



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0109099
(43) 공개일자 2024년07월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07F 5/02 (2006.01) A61K 41/00 (2020.01)
A61N 5/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
G01N 33/483 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07F 5/022 (2013.01)
A61K 41/0057 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0000832

(22) 출원일자 2023년01월03일

심사청구일자 2023년01월03일

(71) 출원인

국립부경대학교 산학협력단

부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)

(72) 발명자

이송이

부산광역시 해운대구 마린시티2로 33, 101동 2306호 (우동, 해운대두산위브더제니스)

박지충

부산광역시 남구 용소로 45 (대연동, 부경대학교 대연캠퍼스)

(74) 대리인

특허법인 무한

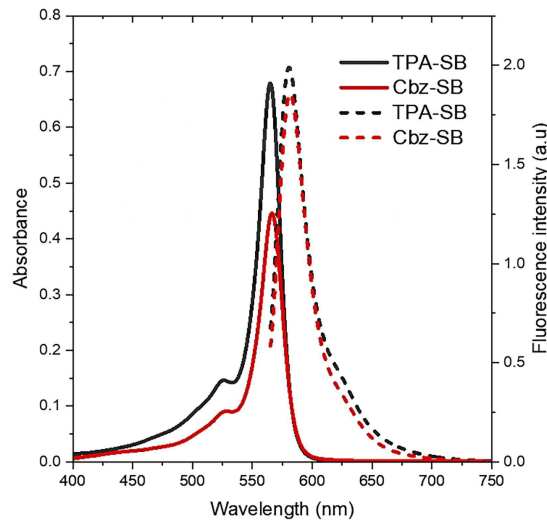
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 광역학 암치료를 위한 신규한 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 광역학 암치료 방법

(57) 요약

본 발명은, 광역학 암치료를 위한 신규한 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 광역학 암치료 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로, 아민기를 포함하는 전자주개 작용기를 포함하는 싸이오펜 작용기가 포함된 보디피 코어 기반의 신규한 중금속-프리 광민감제 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 광역학 암치료를 위한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61N 5/062 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

G01N 33/4833 (2013.01)

A61N 2005/0663 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711155678
과제번호	2022R1C1C1007740
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	광역동/광역치료의 통합적 치료를 위한 원소치환 기반 고효율 유기 감광제 개발 연

구

기 여 율	1/2
과제수행기관명	부경대학교 산학협력단
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711172971
과제번호	2022R1A5A8023404
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원
연구과제명	스마트집 기반 액티브 시니어 헬스케어 중개연구 센터
기 여 율	1/2
과제수행기관명	부경대학교 산학협력단
연구기간	2022.06.01 ~ 2023.02.28

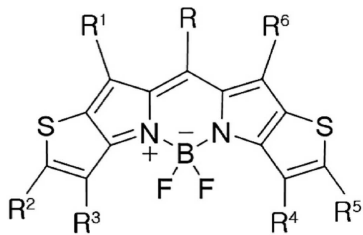
명세서

청구범위

청구항 1

하기의 화학식 1로 표시되는, 화합물:

[화학식 1]



(여기서,

R^2 내지 R^5 는, 각각, 수소, 할로젠, 탄소수 1 내지 20의 알킬, 탄소수 5 내지 20의 시클로알킬, 아미노, 탄소수 2 내지 20의 알케닐, 탄소수 5 내지 20의 시클로알케닐, 탄소수 2 내지 20의 알키닐, 탄소수 6 내지 30의 아릴 및 탄소수 5 내지 30의 헤테로아릴에서 선택되고,

R^1 및 R^6 는, 탄소수 1 내지 30의 알킬 및 탄소수 2 내지 30의 알케닐에서 선택되고,

R은, 아민기를 포함하는 전자주개 작용기로서, $-NR_a$ 또는 카바졸로 치환 또는 비치환된 탄소수 6 내지 30의 아릴기 및 치환 또는 비치환된 카바졸기에서 선택되고, 상기 R_a 는 수소 및 탄소수 6 내지 20의 아릴기에서 선택된다.)

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화학식 1에서,

R^2 내지 R^5 는, 각각, 수소, 할로젠, 직쇄 또는 분지쇄 탄소수 1 내지 10의 알킬 및 탄소수 2 내지 10의 알케닐에서 선택되고,

R^1 및 R^6 는, 각각, 탄소수 1 내지 10의 알킬에서 선택되는 것인,

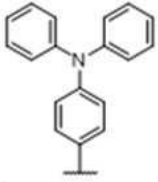
화합물.

청구항 3

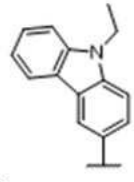
제1항에 있어서,

상기 아민기를 포함하는 전자주개 작용기는, 하기 화학식 2 내지 4로 표시되는 것인, 화합물:

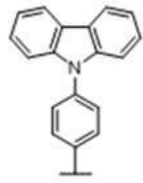
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]



청구항 4

제1항에 있어서,

상기 화합물은, 광역학 치료를 위한 중금속-프리(free) 광민감제이고,

상기 화합물은, 광 조사에 의해 활성산소 및 단일항 산소를 생성시켜 암세포, 종양세포 또는 과증식 세포의 사멸 또는 감소에 이용되는 것인,

화합물.

청구항 5

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 염 또는 이 둘;을 포함하고,

상기 염은, 약제학적으로 허용가능한 염인 것인,

조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 조성물은, 광역학 치료에 이용되고, 광 조사 시 정상 산소증 상태(normoxia condition) 및 저산소증 상태(hypoxia condition)에서 세포 사멸 기능을 갖는 것인,

조성물.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 조성물은, 500 nm 내지 700 nm 파장의 빛을 조사하면 활성산소를 생성하는 것인,
조성물.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 조성물은, 미토콘드리아 세포 형광 이미징에 이용되는 것인,
조성물.

청구항 9

제5항에 있어서,

상기 조성물은, 물, 유기용매 또는 이 둘을 더 포함하고,
상기 조성물의 pH는, 7 내지 8인 것인,
조성물.

청구항 10

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물과 치료 대상 세포를 접촉시키는 단계; 및
상기 접촉된 세포 영역에 광 조사하는 단계;를 포함하는,
광역학 치료 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 광 조사하는 단계는, 적색광을 조사하여 치료 대상 세포를 사멸시키는 것인,
광역학 치료 방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 광 조사하는 단계는, 활성 산소종 및 단일항 산소 생성으로 치료 대상 세포를 사멸시키는 것인,
광역학 치료 방법.

청구항 13

제10항에 있어서,

치료 대상 세포를 형광 이미징하는 단계;를 더 포함하는 것인,

광역학 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 광역학 암치료를 위한 신규한 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 광역학 암치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 광역학 치료(photodynamic therapy, PDT)는 체내에 광민감제(photosensitizer, PS)를 주사한 후 특정 파장의 빛을 조사하여 활성 산소를 발생시킴으로써 표적 조직을 손상 및 괴사시키는 치료법이다. PDT는 수술 없이도 국소적 부위를 효과적으로 치료할 수 있어 가장 촉망받는 치료법 중 하나로 인식되어 광민감제의 개발 및 응용에 관한 연구가 최근 활발히 진행되고 있다.

[0004] 효과적인 광민감제로 작용하기 위해선 특정 파장의 빛 조사 후 여기된 전자가 일중항상태에서 삼중항상태로 전이가 일어나야 하는데, 이를 위해선 대부분 중금속이 포함되어야 한다. 그러나, 중금속은 체내에 축적되어 다양한 질병을 일으키기 때문에 중금속을 포함하지 않는 새로운 광민감제의 개발이 필요하다. 또한, PDT 효율은 저산소 조건에서 낮은 경향이 있으며, 빠르게 분열하는 암세포는 산소가 부족한 영역이 많으므로, PDT가 진행됨에 따라 세포 내 산소를 빠르게 소모하기 때문에 암세포에서 PDT 효율이 감소하게 된다. 따라서 중금속을 포함하지 않는 동시에, 저산소농도에서도 효과적인 광역학치료 효율을 보일 수 있는 새로운 광민감제의 개발이 필요하다.

[0005] 이러한 광역학 및 이미징에 사용될 수 있는 수많은 유기염료 중 하나인 보디피(Boron-dipyrromethene, BODIPY)는 높은 물 흡광 계수, 낮은 암독성, 형광의 우수한 양자 효율 그리고 외부 환경에 대한 높은 안정성 등을 갖는 형광 염료로 광역학치료에서 주목을 받고 있다. 이러한 보디피는 전자주개 물질에 따라 광역학 치료 시 활성산소종 발생 효율 및 항암효과에 차이가 있을 수 있으므로, 광역학치료에 효과적인 작용기를 포함하는 보디피 화합물 개발에 대한 요구가 있다.

[0006] 전술한 배경기술은 발명자가 본원의 개시 내용을 도출하는 과정에서 보유하거나 습득한 것으로서, 반드시 본 출원 전에 일반 공중에 공개된 공지기술이라고 할 수는 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상술한 문제를 해결하기 위해, 광역학 치료(예: 암세포 또는 종양 세포) 및 세포 형광 이미징(예: 미토콘드리아 형광 이미징)이 가능한 중금속-프리 유기물질인 신규한 광민감제를 제공하고자 한다.

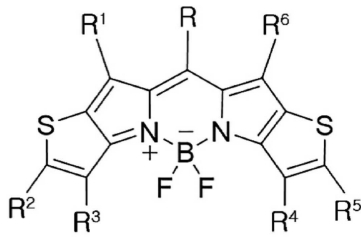
[0009] 본 발명은, 본 발명에 의한 광민감제를 포함하고, 광역학 치료 및 세포 형광 이미징이 가능한 조성물을 제공하고자 한다.

[0010] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명에 따른 화합물은, 하기의 화학식 1로 표시되는, 화합물을 포함한다.

[0013] [화학식 1]



[0014]

[0015] (여기서, R^2 내지 R^5 는, 각각, 수소, 할로젠, 탄소수 1 내지 20의 알킬, 탄소수 5 내지 20의 시클로알킬, 아미노, 탄소수 2 내지 20의 알케닐, 탄소수 5 내지 20의 시클로알케닐, 탄소수 2 내지 20의 알키닐, 탄소수 6 내지 30의 아릴 및 탄소수 5 내지 30의 헤테로아릴에서 선택되고,

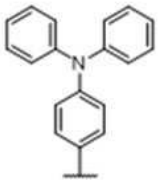
[0016] R^1 및 R^6 는, 탄소수 1 내지 30의 알킬 및 탄소수 2 내지 30의 알케닐에서 선택되고,

[0017] R은, 아민기를 포함하는 전자주개 작용기로서, $-NR_a$ 또는 카바졸로 치환 또는 비치환된 탄소수 6 내지 30의 아릴기 및 치환 또는 비치환된 카바졸기에서 선택되고, 상기 R_a 는 수소 및 탄소수 6 내지 20의 아릴기에서 선택된다.)

[0018] 일 실시예에 따르면, 상기 화학식 1에서, R^2 내지 R^5 는, 각각, 수소, 할로젠, 직쇄 또는 분지쇄 탄소수 1 내지 10의 알킬 및 탄소수 2 내지 10의 알케닐에서 선택되고, R^1 및 R^6 는, 각각, 탄소수 1 내지 10의 알킬에서 선택되는 것일 수 있다.

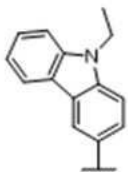
[0019] 일 실시예에 따르면, 상기 아민기를 포함하는 전자주개 작용기는, 하기 화학식 2 내지 4로 표시되는 것인, 화합물을 포함하는 것일 수 있다.

[0020] [화학식 2]



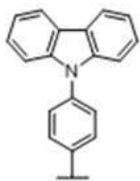
[0021]

[0022] [화학식 3]



[0023]

[0024] [화학식 4]



[0025]

[0026] 일 실시예에 따르면, 상기 화합물은, 광역학 치료를 위한 중금속-프리(free) 광민감제이고, 상기 화합물은, 광조사에 의해 활성산소 및 단일항 산소를 생성시켜 암세포, 종양세포 또는 과증식 세포의 사멸 또는 감소에 이용되는 것일 수 있다.

[0027] 본 발명에 따른 조성물은, 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 염 또는 이 둘;을 포함하고, 상기 염은, 약제학적

으로 허용가능한 염인 것일 수 있다.

- [0028] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 광역학 치료에 이용되고, 광 조사 시 정상 산소증 상태(normoxia condition) 및 저산소증 상태(hypoxia condition)에서 세포 사멸 기능을 갖는 것일 수 있다.
- [0029] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 500 nm 내지 700 nm 파장의 빛을 조사하면 활성산소를 생성하는 것일 수 있다.
- [0030] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 미토콘드리아 세포 형광 이미징에 이용되는 것일 수 있다.
- [0031] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 물, 유기용매 또는 이 둘을 더 포함하고, 상기 조성물의 pH는, 7 내지 8인 것일 수 있다.
- [0032] 본 발명에 따른 광역학 치료 방법은, 화학식 1로 표시되는 화합물과 치료 대상 세포를 접촉시키는 단계; 및 상기 접촉된 세포 영역에 광 조사하는 단계;를 포함한다.
- [0033] 일 실시예에 따르면, 상기 광 조사하는 단계는, 적색광을 조사하여 치료 대상 세포를 사멸시키는 것일 수 있다.
- [0034] 일 실시예에 따르면, 상기 광 조사하는 단계는, 활성 산소종 및 단일항 산소 생성으로 치료 대상 세포를 사멸시키는 것일 수 있다.
- [0035] 일 실시예에 따르면, 치료 대상 세포를 형광 이미징하는 단계;를 더 포함하는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0037] 본 발명은 유기 형광체인 보디피 단량체를 코어로 하고 아민기를 포함하는 전자주개 작용기를 포함하는 중금속을 포함하지 않는 신규한 화합물을 제공할 수 있다.
- [0038] 구체적으로, 본 발명에 따르면, 상기 화합물은 빛을 조사하여 일중항산소(1O_2)를 생성하여 암세포를 사멸시킬 수 있고, 빛을 조사하지 않을 때에는 세포 독성이 낮아 부작용이 적으며, 저산소증 암치료(hypoxia cancer photodynamic therapy)가 가능할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0040] 도 1은, 본 발명의 일 실시예에 따라, TPA-SB (10 μ M) 및 Cbz-SB (10 μ M)의 UV-vis 흡수(실선) 및 형광 방출(점선) 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- 도 2는, 본 발명의 일 실시예에 따라, (a) RB (10 μ M); (b) TPA-SB (11 μ M); (c) Cz-SB (18 μ M); (d) Cbz-SB (20 μ M)가 존재할 때, DPBF (1O_2 generation detecto, 50 μ M)의 시간에 따른 흡광도를 나타낸 것이다.
- 도 3은, 본 발명의 일 실시예에 따라, 빛의 유무에 따른 DCFH-DA (10 μ M), Cbz-SB (5 μ M) 및 DCFH-DA+Cbz-SB에서 배양된 HeLa 세포의 ROS 발생을 나타낸 형광 이미지이다.
- 도 4는, 본 발명의 일 실시예에 따라, Cbz-SB (5 μ M) 및 MTG (MitoTracker Green) 또는 LTG (LysoTracker Green)가 함께 배양된 HeLa 세포의 형광 이미지이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라, 빛 조사에 따른 Cz-SB의 농도별 HeLa 세포의 생존 가능성을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0041] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.
- [0042] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는

"가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0043] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

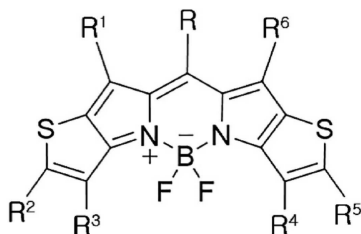
[0044] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 실시예의 구성 요소를 설명하는 데 있어서, 제 1, 제 2, A, B, (a), (b) 등의 용어를 사용할 수 있다. 이러한 용어는 그 구성 요소를 다른 구성 요소와 구별하기 위한 것일 뿐, 그 용어에 의해 해당 구성 요소의 본질이나 차례 또는 순서 등이 한정되지 않는다. 어떤 구성 요소가 다른 구성요소에 "연결", "결합" 또는 "접속"된다고 기재된 경우, 그 구성 요소는 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되거나 접속될 수 있지만, 각 구성 요소 사이에 또 다른 구성 요소가 "연결", "결합" 또는 "접속"될 수도 있다고 이해되어야 할 것이다.

[0045] 어느 하나의 실시 예에 포함된 구성요소와, 공통적인 기능을 포함하는 구성요소는, 다른 실시 예에서 동일한 명칭을 사용하여 설명하기로 한다. 반대되는 기재가 없는 이상, 어느 하나의 실시 예에 기재한 설명은 다른 실시 예에도 적용될 수 있으며, 중복되는 범위에서 구체적인 설명은 생략하기로 한다.

[0047] 본 발명은, 신규한 광민감제에 관한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따른 화합물은, 싸이오펜이 포함된 보디피 코어와 아민기를 포함하는 전자주개 작용기가 연결된 새로운 프로브인 광민감제를 제공할 수 있다. 즉, 효과적인 광민감제로 작용하기 위해선 특정 파장의 빛 조사 후 여기된 전자가 일중항 상태(singlet state)에서 삼중항 상태(triplet state)로 전이가 일어나야 하는데, 이를 위해선 대부분 중금속이 포함되어야 한다. 중금속은 체내에 축적되어 다양한 질병을 일으키기 때문에 중금속을 포함하지 않는 새로운 광민감제의 개발이 필요하고, 이와 동시에, 세포내 소기관인 미토콘드리아를 타겟하여 저산소농도에서도 효과적인 광역학 치료 효율을 나타내는 것이 요구된다. 이에 본 발명에 의한 광민감제는 하기의 화학식 1로 표시되고 중금속-프리(free, 중금속-무함유)한 순수 유기물질이며, 전자주개 작용기의 구조에 따라 효과적인 광역학 치료 효율을 제공할 수 있는 화합물을 포함할 수 있다.

[0049] 본 발명에 따른 화합물은, 하기의 화학식 1로 표시되는, 화합물을 포함한다.

[0050] [화학식 1]



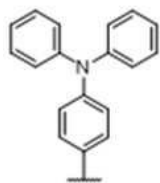
[0051]

[0052] (여기서, R^2 내지 R^5 는, 각각, 수소, 할로젠, 탄소수 1 내지 20의 알킬, 탄소수 5 내지 20의 시클로알킬, 아미노, 탄소수 2 내지 20의 알케닐, 탄소수 5 내지 20의 시클로알케닐, 탄소수 2 내지 20의 알킬닐, 탄소수 6 내지 30의 아릴 및 탄소수 5 내지 30의 헤테로아릴에서 선택되고, R^1 및 R^6 는, 탄소수 1 내지 30의 알킬 및 탄소수 2 내지 30의 알케닐에서 선택되고, R은, 아민기를 포함하는 전자주개 작용기로서, $-NR_a$ 또는 카바졸로 치환 또는 비치환된 탄소수 6 내지 30의 아릴기 및 치환 또는 비치환된 카바졸기에서 선택되고, 상기 R_a 는 수소 및 탄소수 6 내지 20의 아릴기에서 선택된다.)

- [0054] 일 실시예에 따르면, 상기 화학식 1에서, R^2 내지 R^5 는, 각각, 수소, 할로젠, 직쇄 또는 분지쇄 탄소수 1 내지 10의 알킬 및 탄소수 2 내지 10의 알케닐에서 선택되고, R^1 및 R^6 는, 각각, 탄소수 1 내지 10의 알킬에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0055] 예를 들어, 상기 알킬은, 탄소수 1 내지 20; 탄소수 1 내지 10; 또는 탄소수 1 내지 5의 알킬이고, 직쇄 또는 분지쇄일 수 있다.
- [0056] 예를 들어, 상기 시클로알킬은, 각각 탄소수 5 내지 20; 탄소수 5 내지 15; 또는 탄소수 5 내지 10의 시클로알킬일 수 있다.
- [0057] 예를 들어, 상기 알케닐은, 탄소수 2 내지 20; 탄소수 2 내지 10; 또는 탄소수 2 내지 8의 알케닐이고, 상기 시클로알케닐은, 탄소수 5 내지 20; 또는 탄소수 5 내지 10의 시클로알케닐일 수 있다.
- [0058] 예를 들어, 상기 알키닐은, 탄소수 2 내지 20; 탄소수 2 내지 10; 또는 탄소수 2 내지 8의 알키닐일 수 있다.
- [0059] 예를 들어, 상기 아릴 및 헤테로아릴은, 탄소수 5 내지 30; 탄소수 6 내지 30; 탄소수 5 내지 14; 또는 탄소수 5 내지 10의 아릴 및 헤테로아릴일 수 있다.
- [0060] 예를 들어, 상기 헤테로아릴은, 각 고리 내에 적어도 1 내지 3개의 헤테로 원자를 포함하고, 상기 헤테로 원자는, N, O, 또는 S 헤테로 원자에서 선택될 수 있다.
- [0061] 예를 들어, 상기 할로젠은, -F, -Br, -Cl 및 -I에서 선택될 수 있다.

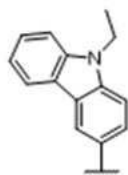
- [0063] 일 실시예에 따르면, 상기 아민기를 포함하는 전자주개 작용기는, 하기 화학식 2 내지 4로 표시되는 것인, 화합물을 포함하는 것일 수 있다.

[0064] [화학식 2]



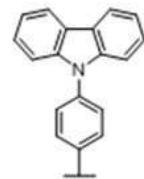
[0065]

[0066] [화학식 3]



[0067]

[0068] [화학식 4]



[0069]

- [0070] 상기 아민기를 포함하는 전자주개 작용기는, 각각, 트리페닐아민, 에틸카바졸, 페닐카바졸을 포함하는 것으로, 전자주개 역할을 하는 아민기와 평면구조를 갖는 벤젠을 포함하므로 이에 따라 보디피 코어 구조체와의 결합각이 결정되고, 전체 구조체의 경직도가 달라져 광학 특성에 영향을 미칠 수 있다.

- [0072] 일 실시예에 따르면, 상기 화합물은, 광역학 치료를 위한 중금속-프리(free) 광민감제이고, 상기 화합물은, 광 조사에 의해 활성산소 및 단일항 산소를 생성시켜 암세포, 종양세포 또는 과증식 세포의 사멸 또는 감소에 이용되는 것일 수 있다.
- [0073] 상기 화합물은 싸이오펜이 포함된 보디피 코어와 아민기를 포함하는 전자주개 작용기로 이루어진 화합물로서, 보디피 코어에 싸이오펜을 확장하여 분자 내 전하 전달(Intramolecular charge transfer; ICT)을 극대화하여 흡수 및 발광 파장을 근적외선까지 늘릴 수 있고, 여기에 아민기 및 벤젠구조를 포함하는 전자주개 작용기를 도입하여 구조체의 경직도를 증가시켜 고유 광학특성을 안정화 시킬 수 있으며, 이에 따라 활성산소 및 단일항 산소 생성 작용이 우수하고 뛰어난 항암효과를 나타내면서 광민감제로 광역학 치료에 이용될 수 있다.
- [0074] 상기 화합물은 질병, 질환 또는 장애의 진단, 예방 및/또는 치료에 이용되고, 이는, 암세포, 종양세포 또는 과증식 세포 관련 질병, 질환 및/또는 장애일 수 있다. 예를 들어, 두경부암, 유방암, 자궁암, 폐암, 방광암, 결장암 또는 전립선암 및 신경아교종 등의 암 치료 또는 종양을 감소시키는 광역학 치료에 사용되는 광민감제로 적용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0076] 본 발명에 따른 조성물은, 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 염 또는 이 둘;을 포함하고, 상기 염은, 약제학적으로 허용가능한 염인 것일 수 있다.
- [0077] 상기 화합물은 빛을 조사하면 광화학반응을 일으키는 중금속 프리인 광민감제로 작용하는 것일 수 있으며, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 이의 염은, 광을 조사하지 않을 때에는 세포 독성이 낮아 부작용이 적고, 광 조사 시 빠른 세포 사멸을 유도할 수 있다.
- [0078] 일 예로, 상기 염은, 무기산 또는 유기산 및 염기로부터 유래되고, 약제학적으로 허용 가능한 염일 수 있다. 상기 무기산 및 유기산은, 염화수소산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글라이콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0079] 상기 조성물은 담체;를 더 포함하는 것일 수 있다. 일 예로, 담체는 약제학적으로 허용되는 담체 성분이라면 제한없이 적용될 수 있으며, 조성물의 사용 (예: 투여 또는 주입) 방식, 원하는 조성물의 제형, 조성물의 기능 등에 따라 적절하게 선택될 수 있다.
- [0081] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 광역학 치료에 이용되고, 광 조사 시 정상 산소증 상태(normoxia condition) 및 저산소증 상태(hypoxia condition)에서 세포 사멸 기능을 갖는 것일 수 있다.
- [0082] 상기 조성물은 광역학 치료(예: 암세포 사멸을 위한 광역학 치료) 및/또는 생체 내/생체 외 세포 형광 이미징 (예: 미토콘드리아 형광 이미징)을 위한 약제학적 조성물일 수 있다. 예를 들어, 상기 조성물은 유기 형광체인 싸이오펜이 포함된 보디피 단량체를 코어로 하여 아민기를 포함하는 전자주개 작용기를 도입한 새로운 광민감제에 해당되는 화합물을 포함하는 것으로서, 특정 파장의 빛(예: 백색광)을 조사하여 일중항산소(1O_2)를 생성하여 암세포를 사멸시키고 동시에 세포 형광 이미징(예: 세포내 소기관인 미토콘드리아(mitochondria)의 형광 이미징)이 가능할 수 있다.
- [0083] 상기 조성물은, 광 조사 시 활성화된 광민감제에 의하여 분자 산소를 활성산소종(ROS)으로 효율적으로 변환시키고, 생성된 ROS는 암세포의 세포 사멸 기능을 유도할 수 있다. 또한, 상기 광민감제는 광역학 치료 중 유형 I에 의한 반응으로 산소 농도 의존도가 낮으므로, 정상 산소증 상태 뿐만 아니라 저산소증 상태에서도 효율적인 세포 사멸 기능을 가질 수 있다.
- [0085] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 500 nm 내지 700 nm 파장의 빛을 조사하면 활성산소를 생성하는 것일 수 있다.
- [0086] 상기 조성물은, 바람직하게는, 500 nm 내지 650 nm 파장의 빛을 조사할 수 있고, 더 바람직하게는 550 nm 내지 650 nm 파장의 빛을 조사하는 것일 수 있다. 백색광으로 광 조사가 가능하고, 광흡수 및 여기 형광을 제공할 수

있다. 즉, 화학식 1로 표시되는 화합물에 의하여, 보디피 코어에 전자 공여 그룹으로 아민기와 평면구조를 갖는 벤젠을 포함하는 전자주개 작용기를 도입하면 보디피 코어 구조체와의 결합각이 결정되고, 전체 구조체의 경직도가 달라져 광학 특성에 영향을 미칠 수 있으며, 광 조사 시 작용기의 종류에 따라 적절한 광민감제를 활용할 수 있다. 상기 범위 내의 파장의 광을 조사할 경우, 효율적으로 활성산소를 생성할 수 있다.

[0088] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 미토콘드리아 세포 형광 이미징에 이용되는 것일 수 있다.

[0089] 상기 조성물은, 광민감제로 사용되는 화합물의 보디피 코어에 황이 포함되면서 전자 밀도가 낮아져 미토콘드리아를 효율적으로 표적할 수 있으며, 생체 외/내에서 빛을 조사하여 세포 형광 이미징(예: 미토콘드리아 형광 이미징)을 제공할 수 있다. 이는 광역학 치료 중에 적용하여 광역학 치료의 경로 또는 진행 정도를 확인할 수 있다.

[0091] 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 물, 유기용매 또는 이 둘을 더 포함하고, 상기 조성물의 pH는, 7 내지 8인 것일 수 있다.

[0092] 상기 유기용매는 1 내지 4의 알코올, THF, DMSO(dimethylsulfoxide) 등일 수 있으나 이에 제한되지 않으며, 상기 조성물의 pH는 버퍼 용액으로 조절할 수 있다.

[0093] 상기 화합물은 상기 조성물 중 0 % 초과 내지 99 %; 0.0001 % 내지 99 %; 0.001 % 내지 99 %로 포함될 수 있다. 예를 들어, 1×10^{-5} M (몰) 이상, 바람직하게는 1×10^{-5} M (몰) 내지 1×10^{-2} M (몰), 더 바람직하게는 1×10^{-4} M (몰) 내지 1×10^{-2} M (몰)의 농도로 포함될 수 있다.

[0094] 상기 조성물은 파우더, 겔, 에멀전, 콜로이드, 서스펜션, 에어로졸, 및/또는 용액; 또는 성형품으로 적용될 수 있다. 일 실시예에 따르면, 상기 조성물은, 분석 칩, 전기회로, 섬유, 필프, 비즈, 고분자 필름, 유리기관 등과 같은 지지체 상에 코팅 또는 함침되어 사용될 수 있다.

[0096] 본 발명에 따른 광역학 치료 방법은, 화학식 1로 표시되는 화합물과 치료 대상 세포를 접촉시키는 단계; 및 상기 접촉된 세포 영역에 광 조사하는 단계;를 포함한다.

[0097] 광역학 치료 방법, 즉 PDT(Photodynamic Therapy)는 광민감제를 이용하는 암 치료를 위한 비침습적 의료 기술이다. 이는, 종양 부위의 비정상 세포에만 축적되는 광민감제를 투여 후 광을 조사하여, 광민감제가 있는 조직내의 산소가 활성화하는 반응을 일으켜 암과 같은 비정상 세포만 골라 파괴되는 원리를 이용한 암치료 방법이다. 광역학 치료를 위한 기본구성은 광원과 광민감제로 되어있으며, 암세포에 축적된 광민감제가 빛이 흡수됨에 따라 일중항 상태에서 전기적 활성상태를 가지는 삼중항 상태로 변형되며, 활성화된 광민감제는 두 가지 종류의 유형 I 및 유형 II 반응을 일으킨다. 유형 I은 활성화된 광민감제가 직접적으로 세포막이나 분자에 반응하면서 수소원자의 추출작용 또는 전자전달 반응으로 자유라디칼 또는 라디칼 이온이 생성되는 반응이고, 유형 II 반응은 활성화된 광민감제가 직접적으로 산소에 에너지를 전달하여 일중항 산소(1O_2)가 생성되는 반응이다. 대부분의 광역학 치료 효과는 산소 의존적이며, 높은 반응력과 ROS의 짧은 반감기 때문에 ROS가 생성되는 근처 부위의 세포만 광역학치료의 영향을 직접적으로 받게 된다. 이러한 광손상과 세포독성범위는 광민감제의 종류에 영향을 받을 수 있다.

[0098] 본 발명에 의한 광민감제의 화합물은 싸이오펜을 포함하는 보디피 코어와 아민기를 포함하는 전자주개 작용기로 이루어진 신규한 중금속 프리의 광민감제로서 분자 내 구조체의 꺾인 구조와 경직도 때문에 최고 점유 분자 오비탈(highest occupied molecular orbital; HOMO)과 최저 비점유 분자 오비탈(lowest unoccupied molecular orbital; LUMO)의 오버랩(overlap)이 적고, 이에 따라 일중항에서 삼중항으로 향간 교차(intersystem crossing)가 잘 일어나므로 높은 광역학 효율을 보이며, 효과적인 광역학 치료를 가능하게 할 수 있다.

[0099] 상기 치료 대상 세포를 접촉시키는 단계는, 생체 외 또는 생체 내에서 치료 대상 세포에 화합물을 포함하는 조성물을 생체 투여, 주입, 도포 등의 다양한 방식으로 이루어질 수 있다. 상기 치료 대상 세포는, 암 세포, 종양 세포 또는 이 둘인 것일 수 있다. 광민감제는 전신의 세포에 흡수가 되며 정상세포 보다 암세포에서 더 오래 흡수된 채로 남아있으므로, 흡수 후 24 내지 72시간 후에는 정상세포에는 광민감제가 대부분 배출되어 남아있지

않고, 암세포에는 광민감제가 남아 있는 상태가 될 수 있다.

[0100] 상기 광 조사하는 단계는, 생체 내 및/또는 생체 외 및/또는 포유류 또는 인간 제외 포유류에 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 상기 조성물을 투입한 이후에 광 조사할 수 있다.

[0102] 일 실시예에 따르면, 상기 광 조사하는 단계는, 적색광을 조사하여 치료 대상 세포를 사멸시키는 것일 수 있다.

[0103] 광 조사하는 단계는, 장파장의 광을 조사할 수 있으며, 600 nm 파장을 포함하는 백색광 중 적색광을 조사하는 것일 수 있다. 빛에 노출되지 않은 상태에서 세포 독성을 거의 나타내지 않으며, 특정 고유 파장의 빛에 의해서 여기 될 때에만 ROS를 생성 하면서 독성을 나타낼 수 있다.

[0105] 일 실시예에 따르면, 상기 광 조사하는 단계는, 활성 산소종 및 단일항 산소 생성으로 치료 대상 세포를 사멸시키는 것일 수 있다.

[0106] 광 조사하는 단계는, 광을 조사하여 광민감제에서 여기된 전자가 삼중항 상태로 전이되면서 활성 산소종을 발생시켜 치료 대상 세포(예: 암세포, 종양세포 또는 이 둘)를 사멸시켜 제거 또는 감소시킬 수 있다. 일 예로, 광 조사하는 단계는 1초 이상; 1분 이상; 5분 이상; 10분 이상; 또는 30 분 내지 1 시간 동안 진행할 수 있다.

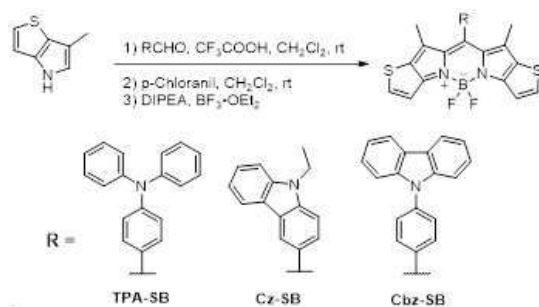
[0108] 일 실시예에 따르면, 치료 대상 세포를 형광 이미징하는 단계;를 더 포함하는 것일 수 있다.

[0109] 상기 광 조사하는 단계 이후 광학적 특성 변화를 분석하는 단계로서 광 조사된 세포 영역을 형광 이미징할 수 있다. 상기 조성물은, 생체 내 또는 생체 외에서 광 조사 시 광민감제의 광 흡수 및 여기 형광 방출에 따라 생 세포, 세포소기관 또는 세포 조직에서 형광 신호 측정 및 형광 이미징에 이용될 수 있다. 즉, 광민감제를 광역학 치료에 의한 항암 치료 뿐만 아니라 생체 내/생체 외에서 표적 세포(예: 미토콘드리아)의 형광 이미징 에이전트(fluorescent imaging agents)를 위한 형광 염료로 활용할 수 있다. 또한, 세포 영역에서 형광 변화를 관찰하고, 상기 광 조사하는 단계의 진행을 결정하거나 또는 광조사 영역 및 광 세기를 결정할 수 있다.

[0111] 이하, 실시예 및 비교예에 의하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다.

[0112] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0113] [스킴 1]



[0114]

[0115] TPA-SB, Cz-SB 및 Cbz-SB 합성은 전자주개 구조체의 종류를 달리하여 스킴 1에 따라 진행하였다. 합성된 화합물에 대한 ¹H NMR, ¹³C NMR 측정 및 질량 분석하였다.

[0116] <TPA-SB 합성>

[0117] 6-메틸-4H-티에노[3,2-b]피롤(6-methyl-4H-thieno[3,2-b]pyrrole, 2.2 mmol) 및 9-에틸-3-카바졸카르복스알데히드(9-ethyl-3-carbazolecarboxaldehyde, 1.0 mmol)를 무수 MC (50 mL)에 용해시켰다. 혼합물에 트리플루오로아세트산을 첨가하고 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 그 후, 클로르아닐(p-Chloranil, 1.2 mmol)이 포함된 무수 MC (10 ml) 용액을 30분 동안 천천히 첨가하였다. 혼합물에 디이소프로필에틸아민(DIPEA, 20 mmol)을 첨가한 다음 BF₃·Et₂O(boron trifluoride diethyl etherate, 20 mmol)를 천천히 첨가하였다. 12시간 동안 교반 후

반응 혼합물을 MC/DW 단계로 추출하였다. 유기층을 Na₂SO₄로 건조시키고 용매를 감압하에 제거하였다. 미정제 생성물을 헥산/MC 용리액을 사용하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 보라색 고체로서 싸이오펜이 포함된 보디피 염료를 획득하였다.

[0118] **TPA-SB:** ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.59 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 7.33 – 7.27 (m, 4H), 7.18 (dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz, 3H), 7.13 (dd, *J* = 8.7, 1.4 Hz, 7H), 7.09 (dt, *J* = 7.6, 1.3 Hz, 2H), 1.79 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*D*) δ 156.96, 149.29, 147.21, 146.23, 140.17, 137.97, 133.88, 133.77, 129.67, 129.29, 126.80, 125.12, 123.94, 122.94, 114.30, 32.02; ESI HRMS *m/z* = 598.1365 [M+Na]⁺, calc. for C₃₃H₂₄BF₂N₃S₂ = 575.15.

[0119] **<Cz-SB 합성>**

[0120] 6-메틸-4*H*-티에노[3,2-*b*]피롤(6-methyl-4*H*-thieno[3,2-*b*]pyrrole, 2.2 mmol) 및 9-에틸-3-카바졸카르복스알데히드(9-ethyl-3-carbazolecarboxaldehyde, 1.0 mmol)를 무수 MC (50 mL)에 용해시켰다. 혼합물에 트리플루오로아세트산을 첨가하고 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 그 후, 클로르아닐(p-Chloranil, 1.2 mmol)이 포함된 무수 MC (10 mL) 용액을 30분 동안 천천히 첨가하였다. 혼합물에 디이소프로필에틸아민(DIPEA, 20 mmol)을 첨가한 다음 BF₃·Et₂O(boron trifluoride diethyl etherate, 20 mmol)를 천천히 첨가하였다. 12시간 동안 교반 후 반응 혼합물을 MC/DW 단계로 추출하였다. 유기층을 Na₂SO₄로 건조시키고 용매를 감압하에 제거하였다. 미정제 생성물을 헥산/MC 용리액을 사용하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 보라색 고체로서 싸이오펜이 포함된 보디피 염료를 획득하였다.

[0121] **Cz-SB:** ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.12 – 8.04 (m, 2H), 7.60 – 7.56 (m, 3H), 7.55 – 7.47 (m, 2H), 7.40 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 7.28 (ddd, *J* = 8.0, 6.8, 1.3 Hz, 1H), 7.17 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 4.45 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.54 (s, 6H), 1.51 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*D*) δ 156.97, 147.61, 140.64, 140.45, 140.04, 138.56, 134.39, 133.74, 126.75, 125.90, 125.66, 124.20, 123.75, 122.70, 120.86, 120.63, 119.73, 118.41, 114.72, 114.40, 109.50, 109.14, 108.66, 106.12, 38.09, 33.86, 32.10. ESI HRMS *m/z* = 548.1208 [M+Na]⁺, calc. for C₂₉H₂₂BF₂N₃S₂ = 523.13.

[0122] **<Cbz-SB 합성>**

[0123] 6-메틸-4*H*-티에노[3,2-*b*]피롤(6-methyl-4*H*-thieno[3,2-*b*]pyrrole, 2.2 mmol) 및 9-에틸-3-카바졸카르복스알데히드(9-ethyl-3-carbazolecarboxaldehyde, 1.0 mmol)를 무수 MC (50 mL)에 용해시켰다. 혼합물에 트리플루오로아세트산을 첨가하고 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 그 후, 클로르아닐(p-Chloranil, 1.2 mmol)이 포함된 무수 MC (10 mL) 용액을 30분 동안 천천히 첨가하였다. 혼합물에 디이소프로필에틸아민(DIPEA, 20 mmol)을 첨가한 다음 BF₃·Et₂O(boron trifluoride diethyl etherate, 20 mmol)를 천천히 첨가하였다. 12시간 동안 교반 후 반응 혼합물을 MC/DW 단계로 추출하였다. 유기층을 Na₂SO₄로 건조시키고 용매를 감압하에 제거하였다. 미정제 생성물을 헥산/MC 용리액을 사용하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 보라색 고체로서 싸이오펜이 포함된 보디피 염료를 획득하였다.

[0124] **Cbz-SB:** ¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.18 (dt, *J* = 7.8, 1.0 Hz, 2H), 7.83 – 7.78 (m, 2H), 7.67 – 7.63 (m, 4H), 7.47 – 7.42 (m, 4H), 7.34 (ddd, *J* = 8.0, 6.7, 1.5 Hz, 2H), 7.18 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 1.80 (s, 6H); ¹³C-NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*D*) δ 140.90, 140.55, 130.19, 128.08, 126.33, 123.82, 120.71, 120.63, 114.33, 109.48, 32.02; ESI HRMS *m/z* = 596.1208 [M+Na]⁺, calc. for C₃₃H₂₂BF₂N₃S₂ = 573.13.

[0125] (1) 광물리 및 감광 특성

[0126] 합성된 TPA-SB, Cz-SB 및 Cbz-SB의 Uv-vis 흡수 및 방출 스펙트럼을 관찰하였으며, 광물리 및 감광 특성을 측정하여 도 1 및 표 1에 나타내었다.

표 1

[0127]

	λ_{abs} (nm)			ϵ ($M^{-1} \cdot cm^{-1} \times 10^4$)			λ_{ems} (nm)			Φ_F	Φ_Δ	E_g (eV)
	Tol	THF	ACN	Tol	THF	ACN	Tol	THF	ACN			
TPA-SB	565	559	553	69.8	89.7	70.9	581	-	-	0.08	0.40	2.57
Cz-SB	563	558	552	61.5	75.7	53.6	577	575	574	0.12	0.72	2.58
Cbz-SB	566	560	555	44.6	36.9	39.5	581	576	572	0.11	0.88	2.56

[0128]

도 1은 일 실시예에 따라, TPA-SB (10 μM) 및 Cbz-SB (10 μM)의 UV-vis 흡수(실선) 및 형광 방출(점선) 스펙트럼을 나타낸 것이다. 표 1은 TPA-SB, Cz-SB 및 Cbz-SB의 UV-vis 흡수, 형광 방출 스펙트럼 및 이론적 계산을 통해 광물리적 특성을 나타낸 것이다. 도 1 및 표 1을 참조하면, 아민기를 포함하는 전자주개 작용기를 가지는 광민감제는 톨루엔에서 563 내지 566 nm에서 최대 흡수를 나타내고 577 내지 581 nm에서 적당한 형광 방출을 나타내는 것을 확인할 수 있다. 3개의 화합물 모두 약 550 nm의 빛을 흡수하며, 용매의 극성이 낮을수록 장파장의 빛을 흡수하는 특성을 보인다. TPA-SB의 경우 THF 및 CAN과 같은 극성용매에서는 용매 효과(solvent effect)에 의해 형광 방출을 보이지 않으나, 톨루엔과 같은 비극성 용매에서는 형광 방출이 관찰된다. 특히 3개의 화합물 모두 0.4 이상의 높은 일중항 산소 발생량(singlet oxygen generation yield)을 보였으며, Cbz-SB가 가장 높은 생성효율을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0130]

(2) ROS 생성 분석

[0131]

도 2는 일 실시예에 따라, (a) RB (10 μM); (b) TPA-SB (11 μM); (c) Cz-SB (18 μM) (d) Cbz-SB (20 μM)가 존재할 때, DPBF (1O_2 generation detecto, 50 μM)의 시간에 따른 흡광도를 나타낸 것이다. 기준 광민감제로 Rose Bengal (ACN에서 $\Phi_\Delta = 0.53$)을 사용하였다. 일중항 산소 발생을 정량적으로 측정할 수 있는 대표적 측정법은 DPBF의 흡광을 In Situ로 측정하여 얻을 수 있다. 도 2를 참조하면, 530 nm의 LED 램프를 조사하기 전에는 지시약인 DPBF의 흡광 감소가 나타나지 않으나, 빛의 조사 시간이 증가할수록 DPBF의 흡광이 점차 감소하는 것을 확인할 수 있으며, 이는 빛 조사에 따른 일중항 산소가 생성됐음을 확인할 수 있는 지표이다. 특히, Cbz-SB의 경우, DPBF의 흡광도 감소는 Rose Bengal 보다 큰 것을 확인할 수 있다.

[0132]

도 3은 일 실시예에 따라, 빛의 유무에 따른 DCFH-DA (10 μM), Cbz-SB (5 μM) 및 DCFH-DA+Cbz-SB에서 배양된 HeLa 세포의 ROS 발생을 나타낸 형광 이미지이다. 세포간 1O_2 검출을 위한 지시약으로 DCFH-DA를 사용하였으며, HeLa 세포를 2 mL HBSS에서 90분 동안 5 μM 의 Cz-SB와 함께 배양 후 세포를 10 μM DCFH-DA로 염색하고 추가로 30분 동안 배양하였다. 세포를 DPBS로 2회 세척한 후, 광 조사(560 nm, 0.1 W/cm²)를 15분 동안 유지하였고 공초점 이미지 주사 현미경으로 형광 이미지를 획득하였다. DCFH-DA의 형광 증가를 통해, 세포 내 처리된 Cbz-SB에 빛을 조사하여 효과적으로 세포내 ROS를 발생시킬 수 있는지를 검증하였고, DCFH-DA의 녹색형광이 크게 증가한 것으로보아, 세포 내에서 Cbz-SB가 광민감제로 작용하여 활성산소종을 다량 방출했음을 알 수 있다.

[0134]

(3) 세포 이미징(Cell imaging)

[0135]

살아있는 세포에서 Cbz-SB의 형광 이미징을 조사하였다. 먼저 HeLa 세포를 HBSS 배지에서 5 μM Cbz-SB와 함께 90분 동안 배양하고 세포를 DPBS로 세척한 후 15분 동안 광 조사(560nm, 0.1 W/cm²)하였다. 이후 세포를 2 μM 칼세인 AM 및 4 μM PI로 30분 동안 염색하였다. 세포를 DPBS로 세척하고 공초점 이미지 스캐닝 현미경으로 형광 이미지를 획득하였다.

[0136]

도 4는 일 실시예에 따라, Cbz-SB (5 μM) 및 MTG (MitoTracker Green) 또는 LTG (LysoTracker Green)가 함께 배양된 HeLa 세포의 형광 이미지이다. Cbz-SB는 살아있는 세포에서 강한 형광 이미징을 보였다. 보디피 형광단은 낮은 전자 밀도로 인해 미토콘드리아에 높은 친화력을 보이는 것으로 보고되어왔다. 반면 싸이오펜이 포함된 보디피는 황 원자를 도입하고 π -컨주게이션을 확장하기 때문에 싸이오펜이 포함되지 않은 보디피 코어에 비해 전자 밀도가 더 낮을 수 있으며, 이에 따라 Cbz-SB는 살아있는 세포의 미토콘드리아에 축적될 수 있다. 도 4를 참조하면, HeLa 세포는 Cbz-SB 및 상용 MTG로 공동 염색되었으며, Cz-SB의 주요 소기관 위치를 비교하기 위해

LTG도 염색하였다. 도 4와 같이 Cz-SB는 주로 리소좀(RP = 0.58) 대신 미토콘드리아(RP = 0.95)를 표적하는 것을 확인할 수 있다.

[0138] (4) PDT 기능

[0139] 다양한 농도의 Cz-SB를 첨가하고 HeLa 세포를 37 °C 조건에서 5 % CO₂ 하에 90 분 동안 배양하였다. 그런 다음 MEM (100 µL)을 각 웰에 첨가하고 광 조사를 각 0, 20분 동안 유지하였다. 그 후, 세포를 추가로 24 시간 동안 배양하고, 10 µL MTT 용액(5 mg/mL) 및 10 µL MEM을 각 웰에 첨가하고 4시간 인큐베이션을 유지하였다. 세포 배지를 제거한 후, 100 µL DMSO를 첨가하였다. 흡광도는 Spectramax Microwell 플레이트 판독기로 OD 650nm에서 측정하여 Cz-SB 처리를 하지 않은 세포는 100% 살아있는 것으로 계산하였다.

[0140] 도 5는 일 실시예에 따라, 빛 조사에 따른 Cz-SB의 농도별 HeLa 세포의 생존 가능성을 나타낸 것이다. 광 반응성 요법에 대한 잠재력을 입증하기 위해, 메틸 티아졸릴 테트라졸륨(thiazolyl tetrazolium, MTT) 어세이를 통해 HeLa 세포에 대한 Cz-SB의 항암 효능을 조사하였다. HeLa 세포의 생존력은 광 조사에서(20 min) 감소하는 것을 확인할 수 있으며, Cz-SB 농도가 높을수록 항암 효능이 높은 것을 확인할 수 있다.

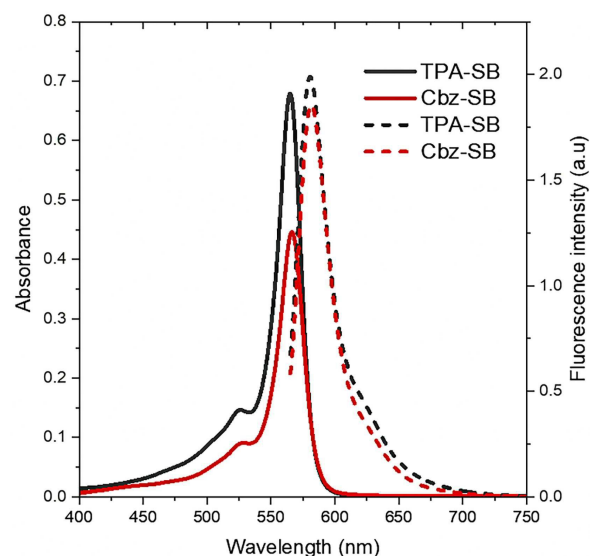
[0142] 즉, 본 발명은, 아민기를 포함하는 전자주개 작용기를 가지는 광민감제의 광물리적 특성과 여기 상태를 조사하였고, TPA-SB, Cz-SB 및 Cbz-SB는 HeLa 세포에서 형광 시각화를 나타내면서, 싸이오펜을 포함하는 보디피 코어에 아민기를 포함하는 전자주개 작용기를 결합함으로써 인해 ¹O₂의 흡수/방출 순환 복귀(absorbing/releasing cycloreversion) 및 강한 ROS 생성을 나타내며, 미토콘드리아 표적 PDT 효율성을 나타낸다. 이에 본 발명은 중원자를 포함하지 않으면서 미토콘드리아를 효과적으로 표적하는 광역학 암치료를 위한 광민감제를 제공하고, 이를 활용한 조성물, 광역학 암치료 및 세포소기관 이미징 방법을 제공할 수 있다.

[0144] 이상과 같이 실시예들이 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

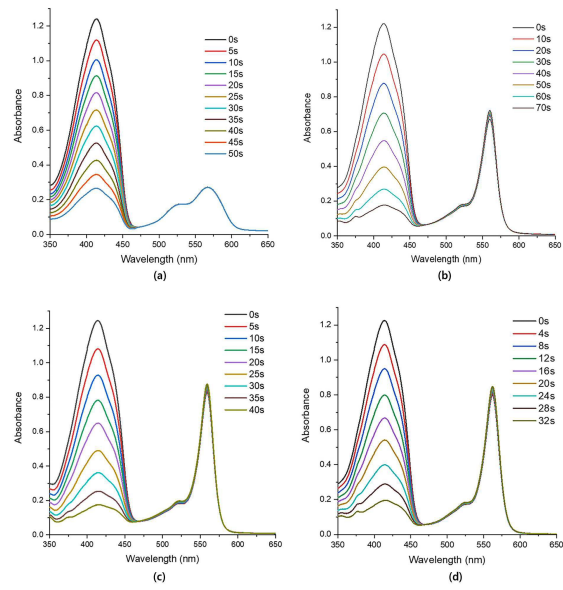
[0145] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

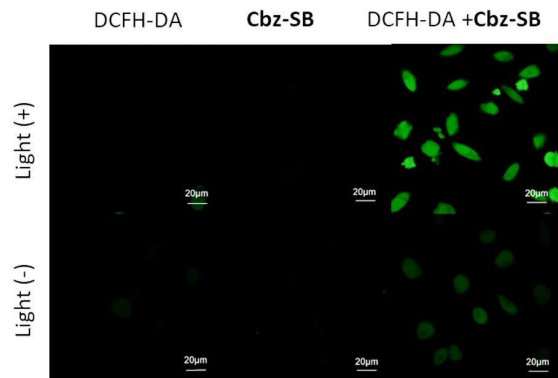
도면1



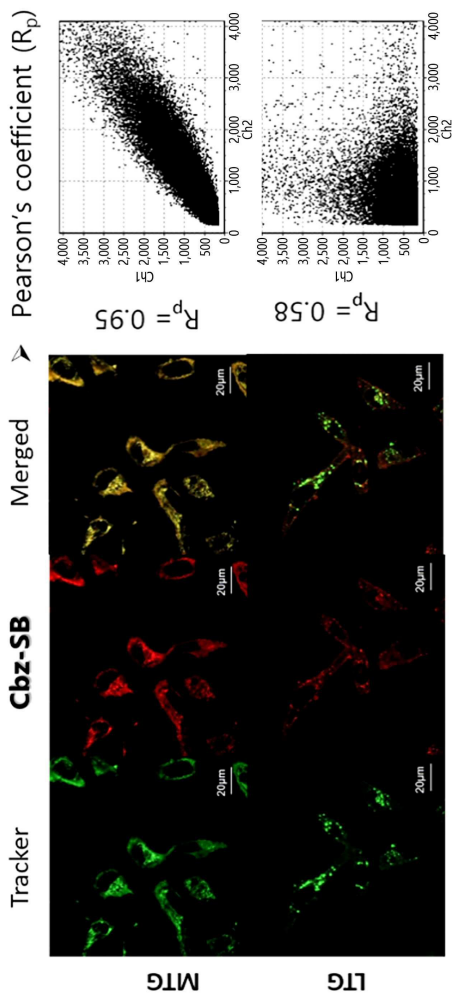
도면2



도면3



도면4



도면5

