



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0122338
(43) 공개일자 2020년10월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 209/10 (2006.01) A61K 49/00 (2006.01)
C07D 209/12 (2006.01) C07D 403/12 (2006.01)
C09K 11/06 (2006.01) G01N 33/533 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 209/10 (2013.01)
A61K 49/0032 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7026443
- (22) 출원일자(국제) 2019년02월14일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년09월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/018057
- (87) 국제공개번호 WO 2019/161091
국제공개일자 2019년08월22일
- (30) 우선권주장
62/631,390 2018년02월15일 미국(US)

- (71) 출원인
칠드런스 내셔널 메디컬 센터
미국 워싱턴주 20010 노스웨스트 미시건 애비뉴 111
더 유나이티드 스테이츠 오브 어메리카, 애즈 리 프러젠티드 바이 더 셰크러테리, 디파트먼트 오브 헬스 앤드 휴먼 서비스즈
미합중국 메릴랜드 20892-7660 베데스다 엠에스씨 7660 이그제큐티브 볼러바드 6011 스위트 325 오피스 오브 테크놀로지 트랜스퍼 내셔널 인스티튜츠 오브 헬스
- (72) 발명자
슈네르만 마틴 존
미국 메릴랜드주 20892-7660 베데스다 엠에스씨 7660 스위트 325 이그제큐티브 볼러바드 6011 더 유나이티드 스테이츠 오브 어메리카, 애즈 리 프러젠티드 바이 더 셰크러테리, 디파트먼트 오브 헬스 앤드 휴먼 서비스즈
김 피터 씨더블유
미국 워싱턴 컬럼비아 특별구 20010 노스웨스트 미시건 애비뉴 111 칠드런스 내셔널 메디컬 센터
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
제일특허법인(유)

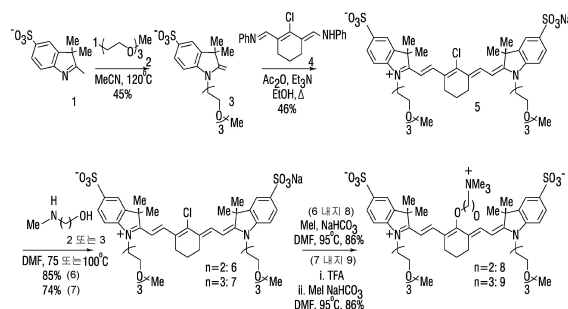
전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 담도계 및 비뇨계의 형광 마커로서 사용하기 위한 헵타메틴 시아닌

(57) 요약

담도계 및 비뇨계의 형광 마커로서 사용하기 위한 헵타메틴 시아닌이 개시된다. 특정 헵타메틴 시아닌은 비뇨계 특이성을 나타내고, 다른 헵타메틴 시아닌은 담도계 특이성을 나타낸다. 상기 화합물들은 진단 목적 및/또는 수술 동안 비뇨계 또는 담도계의 시각화에 사용될 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 49/0058 (2013.01)

A61K 49/006 (2013.01)

C07D 209/12 (2013.01)

C07D 403/12 (2013.01)

C09K 11/06 (2013.01)

G01N 33/533 (2013.01)

G01N 33/582 (2013.01)

(72) 발명자

차 재평

미국 워싱턴 컬럼비아 특별구 20010 노스웨스트 미
시건 애비뉴 111 칠드런스 내셔널 메디컬 센터

나니 로저 라우하우저

미국 메릴랜드주 20892-7660 메테스다 엠에스씨
7660 스위트 325 이그제큐티브 볼리바드 6011 더
유나이티드 스테이츠 오브 어메리카, 애즈 리프리
첼티드 바이 더 세크러테리, 디파트먼트 오브 헬스
앤드 휴먼 서비씨즈

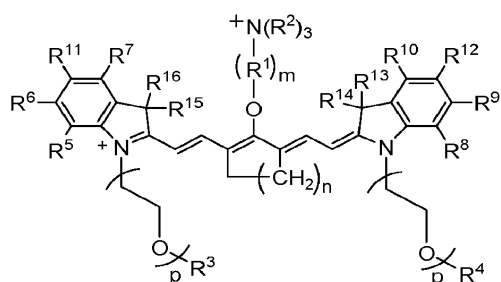
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체:

[화학식 I]



상기 식에서,

m은 3, 4 또는 5이고;

n은 1, 2 또는 3이고;

각각의 p는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

R^1 은 $-CR^a_2-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고;

각각의 R^2 는 독립적으로 메틸, 에틸, n-프로필 또는 이소프로필이고;

R^3 및 R^4 는 독립적으로 알킬이고;

R^5 내지 R^{10} 은 독립적으로 H 또는 알킬이고;

R^{11} 및 R^{12} 는 독립적으로 설포네이트, H 또는 알킬이고;

R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

R^3 및 R^4 가 동일하고;

R^5 및 R^8 이 동일하고;

R^6 및 R^9 가 동일하고;

R^7 및 R^{10} 이 동일하고;

R^{11} 및 R^{12} 가 동일하고;

R^{13} 내지 R^{16} 이 동일한,

화합물.

청구항 3

제1항에 있어서,

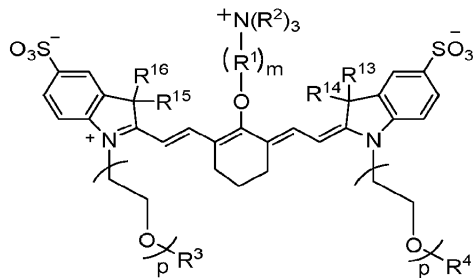
p가 2, 3 또는 4인, 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서,

하기 화학식 IA의 화합물:

[화학식 IA]



상기 식에서,

R¹은 -CH₂-이고;

m은 3이고;

p는 2, 3 또는 4이다.

청구항 5

제1항에 있어서,

R³ 및 R⁴가 메틸임; 및

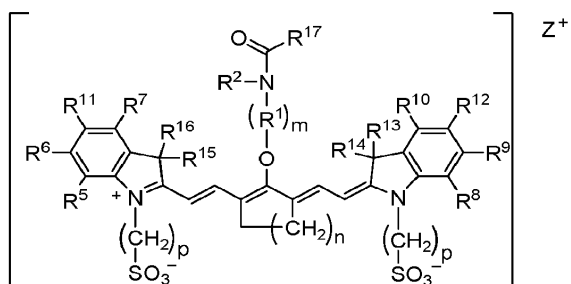
R¹³ 내지 R¹⁶이 메틸임

중 적어도 하나에 해당하는 화합물.

청구항 6

하기 화학식 II의 화합물 또는 이의 입체 이성질체:

[화학식 II]



상기 식에서,

m은 2, 3, 4 또는 5이고;

n은 1, 2 또는 3이고;

각각의 p는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

R^1 은 $-CR^a_2-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고;

R^2 는 C_1-C_3 알킬이고;

R^5 내지 R^{12} 는 독립적으로 H 또는 알킬이고;

R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이고;

R^{17} 은 C_1-C_3 알킬이고;

Z는 1원자 이온이다.

청구항 7

제6항에 있어서,

R^5 및 R^8 이 동일하고;

R^6 및 R^9 가 동일하고;

R^7 및 R^{10} 이 동일하고;

R^{11} 및 R^{12} 가 동일하고;

R^{13} 내지 R^{16} 이 동일한,

화합물.

청구항 8

제6항에 있어서,

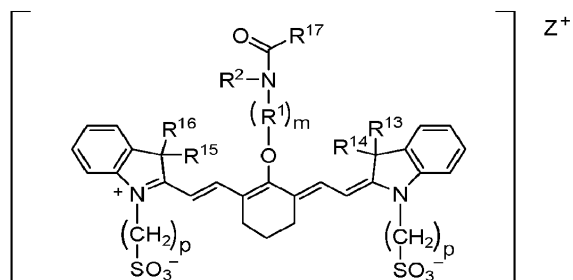
p가 3, 4 또는 5인, 화합물.

청구항 9

제6항에 있어서,

하기 화학식 IIA의 화합물:

[화학식 IIA]



상기 식에서,

R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

m은 2이고;

p는 3, 4 또는 5이다.

청구항 10

제6항에 있어서,

R^{17} 이 메틸 또는 에틸임; 및

R^{13} 내지 R^{16} 이 메틸임

중 적어도 하나에 해당하는 화합물.

청구항 11

제1항에 있어서,

각각의 R^2 가 독립적으로 메틸 또는 에틸인, 화합물.

청구항 12

제6항에 있어서,

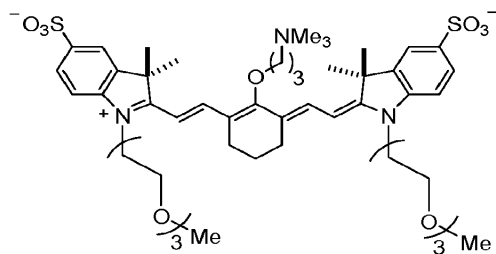
각각의 R^2 가 독립적으로 메틸 또는 에틸인, 화합물.

청구항 13

제1항에 있어서,

하기 화학식 1의 화합물:

[화학식 1]

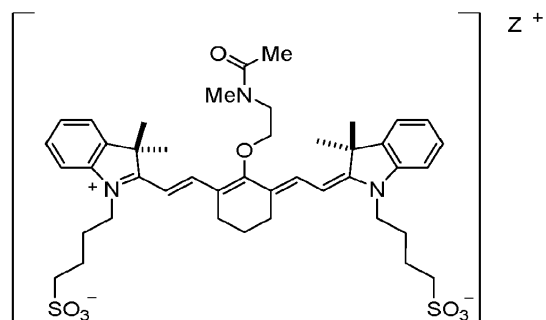


청구항 14

제6항에 있어서,

하기 화학식 2의 화합물:

[화학식 2]



청구항 15

제1항의 화합물; 및
약학적으로 허용되는 담체
를 포함하는 약학 조성물.

청구항 16

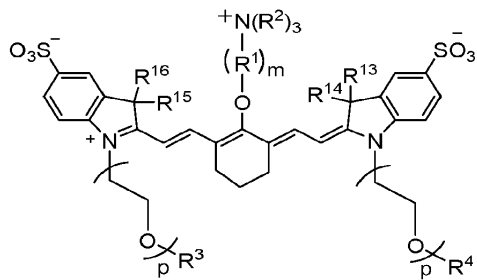
제6항의 화합물; 및
약학적으로 허용되는 담체
를 포함하는 약학 조성물.

청구항 17

대상의 비노계 및 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,
상기 대상에게 화합물을 투여하는 단계;
이어서, 일정량의 광을 상기 대상의 표적부에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계; 및
상기 대상의 상기 표적부에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 대상의 상기 표적부에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계
를 포함하는 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,
화합물이 하기 화학식 IA의 화합물인, 방법:
[화학식 IA]

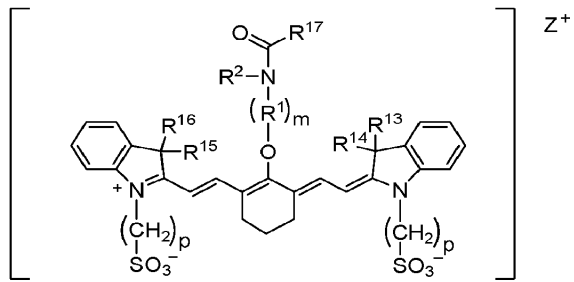


상기 식에서,
 R^1 은 $-CH_2-$ 이고;
 m 은 3이고;
 p 는 2, 3 또는 4이다.

청구항 19

제17항에 있어서,
화합물이 하기 화학식 IIA의 화합물인, 방법.

[화학식 IIA]



상기 식에서,

R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

m 은 2이고;

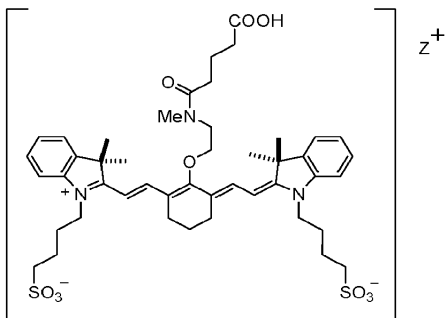
p 는 3, 4 또는 5이다.

청구항 20

제17항에 있어서,

화합물이 하기 화학식 3의 화합물인, 방법:

[화학식 3]



상기 식에서,

Z 는 1원자 이온이다.

청구항 21

제17항에 있어서,

광이 근적외선 범위내의 파장 또는 파장 범위를 갖는, 방법.

청구항 22

제18항에 있어서,

대상의 표적부가 비뇨계의 적어도 일부를 포함하는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서,

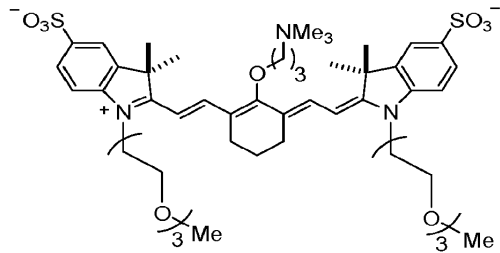
광이 760 내지 780 nm의 파장을 갖는, 방법.

청구항 24

제17항에 있어서,

화합물이 하기 화학식 1의 화합물인, 방법:

[화학식 1]

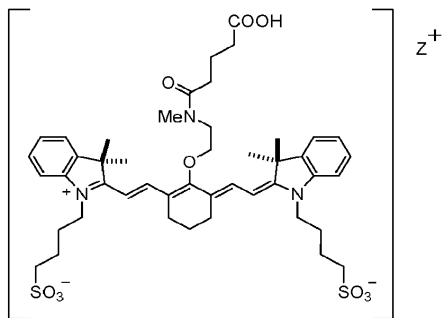


청구항 25

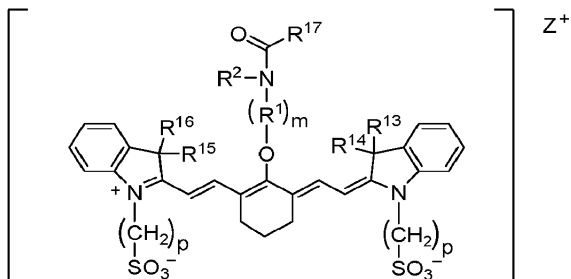
제17항에 있어서,

화합물이 하기 화학식 3 및 IIA로 이루어진 군으로부터 선택되고, 대상의 표적부가 담도계의 적어도 일부를 포함하는, 방법:

[화학식 3]



[화학식 IIA]



상기 식들에서,

R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

m은 2이고;

p는 3, 4 또는 5이다.

청구항 26

제22항에 있어서,

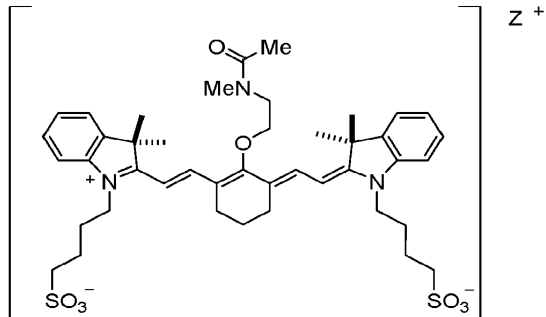
광이 600 내지 850 nm의 파장을 갖는, 방법.

청구항 27

제25항에 있어서,

화합물이 하기 화학식 2의 화합물인, 방법:

[화학식 2]



청구항 28

환자의 비뇨계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,

상기 환자에게 화합물을 투여하는 단계;

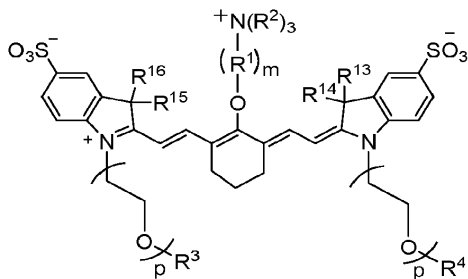
이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 요관신우 집합부에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계;

상기 환자의 상기 요관신우 집합부에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 환자의 요관신우 집합부에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계; 및

상기 환자의 상기 요관신우 집합부에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 요관의 폐쇄를 측정하는 단계를 포함하고,

상기 화합물이 하기 화학식 1A의 화합물인, 방법:

[화학식 1A]



상기 식에서,

R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

m은 3이고;

p는 2, 3 또는 4이다.

청구항 29

환자의 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,

상기 환자에게 화합물을 투여하는 단계;

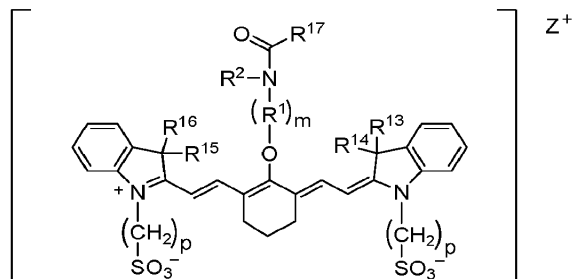
이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 담도계에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계;

상기 환자의 담도계에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 환자의 담도계에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계; 및

상기 환자의 담도계에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 상기 담도계의 담관으로부터의 담즙 누출을 측정하는 단계를 포함하고,

상기 화합물이 하기 화학식 IIA의 화합물인, 방법:

[화학식 IIA]



상기 식에서,

R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

m은 2이고;

p는 3, 4 또는 5이다.

청구항 30

환자의 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,

상기 환자에게 화합물을 투여하는 단계;

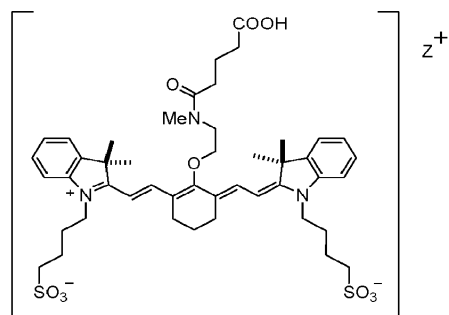
이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 담도계에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계;

상기 환자의 담도계에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 담도계에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계; 및

상기 환자의 담도계에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 상기 담도계의 담관으로부터의 담즙 누출을 측정하는 단계를 포함하고,

상기 화합물이 하기 화학식 3의 화합물인, 방법:

[화학식 3]



상기 식에서,

Z는 1원자 이온이다.

발명의 설명

기술 분야

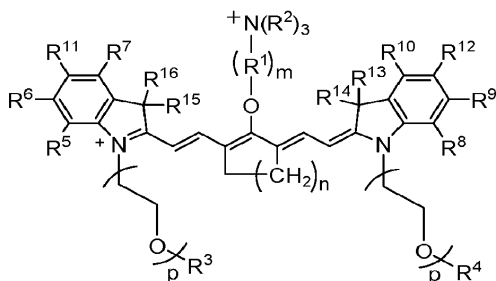
- [0001] 관련 출원에 대한 상호참조
- [0002] 본 발명은 2018년 2월 15일 출원된 미국 가출원 US 62/631,390을 우선권 주장하고, 이의 교시는 그 전체가 본원에 모든 목적에 대해 참조로 혼입된다.
- [0003] 본 발명자들에 의한 선행 개시의 언급
- [0004] 본 기술의 양상은 2018년 2월 14일부로 온라인상 이용가능한 바이오오가닉 앤드 메디시널 케미스트리 레터스(Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters)에 공개된 글 "요관의 화학적으로 안정한 형광 마커(A chemically stable fluorescent marker of the ureter)"에 기재되어 있고, 이는 그 전체가 본원에 참조로 혼입된다.
- [0005] 기술분야
- [0006] 본 발명은 담도계 및 비뇨계의 형광 마커로서 사용하기 위한 헵타메틴 시아닌 화합물의 용도 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0007] 분자 의약에서의 괄목할만 한 진전에도 불구하고, 항상, 외과적 중재는 단지 기억적 상기, 시각적 단서 및 촉각적 단서들만을 사용하여 수행된다. 중요한 구조의 식별 및 정밀 해부 또는 보존은 외과적 과정의 중추이다. 의도되지 않은 손상은 단기 및 장기 합병증, 입원의 연장 및 건강관리 비용을 야기한다. 영상화를 통한 질병인식을 추가하는 것이 다양한 방식을 탐구되고 있다. 형광-유도 외과적 방법은 단지 비교적 간단한 광학적 관독만을 사용하여 실시간 영상을 제공한다. 이러한 방법은 다양한 질환에 있어서 임상적 사용 단계에 진입중이다. 그러나, 대다수의 임상적 시도들은 FDA에 의해 승인된 지 50년이 지난 인도시아닌 그린을 사용한다. 형광-유도 외과적 방법을 광범위하게 적응시키기 위해, 해당분야에서의 특수한 난제에 대응하는 신세대 염료가 필요하다.
- [0008] 진술한 "배경" 설명은 본 발명의 맥락을 일반적으로 제시하기 위한 것이다. 본 배경기술 부문에 기재된 정도까지의 본 발명자들의 결과물, 및 출원시 선행기술로서 달리 평가되지 않을 수 있는 설명의 양상들은 본 발명에 반하는 선행기술로서 표현상으로도 또는 함축상으로도 인정되지 않는다.

발명의 내용

- [0009] 본 발명은 헵타메틴 시아닌 화합물 및 담도계 및 비뇨계의 형광 마커로서 상기 화합물을 사용하기 위한 방법에 관한 것이다.
- [0010] 본 발명의 양태에 따라, 헵타메틴 시아닌은 하기 화학식 I의 구조를 갖는다:
- [0011] [화학식 I]



- [0012]
- [0013] 상기 식에서,
- [0014] m은 3, 4 또는 5이고;
- [0015] n은 1, 2 또는 3이고;

[0016] 각각의 p는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0017] R^1 은 $-CR^a_2-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고;

[0018] 각각의 R^2 는 독립적으로 메틸, 에틸, n-프로필 또는 이소프로필이고;

[0019] R^3 및 R^4 는 독립적으로 알킬이고;

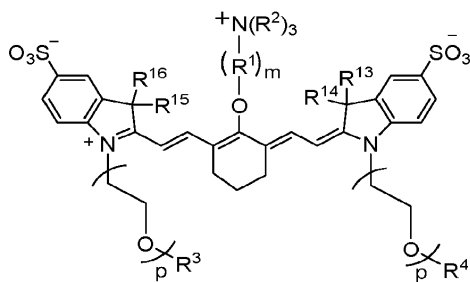
[0020] R^5 내지 R^{10} 은 독립적으로 H 또는 알킬이고;

[0021] R^{11} 및 R^{12} 는 독립적으로 설포네이트, H 또는 알킬이고;

[0022] R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이다.

[0023] 특정 양태에서, 헵타메틴 시아닌은 하기 화학식 IA의 구조를 갖는다:

[0024] [화학식 IA]



[0025]

[0026] 상기 식에서,

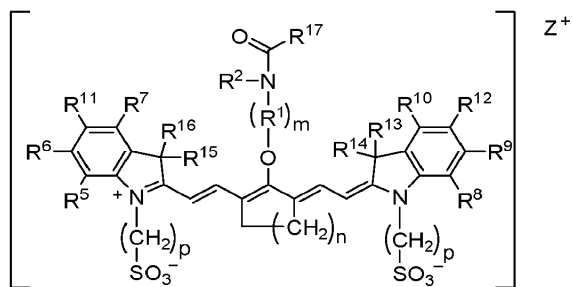
[0027] R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

[0028] m은 3이고;

[0029] p는 2, 3 또는 4이다.

[0030] 본 발명의 양태에 따라, 헵타메틴 시아닌은 하기 화학식 IA의 구조를 갖는다:

[0031] [화학식 II]



[0032]

[0033] 상기 식에서,

[0034] m은 2, 3, 4 또는 5이고;

[0035] n은 1, 2 또는 3이고;

[0036] 각각의 p는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0037] R^1 은 $-CR^a_2-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고;

[0038] R^2 는 C_1-C_3 알킬이고;

[0039] R^5 내지 R^{12} 는 독립적으로 H 또는 알킬이고;

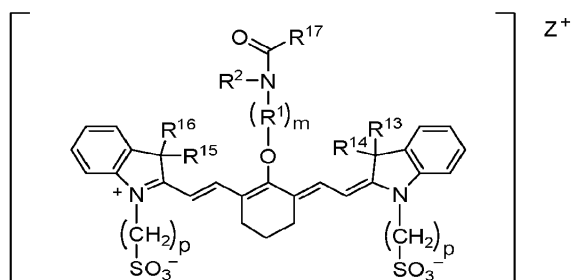
[0040] R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이고;

[0041] R^{17} 은 C_1-C_3 알킬이고;

[0042] Z는 1원자 이온이다.

[0043] 특정 양태에서, 헵테메틴 시아닌은 하기 화학식 IIA의 구조를 갖는다:

[0044] [화학식 IIA]



[0045]

[0046] 상기 식에서,

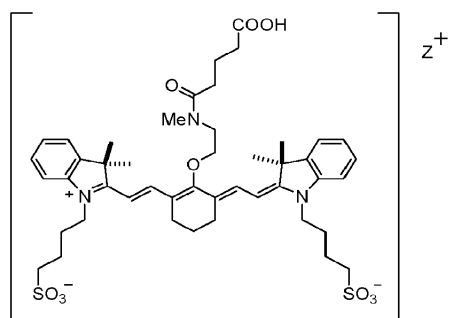
[0047] R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

[0048] m은 2이고;

[0049] p는 3, 4 또는 5이다.

[0050] 하나의 양태에 따라, 본 발명은 화학식 IA, IIA 또는 하기 화학식 3의 화합물("FNIR-AR-H_N-BS")을 대상에게 투여하는 단계; 이어서, 일정량의 광을 상기 대상의 표적부에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계; 및 상기 대상의 상기 표적부에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 대상의 상기 표적부에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계를 포함하는 상기 대상의 비뇨계 또는 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법에 관한 것이다:

[0051] [화학식 3]



[0052]

[0053] 상기 식에서, Z는 1원자 이온이다.

[0054] 일부 양태에서, 상기 광은 근적외선 범위내의 파장 또는 파장 범위를 갖는다.

[0055] 본 발명의 양태에 따라, 화합물은 화학식 IA의 화합물이고, 대상의 표적부는 비뇨계의 적어도 일부를 포함한다. 독립 양태에서, 화합물은 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS이고, 대상의 표적부는 담도계의 적어도 일부를 포함한다.

[0056] 하나의 양태에 따라, 본 발명은 또한 환자의 비뇨계 및 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서, 상기

환자에게 화학식 IA의 화합물을 투여하는 단계; 이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 요관신우 접합부에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화학식 IA의 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계; 상기 환자의 상기 요관신우 접합부에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 환자의 요관신우 접합부에서 상기 화학식 IA의 화합물의 존재를 나타내는, 단계; 및 상기 환자의 상기 요관신우 접합부에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 요관의 폐쇄를 측정하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0057] 하나의 양태에 따라, 본 발명은 또한 환자의 비뇨계 및 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서, 상기 환자에게 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS를 투여하는 단계; 이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 담도계에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계; 상기 환자의 상기 담도계에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 환자의 담도계에서 상기 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS의 존재를 나타내는, 단계; 및 상기 환자의 상기 담도계에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 상기 담도계의 담관으로부터의 담즙 누출을 측정하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0058] 진술한 문단들은 일반적인 소개로써 제시된 것이고, 하기 청구범위의 범주를 한정하지 않도록 의도된다. 기재된 양태는 추가의 장점과 함께, 첨부된 도면과 결부하여 하기 구체적인 내용을 참조로 하여 가장 잘 이해될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0059] 본 발명의 보다 완전한 이해 및 이에 수반되는 다수의 장점은 첨부된 도면과 연결지어 이해할 때 하기 구체적인 내용을 참조로 하여 보다 잘 이해되어 용이하게 확보될 것이다.

도 1은 본 발명의 화학식 I의 헵타메틴 시아닌 화합물의 일부 양태를 제조하기 위한 예시적인 합성 반응식을 도시한 것이다.

도 2는 본 발명의 화학식 II의 헵타메틴 시아닌 화합물의 일부 양태를 제조하기 위한 예시적인 합성 반응식을 도시한 것이다.

도 3은 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물을 대상에게 주사 후 상기 대상의 담도계 및/또는 비뇨계의 적어도 일부에 목적 파장의 광을 표적 전달함에 의한 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물을 사용하는 방법의 고수준(high level) 유동 다이어그램을 도시한 것이다.

도 4는 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물을 대상에게 주사 후 상기 대상의 담도계 및/또는 비뇨계의 적어도 일부에 목적 파장의 광을 표적 전달함에 의한 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물을 사용한 방법의 하나의 양태를 예시하는 개략적 다이어그램을 도시한 것이다.

도 5는 본 발명의 예시적 양태에 따라 환자의 비뇨계의 평가를 위한 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물을 사용하는 방법의 저수준 유동 다이어그램을 도시한 것이다.

도 6은 본 발명의 예시적 양태에 따라 환자의 담도계의 평가를 위한 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물을 사용하는 방법의 저수준 유동 다이어그램을 도시한 것이다.

도 7은 본 발명의 예시적 양태에 따라 환자의 담도계의 평가를 위한 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물을 사용하는 방법의 저수준 유동 다이어그램을 도시한 것이다.

도 8은 본 발명의 예시적 양태에 따른 BL-760 화합물의 스펙트럼 특성을 나타내는 그래프를 도시한 것이다.

도 9는 본 발명의 화학식 I의 예시적 양태에 따라, 시간의 함수로서, 출발 시아닌의 분획으로 헵타메틴 시아닌의 글루타티온 안정성을 나타내는 그래프를 도시한 것이다.

도 10은 본 발명의 예시적 양태에 따라, HEK-293 세포에 대한 시아닌의 단백질-범위 반응성을 나타내는 겔의 사진을 도시한 것이다.

도 11은 본 발명의 예시적 양태에 따라, IRDye(등록상표) 800CW 화합물 및 UL-766을 사용하는 요관의 근적외선 형광-유도 수술중 식별을 나타내는 일련의 영상을 도시한 것이다.

도 12는 본 발명의 예시적 양태에 따라, IRDye(등록상표) 800CW 화합물 및 UL-766에 의한 주사 후, 래트(rat)에서 신장 형광의 시간에 따른 조영-기저(contrast-background) 비를 나타내는 그래프를 도시한 것이다.

도 13aa 및 도 13ab는 시판되는 2개의 염료 및 본 발명의 화학식 I 및 II의 예시적 양태에 따른 몇몇 헵타메틴 시아닌의 담관 분비 값, 담관:요관 특이성, 설포화, 양자 수율 및 cLogP 값의 테이블러형 표시(tabular representation)를 도시한 것이다.

도 13ba 및 도 13bb는 시판되는 2개의 염료 및 본 발명의 화학식 I 및 II의 예시적 양태에 따른 몇몇 헵타메틴 시아닌의 담관 분비 값, 담관:요관 특이성, 설포화, 양자 수율 및 cLogP 값의 테이블러형 표시를 도시한 것이다.

도 14는 본 발명의 예시적인 양태에 따라, BL-766 및 ICG에 의한 주사 후, 돼지에서 신장 형광의 시간에 따른 조영-기저 비를 나타내는 그래프를 도시한 것이다.

도 15는 본 발명의 예시적 양태에 따라, 돼지의 담낭 및 담낭관의 시각화를 나타내는 예시 패널(panel)이다.

도 16은 본 발명의 예시적 양태에 따라, 칼롯(Calot)의 삼각형을 나타내는 예시 패널이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0060] 본원에 사용된 단수형 용어는 하나 이상으로 정의된다. 본원에 사용된 용어 "다수"는 2개 이상으로 정의된다. 본원에 사용된 용어 "또다른"은 적어도 제2 이상으로 정의된다. 본원에 사용된 용어 "포함하는" 및/또는 "갖는"은 포괄함(즉 개방형 언어)로 정의된다. 본 문서 전체에서 "하나의 양태", "특정 양태", "양태", "이행", "예" 또는 유사 용어는 양태와 연관되어 기재된 특정 특징부, 구조 또는 특징이 본 발명의 하나 이상의 양태에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본원 전체의 다양한 위치에서 이러한 어구의 출현은 모두가 동일한 양태를 필히 지칭하는 것은 아니다. 또한, 특정 특징부, 구조 또는 특징은 한정없이 하나 이상의 양태에서 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다.
- [0061] 본 발명은 헵타메틴 시아닌의 양태, 및 담도계 및 비뇨계의 형광 마커로서 헵타메틴 시아닌을 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다. 유리하게는, 본 발명의 화합물은 비뇨계 또는 담도계를 통해 높은 특이성을 갖도록 효율적으로 분비되고 우수한 양자 수율을 나타냄으로써, 비뇨계 또는 담도계의 생체내 시각화에 탁월한 후보물질이다.
- [0062] I. 정의 및 약어
- [0063] 용어 및 약어의 하기 설명은 본 발명을 더 잘 설명하고 본 발명의 실시에서 당업자를 안내하기 위해 제시된다. 본원에 사용된 "포함하는"은 "포괄하는"을 의미하고, 단수형 지시어는 문맥에 달리 명확히 지시가 없는 한 복수형 지시를 포함한다. 용어 "또는"은 문맥에 달리 명확히 지시가 없는 한 언급된 대체 요소들 중 하나의 요소, 또는 2개 이상의 요소의 조합을 지칭한다.
- [0064] 달리 설명이 없는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속한 당업자에게 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 동일하거나 이에 등가인 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질이 후술된다. 물질, 방법 및 예는 단지 예시적인 것이고, 한정을 위한 것이 아니다. 본 발명의 다른 특징들은 하기 상세 설명 및 청구범위로부터 자명하다.
- [0065] 달리 제시되지 않는 한, 본원 또는 청구범위에 사용되는 성분의 양, 분자량, %, 온도, 시간 등을 표현하는 모든 숫자는 용어 "약"에 의해 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 달리 제시되지 않는 한, 함축적 또는 명시적으로, 제시되는 수치 매개변수는 표준적인 시험 조건/방법하에 추구되는 목적 특성 및/또는 검출 제한에 의존할 것이다. 선행기술로부터 양태를 직접적이고 명시적으로 구별할 때, 양태의 숫자는 용어 "약"이 언급되지 않는 한 대략치가 아니다.
- [0066] 통상적인 화학 용어의 정의는 문헌[Richard J. Lewis, Sr. (ed.), *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, published by John Wiley & Sons, Inc., 1997 (ISBN 0-471-29205-2)]에서 찾을 수 있다. 통상적인 분자 생물학 용어의 정의는 문헌[Benjamin Lewin, *Genes VII*, published by Oxford University Press, 2000 (ISBN 019879276X)]; 문헌[Kendrew *et al.* (eds.), *The Encyclopedia of Molecular Biology*, published by Blackwell Publishers, 1994 (ISBN 0632021829)]; 및 문헌[Robert A. Meyers (ed.), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, published by Wiley, John & Sons, Inc., 1995 (ISBN 0471186341)], 및 기타 유사 참조에서 찾을 수 있다.
- [0067] 본 발명의 다양한 양태의 검토를 용이하게 하기 위해, 특정 용의 하기 설명이 제시된다.
- [0068] **알킬**: 포화 탄소 체를 갖는 탄화수소 기. 상기 체는 분지, 비분지, 또는 고리(사이클로알킬)일 수 있다. 달리

특정되지 않는 한, 용어 "알킬"은 치환 및 비치환 알킬을 포괄한다.

- [0069] **아릴**: 달리 언급이 없는 한, 하나 이상의 고리가 방향족인 하나의 고리(예컨대 페닐) 또는 다수의 축합된 고리(예컨대 퀴놀린, 인돌, 벤조다이옥솔 등)를 갖는 6 내지 15개의 탄소 원자로부터의 1가 방향족 탄소 기(단, 부착점은 아릴 기의 방향족 부분의 원자를 통하여, 상기 부착점의 상기 방향족 부분은 상기 방향족 고리에서 단지 탄소만을 함유함). 임의의 방향족 고리 부분이 헤테로원자를 함유하는 경우, 기는 아릴이 아니고 헤테로아릴이다. 아릴 기는 1고리, 2고리, 3고리 또는 4고리이다. 달리 특정되지 않는 한, 용어 아릴은 치환 및 비치환 아릴을 포괄한다.
- [0070] **cLogP**: 계산되거나 예측된 logP 값(여기서 logP는 n-옥탄올과 물간의 화합물 분배 계수의 로그 $\log(c_{\text{옥탄올}}/c_{\text{물}})$ 임).
- [0071] **효과량 또는 치료 효과량**: 대상 또는 소정 %의 대상에게 유익 또는 치료 효과를 제공하기에 충분한 양.
- [0072] **헤테로알킬**: 하나 이상의 헤테로원자, 예컨대 N, O, S 또는 S(O)_n(여기서 n은 1 또는 2임).
- [0073] **근적외선(근-IR, NIR)**: 650 내지 2500 nm의 파장. 달리 특정되지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "근적외선" 및 "NIR"은 650 내지 900 nm의 파장을 지칭한다.
- [0074] **약학적으로 허용되는 담체**: 본 발명에 유용한 약학적으로 허용되는 담체(비히클)은 통상적이다. 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, The University of the Sciences in Philadelphia, Editor, Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, PA, 21st Edition (2005)]에는 본원에 개시된 하나 이상의 형태상-한정된 시아닌 형광단의 약학적 전달에 적합한 조성물 및 제형이 기재되어 있다.
- [0075] 일반적으로, 담체의 성질은 사용되는 투여의 특정 방식에 의존할 것이다. 예컨대, 통상적으로, 비경구 제형은 약학적 및 생리학적으로 허용되는 유체, 예컨대 물, 생리식염수, 평형염액, 수성 텍스트로스 또는 글리세롤 등을 포함하는 주사가능한 유체를 포함한다. 일부 예에서, 약학적으로 허용되는 담체는 대상에게 (예컨대 비경구, 근육내 또는 피하 주사에 의해) 투여하기에 적합하도록 멸균되어야 할 수 있다. 생물학적으로 중립성인 담체 이외에도, 투여되는 약학 조성물은 소량의 비독성 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, 보존제, 및 pH 완충제 등, 예컨대 나트륨 아세테이트 또는 솔비탄 모노라우레이트를 함유할 수 있다.
- [0076] **약학적으로 허용되는 염**: 개시된 형태상-한정된 시아닌 형광단의 생물학적으로 양립가능한 염으로서, 상기 염은 당업계에서 주지되어 있는 다양한 유기 및 무기 상태 이온으로부터 유도되고, 예컨대 비한정적으로 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 암모늄, 테트라알킬암모늄 등; 상기 분자가 염기성 작용성을 함유할 때에는, 유기 또는 무기산, 예컨대 염산, 수소브롬화물, 타르타레이트, 메실레이트, 아세테이트, 말리에이트, 옥살레이트 등을 포함한다. 약학적으로 허용되는 산 부가 염은 자유 염기의 생물학적 효용성을 보유하는 염이고, 생물학적으로나 다른 계로도 바람직하지 않은 것이 아닌 짝산, 예를 들어 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등, 및 유기산, 예컨대 아세트산, 트라이플루오로아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 옥살산, 말레산, 말론산, 숙신산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 살리실산 등에 의해 형성된다. 약학적으로 허용되는 염기 부가 염은 무기 염기, 예컨대 나트륨, 칼륨, 리튬, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 철, 아연, 구리, 망간, 알루미늄 염 등으로부터 유도된 것을 포함한다. 예시적인 염은 암모늄, 칼륨, 나트륨, 칼슘 및 마그네슘 염이다. 약학적으로 허용되는 유기 비독성 염기로부터 유도된 염은 비한정적으로 1차, 2차 및 3차 아민, 치환된 아민, 예컨대 자연 발생 치환된 아민, 고리 아민 및 염기성 이온 교환 수지, 예컨대 이소프로필아민, 트라이메틸아민, 다이에틸아민, 트라이에틸아민, 트라이프로필아민, 에탄올아민, 2-다이메틸아미노에탄올, 2-다이에틸아미노에탄올, 다이사이클로헥실아민, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인, 하이드라바민, 콜린, 베타인, 에틸렌다이아민, 글루코사민, 메틸글루카민, 테오브로민, 퓨린, 피페라진, 피페리딘, N-에틸피페리딘, 폴리아민 수지 등을 포함한다. 예시적인 유기 염기는 이소프로필아민, 다이에틸아민, 에탄올아민, 트라이에틸아민, 다이사이클로헥실아민, 콜린 및 카페인이다(예컨대 본원에 참조로 혼입되는 문헌[S. M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci. 1977, 66:1-19] 참고).
- [0077] **양자 수율**: 방출된 형광 광자의 수 대 흡수된 여기 광자의 수의 비.
- [0078] **입체 이성질체**: 동일한 분자식 및 결합 원자 순서를 갖되, 공간상 원자의 3차원 배향에서만 상이한 이성질체.
- [0079] **치환기**: 반응의 결과로서 분자내 또다른 원자를 대체하는 원자 또는 원자단. 전형적으로, 용어 "치환기"는 모탄화수소쇄 또는 고리에서 하나의 수소 원자, 또는 상기 치환기가 이중 결합을 통해 부착되는 경우에는 2개의

수소 원자를 대체하는 원자 또는 원자단을 지칭한다. 또한, 용어 "치환기"는 분자에 대한 다수의 부착점을 갖는 원자단을 포함할 수 있다(예컨대 치환기가 모 탄화수소쇄 또는 고리에서 2개 이상의 수소 원자를 대체함). 이러한 경우, 달리 특정되지 않는 한, 치환기는 임의의 공간상 배향으로 모 탄화수소쇄 또는 고리에 부착될 수 있다. 예시적인 치환기는 예컨대 알킬, 알켄일, 알킨일, 알콕시, 알킬아미노, 알킬티오, 아실, 알데히드, 아미도, 아미노, 아미노알킬, 아릴, 아릴알킬, 아릴아미노, 카보네이트, 카복시, 시아노, 사이클로알킬, 다이알킬아미노, 할로, 할로지방족(예컨대 할로알킬), 할로알콕시, 헤테로지방족, 헤테로아릴, 헤테로사이클로지방족, 하이드록시, 이소시아노, 이소티오시아노, 옥소, 설포아미드, 설프하이드릴, 티오 및 티오알콕시 기를 포함한다.

[0080] **치환된 화합물**: 결합된 하나 이상의 치환기를 갖는 기초 화합물, 예컨대 아릴 또는 지방족 화합물, 또는 이의 라디칼로서, 전형적으로, 각각의 치환기는 상기 기초 화합물에서 수소 원자를 대체함. 단지 예로써 비한정적으로, 치환된 아릴 화합물은 톨루엔과 같이 아릴 염기의 단한 고리에 결합된 지방족 기를 가질 수 있다. 또한, 단지 예로써 비한정적으로, 장쇄 탄화수소는 이에 부착된 하이드록시 기를 가질 수 있다.

[0081] **설포네이트-함유 기**: SO_3^- 를 포함하는 기. 용어 설포네이트-함유 기는 $-\text{SO}_3^-$ 및 $-\text{RSO}_3^-$ 기를 포함하되, 여기서 R은 치환 또는 비치환 알킬, 치환 또는 비치환 헤테로알킬, 치환 또는 비치환 아릴, 또는 치환 또는 비치환 헤테로아릴을 포함한다.

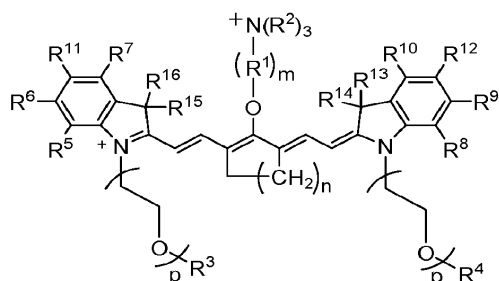
[0082] **표적**: 표적화제를 포함하는 개시된 형태상-한정된 시아닌 형광단이 특이적으로 결합가능한 목적 분자. 표적의 예는 조직 샘플에 존재하는 단백질 및 핵산 서열을 포함한다. 표적 영역은 표적 분자가 위치하거나 잠재적으로 위치하는 영역이다.

[0083] **호변 이성질체**: 양성자 및 전자의 위치만 상이하고, 수소 원자의 이동에 의해 상호전환가능한 유기 화합물의 구조 이성질체. 호변 이성질체는 통상적으로는 평형상태에서 공존한다.

[0084] II. 헵타메틴 시아닌

[0085] 본 발명의 특정 양태에 따라, 본 발명의 헵타메틴 시아닌 화합물은 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체일 수 있다:

[0086] [화학식 I]



[0087]

[0088] 화학식 I의 화합물과 관련하여, m은 3, 4 또는 5이고; n은 1, 2 또는 3이고; 각각의 p는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고; R^1 은 $-\text{CR}_2^a-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고; 각각의 R^2 는 독립적으로 메틸, 에틸, n-프로필 또는 이소프로필이고; R^3 및 R^4 는 독립적으로 알킬이고; R^5 내지 R^{10} 은 독립적으로 H 또는 알킬이고; R^{11} 및 R^{12} 는 독립적으로 설포네이트, H 또는 알킬이고; R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬 기는 C_1 - C_{10} 알킬, 예컨대 C_1 - C_5 알킬 또는 C_1 - C_3 알킬이다.

[0089] 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 I에 따른 화합물은 비대칭일 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, R^3 및 R^4 는 R^3 및 R^4 가 동일하고; R^5 및 R^8 이 동일하고; R^6 및 R^9 가 동일하고; R^7 및 R^{10} 이 동일하고; R^{11} 및 R^{12} 가 동일하고; R^{13} 내지 R^{16} 이 동일하다.

[0090] 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^1 은 $-\text{CH}_2-$ 일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 각각의 R^2 는 메틸

또는 에틸일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^5 내지 R^{10} 은 H일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^{11} 및 R^{12} 는 설포네이트일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^{13} 내지 R^{16} 은 알킬, 예컨대 C_1-C_5 알킬 또는 C_1-C_3 알킬일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, p는 1, 2, 3, 4 또는 5일 수 있다.

[0091] 일부 양태에서, m은 3이다. 일부 양태에서, m은 4이다. 일부 양태에서, m은 5이다. 일부 양태에서, n은 1이다. 일부 양태에서, n은 2이다. 일부 양태에서, n은 3이다. 일부 양태에서, p는 1이다. 일부 양태에서, p는 2이다. 일부 양태에서, p는 3이다. 일부 양태에서, p는 4이다. 일부 양태에서, p는 5이다. 일부 양태에서, p는 6이다. 일부 양태에서, p는 7이다. 일부 양태에서, p는 8이다. 일부 양태에서, p는 9이다. 일부 양태에서, p는 10이다.

[0092] 일부 양태에서, R^a 는 H이다. 일부 양태에서, R^a 는 할로이다. 일부 양태에서, R^a 는 치환된 알킬이다. 일부 양태에서, R^a 는 비치환된 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다. 일부 양태에서, R^a 는 치환된 아릴이다.

[0093] 일부 양태에서, R^2 는 메틸이다. 일부 양태에서, R^2 는 에틸이다. 일부 양태에서, R^2 는 n-프로필. 일부 양태에서, R^2 는 이소프로필이다.

[0094] 일부 양태에서, R^3 은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0095] 일부 양태에서, R^4 는 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0096] 일부 양태에서, R^5 는 H이다. 일부 양태에서, R^5 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0097] 일부 양태에서, R^6 은 H이다. 일부 양태에서, R^6 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0098] 일부 양태에서, R^7 은 H이다. 일부 양태에서, R^7 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0099] 일부 양태에서, R^8 은 H이다. 일부 양태에서, R^8 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0100] 일부 양태에서, R^9 는 H이다. 일부 양태에서, R^9 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0101] 일부 양태에서, R^{10} 은 H이다. 일부 양태에서, R^{10} 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0102] 일부 양태에서, R^{11} 은 설포네이트이다. 일부 양태에서, R^{11} 은 H이다. 일부 양태에서, R^{11} 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0103] 일부 양태에서, R^{12} 는 설포네이트이다. 일부 양태에서, R^{12} 는 H이다. 일부 양태에서, R^{12} 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0104] 일부 양태에서, R^{13} 은 C_1-C_{10} 알킬, 예컨대 C_1-C_5 알킬 또는 C_1-C_3 알킬이다. 일부 양태에서, R^{13} 은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0105] 일부 양태에서, R^{14} 는 C_1-C_{10} 알킬, 예컨대 C_1-C_5 알킬 또는 C_1-C_3 알킬이다. 일부 양태에서, R^{14} 는 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0106] 일부 양태에서, R^{15} 는 C_1-C_{10} 알킬, 예컨대 C_1-C_5 알킬 또는 C_1-C_3 알킬이다. 일부 양태에서, R^{15} 는 메틸, 에틸, n-

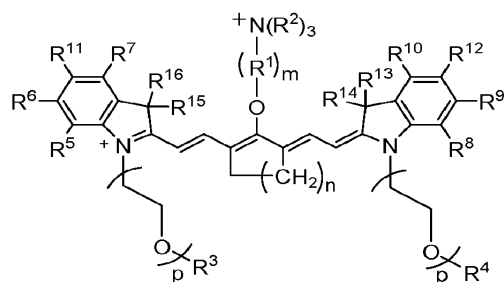
프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0107] 일부 양태에서, R^{16} 은 C_1 - C_{10} 알킬, 예컨대 C_1 - C_5 알킬 또는 C_1 - C_3 알킬이다. 일부 양태에서, R^{16} 은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0108] 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 I의 화합물은 중성 화합물(0의 총 전하)일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 I의 화합물은 15% 이상의 양자 수율, 예컨대 20% 이상, 25% 이상 또는 30% 이상의 양자 수율을 가질 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 I의 화합물은 700 내지 900 nm의 범위내의 최대 방출 파장을 나타낼 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 I의 화합물은 5.0 이하의 cLogP 값을 가짐으로써, 상기 화합물은 수용성이 될 수 있다. 일부 양태에서, 화학식 I의 화합물은 티올(예컨대 글루타티온) 및 세포 단백질에 대해 미반응성이다.

[0109] 본 발명의 특정 양태에 따라, 화합물은 하기 화학식 IA의 화합물 또는 이의 입체 이성질체이다:

[0110] [화학식 IA]



[0111]

[0112] 상기 식에서,

[0113] R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

[0114] m은 3이고;

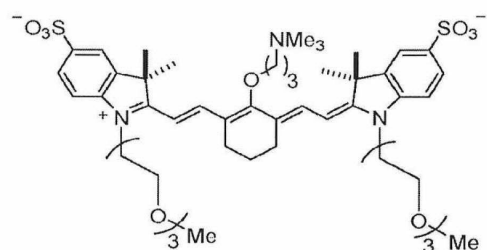
[0115] p는 2, 3 또는 4이고;

[0116] R^2 내지 R^4 및 R^{13} 내지 R^{16} 은 상기 언급한 바와 같다.

[0117] 일부 양태에서, 각각의 R^2 는 메틸이다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^3 및 R^4 는 메틸일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^{13} 내지 R^{16} 은 메틸일 수 있다.

[0118] 일부 양태에서, 화학식 I의 화합물은 하기 화학식 1의 화합물이다.

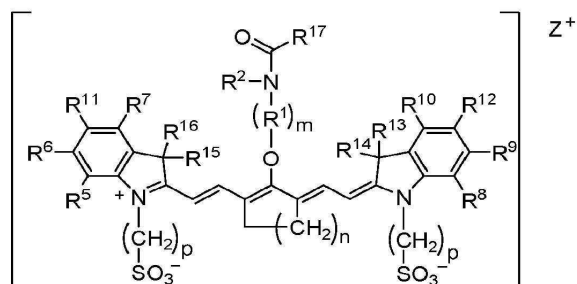
[0119] [화학식 1]



[0120]

[0121] 본 발명의 특정 양태에 따라, 헵타메틴 시아닌 화합물은 하기 화학식 II 또는 이의 입체 이성질체 또는 호변 이성질체이다:

[0122] [화학식 II]



[0123]

[0124] 상기 식에서,

[0125] m 은 2, 3, 4 또는 5이고; n 은 1, 2 또는 3이고; 각각의 p 는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고; R^1 은 $-CR^a_2-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고; R^2 는 C_1-C_3 알킬이고; R^5 내지 R^{12} 는 독립적으로 H 또는 알킬이고; R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이고; R^{17} 은 C_1-C_3 알킬이고; Z 는 1원자 이온이다. 일부 양태에서, 알킬 기는 C_1-C_{10} 알킬, 예컨대 C_1-C_5 알킬 또는 C_1-C_3 알킬이다.

[0126] 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 II의 화합물은 대칭성일 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, R^5 및 R^8 이 동일하고; R^6 및 R^9 가 동일하고; R^7 및 R^{10} 이 동일하고; R^{11} 및 R^{12} 가 동일하고; R^{13} 내지 R^{16} 이 동일하다.

[0127] 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^1 은 $-CH_2-$ 일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^2 는 메틸 또는 에틸일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^5 내지 R^{12} 는 H일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^{13} 내지 R^{16} 은 알킬, 예컨대 C_1-C_5 알킬 또는 C_1-C_3 알킬일 수 있다. 일부 양태에서, R^{13} 내지 R^{16} 은 메틸이다. 일부 양태에서, R^{13} 내지 R^{16} 은 메틸이다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, p 는 2, 3, 4, 5 또는 6일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, Z^+ 는 Na^+ 또는 K^+ 일 수 있다.

[0128] 일부 양태에서, m 은 2이다. 일부 양태에서, m 은 3이다. 일부 양태에서, m 은 4이다. 일부 양태에서, m 은 5이다. 일부 양태에서, n 은 1이다. 일부 양태에서, n 은 2이다. 일부 양태에서, n 은 3이다. 일부 양태에서, p 는 1이다. 일부 양태에서, p 는 2이다. 일부 양태에서, p 는 3이다. 일부 양태에서, p 는 4이다. 일부 양태에서, p 는 5이다. 일부 양태에서, p 는 6이다. 일부 양태에서, p 는 7이다. 일부 양태에서, p 는 8이다. 일부 양태에서, p 는 9이다. 일부 양태에서, p 는 10이다.

[0129] 일부 양태에서, R^a 는 H이다. 일부 양태에서, R^a 는 할로이다. 일부 양태에서, R^a 는 치환된 알킬이다. 일부 양태에서, R^a 는 비치환된 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n -프로필, i -프로필, n -부틸, i -부틸 또는 t -부틸이다. 일부 양태에서, R^a 는 치환된 아릴이다.

[0130] 일부 양태에서, R^2 는 C_1-C_3 알킬이다.

[0131] 일부 양태에서, R^5 는 H이다. 일부 양태에서, R^5 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n -프로필, i -프로필, n -부틸, i -부틸 또는 t -부틸이다.

[0132] 일부 양태에서, R^6 은 H이다. 일부 양태에서, R^6 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n -프로필, i -프로필, n -부틸, i -부틸 또는 t -부틸이다.

[0133] 일부 양태에서, R^7 은 H이다. 일부 양태에서, R^7 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n -프로필, i -프로필, n -부틸, i -부틸 또는 t -부틸이다.

[0134] 일부 양태에서, R^8 은 H이다. 일부 양태에서, R^8 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n -프로필, i -

프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0135] 일부 양태에서, R^9 는 H이다. 일부 양태에서, R^9 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0136] 일부 양태에서, R^{10} 은 H이다. 일부 양태에서, R^{10} 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0137] 일부 양태에서, R^{11} 은 H이다. 일부 양태에서, R^{11} 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0138] 일부 양태에서, R^{12} 는 H이다. 일부 양태에서, R^{12} 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, i-부틸 또는 t-부틸이다.

[0139] 일부 양태에서, R^{13} 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬 기는 C_1 - C_{10} 알킬, 예컨대 C_1 - C_5 알킬 또는 C_1 - C_3 알킬이다.

[0140] 일부 양태에서, R^{14} 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬 기는 C_1 - C_{10} 알킬, 예컨대 C_1 - C_5 알킬 또는 C_1 - C_3 알킬이다.

[0141] 일부 양태에서, R^{15} 는 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬 기는 C_1 - C_{10} 알킬, 예컨대 C_1 - C_5 알킬 또는 C_1 - C_3 알킬이다.

[0142] 일부 양태에서, R^{16} 은 알킬이다. 일부 양태에서, 알킬 기는 C_1 - C_{10} 알킬, 예컨대 C_1 - C_5 알킬 또는 C_1 - C_3 알킬이다.

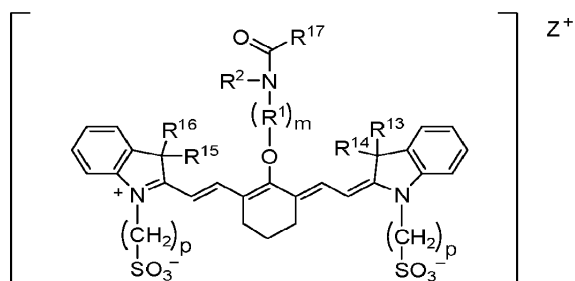
[0143] 일부 양태에서, R^{17} 은 C_1 - C_3 알킬이다.

[0144] 일부 양태에서, Z는 1원자 이온이다.

[0145] 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 II의 화합물은 중성 화합물(0의 총 전하)일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 II의 화합물은 15% 이상의 양자 수율, 예컨대 20% 이상, 25% 이상 또는 30% 이상의 양자 수율을 가질 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 I의 화합물은 700 내지 900 nm의 범위내의 최대 방출 파장을 나타낼 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 화학식 II의 화합물은 5.0 이하의 cLogP 값을 가짐으로써, 상기 화합물은 수용성이 될 수 있다. 일부 양태에서, 화학식 II의 화합물은 티올(예컨대 글루타티온) 및 세포 단백질에 대해 미반응성이다.

[0146] 본 발명의 특정 양태에 따라, 헵타메틴 시아닌은 하기 화학식 IIA의 화합물 또는 이의 입체 이성질체 또는 호변 이성질체이다:

[0147] [화학식 IIA]



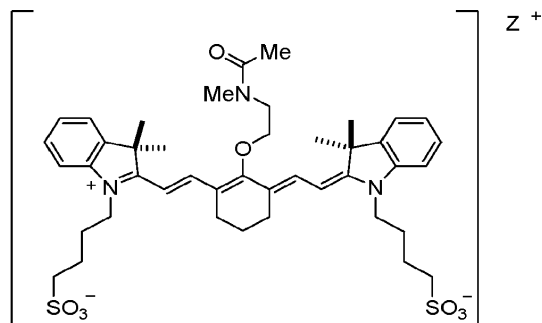
[0148]

[0149] 상기 식에서, R^1 은 $-CH_2-$ 이고; m은 2이고; p는 3, 4 또는 5이다.

[0150] 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^2 는 메틸일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^{13} 내지 R^{16} 은 메틸일 수 있다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, R^{17} 은 메틸 또는 에틸일 수 있다.

[0151] 일부 양태에서, 화학식 II의 화합물은 하기 화학식 2의 화합물이다.

[0152] [화학식 2]



[0153]

[0154] III. 약학 조성물

[0155] 하나의 양태에 따라, 본 발명은 본원에 개시된 하나 이상의 헵타메틴 시아닌을 포함하는 약학 조성물을 포함한다. 약학 조성물의 일부 양태는 약학적으로 허용되는 담체 및 하나 이상의 헵타메틴 시아닌을 포함한다. 유용한 약학적으로 허용되는 담체 및 부형제는 당업계에 공지되어 있다.

[0156] 하나 이상의 헵타메틴 시아닌을 포함하는 약학 조성물은 예컨대 투여 방식 및/또는 영상화되는 위치를 기반으로 하여 다양한 방법으로 제형화될 수 있다. 비경구 제형은 약학적 및 생리학적으로 허용되는 유체 비히클, 예컨대 물, 생리식염수, 기타 평형염용액, 수성 텍스트로스 또는 글리세롤 등인 주가가능한 유체를 포함할 수 있다. 부형제는 예컨대 비이온성 가용화제, 예컨대 크레모포르(Cremophor: 등록상표) 폴리에톡시화된 캐스터 오일, 또는 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민 또는 혈장 제제를 포함할 수 있다. 필요에 따라, 투여되는 약학 조성물은 비독성 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, 보존제, 및 pH 완충제 등, 예컨대 나트륨 아세테이트 또는 술티탄 모노라우레이트도 함유할 수 있다.

[0157] 약학 조성물의 형태는 선택되는 투여 방식에 의해 결정될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 양태는 실제로 임의의 투여 방식에 적합한 형태, 예컨대 경구, 협측(buccal), 전신, 주사, 경피, 직장 등, 또는 흡입법 또는 통기법에 의한 투여에 적합한 형태를 취할 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 약학 조성물의 양태는 주사, 전신 또는 경구 투여될 것이다.

[0158] 유용한 주사가능 제제는 수성 또는 유성 비히클 중 활성 화합물의 멸균 현탁액, 용액 또는 유화액을 포함한다. 또한, 조성물은 제형화제, 예컨대 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제도 함유할 수 있다. 주사용 제형은 예컨대 앰플 또는 다수 투여 용량 용기내의 단위 투여 용량 형태로 제시될 수 있고, 첨가된 보존제를 함유할 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중 현탁액, 용액 또는 유화액과 같은 형태를 취할 수 있고, 제형화제, 예컨대 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 예컨대, 비경구 투여는 일시(bolus) 주사 또는 연속 주입에 의해 수행될 수 있다. 다르게는, 헵타메틴 시아닌은 사용전 적합한 비히클, 예컨대 멸균수에 의한 재구성을 위한 분말 형태일 수 있다.

[0159] 전신 제형은 주사, 예컨대 피하, 정맥내, 근육내 또는 복강내 주사에 의한 투여용으로 설계된 것, 및 경피, 점막(transmucosal), 경구 또는 폐 투여용으로 설계된 것을 포함한다.

[0160] 경구 제형은 액체(예컨대 시럽, 용액 또는 현탁액), 또는 고체(예컨대 분말, 정제 또는 캡슐)일 수 있다. 경구 제형은 내피 장벽을 통과하기 위한 표적화 리간드와 결합될 수 있다. 일부 헵타메틴 시아닌 제형은 예컨대 이당류에 의한 분무-건조에 의해 건조되어 헵타메틴 시아닌 분말을 형성할 수 있다. 고체 조성물은 약학적으로 허용되는 부형제, 예컨대 결합제(예컨대 미리 젤라틴화된 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스), 충전제(예컨대 락토스, 만니톨, 미세결정질 셀룰로스 또는 칼슘 수소 포스페이트), 활택제(예컨대 마그네슘 스테아레이트, 활석 또는 실리카), 붕해제(예컨대 감자 전분 또는 나트륨 전분 글리콜레이트), 또는 습윤제(예컨대 나트륨 라우릴 설페이트)에 의한 통상적인 방법에 의해 제조된다. 정제는 예컨대 당류, 필름 또는 장용성 코팅으로 당업계에 주지되어 있는 방법에 의해 코팅될 수 있다. 이러한 투여 형태를 제조하는 실질적인 방법은 공지되어 있거나 당업자에게 명확하다.

[0161] 경구 투여를 위한 액체 제형은 예컨대 엘릭시르제, 용액, 시럽 또는 현탁액의 형태를 취할 수 있다. 이러한 액체 제제는 약학적으로 허용되는 첨가제, 예컨대 현탁제(예컨대 술티탄 시럽, 셀룰로스 유도체 또는 수소화된 식용 지방), 유화제(예컨대 레시틴 또는 아카시아), 비수성 비히클(예컨대 아몬드 오일, 유성 에스터, 에틸 알코

을, 크레모포르(등록상표) 또는 분별된 식물성 오일), 및 보존제(예컨대 메틸 또는 프로필-p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산)으로 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 또한, 제제는 적절한 완충 염, 보존제, 향미제, 착색제 및 감미제를 함유할 수 있다. 경구 투여용 제제는 주지되어 있는 바와 같이 형광단의 제어된 방출을 부여하도록 적합하게 제형화될 수 있다.

[0162] 직장 투여의 경우, 헵타메틴 시아닌은 (보유 관장(retention enema)을 위한) 용액, 좌제, 또는 통상적인 좌제 기재, 예컨대 코코아 버터 또는 기타 글리세리드를 함유하는 연고로서 제형화될 수 있다. 코 투여 또는 흡입 또는 통기에 의한 투여의 경우, 헵타메틴 시아닌은 적합한 분사제(propellant), 예컨대 다이클로로다이플루오로메탄, 트라이클로로플루오로메탄, 다이클로로테트라플루오로에탄, 플루오로탄소, 이산화탄소 또는 기타 적합한 기체를 사용하여 압축팩 또는 분무기로부터의 에어로졸 분무액 또는 미스트의 형태로 편리하게 전달될 수 있다. 압축 에어로졸의 경우, 투여 용량 단위는 계측된 양을 전달하기 위한 밸브를 제공함으로써 결정될 수 있다.

[0163] 본 발명의 특정 양태에 따라, 본원에 기재된 헵타메틴 시아닌을 포함하는 약학 조성물은 정밀한 투여 용량의 개별 투여에 적합한 단위 투여 용량 형태로 제형화될 수 있다. 약학 조성물은 필요에 따라, 헵타메틴 시아닌을 함유하는 하나 이상의 단위 투여 용량 단위를 함유할 수 있는 팩 또는 분배 장치내에 존재할 수 있다. 팩은 예컨대 블리스터 팩(blister pack)과 같이 예컨대 금속 또는 플라스틱 호일을 포함한다. 팩 또는 분배 장치에는 투여를 위한 설명서가 첨부될 수 있다.

[0164] 투여되는 헵타메틴 시아닌의 양은 치료되는 대상, 표적(예컨대 담도계 또는 비뇨계), 및 투여 방식에 의존할 것이고, 약학 조성물 및/또는 조영제 투여 분야의 당업자에게 공지되어 있는 바와 같이 측정될 수 있다. 이와 결부되어, 투여되는 제형은 대상에게 투여 후 적합한 방법에 의해 헵타메틴 시아닌의 시각화를 가능하게 하기에 효과적인 양의 본원에 개시된 헵타메틴 시아닌의 정량을 함유할 수 있다. 일부 양태에서, 헵타메틴 시아닌의 효과량은 1 내지 240 $\mu\text{g/kg}$ (체중), 예컨대 10 내지 240 $\mu\text{g/kg}$, 20 내지 240 $\mu\text{g/kg}$, 40 내지 240 $\mu\text{g/kg}$, 50 내지 200 $\mu\text{g/kg}$ 또는 50 내지 150 $\mu\text{g/kg}$ 이다.

[0165] IV. 합성

[0166] 본 발명의 특정 양태에 따라, 화학식 I 또는 II의 헵타메틴 시아닌 화합물의 제조 방법이 본원에 개시된다. 화학식 I의 헵타메틴 시아닌의 제조를 위한 예시적 합성은 도 1에 도시되어 있다. 인돌레닌(1)은 질소를 알킬화 시키기에 효과적인 조건하에 알킬 또는 헤테로알킬과 합쳐진다. 도 1의 반응식에서, 인돌레닌(1)은 120°C에서 메틸 시아니드 중 1-요오도-2-(2-(2-메톡시에톡시)에톡시)에탄($\text{H}_3\text{C}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{I}$)에 의해 알킬화되어 화합물 3을 생성한다. 시아닌은 화합물 3과 화합물 4(N-[(3-(아닐리노메틸렌)-2-클로로-1-사이클로헥센-1-일)메틸렌]아닐린 모노하이드로클로라이드)의 반응에 의해 생성되고, 예컨대 에탄올과 트라이에틸아민 및 아세트산 무수물과의 환류로 화합물 5를 생성한다. 화합물 5는 역상 정제에 의해 저액될 수 있다. C4'-클로로 치환기는 알칸올아민과의 반응에 의해 대체된다. 예컨대, 에틸 동류물(congener)(화합물 6)은 화합물 5와 N-메탈에탄올아민과의 반응에 의해, 예컨대 75°C에서 N,N'-다이메틸포름아미드(DMF) 중 N-메탈에탄올아민의 첨가에 의해 제조된다. 화합물 6의 스마일즈형 재정렬(Smiles-type rearrangement)은 N-에소 0-로의 재정렬을 개시할 수 있는 화합물, 예컨대 알킬 할로젠화물과의 반응에 의해 수행된다. 도 1에서, 화합물 6의 재정렬은 95°C에서 DMF 중 메탈 요오다이드 중 나트륨 바이카보네이트를 사용하여 진행되어, 화합물 8을 생성한다.

[0167] 프로필 변형(화합물 7)을 제조하기 위해, 화합물 5는 75°C에서 DMF 중 N-메틸프로판올아민과 반응한다. 화합물 9를 생성하는 화합물 7의 재정렬은 2개-단계 과정이다. 제1 단계에서, 화합물 7은 트라이플루오로아세트산(TFA)과 반응한 후, 용매는 제거된다. 화합물 7의 TFA 처리는 (최대 흡광에서 장파장쪽 이동을 기반으로) -N에서 -O로의 전위를 유도한다. 이어서, 중간체는 60°C에서 DMF 중 메탈 요오다이드와 함께 가열함에 의해 N-알킬화를 거쳐 화합물 9를 생성한다.

[0168] 화학식 II의 헵타메틴 시아닌의 제조를 위한 예시적인 합성은 도 2에 도시되어 있다. 시판되는 염료 IR-Dye 783은 알칸올아민에 의해 C4'-클로로 치환기를 대체하는데 효과적인 조건하에 상기 알칸올아민과 합쳐진다. 도 2의 반응식에서, IR-Dye 783은 80°C에서 DMF 중 2-(메틸아미노)에탄올과 합쳐져 중간체 화합물 BL-760 중간체를 생성한다. 중간체는 역상 크로마토그래피에 의해 정제될 수 있다. BL-760의 재정렬 및 아실화는 N-에서 0-로의 재정렬을 개시할 수 있는 화합물 및 아실화 촉매에 의한 반응에 의해 수행된다. 도 2에서, 재정렬 및 아실화는 DMF 중 아세트산, HATU(1-[비스(다이메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리딘 3-옥사이드) 헥사플루오로포스페이트, N-[(다이메틸아미노)-1H-1,2,3-트리아졸로-[4,5-b]피리딘-1-일메틸렌]-N-메틸메탄아미늄 헥사플루오로포스페이트 N-옥사이드) 및 DIPEA(N,N-다이이소프로필에틸아민)과 합쳐짐으로써 진행되어 활성화된 에스터 용액을 생성한다. BL-760 중간체는 활성화된 에스터 용액과 합쳐지고 밤새 35°C로 가열되어

BL-760 화합물을 생성한다. BL-760은 역상 크로마토그래피에 의해 정제될 수 있다.

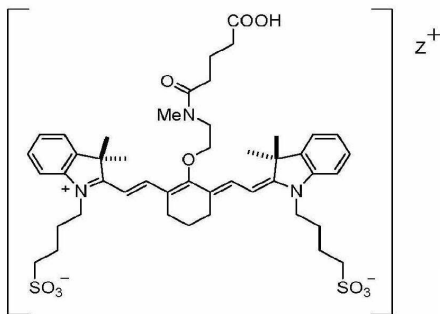
[0169] V. 사용 방법

[0170] 특정 양태에 따라, 본 발명의 헵타메틴 시아닌은 생존 세포 시각화 및 추적 적용례에 유용할 수 있다. 또한, 조사 및 진단 용도가 본 발명의 범주에 속한다.

[0171] 특정 양태에 따라, 본 발명의 헵타메틴 시아닌은 생체내 시각화 및 추적 적용례에 이용된다. 예컨대, 개시된 화합물의 특정 양태는 대상의 비뇨계 또는 담도계의 적어도 일부를 시각화하는데 유용할 수 있다.

[0172] 대상의 비뇨계 또는 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법은 도 3에 도시되어 있다. 도 3을 참고하면, 상기 방법은 과정 330일 수 있고, 과정 330 중 단계 332(S332)에서 본원에 개시된 화합물 또는 하기 화학식 3의 화합물 FNIR-Ar-H_N-BS를 대상에게 투여하는 단계를 포함한다:

[0173] [화학식 3]



[0174]

[0175] 상기 식에서, Z는 1원자 이온이다. 과정 330의 단계 334에서, 정량의 광은 대상의 표적화된 일부에 전달될 수 있고 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는다. 과정 330의 단계 336에서, 대상의 표적화된 일부의 형광이 검출될 수 있는데, 상기 형광은 대상의 표적화된 일부에서 화합물의 존재를 나타낸다. 일부 양태에서, 투여되는 화합물은 화학식 IA 또는 IIA의 화합물, 또는 화합물 FNIR-Ar-H_N-BS이다.

[0176] 화합물을 대상에게 투여하는 단계는 상기 화합물이 상기 대상의 표적화된 일부에 존재하는 경우 형광이 검출가능하도록 하는 효과량의 상기 화합물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 화합물을 투여하는 단계는 상기 화합물 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 임의의 또는 모든 상기 양태에서, 광은 근적외선 범위내의 파장 또는 파장 범위를 가질 수 있다.

[0177] 일부 양태에서, 시각화는 가시광선, 원적외선 또는 근적외선의 파장 및 선택된 강도를 갖는 정량의 광의 표적화된 적용에 의해 샘플 또는 대상의 표적화된 일부를 조사하는 단계를 포함하되, 상기 정량의 광은 상기 화합물의 형광을 생성하고 상기 화합물에 의해 방출되는 임의의 형광을 검출하는데 충분하다. 유리하게는, 광은 헵타메틴 시아닌의 최대 흡수 파장 또는 그에 근접한 파장을 갖는다. 예컨대, 샘플은 650 내지 2500 nm, 예컨대 650 내지 900 nm 또는 750 내지 850 nm의 파장을 갖는 광으로 조사될 수 있다. 일부 양태에서, 광원은 레이저, LED(발광 다이오드), 제논 램프, 할로겐 전구 또는 VSCSEL(수직 캐비티 표면 광방출 레이저) 등이다. 적합한 광 강도는 표적 부위 및 적용 방법에 따라 1 내지 1000 mW/cm², 예컨대 1 내지 750 mW/cm² 또는 300 내지 700 mW/cm²이다. 근적외선 광원은 시판되는 광원, 예컨대 토르랩스(Thorlabs)(미국 뉴저지주 뉴튼), 레이저 컴포넌츠(Laser Components)(미국 뉴 햄프셔주 허드슨) 및 프로포토닉스(ProPhotonix)(미국 뉴 햄프셔주 살렘) 등으로부터 취득될 수 있다. 일부 양태에서, 근적외선 광의 효과량은 0.1 내지 1000 mW/cm², 예컨대 0.1 내지 300 mW/cm²이다.

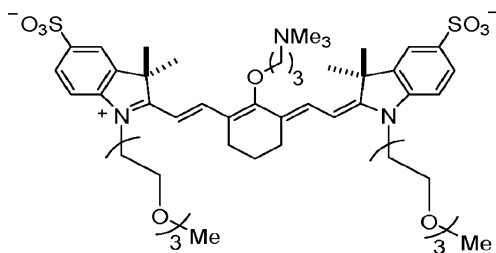
[0178] 일부 양태에서, 효과량의 헵타메틴 시아닌 또는 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물은 대상의 담도계 및/또는 비뇨계를 가시화함으로써 검출되고/거나 평가될 수 있는 조건을 갖는 것으로 의심되는 환자에게 투여될 수 있다. 투여는 임의의 적합한 방법, 예컨대 정맥내, 동맥내, 근육내, 종양내 또는 피하 주사, 또는 경구, 비내 또는 설하 투여에 의해 수행된다. 이어서, 투여되는 화합물은 근적외선 범위내의 파장 및 선택된 강도를 갖는 정량의 광의 표적화된 적용에 의해 조사되되, 상기 정량의 광은 헵타메틴 시아닌을 여기시키기에 충분하다. 표적 영역(예컨대 담도계 또는 비뇨계의 일부)을 조사할 때, 근적외선 광의 효과량은 0.1 내지 1000 mW/cm², 예컨

대 0.1 내지 300 mW/cm²일 수 있다. 대상의 표적화된 일부에서 화합물로부터 임의의 형광이 검출되면, 이에 따라 상기 대상은 상기 조건을 갖는 것으로 진단된다.

[0179] 일반적으로, 광 적용의 표면 영역은 표적 조직, 예컨대 담도계 및/또는 비뇨계 또는 이의 일부, 또는 표적 조직 외부의 피부 영역을 포함하도록 선택된다. 외부 광의 표적화된 적용이 생체내 생물 샘플에 목적될 때, 표면 영역은 적절한 광 기구, 예컨대 마이크로렌즈, 프레즈넬 렌즈 또는 디퓨저 정렬(diffuser arrangement)을 사용함으로써 제어될 수 있다. 표적화된 내부 광 적용의 경우, 목적하는 내시경 또는 광섬유 카테터 직경이 선택될 수 있다. 일부 적용례에서, 광 산란 용액으로 채워진 유치 카테터는 표적 조직에 근접하게 내부 위치될 수 있고, 광섬유 광원은 상기 카테터로 삽입될 수 있다(예컨대 문헌[Madsen *et al.*, *Lasers in Surgery and Medicine* 2001, 29, 406-412] 참고).

[0180] 예컨대, 도 4를 참고하여 도 3을 보면, 대상(400) 또는 환자는 예컨대 정맥내 주사를 통해 헵타메틴 시아닌 화합물(410)로 투여될 수 있다. 시간은 그 동안 담도계 및/또는 비뇨계에 화합물이 바람직하게 축적되도록 경과된다. 이어서, 대상의 표적부는 외부 광 기구(420)를 사용하여 목적하는 파장의 근적외선 광 에너지의 효과량으로 선택적으로 조사된다. 광 기구(420)는 표적 영역에 광을 적용하되, 상기 표적 영역은 담도계 또는 비뇨계의 적어도 일부를 포함하고, 이에 따라 상기 화합물의 형광을 생성한다. 상기 담도계 또는 비뇨계의 일부는 형광을 검출함으로써 시각화된다.

[0181] 본 발명의 양태에 따라, 대상의 표적화된 일부는 비뇨계의 적어도 일부이고, 헵타메틴 시아닌은 화학식 I 또는 IA에 따른 화합물이다. 하나의 양태에서, 광은 600 내지 850 nm의 파장을 가질 수 있다. 하나의 양태에서, 상기 화합물은 하기 화학식의 화합물 9(UL-766으로도 지칭됨)이다.



[0182]

[0183] 이는 요관이 다양한 외과적 절차, 예컨대 개방 수술(open surgery), 복강경 검사 및 내시경 검사 절차 동안 외상 및 의원성 손상에 취약하기에 중요하다. 대체로 어떠한 복부-골반 외과적 절차(부인과, 산과, 일반외과 또는 비뇨기과)든 잠재적으로 요관을 손상시킬 수 있다. 복부 및 골반 수술 동안 요관 손상의 발생률은 0.5 내지 10%인 것으로 보고되어 있다(문헌[Gioux *et al.*, *Mol Imaging* 2010, 9(5):237-255]; 문헌[Reinhart *et al.*, *Surgical Innovation* 2015]; 및 문헌[Verbeek *et al.*, *J Urology* 2013, 190(2):574-579]). 이러한 손상률은 정맥 구조에 요관이 근접하게 위치함 및 후복막강 및 상부 골반의 실질적으로 모든 층에 걸친 이의 경로에 크게 기인한다. 추가적인 스텐트를 삽입하거나 접촉 장치로 연동운동을 유발함 없이 요관을 시각화하는 것은 급성 요관 손상을 평가하는데 유익하다. 또한, 요관 누출은 요관 연결이 수행된 후 즉시 시험될 수 있다. 중요하게는, 형광-유도 외과적 방법을 통한 수술 동안의 명확한 시각화는 이러한 상당한 이환율을 완하시킬 수 있다.

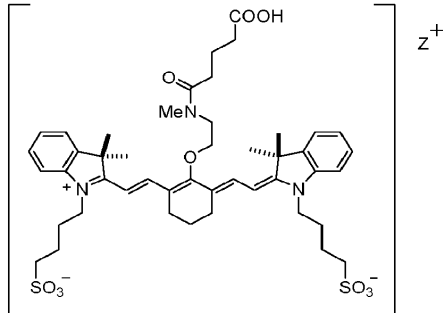
[0184] 유리하게는, 화학식 I 또는 IA의 특정 화합물, 예컨대 UL-766은 탁월한 비뇨 청소(renal clearance)를 거치고, 근적외선 형광 영상화 시스템을 사용하여 요관을 표시하는데 사용할 수 있다. UL-766은 시판되는 IR-800CW 화합물 염료에 비해 비뇨 청소에 대해 향상된 특이성을 나타낸다. 또한, 상기 화합물은 생물 친핵체와의 감소된 반응성을 나타낸다. UL-766 및 관련 분자의 감소된 반응성은 임상 독성학적 관점에 있어서 중요할 수 있다.

[0185] 화학식 I 또는 IA의 일부 헵타메틴 시아닌 화합물은 낮은 투여 용량(예컨대 1 내지 100 µg/kg 체중)으로 정맥내 투여될 수 있고, 주사 후 및 연장된 시간에 걸쳐 빠르게 시각화되기에 충분히 감수성이다. 일부 양태에서, 헵타메틴 시아닌은 주사 후 수분 이내, 예컨대 20분 이내, 15분 이내, 10분 이내 또는 5분 이내에 1.5 이상, 2.0 이상, 2.5 이상, 3 이상 또는 4 이상의 조영 대 기저 비(CBR)를 생성한다. 특정 양태에서, 헵타메틴 시아닌은 대상에게 정맥내 주사 후 10분 이내에 2 내지 10, 예컨대 3 내지 5의 CBR을 생성한다. 일부 양태에서, 1.5 이상의 CBR 비는 주사 후 10 내지 30분, 10 내지 45분, 10 내지 60분, 5 내지 60분 또는 5 내지 90분의 주사 후 시간대에서 30분 이상, 45분 이상 또는 60분 이상 동안 유지된다. 화학식 I 또는 IA의 헵타메틴 시아닌의 일부 양태는 15% 이상의 양자 수율, 예컨대 20% 이상, 25% 이상 또는 30% 이상의 양자 수율을 갖는다. 유리하게는, 형광은 비뇨계에 특이적이다. 예컨대, 담도계 및 비뇨계에서의 형광을 고려할 때, 시각화된 형광의 85% 이상,

90% 이상 또는 95% 이상이 비뇨계에 존재할 수 있다. UL-766은 예컨대 5:95의 담관:요관 특이성 및 30%의 양자 수율을 나타낸다.

[0186] 본 발명의 양태에 따라, 대상의 표적화된 일부는 담도계의 적어도 일부를 포함하고, 헵타메틴 시아닌은 화학식 II, IIA 또는 하기 화학식 3의 화합물 FNIR-Ar-H_N-BS일 수 있다.

[0187] [화학식 3]

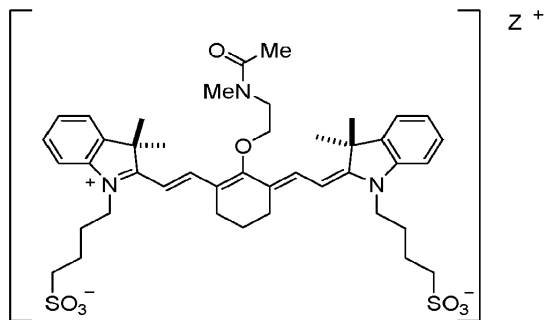


[0188]

[0189] 특정 양태에서, 광은 600 내지 850 nm의 파장을 갖는다.

[0190] 하나의 양태에 따라, 특정 양태에서, 화합물은 하기 화학식 2의 화합물 BL-760일 수 있다.

[0191] [화학식 2]



[0192]

[0193] 유리하게는, 화학식 II 또는 IIA의 화합물, 예컨대 BL-760 및 FNIR-Ar-H_N-BS는 탁월한 담관 청소를 거치고, 근적외선 형광 영상화 시스템을 사용하여 담도계 또는 이의 일부를 표시하는데 사용될 수 있다. 시판되는 염료, 예컨대 인도시아닌 그린(ICG) 및 IRDye(등록상표) 800CW 화합물에 비해, 화학식 II 또는 IIA의 화합물 또는 화합물 FNIR-Ar-H_N-BS는 더 큰 담관:요관 특이성, 담즙으로의 더 빠른 분비, 및/또는 더 큰 양자 수율을 나타낸다.

[0194] 화학식 II 또는 IA, FNIR-Ar-H_N-BS의 일부 헵타메틴 시아닌 화합물은 대상에게 낮은 투여 용량으로 정맥내 투여될 수 있고 담즙으로 신속하게 분비되고, 주사 후 신속하게 시각화되기에 충분히 감수성이다. 일부 양태에서, 시각화하기에 충분한 양의 헵타메틴 시아닌이 대상에게 상기 화합물의 최소 임계량(예컨대 1 내지 100 µg/kg 체중)의 정맥내 주사 후 5분 이내에 담즙으로 분비된다. 화학식 II 또는 IA, FNIR-Ar-H_N-BS의 헵타메틴 시아닌의 일부 양태는 15% 이상의 양자 수율, 예컨대 20% 이상, 25% 이상 또는 30% 이상의 양자 수율을 갖는다. 예컨대, 담도계 및 비뇨계에서의 형광을 고려할 때, 시각화된 형광의 85% 이상, 90% 이상 또는 95% 이상이 담도계에 존재할 수 있다. 예컨대, FNIR-Ar-H_N-BS는 95:5의 담관:요관 특이성을 갖고, BL-760은 100:0의 담관:요관 특이성을 갖는다.

[0195] 하나의 양태에 따라, 본 발명은 환자의 비뇨계의 적어도 일부를 시각화하는 방법에 관한 것이다. 종종, 요관은 특히 염증 및 기형의 해부학 구조 기반에서는 식별이 어렵고 손상 위험이 있다. 현재의 식별 보조법은 항상 효과적이진 않다. 형광 염료의 사용은 임의의 추가의 침습적 절차를 요함 없이 수술중 요관 식별을 향상시킬 수 있다. 또한, 요관 구조의 향상된 수술중 식별은, 특히 인접 조직에 대한 복부 수술의 경우, 요관에 대한 의원성 손상의 위험을 최소화한다. 상기 관점에 있어서, 하나의 양태에 따라, 환자의 비뇨계의 적어도 일부를 시각화하는 방법은 요관신우 접합부 및 주변 조직의 시각화 방법일 수 있고, 이는 예컨대 요관의 임의의 폐쇄 및 복부 수술중 임의의 의원성 손상에 대한 통찰을 제공한다. 도 5를 참고하면, 상기 방법은 과정 530일 수 있다.

과정 530의 단계 532에서, 화합물이 대상에게 투여될 수 있다. 비뇨계의 요관신우 접합부에 있어서, 화합물은 화학식 IA의 화합물 또는 UL-766일 수 있고, 대상은 환자일 수 있다. 과정 530의 단계 534에서, 정량의 광이 환자의 요관신우 접합부에 투여될 수 있되, 상기 정량의 광은 UL-766의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는다. 정량의 광은 UL-766이 비뇨계에 도달하도록 하는 시간 후 투여될 수 있음이 이해될 수 있다. 과정 530의 단계 536에서, 비뇨계의 요관신우 접합부의 UL-766의 형광이 정량의 광의 투여에 반응하여 검출될 수 있다. 하나의 양태에서, 수술 계획을 기반으로, 평가는 검출된 형광을 기반으로 수행될 수 있다. 예컨대, 검출된 형광이 신우에 축적되는 경우, 이는 요관이 폐쇄된 것으로 판단될 수 있다. 예컨대, 검출된 형광이 복강으로 누출되는 경우, 이는 의원성 손상이 발생했고 비뇨계가 절개된 것으로 판단될 수 있다. 어떠한 판단이든 추가적인 조치를 필요 요한다.

[0196] 하나의 양태에 따라, 또한, 본 발명은 환자의 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법에 관한 것이다. 육안 관찰, 촉진 및 수술중 초음파검사는 오늘날까지도 간담관 수술중 담관 구조의 식별에 가장 많이 이용되는 도구로 남아있다. 그러나, 이러한 방법은, 특히 촉진이 불가능한 최소 침습성 또는 로봇-보조 수술에서, 문제가 된다. 이러한 경우, 이러한 수술중 간 조직, 담관지(biliary tree) 등에 대한 의원성 손상의 위험이 증가한다. 상기 관점에서, 하나의 양태에 따라, 환자의 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법은 담관지 및 주변 조직의 시각화 방법일 수 있고, 이는 예컨대 담관지의 임의의 폐쇄 및 간담관 수술중 임의의 의원성 손상에 대한 통찰을 제공한다. 도 6을 참고하면, 상기 방법은 과정 630일 수 있다. 과정 630의 단계 632에서, 화합물이 대상에게 투여될 수 있다. 담도계의 담관지에 있어서, 화합물은 화학식 IIA의 화합물 또는 BL-760일 수 있고, 대상은 환자일 수 있다. 과정 630의 단계 634에서, 정량의 광이 환자의 담관지에 투여될 수 있되, 상기 정량의 광은 BL-760의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는다. 정량의 광은 BL-760이 담도계에 도달하도록 하는 시간 후 투여될 수 있음이 이해될 수 있다. 과정 730의 단계 736에서, 담도계의 담관지의 BL-760의 형광이 정량의 광의 투여에 반응하여 검출될 수 있다. 하나의 양태에서, 수술 계획을 기반으로, 평가는 검출된 형광을 기반으로 수행될 수 있다. 예컨대, 검출된 형광이 복강으로 누출됨에 의해 담즙 누출이 나타나는 경우, 이는 의원성 손상이 발생했고 담관지가 절개된 것으로 판단될 수 있다. 어떠한 판단이든 추가적인 조치를 필요 요한다.

[0197] 하나의 양태에 따라, 또한, 본 발명은 환자의 간담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 환자의 간담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법은 담관의 시각화 방법일 수 있고, 이는 예컨대 간담관 수술중 임의의 의원성 손상에 대한 통찰을 제공한다. 도 7을 참고하면, 상기 방법은 과정 730일 수 있다. 과정 730의 단계 732에서, 화합물이 대상에게 투여될 수 있다. 간담도계의 담관에 있어서, 화합물은 FNIR-AR-H_N-BS일 수 있고, 대상은 환자일 수 있다. 과정 730의 단계 734에서, 정량의 광이 환자의 담관에 투여될 수 있되, 상기 정량의 광은 FNIR-AR-H_N-BS의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는다. 정량의 광은 FNIR-AR-H_N-BS이 담관에 도달하도록 하는 시간 후 투여될 수 있음이 이해될 수 있다. 과정 730의 단계 736에서, 간담도계의 담관의 FNIR-AR-H_N-BS의 형광이 정량의 광의 투여에 반응하여 검출될 수 있다. 하나의 양태에서, 수술 계획을 기반으로, 평가는 검출된 형광을 기반으로 수행될 수 있다. 예컨대, 검출된 형광이 복강으로 누출되는 경우, 이는 의원성 손상이 발생했고 담관이 절개된 것으로 판단될 수 있다. 어떠한 판단이든 추가적인 조치를 필요 요한다.

[0198] 하나의 양태에 따라, 또한, 본 발명은 암의 검출에 관한 것이다.

[0199] 구체적으로, 하나의 양태에 따라, 또한, 본 발명은 환자의 간 조직의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서, 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS를 투여하는 단계, 이어서, 정량의 광을 환자의 간 조직에 투여하는 단계로서 상기 정량의 광이 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS의 형광을 생성하는데 충분한 파장 및 강도를 갖는 단계, 상기 환자의 간 조직에서 형광을 검출하는 단계, 및 상기 환자의 간 조직에서 검출된 형광을 기반으로 상기 환자의 간 조직의 간세포 암종을 판단하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0200] 하나의 양태에 따라, 또한, 본 발명은 환자의 간 조직의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서, 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS를 투여하는 단계, 이어서, 정량의 광을 환자의 간 조직에 투여하는 단계로서 상기 정량의 광이 화학식 IIA의 화합물 또는 FNIR-AR-H_N-BS의 형광을 생성하는데 충분한 파장 및 강도를 갖는 단계, 상기 환자의 간 조직에서 형광을 검출하는 단계, 및 상기 환자의 간 조직에서 검출된 형광을 기반으로 상기 환자의 간 조직의 직장결장-간 전이를 판단하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0201] VI. 키트

[0202] 하나의 양태에 따라, 또한, 본 발명은 키트에 관한 것이다. 키트의 양태는 하나 이상의 화학식 I 또는 II의 헵

타메틴 시아닌 화합물을 포함한다. 일부 양태에서, 또한, 키트는 상기 화합물이 용해되거나 현탁될 수 있는 하나 이상의 용액을 포함한다. 또한, 키트는 하나 이상의 용기, 예컨대 일회용 바이알 또는 주사기를 포함할 수 있다. 또한, 키트는 상기 화합물 사용을 위한 설명서를 포함할 수 있다.

[0203] 키트의 하나의 양태에서, 헵타메틴 시아닌은 고체로서 제공될 수 있고, 용액은 액상형으로 제공될 수 있다. 용액은 용해된 화합물이 대상에게 투여되도록 헵타메틴 시아닌을 용해시키기에 적합한 용액일 수 있다. 용액은 의도 용도, 예컨대 정맥내 주사에 적합한 농도로 제공될 수 있다. 다르게는, 용액은 사용전 희석되는 농축 용액으로서 제공될 수 있다.

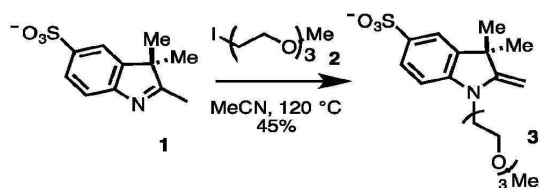
[0204] 키트의 하나의 양태에서, 헵타메틴 시아닌은 약학 조성물, 예컨대 정맥내 주사에 적합한 약학 조성물로서 제공될 수 있다. 특정 양태에서, 약학 조성물은 미리 칭량되어 하나 이상의 용기(예컨대 바이알 또는 주사기)에 담겨질 수 있다.

[0205] VII. 비한정적 예

[0206] VII.i. 화합물 합성

[0207] 일반적으로, 달리 언급이 없는 한, 반응은 무수 용매(활성화된 알루미늄을 통과함)를 사용하여 질소 또는 아르곤 대기하에 오븐-건조 유리 기구에서 수행하였다. 모든 시판입수 시약은 입수한 자체로 사용하였다. N-[(3-(아닐리노메틸렌)-2-클로로-1-사이클로헥센-1-일)메틸렌]아닐린 모노하이드로클로라이드를 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)(미국 미주리주 세인트 루이스)로부터 구매하였다. IR-800CW 화합물은 리-코르 바이오사이언시스(Li-Cor Biosciences)(미국 네브라스카주 링컨)로부터 구입하였다.

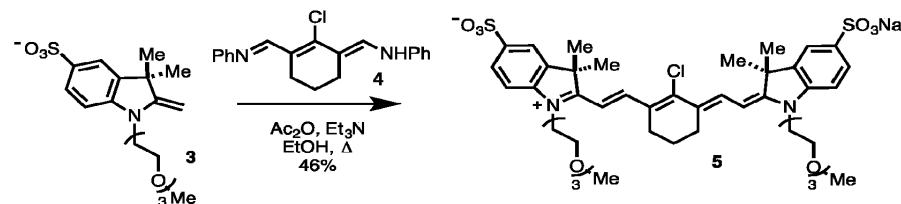
[0208] VII.i.a 화합물 합성



[0209]

[0210] 자석 교반 막대가 장착된 마이크로파 바이알에 인돌리닌(1)(3.0 g, 10.8 mmol; 문헌[Park *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 2012, 23:350]), MeCN(12 mL) 및 요오다이드(2)(3.0 g, 10.8 mmol; 문헌[Lawal *et al.*, *Supramol. Chem.* 2009, 21:55])를 첨가하였다. 용기를 아르곤하에 밀폐하고, 연갈색 슬러리를 모래 욕(bath)에서 22시간 동안 120°C로 가열하고, 그 동안 반응 생성물은 진적색/분홍색으로 변하였다. 반응 생성물을 냉각하고, 용매를 회전식 증발에 의해 제거하였다. 물(10 mL)을 적색 미정제물에 첨가하고 역상 크로마토그래피(C₁₈ Aq, 0 → 30% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 합치고, 용매를 회전식 증발에 의해 제거하여 화합물 3(2.1 g, 45% 수율)을 적색 고무질 고체로서 수득하였다.

[0211] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆ 에나민:이민 호변 이성질체가 93:7 비로 존재) δ 7.38 - 7.29 (m, 2H), 6.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.96 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 3.88 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 3.68 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.57 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.52 - 3.43 (m, 6H), 3.41 - 3.36 (m, 2H), 3.22 (s, 3H), 1.26 (s, 6H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 160.6, 145.7, 139.3, 135.7, 125.3, 119.4, 104.2, 74.7, 71.2, 70.1, 69.8, 69.6, 66.4, 58.0, 43.5, 41.9, 29.7; IR (박막) 2921, 1715, 1650, 1604, 1486, 1382, 1182 cm⁻¹; C₁₈H₂₈NO₆S(M+H)⁺에 대한 HRMS(ESI) 계산치 386.1632, 관측치 386.1632.



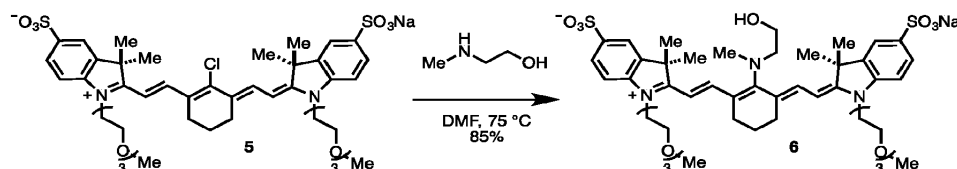
[0212]

[0213] 자석 교반 막대가 장착된 마이크로파 관에 에탄올(14 mL) 중 인돌리닌(3)(2.07 g, 4.9 mmol) 및 염화물

(4)(0.45 g, 1.4 mmol)을 첨가하였다. 용기를 밀폐하고 아르곤으로 플러싱하였다. 트라이에틸아민(1.37 mL, 9.8 mmol) 및 아세트산 무수물(1.85 mL, 19.6 mmol)을 주사에 의해 연속으로 첨가하였다. 황색 용액을 120℃로 30분 동안 가열하고, 그 동안 반응 생성물은 진녹색으로 변화하였다. 반응 생성물을 냉각하고, 용매를 회전식 증발에 의해 제거하였다. 포화 수성 NaHCO₃(17 mL)을 첨가하고, 녹색 잔기를 역상 크로마토그래피(C₁₈, 0 → 30% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시켜 화합물 5(1.04 g, 46% 수율)를 녹색 고체로서 수득하였다.

[0214] ¹H NMR (500 MHz, 메탄올-*d*₄) δ 8.46 (d, *J* = 14.1 Hz, 2H), 7.92 (d, *J* = 1.7 Hz, 2H), 7.88 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, 2H), 7.40 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.49 (d, *J* = 14.1 Hz, 2H), 4.41 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 3.91 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 3.60 – 3.57 (m, 4H), 3.53 – 3.50 (m, 4H), 3.48 – 3.44 (m, 4H), 3.41 – 3.37 (m, 4H), 3.28 (s, 6H), 2.75 (t, *J* = 6.2 Hz, 4H), 2.00 – 1.91 (m, 2H), 1.77 (s, 12H); ¹³C NMR (125 MHz, 메탄올-*d*₄) δ 175.6, 151.4, 145.7, 145.3, 143.6, 142.4, 129.0, 128.0, 121.3, 112.4, 104.2, 72.9, 72.1, 71.7, 71.4, 69.2, 59.1, 50.7, 46.1, 28.3, 27.4, 22.1.; IR (박막) 2864, 1546, 1509, 1427, 1387, 1234, 1151 cm⁻¹; C₄₄H₆₀ClN₂O₁₂S₂(M+H)⁺에 대한 HRMS(ESI) 계산치 907.3271, 관측치 907.3268.

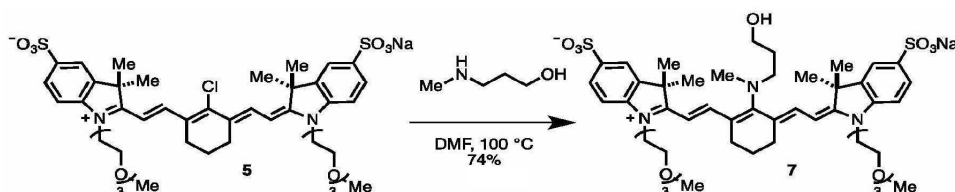
[0215]



[0216] 자석 교반 막대가 장착된 1-드럼 바이알에 염화물(5)(100 mg, 0.108 mmol) 및 DMF(1.0 mL)을 첨가하였다. 2-(메틸아미노)-에탄올(35 μL, 0.43 mmol)을 첨가하고, 반응 생성물을 75℃로 15분 동안 가열하고, 그 동안 반응 생성물은 녹색에서 암청색으로 변화하였다. 반응 생성물을 냉각하고 포화 수성 NaHCO₃(3 mL) 및 H₂O(7 mL)로 희석하고, 용액을 바로 역상 크로마토그래피(C₁₈ Aq 금색, 0 → 25% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시켜 화합물 6(90 mg, 85% 수율)을 청색 고체로서 수득하였다.

[0217] ¹H NMR (400 MHz, 메탄올-*d*₄) δ 7.89 – 7.64 (m, 6H), 7.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.05 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 4.27 – 4.11 (m, 4H), 4.01 – 3.92 (m, 4H), 3.89 – 3.81 (m, 4H), 3.61 – 3.57 (m, 4H), 3.57 – 3.51 (m, 7H), 3.51 – 3.46 (m, 4H), 3.45 – 3.40 (m, 4H), 3.30 (s, 6H), 2.63 – 2.45 (m, 4H), 1.92 – 1.79 (m, 2H), 1.67 (s, 12H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 176.1, 168.1, 143.2, 143.2, 140.7, 139.1, 125.7, 123.3, 119.3, 108.7, 95.9, 71.2, 70.3, 69.8, 69.7, 67.3, 59.6, 58.5, 58.0, 47.2, 44.1, 43.3, 28.7, 24.4, 21.5; IR (박막) 3409, 2927, 2870, 1546, 1509, 1365, 1279, 1158 cm⁻¹; C₄₇H₆₈N₂O₁₃S₂(M+H)⁺에 대한 HRMS(ESI) 계산치 946.4188, 관측치 946.4186.

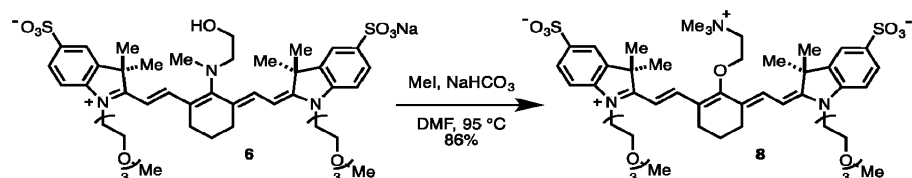
[0218]



[0219] 자석 교반 막대가 장착된 1-드럼 바이알에 염화물(5)(640 mg, 0.65 mmol) 및 DMF(18 mL)를 첨가하였다. 3-(메틸아미노)-1-프로판올(250 μL, 2.54 mmol)을 첨가하고, 반응 생성물을 100℃로 25분 동안 가열하고, 그 동안 반응 생성물은 녹색에서 암청색으로 변화하였다. 반응 생성물을 냉각하고 포화 수성 NaHCO₃(18 mL)으로 희석하고, 용액을 바로 역상 크로마토그래피(C₁₈ Aq 금색, 0 → 40% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시켜 화합물 7(616 mg, 74% 수율)을 청색 고체로서 수득하였다.

[0220] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.62 (d, *J* = 1.7 Hz, 2H), 7.55 (dd, *J* = 8.2, 1.7 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* =

13.3 Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 5.98 (d, $J = 13.3$ Hz, 2H), 4.61 (t, $J = 4.7$ Hz, 1H), 4.24 - 4.14 (m, 4H), 3.90 - 3.80 (m, 2H), 3.78 - 3.69 (m, 4H), 3.53 - 3.50 (m, 4H), 3.49 - 3.39 (m, 14H), 3.33 (s, 3H), 3.18 (s, 6H), 2.49 - 2.46 (m, 4H), 1.91 (p, $J = 6.0$ Hz, 2H), 1.74 (p, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.58 (s, 12H).; ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 174.9, 168.2, 143.3, 143.2, 140.4, 139.0, 125.8, 123.3, 119.4, 108.8, 96.0, 71.2, 70.3, 69.8, 69.7, 67.3, 58.1, 58.0, 55.6, 47.2, 44.8, 43.4, 31.5, 28.7, 24.3, 21.4; IR (박막) 3410, 2926, 2870, 1543, 1366, 1279, 1160 cm^{-1} ; $\text{C}_{48}\text{H}_{70}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 에 대한 HRMS(ESI) 계산치 960.4345, 관측치 960.4343.



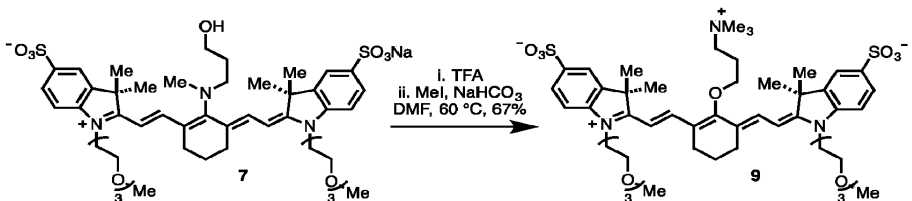
[0221]

[0222]

자석 교반 막대가 장착된 마이크로파 바이알에 시안화물(6)(70 mg, 0.11 mmol) 및 NaHCO_3 (61 mg, 0.72 mmol)을 첨가하였다. DMF(1.5 mL) 및 메틸 요오다이드(45 μL , 0.72 mmol)를 첨가하고, 반응 생성물을 95 $^{\circ}\text{C}$ 로 2시간 동안 가열하고, 그 동안 반응 생성물은 청색에서 녹색으로 변화하였다. 반응 생성물을 냉각하고 물(10 mL)로 희석하고, 용액을 바로 역상 크로마토그래피(C_{18} Aq 금색, 0 $\rightarrow$ 30% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시켜 화합물 8(60 mg, 86% 수율)을 녹색 고체로서 수득하였다.

[0223]

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.87 (d, $J = 14.1$ Hz, 2H), 7.74 (s, 2H), 7.67 - 7.59 (m, 2H), 7.35 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.29 (d, $J = 14.2$ Hz, 2H), 4.47 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 4.39 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 3.95 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.79 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 3.54 - 3.48 (m, 4H), 3.45 - 3.35 (m, 12H), 3.31 (s, 9H), 3.18 (s, 6H), 2.60 (t, $J = 6.2$ Hz, 4H), 1.85 - 1.73 (m, 2H), 1.67 (s, 12H).; ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 172.2, 167.9, 145.3, 142.4, 140.1, 139.1, 126.0, 122.4, 119.5, 110.7, 101.0, 71.2, 70.3, 69.8, 69.6, 69.4, 67.5, 64.1, 58.0, 53.4, 48.6, 44.3, 27.8, 24.2, 20.5.; IR (박막) 2868, 1556, 1504, 1392, 1357, 1249, 1148 cm^{-1} ; $\text{C}_{49}\text{H}_{72}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 에 대한 HRMS(ESI) 계산치 974.4501, 관측치 974.4506.



[0224]

[0225]

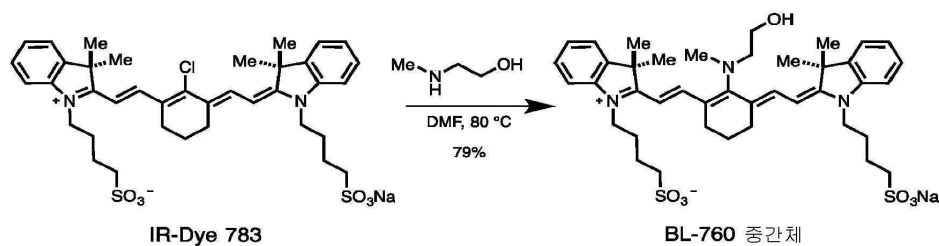
자석 교반 막대가 장착된 환저 플라스크에 시안화물(7)(620 mg, 0.11 mmol) 및 TFA(6 mL)를 첨가하였다. 적색 용액을 아르곤하에 5분 동안 60 $^{\circ}\text{C}$ 로 가열하였다. TFA를 진공에서 제거하고, 잔사를 진공(0.1 Torr 미만)하에 5분 동안 두었다. DMF(20 mL), NaHCO_3 (2.6 g) 및 메틸 요오다이드(2 mL)를 첨가하고, 반응 생성물을 60 $^{\circ}\text{C}$ 로 3시간 동안 가열하였다. 반응 생성물을 냉각하고 물(40 mL)로 희석하고, 용액을 바로 역상 크로마토그래피(C_{18} Aq 금색, 0 $\rightarrow$ 40% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 동결건조시켜 화합물 9(420 mg, 67% 수율)를 녹색 고체로서 수득하였다.

[0226]

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.94 (d, $J = 14.2$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J = 1.8$ Hz, 2H), 7.63 (dd, $J = 8.1$, 1.8 Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.28 (d, $J = 14.2$ Hz, 2H), 4.37 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 4.03 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.79 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 3.76 - 3.70 (m, 2H), 3.53 - 3.49 (m, 5H), 3.44 - 3.36 (m, 8H), 3.33 - 3.30 (m, 4H), 3.26 (s, 9H), 3.18 (s, 6H), 2.62 - 2.54 (m, 4H), 2.44 - 2.36 (m, 2H), 1.84 - 1.76 (m, 2H), 1.69 (s, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 172.2, 168.5, 145.2, 142.4, 140.1, 139.5, 126.0, 122.3, 119.7, 110.6, 100.8, 73.4, 71.2, 70.3, 69.8, 69.7, 67.5, 62.9, 58.0, 52.4, 48.6, 44.2,

39.5, 27.9, 24.2, 23.8, 20.7; IR (박막) 2874, 1557, 1506, 1392, 1359, 1248, 1151 cm^{-1} ; $\text{C}_{50}\text{H}_{74}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{S}_2(\text{M}+\text{H})^+$ 에 대한 HRMS(ESI) 계산치 988.4658, 관측치 988.4660.

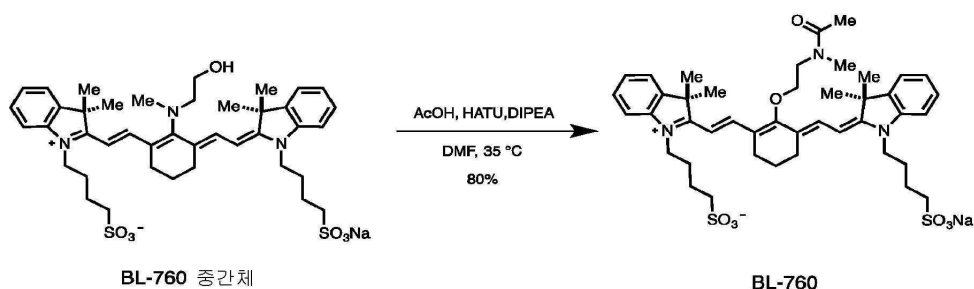
[0227] VII.i.b. BL-760.



[0228]

[0229] 먼저, BL-760 중간체를 제조하였다. 자석 교반 막대가 장착되고 밀폐된 마이크로파 관에서, 시판되는 IRDye 783(120 mg, 0.16 mmol)을 건성 DMF(2 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 아르곤으로 2분 동안 플러싱한 후, 2-(메틸아미노)에탄올(65 μL , 0.8 mmol)을 첨가하였다. 용액을 모래 욕에서 80 $^{\circ}\text{C}$ 로 가열하고, 그 동안 색상은 녹색에서 청색으로 변하였고, LC-MS는 목적 생성물의 생성을 나타냈다. 반응 혼합물을 냉각하고 Et_2O 로 침전시키고 4500 rpm으로 3분 동안 원심분리하였다. 물(2 mL) 및 포화 NaHCO_3 수용액(2 mL)을 펠릿(pellet)에 첨가하고, 잔사를 역상 크로마토그래피(C_{18} , 0 $\rightarrow$ 40% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 합치고 동결 건조시켜 BL-760 중간체(99 mg, 79% 수율)를 청색 고체로서 수득하였다.

[0230] ^1H NMR (400 MHz, 메탄올- d_4) δ 7.77 (d, J = 13.3 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.11 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 5.96 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 4.1 - 4.0 (m, 4H), 3.95 - 3.85 (m, 4H), 3.53 - 3.39 (m, 4H), 2.87 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 2.55 (t, J = 6.6 Hz, 4H), 2.05 - 1.86 (m, 8H), 1.85 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 1.65 (s, 12H) ppm.



[0231]

[0232] 이어서, 1-드럼 바이알에서 BL-760을 HATU (61 mg, 0.16 mmol), 아세트산(10 μL , 0.17 mmol) 및 건성 DMF(2.8 mL)와 합침으로써 제조하고 아르곤으로 플러싱하였다. DIPEA(31 μL , 0.17 mmol)를 첨가하고, 용액을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 개개의 1-드럼 바이알에서, BL-760 중간체를 건성 DMF(2.1 mL) 중에 용해시키고 아르곤으로 플러싱하였다. 상기 용액에 활성화된 에스터 용액(1.4 mL)을 첨가하고, 용액을 밤새 욕에서 35 $^{\circ}\text{C}$ 로 가열하고, 그 동안 색상이 청색에서 녹색으로 변하였다. 용액을 냉각하고 Et_2O 로 침전시키고 4500 rpm으로 3분 동안 원심분리하였다. 펠릿을 물(5 mL)에 용해시키고, 용액을 바로 역상 크로마토그래피(C_{18} , 0 $\rightarrow$ 40% MeCN/물)에 의해 정제하였다. 생성물-함유 분획을 합치고 동결 건조시켜 BL-760(53 mg, 80% 수율)을 청색빛을 띠는 녹색 고체로서 수득하였다.

[0233] ^1H NMR (400 MHz, 메탄올- d_4 , 화합물이 회전 이성질체의 혼합물로서 존재함, 주 회전 이성질체 표시 *, 부 회전 이성질체 표시 §) δ 8.14 (2중첩 d, J = 14.2 Hz, 2H*, 2H §), 7.49 (dd, J = 7.5, 1.1 Hz, 2H*, 2H §), 7.44 - 7.37 (m, 2H*, 2H §), 7.35 - 7.31 (m, 2H*, 2H §), 7.24 (tdd, J = 7.4, 1.9, 1.0 Hz, 2H*, 2H §), 6.22 (d, J = 5.9 Hz, 2H*), 6.19 (d, J = 5.8 Hz, 2H §), 4.25 - 4.08 (m, 6H*, 6H §), 4.07 - 3.87 (m, 2H*, 2H §), 3.29 (s, 3H*), 3.20 (s, 3H §), 2.88 (td, J = 7.2, 1.7 Hz, 4H*, 4H §), 2.66 (q, J = 5.7 Hz, 4H*, 4H §),

2.29 (s, 3H*), 2.22 (s, 3H^s), 2.03 - 1.89 (m, 10H*, 10H^s), 1.74 (s, 12H*), 1.70 (s, 12H^s) ppm. 도 8 은 pH 7.4 PBS 중 BL-760의 스펙트럼 특성을 도시한 것이다.

[0234] VII.ii. 생체의 화합물 특성규명

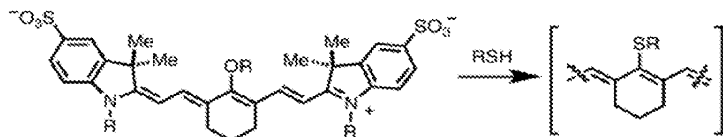
[0235] 콤비플래시(CombiFlash: 등록상표) Rf 200i 시스템(텔레다인 이스코 인코포레이티드(Teledyne Isco, Inc.))에서 역상(100 Å, 20 내지 40 마이크론 입자 크기, 레디셉(RediSep: 등록상표) Rf 골드(Rf Gold: 등록상표) 역상 C18 또는 C18Aq 컬럼)을 사용하여 속성 컬럼 크로마토그래피를 수행하였다. 음이온 모드의 Ion MAX API 전자분무 이온 공급원을 갖는 써모-피셔 LTQ-오비트랩-XL(Thermo-Fisher LTQ-Orbitrap-XL) 하이브리드 질량 스펙트럼계 시스템에서, 고해상도 LC/MS 분석을 수행하였다. 페노메넥스 인코포레이티드(Phenomenex, Inc.)로부터 입수한 키네틱스(Kinetex) 2.6 µm C18 100 Å(2.1 x 50 mm) 컬럼을 이용하는 시마즈 LCMS-2020 싱글 쿼드러폴 시스템(Shimadzu LCMS-2020 Single Quadrupole system) 분석 LC/MS를 수행하였다. 전개에는 4.5분에 걸쳐 0.2 mL/분의 유속으로 0 → 90% MeCN/0.1% 수성 포름산의 구배를 사용하였다. ¹H NMR 및 ¹³C NMR 스펙트럼을 (400 또는 500 MHz, 또는 100 또는 125 MHz에서) 브루커(Bruker) 스펙트럼계에서 기록하고 중수소화된 용매 신호에 대해 보고하였다.

[0236] ¹H NMR 스펙트럼에 대한 데이터를 하기와 같이 보고하였다: 화학적 이동(δ ppm), 다중도, 결합상수(Hz) 및 적분값. ¹³C NMR 스펙트럼에 대한 데이터를 화학적 이동으로 보고하였다. IR 스펙트럼을 제스코(Jasco) FT/IR-4100 스펙트럼계에서 기록하고 흡광의 진동수(cm⁻¹)로 보고하였다. 양자 수율 측정에 대한 흡광 곡선을 UV프로브(UVProbe) 2.32 소프트웨어에 의해 작동하는 시마즈 UV-2550 스펙트럼광도계에서 작도하였다. 형광 흔적을 펠릭스GX(FelixGX) 4.2.2 소프트웨어에 의해 작동하는 PTI 퀀타마스터(PTI QuantaMaster) 정상상태 스펙트럼형광계에서 기록하였다(5 nm의 여기 및 방출 슬릿 너비, 0.1초의 적분 속도, 방출 보정 가능). 데이터 분석 및 곡선 근사를 마이크로소프트(Microsoft:등록상표) 엑셀 2011 소프트웨어 및 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 7 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 광도 측정을 S120VC 표준 Si 광다이오드 출력 센서(200 내지 1100 nm, 50 nW 내지 50 mW)가 장착된 토르랩스 PM299 광출력 및 에너지 측정계에 의해 수행하였다. 유세포 분석을 CCR 플로우 사이토메트리 코어(CCR Flow Cytometry Core)(NCI-프레데릭(NCI-Frederick))에서 수행하고, 현미경분석을 옵티컬 마이크로스코피 앤드 애널리시스 래버라토리(Optical Microscopy and Analysis Laboratory)(NCI-프레데릭)에서 수행하였다. 문헌[JOC Standard Abbreviations and Acronyms for abbreviations(http://pubs.acs.org/userimages/ContentEditor/1218717864819/joceah_abbreviations.pdf)]을 참고한다.

[0237] 안정성 연구를 수행하기 위해, 화합물 7, 9 및 IR-800CW 화합물의 원료 용액을 먼저 DMSO 중 제조하였다. 50 mM PBS 완충액(pH = 7.4) 중 500배 희석을 수행하여 10 µM 샘플을 수득하였다. 상기 샘플을 HPLC(t = 0분)에 의해 분석하고, 탈이온수 중 5 µL의 0.2 M 글루타티온 용액을 첨가하여 1 mM의 최종 글루타티온 농도를 얻었다. 샘플을 HPLC에 의해 매 20분마다 연속적으로 분석하고, 출발 염료로부터 780 nm에서 흡광의 적분된 피크 면적을 시간에 대해 작도하였다. 0.8 mL/분의 유속으로 2 내지 98%(7분) MeCN/10 mM의 구배로 시메트리(Symmetry: 등록상표) 300 C18 3.5 µm 100 Å(2.1 x 100 mm) 컬럼(워터스(Waters), P/N 186000188)을 이용하여 어질런트 1260 인피니티 HPLC(Agilent 1260 Infinity HPLC)에서 상기 샘플을 분석하였다. IR-800CW 화합물의 글루타티온 부가물의 형성을 확인하기 위해, IR-800CW 화합물(50 µM)을 pH 7.4 PBS에서 24시간 동안 글루타티온(1 mM)에 사용 또는 미사용하여 항온처리하였다. MS 부가물([M/2]⁻)의 형성은 글루타티온을 사용한 것에서만 관찰되었다. 각각의 화합물의 세포 배양 특성규명, 세포-전체 용해물의 단리 및 시아닌 반응성의 겔-기반 분석을 수행하기 위해, 먼저 HEK293 세포를 10% FBS 및 2 mM 글루타민으로 보충된 DMEM의 성장 배지에서 5% CO₂ 하에 37°C에서 배양하였다. 세포를 빙냉 PBS로 3회 세척하고 팔콘(Falcon: 상표명) 관에 삭취(scraping)하고 원심분리(1400 rcf x 3분, 4°C)하여 세포 펠릿을 형성하고 PBS 상청액을 제거함으로써, 80 내지 90% 합류(confluency)로 세포를 수확하였다. 용해를 위해, 세포를 먼저 단백질분해효소 억제제 각테일(1X, EDTA-미함유, 셀 시그널링 테크놀로지(Cell Signaling Technology) # 5871S) 및 PMSF(1 mM, 시그마 # 78830)를 함유하는 1 mL 빙냉 PBS(10 내지 20 x 10⁶ 세포/mL) 중에 재현탁시킨 후, 100 W Q소니카(QSonic) XL2000 초음파처리기(3 x 1초 펄스, 진폭 1, 펄스간 얼음에서 60초 휴지기)를 사용하여 초음파처리에 의해 용해하였다. 용해물을 원심분리(1400 rcf x 30분, 4°C)에 의해 펠릿화하고 쿠빗(Qubit: 등록상표) 프로틴 에세이 키트(Protein Assay Kit)를 사용하여 쿠빗(등록상표) 2.0 형광계에서 정량분석하고 2 mg/mL로 희석하였다. 시아닌 반응성의

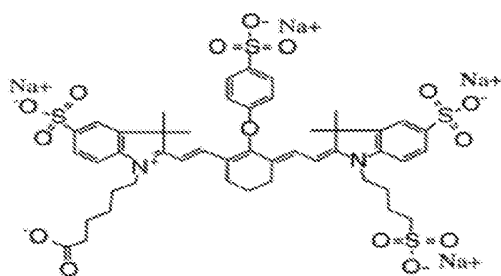
겔-기반 분석을 위해, 20 μ g의 HEK293 용해물을 실온에서 24시간 동안 10 μ M 시아닌 염료로 처리하고 4 내지 12% SDS-PAGE 겔에 로딩하고 제조사의 지침에 따라 전기영동으로 분리하였다. 겔을 근적외선 레이저 여기(700 nm 및 800 nm 여기 채널) 및 쿠마시 염색에 의해 오디세이(Odyssey: 등록상표) CLx 영상화 장치(LI-COR)를 사용하여 시각화하였다.

- [0238] 화합물 8 및 9의 티올 반응성을 평가하였다. FNIR-774(a C4'-O-알킬 시아닌)은 하기 나타난 티올-치환 반응에 거의 면역이고, C4'-페놀 변형은 쉽게 티올 교환을 거치는 것으로 공지되어 있다(문헌[Nani *et al.*, *Organic Letters* 2015, 17(2):302-305]).



[0239]

- [0240] 화합물 8, 9 및 IRDye(등록상표) 800CW 화합물의 반응성을 HPLC 분석을 사용하여 pH 7.4 PBS 중 1 mM 글루타티온(GSH)에서 비교하였다(도 9). FNIR-774는 동일한 조건하에 티올 첨가를 거치지 않았다.



[0241]

- [0242] (IRDye(등록상표) 800CW 화합물)

- [0243] IRDye(등록상표) 800CW 화합물은 질량 스펙트럼 분석에 의해 관찰시 생성된 GSH 부가물의 뚜렷한 형성으로, 2시간의 대략적 반감기($t_{1/2}$)로 소모되었다. 다소 예상외로, 일부 기타 선행 C4'-알킬 에터 시아닌과는 다르게, 에틸 연결 변형(8)은 동일한 조건하에 비록 다소 느릴지라도 동일한 반응을 거쳤다. 그러나, 트라이메틸-암모늄 작용기에 대해 프로필 연결을 갖는 화합물 9는 실온에서 12시간 항온처리 후 잔류하는 출발물질이 95% 미만으로 상기 조건에서 비반응성이었다. 이러한 결과는 C4'-O-알킬 시아닌이 강한 전자 구인성 작용기가 명확히 γ -, 위치가 아니라 β -, 위치에 부가될 때의 특정 경우에 티올 교환을 거침을 입증한다.

- [0244] 세포 단백질에서 티올-치환 반응을 평가하였다. HEK293으로부터 수득한 세포-전체 용해물을 화합물 8, 9, FNIR-774 및 IRDye(등록상표) 800CW 화합물에 의해 실온에서 24시간 동안 항온처리하였다. 이어서, 혼합물을 SDS-page 겔에서 전개시키고, 800 nm 형광 방출을 영상화하였다. 이러한 접근은 시아닌 형광 스캐폴드(fluorescent scaffold)에 의해 공유결합으로 변형된 단백질의 시각화를 가능하게 한다. 도 10에서 볼 수 있는 바와 같이, 화합물 8 및 IRDye(등록상표) 800CW 화합물은 현저한 표지를 나타낸다. 표지는 화합물 9 및 FNIR-774에서는 관찰되지 않았다. 이러한 형광대가 헵타메틴 시아닌 표지로부터 야기되는 개념과 상통하게, 유의미한 신호가 700 nm 여기로는 관찰되지 않았다. 이러한 연구는 C4'-페놀-치환된 시아닌이, 가설적으로는 전술한 S-알킬화 경로를 통해, 세포 단백질과 반응하여 생체내 적용에 덜 바람직하게 됨에 대한 제1의 증거를 제시한다.

- [0245] VII.iii. 생체내 화합물 특성규명

- [0246] 본 발명의 화학식 I 및 II의 헵타메틴 시아닌의 양태는 대상의 비뇨계 또는 담도계의 적어도 일부를 생체내 시각화시키는데 사용될 수 있다. 헵타메틴 시아닌을 포함하는 적합한 약학 조성물이 상기 대상에게 투여될 수 있다. 투여 후, 대상의 비뇨계 및/또는 담도계의 적어도 일부는 효과량의 근적외선 복사에 의해 조사될 수 있고 영상이 수득됨으로써, 비뇨계 및/또는 담도계의 장기 및/또는 구조가 시각화된다. 조사는 외부 또는 내부로 수행될 수 있다. 외부 조사를 목적으로 할 때, 표면 영역은 적절한 광 기구, 예컨대 마이크로렌즈, 프레스넬 렌즈 또는 디퓨저를 사용함으로써 제어될 수 있다. 내부 조사를 목적으로 할 때, 내시경 또는 광섬유 카테터가 사용될 수 있다. 비뇨계의 시각화를 목적으로 할 때, 헵타메틴 시아닌은 화학식 I 또는 IA의 구조를 가질 수 있다. 담도계의 시각화를 목적으로 할 때, 헵타메틴 시아닌은 화학식 I 또는 IIA의 구조를 가질 수 있다.

- [0247] 본 발명의 화학식 I 및 II의 헵타메틴 시아닌의 양태는 수술, 예컨대 복부 및/또는 골반 수술중 대상의 비뇨계 또는 담도계의 생체내 시각화에 사용될 수 있다. 헵타메틴 시아닌을 포함하는 적합한 약학 조성물이 상기 대상에게 투여될 수 있다. 대상의 비뇨계 및/또는 담도계의 일부는 효과량의 근적외선 복사에 의해 조사될 수 있고 영상이 수득됨으로써, 비뇨계 및/또는 담도계의 장기 및/또는 구조가 시각화된다. 조사는 전술한 바와 같이 외부 또는 내부로 수행될 수 있다. 외부 조사는 예컨대 개방 수술 절차중 대상의 피부를 통한 외부 조사 또는 관심 장기의 직접적인 외부 조사를 포함할 수 있다. 내부 조사는 예컨대 최소 침습 또는 복강경 절차중 사용될 수 있다. 하나의 양태에서, 헵타메틴 시아닌은 수술중 또는 수술 바로전(예컨대 5 내지 30분전)에 대상에게 투여될 수 있다. 비뇨계의 시각화를 목적으로 할 때, 헵타메틴 시아닌은 화학식 I 또는 IA의 구조를 가질 수 있다. 담도계의 시각화를 목적으로 할 때, 헵타메틴 시아닌은 화학식 I 또는 IIA의 구조를 가질 수 있다.
- [0248] VII.iii.a. 동물(스프래그 다울리(Sprague Dawley) 래트)에서 UL-766 평가
- [0249] 칠드런스 내셔널 호스피탈(Children's National Hospital) 동물 관리 및 사용 위원회는 프로토콜(IACUC # 30597)을 승인하였다. 모든 절차를 칠드런스 내셔널 호스피탈내의 리서치 애니멀 퍼실리티(Research Animal Facility)에서 수행하였다. 찰스 리버 래버러토리스(미국 메사추사츠주 윌밍턴)로부터의 암컷 250 내지 300 g 스프래그-다울리 래트를 본 실험에 사용하였다. 4% 이소플루란의 3분 흡입을 안정 및 구속(restraint)에 사용하였다. 2 mg/kg 자일라진 및 75 mg/kg 케타민의 근육내 주사를 사용하여 진신 마취를 유지하였다. 멸균 조건을 확보한 후, 개복술을 수행하였다. 형광 영상화를 위해, 24G 카테터를 꼬리 정맥에 위치시키고, 90 μ g/kg 주사를 수행하고 주사 후 즉시 영상화하였다.
- [0250] 색상 및 형광 영상화 기록을 모두 가능하게 하기 위해, 기존 수술용 현미경 OPMI S5(독일의 칼 짜이츠(Karl Zeiss))를 추가적인 2개의 카메라 포트(port)로 하여 사용하였다. 상기 현미경은 250 mm 초점 거리의 주 대물 렌즈, 및 현미경의 주 몸체에 결합된 가상 광선 분리장치(beamsplitter)에 의해 분리되는 왼팔 및 오른팔 모두에 위치하는 2개의 카메라 포트를 포함한다. CAM1(GS3-U3-41C6C-C, FLIR, U.S.)을 HD 색상 시야를 위해 사용하였는데, 이는 2048 x 2048 화소로 초당 30 프레임으로 작동한다. CAM2(GS3-U3-41C6NIR-C, FLIR, U.S.)를 근적외선 형광 영상화를 위해 사용하였는데, 이는 대역-통과 필터(790/30nm)를 포함하고 2048 x 2048 화소로 초당 30 프레임으로 작동한다. 조명을 위해, 단(short)-통과 필터(차단 파장: 800 nm)를 갖는 탑재식 현미경 조명장치를 사용하였다. 동시적인 시각화 및 기록을 위해, 카메라 제어에 대한 모든 스크립트(script)를 리눅스 작동 장치에서 자체적으로 구축하고 프로그래밍하였다.
- [0251] 요관 영상화 및 정량분석: 개방 수술의 경우, 표준적인 정중선 개복술을 수행하였다. 형광 영상화의 경우, 24G 카테터를 꼬리 정맥에 위치시키고, 90 μ g/kg 주사를 수행하고 주사 후 즉시 영상화하였다. 영상화 시스템을 위치시키고, 비디오를 2시간까지 실시간 녹화하였다. 모든 영상은 33밀리초의 노출 시간에 의해 입수하였다. 관심 영역에 대한 형광 신호와 기저 신호간의 비를 이미지J(ImageJ) 소프트웨어를 사용하여 정량분석하였다. 조영-기저 비(CBR)를 계산하고 시간에 대해 작도하였다. 결과를 평균(SEM)의 평균 $\pm$ SEM 오차로서 나타냈다.
- [0252] 화합물 9 또는 유레터 라벨(Ureter Label)-766(UL-7666)의 생체내 생분포 및 청소를 평가하고 IR-800CW 화합물과 비교하였다. 2개의 화합물을 래트에 정맥내 주사하고(0.09 mg/kg), 주사한 화합물의 거동을 60분에 걸쳐 실시간으로 감시하였다. 절차 및 영상화 연구의 상세내용은 전술하였다. 도 11에 도시한 바와 같이, IRDye(등록상표) 800CW 화합물은 담관, 소장 및 신장에서 주로 발견되어 복합적인 생분포를 나타냈다. 반대로, UL-766은 신장 또는 요관 이외의 임의의 장기에서 가시적인 비특이성 기저 신호가 없음으로 거의 배타적인 신장 청소를 나타냈다.
- [0253] 도 12는 IRDye(등록상표) 800CW 화합물 및 UL-766을 사용한 시간에 따른 조영-기저 비(CBR)를 도시한 것이다. 상기 곡선을 근거로, CBR은 IRDye(등록상표) 800CW 화합물보다 UL-766에 대해 2배가 넘게 컸다. 또한, UL-766의 주사 후, 요관 시각화에 대한 시간대가 훨씬 더 길었고 거의 즉시 시작되었다.
- [0254] 시판되는 염료(인도시아닌 그린(ICG), IRDye(등록상표) 800CW 화합물), 및 화학식 I(UL-766) 및 II(Nac-Ary11-H_N-BS, BL-760로도 지칭됨)의 화합물을 비롯한 몇몇 헵타메틴 시아닌을 전술한 래트에 주사할 때 담관으로의 분비 및 담관:요관 특이성에 대해 평가하였다. 영상을 주사 10분 후 수득하였다. 결과를 도 13aa 내지 13bb에 도시하였다. 놀랍게도, 단지 UL-766만이 담관으로의 분비가 거의 또는 전혀 없이 30%의 양자 수율로 높은 요관 특이성(95%)을 나타냈다. 실질적으로, UL-766은 40% 초과와 비뇨계 특이성을 갖는 유일한 화합물이었다. 2개의 다른 화합물, FNIR-Ar-H_N-BS 및 Nac_Ary11-H_N-BS(BL-760)는 5분내에 담관으로의 신속한 분비 및 20% 이상의 양자 수율로 높은 담관 특이성(95 내지 100%)을 나타냈다. 또한, 일부 다른 화합물들도 담관 특이성을 나타냈지만, 분비가 매우 느리고/거나 양자 수율이 낮았다. 예컨대, FDA-승인된 ICG는 담관 특이성이지만, 4시간의

담관 분비 시간 및 단지 9%의 양자 수율을 갖는다. IRDye(등록상표) 800CW 화합물은 담관으로 신속하게 분비되지만, 60:40의 담관:요관 특이성을 가져 불허하게 높은 비특이적 형광을 야기한다.

[0255] VII.iii.b. 동물(돼지)에서 UL-766 평가

[0256] 개략적으로는, 본 연구로 복강경 수술에서 UL-766의 유용성을 평가하였다. 또한, 본 연구로 활성 염증에서도 요관 시각화를 보조하는 UL-766의 능력을 평가하였다. 임상적으로 이용가능한 복강경 형광 시스템을 이용하는 동안, 복부 염증을 갖는 돼지 모델에서 요관 시각화를 보조하는 염료의 능력을 평가하였다.

[0257] UL-766 염료를 전술한 바와 같이 합성하고 실험 시작시까지 -20℃에서 저장하였다.

[0258] 복강경 시스템은 FDA-승인된 복강경 형광 영상화 시스템(모델-L(Model-L), 미국의 인더스마트 인코포레이티드(InTheSmart Incorporated))이었다. 상기 시스템은 이중 광원(ITSEL1711, 인더스마트 인코포레이티드)에 의해 동시적으로 백색광 및 근적외선 영상화가 가능하다.

[0259] 2마리의 암컷 요크셔셔(Yorkshire) 돼지(체중 20 내지 30 kg)를 사용하였다. 추가 절차에서, 염증을 우측 후복막강에 생성하였다. 각각의 돼지에 삽관하고 이소플란은 전신 마취하에 둔 후, 좌측면 욕창 위치에 위치시켰다. 복부를 준비시키고 4개의 투관침을 삽입한 후, 우측 요관을 무딘 박리 및 전기소작에 의해 주변 조직으로부터 주의하여 박리하였다. 이를 우측 아래 신장 가장자리 층으로부터 시작하여 아래로 방광으로의 요관 삽입 부까지 수행하였다. 요관이 혈관 관류로부터 탈탈력화되지 않도록 주의를 기했다. 이어서, 거즈 물을 사용하여 점상 출혈이 보일 때까지 조직을 두드려 요관 및 후복막 조직을 더욱 마멸시켰다. 충분한 마멸 후, 투관침 및 거즈를 제거하였다.

[0260] 염증이 발달하도록 하고, 돼지를 초기 수술 7일 후 수술실에 재투입시켰다. 우측 후복막강을 근적외선 및 백색광 모두로 조명하여 복강경 시스템에서 융합 시각화를 제공하였다. UL-766 염료를 10 mL 멸균수 중 희석하고 20 mL/kg/시의 속도로 보통의 염주 주입에 의해 귀 정맥에 120 µg/kg으로 주사하였다. UL-766 염료로 요관의 시각화 달성 후, 요관을 내측 신장 극(pole) 층으로부터 시작하여 방광으로의 삽입부까지 이의 주변 세포로부터 박리하였다. 형광 신호를 초기 주사 4시간 후까지 감시하였다. 실험 종료시, 복막강으로 소변의 방출을 확인하여, 가위로 부분 또는 완전 횡절단에 의해 요관을 손상시켰다.

[0261] CBR을 관심 구조에서의 형광 강도 대 주변 조직에서의 형광 광도의 비로서 정의하였다. UL-766 염료의 CBR은 하기 수학적 식 1과 같이 계산된다:

[0262] [수학적 식 1]

$$CBR = \frac{(\text{요관에서의 형광 강도} - \text{기저 강도})}{\text{기저 강도}}$$

[0263]

[0264] 상기 식에서, 기저 강도는 후복막강 조직의 조직에서 측정된 형광 신호이다. 본질적으로, CBR은 신호가 특정 조직에 얼마나 잘 국소화되었는지를 설명하는데 도움이 된다. 높은 CBR을 갖는 염료는 고도로 형광인 표적에 대해 주변 조직에서는 최소 내지 부재하는 형광 신호로 강한 대비를 생성한다.

[0265] 제1의 돼지에서, 염료 주사 7분 후 요관의 시각화를 달성하였다. 제2의 돼지에서는, 요관의 시각화를 염료 주사 5분 후 충분히 달성하였다. 예상한 바와 같이, 요관으로부터의 형광 신호는 요관 강내에 소변이 존재할 때에만 가시적이다. 소변의 형광 덩어리(bolus)가 신우로부터 요관에서 방광을 따라 이동하는 것을 볼 수 있다. 형광 신호는 요관 신호의 존재 전에는 신장에서 볼 수 있었다. 상기 장기에서의 피크 CBR을 하기 표 1에 나타냈다. 나타낸 것은 염료 주사 후 10분 및 4시간에서 요관에서의 평균 CBR 값(각각 38.56 및 14.5)이다.

표 1

[0266]

ULL-766 주사 후 요관의 평균 조영-기저 비		
	주사 후 시간	
	10분	4시간
신장	17.96	11.20
요관	38.56	14.50
방광	1.49	2.98

[0267] 후복막강 염증의 생성은 성공적이었다. 제2의 돼지에서, 염증은 원위 신우쪽의 요관에서 중간 정도의 폐쇄를

야기하는 접착성 대(band) 발달을 야기하기에 충분하였다. 형광 신호는 주변 염증 조직을 박리하여 요관으로부터 떼어냄을 유도하도록 되어 있었다. 돼지 둘다에서, 염증 요관은 이의 주변 조직으로부터 성공적으로 단리되었다.

[0268] VII.iii.c. 동물(스프래그 래트 및 돼지)에서 BL-760 평가

[0269] 추가적인 4개의 헵타메틴 시아닌과 함께 BL-760을 시험하였다. 각가를 동물 실험에서 사용을 위해 제조하고 -20℃에서 저장하였다. 상대 명도를 수술용 현미경에서 1 mg/mL 용액을 사용하여 측정하였다. 화합물의 생분포를 시각화하기 위해, 각각의 약물을 래트에 정맥내 투여하였다(투여 속도: 90 μg/kg).

[0270] 암컷 25 내지 300 g의 스프래그 래트를 사용하였다. 개복술을 수행하였다. 형광 영상화를 위해, 24G 카테터를 꼬리 정맥에 위치시키고, 형광단의 주사(90 μg/kg)를 수행하고 주사 후 즉시 영상화하였다. 영상화 시스템을 설치하고, 비디오를 형광단 주사 3시간 후까지 실시간으로 녹화하였다. 표적 대 기저(TBR) 노이즈(noise), 또는 (표적-노이즈)/(기저-노이즈)를 계산하되, 상기 기저는 정상적인 인접 간 실질 조직이고, 표적은 CBD이다. 노이즈를 표적 및 기저 외부 영역에 사용하였다.

[0271] 최소 침습 경합을 더 잘 모델링하기 위해, 복강경 영상화를 암컷 요크샤이어 돼지(25 내지 30 kg)에서 수행하였다. 중간선 개복술을 수행하였다. 절차 시작시, 칼롯의 삼각형을 노출시키고 영상화하였다. 영상화 2시간 후, 전기소작을 사용하여 좌측 엽절제술을 수행하여 간 실질에 지나는 간내 관을 시각화하였다. 복강경 시스템을 설치하고, 비디오를 형광단 주사 3시간에 걸쳐 실시간으로 녹화하였다. CBR을 계산하였다.

[0272] 돼지에 정맥내 염료 주사(90 μg/kg) 후, ICG 및 BL-760으로부터의 형광 신호를 입수하고 복강경 영상화 시스템에 의해 기록하였다. 먼저, 담낭관에서 BL-760 형광 신호를 유사한 주사 후 시점에서 ICG의 것과 비교하였다. 정맥내 주사 후 5 내지 10분내에, 담낭관은 돼지 둘다에서 성공적으로 시각화되었다. 도 13에서 볼 수 있는 바와 같이, 주사 후 9분의 시간에서, BL-760은 ICG보다 담관과 간 실질간의 높은 TBR 대비를 나타낸다. 이러한 대비는 주사 후 2시간에서도 지속되었다.

[0273] 담낭 및 담낭관의 시각화를 제공하는 이러한 대비 능력도 돼지에서 평가하였다. 담낭, 담낭관 및 담낭 동맥간의 윤곽은 도 15에서 형광을 통해 관찰될 수 있다.

[0274] 간문을 주의하여 박리한 후, 칼롯의 삼각형을 노출하고 도 16에 도시한 바와 같이 성공적으로 시각화하였다. 또한, 좌측 엽절제술을 수행하였다. 간 절제 후, 도 16에 도시한 바와 같이 간내 관을 형광 신호에 의해 노출시키고 강조하였다. 또한, 절차중, 간 실질에 작은 구멍들을 생성하고, 나타낸 바와 같이 담즙 누출을 용이하게 검출하였다.

[0275] 간절제술 동안, BL-760은 글리슨(Glisson)을 간정맥과 구별할 수 있게 하였다. BL-760은 수술중 예상치 못한 담관의 식별을 가능하게 하였다.

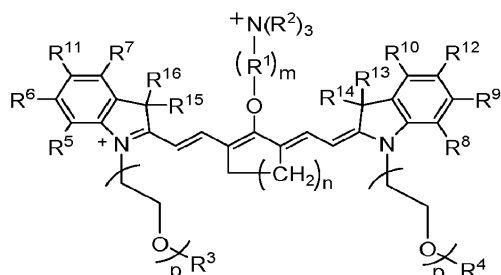
[0276] 본 발명의 원리가 적용될 수 있는 다수의 가능한 양태의 관점에서, 예시된 양태는 단지 본 발명의 바람직한 예일 뿐이지 본 발명의 범주를 한정하는 것으로 여겨져선 안된다. 오히려, 본 발명의 범주는 하기 청구범위에 의해 한정된다. 따라서, 본 발명자들은 청구범위의 범주 및 사상으로 모두가 도출되는 본 발명을 청구한다.

[0277] 명확히, 다수의 개질 및 변형이 상기 교시를 반영하여 가능하다. 이에 따라, 첨부된 청구범위의 범주내에서 본 발명이 본원에 구체적으로 기재된 것과 달리도 실시될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0278] 본 발명의 양태는 하기 괄호 항목으로도 제시될 수 있다.

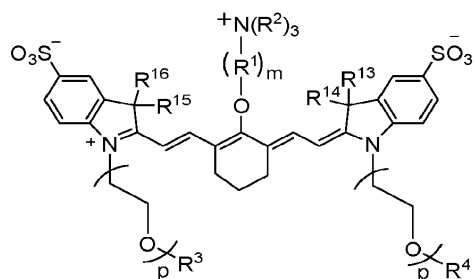
[0279] (1). 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 입체 이성질체:

[0280] [화학식 I]



[0281]

- [0282] 상기 식에서,
- [0283] m 은 3, 4 또는 5이고;
- [0284] n 은 1, 2 또는 3이고;
- [0285] 각각의 p 는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;
- [0286] R^1 은 $-\text{CR}_2^a-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고;
- [0287] 각각의 R^2 는 독립적으로 메틸, 에틸, n -프로필 또는 이소프로필이고;
- [0288] R^3 및 R^4 는 독립적으로 알킬이고;
- [0289] R^5 내지 R^{10} 은 독립적으로 H 또는 알킬이고;
- [0290] R^{11} 및 R^{12} 는 독립적으로 설포네이트, H 또는 알킬이고;
- [0291] R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이다.
- [0292] (2). (1)에 있어서,
- [0293] R^3 및 R^4 가 동일하고;
- [0294] R^5 및 R^8 이 동일하고;
- [0295] R^6 및 R^9 가 동일하고;
- [0296] R^7 및 R^{10} 이 동일하고;
- [0297] R^{11} 및 R^{12} 가 동일하고;
- [0298] R^{13} 내지 R^{16} 이 동일한,
- [0299] 화합물.
- [0300] (3). (1) 또는 (2)에 있어서,
- [0301] p 가 2, 3 또는 4인, 화합물.
- [0302] (4). (1) 내지 (3) 중 어느 하나에 있어서,
- [0303] 하기 화학식 IA의 화합물:
- [0304] [화학식 IA]



- [0305]
- [0306] 상기 식에서,
- [0307] R^1 은 $-\text{CH}_2-$ 이고;
- [0308] m 은 3이고;

[0309] p는 2, 3 또는 4이다.

[0310] (5). (1) 내지 (4) 중 어느 하나에 있어서,

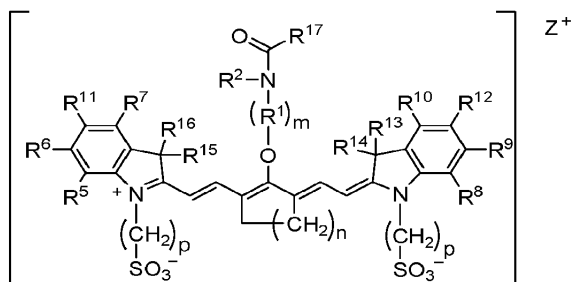
[0311] R^3 및 R^4 가 메틸임; 및

[0312] R^{13} 내지 R^{16} 이 메틸임

[0313] 중 적어도 하나에 해당하는 화합물.

[0314] (6). 하기 화학식 II의 화합물 또는 이의 입체 이성질체:

[0315] [화학식 II]



[0316]

[0317] 상기 식에서,

[0318] m은 2, 3, 4 또는 5이고;

[0319] n은 1, 2 또는 3이고;

[0320] 각각의 p는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이고;

[0321] R^1 은 $-CR^a_2-$ 이되, 각각의 R^a 는 H, 할로, 임의적으로 치환된 알킬 또는 임의적으로 치환된 아릴이고;

[0322] R^2 는 C_1-C_3 알킬이고;

[0323] R^5 내지 R^{12} 는 독립적으로 H 또는 알킬이고;

[0324] R^{13} 내지 R^{16} 은 독립적으로 알킬이고;

[0325] R^{17} 은 C_1-C_3 알킬이고;

[0326] Z는 1원자 이온이다.

[0327] (7). (6)에 있어서,

[0328] R^5 및 R^8 이 동일하고;

[0329] R^6 및 R^9 가 동일하고;

[0330] R^7 및 R^{10} 이 동일하고;

[0331] R^{11} 및 R^{12} 가 동일하고;

[0332] R^{13} 내지 R^{16} 이 동일한,

[0333] 화합물.

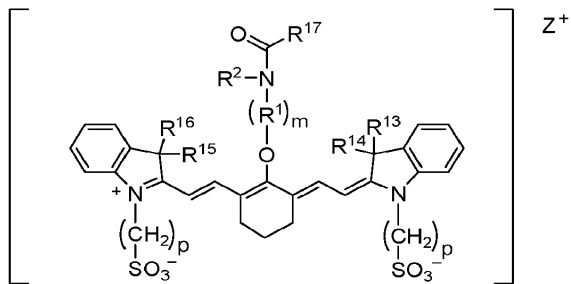
[0334] (8). (6) 또는 (7)에 있어서,

[0335] p가 3, 4 또는 5인, 화합물.

[0336] (9). (6) 내지 (8) 중 어느 하나에 있어서,

[0337] 하기 화학식 IIA의 화합물:

[0338] [화학식 IIA]



[0339]

[0340] 상기 식에서,

[0341] R¹은 -CH₂-이고;

[0342] m은 2이고;

[0343] p는 3, 4 또는 5이다.

[0344] (10). (6) 내지 (9) 중 어느 하나에 있어서,

[0345] R¹⁷이 메틸 또는 에틸임; 및

[0346] R¹³ 내지 R¹⁶이 메틸임

[0347] 중 적어도 하나에 해당하는 화합물.

[0348] (11). (1) 내지 (5) 중 어느 하나에 있어서,

[0349] 각각의 R²가 독립적으로 메틸 또는 에틸인, 화합물.

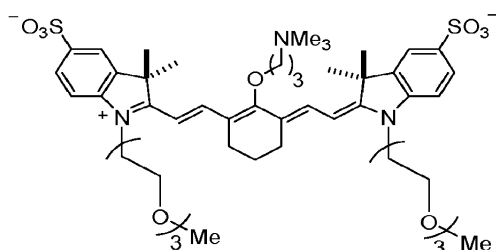
[0350] (12). (6) 내지 (10) 중 어느 하나에 있어서,

[0351] 각각의 R²가 독립적으로 메틸 또는 에틸인, 화합물.

[0352] (13). (1) 내지 (5) 중 어느 하나에 있어서,

[0353] 하기 화학식 1의 화합물:

[0354] [화학식 1]

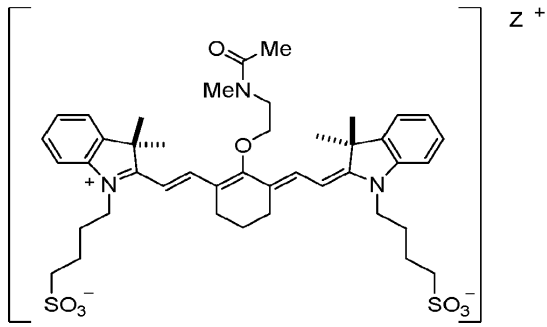


[0355]

[0356] (14). (6) 내지 (10) 중 어느 하나에 있어서,

[0357] 하기 화학식 2의 화합물:

[0358] [화학식 2]



(15). (1) 내지 (5) 중 어느 하나의 화합물; 및

약학적으로 허용되는 담체

를 포함하는 약학 조성물.

(16). (6) 내지 (10) 중 어느 하나의 화합물; 및

약학적으로 허용되는 담체

를 포함하는 약학 조성물.

(17). 대상의 비노계 및 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,

상기 대상에게 화합물을 투여하는 단계;

이어서, 일정량의 광을 상기 대상의 표적부에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계; 및

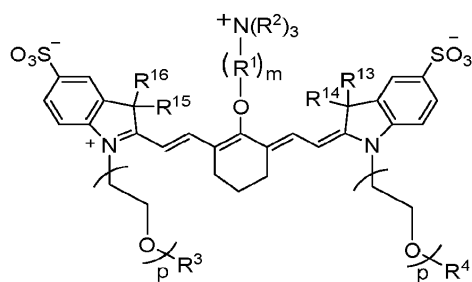
상기 대상의 상기 표적부에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 대상의 상기 표적부에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계

를 포함하는 방법.

(18). (17)에 있어서,

화합물이 하기 화학식 IA의 화합물인, 방법:

[화학식 IA]



상기 식에서,

R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

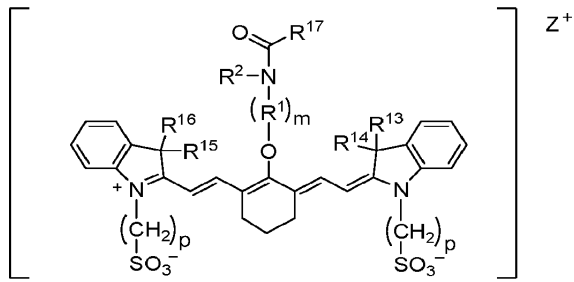
m 은 3이고;

p 는 2, 3 또는 4이다.

(19). (17) 또는 (18)에 있어서,

화합물이 하기 화학식 IIA의 화합물인, 방법.

[0381] [화학식 IIA]



[0382]

[0383] 상기 식에서,

[0384] R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

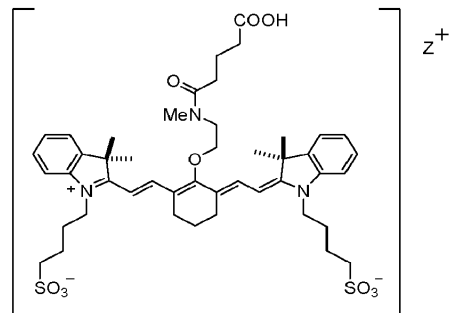
[0385] m 은 2이고;

[0386] p 는 3, 4 또는 5이다.

[0387] (20). (17) 내지 (19) 중 어느 하나에 있어서,

[0388] 화합물이 하기 화학식 3의 화합물인, 방법:

[0389] [화학식 3]



[0390]

[0391] 상기 식에서,

[0392] Z 는 1원자 이온이다.

[0393] (21). (17) 내지 (20) 중 어느 하나에 있어서,

[0394] 광이 근적외선 범위내의 파장 또는 파장 범위를 갖는, 방법.

[0395] (22). (17) 내지 (21) 중 어느 하나에 있어서,

[0396] 대상의 표적부가 비뇨계의 적어도 일부를 포함하는, 방법.

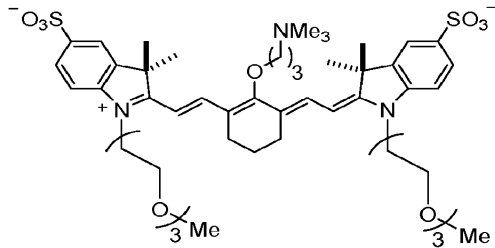
[0397] (23). (17) 내지 (22) 중 어느 하나에 있어서,

[0398] 광이 760 내지 780 nm의 파장을 갖는, 방법.

[0399] (24). (17)에 있어서,

[0400] 화합물이 하기 화학식 1의 화합물인, 방법:

[0401] [화학식 1]



[0402]

[0403]

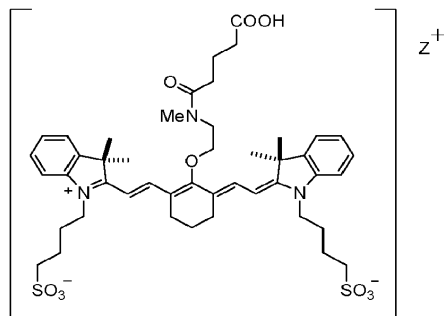
[0404]

(25). (17)에 있어서,

화합물이 하기 화학식 3 및 IIA로 이루어진 군으로부터 선택되고, 대상의 표적화된 일부가 담도계의 적어도 일부를 포함하는, 방법:

[0405]

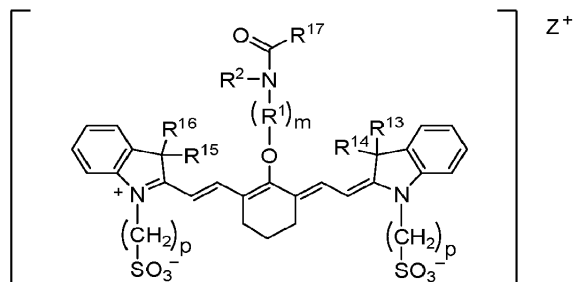
[화학식 3]



[0406]

[0407]

[화학식 IIA]



[0408]

[0409]

상기 식들에서,

[0410]

R^1 은 $-CH_2-$ 이고;

[0411]

m은 2이고;

[0412]

p는 3, 4 또는 5이다.

[0413]

(26). (17) 또는 (25)에 있어서,

[0414]

광이 600 내지 850 nm의 파장을 갖는, 방법.

[0415]

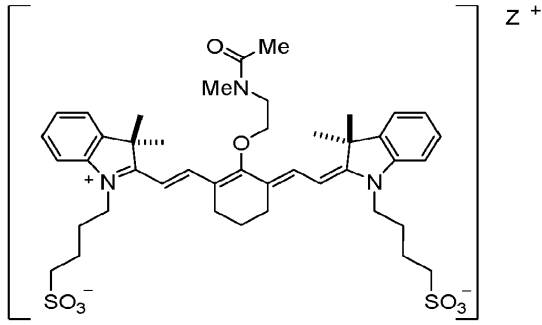
(27). (17) 또는 (25)에 있어서,

[0416]

화합물이 하기 화학식 2의 화합물인, 방법:

[0417]

[화학식 2]



(28). 환자의 비노계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,

상기 환자에게 화합물을 투여하는 단계;

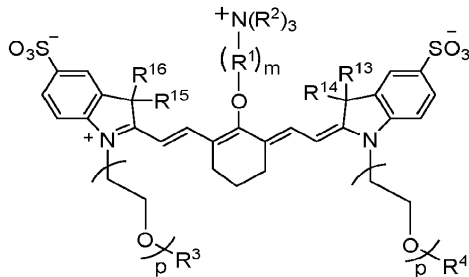
이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 요관신우 접합부에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계;

상기 환자의 상기 요관신우 접합부에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 환자의 요관신우 접합부에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계; 및

상기 환자의 상기 요관신우 접합부에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 요관의 폐쇄를 측정하는 단계를 포함하고,

상기 화합물이 하기 화학식 IA의 화합물인, 방법:

[화학식 IA]



상기 식에서,

R^1 은 $-\text{CH}_2-$ 이고;

m 은 3이고;

p 는 2, 3 또는 4이다.

(29). 환자의 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,

상기 환자에게 화합물을 투여하는 단계;

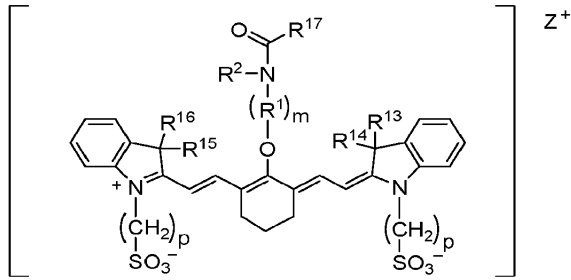
이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 담도계에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계;

상기 환자의 상기 담도계에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 환자의 담도계에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계; 및

상기 환자의 상기 담도계에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 상기 담도계의 담관으로부터의 담즙 누출을 측정하는 단계를 포함하고,

상기 화합물이 하기 화학식 IIA의 화합물인, 방법:

[0437] [화학식 IIA]



[0438]

[0439] 상기 식에서,

[0440] R¹은 -CH₂-이고;

[0441] m은 2이고;

[0442] p는 3, 4 또는 5이다.

[0443] (30). 환자의 담도계의 적어도 일부를 시각화하는 방법으로서,

[0444] 상기 환자에게 화합물을 투여하는 단계;

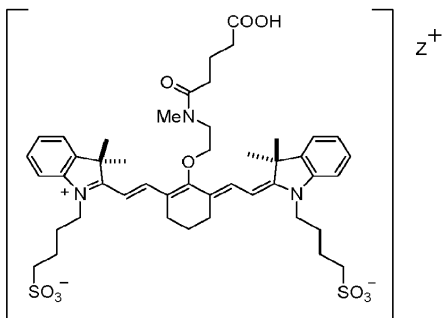
[0445] 이어서, 일정량의 광을 상기 환자의 담도계에 투여하되, 상기 일정량의 광이 상기 화합물의 형광을 생성하기에 충분한 파장 및 강도를 갖는, 단계;

[0446] 상기 환자의 상기 담도계에서 형광을 검출하되, 상기 형광이 상기 환자의 담도계에서 상기 화합물의 존재를 나타내는, 단계; 및

[0447] 상기 환자의 상기 담도계에서의 상기 형광 검출을 기반으로, 상기 담도계의 담관으로부터의 담즙 누출을 측정하는 단계를 포함하고,

[0448] 상기 화합물이 하기 화학식 3의 화합물인, 방법:

[0449] [화학식 3]



[0450]

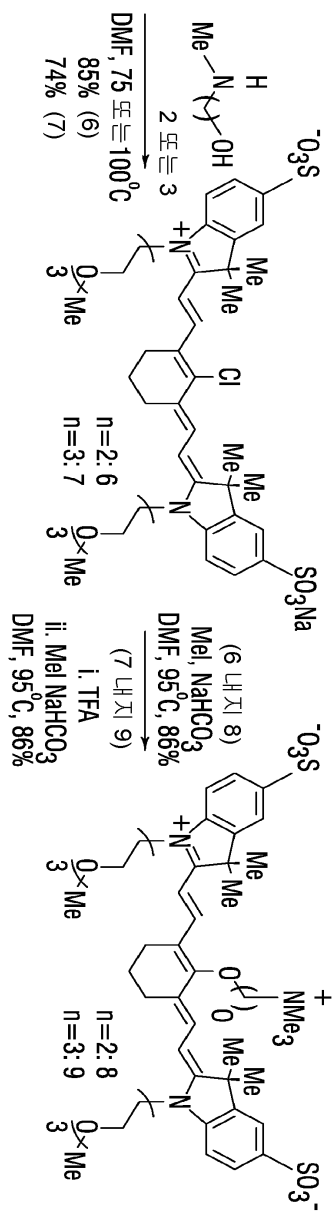
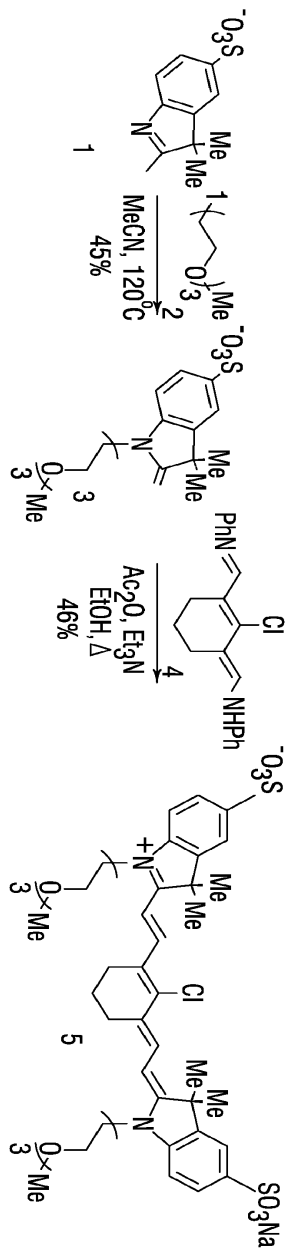
[0451] 상기 식에서,

[0452] Z는 1원자 이온이다.

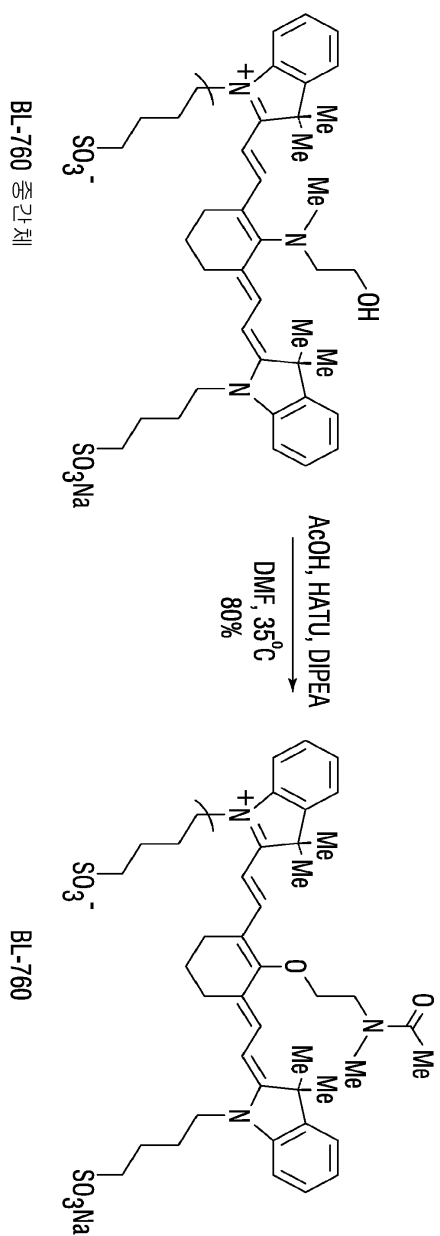
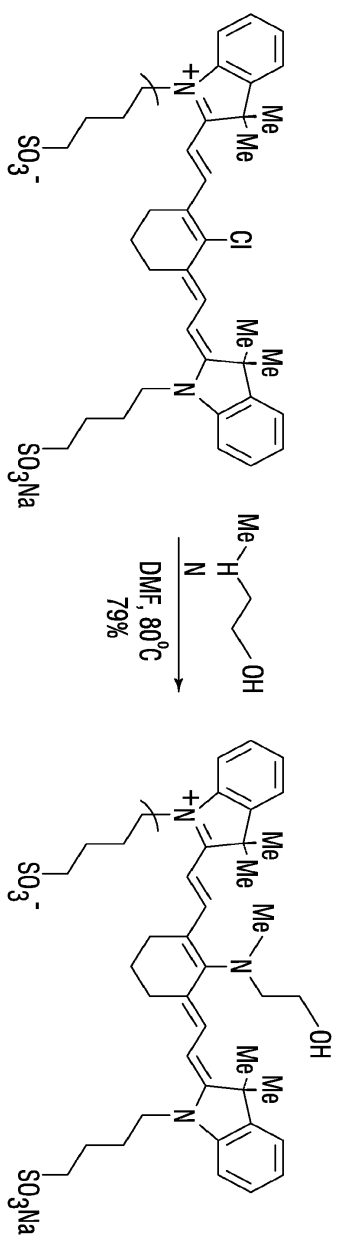
[0453] 따라서, 전술한 논의는 본 발명의 단지 예시적인 양태를 개시하고 설명한 것이다. 본 발명이 이의 사상 또는 본질적 특성으로부터 벗어남 없이 다른 구체적 형태로 양태화될 수 있음이 당업자에게 이해될 것이다. 따라서, 본 발명의 개시는 예시적이고 본 발명의 범주 및 다른 청구범위를 한정하지 않도록 의도된 것이다. 본원의 교시의 임의의 용이하게 인식가능한 변형을 포함한 개시는 어떠한 본 발명의 대상물도 공공에 헌납된 것이 아니도록, 전술한 청구 용어의 범주를 부분적으로 한정한다.

도면

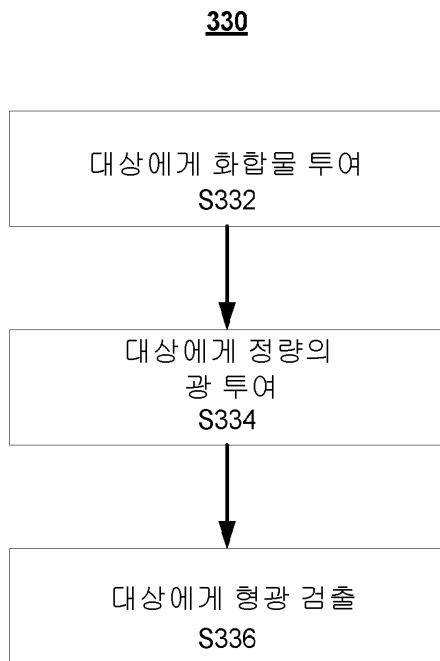
도면1



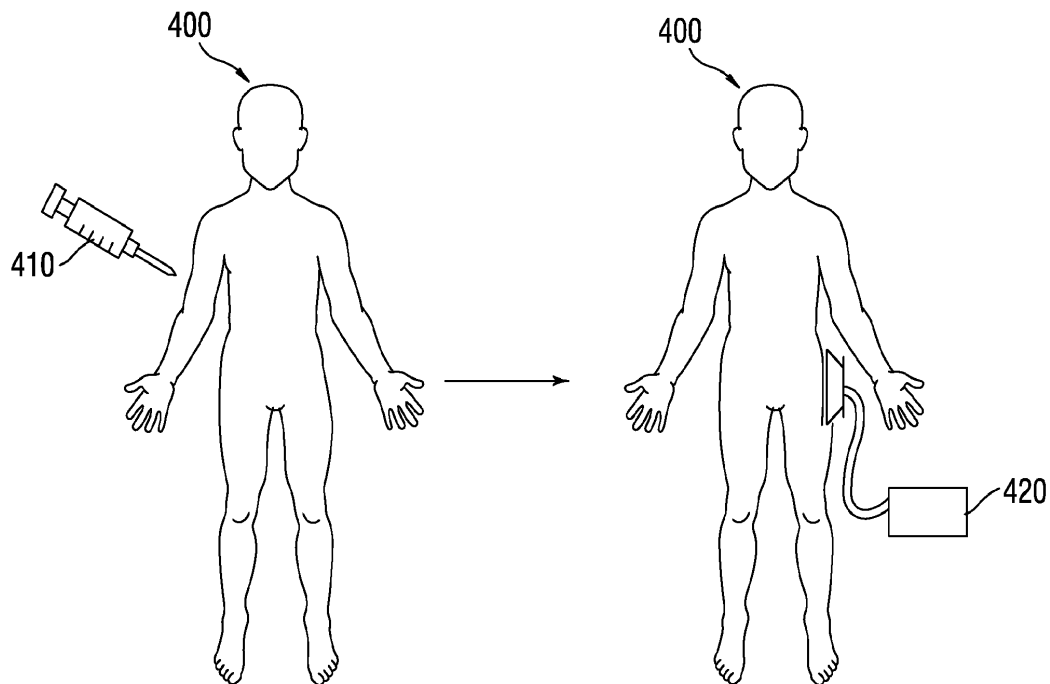
도면2



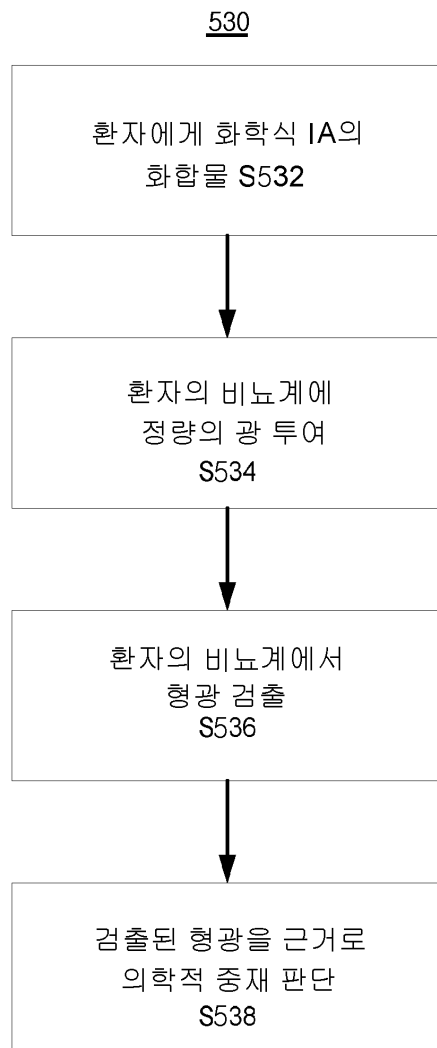
도면3



도면4



도면5

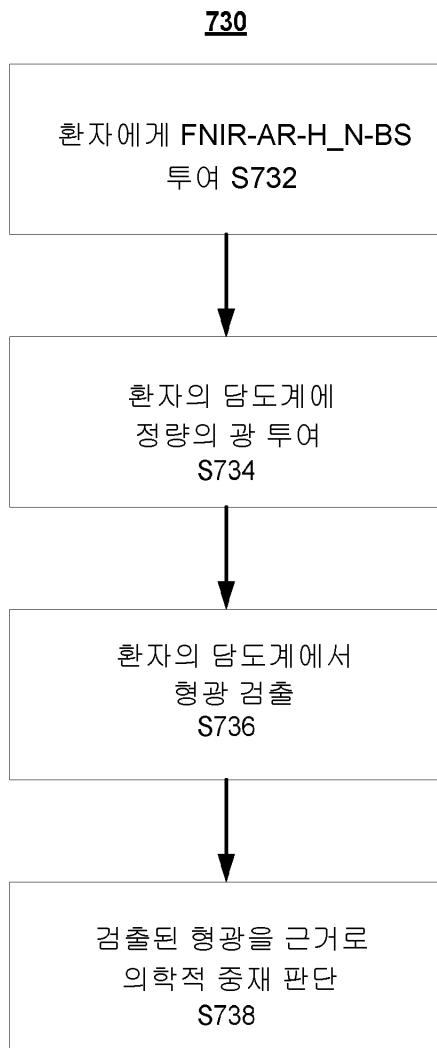


도면6

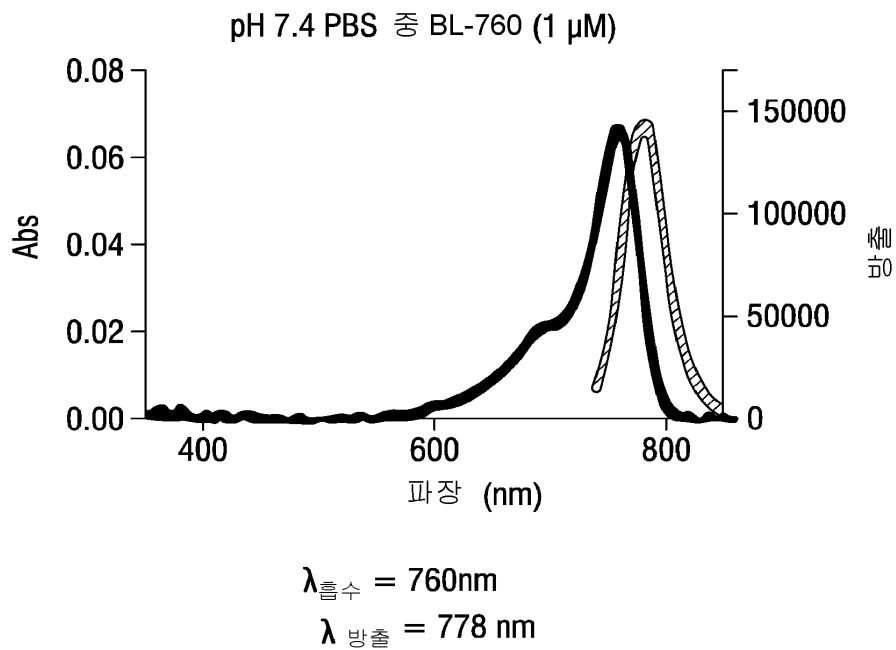
630



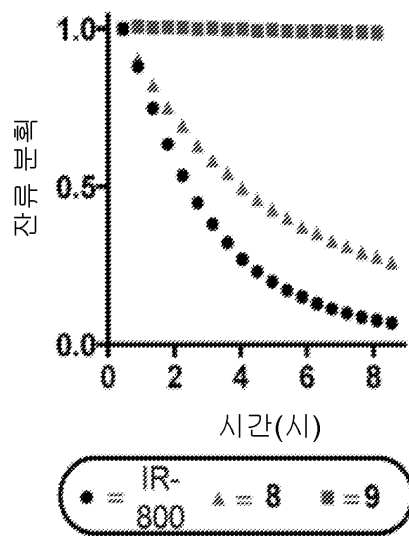
도면7



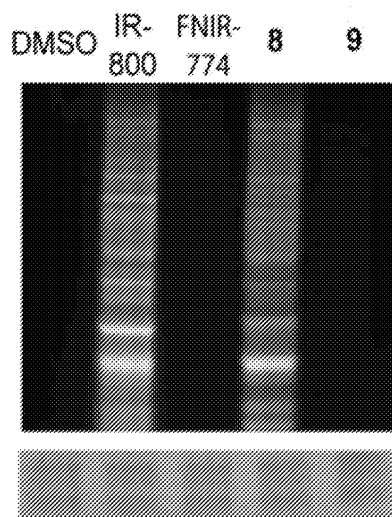
도면8



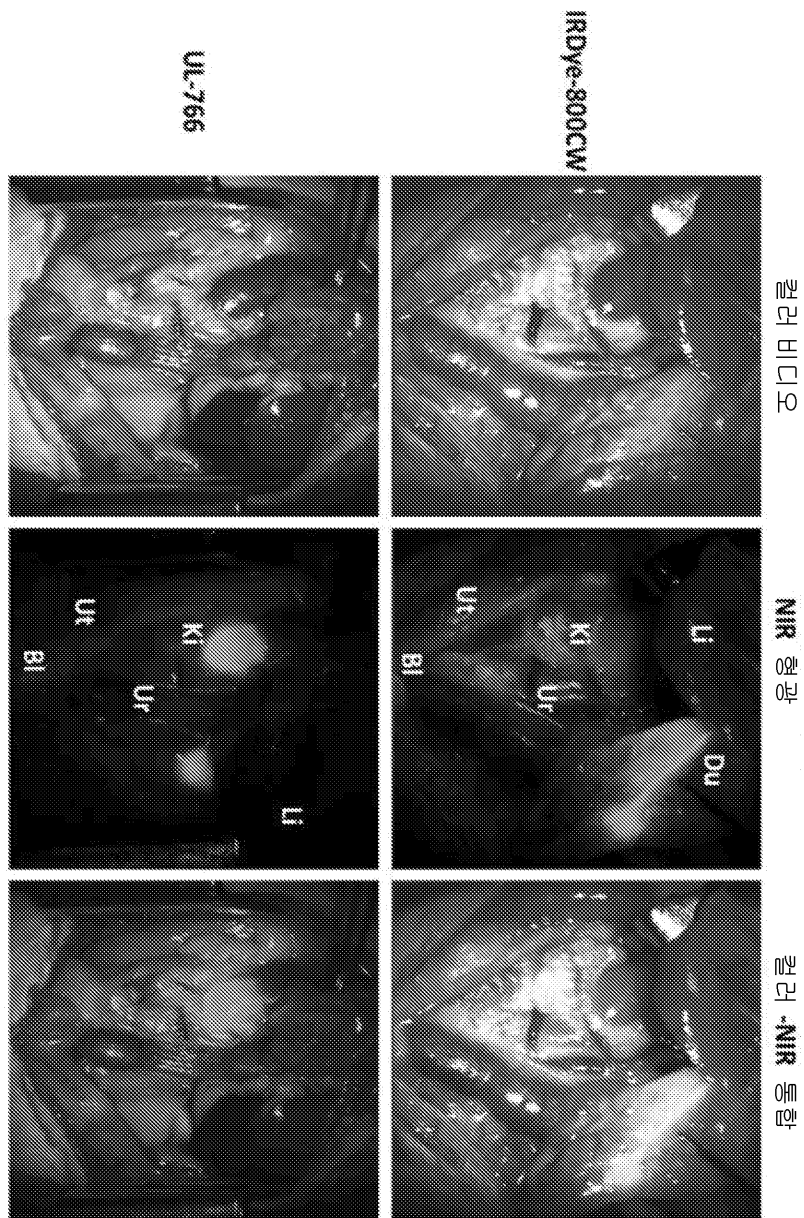
도면9



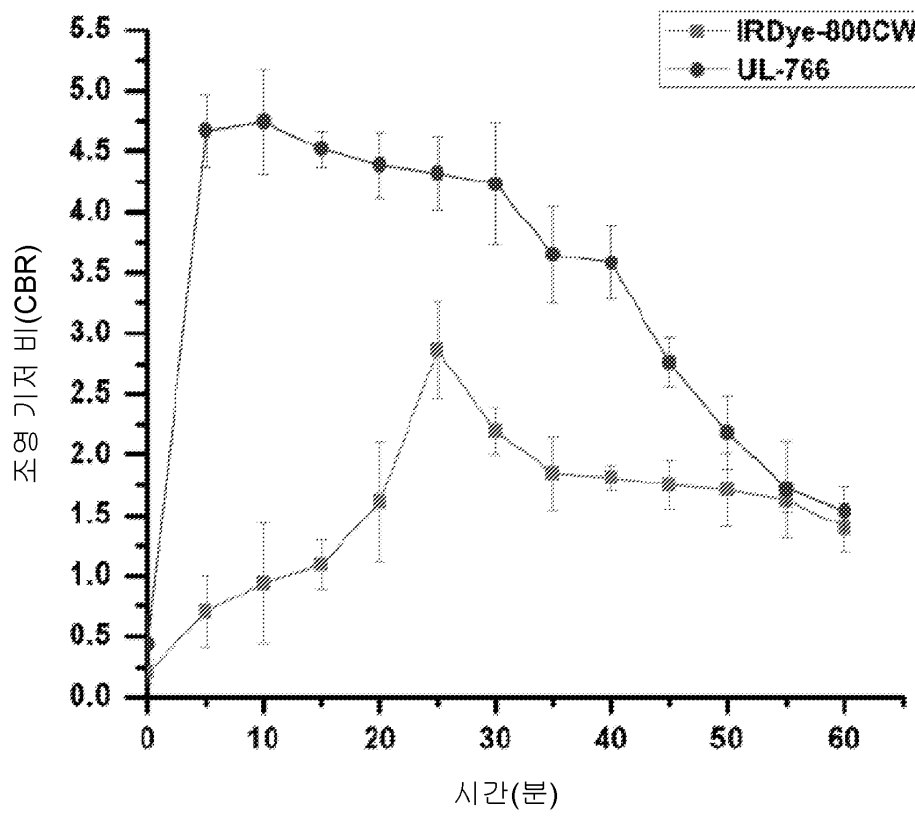
도면10



도면11



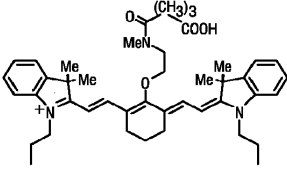
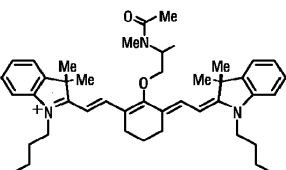
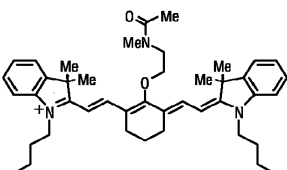
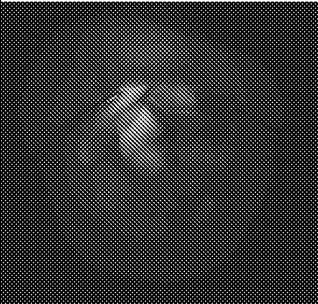
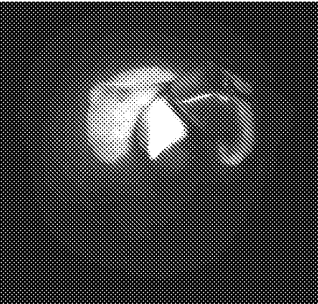
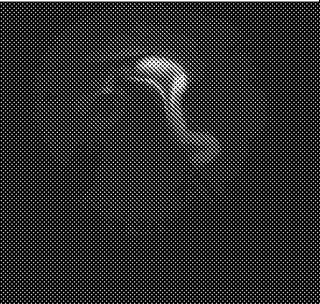
도면12



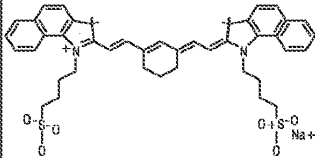
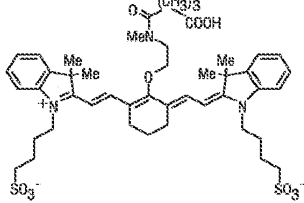
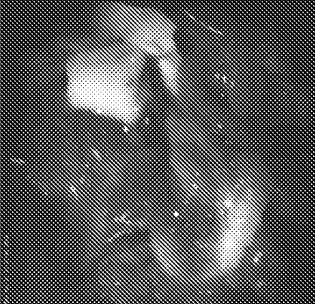
도면 13aa

	FNIR-774	FNIR-Ar-H_N-BS
구조		
주사후 10분		
담즙으로 분비	+++ (5분)	+++ (5분)
특이성 (담관: 요관)	60:40	95:5
설폰화	4	2
양자 수율, cLogP* *(Chemdraw 사용 계산치)	12%, 8.0	25%, 3.8

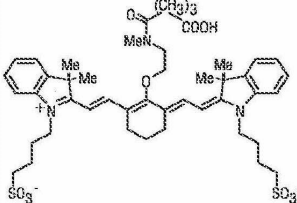
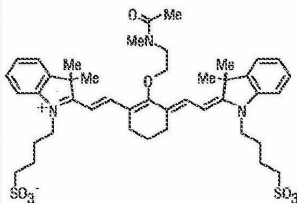
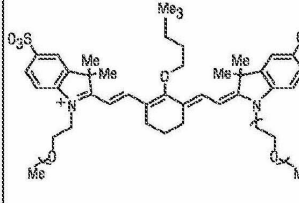
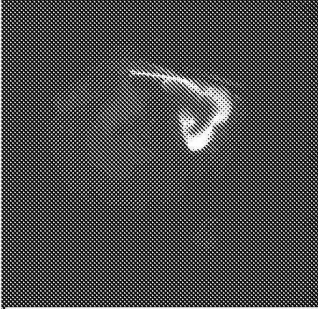
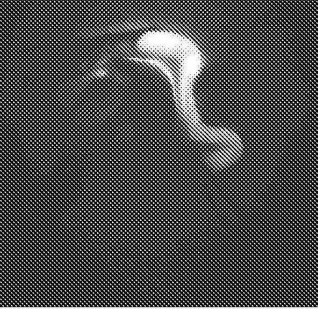
도면 13ab

FNIR-Ar-HN-Pr	Nac_AryL-H_N-PA	Nac_AryII-H_N-BS
		
		
+ (45분)	+ (30분)	+++ (5분)
100:0	100:0	100:0
0	0	2
9%, 8.3	18%	20%

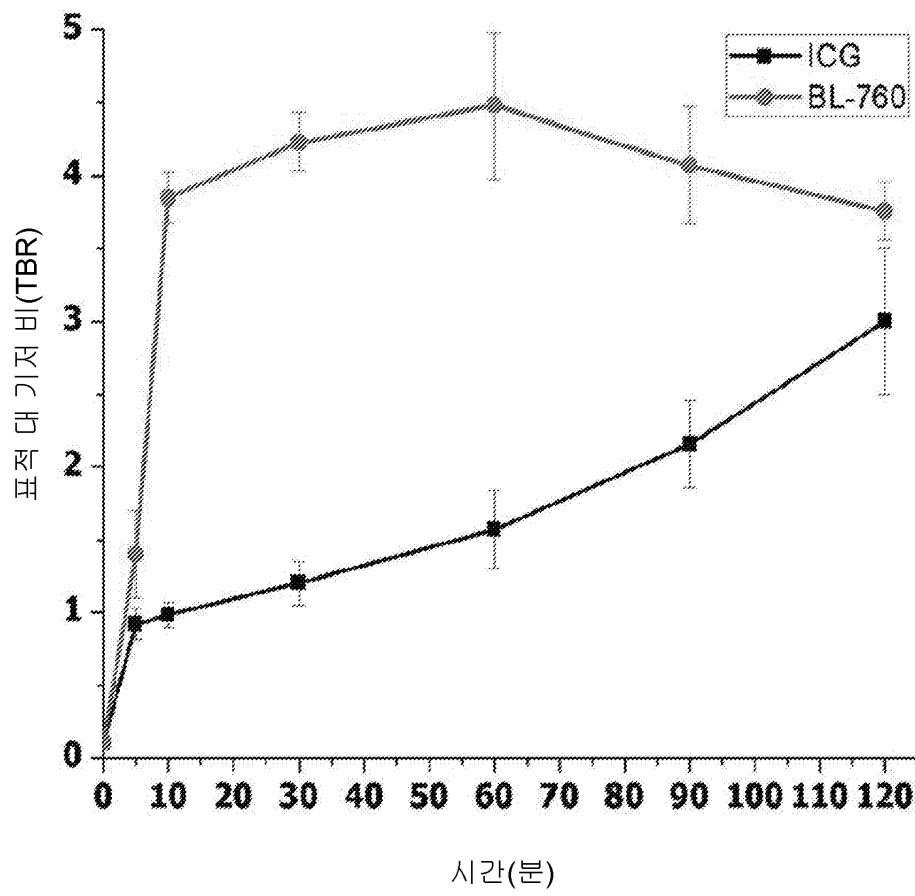
도면 13ba

	ICG (FDA 승인)	IRDYE800CW (시판됨)
구조		
주사후 10분		
담즙으로 분비	+(4시간)	+++ (5분)
특이성 (담관: 요관)	100:0	60:40
설펜화	2	4
양자 수율, cLogP	9%, 8-3.4	12%, -16.4

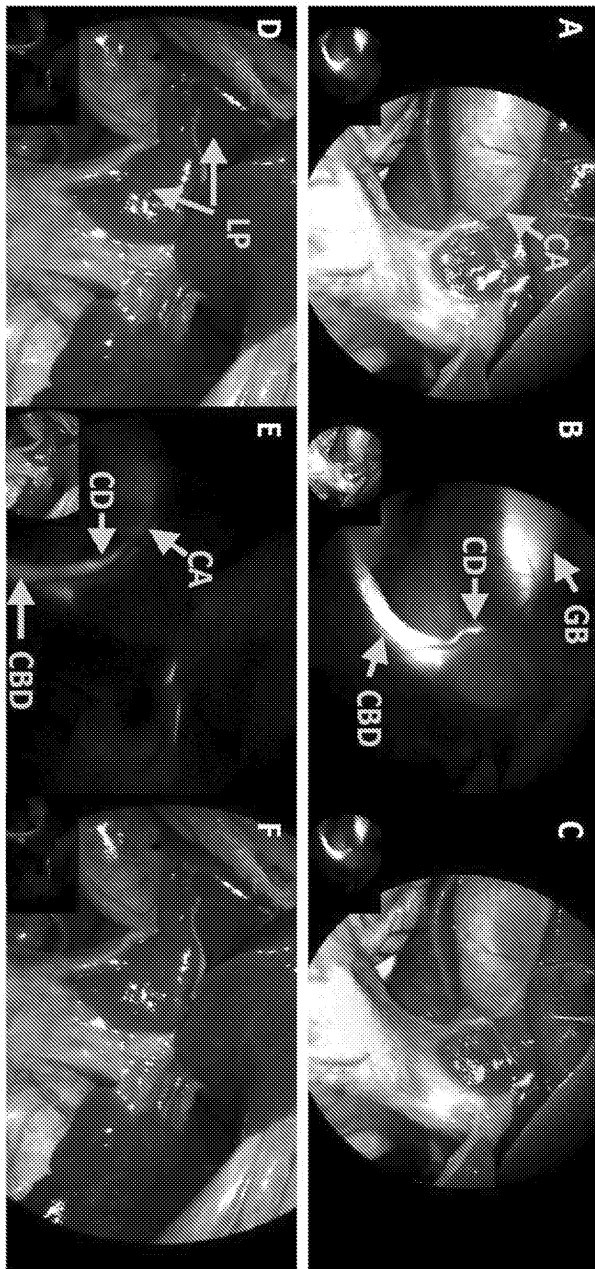
도면 13bb

FNIR-Ar-H_N-BS (담관 표적화)	Nac_Aryll-H_H-BS (담관 표적화)	UL-766 (담관 표적화)
		
		
+++ (5분)	+++ (5분)	+++
95:5	100:0	5:95
2	2	2
25%, -5.3	20%, -5.8	30%, -10.3

도면14



도면15



도면16

