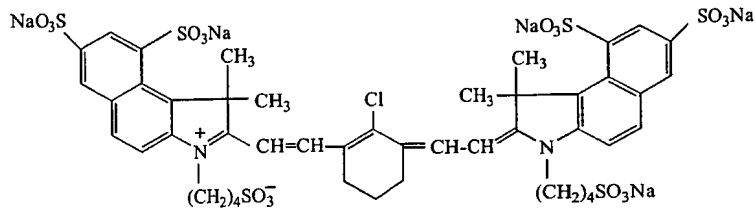
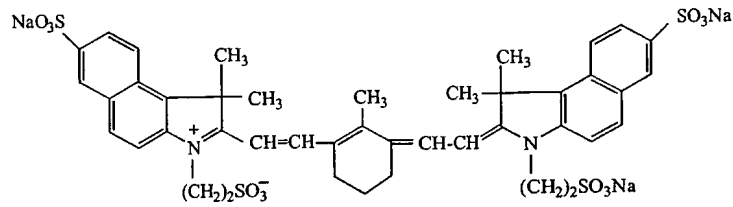
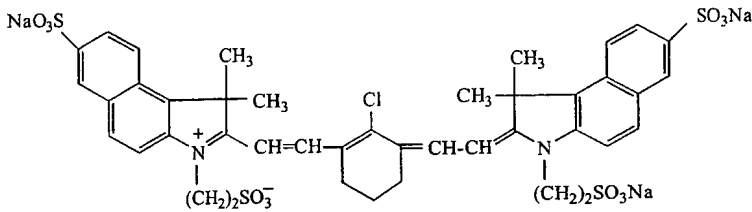
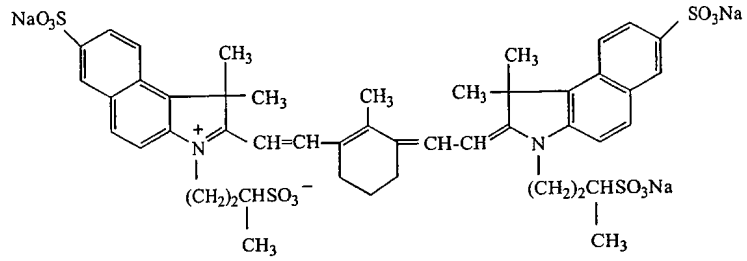
(16) 하기 화학식을 가지는 상기 (12)의 나트륨 염.



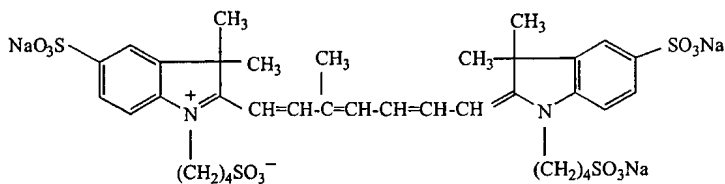
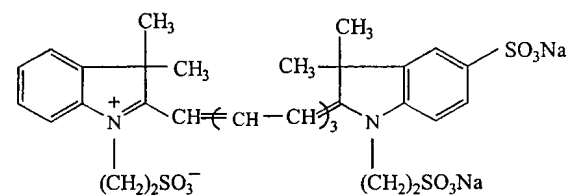
(17) 분자내 4 개 이상의 술폰산 기를 가지는 상기 (9), (10), (12), (13) 및 (14) 중 어느 하나의 나트륨 염.

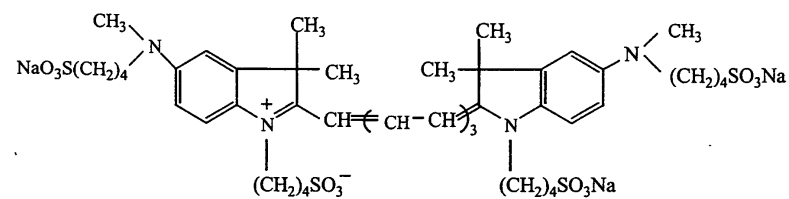
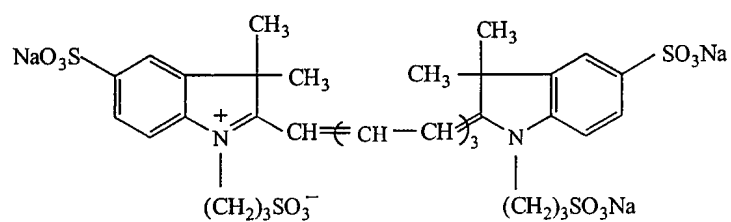
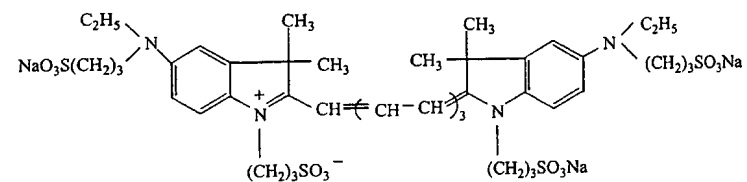
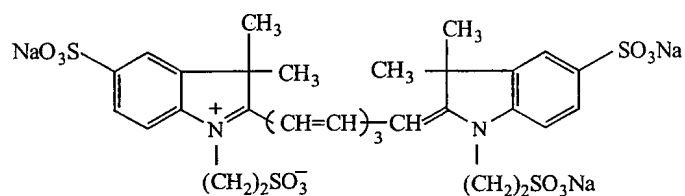
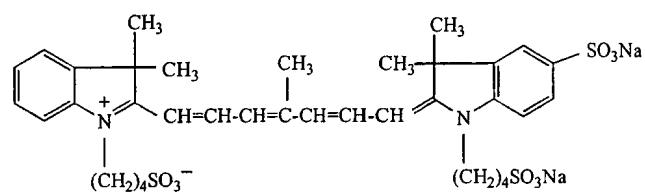
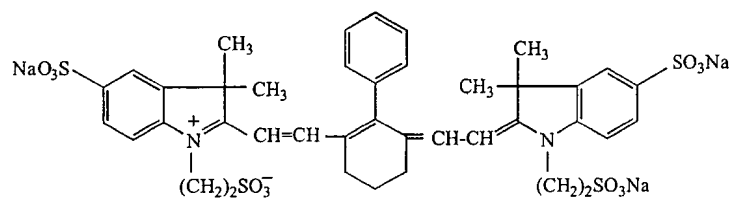
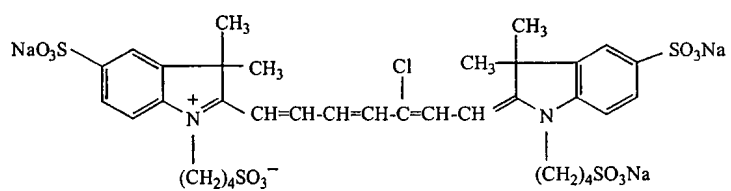
- (18) 분자내 10 개 이하의 술폰산 기를 가지는 상기 (9), (10), (12), (13), (14) 및 (17) 중 어느 하나의 나트륨 염.
- (19) 분자내 8 개 이하의 술폰산 기를 가지는 상기 (9), (10), (12), (13), (14) 및 (17) 중 어느 하나의 나트륨 염.
- (20) 상기 (9) 내지 (19) 중 어느 하나의 나트륨 염을 포함하는 근적외 형광 조영제.
- (21) 종양 영상화 및(또는) 혈관조영법용인 상기 (20)의 근적외 형광 조영제.
- (22) 상기 (1)의 근적외 형광 조영제를 생체에 도입시키고, 신체를 여기 광에 노출시켜 조영제로부터 근적외 형광을 감지하는 것을 포함하는 형광 영상화 방법.
- (23) 하기 화학식들의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 한 개이상의 구성원인 상기 (9)의 나트륨 염.

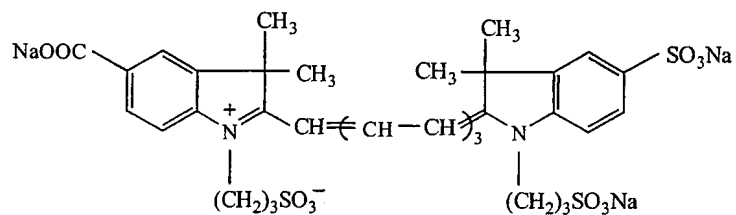
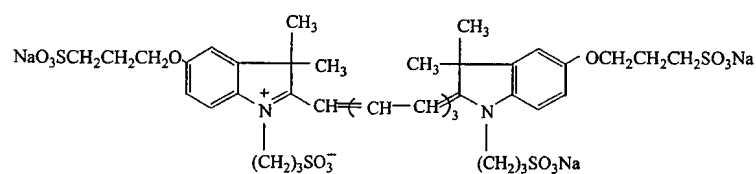
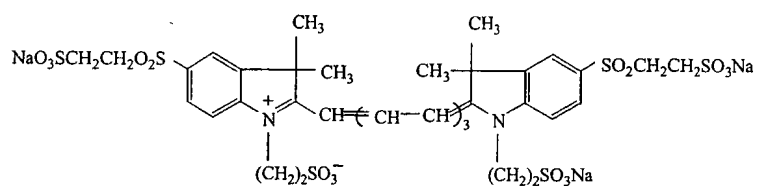
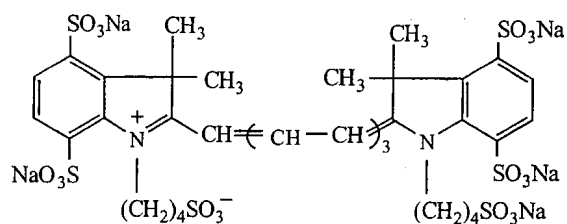
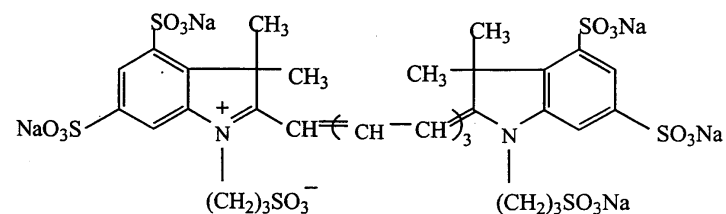
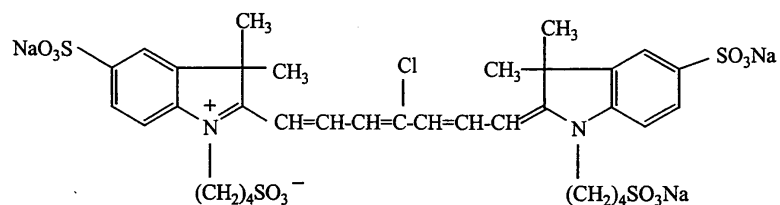
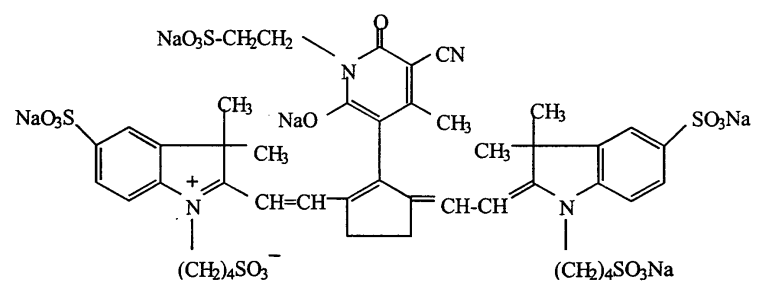


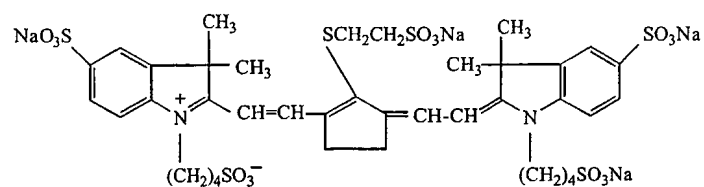
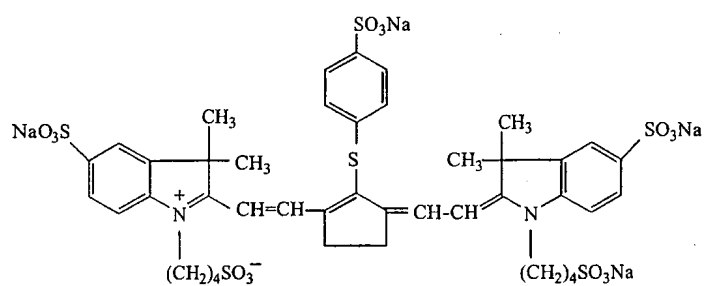
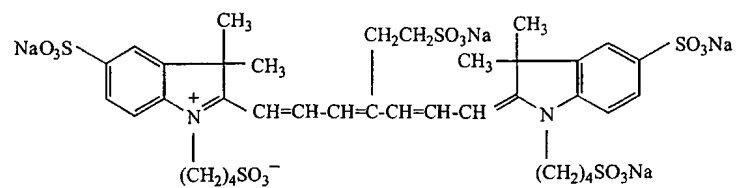
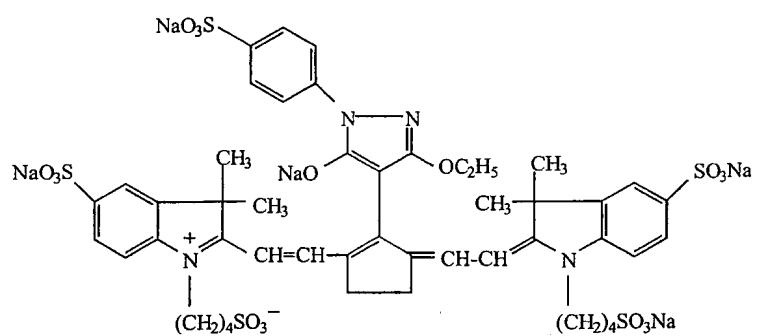
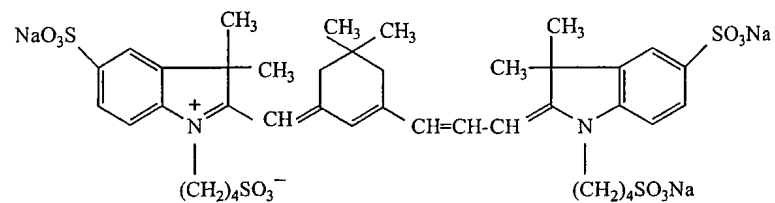
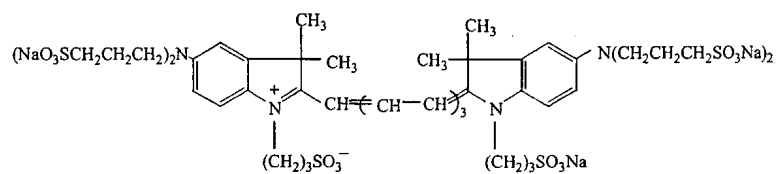


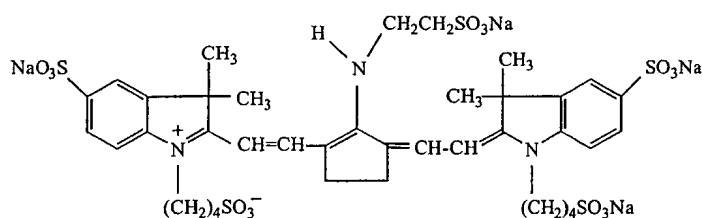
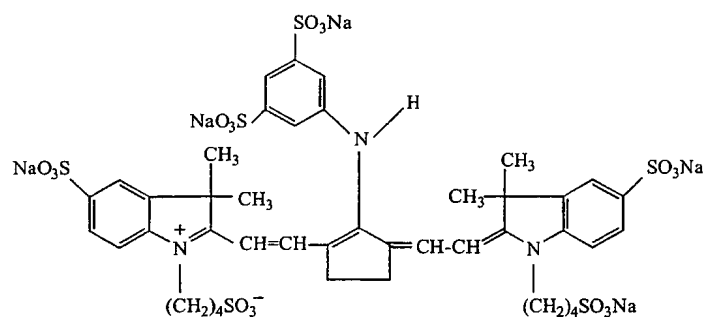
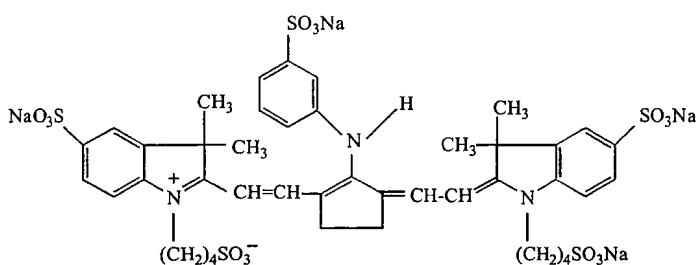
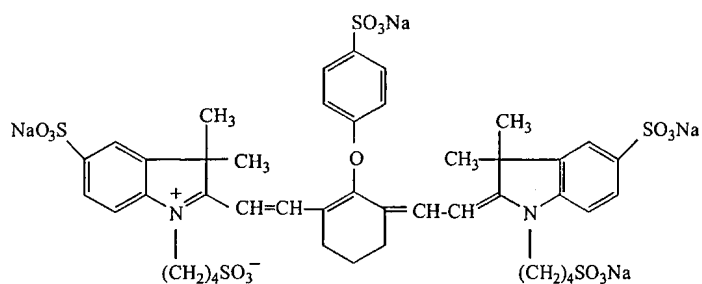
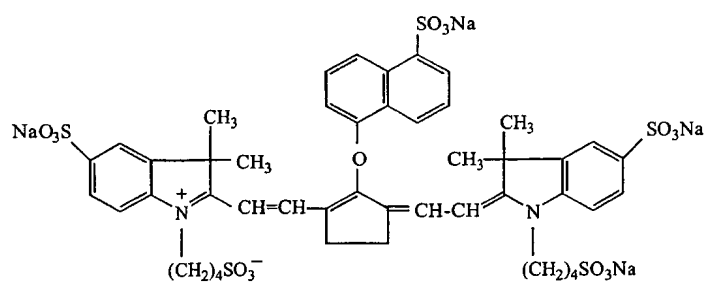
(24) 하기 화학식들의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 한 개 이상의 구성원인 상기 (12)의 나트륨 염.

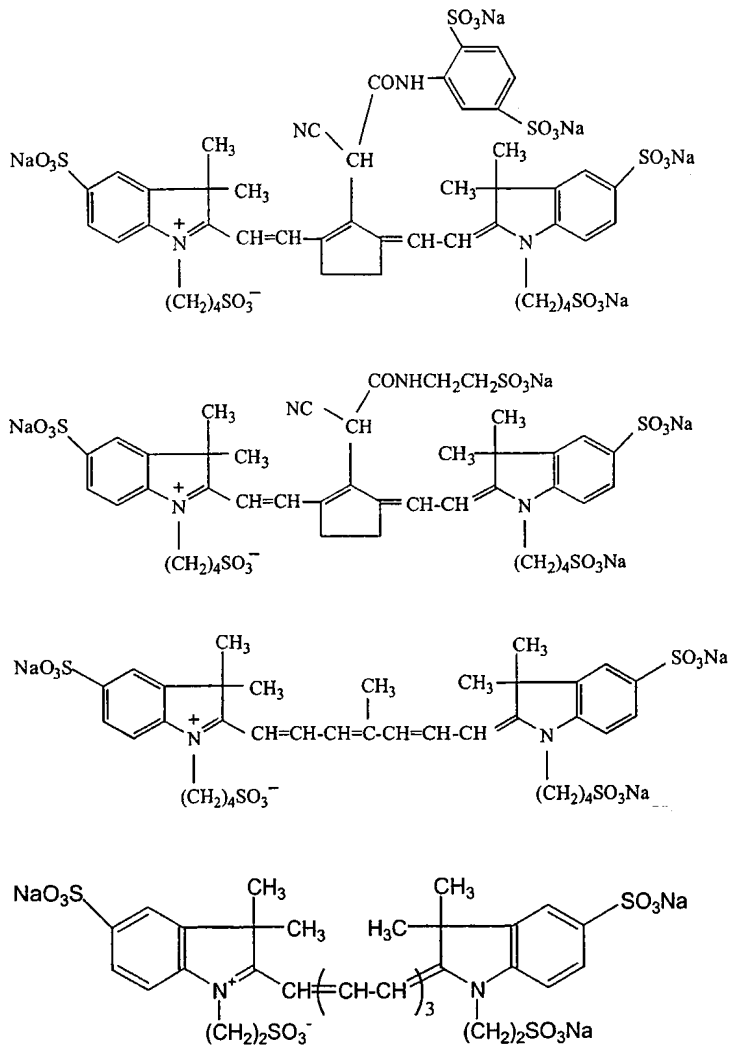




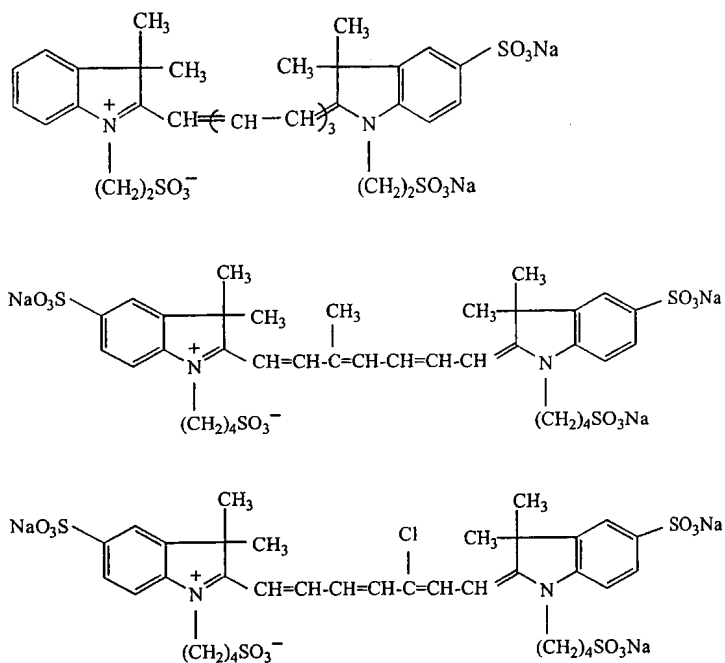


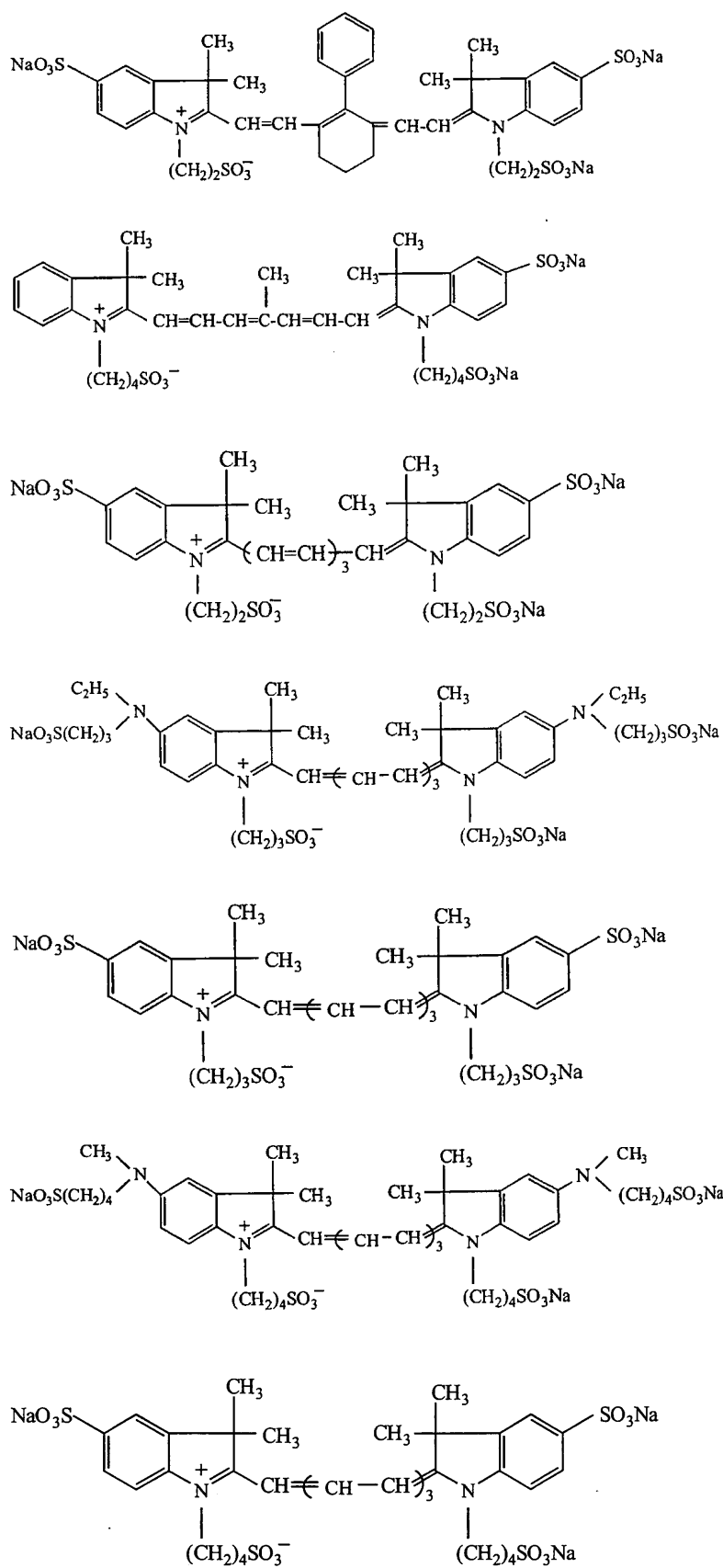


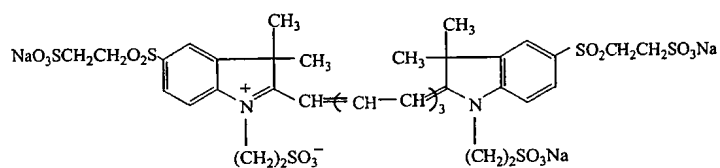
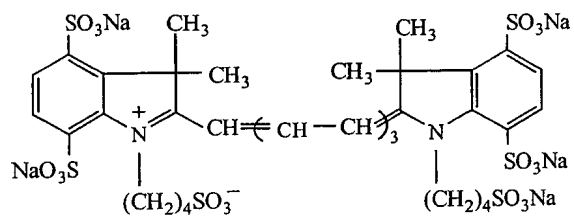
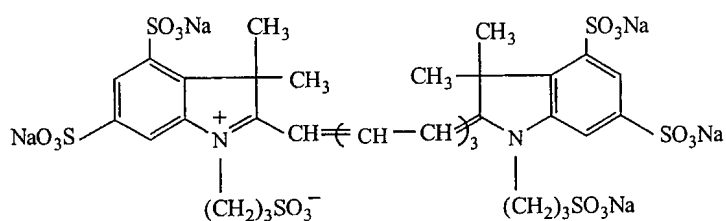
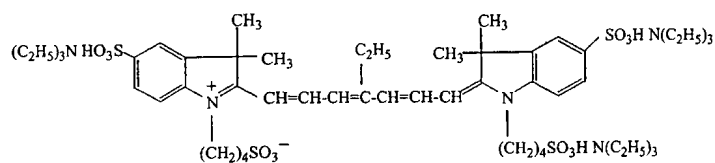
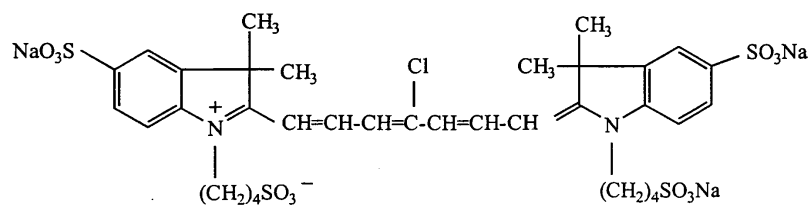
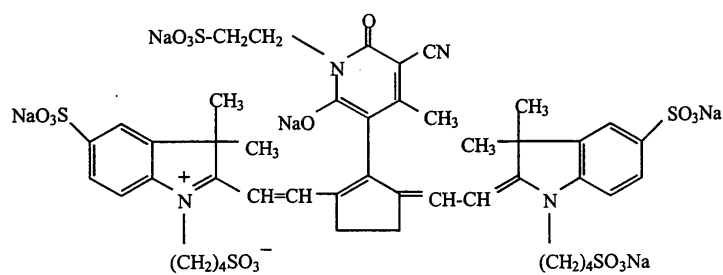
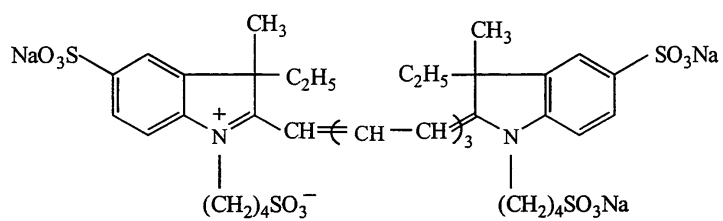


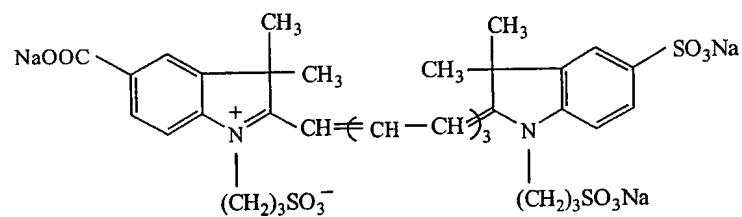
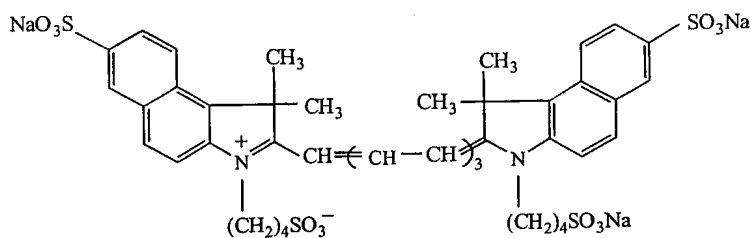
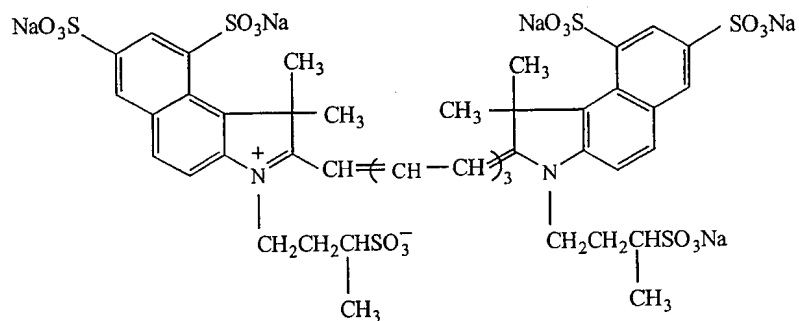
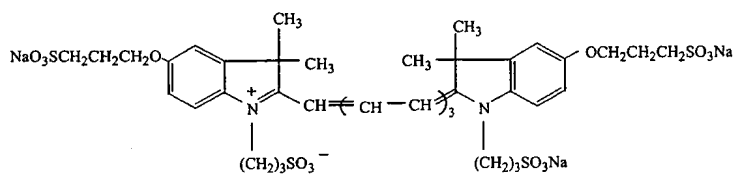
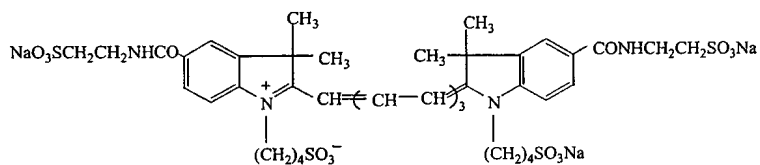
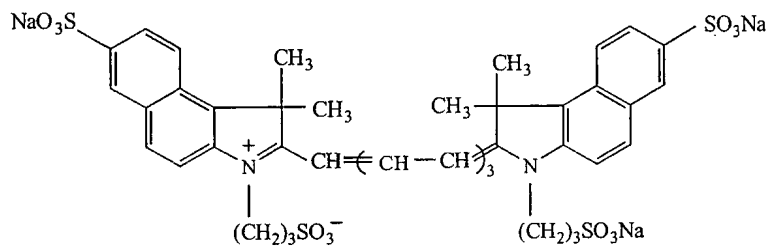
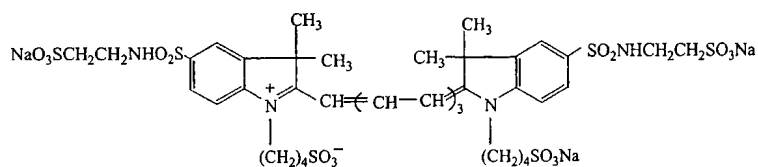


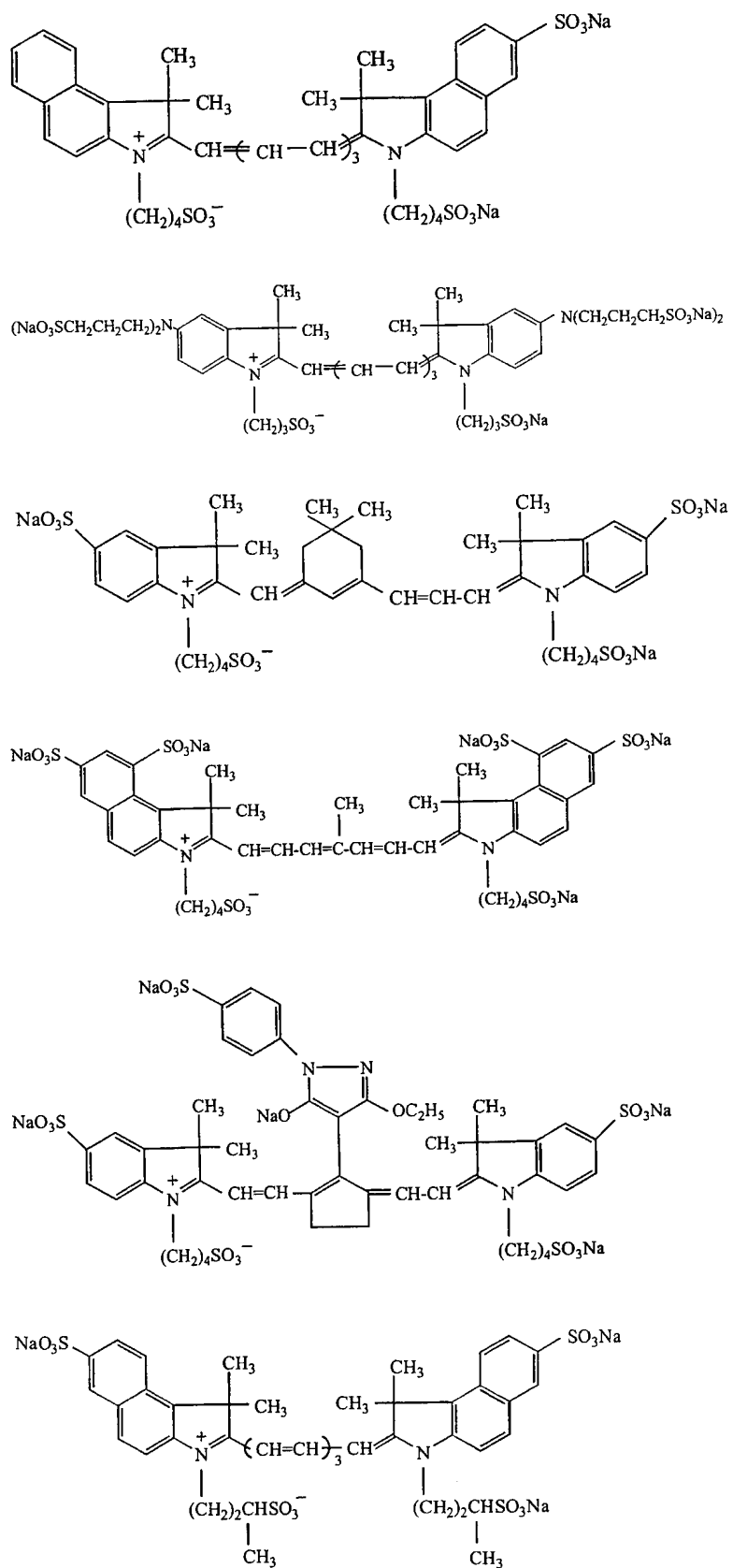
(25) 하기 화학식의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 한 개 이상의 화합물을 포함하는 상기 (1)의 근적외 형광 조영제.

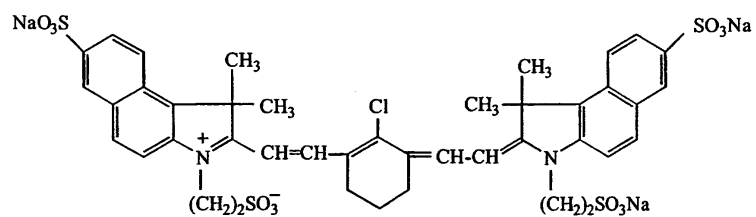
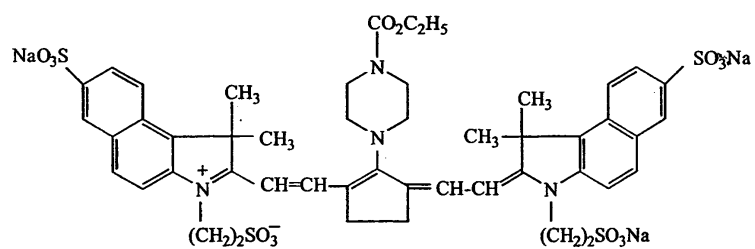
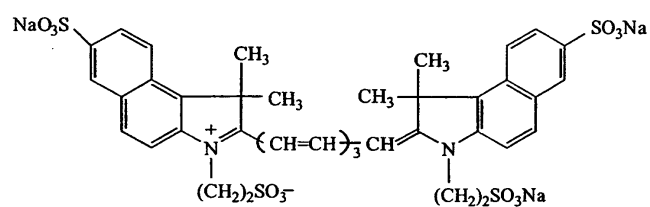
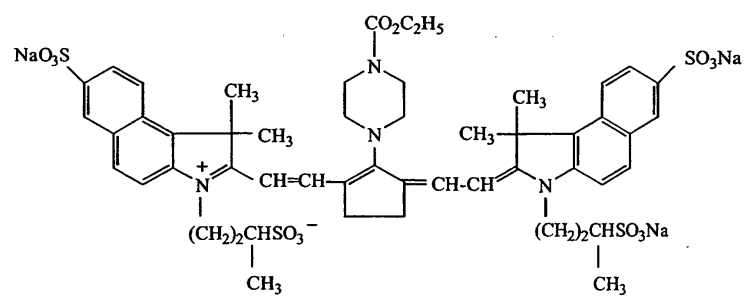
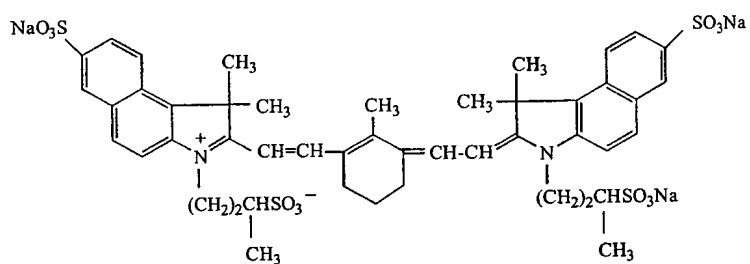
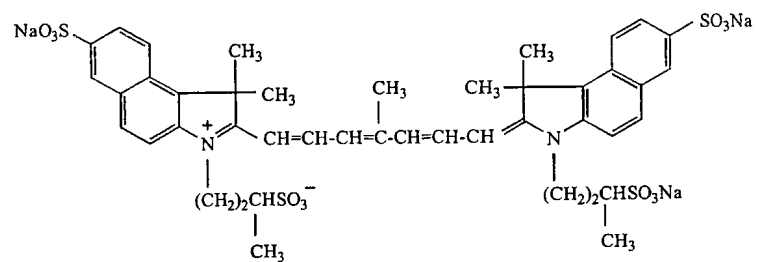


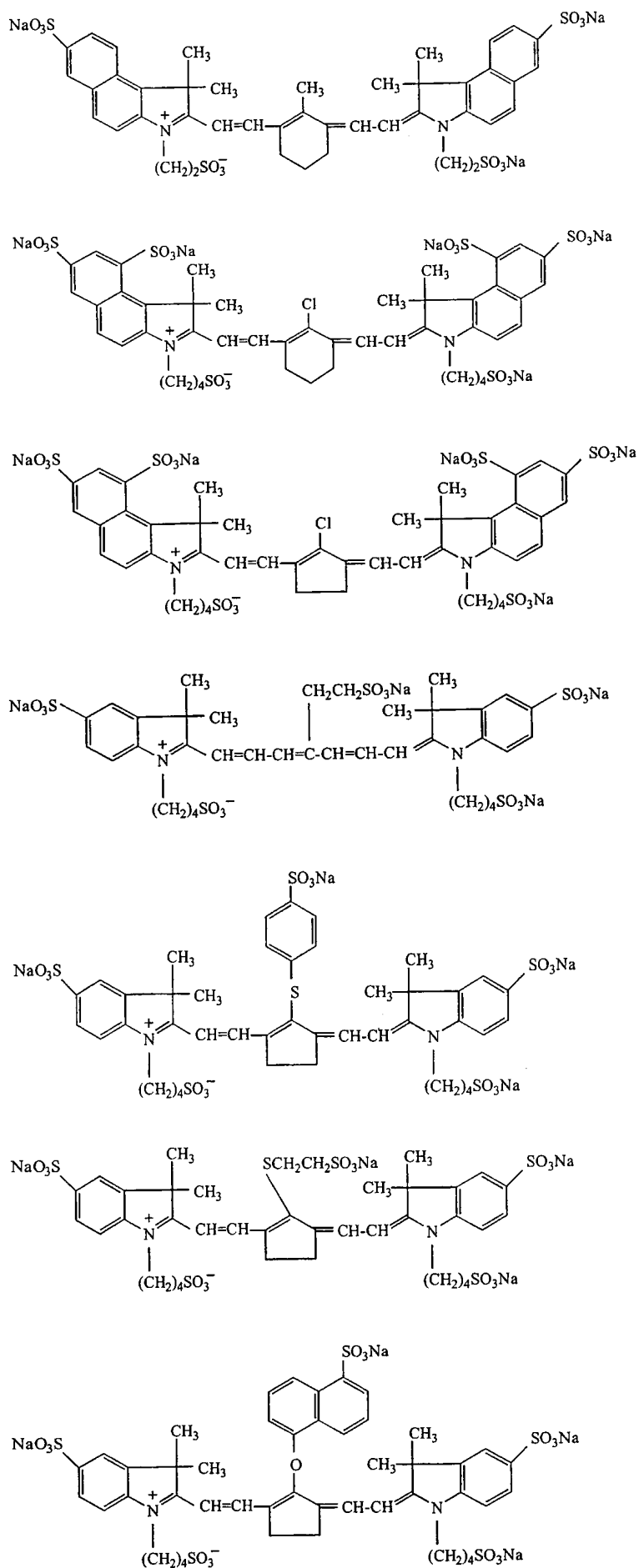


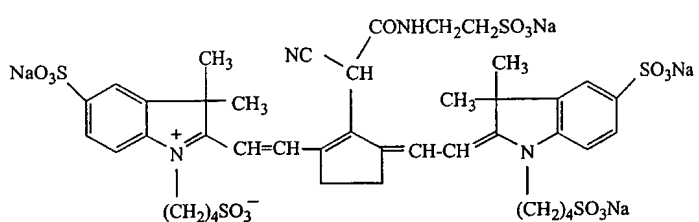
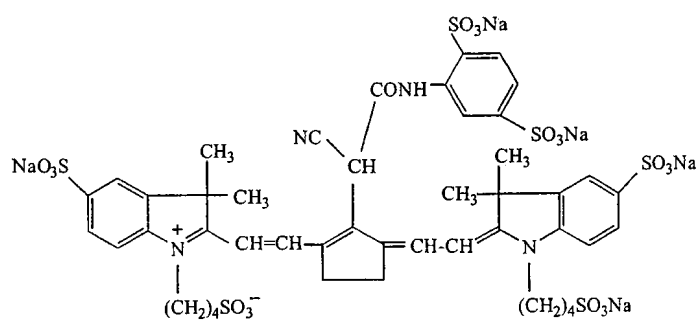
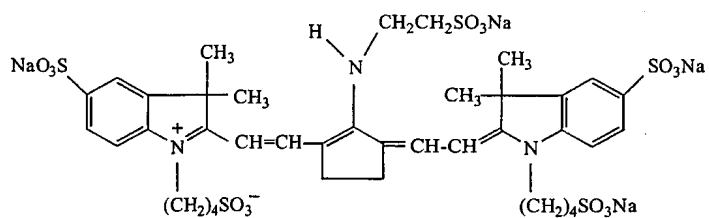
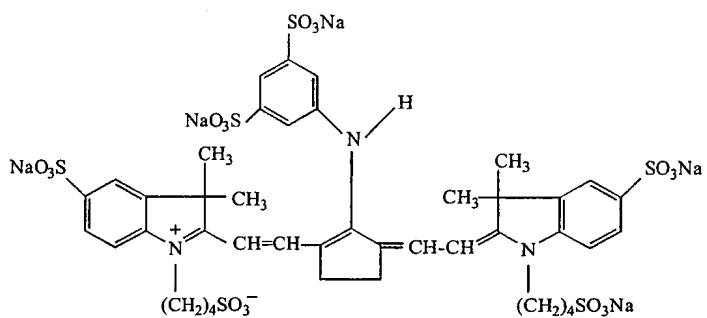
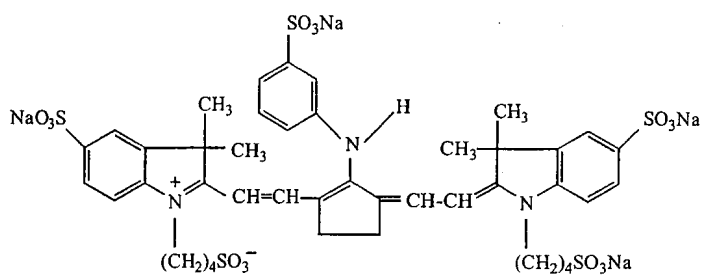
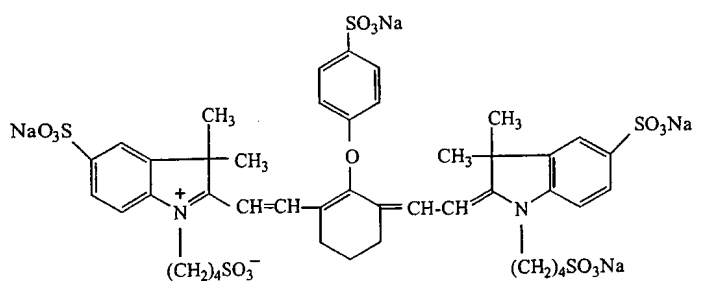


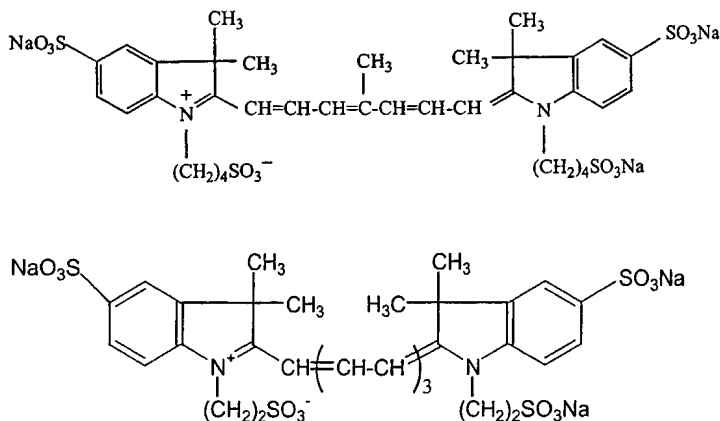












(26) A의 1가 기가 치환 또는 비치환 알킬, 치환 또는 비치환 아릴, 치환 또는 비치환 아르알킬, 저급 알콕시, 임의로 치환되는 치환된 아미노, 알킬카르보닐옥시, 치환 또는 비치환 알킬티오, 치환 또는 비치환 아릴티오, 시아노, 니트로 또는 할로겐 원자인 상기 (14)의 나트륨 염.

도면의 간단한 설명

도 1 내지 4는 A:ICG (5 mg/kg), B:NK-1967 (5 mg/kg), C:화합물 (29) (0.5 mg/kg) 및 D:화합물 (6) K 염 (5 mg/kg)으로 투여되는 화합물의 투여 24 시간 후 형광 영상을 나타내는 사진.

도 5는 E:화합물 (31) (5 mg/kg)로 투여되는 화합물의 투여 24 시간 후 형광 영상을 나타내는 사진.

도 6 내지 9는 A:ICG (20 초 후), B:ICG (5 분 후), C:화합물 (29) (20 초 후) 및 D:화합물 (29) (5 분 후)로 투여되는 화합물 (5 mg/kg)의 투여 20 초 및 5 분 후 형광 영상을 나타내는 사진.

도 10은 세로 축이 각 시간 점에서의 혈장내 화합물의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)인, 화합물의 투여 0.5, 1, 4 및 24 시간 후 혈장내 화합물의 농도를 나타내는 그래프.

도 11은 화합물 (29)의 적외선 흡수 스펙트럼을 나타내는 차트.

도 12는 화합물 (31)의 적외선 흡수 스펙트럼을 나타내는 차트.

도 13은 화합물 (6)의 적외선 흡수 스펙트럼을 나타내는 차트.

도 14는 화합물 (54)의 적외선 흡수 스펙트럼을 나타내는 차트.

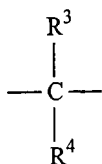
발명의 상세한 설명

본 명세서에서 사용된 용어를 하기에 정의한다.

본 발명의 근적외 형광 조영제는 근적외 영역에서 형광을 방출하는 조영제를 의미한다.

본 발명에 있어서, 술폰산 기는 이 술폰산 기가 내부 염을 형성하는 데 사용될 때 술포네이트 ($-\text{SO}_3^-$)를 의미할 수 있다.

본 발명에 있어서, 바람직한 X와 Y는 하기 화학식이다.



식중, R^3 및 R^4 는 동일하거나 상이하며, 각각은 치환 또는 비치환 알킬이다.

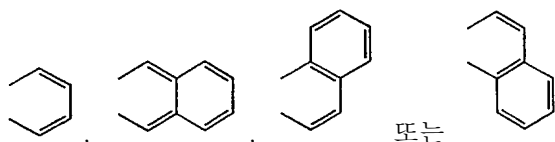
R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 에서 "치환 또는 비치환 알킬"의 알킬은 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, tert-펜틸, 2-메틸프로필, 1,1-디메틸프로필 등과 같이 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 선형 또는 분지된 저급 알킬이다. 치환기는 예를 들어, 술폰산 기, 카르복실, 히드록시 등일 수 있다. 치환된 알킬의 예로는 히드록시메틸, 1-히드록시에틸, 2-히드록시에틸, 2-히드록시프로필, 3-히드록시프로필, 4-히드록시부틸, 카르복시메틸, 카르복시에틸, 카르복시부틸, 술폰메틸, 2-술폰에틸, 3-술폰프로필, 4-술폰부틸 등이 있다. 바람직한 R^1 및 R^2 는 술폰산 기로 치환된 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 저급 알킬 (예를 들어, 2-술폰에틸, 3-술폰프로필, 4-술폰부틸 등)이고, R^3 및 R^4 는 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 비치환 저급 알킬 (예를 들어, 메틸, 에틸 등)이다.

R^{17} 및 R^{18} 에서 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 비치환 저급 알킬은 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 에서 "치환 또는 비치환 알킬"의 알킬에 대해 상기 언급된 것으로 설명된다.

R^{19} 및 R^{20} 에서 술폰산 기로 치환된 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 저급 알킬의 알킬 기는 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 에서 "치환 또는 비치환 알킬"의 알킬에 대해 상기 언급된 것으로 설명되며, 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 치환 저급 알킬의 예로는 2-술폰에틸, 3-술폰프로필 및 4-술폰부틸이 있다.

R^{21} - R^{28} 에서 알킬(술폰알킬)아미노 기, 비스(술폰알킬)아미노 기, 술폰알콕시 기, (술폰알킬)술폰닐 기 및 (술폰알킬)아미노술폰닐 기의 알킬 잔기는 바람직하게는 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 선형 또는 분지된 저급 알킬이며, 이는 R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 에서 "치환 또는 비치환 알킬"의 알킬에 대해 상기 언급된 것으로 설명된다.

본 발명에 있어서, "치환 또는 비치환 축합 벤조 고리 또는 축합 나프토 고리를 형성하는 데 필요한 비금속 원자"는 하기 화학식의 기인 축합 벤조 고리 또는 축합 나프토 고리를 형성하는 데 필요한 결합 기를 의미한다.



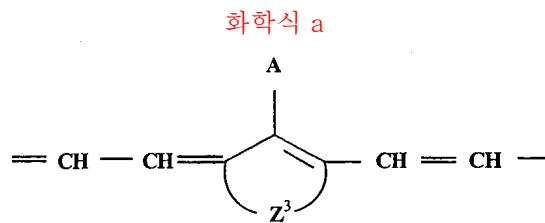
축합 벤조 고리 또는 축합 나프토 고리가 치환기를 가질 때, 상기 결합 기는 치환기를 포함할 수 있다.

그의 특정 예로는 탄소 원자, 질소 원자, 산소 원자, 수소 원자, 황 원자, 할로젠 원자 (예를 들어, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자 및 요오드 원자) 등이 있다.

Z^1 및 Z^2 에서 비금속 원자에 의해 형성되는 축합 벤조 고리 및 축합 나프토 고리의 치환기는 술폰산 기, 카르복실, 히드록실, 할로젠 원자 (예를 들어, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자 및 요오드 원자), 시아노, 치환된 아미노 (예를 들어, 디메틸아미노, 디에틸아미노, 에틸 4-술폰부틸아미노, 디-(3-술폰프로필)아미노 등), 및 상기 정의된 치환 또는 비치환 알킬로 예시되며, 이는 고리에 직접적으로 또는 2가 결합 기를 통하여 결합된다. 바람직한 2가 결합 기는 예를 들어, $-\text{O}-$, $-\text{NHCO}-$, $-\text{NHSO}_2-$, $\text{NHCOO}-$, $-\text{NHCONH}-$, $-\text{COO}-$, $-\text{CO}-$, SO_2- 등일 수 있다. 고리에 직접적으로 또는 2가 연결 기를 통하여 결합된 치환 또는 비치환 알킬의 알킬은 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸로 예시되며, 치환기는 바람직하게는 술폰산 기, 카르복실 및 히드록시로 예시된다.

L^1 내지 L^7 에서 메틴의 치환기는 치환 또는 비치환 알킬 (상기 정의됨), 할로젠 원자 (상기 정의됨), 치환 또는 비치환 아릴, 저급 알콕시 등으로 예시된다. "치환 또는 비치환 아릴"의 아릴은 페닐, 나프틸 등, 바람직하게는 페닐로 예시된다. 치환기의 예로는 할로젠 원자 (상기 정의됨, 바람직하게는 염소 원자) 등이 있다. 치환된 아릴은 예를 들어 4-클로로페닐 등이다. 저급 알콕시는 바람직하게는 1 내지 6 개의 탄소 원자를 가지는 선형 또는 분지된 알콕시이며, 이는 특히 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, tert-부톡시, 펜틸옥시 등, 바람직하게는 메톡시 및 에톡시이다. 또한, L^1 내지 L^7 에서 메틴의 치환기는 서로 결합되어 3 개의 메틴 기를 함유하는 고리를 형성할 수 있으며, 이 고리는 상이한 메틴 기를 함유하는 고리와 축합 고리를 형성할 수 있다. L^1 내지 L^7 에서 메틴의 치환기의 결합에 의해 형성되는 3 개의 메틴 기를 함유하는 고리는 4,4-디메틸시클로헥센 고리 등으로 예시된다.

L^1 내지 L^7 의 군으로 이루어지고, 고리를 가지는 공액된 메틴쇄는 바람직하게는 하기 화학식 (a)의 기이다.



식중, Z^3 는 5- 또는 6-원 고리를 형성하는 데 필요한 비금속 원자를 나타내며, A는 수소 원자 또는 1가 기이다.

"5- 또는 6-원 고리를 형성하는 데 필요한 비금속 원자"는 상기 언급된 것으로 예시된다.

다음에 언급된 화학식 (a) 및 III-2에 있어서, Z^3 에서 5- 또는 6-원 고리는 시클로펜텐 고리, 시클로헥센 고리, 4,4-디메틸시클로헥센 고리 등으로 예시되며, 특히 바람직하게는 시클로펜텐 고리이다.

A로 표현되는 1가 기는 예를 들어 치환 또는 비치환 알킬 (상기 정의됨), 치환 또는 비치환 아릴 (상기 정의됨), 치환 또는 비치환 아르알킬, 저급 알콕시 (상기 정의됨), 임의로 치환되는 치환된 아미노, 알킬카르보닐옥시 (예를 들어 아세톡시), 치환 또는 비치환 알킬티오, 치환 또는 비치환 아릴티오, 시아노, 니트로, 할로젠 원자 (상기 정의됨) 등이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "치환 또는 비치환 아르알킬"의 아르알킬은 벤질, 2-페닐에틸, 1-페닐에틸, 3-페닐프로필 등으로 예시되며, 치환기는 술폰산 기, 카르복실, 히드록시, 치환 또는 비치환 알킬 (상기 정의됨), 알콕시 (상기 정의됨), 할로젠 원자 (상기 정의됨) 등으로 예시된다. "임의로 치환되는 치환된 아미노"의 치환된 아미노는 예를 들어, 알킬아미노 (예를 들어, 메틸아미노, 에틸아미노 등), 디알킬아미노 (디메틸아미노, 디에틸아미노 등), 디페닐아미노, 메틸페닐아미노, 시클릭 아미노 (예를 들어, 모르폴리노, 이미다졸리디노, 에톡시카르보닐피페라디노 등) 등이 있다. "임의로 치환되는 치환된 아미노"의 추가의 치환에 따른 치환기는 술폰산 기, 카르복실 등이 있다. "치환 또는 비치환 알킬티오"의 알킬티오는 예를 들어 메틸티오, 에틸티오 등일 수 있다. 치환기의 예로는 술폰산 기, 카르복실 등이 있다. "치환 또는 비치환 아릴티오"의 아릴티오는 페닐티오, 나프틸티오 등으로 예시된다. 치환기의 예로는 술폰산 기, 카르복실 등이 있다.

A로 표현되는 1가 기는 바람직하게는 불소 원자, 염소 원자, 디알킬아미노 (바람직하게는 임의로 고리를 형성하는 6 개 이하의 탄소 원자를 가짐) 또는 모르폴리노이다. 이러한 기는 특히 바람직하게는 술폰산 기를 가진다.

화학식 I에 있어서, r은 바람직하게는 1이다.

제약상 허용가능한 염은 화학식 I의 화합물의 비독성 염을 형성하는 한 임의의 것일 수 있다. 그의 예로는 나트륨 염, 칼륨 염과 같은 알칼리 금속 염, 마그네슘 염, 칼슘 염 등과 같은 알칼리 토금속 염, 암모늄 염, 트리에틸 암모늄 염, 트리부틸 암모늄 염, 피리디늄 염 등과 같은 유기 암모늄 염, 리신 염, 아르기닌 염 등과 같은 아미노 산의 염이 있다. 생체내에서 독성이 적은 나트륨 염이 특히 바람직하다.

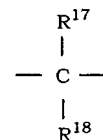
생체에 사용되는 형광 조영제는 특히 수용성이어야 한다. 본 발명에 있어서, 근적외 형광 조영제는 3 개 이상의 술폰산 기를 상기 언급된 화합물에 도입시킴으로써 확실하게 개선된 수용해도를 가진다. 우수한 수용해도를 위하여, 술폰산 기의 갯수는 바람직하게는 4 개 이상이다. 쉽게 합성하기 위한 술폰산 기의 갯수는 10 개 이하, 바람직하게는 8 개 이하이다. 수용

해도에 있어서의 개선은 예를 들어 부탄올/물의 2 상 계에서 특정될 수 있는 각각의 화합물의 분배 계수를 측정함으로써 결정될 수 있다. 보다 특별하게는 3 개 이상의 술폰산 기의 도입은 n-부탄올/물의 분배 계수 $\log Po/w$ 가 -1.00 이하로 되게 한다.

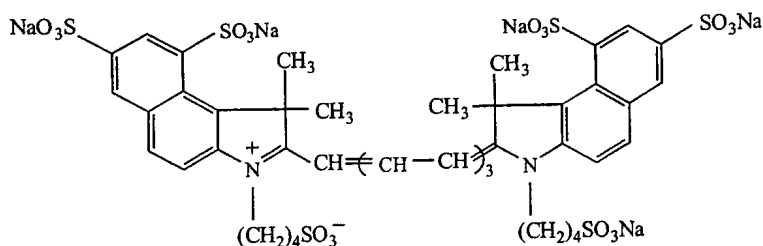
술폰산 기는 특히 바람직하게는 화학식 I의 R^1 , R^2 , Z^1 및(또는) Z^2 의 위치 및 화학식 II의 R^1 , R^2 , R^5 , R^7 , R^{11} 및(또는) R^{13} 의 위치로 도입된다.

또한, 이러한 술폰산 기는 바람직하게는 상기 언급된 화학식 (a)의 A 위치에 알킬렌과 같은 2가 기를 통하여 공액된 메틴쇄의 L^4 로 도입된다.

분자내에 3 개 이상의 술폰산 기를 가지는 화학식 II의 화합물의 나트륨 염 중에서 R^1 및 R^2 는 술폰산 기에 의해서 치환되

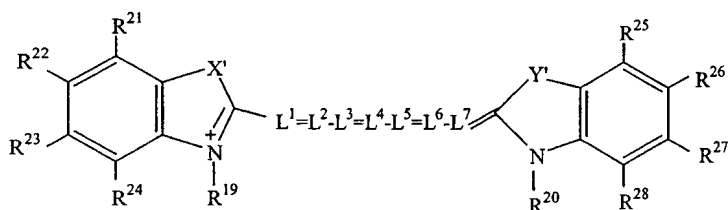


는 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 저급 알킬이며, X와 Y가 동일하거나 상이하며, 각각은 화학식 $\begin{array}{c} R^{17} \\ | \\ -C- \\ | \\ R^{18} \end{array}$ 의 기 (여기서, R^{17} 및 R^{18} 은 동일하거나 상이하며, 각각은 1 내지 5 개의 탄소 원자 알킬을 가지는 비치환 저급 알킬임)인 화합물의 나트륨 염이 바람직하며, 상기 염은 분자내 3 개 이상의 술폰산 기를 가지며, 특히 하기 화학식의 화합물이 바람직하다.

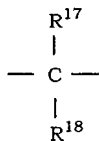


분자내 3 개 이상의 술폰산 기를 가지는 화학식 I의 화합물 및 그의 제약상 허용가능한 염 중에서, 하기 화학식 III-1의 화합물의 나트륨 염이 바람직하다.

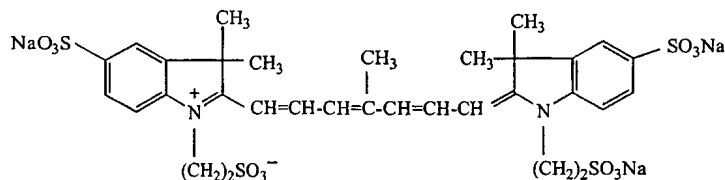
<화학식 III-1>



식중, L^1 내지 L^7 은 상기 정의된 바와 같으며, R^{19} 및 R^{20} 은 술폰산 기로 치환되는 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지는 저급 알킬이며, R^{21} 내지 R^{28} 은 동일하거나 상이하며, 각각은 수소 원자, 술폰산 기, 카르복실 기, 히드록실 기, 알킬(술폰알킬)아미노 기, 비스(술폰알킬)아미노 기, 술폰알콕시 기, (술폰알킬)술폰닐 기 또는 (술폰알킬)아미노-술폰닐 기이며, X'와 Y'

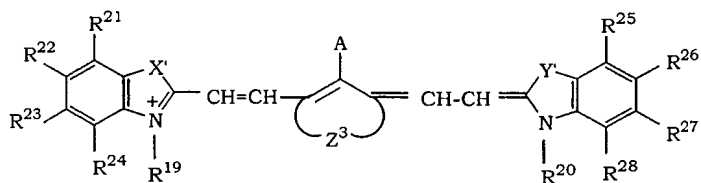


는 동일하거나 상이하며, 각각은 하기 화학식 $\begin{array}{c} R^{17} \\ | \\ -C- \\ | \\ R^{18} \end{array}$ 의 기 (식중, R^{17} 및 R^{18} 은 상기 정의된 바와 같음)이며, 상기 염은 분자내 3 개 이상의 술폰산 기를 가지며, 하기 화학식의 화합물이 특히 바람직하다.

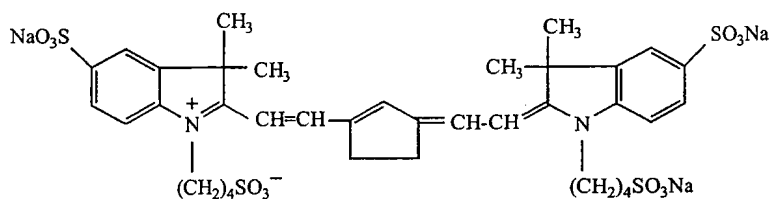


분자내 3 개 이상의 술폰산 기를 가지는 화학식 III-1의 화합물의 나트륨 염 중에서 하기 화학식 III-2의 화합물의 나트륨 염이 바람직하다.

<화학식 III-2>



식중, R^{19} - R^{28} , X' 와 Y' 는 상기 정의된 바와 같으며, Z^3 는 5- 또는 6-원 고리를 형성하는 데 필요한 비금속 원자이며, A는 수소 원자 또는 1가 기이며, 상기 염은 분자내 3 개 이상의 술폰산 기를 가지며, 하기 화학식의 화합물로 주어지는 것이 특히 바람직하다.



본 발명의 근적외 형광 조영제로 포함되는 화합물은 화학식 I 또는 II의 화학식 뿐 아니라 3 개 이상, 바람직하게는 4 개 이상의 분자내 술폰산 기를 가지는 한 임의의 것일 수 있다. 이러한 화합물들은 문헌 [The Cyanine Dyes and Related Compounds, F. M. Hamer, John Wiley and Sons, New York, 1964, Cytometry, 10, 3-10 (1989), Cytometry, 11, 418-430 (1990), Cytometry, 12 723-730 (1990), Bioconjugate Chem. 4, 105-111 (1993), Anal. Biochem., 217, 197-204 (1994), Tetrahedron, 45, 4845-4866 (1989), EP-A-0591820A1, EP-A-0580145A1] 등에 개시된 시아닌 염료 화합물의 공지된 제조 방법에 따라서 합성될 수 있다. 별법으로, 이들은 공지된 방법으로 상업적으로 이용가능한 시아닌 염료 화합물로부터 반합성될 수 있다. 특별하게는, 이들은 디아닐 화합물과 헤테로시클릭 4가 염을 반응시킴으로써 합성될 수 있다.

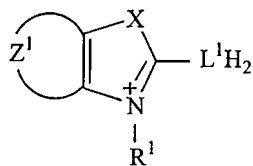
본 발명의 화학식 I의 화합물은 예를 들어, 하기 방법에 의해서 합성될 수 있다.

(i) $r=0$ 일 때

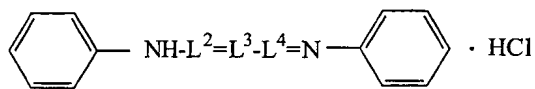
(a) $L^1=L^5$, $X=Y$, $R^1=R^2$ 및 $Z^1=Z^2$

하기 화학식 IV-1의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (2 몰)과 화학식 V-1의 디아닐 화합물 (1 몰)을 염기와 용매의 존재하에 반응시켜 화학식 VI-1의 화합물을 얻고, 이 화합물 VI-1 (1 몰)과 화학식 VII의 화합물의 필요한 몰량을 반응시켜 상기 언급된 VI-1의 화합물의 나트륨 염을 얻는다.

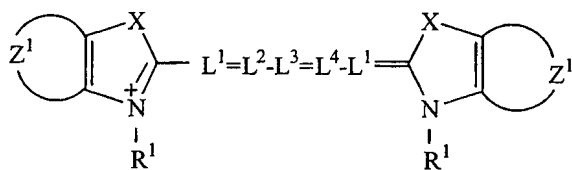
화학식 IV-1



화학식 V-1



화학식 VI-1



화학식 VII



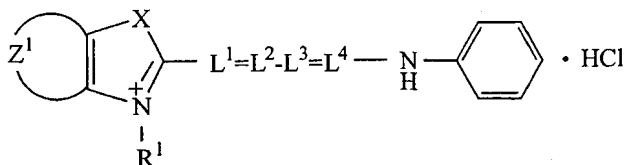
식중, L¹, L², L³, L⁴, R¹, Z¹ 및 X는 상기 정의된 바와 같으며,

T¹은 유기 산 잔기이다.

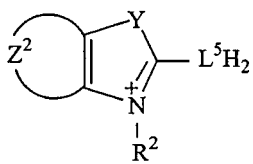
(b) L¹≠L⁵ 또는 X≠Y 또는 R¹≠R² 또는 Z¹≠Z²

상기 언급된 화학식 IV-1의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (1 몰)과 상기 언급된 화학식 V-1의 디아닐 화합물 (1 몰)을 염기 및 용매의 존재하에 반응시켜 화학식 VIII-1의 화합물을 얻고, 이 화합물 VIII-1 (1 몰)과 화학식 XI-1의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (1 몰)을 반응시켜 화학식 X-1의 화합물을 얻고, 이 화학식 X-1의 화합물 (1 몰)과 상기 언급된 화학식 VII의 화합물의 필요한 몰 량을 반응시켜 상기 언급된 화학식 X-1의 화합물의 나트륨 염을 얻는다.

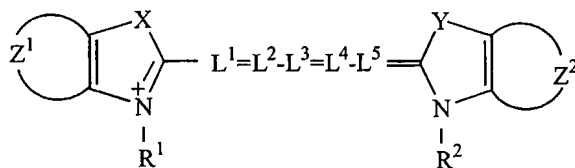
화학식 VIII-1



화학식 XI-1



화학식 X-1



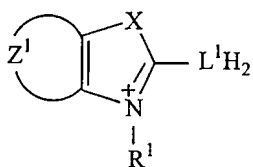
식중, $L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, R^1, R^2, Z^1, Z^2, X$ 및 Y 는 상기 정의된 바와 같다.

(ii) $r=1$ 일 때

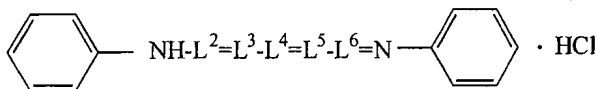
(a) $L^1=L^7, X=Y, R^1=R^2$ 이고, $Z^1=Z^2$

화학식 IV-1의 헤테로 고리 4가 염 (2 몰)과 화학식 V-2의 디아닐 화합물 (1 몰)을 염기 및 용매의 존재하에 반응시켜 화학식 VI-2의 화합물을 얻고, 이 화합물 VI-2 (1 몰)과 화학식 VII의 화합물의 필요한 몰 량을 반응시켜 상기 언급된 화학식 VI-2의 화합물의 나트륨 염을 얻는다.

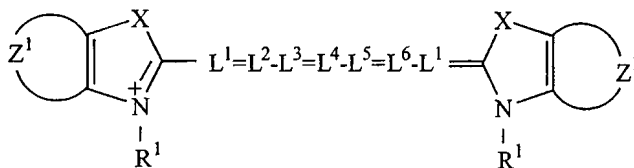
<화학식 IV-1>



화학식 V-2



화학식 VI-2



<화학식 VII>

T^1-Na

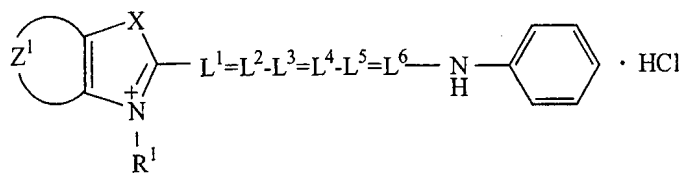
식중, $L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, R^1, Z^1$ 및 X 는 상기 정의된 바와 같으며,

T^1 은 상기 정의된 바와 같다.

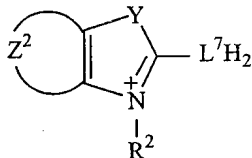
(b) $L^1 \neq L^7$ 또는 $X \neq Y$ 또는 $R^1 \neq R^2$ 또는 $Z^1 \neq Z^2$

상기 언급된 화학식 IV-1의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (1 몰)과 상기 언급된 화학식 V-2의 디아닐 화합물 (1 몰)을 염기 및 용매의 존재하에 반응시켜 화학식 VIII-2의 화합물을 얻고, 이 화합물 VIII-2 (1 몰)과 화학식 IX-2의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (1 몰)을 반응시켜 화학식 X-2의 화합물을 얻고, 이 화학식 X-2의 화합물 (1 몰)과 상기 언급된 화학식 VII의 화합물의 필요한 몰 량을 반응시켜 상기 언급된 화학식 X-2의 화합물의 나트륨 염을 얻는다.

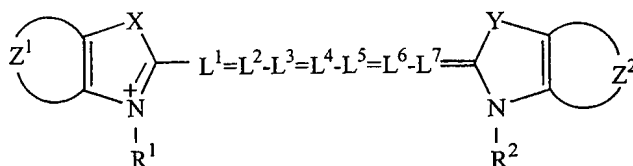
화학식 VIII-2



화학식 IX-2



화학식 X-2



식중, $L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, R^1, R^2, Z^1, Z^2, X$ 및 Y 는 상기 정의된 바와 같다.

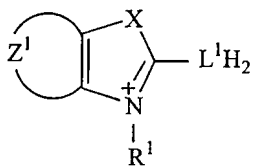
(iii) $r=2$ 일 때,

r 이 2일 때, L^6 및 L^7 은 화학식 I에서 중복된다. 이를 피하기 위하여, 중복된 L^6 및 L^7 을 설명을 위해 L^8 및 L^9 로 언급한다.

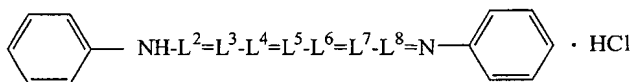
(a) $L^1=L^9, X=Y, R^1=R^2$ 이고, $Z^1=Z^2$

화학식 IV-1의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (2 몰)과 화학식 V-3의 디아닐 화합물 (1 몰)을 염기 및 용매의 존재하에 반응시켜 화학식 VI-3의 화합물을 얻고, 이 화합물 VI-3 (1 몰)과 화학식 VII의 화합물의 필요한 몰량을 반응시켜 상기 언급된 화학식 VI-3의 화합물의 나트륨 염을 얻는다.

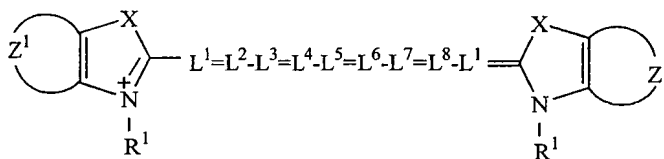
<화학식 IV-1>



화학식 V-3



화학식 VI-3



<화학식 VII>

T¹-Na

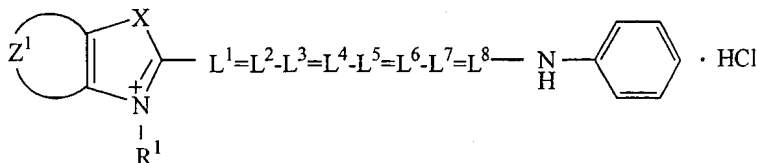
식중, L¹, L², L³, L⁴, L⁵, L⁶, L⁷, R¹, Z¹ 및 X가 상기 정의된 바와 같고, L⁸은 임의로 치환된 메틴 기이며,

T¹은 상기 정의된 바와 같다.

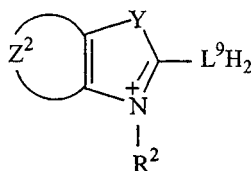
(b) L¹≠L⁹ 또는 X≠Y 또는 R¹≠R² 또는 Z¹≠Z²

상기 언급된 화학식 IV-1의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (1 몰)과 상기 언급된 화학식 V-3의 디아닐 화합물 (1 몰)을 염기와 용매 존재하에 반응시켜 화학식 VIII-3의 화합물을 얻고, 이 화합물 VIII-3의 화합물 (1 몰)과 화학식 IX-3의 헤테로 고리 4가 염 화합물 (1 몰)을 반응시켜 화학식 X-3의 화합물을 얻고, 이 화학식 X-3의 화합물 (1 몰)과 상기 언급된 화학식 VII의 화합물의 필요한 몰 량을 반응시켜 상기 언급된 화학식 X-3의 화합물의 나트륨 염을 얻는다.

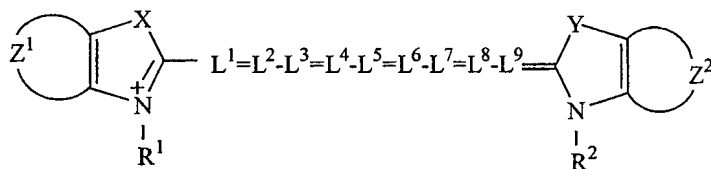
화학식 VIII-3



화학식 IX-3



화학식 X-3



식중, L¹, L², L³, L⁴, L⁵, L⁶, L⁷, L⁸, R¹, R², Z¹, Z², X 및 Y는 상기 정의된 바와 같고, L⁹는 임의로 치환된 메틴 기이다.

화학식 VII의 화합물의 필요한 몰 량은 화학식 I의 화합물의 목적 나트륨 염의 1 몰 중에 함유된 나트륨의 양과 등량 이상이다.

L⁸ 및 L⁹에서 치환된 메틴 기의 치환기는 상기 언급된 L¹ 내지 L⁷에서 메틴 기의 치환기로 언급된 것으로 예시된다.

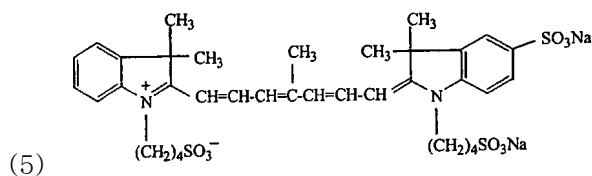
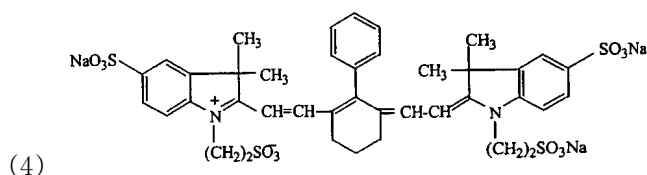
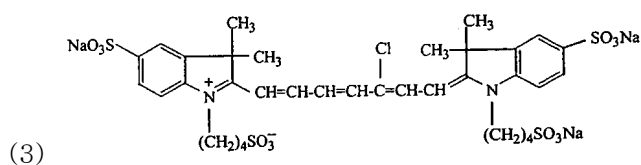
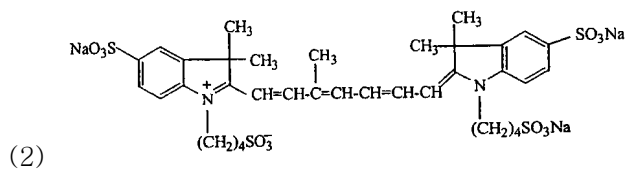
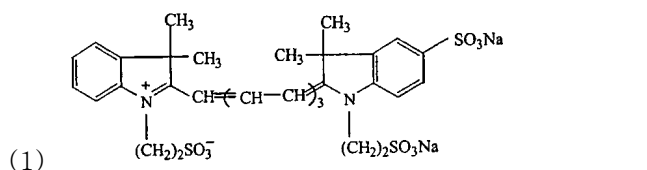
상기 언급된 (i), (ii) 및 (iii)의 합성 방법에 있어서, 화합물 IV-1과 V-1의 반응, 화합물 VIII-1과 XI-1의 반응, 화합물 IV-1과 V-2의 반응, 화합물 VIII-2와 IX-2의 반응, 화합물 IV-1과 V-3의 반응 및 화합물 VIII-3과 IX-3과의 반응이 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 내지 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 바람직하게는 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 내지 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서, 바람직하게는 아세트산 무수물과 같은 아실화제의 존재하에 진행된다.

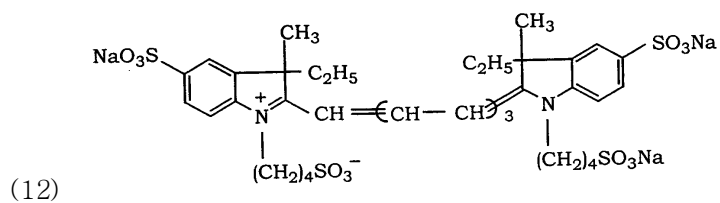
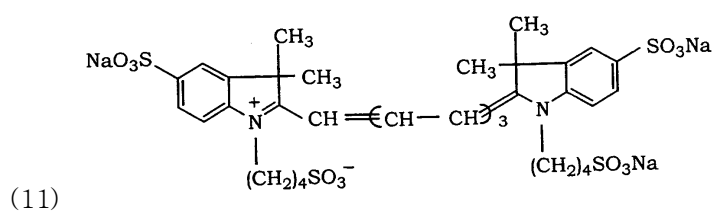
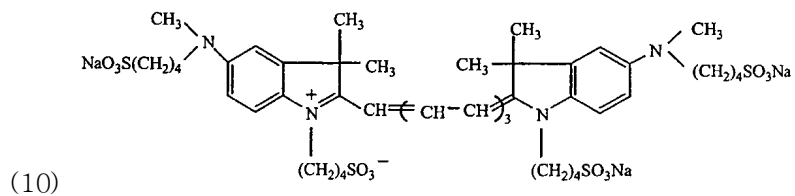
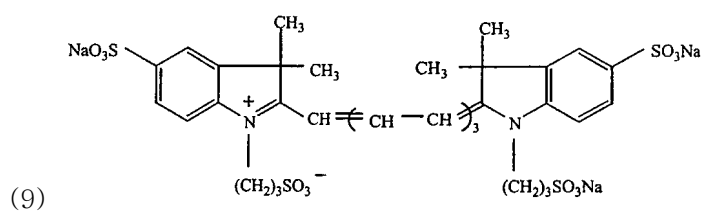
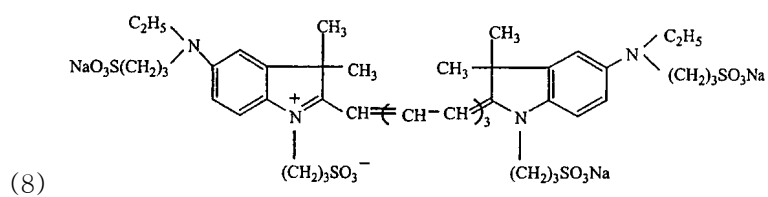
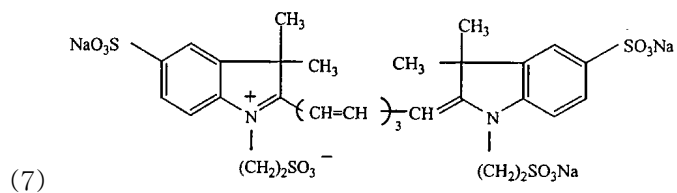
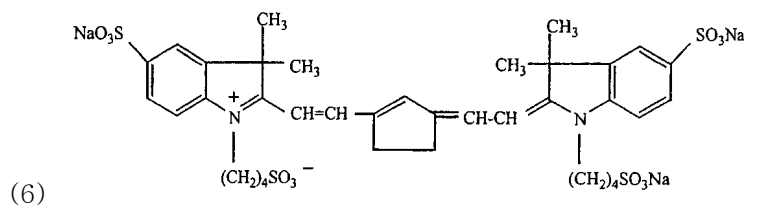
상기 언급된 (i), (ii) 및 (iii)의 합성 방법에 있어서, 화합물 IV-1과 VII의 반응, 화합물 X-1과 VII의 반응, 화합물 VI-2와 VII의 반응, 화합물 X-2와 VII의 반응, 화합물 VI-3과 VII의 반응, 화합물 X-3과 VII의 반응이 바람직하게는 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 내지 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서, 바람직하게는 알콜 및 물과 같은 용매의 존재하에 진행된다.

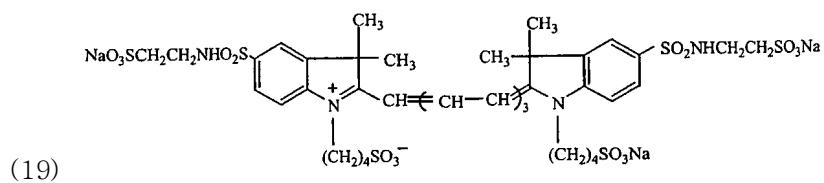
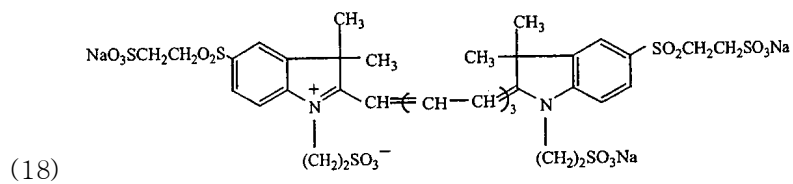
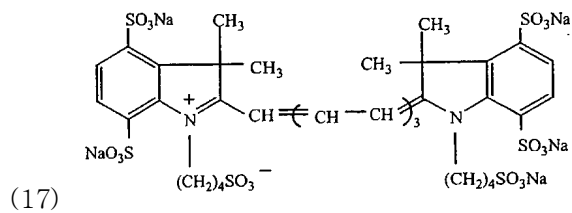
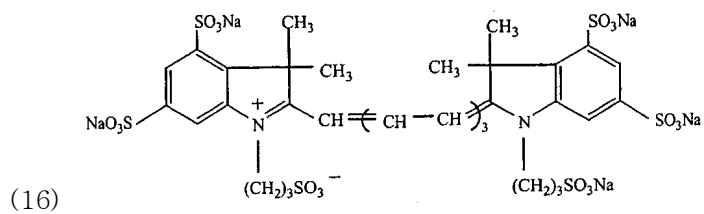
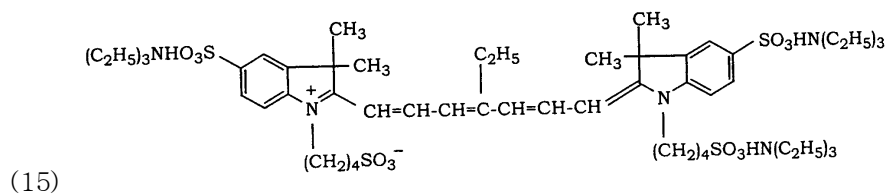
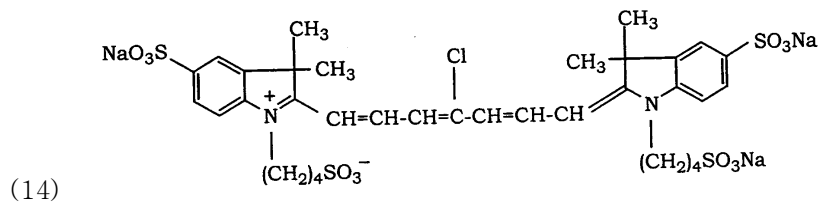
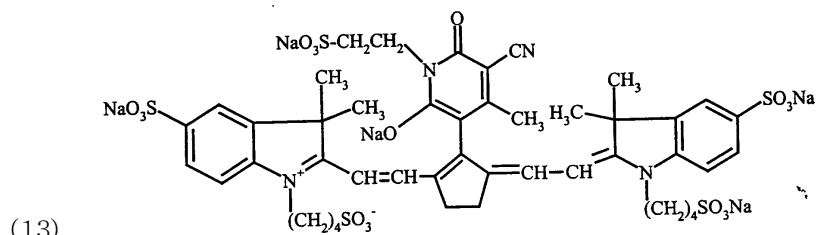
상기 언급된 (i), (ii) 및 (iii)의 합성 방법에 있어서, 사용되는 염기는 예를 들어, 트리에틸아민, 트리부틸아민, 피리딘, 디아자비시클로오테센, 나트륨 메톡사이드 등일 수 있으며, 사용되는 용매는 예를 들어 N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈 및 N,N-디에틸포름아미드와 같은 아미드 화합물 또는 메탄올과 같은 알콜일 수 있으며, 유기산 잔기는 예를 들어 CH_3COO 등일 수 있다.

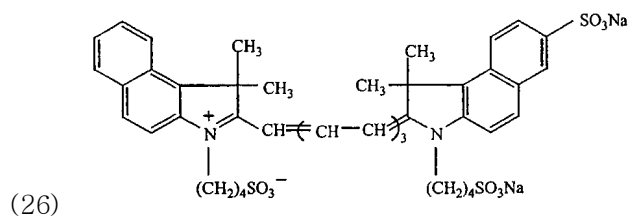
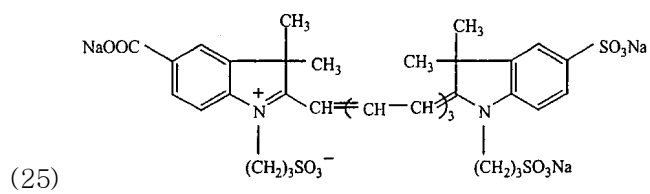
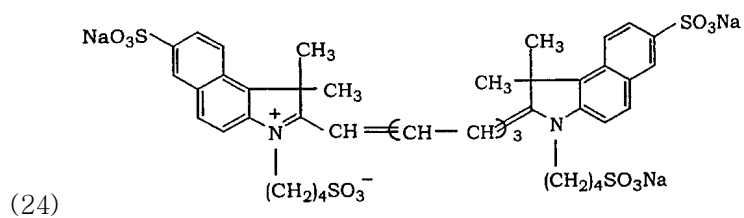
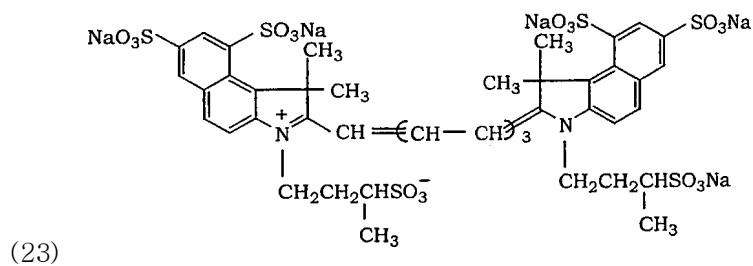
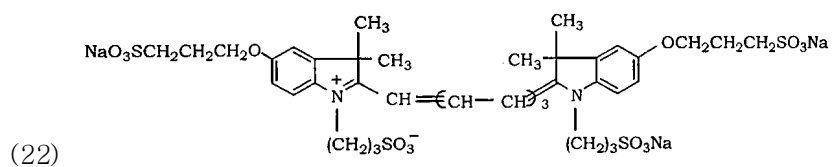
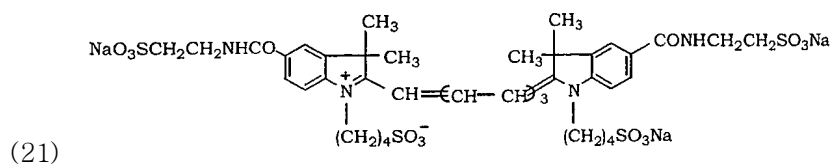
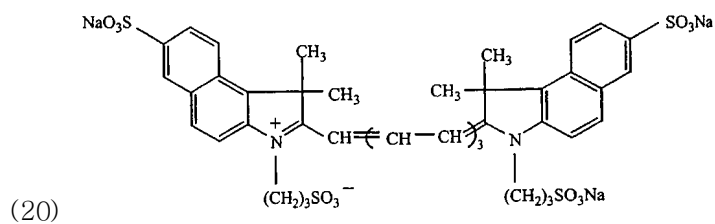
상기 언급된 화학식 I의 화합물의 다양한 제약상 허용가능한 염의 제조에 대하여는, 화학식 I의 화합물의 암모늄 염 및 칼륨 염은 예를 들어, 상기 언급된 합성 방법 (i), (ii) 및 (iii)에서 사용된 화학식 VII의 화합물을 나트륨 원자가 암모늄 기 또는 칼륨 원자로 변경된 화학식 VII의 화합물로 치환시켜 얻을 수 있으며, 상기 언급된 화학식 I의 화합물의 다른 양이온성 염은 상기 암모늄 염 및 칼륨 염을 필요한 경우 이온 교환 수지를 사용하여 다른 양이온성 염으로 전환시킴으로써 얻을 수 있다.

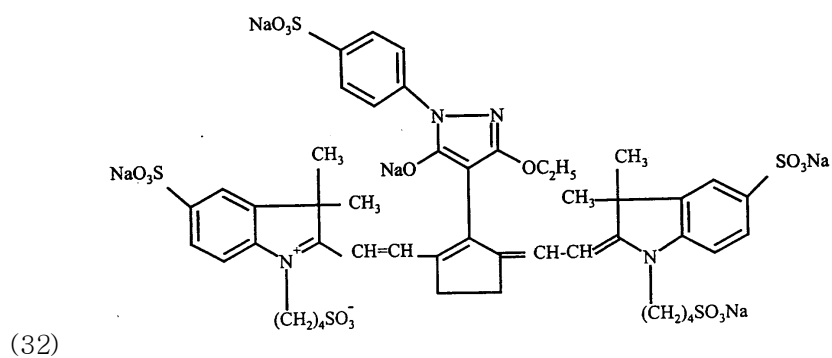
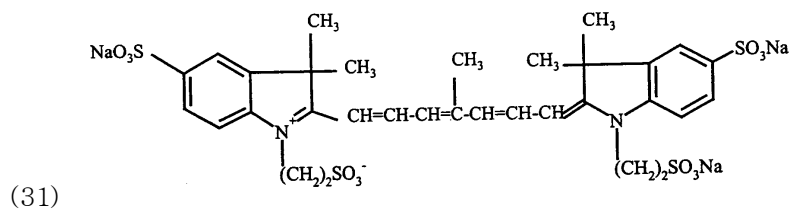
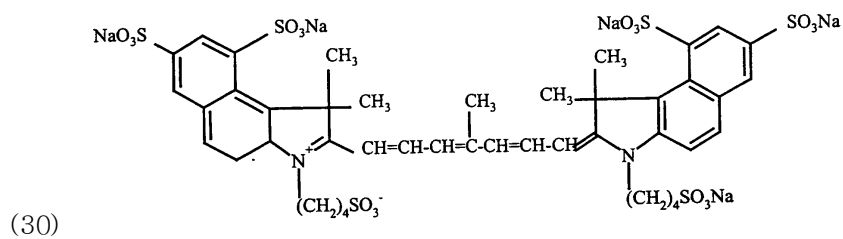
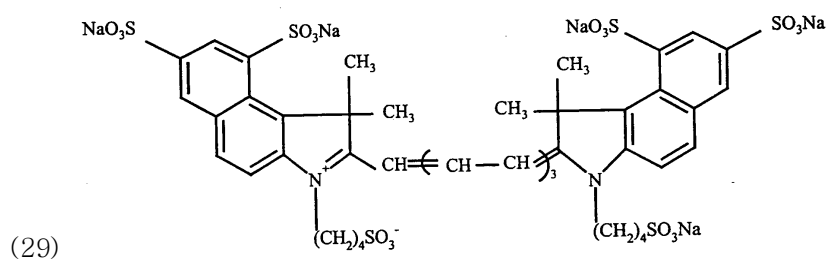
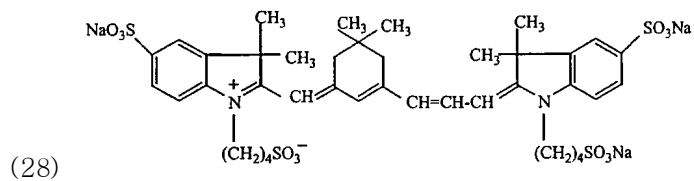
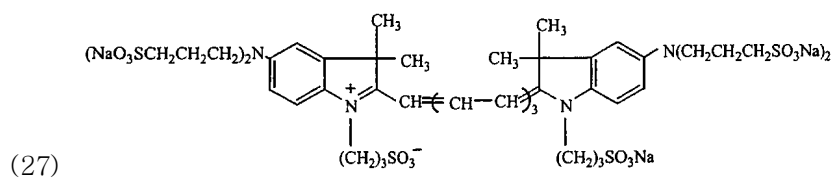
본 발명에서 사용되는 화학식 II의 화합물을 포함하는 상기 언급된 화학식 I의 화합물은 하기로 상세하게 설명되나, 이것으로 본 발명이 제한되지 않는다.

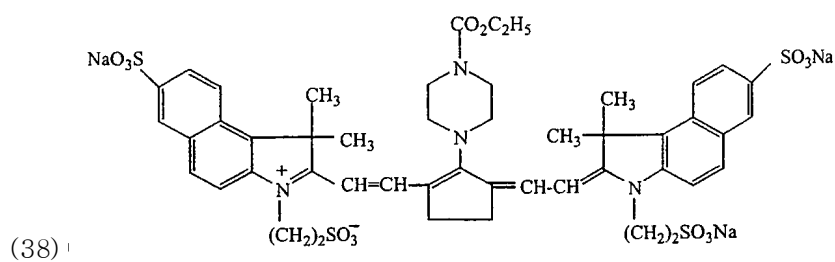
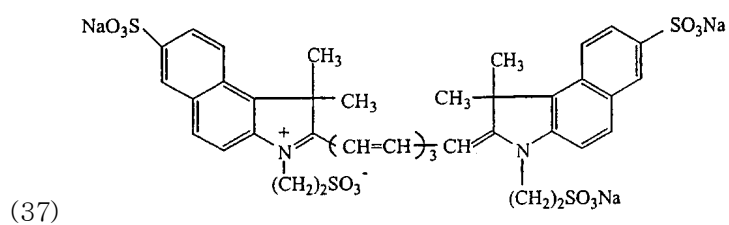
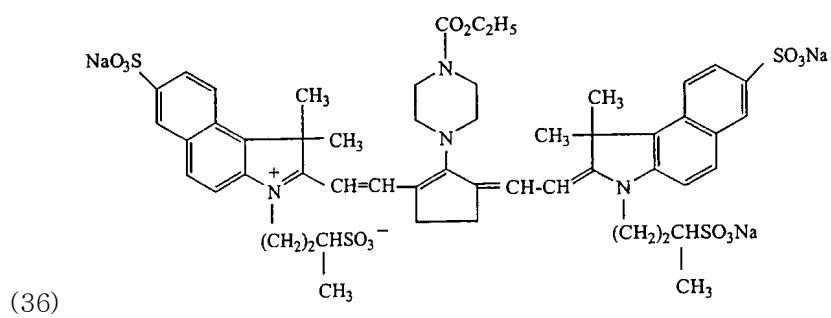
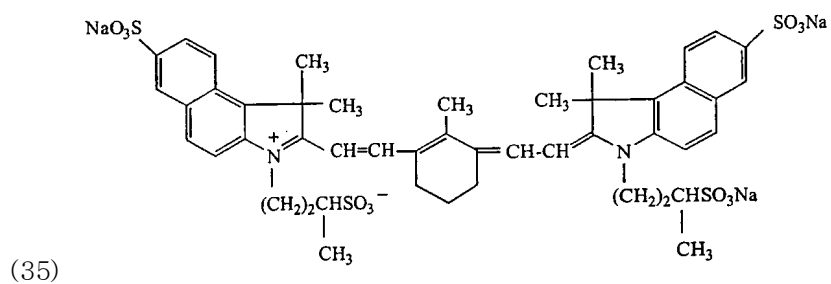
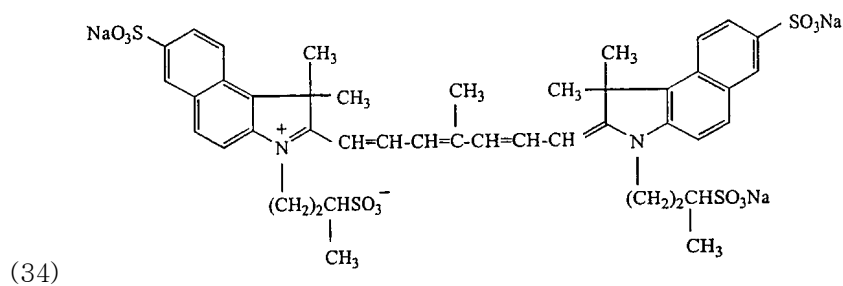
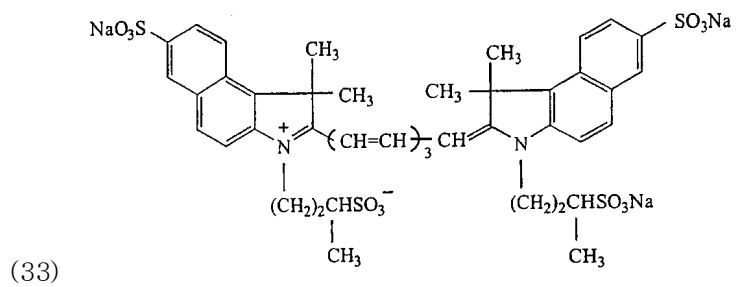


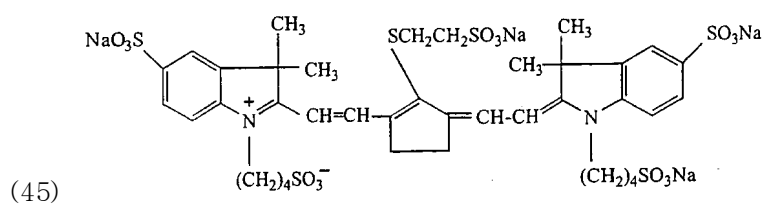
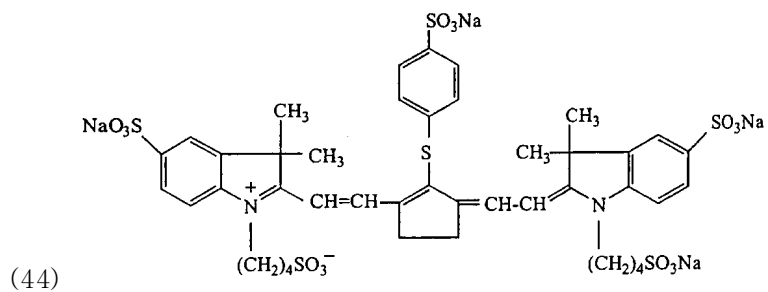
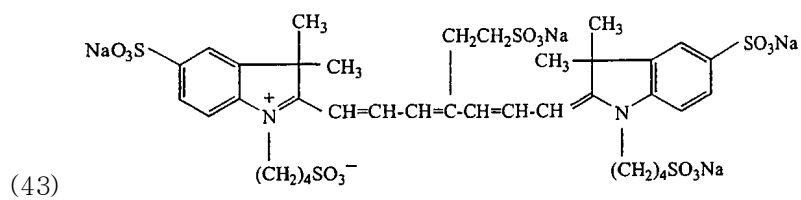
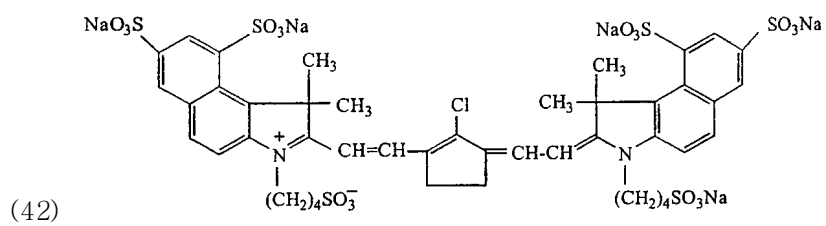
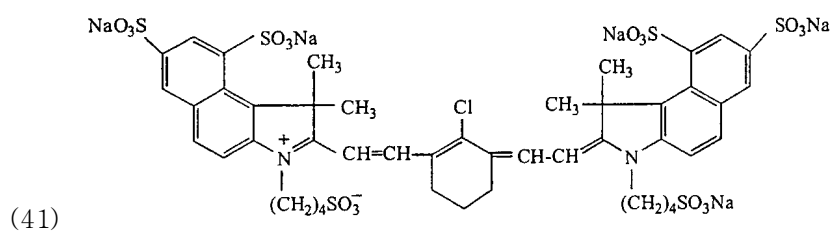
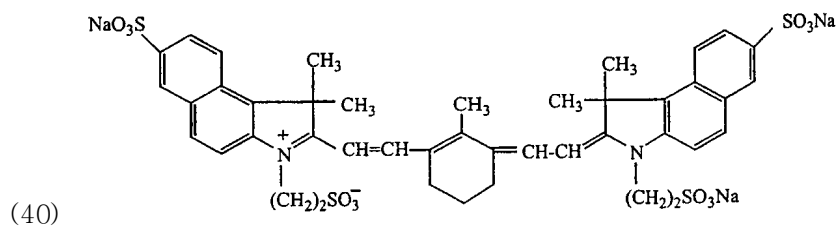
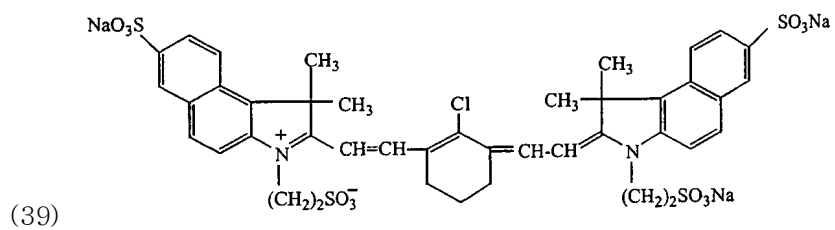


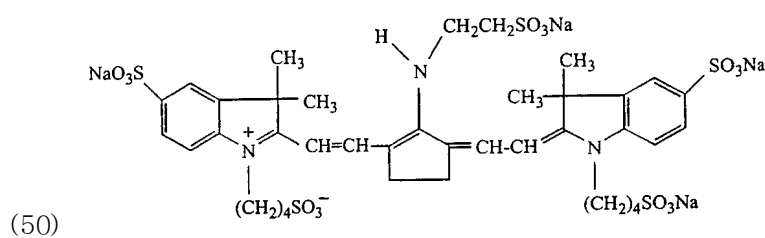
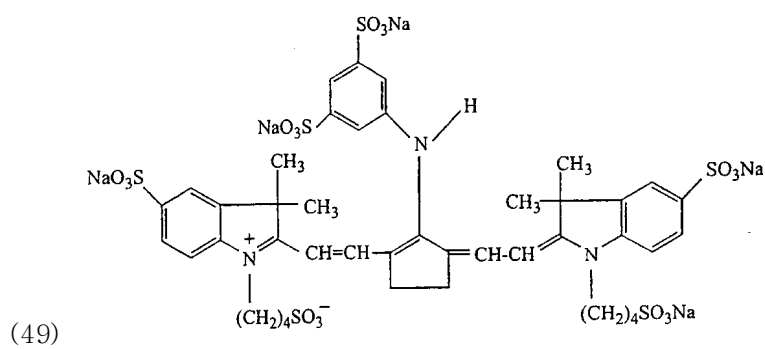
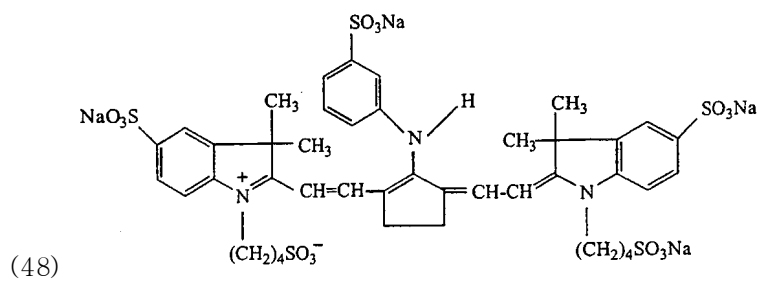
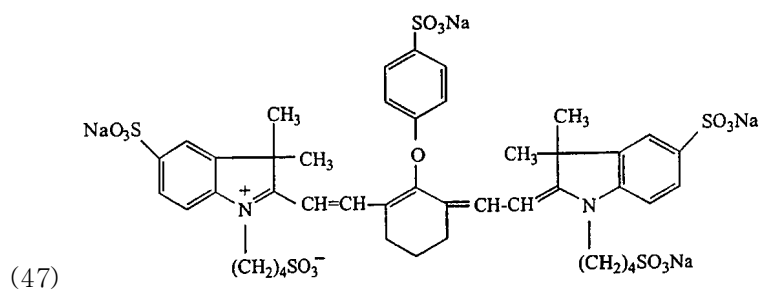
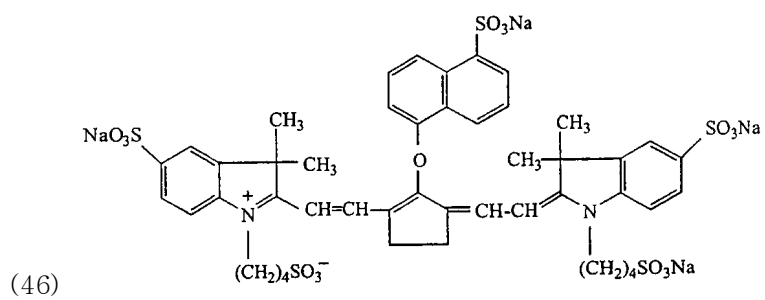


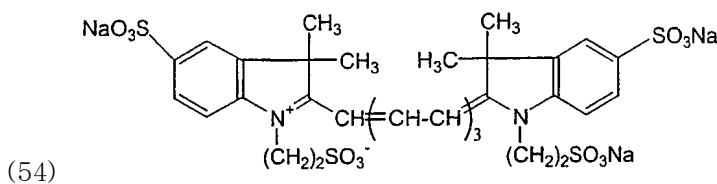
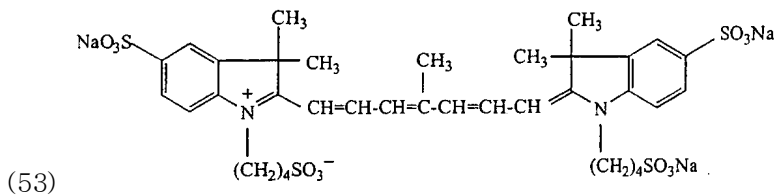
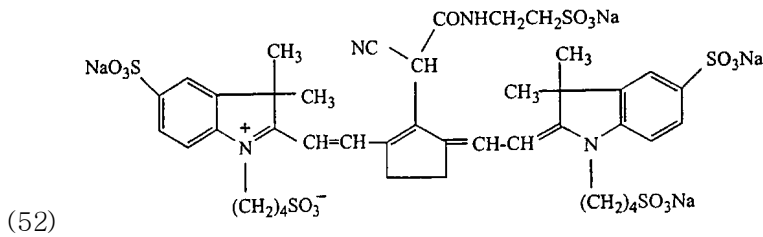
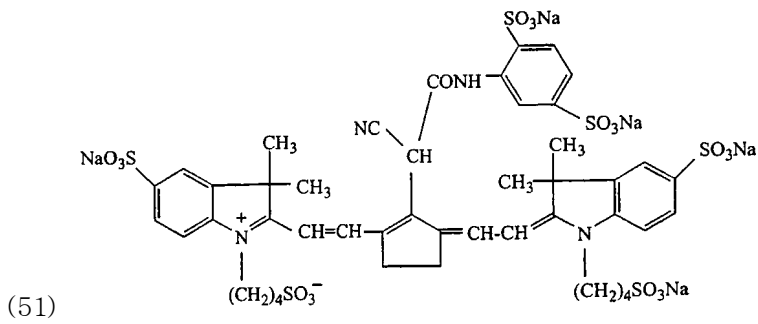












본 발명의 근적외 형광 조영제 중에 함유되는 상기 언급된 화합물은 700 내지 1300 nm, 특히 약 700 내지 900 nm의 근적외 광 영역에서 흡광도와 형광을 나타내며, 100,000 이상의 물 흡광 계수를 가진다.

본 발명의 근적외 형광 조영제는 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물 및(또는) 그의 제약상 허용가능한 염을 함유하고 분자내에 3 개 이상, 바람직하게는 4 개 이상의 술포산 기를 가지는 한 특별한 제한은 없다. 이 화합물 또는 그의 염은 단독으로 또는 조합하여 상기 조영제에 함유될 수 있다.

특별하게는, 상기 조영제는 상기 화합물 또는 주사용 증류수, 약리 식염수, 링거 용액 등과 같이 용매 중에 현탁되거나 용해된 상기 화합물을 포함한다. 필요한 경우, 담체, 부형제 등과 같은 제약상 허용가능한 첨가제가 첨가될 수 있다. 이러한 첨가제는 약리학적으로 허용가능한 전해질, 완충액, 세정제 및 삼투압 조절용 물질 및 안정성과 용해도를 개선시키는 물질(예를 들어, 시클로덱스트린, 리포솜 등)을 포함한다. 관련 분야에서 일반적으로 사용되는 다양한 첨가제가 사용될 수 있다. 본 발명의 근적외 형광 조영제는 바람직하게는 제약학적 용도로 의도될 때 살균 과정을 통하여 제조된다.

상기 조영제는 주사, 분무 또는 도포, 정맥내(정맥, 동맥), 경구, 복강내, 경피, 피하내, 낭내 또는 기관지내로 생체에 투여될 수 있다. 바람직하게는 제제는 혈관내에 수성 제제, 유제 또는 현탁제의 형태로 투여된다.

본 발명의 근적외 형광 조영제의 투여는 투여가 최종 진단되는 부위의 검사를 가능케 하는 것에 특히 제한되지는 않는다. 사용되는 근적외 형광을 방출하는 화합물의 종류, 피검자의 나이, 체중 및 표적 기관 등에 따라 적절하게 조절된다. 전형적으로, 투여량은 상기 화합물의 양으로 0.1-100 mg/kg 체중, 바람직하게는 0.5-20 mg/kg 체중이다.

본 발명의 조영제는 인간을 제외한 다양한 동물에 적절하게 사용될 수 있다. 투여 형태, 경로 및 투여량은 표적 동물의 체중 및 질환 상태에 따라 적합하게 결정된다.

그러나, 본 발명에 있어서, 분자내 3 개 이상, 바람직하게는 4 개 이상의 술포산 기를 가지는 상기 언급된 화학식 I의 화합물, 특히 바람직하게는 II는 종양 조직에 뚜렷하게 축적되는 경향이 있다. 이러한 성질을 이용하여, 종양 조직은 특히 본 발명의 형광 조영제를 사용하여 영상화될 수 있다. 또한, 일련의 상기 화합물이 오랜 기간 동안 혈관에 잔류할 수 있으며, 이들은 혈관조영법의 조영제로서 사용될 것으로 기대된다.

본 발명의 형광 영상화 방법은 본 발명의 근적외 형광 조영제로 사용되는 것을 특징으로 한다. 이 방법은 공지된 방법에 따라서 실행되며, 검사되는 여기 파장 및 형광 파장과 같은 각각의 변수는 투여되는 근적외 형광 조영제의 종류 및 투여 표적에 따라서 최적 영상화 및 평가를 달성하는 데 적합하게 결정된다. 본 발명의 형광 영상화 방법에 따라서 측정 표적으로서의 본 발명의 근적외 형광 조영제의 투여에서 측정 초기까지 소비되는 시간은 사용되는 근적외 형광 조영제의 종류와 투여 표적에 따라 다양하다. 예를 들어, 제제가 종양 영상화를 위한 화학식 I의 화합물을 포함할 때, 소멸 시간은 투여 약 4 내지 120 시간 후일 것이다. 화학식 II의 화합물의 경우에 있어서, 소멸 시간은 투여 약 24 내지 120 시간 후일 것이다. 소멸 시간이 너무 짧을 경우, 형광이 너무 강해 표적 부위와 다른 부위를 명백하게 구분하지 못할 수 있다. 시간이 너무 길 경우, 상기 조영제는 신체에서 제거될 수 있다. 혈관의 영상화가 필요할 경우, 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물은 투여 직후 또는 투여 약 30 분 후 검출된다.

방법은 전형적으로 하기 단계를 포함한다.

즉, 본 발명의 근적외 형광 조영제는 검출 표적에 투여되고, 검출 표적은 여기 광원으로부터의 여기 광에 노출된다. 이후, 상기 여기 광에 의해 야기되는 근적외 형광 조영제로부터의 형광은 형광 검출기로 검출된다.

여기용 파장은 사용되는 근적외 형광 조영제에 따라 다양하다. 이것은 상기 화합물이 근적외 영역에서 형광을 효과적으로 방출하는 한 제한이 없다. 바람직하게는 우수한 생체투과능을 가지는 근적외 광이 사용된다.

또한, 감지되는 근적외 형광의 파장은 사용되는 조영제에 따라 다양하다. 일반적으로, 600 내지 1000 nm, 바람직하게는 700 내지 850 nm의 파장을 가지는 여기 광이 사용되고, 근적외 형광은 700 내지 1000 nm, 바람직하게는 750 내지 900 nm의 파장의 영역에서 감지된다. 이러한 경우, 여기 광원은 다양한 레이저 (예를 들어, 이온 레이저, 염료 레이저 및 반도체 레이저), 할로겐 광원, 크세논 광원 등과 같이 통상의 여기 광원일 수 있다. 필요한 경우, 다양한 광학 필터는 최적의 여기 파장을 얻는 데 사용될 수 있다. 이와 같이, 형광은 상기 근적외 형광 조영제로부터 형광만을 뽑아내는 데 다양한 광학 필터를 사용하여 감지할 수 있다.

감지된 형광은 형광 정보로서 자료화하고, 기록될 수 있는 형광 영상을 발생하는 데 사용된다. 형광 영상화는 표적 조직을 포함하는 광범위한 영역을 조사하고, CCD 카메라로 형광을 검출하고, 얻어진 형광 정보를 영상화시킴으로써 생성된다. 별법으로, 광학 CT 장치가 사용될 수 있거나, 내시경이 사용될 수 있거나, 안저사진기가 사용될 수 있다.

본 발명의 형광 영상화 방법은 신체에 손상없이 전신 질환, 종양, 혈관 등을 볼 수 있다.

본 발명은 실시예 및 실험예들을 통하여 보다 상세하게 설명되며, 이것으로 본 발명이 제한되지 않는다. 하기 실시예 및 실험예들의 화합물 숫자는 구조식에 의해 설명되는 화합물의 숫자에 상응한다.

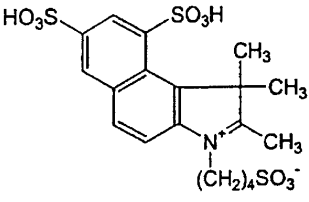
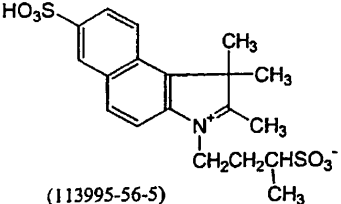
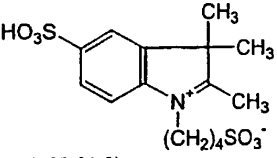
"칼륨 염", "칼슘 염" 또는 "피리디늄 염"을 나타내는 기호가 화합물 번호 뒤에 표시된 화합물 (예를 들어, 화합물 (29) K 염)은 반대 이온이 나트륨 염 대신에 칼륨 염, 칼슘 염 또는 피리디늄 염인 것을 제외하고는 화합물 번호로 표현되는 화합물 (나트륨 염)과 동일한 화합물임을 의미한다. 예를 들어, "화합물(31) K 염"은 반대 이온이 나트륨 대신에 칼륨인 것을 제외하고는 화합물 (31)과 동일한 화합물임을 의미하며, "화합물 (31) Ca 염"은 반대 이온이 나트륨 대신에 칼슘인 것을 제외하고는 화합물 (31)과 동일한 것을 의미하고, "화합물 (31) 피리디늄 염"은 반대 이온이 나트륨 대신에 피리디늄인 것을 제외하고는 화합물 (31)과 동일한 것을 의미한다.

활성 성분으로서 본 발명의 근적외 형광 조영제에 함유되는 화합물의 합성 방법은 실시예에 설명되어 있다.

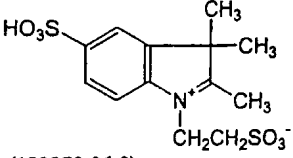
하기 합성 방법은 대개 표 1에 나타난 헤테로시클릭 4가 염 화합물과 표 2와 표 3에 나타난 디아닐 화합물의 반응으로 이루어진다.

[표 1a]

헤테로시클릭 4가 염 화합물

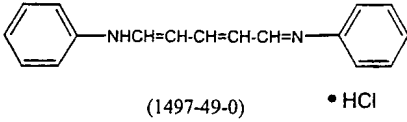
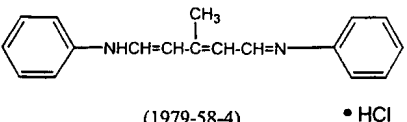
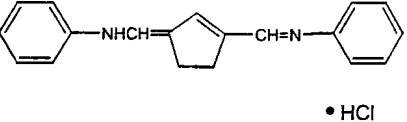
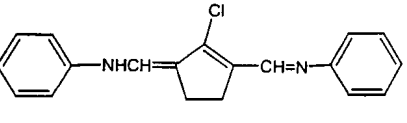
기호	구조식(화학 약어(chemical Abstract; (CA) 등록 번호)	공급원/합성 방법
Q1	 (138913-76-5)	Q2와 동일한 방법으로, 상응하는 인돌레닌 유도체를 부탄술포와 반응시켰다
Q2	 (113995-56-5)	JP-A 63-55544 EP 251282
Q3	 (76588-81-3)	JP-A 2-233658 CA 114:122053

[표 1b]

Q4	 (183272-36-8)	Q3와 동일한 방법으로, 상응하는 인돌레닌 유도체를 2-브로모에탄술포산과 반응시켰다
----	--	--

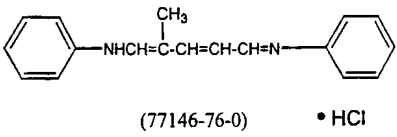
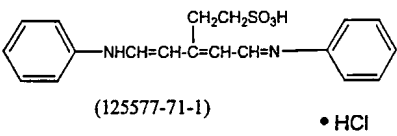
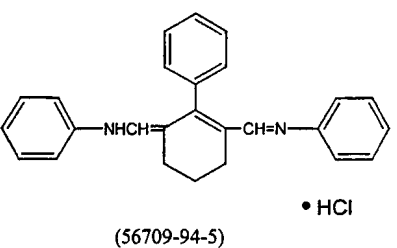
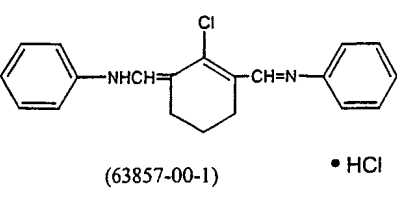
[표 2]

디아닐 화합물-1

기호	구조식(화학 약어(chemical Abstract; (CA) 등록 번호)	공급원/합성 방법
A1	 (1497-49-0) • HCl	알드리치(Aldrich)사 및 기타 회사로부터 구입 가능한 시약
A2	 (1979-58-4) • HCl	JP-A 8-295658 CA 126:90721
A3	 (53019-66-2) • HCl	Zh.Org.Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034
A4	 (63856-99-5) • HCl	Zh.Org.Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034

[표 3]

디아닐 화합물-2

기호	구조식(화학 약어(chemical Abstract; (CA) 등록 번호)	공급원/합성 방법
A5	 (77146-76-0) • HCl	Nukleofil' nye Reacts. Karbonil' nykn Soedin (1982), 52-53 CA 101:130179
A6	 (125577-71-1) • HCl	Ger Offem, DE 2928184 CA 94:176696
A7	 (56709-94-5) • HCl	Zh.Org.Khim., 18(10) 2176-9 (1982) CA 98:73808
A8	 (63857-00-1) • HCl	Zh.Org.Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034

실시예

하기 실시예에 있어서, 화합물은 편리상 표 1 내지 표 3에 사용된 기호 (예를 들어, A1, Q1 등)로 언급된다.

<실시예 1>

화합물 (29)의 합성

헤테로시클릭 4가 염 화합물 Q1 (5 g)에 메탄올 (100 mL), N,N-디메틸포름아미드 (25 mL), 트리에틸아민 (5.6 mL), 디아닐 화합물 A1 (1.83 g) 및 아세트산 무수물 (3 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 트리에틸아민 (2.2 mL)과 아세트산 무수물 (2 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 메탄올 (15 mL) 중의 아세트산 나트륨 (2 g)의 용액을 여액에 첨가한 후 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 얻어진 조 결정 (3.5 g)에 물 (20 mL)를 첨가하여 용해시켰다. 아세트산 나트륨 (1 g)을 첨가하고, 이어서 메탄올 (30 mL)을 첨가한 후 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 건조시켜 3 g의 화합물 (29)을 얻었다. 생성된 화합물 (29)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H₂O) : 780 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 243,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 802 nm

적외선 흡수 스펙트럼을 푸리에 변환 적외선 분광계 (자스코사 (JASCO)로부터 제조된 VALOR-III)를 사용하여 브롬화칼륨 태블릿 (tablet) 방법으로 생성된 화합물 (29)을 측정하였다. 하기 피크가 검출되었다. 스펙트럼은 도 11에 나타냈다.

IR (< 최대 (HBr)): 1414, 1086, 1037, 995, 889 cm^{-1}

<실시예 2>

화합물 (34)의 합성

헤테로시클릭 4가 염 화합물 Q2 (2.13 g)에 메탄올 (20 mL)을 첨가하고, 혼합물을 10 $^{\circ}\text{C}$ 로 냉각시켰다. 여기에 디아닐 화합물 A2 (0.75 g), 트리에틸아민 (4 mL)과 아세트산 무수물 (2 mL)을 첨가하고, 혼합물을 20 분 동안 교반하였다. 아세트산 무수물 (2 mL)을 첨가하고, 혼합물을 10 $^{\circ}\text{C}$ 에서 4 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 소량의 메탄올 중의 아세트산 나트륨 (2 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 얻은 조 결정에 물 (7 mL)을 첨가하여 용해하였다. 메탄올 (7 mL)을 첨가하여 결정을 침전시켰다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 1.2 g의 화합물 (34)을 얻었다. 수득한 화합물 (34)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 794 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 176,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 812 nm

<실시예 3>

화합물 (6)의 합성

헤테로시클릭 4가 염 화합물 Q3 (9.5 g)에 메탄올 (50 mL), 트리에틸아민 (7 mL), 디아닐 화합물 A3 (3.1 g) 및 아세트산 무수물 (3.9 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 7 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 소량의 메탄올 중의 아세트산 나트륨 (5 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 혼합물을 밤새 방치하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 결정에 물 (30 mL)을 첨가하여 용해시켰다. 아세트산 나트륨 (2 g)을 첨가한 후 메탄올 (30 mL)을 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고 건조시켜 화합물 (6)을 얻었다.

<실시예 4>

화합물 (45)의 합성

헤테로시클릭 4가 염 화합물 Q3 (4.8 g)에 메탄올 (50 mL), 트리에틸아민 (4 mL), 디아닐 화합물 A4 (1.7 g) 및 아세트산 무수물 (2 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 소량의 메탄올 중의 아세트산 나트륨 (4 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 결정에 물 (10 mL)을 첨가하여 용해시켰다. 이후 메탄올 (10 mL)을 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 공기 건조시켜 1.6 g의 메틴쇄 상의 치환기가 $-\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$ 대신에 $-\text{Cl}$ 인 것을 제외하고는 화합물 (45)와 동일한 화합물을 얻었다.

상기 단계를 반복하여 4.2 g의 상기 화합물을 얻었다. 여기에 물 (30 mL), 트리에틸아민 (1.2 mL) 및 나트륨 2-메르캅토에탄술포네이트 (0.8 g)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 소량의 물 중의 아세트산 나트륨 (2 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 메탄올 (20 mL)로 세척하고, 공기 건조시켜 2.3 g의 화합물 (45)을 얻었다. 수득한 화합물 (45)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 815 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 196,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 827 nm

<실시예 5>

화합물 (2)의 합성

헤테로시클릭 4가 염 화합물 Q3 (4.7 g)에 메탄올 (25 mL), 트리에틸아민 (2.8 mL), 디아닐 화합물 A5 (1.5 g) 및 아세트산 무수물 (2.4 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 여기에 추가로 트리에틸 아민 (3.5 mL)과 아세트산 무수물 (1.5 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3.5 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 소량의 메탄올 중에 아세트산 나트륨 (3 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 결정에 물 (15 mL)을 첨가하여 용해시켰다. 이후 메탄올 (15 mL)을 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 건조시켜 화합물 (2)을 얻었다.

<실시예 6>

화합물 (43)의 합성

헤테로시클릭 4가 염 화합물 Q3 (3.75 g)에 메탄올 (25 mL), 트리에틸아민 (3.5 mL), 디아닐 화합물 A6 (1.95 g) 및 아세트산 무수물 (2.4 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 소량의 메탄올 중에 아세트산 나트륨 (3.9 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 결정에 물 (10 mL)을 첨가하여 용해시켰다. 아세트산 나트륨 (2 g)을 첨가하고, 이후 메탄올 (10 mL)을 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 건조시켜 1.8 g의 화합물 (43)을 얻었다. 수득한 화합물 (43)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 773 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 204,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 789 nm

<실시예 7>

화합물 (4)의 합성

헤테로시클릭 4가 염 화합물 Q3 (3.5 g)에 메탄올 (20 mL), 트리에틸아민 (3.5 mL), 디아닐 화합물 A7 (1.2 g) 및 아세트산 무수물 (1.9 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 10 시간 동안 교반한 후 밤새 방치하였다. 혼합물을 50 °C에서 5 시간 동안 가열하며 교반하였다. 물 (2 mL)을 첨가하고, 불용성 물질을 여거하였다. 소량의 물 중의 아세트산 나트륨 (5 g)의 용액에 여액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 30 분 동안 교반하였다. 생성된 결정을 여과로 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고 건조시켜 화합물 (4)을 얻었다.

<실시예 8>

화합물 (31)의 합성

헥테로시클릭 4가 염 화합물 Q4 (3.5 g)에 메탄올 (35 mL), 트리에틸아민 (3.5 mL) 및 아세트산 무수물 (2 mL) 및 디아닐 화합물 A2 (1.8 g)을 교반하면서 부분적으로 첨가하였다. 혼합물을 추가로 1 시간 동안 교반하였다. 아세트산 무수물 (2mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여거하고, 소량의 메탄올 중의 아세트산 나트륨 (4 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 결정에 물 (10 mL)을 첨가하여 용해시켰다. 이후 메탄올 (10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고 건조시켜 1.3 g의 화합물 (31)을 얻었다. 수득한 화합물 (31)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 755 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 228,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 774 nm

적외선 흡수 스펙트럼은 푸리에 변환 적외선 분광계 (자스코사에서 제조된 VALOR-III)를 사용한 브롬화칼륨 태블릿 (tablet) 방법에 의해서 수득한 화합물 (31)에 대하여 측정하였다. 하기 피크를 검출하였다. 스펙트럼은 도 12에 나타났다.

IR (ν 최대 (KBr)) : 1518, 1183, 1149, 1111, 995 cm^{-1}

<실시예 9>

화합물 (41)의 합성

헥테로시클릭 4가 염 화합물 Q1 (12 g)에 메탄올 (120 mL), 트리에틸아민 (13.6 mL), 디아닐 화합물 A8 (4.4 g) 및 아세트산 무수물 (2.4 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30 분 동안 교반하였다. 아세트산 무수물 (2.4 mL)을 첨가하고, 혼합물을 1.5 시간 동안 교반한 후 아세트산 무수물 (2.4 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 6 시간 동안 교반하였다. 헥테로시클릭 4가 염 화합물 Q1 (1 g), 트리에틸 아민 (3 mL) 및 아세트산 무수물 (3 mL)을 추가로 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 밤새 방치하였다. 아세트산 나트륨 (5 g)을 첨가하고, 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 수득한 조 결정에 물 (200 mL)을 첨가하였다. 불용성 물질을 여거하고, 아세트산 나트륨 (10 g)을 여액에 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 결정에 물 (200 mL)과 트리에틸아민 (10 mL)을 첨가하고, 메탄올 (100 mL) 중의 아세트산 나트륨 (10 g)의 용액을 첨가하여 결정을 얻었다. 이 단계를 2 회 반복하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 건조시켜 9.7 g의 화합물 (41)을 얻었다. 수득한 화합물 (41)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 811 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 230,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 822 nm

<실시예 10>

화합물 (3)의 합성

실시예 5에 따라서, 헥테로시클릭 4가 염 화합물 Q3와 상응하는 디아닐 화합물을 사용하여 화합물 (3)을 얻었다.

<실시예 11>

실시에 1의 화합물 (29)의 합성에서 아세트산 나트륨 (2 g) 대신에 아세트산 칼륨 (2 g)을 사용하는 것을 제외하고는 동일한 방법으로, 반대 이온이 나트륨 대신에 칼륨인 것을 제외하고는 화합물 (29)와 동일한 화합물을 얻었다. 이후 이 화합물은 화합물 (29) K 염으로 언급된다. 수득된 화합물 (29) K 염은 불꽃 테스트에서 자주색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 780 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 254,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 800 nm

상기 언급된 다른 화합물은 본 실시예와 동일한 방법으로 처리되어 나트륨 대신에 칼륨 반대 이온을 가지는 화합물을 얻었다.

칼륨 반대 이온을 가지는 이들 화합물은 상응하는 화합물 숫자 뒤에 "K 염"을 덧붙여 상기 화합물과 구별하였다.

<실시예 12>

실시에 11과 동일한 방법으로 화합물 (6) K 염을 수득하였다. 수득된 화합물 (6) K 염은 불꽃 테스트에서 자주색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 788 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 226,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 806 nm

<실시예 13>

실시에 11과 동일한 방법으로, 화합물 (2) K 염을 얻었다. 수득한 화합물 (2) K 염은 불꽃 테스트에서 자주색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 743 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 266,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 762 nm

<실시예 14>

실시에 11과 동일한 방법으로, 화합물 (4) K 염을 얻었다. 수득한 화합물 (4) K 염은 불꽃 테스트에서 자주색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 753 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 212,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 767 nm

<실시예 15>

실시에 11과 동일한 방법으로, 화합물 (3) K 염을 얻었다. 수득한 화합물 (3) K 염은 불꽃 테스트에서 자주색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 751 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 241,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 767 nm

<실시예 16>

화합물 (6) K 염 (50 mg)을 소량의 물에 용해시키고, 이온 교환 수지를 통과시켜 화합물 (6) K 염의 칼륨을 양성자로 전환시켰다. 여기에 아세트산 나트륨으로 포화시킨 메탄올을 첨가하여 결정을 침전시켰다. 이 방법을 2 회 반복하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 건조시켜 화합물 (6) (32 mg)을 얻었다. 수득된 화합물 (6)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

적외선 흡수 스펙트럼은 푸리에 변환 적외선 분광계 (자스코사에서 제조된 VALOR-III)를 사용하여 브롬화칼륨 태블릿 (tablet) 방법으로 얻어진 화합물 (6)을 측정하였다. 하기 피크를 검출하였다. 스펙트럼은 도 13에 나타났다.

IR (ν 최대 (KBr)): 1395, 1372, 1188, 1102, 1020 cm^{-1}

<실시예 17>

화합물 (54)의 합성

헥테로시클릭 4가 염 화합물 Q4 (3.5 g)에 메탄올 (20 mL), 트리에틸아민 (3.5 mL) 및 아세트산 무수물 (2 mL)을 첨가하고, 디아닐 화합물 A1 (1.4 g)을 교반하면서 부분적으로 첨가하였다. 혼합물을 추가로 20 분 동안 교반하였다. 아세트산 무수물 (1 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 불용성 물질을 여과하고, 소량의 메탄올 중의 아세트산 나트륨 (4 g)의 용액을 여액에 첨가하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하였다. 결정을 소량의 물에 용해시켰다. 이후, 용액을 메탄올 (10 mL)로 용해시키고, 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 생성된 결정을 여과하여 모으고, 소량의 메탄올로 세척하고, 건조시켜 1.5 g의 화합물 (54)을 얻었다. 수득한 화합물 (54)은 불꽃 테스트에서 노란색을 나타냈다.

최대 흡수 파장 (H_2O) : 743 nm

몰 흡광 계수 (H_2O) : 244,000

형광 방출의 최대 파장 (H_2O) : 766 nm

적외선 흡수 스펙트럼은 푸리에 변환 적외선 분광계 (자스코사에서 제조된 VALOR-III)를 사용하여 브롬화칼륨 태블릿 (tablet) 방법으로 얻어진 화합물 (54)을 측정하였다. 하기 피크를 검출하였다. 스펙트럼은 도 14에 나타났다.

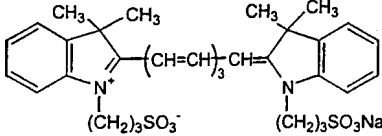
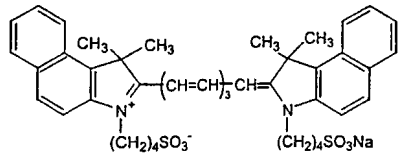
IR (ν 최대 (KBr)): 1511, 1421, 1099, 1004, 926 cm^{-1}

<실험예 1>

n-부탄올/물의 분배 계수 ($\log P_o/w$)를 화합물 (29), 화합물 (43), 화합물 (45), 화합물 (31), 화합물 (3) K 염, 화합물 (11) (니폰 칸코-시끼소 겐꾸쇼 코., 엘티디사 (Nippon Kankoh-Shikiso Kenkyusho CO., LTD.)로부터 NK-3261로 구입가능), 화합물 (6) K 염, 화합물 (2) K 염, 화합물 (4) K 염, 화합물 (34) 및 화합물 (54)에 대하여 측정하였다.

대조 화합물로서, 분자내 단지 2 개만의 술폰산 기를 가지는 NK-1967 (니폰 칸코-시끼소겐꾸쇼 코., 엘티디사) 및 ICG (도쿄 카세이 코교)를 사용하였다. 결과를 표 4에 나타냈다.

[표 4]

화합물	술폰산기의 갯수	log Po/w (부탄올/물)
화합물 (29)	6	-2.00 이하
화합물 (43)	5	-2.00 이하
화합물 (45)	5	-2.00 이하
화합물 (31)	4	-2.00 이하
화합물 (3) K 염	4	-2.00 이하
화합물 (11) (NK-3261)	4	-2.00 이하
화합물 (6) K 염	4	-2.00 이하
화합물 (2) K 염	4	-2.00 이하
화합물 (4) K 염	4	-1.51
화합물 (34)	4	-1.49
화합물 (54)	4	-2.00 이하
NK-1967 	2	0.34
ICG 	2	1.41

<실험예 2>

형광 영상화 시험 (1)

마우스 결장 암종 (colon 26 carcinoma)의 종양 조직 조각을 BALB/c 누드 마우스 (생후 5 주, Clea Japan, Inc.사)의 좌측 흉부에 피하내로 조직이식하였다. 종양 직경이 약 8 mm가 된 약 10 일 후, 마우스를 실험하였다.

형광 여기 광원으로서는, 티타늄 사파이어 레이저가 사용되었다. 시험 마우스를 조사의 분산이 10% 이내인 고리 형 광 가이드 (수미타 옵티컬 글래스 코사 (Sumita Optical Glass Co.))를 이용한 레이저 광에 균일하게 노출시켰다. 조사 파워의 출력이 마우스의 피부 표면 근처에서 약 $40 \mu W/cm^2$ 가 되게 조정하였다. 형광은 각 화합물의 최대 여기 파장에서 여기되었고, 마우스로부터의 형광 방출을 감지하고, CCD 카메라 (C4880, 하마마쯔 포토닉스 케이.케이사 (Hamamatsu Photonics K.K.)가 장착된 단파장 차단 필터 (IR84, IR86, IR88, 후지 사진 필름 코포레이션, 리미티드사 (Fuji Photo Film CO., LTD.))를 통해 사진을 찍었다. 차단 필터는 화합물의 여기 파장에 맞춰서 선택하였다. 노출 시간을 각 화합물의 형광 강도에 따라 조정하였다.

사용되는 시험 화합물은 본 발명의 화합물 (29), 화합물 (31) 및 화합물 (6) K 염, 및 대조 화합물로서 분자내 오직 2 개의 술폰산기를 가지는 NK-1967 및 ICG였다. 각 실험 화합물 (0.5 mg/mL)은 증류수에 용해시켜, 꼬리 정맥을 통하여 마

우스에 투여하였다. 투여량은 화합물 (31), 화합물 (6) K 염, NK-1967 및 ICG 5.0 mg/kg, 및 화합물 (29) 0.5 mg/kg이었다. 화합물의 투여 24 시간 후, 마우스를 디에틸 에테르로 마취시켰고, 마우스의 전신의 형광 광 영상을 사진으로 찍었다. 결과를 도 1 내지 도 5에 나타냈다.

벤조트리카르보시아닌 구조 및 6 개의 술폰산 기를 가지는 화합물 (29) 뿐 아니라 트리카르보시아닌 구조 및 4 개의 술폰산 기를 가지는 화합물 (6) K 염 및 화합물 (31) 모두는 2 개의 술폰산 기를 가지는 대조 화합물 (벤조트리카르보시아닌 구조를 가지는 NK-1967 및 트리카르보시아닌 구조를 가지는 ICG)과 비교하여 종양의 보다 선명한 영상을 생성하였다. 특히, 화합물 (29)은 저투여량에서도 종양을 선명하게 나타내었고, 아주 효과적이었다.

<실험예 3>

형광 영상화 시험 (2)

누드 마우스를 시험에 사용하였다. 본 발명의 화합물 (29)와 대조 화합물 ICG를 세보플루란 (sevoflurane) 연속 흡입 마취하에 각각 5.0 mg/kg의 투여량으로 꼬리 정맥에 정맥내 투여하였다. 동시에, 형광 영상을 간헐적으로 사진 찍었다. 형광 영상의 사진을 위해, 여기 레이저 빔에 대한 노출과 필터를 통한 형광의 추출을 수행하였으며, 이때 노출 시간은 1 초였다. 화합물의 투여 20 초 후, 혈관을 적합하게 영상화하였다. 형광 영상은 투여 5 분까지 사진을 찍었다. 도 6 내지 도 9는 투여 20 초 및 5 분 후의 마우스의 전신의 형광 영상을 나타낸다.

대조적으로 실패한 ICG는 5 분 동안 혈관을 나타낸 반면, 화합물 (29)는 ICG보다 오랜 시간 동안 혈관을 영상화할 수 있었다.

<실험예 4>

혈관에서 잔류

실험예 2와 동일한 방법으로, 종양 조직 조각을 CDF₁ 마우스 (암컷, 생후 5 주, 일본 SLC, Inc사)에 조직이식하고, 종양 직경이 약 1 cm가 된 약 2 주 후, 마우스를 실험하였다.

시험 화합물은 벤조트리카르보시아닌 구조와 6 개의 술폰산 기를 가지는 화합물 (29) K 염 및 화합물 (41) K 염, 트리카르보시아닌 구조와 4 내지 5 개의 술폰산 기를 가지는 화합물 (6) K 염, 화합물 (4) K 염, 화합물 (45) K 염, 화합물 (31) K 염, 화합물 (3) K 염, 화합물 (2) K 염, 화합물 (43) K 염 및 화합물 (11), 및 대조 화합물 ICG 및 NK-1967이었다. 각 시험 화합물을 증류수 (0.5 mg/mL)에 용해시켜 사용하였다. 수득한 각 화합물 용액을 마우스의 꼬리 정맥에 투여하였다 (5.0 mg/kg). 혈액을 마우스로부터 화합물 투여 0.5, 1, 4 및 24 시간 후에 취하여, 원심분리하여 혈장을 얻었다.

혈장의 형광 강도를 분광형광계 (시마즈주 코포레이션사 (SHIMADZU CORPORATION)의 RF 5300 PC)로 측정하였다. 각 화합물의 측정 곡선을 그리고, 혈장내 화합물 농도를 계산하였다. 결과를 표 10에 나타냈다.

본 발명의 화합물은 오랜 시간 동안 고농도로 혈장에 남아있었다.

<실험예 5>

급성 독성

술폰산 기의 도입에 의한 독성의 감소와 나트륨 염으로의 전환에 의한 독성의 감소가 연구되었다.

시험 화합물은 표 5에 나타낸 것이었다.

각각의 시험 화합물을 증류수에 용해시켜 화합물 용액을 얻었다. 이 용액을 의식이 있는 마우스에 꼬리 정맥을 통하여 정맥내에 주입하였다. 마우스는 투여 3 일 후에 모니터하였으며, 급성 독성 [LD₅₀ (mg/kg 체중)]이 평가되었다. 결과를 표 5에 나타냈다.

[표 5]

술폰산기의 갯수	화합물	LD ₅₀ (mg/kg 체중)
3개 이상	화합물 (11)K 염	350
	화합물 (11)	1980
	화합물 (31)K 염	350
	화합물 (31)	>3550
	화합물 (31)Ca 염	2000
	화합물 (31) 피리디늄 염	1000-2000
	화합물 (45)K 염	550
	화합물 (45)	1100-1220
	화합물 (43)K 염	300-350
	화합물 (43)	1630
	화합물 (41)K 염	470
	화합물 (41)	>1010
	화합물 (29)K 염	470
	화합물 (29)	>1010
	화합물 (54)	>5000
	화합물 (6)K 염	350
	화합물 (3)K 염	530
	화합물 (4)K 염	450
	화합물 (2)K 염	610
2개 이하	ICG	70
	NK1967	20

분자내 술폰산 기의 갯수의 증가 또는 나트륨 염으로의 전환은 급성 독성의 현저한 감소를 초래하였다.

본 발명의 근적외 형광 조영제는 여기 광에 의해 여기되고 근적외 형광을 방출한다. 이 적외선 형광은 생물학적 조직을 통과하는 투과성이 우수하다. 이에, 생체의 깊은 부분의 병소의 검출이 가능해졌다. 또한, 본 발명의 조영제는 수 용해도가 우수하며, 낮은 독성을 가지고 있으므로 안전하게 사용될 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

삭제

청구항 2.

삭제

청구항 3.

삭제

청구항 4.

삭제

청구항 5.

삭제

청구항 6.

삭제

청구항 7.

삭제

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

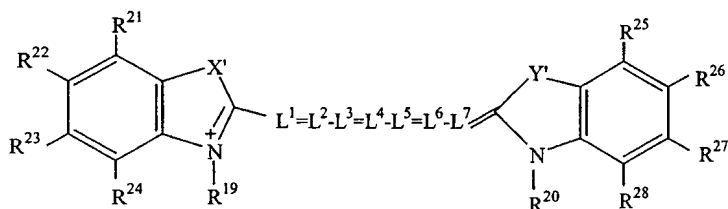
청구항 12.

삭제

청구항 13.

분자내 3 개 이상의 술포산 기를 가지는 화학식 III-1의 화합물의 나트륨 염.

<화학식 III-1>

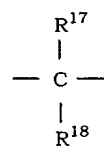


식중, L^1 내지 L^7 은 동일하거나 상이하며, 각각은 치환 또는 비치환 메틴이며, 여기서 메틴의 치환기는 술포산기, 카르복실 또는 히드록시로 치환될 수 있는 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지된 저급 알킬, 할로젠 원자, 할로젠 원자로 치환될 수 있는 페닐 또는 나프틸, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지된 알콕시로부터 선택되며, L^4 는 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 알킬로 치환된 메틴이며,

R^{19} 및 R^{20} 은 1 내지 5 개의 탄소 원자를 가지고, 술포산 기로 치환된 저급 알킬이며,

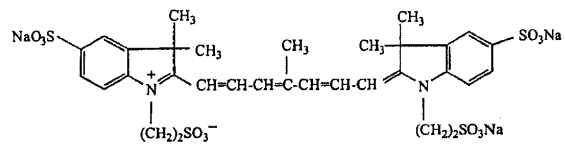
R^{21} 내지 R^{28} 은 동일하거나 상이하며, 각각은 수소 원자, 술포산 기, 카르복실 기, 히드록실 기, 알킬(술포알킬)아미노 기, 비스(술포알킬)아미노 기, 술포알콕시 기, (술포알킬)술포닐 기 또는 (술포알킬)아미노술포닐 기이며, 여기서 알킬은 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지된 저급 알킬이며,

X'와 Y'는 동일하거나 상이하며, 각각은 화학식



의 기이며, 여기서, R¹⁷ 및 R¹⁸은 1 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 비치환 저급 알킬이며.

단 하기 화학식의 화합물을 제외한다.



청구항 14.
삭제

청구항 15.
삭제

청구항 16.
삭제

청구항 17.
삭제

청구항 18.
삭제

청구항 19.
삭제

청구항 20.
삭제

청구항 21.

제13항의 나트륨 염을 포함하는 근적외 형광 조영제.

청구항 22.

제21항에 있어서, 종양 영상화용인 근적외 형광 조영제.

청구항 23.

제21항에 있어서, 혈관조영법용인 근적외 형광 조영제.

청구항 24.

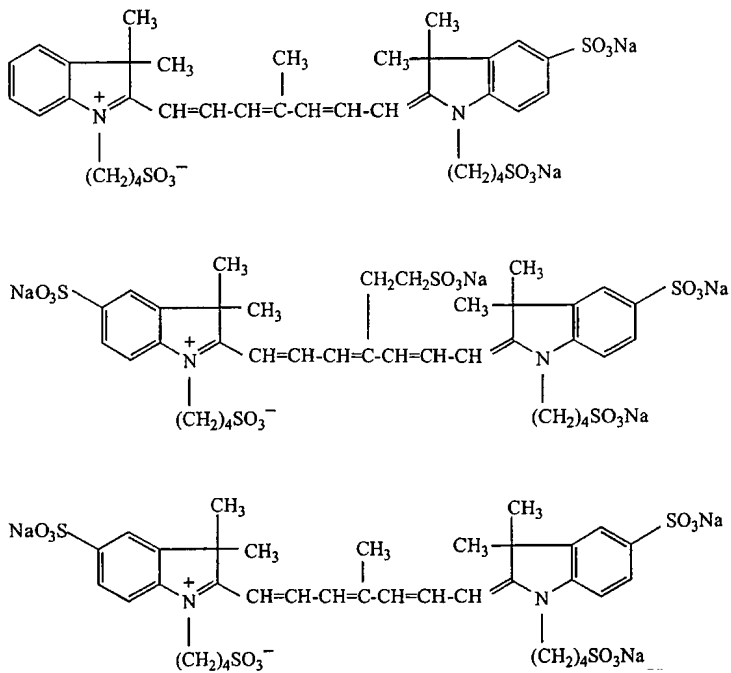
삭제

청구항 25.

삭제

청구항 26.

제13항에 있어서, 하기 화학식의 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 개 이상의 구성원인 나트륨 염.



청구항 27.

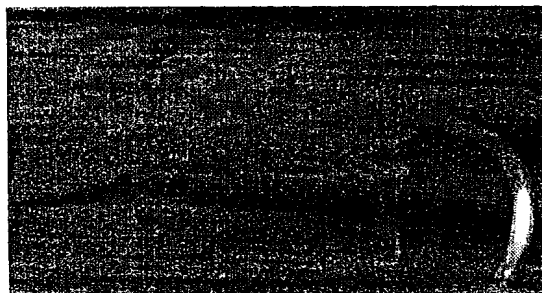
삭제

청구항 28.

삭제

도면

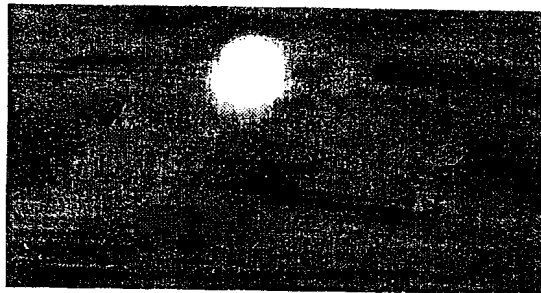
도면1



도면2



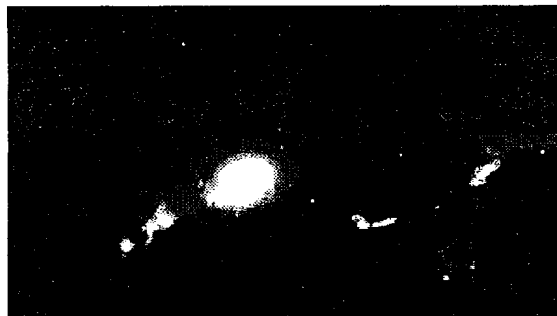
도면3



도면4



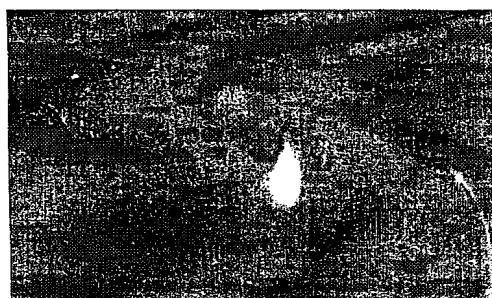
도면5



도면6



도면7



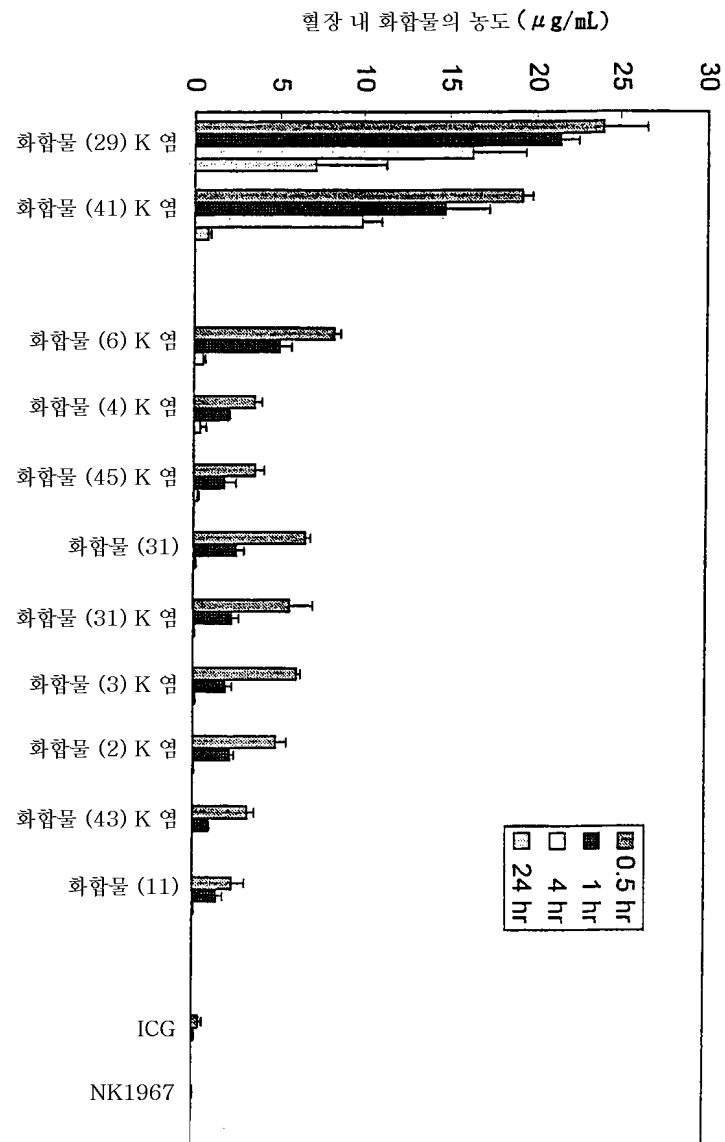
도면8



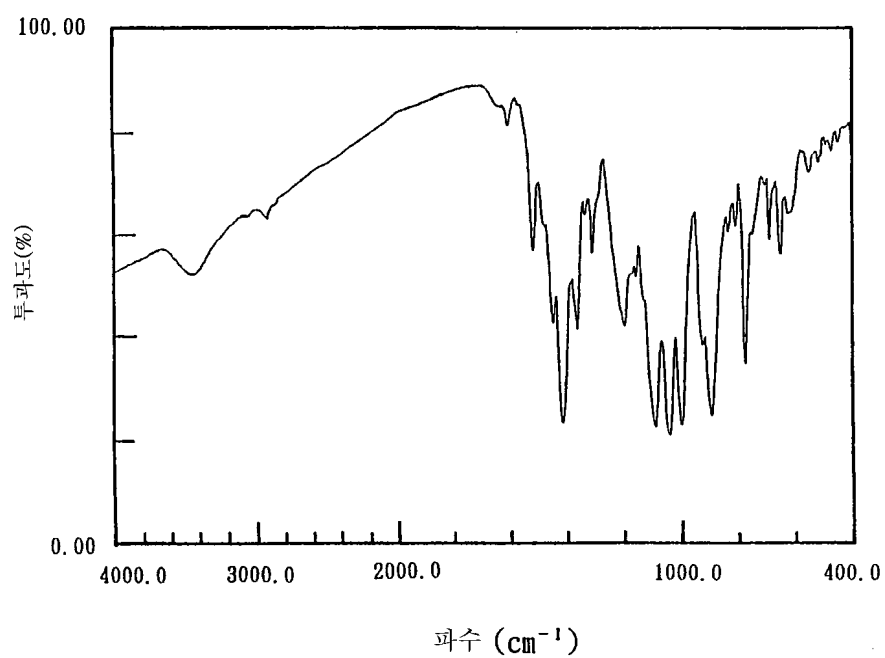
도면9



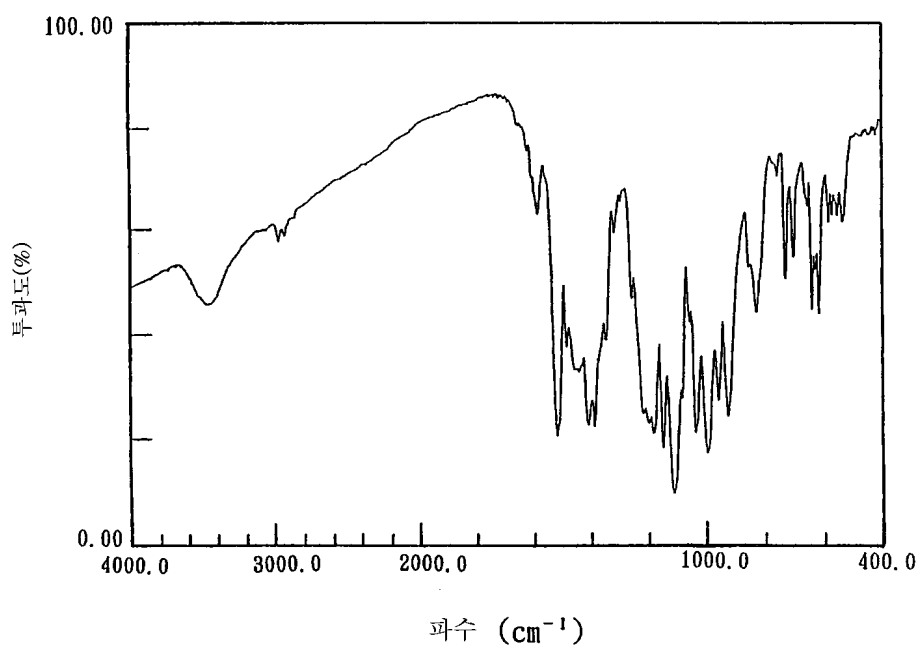
도면10



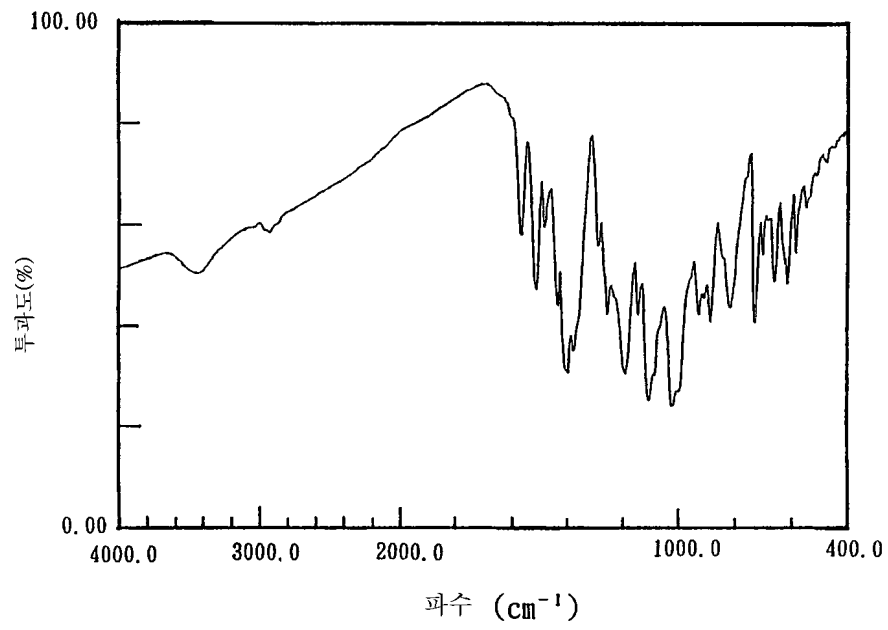
도면11



도면12



도면13



도면14

