



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0154520
(43) 공개일자 2022년11월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07F 5/02 (2006.01) A61K 41/00 (2020.01)
A61K 9/107 (2006.01) A61N 5/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

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

(21) 출원번호 10-2021-0062160

(22) 출원일자 2021년05월13일

심사청구일자 2021년05월13일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

윤주영

서울특별시 용산구 이촌로 347, 2동 501호(서빙고동, 신동아아파트)

웅웬 반 응이어

서울특별시 서대문구 이화여대길 52(대현동)

하정선

서울특별시 서대문구 이화여대길 52, 이하우스 303동(대현동)

(74) 대리인

리엔목특허법인

전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **화합물, 이를 포함하는 조성물, 상기 조성물을 포함하는 광감각제 및 종양 진단 또는 치료용 조성물, 및 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물을 이용한 광역학 치료방법**

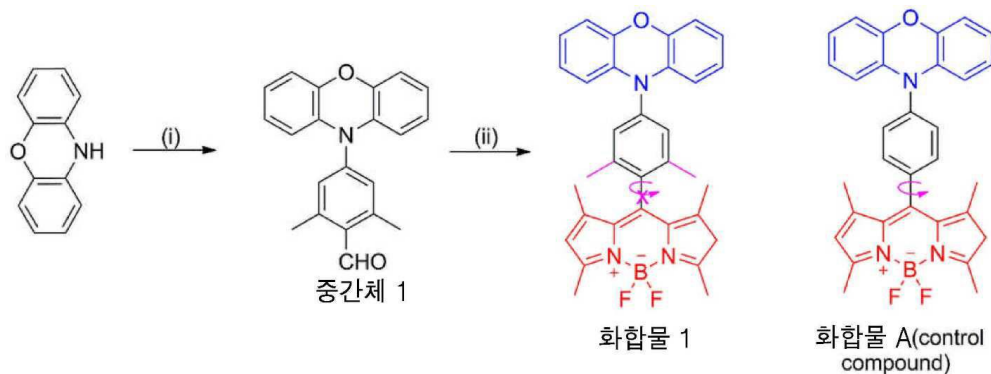
(57) 요약

화합물, 이를 포함하는 조성물, 상기 조성물을 포함하는 광감각제 및 종양 진단 또는 치료용 조성물, 및 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물을 이용한 광역학 치료방법이 개시된다. 상기 화합물은 하기 화학식 1로 표시될 수 있다:

<화학식 1>

상기 화학식 1에서, R_{1a}, R_{1b}, R₂, 및 R₃는 각각 명세서에 개시된 바와 같다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 9/1075 (2013.01)

A61N 5/062 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711113737
과제번호	2012R1A3A2048814
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	다차원 유기소재 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	이화여자대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

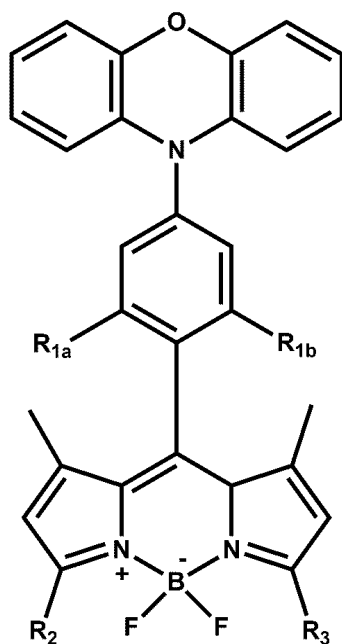
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는, 화합물:

<화학식 1>



상기 화학식 1에서,

R_{1a} 및 R_{1b} 는 서로 독립적으로, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기 또는 이들의 조합이고;

R_2 및 R_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알콕시기, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-N^+(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, 또는 이들의 조합이고;

Q_1 내지 Q_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 또는 이들의 조합;이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 R_{1a} 및 R_{1b} 는 서로 독립적으로, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기 또는 이들의 조합인, 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서,

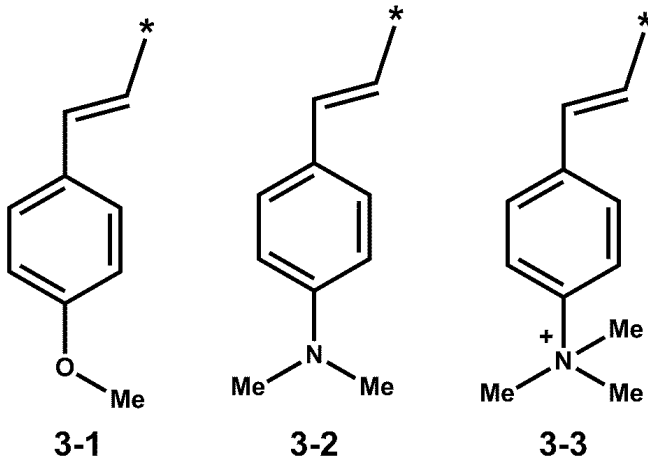
상기 R_2 및 R_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알콕시기, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-N^+(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, 또는 이들의 조합이고;

Q_1 내지 Q_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기, 또는 이들의 조합;이다.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기, 또는 하기 화학식 3-1 내지 3-3로 표시되는 그룹인, 화합물:



상기 화학식 3-1 내지 3-3 중,

Me는 메틸기이고,

*은 이웃한 원자와의 결합 사이트이다.

청구항 5

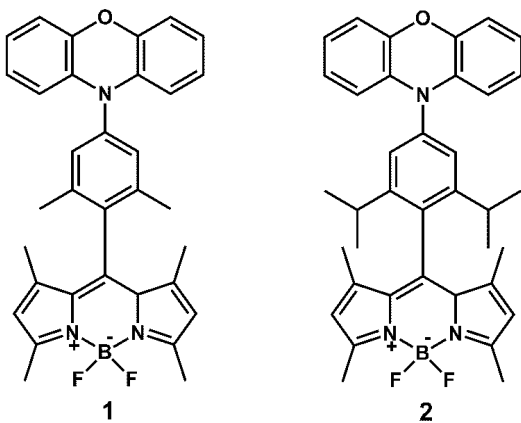
제1항에 있어서,

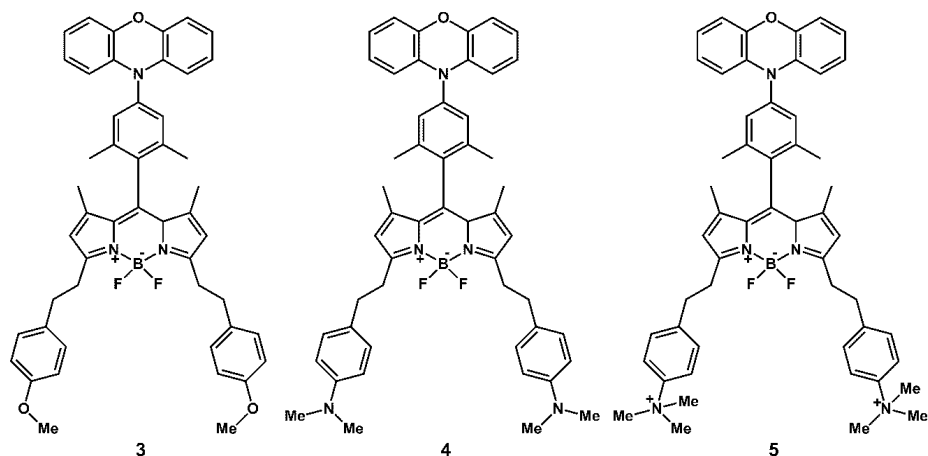
상기 R_2 및 R_3 은 서로 동일한, 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물 1 내지 5 중 하나인, 화합물:





청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액 중에서 선택된 하나 이상을 포함하는 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 가장 낮은 단일항 여기상태와 가장 낮은 삼중항 상태 사이의 에너지 갭($\Delta E_{S_{IT1}}$)이 1.00 eV 미만인, 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 수용액 또는 유기용액에서 단일항 산소(singlet oxygen)를 발생하는, 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 원적외선 또는 근적외선 파장 영역에서 분자 내 전하 이동에 의해 발광하는, 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서,

상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 양친매성 고분자와 접합하여 형성된 마이셀 나노 입자인, 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 마이셀 나노입자의 평균 크기는 60nm 이상 및 150nm 이하인, 조성물.

청구항 13

제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는, 광감각제.

청구항 14

제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는, 종양 진단 또는 치료용 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 종양은 유방암, 신장암, 고환암, 전립선암, 난소암, 자궁암, 자궁 경부암, 질암, 난관암, 직장암, 폐암, 위암, 간암, 식도암, 소장암, 췌장암, 구강암, 흑색종, 또는 육종을 포함하는, 종양 진단 또는 치료용 조성물.

청구항 16

제14항에 따른 종양 진단 또는 치료용 조성물을 인간 제외 포유류의 대상체와 접촉시키는 단계;

상기 종양 진단 또는 치료용 조성물이 목표 세포 내에 분포되기 위한 시간을 허용하는 단계; 및

상기 대상체의 목표 세포 부위에 광을 조사하는 단계;를 포함하는, 광역학 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 화합물, 이를 포함하는 조성물, 상기 조성물을 포함하는 광감각제 및 종양 진단 또는 치료용 조성물, 및 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물을 이용한 광역학 치료방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 광역학치료(Photodynamic therapy, PDT)는 다양한 유형의 암 및 기타 질병의 치료를 위해 여러 국가에서 승인된 의료기술이다. 광역학치료(PDT)를 위해 광감각제(photosensitizer, PS), 빛 및 산소가 필요하다. 즉, 광조사 하에 PS가 활성화되고, 여기된 광감각제는 산소분자와 상호작용하여 세포독성의 반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생성하며, 생체분자를 산화시켜 암세포를 사멸시킬 수 있다.

[0003] 광감각제(PS) 중 보론 디피로메텐(BODIPY) PS는 우수한 안정성 및 물리 및 화학적 특성을 가지고 있어 개발되고 있으나 BODIPY에 중원자를 도입한 PS는 독성, 삼중항 여기 수명 단축, 비용 등에 대한 우려가 있어 중원자를 도입하지 않은 PS 개발이 필요하다.

[0004] 이러한 관점에서, 신규한 구조의 화합물, 이를 포함하는 조성물, 상기 조성물을 포함하는 광감각제 및 종양 진단 또는 치료용 조성물, 및 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물을 이용한 광역학 치료방법에 대한 요구가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 일 측면은 중원자를 도입하지 않은 신규한 화합물을 제공하는 것이다.

[0006] 다른 측면은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 또다른 측면은 상기 조성물을 포함하는 광감각제를 제공하는 것이다.

[0008] 또다른 측면은 상기 조성물을 포함하는 종양 진단 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

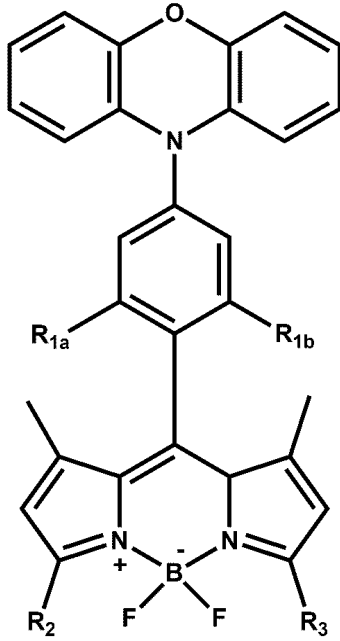
[0009] 또다른 측면은 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물을 이용한 광역학 치료방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 일 측면에 따라,

[0011] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물이 제공된다:

[0012] <화학식 1>



[0013]

[0014]

[0015]

[0016]

[0017]

[0018]

[0019]

[0020]

[0021]

[0022]

[0023]

[0024]

[0025]

[0026]

[0027]

상기 화학식 1에서,

R_{1a} 및 R_{1b}는 서로 독립적으로, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬기 또는 이들의 조합일 수 있고;

R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬기, 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알케닐기, 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알콕시기, -N(Q₁)(Q₂), -N⁺(Q₁)(Q₂)(Q₃), 또는 이들의 조합일 수 있고;

Q₁ 내지 Q₃는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬기, 또는 이들의 조합일 수 있다.

다른 측면에 따라,

전술한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액; 중에서 선택된 하나 이상을 포함하는 조성물이 제공된다.

또 다른 측면에 따라,

전술한 조성물을 포함하는, 광감각제가 제공된다.

또 다른 측면에 따라,

전술한 조성물을 포함하는, 종양 진단 또는 치료용 조성물이 제공된다.

또다른 측면에 따라,

전술한 종양 진단 또는 치료용 조성물을 인간 제외 포유류의 대상체와 접촉시키는 단계;

상기 종양 진단 또는 치료용 조성물이 목표 세포 내에 분포되기 위한 시간을 허용하는 단계; 및

상기 대상체의 목표 세포 부위에 광을 조사하는 단계;를 포함하는, 광역학 치료방법이 제공된다.

발명의 효과

[0028]

일 측면에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물로 중원자를 도입하지 않은 신규한 화합물이 제공될 수 있다. 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 광감각제는 광조사에 의해 활성산소를 생성하여 형광 이미징 및 광역학 치료에 사용될 수 있다. 상기 조성물은 종양 진단 또는 치료에 사용될 수 있다. 상기 화합물을 포함한 조성물을 이용하여 광역학 치료방법이 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0029]

도 1a는 일 구현예에 따른 화합물의 화학 구조 및 합성 경로이다.

도 1b는 일 구현예에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을 포함하는 마이셀 나노 입자 조성물 합성 과정의 모식도 이다.

도 1c는 일 구현예에 따른 조성물(실시예 1) 및 비교예 1의 DLS 측정 결과 및 실시예 1의 TEM 이미지 이다.

도 1d는 실시예 1 및 비교예 1의 자외선 가시광 흡수(UV-vis absorption) 스펙트럼 및 PL 스펙트럼 측정 결과이다.

도 1e는 실시예 1 및 비교예 1의 ROS 생성능 측정 결과이다.

도 1f는 2 광자 여기 파장에 따른 실시예 1의 형광 강도 측정 결과이다.

도 1g는 2 광자 여기 파장의 조사 시간에 따른 실시예 1의 형광 강도 측정 결과이다.

도 2a는 암 세포 및 정상 세포에서 각각 실시예 1의 처리 전/후의 형광 현미경 이미지이다.

도 2b는 ROS 프로브(DCFH-DA) 및 사멸 세포 마커(PI)에서 각각 실시예 1의 처리 전/후의 형광 현미경 이미지이다.

도 2c는 여러 농도로 실시예 1을 처리한 HeLa 세포의 생존율을 분석한 결과이다.

도 3은 DCFH-DA 및/또는 실시예 1을 처리한 HeLa 세포의 ROS 생성능 측정 결과이다.

도 4a는 실시예 1 및 Hoechst 33342를 처리한 HeLa 세포의 오버레이 이미지 및 밝은 부분(brightfield) 이미지이다.

도 4b는 실시예 1로 처리 후 각각 다른 레이저 출력에서 조사한 세포의 생존능 측정 결과이다.

도 4c는 실시예 1 및 레이저 출력 간 상관 관계 이다.

도 4d는 780nm에서 광 여기 조사 이후 세포 생존능을 측정한 결과이다.

도 5a는 DHR123(dihydrorhodamine123)을 처리한 HeLa 스페로이드의 ROS 생성 3D 이미지이다.

도 5b는 실시예 1을 처리한 HeLa 스페로이드의 ROS 생성 3D 이미지이다.

도 5c는 DHR123을 처리한 HeLa 스페로이드의 형광 이미지이다.

도 5d는 실시예 1을 처리한 HeLa 스페로이드의 형광 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030]

이하, 첨부된 도면을 참조하면서 본 발명의 일 구현예에 따른 화합물, 이를 포함하는 조성물, 상기 조성물을 포함하는 광감각제 및 종양 진단 또는 치료용 조성물, 및 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물을 이용한 광역학 치료방법에 관하여 상세히 설명하기로 한다. 이하는, 예시로서 제시되는 것으로서 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않으며 본 발명은 후술할 특허청구범위의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0031]

본 명세서에서 "포함"이라는 용어는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 추가 또는/및 개재할 수 있음을 나타내도록 사용된다.

[0032]

본 명세서에서 "이들의 조합"이라는 용어는 기재된 구성요소들 하나 이상과의 혼합 또는 조합되는 것을 의미한다.

[0033]

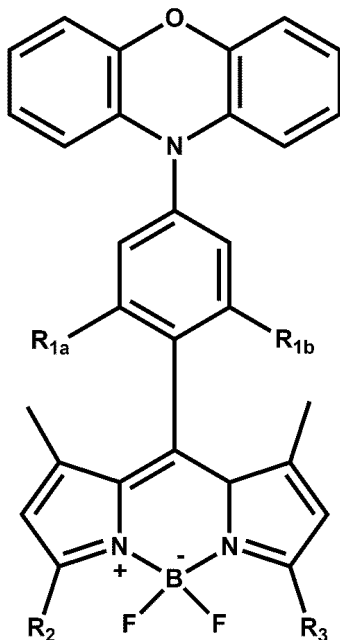
본 명세서에서 "약학적으로 허용가능한 염"은 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에 기인한 부작용이 이로온 효능을 떨어뜨리지 않는 화학식 1 등으로 표시되는 화합물의 어떠한 유기 또는 무기 부가염을 의미한다. 이들 염은 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 질산, 황산, 과염소산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 젖산, 말레산, 푸마린산, 글루콘산, 메탄설폰산, 글리콘산, 숙신산, 타타르산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 아스파르트산, 옥살산, (D) 또는 (L) 말산, 말레산, 메테인설폰산, 에테인설폰산, 4-톨루엔설폰산, 살리실산, 시트르산, 벤조산 또는 말론산 등을 사용할 수 있다. 또한, 이들 염은 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등) 및 알칼리

토금속염(칼슘염, 마그네슘염 등) 등을 포함한다. 예를 들어, 산부가염으로는 아세테이트, 아스파테이트, 벤즈에이트, 베실레이트, 바이카보네이트/카보네이트, 바이설페이트/설페이트, 보레이트, 캄실레이트, 시트레이트, 에디실레이트, 에실레이트, 포메이트, 푸마레이트, 글루셉테이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 헥사플루오로포스페이트, 바이벤제이트, 하이드로클로라이드/클로라이드, 하이드로브로마이드/브로마이드, 하이드로요오디드/요오디드, 이세티오네이트, 락테이트, 말레이트, 말리에이트, 말로네이트, 메실레이트, 메틸설페이트, 나프틸레이트, 2-나프실레이트, 니코티네이트, 나이트레이트, 오로테이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/수소 포스페이트/이수소 포스페이트, 사카레이트, 스테아레이트, 석시네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 트리플루오로아세테이트, 알루미늄, 알기닌, 벤자틴, 칼슘, 콜린, 디에틸아민, 디올아민, 글라이신, 라이신, 마그네슘, 메글루민, 올아민, 칼륨, 나트륨, 트로메타민, 아연염 등이 포함될 수 있으며, 이들 중 하이드로클로라이드 또는 트리플루오로아세테이트일 수 있다.

[0034] 본 명세서에서 "나노 입자"라는 용어는 1에서 100 나노미터(nm)의 크기를 가지면서 마이크로 사이즈 구조에서는 보기 힘든 현상들이 관찰되는 구조 물질을 의미한다.

[0035] 일 구현예에 따른 화합물은 하기 화학식 1로 표시될 수 있다:

[0036] <화학식 1>



[0037] 상기 화학식 1에서,

[0039] R_{1a} 및 R_{1b} 는 서로 독립적으로, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0040] R_2 및 R_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알콕시기, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-N^+(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, 또는 이들의 조합일 수 있고;

[0041] Q_1 내지 Q_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 또는 이들의 조합일 수 있다.

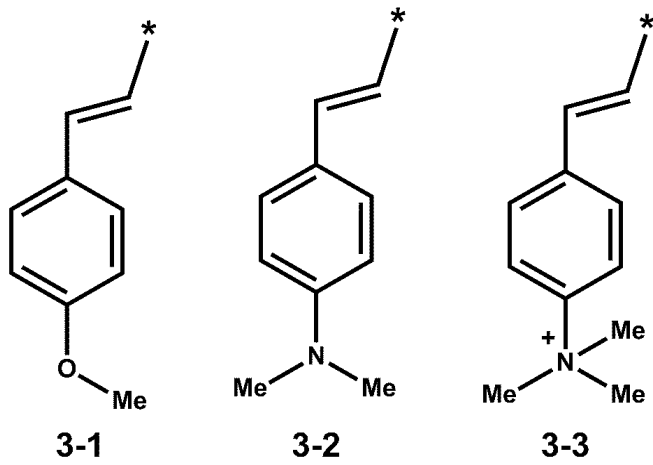
[0042] 예를 들어, 상기 R_{1a} 및 R_{1b} 는 서로 독립적으로, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0043] 예를 들어, 상기 R_2 및 R_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알케닐기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알콕시기, $-N(Q_1)(Q_2)$, $-N^+(Q_1)(Q_2)(Q_3)$, 또는 이들의 조합이고;

[0044] Q_1 내지 Q_3 는 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기, 또는 이들의 조합일 수

있다.

[0045] 예를 들어, 상기 R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로, 수소, 중수소(-D), 치환 또는 비치환된 C_1 - C_5 알킬기, 또는 하기 화학식 3-1 내지 3-3로 표시되는 그룹일 수 있다:



[0046]

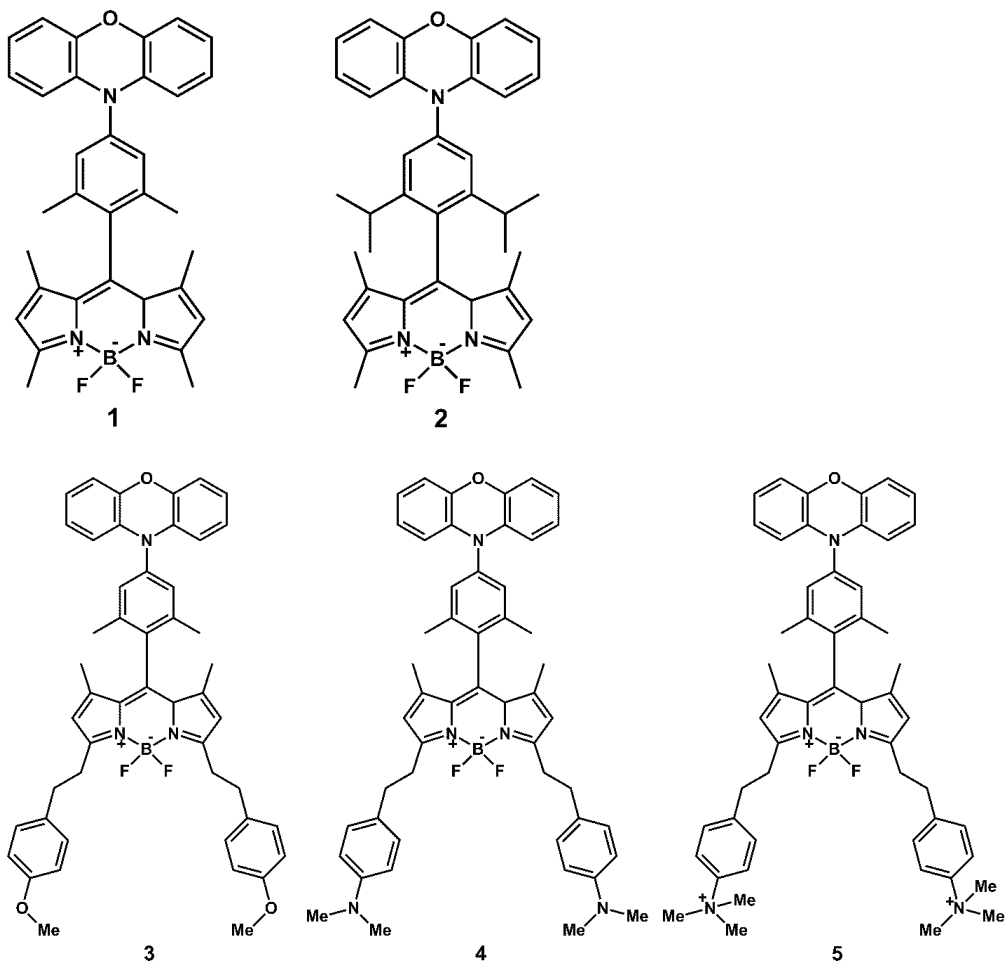
[0047] 상기 화학식 3-1 내지 3-3 중,

[0048] Me는 메틸기이고,

[0049] *은 이웃한 원자와의 결합 사이트이다.

[0050] 예를 들어, 상기 R_2 및 R_3 은 서로 동일할 수 있다.

[0051] 예를 들어, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물 1 내지 5 중 하나일 수 있다:



[0053]

- [0054] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 R_{1a} 및 R_{1b} 를 포함하므로, 회전하는 비방사선 붕괴 통로를 막아 원적외선 영역에서 상기 화합물의 방출능 및 ROS 생성능을 향상시킬 수 있다. 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 중 폐녹사진기는 입체적 부피로 인해 ΔE_{ST} 를 조절하여 효율적인 ISC 프로세스를 구현할 수 있다.
- [0055] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 양친매성 고분자와 접합하여 형성된 마이셀 나노 입자인 조성물은, 광 안정성 및 생체 적합성이 우수하다. 또한, 독성이 낮은 녹색광(1 광자) 하에서도 세포 내 ROS를 생성하여 암세포를 효과적으로 제거할 수 있고, 2 광자 하에서도 수용액 및 살아있는 세포 모두에서 ROS를 생성할 수 있다.
- [0056] 따라서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 방출능이 우수하고 ROS 생성능이 향상된 광감각제, 종양 진단 또는 치료용 조성물로 사용될 수 있다.
- [0057] 다른 일 구현예에 따른 조성물은, 전술한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및
- [0058] 용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액 중에서 선택된 하나 이상을 포함하는 조성물일 수 있다.
- [0059] 전술한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염을; 및 물, 버퍼용액, 또는 유기용매;를 포함하는 조성물을 포함할 수 있다.
- [0060] 예를 들어, 상기 조성물은, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염의 가장 낮은 단일항 여기상태와 가장 낮은 삼중항 상태 사이의 에너지 갭(ΔE_{SIT1})이 1.00 eV 미만일 수 있다. 예를 들어, 상기 에너지 갭(ΔE_{SIT1})은 0.00 eV 초과 및 0.50 eV 이하일 수 있다.
- [0061] 예를 들어, 상기 조성물은, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 수용액 또는 유기용액에서 단일항 산소(singlet oxygen)를 발생할 수 있다.
- [0062] 예를 들어, 상기 조성물은, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 원적외선 또는 근적외선 파장 영역에서 분자 내 전하 이동에 의해 발광할 수 있다.
- [0063] 예를 들어, 상기 조성물은, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이 양친매성 고분자와 접합하여 형성된 마이셀 나노 입자일 수 있다.
- [0064] 예를 들어, 상기 마이셀 나노입자의 평균 크기는 60nm 이상 및 150nm 이하일 수 있다. 예를 들어, 상기 마이셀 나노입자의 평균 크기는 60nm 이상 및 140nm 이하, 60nm 이상 및 130nm 이하, 60nm 이상 및 120nm 이하, 60nm 이상 및 110nm 이하, 60nm 이상 및 100nm 이하, 60nm 이상 및 90nm 이하 70nm 이상 및 140nm 이하, 70nm 이상 및 130nm 이하, 70nm 이상 및 120nm 이하, 70nm 이상 및 110nm 이하, 70nm 이상 및 100nm 이하, 80nm 이상 및 140nm 이하, 80nm 이상 및 130nm 이하, 80nm 이상 및 120nm 이하, 80nm 이상 및 110nm 이하, 또는 80nm 이상 및 100nm 이하일 수 있다.
- [0065] 또 다른 일 구현예에 따른 광감각제는, 전술한 조성물을 포함할 수 있다.
- [0066] 또 다른 일 구현예에 따른 종양 진단 또는 치료용 조성물은, 전술한 조성물을 포함할 수 있다.
- [0067] 예를 들어, 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물 중 상기 종양은 유방암, 신장암, 고환암, 전립선암, 난소암, 자궁암, 자궁 경부암, 질암, 난관암, 직장암, 폐암, 위암, 간암, 식도암, 소장암, 췌장암, 구강암, 흑색종, 또는 육종을 포함할 수 있다.
- [0068] 또 다른 일 구현예에 따른 광역학 치료 방법은, 전술한 종양 진단 또는 치료용 조성물을 인간 제외 포유류의 대상체와 접촉시키는 단계;
- [0069] 상기 종양 진단 또는 치료용 조성물이 목표 세포 내에 분포되기 위한 시간을 허용하는 단계; 및
- [0070] 상기 대상체의 목표 세포 부위에 광을 조사하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0071] 상기 광역학 치료방법은 시공간 선택성, 비침습성, 및 부작용의 감소와 같은 잇점을 나타낼 수 있다.
- [0072] 본 명세서에서, 치환기는 치환되지 않는 모그룹(mother group)에서 하나 이상의 수소가 다른 원자나 작용기를 교환됨에 의하여 유도된다. 다르게 기재하지 않으면, 어떠한 작용기가 "치환된"것으로 여겨질 때, 그것은 상기 작용기가 탄소수 1 내지 40의 알킬기, 탄소수 2 내지 40의 알케닐기, 탄소수 2 내지 40의 알킬닐기, 탄소수 3 내지 40의 시클로알킬기, 탄소수 3 내지 40의 시클로알케닐기, 탄소수 7 내지 40의 아릴기에서 선택된 하나 이상의 치환기로 치환됨을 의미한다. 작용기가 "선택적으로 치환된다"고 기재되는 경우에, 상기 작용기가 상술한

치환기로 치환될 수 있다는 것을 의미한다.

- [0073] 본 명세서에서, "탄소수 a 내지 b"의 a 및 b는 특정 작용기(group)의 탄소수를 의미한다. 즉, 상기 작용기는 a 부터 b까지의 탄소원자를 포함할 수 있다. 예를 들어, "탄소수 1 내지 4의 알킬렌기"는 1 내지 4의 탄소를 가지는 알킬렌기, 즉, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_3)_2\text{C}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$ and $-(\text{CH}_3)_2\text{C}-$ 를 의미한다.
- [0074] 본 명세서에서, "알킬"이라는 용어는 분지된 또는 분지되지 않은 지방족 탄화수소를 의미한다. 일 구현예에서 알킬기는 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 알킬기는 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, 부틸기, 이소부틸기, tert-부틸기, 펜틸기, 헥실기, 시클로프로필기, 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 시클로헵틸기 등을 포함하나 반드시 이들로 한정되지 않으며, 이들 각각은 선택적으로 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 일 구현예에서 알킬기는 1 내지 6의 탄소원자를 가질 수 있다. 예를 들어, 탄소수 1 내지 6의 알킬기는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소-부틸, sec-부틸, 펜틸, 3-펜틸, 헥실 등일 수 있으나 반드시 이들로 한정되지 않는다.
- [0075] 본 명세서에서, "알케닐"이라는 용어는 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 갖는 분지형 또는 비분지형 탄화수소를 의미한다. 알케닐기의 비제한적인 예로는 비닐, 알릴, 부테닐, 이소프로페닐, 또는 이소부테닐 등을 들 수 있다.
- [0076] 본 명세서에서, "알키닐"이라는 용어는 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중결합을 갖는 분지형 또는 비분지형 탄화수소를 말한다. 알키닐기의 비제한적인 예로는 에티닐, 부티닐, 이소부티닐, 이소프로피닐 등을 들 수 있다.
- [0077] 본 명세서에서, "시클로알킬"이라는 용어는 1가 포화 탄화수소 모노시클릭을 의미한다. 시클로알킬기의 비제한적인 예로는 시클로프로필기, 시클로부틸기, 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 시클로헵틸기 등을 들 수 있다.
- [0078] 본 명세서에서, "헤테로시클로알킬"이라는 용어는 N, O, Si, P 및 S 중에서 선택된 적어도 하나의 헤테로 원자를 고리-형성 원자로서 포함한 1가 모노시클릭을 의미한다. 헤테로시클로알킬기의 비제한적인 예로는 1,2,3,4-옥사트리아졸리딘기(1,2,3,4-oxatriazolidinyl), 테트라히드로푸라닐기(tetrahydrofuranyl), 테트라히드로티오펜기 등을 들 수 있다.
- [0079] 본 명세서에서, "시클로알케닐"이라는 용어는 1가 모노시클릭으로서, 고리 내에 적어도 하나의 이중 결합을 가지거나, 방향족성(aromaticity)을 갖지 않는 것을 의미한다. 시클로알케닐기의 비제한적인 예로는 시클로펜테닐기, 시클로헥세닐기, 시클로헵테닐기 등을 들 수 있다.
- [0080] 본 명세서에서, "헤테로시클로알케닐"이라는 용어는 N, O, Si, P 및 S 중에서 선택된 적어도 하나의 헤테로 원자를 고리-형성 원자로서 포함한 1가 모노시클릭으로서, 고리 내에 적어도 하나의 이중결합을 갖는 것을 의미한다. 헤테로시클로알케닐기의 비제한적인 예로는, 4,5-디히드로-1,2,3,4-옥사트리아졸일기, 2,3-디히드로푸라닐기, 2,3-디히드로티오펜기 등을 들 수 있다.
- [0081] 본 명세서에서, "아릴"라는 용어는 고리 골격이 오직 탄소만을 포함하는 방향족 고리, 고리 시스템(즉, 2개의 인접하는 탄소 원자들을 공유하는 2 이상의 융합된(fused) 고리), 또는 복수의 방향족 고리가 단일결합, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{Si}(\text{R}_a)(\text{R}_b)-$ (R_a 및 R_b 는 서로 독립적으로 탄소수 1 내지 10의 알킬기), 할로젠으로 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 10의 알킬렌기, 또는 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 에 의하여 서로 연결된 고리를 의미한다. 아릴기가 고리 시스템이면, 상기 시스템에서 각각의 고리는 방향족이다. 예를 들어, 아릴기는 페닐기, 비페닐기, 나프틸기, 페날트레닐기(phenanthrenyl), 나프타세닐기(naphthacenyl) 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 상기 아릴기는 치환되거나 치환되지 않을 수 있다.
- [0082] 본 명세서에서, "헤테로아릴"이라는 용어는 N, O, P 또는 S 중에서 선택된 하나 이상의 헤테로원자를 포함하고, 나머지 고리원자가 탄소인 모노시클릭(monocyclic) 또는 바이시클릭(bicyclic) 유기 화합물을 의미한다. 상기 헤테로아릴기는 예를 들어 1-5개의 헤테로원자를 포함할 수 있고, 5-10 고리 멤버(ring member)를 포함할 수 있다. 상기 S 또는 N은 산화되어 여러가지 산화 상태를 가질 수 있다.
- [0083] "헤테로아릴"의 비제한적인 예로는, 티에닐, 푸릴, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,2,5-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 1,2,3-티아디아졸릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 1,2,5-티아디아졸릴, 1,3,4-티아디아졸릴, 이소티아졸-3-일, 이소티아졸-4-일, 이소티아졸-5-일, 옥사졸-2-일, 옥사졸-4-일, 옥사졸-5-일, 이소옥사졸-3-일, 이소옥사졸-4-일, 이소옥사졸-5-일, 1,2,4-트리아졸-3-일, 1,2,4-트리아졸-5-일, 1,2,3-트리아졸-4-일, 1,2,3-트리아졸-5-일, 테트라졸릴, 피리드-2-일,

피리드-3-일, 2-피라진-2-일, 피라진-4-일, 피라진-5-일, 2- 피리미딘-2-일, 4- 피리미딘-2-일, 또는 5-피리미딘-2-일 등을 들 수 있다.

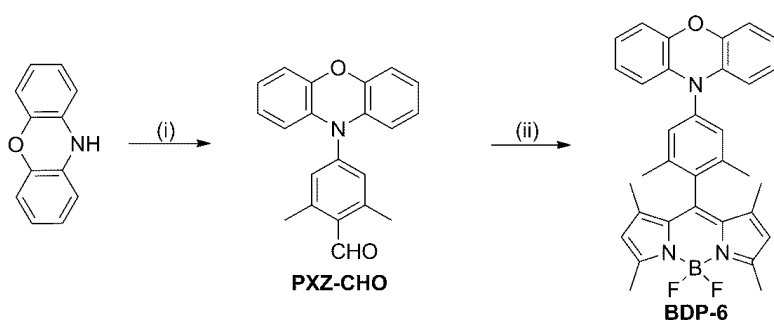
[0084] 이하 본 발명의 실시예 및 비교예를 기재한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 일 실시예일뿐 본 발명이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0085] [실시예]

[0086] 모든 실험은 불활성 질소 분위기 하에 수행하였다. 무수-등급 용매(Aldrich), 분광강도-등급 용매 및 모든 상용되는 시약은 받은 그대로 사용하였다. Cambridge Isotope Laboratories의 중수소화 용매를 사용하였다. NMR 스펙트럼은 주변 온도에서 Bruker AM 300 (300.13 MHz for ^1H , 75.48 MHz for ^{13}C) 분광계로 기록하였다. 화학적 이동(ppm)은 외부의 Me_4Si (^1H , ^{13}C)를 기준으로 하였다. 질량 측정은 Synapt G2-HDMS 질량 분석기로 기록하였다.

[0087] 하기 합성예 1에 의해 제조된 화합물에 대한 반응스킴 1은 다음과 같다:

[0088] <반응스킴 1>



[0089]

[0090] **합성예 1: BDP-6(화합물 1)의 합성**

[0091] 1) 중간체 1(PXZ-CHO)의 합성

[0092] 페녹사진 (0.5g, 2.73mmol), 4-브로모-2,6-디메틸 벤즈알데히드 (0.64g, 3.00mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.03g, 0.14mmol), $t\text{-Bu}_3\text{PHBF}_4$ (0.12g, 0.41mmol) 및 K_2CO_3 (1.12g, 8.10mmol)를 톨루엔 (15ml)에 용해한 용액을 얻었다. 상기 용액을 N_2 로 퍼징하고 110 $^\circ\text{C}$ 에서 24 시간 동안 교반하여 반응물을 얻었다. 상기 반응물을 DCM (20 ml x 3)으로 추출하였다. 상기 추출물을 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고 용매를 감압 하에 증발시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 용리액으로 디클로로메탄 / 헥산 (1 : 1, v / v)을 사용하는 실리카겔 컬럼 크로마토 그래피로 정제하여 중간체 1을 얻었다(0.82g, 95.27 %).

[0093] ^1H NMR (CDCl_3) : δ 10.67 (s, 1H), 7.11 (s, 2H), 6.71 - 6.59 (m, 6H), 5.98 (d, J = 7.2Hz, 2H), 2.66 (d, J = 0.8Hz, 6H).

[0094] ^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3) : δ 192.7, 144.4, 144.0, 132.6, 132.3, 131.4, 129.7, 123.3, 121.8, 115.6, 113.4, 20.6.

[0095] 2) 화합물 1(BDP-6)의 합성

[0096] 상기 중간체 1(0.5g, 1.59mmol) 및 2,4- 디메틸피롤 (0.38g, 3.96mmol)을 질소 분위기 하에서 무수 디클로로메탄 (40ml)에 용해시켜 용액을 얻었다. 상기 용액에 트리 플루오로아세트산(TFA) 한 방울을 첨가하고 실온에서 3 시간 동안 교반하여 반응물을 얻었다. 알데히드가 완전히 사라졌는지 TLC를 이용하여 확인한 후, 상기 반응물에 p-클로로아닐 (0.39 g, 1.59 mmol)을 첨가하여 혼합물을 얻었다. 상기 혼합물을 1 시간 동안 교반하고, Et_3N (TEA) (3.09 mL, 2.25 g, 22.20 mmol)을 첨가하고, 30 분 후 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (2.74 mL, 3.15 g, 22.20 mmol)를 천천히 첨가하고, 용매를 감압하에 제거하여 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 용리액으로서 디클로로메탄 / 헥산 (3 : 2, v / v)을 사용하는 크로마토 그래피로 정제하여 화합물 1(BDP-6, 0.64 g, 76 %)을 얻었다.

[0097] ^1H NMR (CDCl_3): δ 7.16 (s, 2H), 6.72-6.58 (m, 6H), 6.04 (s, 2H), 5.91 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 2H), 2.59 (s, 6H), 2.23 (s, 6H), 1.55 (s, 6H).

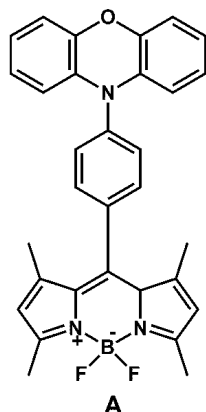
[0098] ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 155.9, 141.6, 139.8, 139.1, 134.7, 130.1, 123.2, 121.3, 112.9, 19.7, 14.7, 13.5. ESI-MS calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{31}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 534.2528, found: 534.2533.

[0099] 실시예 1: BDP-6 NP의 합성

[0100] 화합물 1(BDP-6, 1.0mg) 및 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[biotinyl(polyethylene glycol)-2000] (DSPE-PEG(2000) 비오틴, 5 mg)을 테트라 히드로푸란 (THF, 1 ml)에 용해한 후, 탈 이온수 (10 ml)에 천천히 적가하였다. THF가 증발하도록 상기 혼합물을 밤새 교반 하였다. 그 후 상기 용액을 0.20 μm 일회용 멤브레인을 통해 여과하여 BDP-6 NPs의 여과 용액을 얻었다. 상기 용액을 30 분 동안 원심 분리한 후, 피펫으로 상층액을 조심스럽게 제거하였다. 침전물에 200 μL 탈 이온수를 첨가하여, 실시예 1의 BDP-6 NP를 얻었다.

[0101] 비교예 1: BDP-5 NP의 합성

[0102] 상기 화합물 1 대신 화합물 A를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 1과 동일한 방법으로 비교예 1의 BDP-5 NP를 얻었다.



[0103]

[0104] 분석예 1: DLS 및 TEM 이미지 측정

[0105] 동적 광 산란(Dynamic light scattering, DLS)는 Nano-ZS(Malvern)로 측정하였다. TEM 이미지는 JSM-6700F 전계 방출 주사 전자 현미경(JEOL)을 사용하여 측정하였다.

[0106] 도 1c는 일 구현예에 따른 조성물(실시예 1) 및 비교예 1의 DLS 측정 결과 및 실시예 1의 TEM 이미지이다. 실시예 1의 조성물은 구형이고, 평균 크기가 약 90nm 임을 알 수 있다.

[0107] 분석예 2: UV-vis 흡수 및 광발광 스펙트럼 및 ROS 생성능 측정

[0108] UV-vis 흡수 및 광발광 (PL) 스펙트럼은 각각 Thermo Scientific Evolution 201 UV-vis 분광계와 FS-2 분광 광도계(Scinco)로 측정하였다. 희석한 샘플액(통상 10 μM)을 주변조건에서 저장액(1.0 mM)으로부터 준비하였다. 상기 용액 (10 μM)의 UV-vis 및 PL 스펙트럼은 1cm 석영 큐벳을 사용하여 측정하였다.

[0109] 1 광자 ROS 생성능은, 2', 7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA)를 프로브로 사용하여 물에서 녹색 LED 광 조사 하에 측정하였다. 2 광자 ROS 생성능은, DHR123을 프로브로 사용하여 수용액 조건에서 2 광자(two-photon, TP) 조사 하에 측정하였다. 30 μL 의 1.03 mM BDP-6 NP와 0.75 μL 의 10 mM DHR123을 2.97 mL H_2O 에 첨가하여 10 μM BDP-6 NP 및 2.5 μM DHR123을 포함하는 큐벳을 준비하였다. DHR123의 초기 형광 강도를 측정 한 후 TP 레이저를 30 분 동안 노출하였다. TP 조사 후 증가된 형광 강도에서 DHR123의 초기 형광 강도를 제거 하여 변화를 측정하였다. 500 nm에서 측정 된 DHR123의 형광 강도와 방출 파장은 525 nm에서 기록하였다.

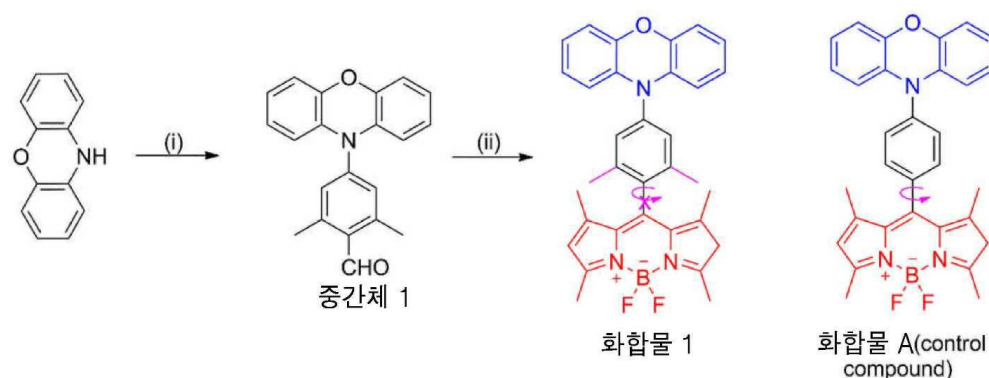
[0110] 도 1d는 실시예 1 및 비교예 1의 자외선 가시광 흡수(UV-vis absorption) 스펙트럼 및 PL 스펙트럼 측정 결과이다.

- [0111] 실시예 1 및 비교예 1은 500 nm 중심으로 강한 흡수 피크를 가졌다. 특히 실시예 1은 620 nm에서 최댓값을 가지며 비교예 1에 비해 형광 강도가 증가하였다. 이는 페닐렌기의 오쏘 위치에 치환된 메틸기가 분자 내 회전을 차단하는 역할을 하기 때문이다.
- [0112] 도 1e는 실시예 1 및 비교예 1의 ROS 생성능 측정 결과이다.
- [0113] 실시예 1은 비교예 1 보다 우수한 ROS 생성능을 가짐을 알 수 있었다.
- [0114] 도 1f는 2 광자 여기 파장에 따른 실시예 1의 형광 강도 측정 결과이다. 도 1g는 2 광자 여기 파장의 조사 시간에 따른 실시예 1의 형광 강도 측정 결과이다.
- [0115] 740 nm에서 840 nm 파장 범위에서 10 nm 간격으로 TP가 조사되었다. 100 mW 전력에서 TP 여기 시 rhodamine123이 형성되어 526 nm에서 강한 방출 신호를 보였다. DHR123(dihydrorhodamine123)의 응답은 780 nm에서 가장 많았으며, 160분 동안 연속적으로 TP 노출 시 ROS가 점진적으로 생성됨을 알 수 있었다.
- [0116] **분석예 3: 세포 내 측정**
- [0117] (1) 형광 이미지 측정
- [0118] HeLa 세포를 태아 소 혈청 10 % (FBS) 및 페니실린 (100 units mL⁻¹)이 포함된 Dulbeco's Modified Eagle medium (DMEM)에서 48 시간 동안 배양하였다. 이미징 전에 세포 배양 배지를 무 혈청 DMEM으로 교체한 다음 광감각제로 염색하고 배양하였다. 2 광자 형광 이미지는 x40 오일 대물 렌즈를 사용하는 다광자 및 스펙트럼 공초점 현미경 (Leica TCS SP8 MP)으로 얻었다. 2 광자 여기 광감각제를 초점면에서 $\sim 8.11 \times 10^5 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 에 해당하는 2.60 W 출력 전력을 가진 모드-고정된 fs Ti : Sapphire 레이저 소스 (Mai Tai HP)로 780 nm에서 여기하였다. 상기 조건에서 샘플에 전달된 레이저 출력은 3.73 mW 였다.
- [0119] 도 2a는 암 세포(HeLa cells) 및 정상 세포(WI38)에서 각각 실시예 1의 처리 전/후의 형광 현미경 이미지이다. 실시예 1이 처리된 암 세포에서는 적색 형광 신호가 관찰되었으나, 정상 세포에서는 적색 형광 신호가 거의 없었다. 이로써 실시예 1의 종양 표적화 능력이 우수함을 알 수 있었다.
- [0120] 도 2b는 ROS 프로브(DCFH-DA) 및 사멸 세포 마커(PI)에서 각각 실시예 1의 처리 전/후의 형광 현미경 이미지이다.
- [0121] (2) 세포 내 ROS 생성능 측정
- [0122] HeLa 세포를 30 분 동안 광감각제 (5 μM) 및 DCHF-DA (20 μM)으로 염색 하였다. 배양 후, 세포를 무 혈청 DMEM으로 2 회 세척 하였다. 세포는 각각 녹색 LED (20 / cm^2 에서 20 분) 또는 780 nm의 TP 광(0, 100, 200, 400 스캔)으로 조사 하였다. 각각의 TP 스캔 후 DCHF-DA의 형광 강도를 측정하였다. DCHF-DA의 이미징 조건은 488 nm 여기 및 500-550 nm 방출 창이었다.
- [0123] 도 2c는 여러 농도로 실시예 1을 처리한 HeLa 세포의 생존율을 분석한 결과이다. 실시예 1로 처리되지 않은 경우 녹색 LED 조사 시 세포 독성 효과는 없는 것을 알 수 있었다. 실시예 1로 처리된 경우, 실시예 1의 농도가 0.35 μM 에서 IC₅₀(half-maximal inhibitory concentration)을 가짐을 알 수 있었다. 이는 실시예 1의 조성물이 암세포를 표적으로 하여 광역학 치료 효과를 향상시킬 수 있음을 나타낸다.
- [0124] 도 3은 DCFH-DA 및/또는 실시예 1을 처리한 HeLa 세포의 ROS 생성능 측정 결과이다.
- [0125] DCFH-DA를 처리한 HeLa 세포는 TP 스캔 수가 증가하여도 형광이 증가되지 않았는데, 이는 DCF 생성이 불충분함을 나타낸다. 실시예 1을 처리한 HeLa 세포는 실시예 1이 일정한 형광 강도로 세포질에 분포됨을 알 수 있었다. 이는 실시예 1은 TP 유도된 PDT 조건에서도 안정함을 알 수 있었다. DCFH-DA 및 실시예 1을 모두 처리한 HeLa 세포는 TP 스캔 횟수의 증가에 따라 형광 강도가 강해졌는데, 이는 DCF 강도가 향상되어 실시예 1이 살아있는 세포에서 효율적으로 ROS를 생성했음을 알 수 있었다.
- [0126] (3) Hoechst 33342/PI 분석
- [0127] HeLa 세포는 광감각제 (10 μM) 및 Hoechst 33342 (2 μM)으로 염색 하였다. 배양 후, 세포를 무 혈청 DMEM 2 회 세척하고, 녹색 LED (20 / cm^2 에서 20 분) 또는 780 nm의 TP 광(0,100, 200, 300, 400, 500 스캔)으로 조사 하였다. 이어서, 세포를 30 분 동안 PI (10 μM)로 염색 하였다. 이미징 조건은 Hoechst 33342에 대한 400 내지 450 nm의 방출 창 및 488 nm의 여기 및 PI에 대한 605 내지 625 nm의 방출 창이었다.

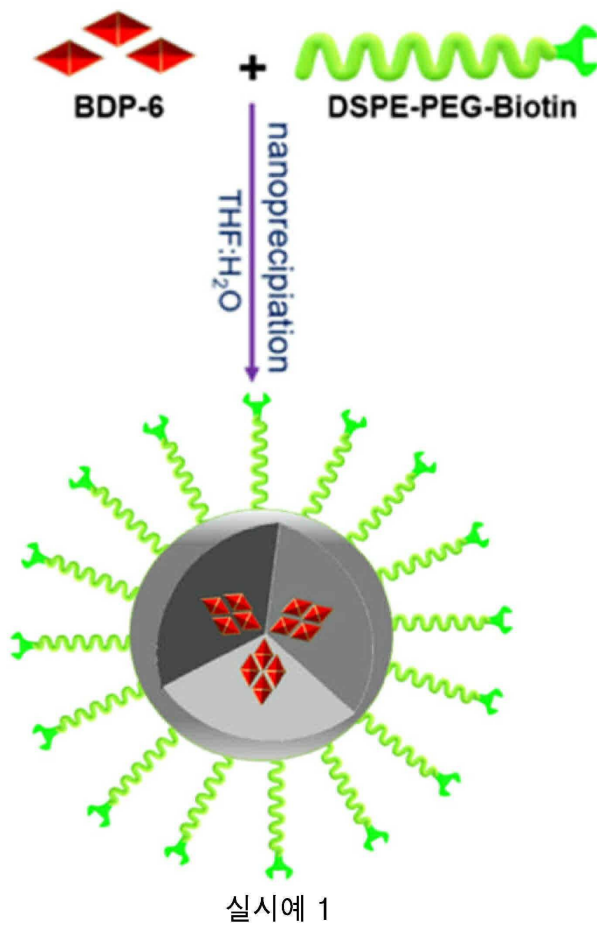
- [0128] 도 4a는 실시예 1 및 Hoechst 33342를 처리한 HeLa 세포의 오버레이 이미지 및 밝은 부분(brightfield) 이미지이다. TP 조사한 영역은 세포 사멸에 해당하는 PI(붉은색 반점)에서 형광을 나타내었다. 스캔 횟수가 증가함에 따라 Hoechst 33342(파란색 반점)의 형광이 감소하고, PI 염색된 세포의 수가 증가됨을 알 수 있었다. 500회 스캔에서 TP 조사 시 실시예 1이 처리된 세포는 조사 영역에서 완전히 제거되나, 조사되지 않은 영역에서는 Hoechst 33342로 처리된 살아있는 세포가 있음을 알 수 있는데, 이는 TP 유도된 PDT를 나타낸다.
- [0129] 도 4b는 실시예 1로 처리 후 각각 다른 레이저 출력(laser power)에서 조사한 세포의 생존능 측정 결과이다.
- [0130] 레이저 출력이 6.3 mW인 경우, 15회 스캔에서 TP 조사 시 50%의 세포 사멸을 보이고, 2.4 mW인 경우, 455회 스캔에서 이와 유사한 세포 사멸을 나타내었다.
- [0131] 도 4c는 실시예 1 및 레이저 출력 간 상관 관계 이다.
- [0132] $\log(\text{laser power}^{-1})$ 및 $\log(\text{LD}_{50})$ 은 기울기 2.76 ± 0.38 인 선형성을 나타내었다. 이는 비선형 PDT 프로세스를 통해 TP 조사 시 세포의 제거가 발생하였음을 나타낸다.
- [0133] 도 4d는 780nm에서 광 여기 조사 이후 세포 생존능을 측정한 결과이다.
- [0134] 100, 200, 400 및 500 스캔에 대한 IC50 값은 각각 $8.3 \mu\text{M}$, $5.6 \mu\text{M}$, $4.1 \mu\text{M}$, $0.7 \mu\text{M}$ 임을 알 수 있었다. 이는 실시예 1이 TP 여기서 우수한 PDT 효과를 나타낸다.
- [0135] (4) 세포 스페로이드 이미지 측정
- [0136] 스페로이드를 만들기 위해 HeLa 세포를 3D 세포 배양 접시 (MicroFIT)에서 48 시간 동안 배양하였다. 세포 배양 배지를 무 혈청 DMEM로 교체하고 각 PS ($100 \mu\text{M}$) 및 DHR123 ($15 \mu\text{M}$)에서 1 시간 동안 배양 하였다. 배양 후, 780 nm의 TP 광을 조사하여 ROS 생성능을 측정하였다. xyz 모드를 사용하여 100 개 이상의 색선 이미지를 획득하여 3D 스페로이드 형광 이미지를 얻은 후 각 색선 이미지를 LAS-X 프로그램을 사용하여 결합하였다. DHR123의 이미징 조건은 488 nm 여기 및 500-550 nm 방출 창이었다.
- [0137] 도 5a는 DHR123(dihydrorhodamine123)을 처리한 HeLa 스페로이드의 ROS 생성 3D 이미지이다.
- [0138] 도 5b는 실시예 1을 처리한 HeLa 스페로이드의 ROS 생성 3D 이미지이다.
- [0139] 도 5c는 DHR123을 처리한 HeLa 스페로이드의 형광 이미지이다.
- [0140] 도 5d는 실시예 1을 처리한 HeLa 스페로이드의 형광 이미지이다.
- [0141] 도 5c 및 5d로부터 HeLa 스페로이드에 실시예 1을 염색하고, 780 nm에서 TP 여기하면 DHR123은 밝은 녹색 형광을 나타냄을 알 수 있는데 이는 실시예 1이 TP 조사시 3D 암 세포 모델에서 ROS를 효과적으로 생성함을 나타낸다.
- [0142] 이로부터, 본 발명의 일 구현예에 따른 화합물이 종양 진단 또는 치료를 위한 치료용 조성물로서 사용될 수 있음을 알 수 있다.

도면

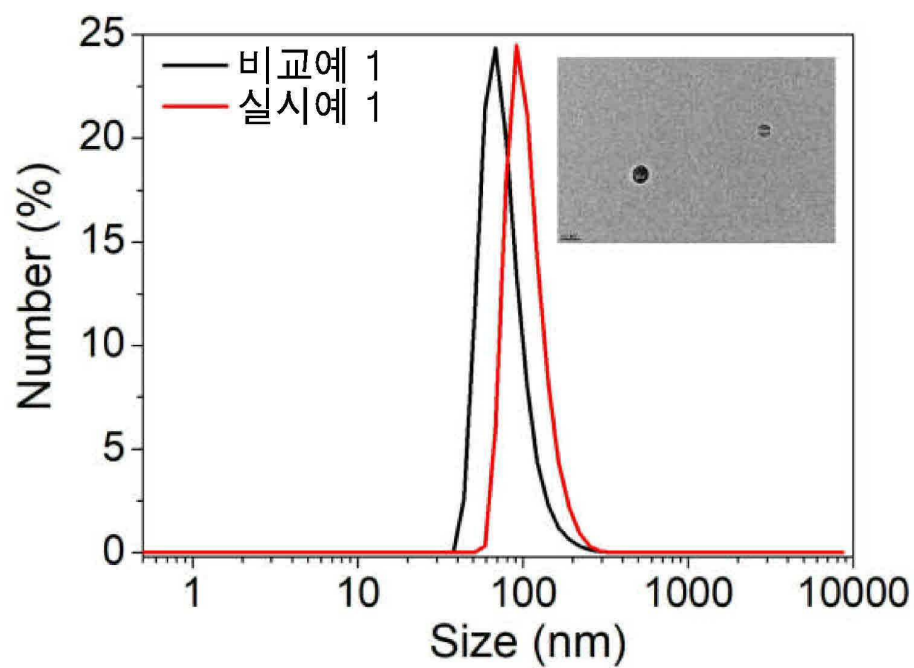
도면1a



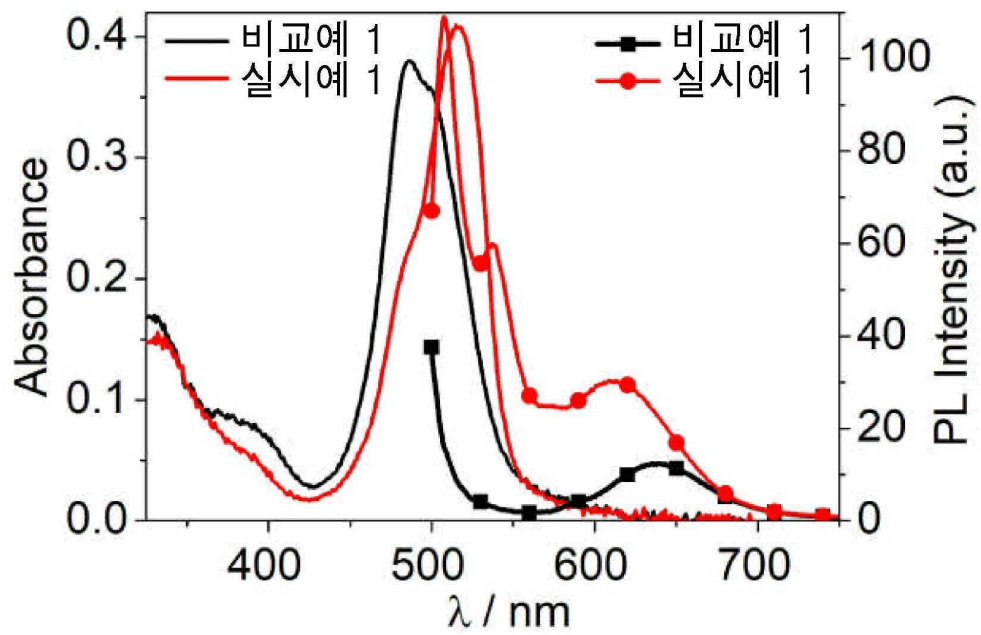
도면1b



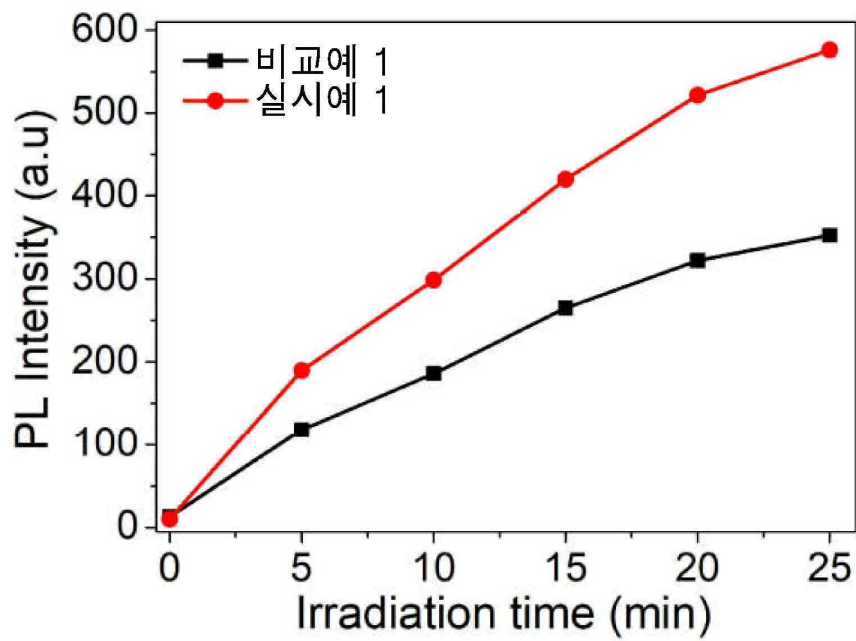
도면1c



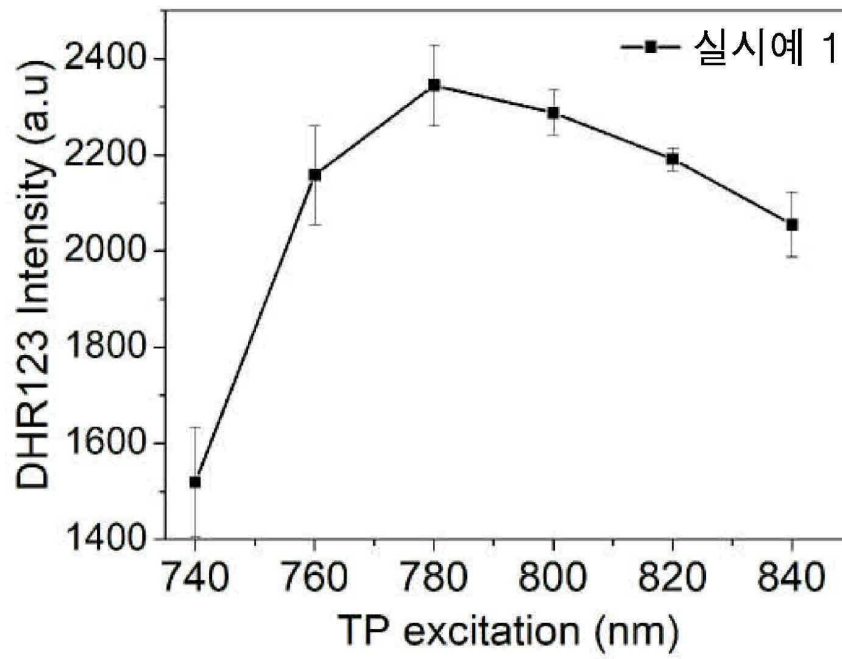
도면1d



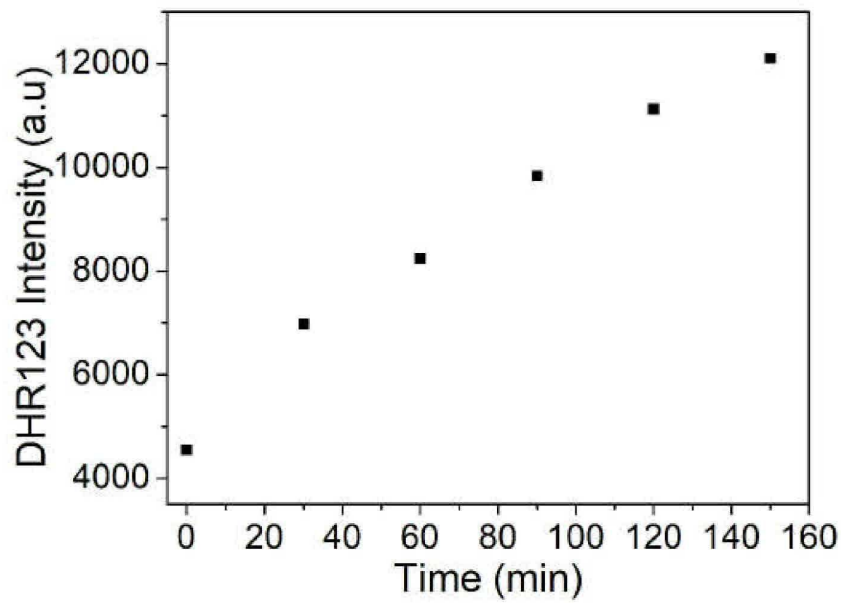
도면1e



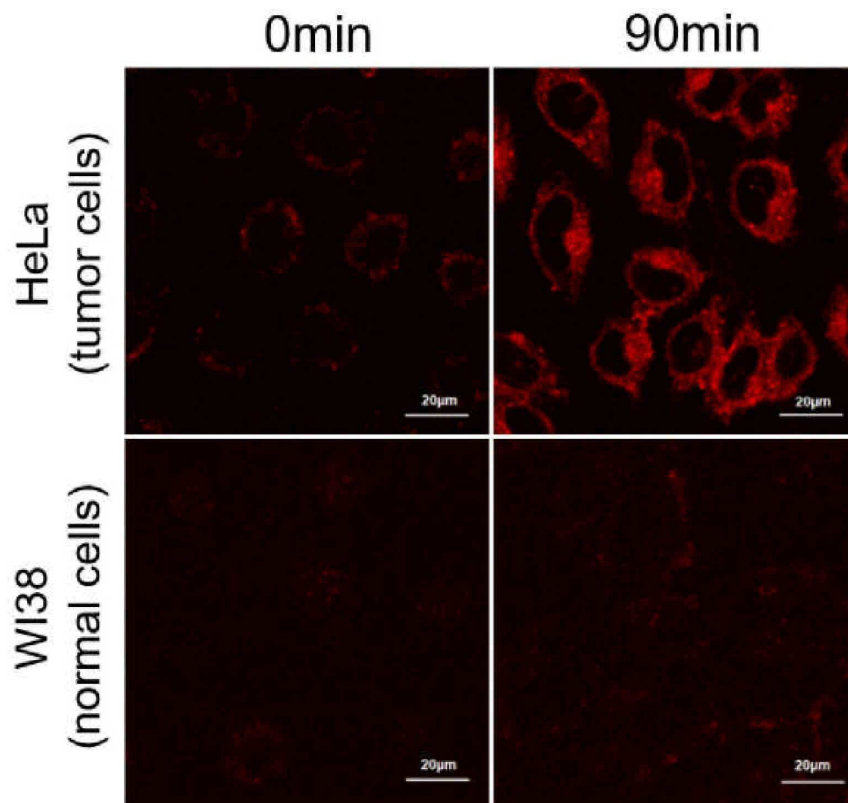
도면1f



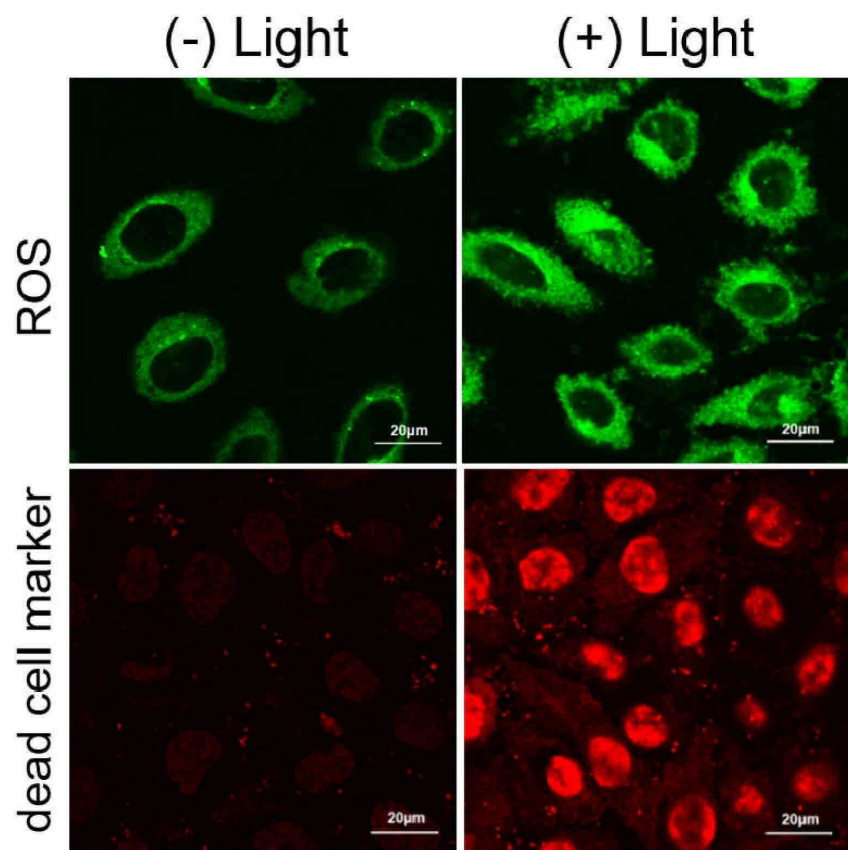
도면1g



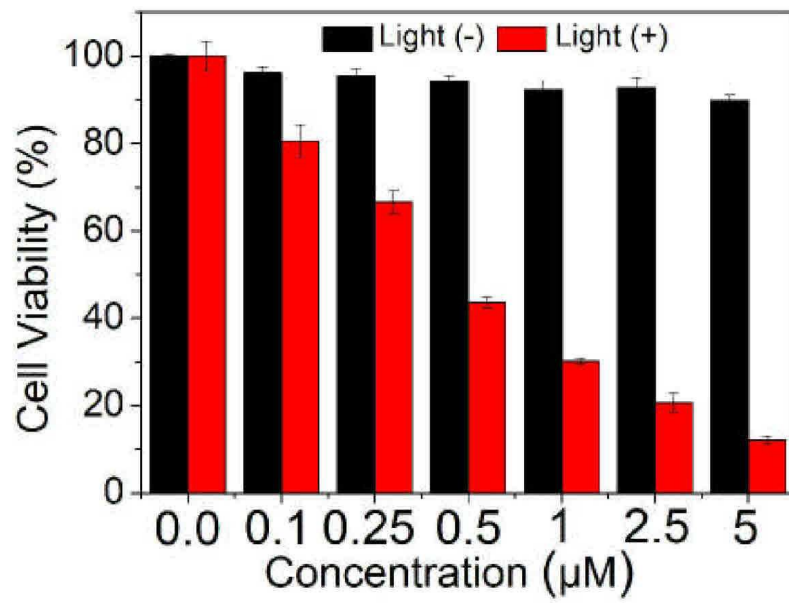
도면2a



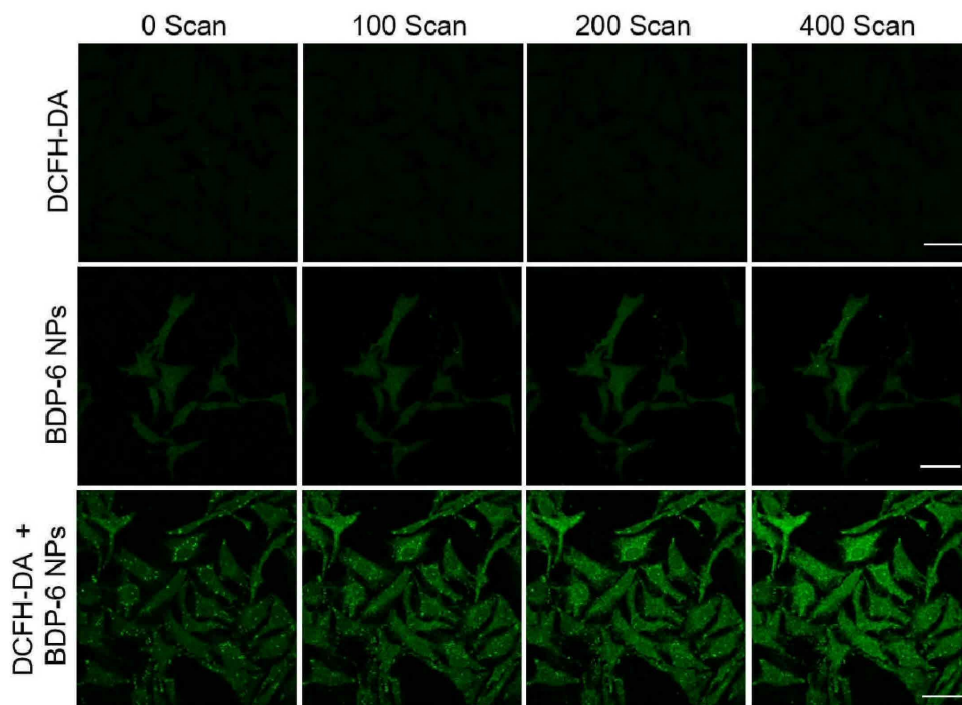
도면2b



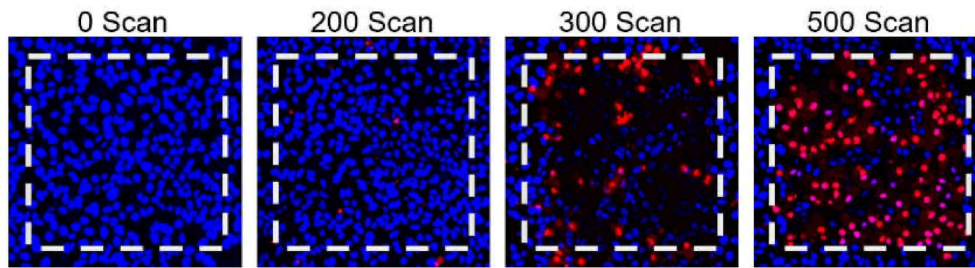
도면2c



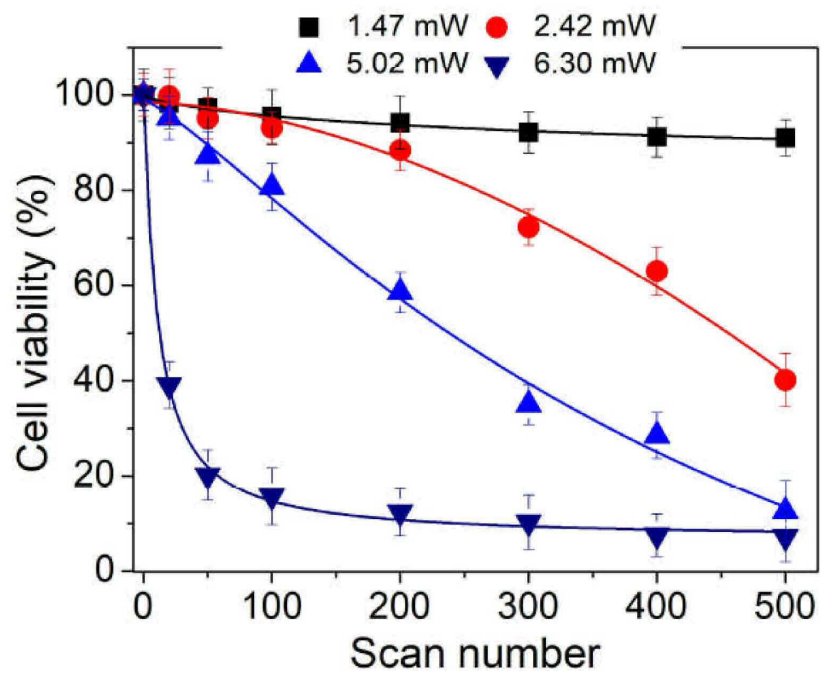
도면3



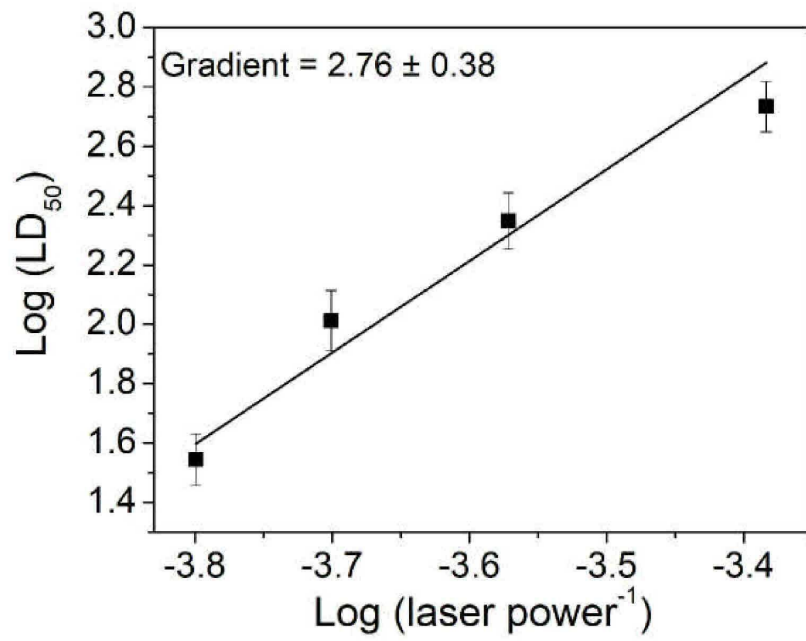
도면4a



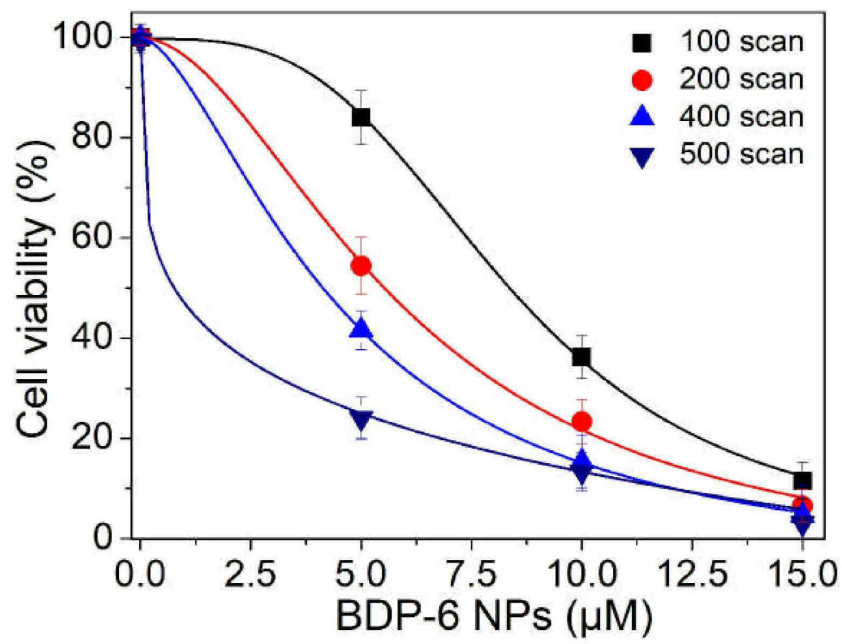
도면4b



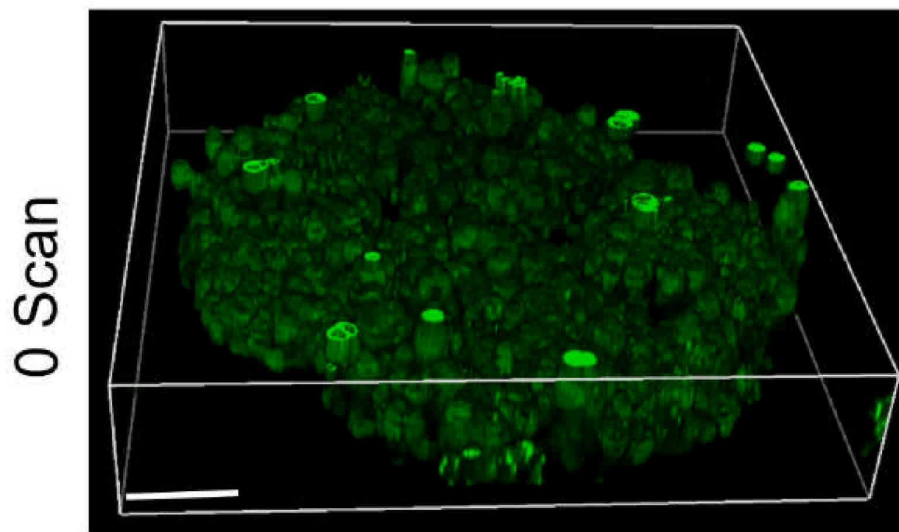
도면4c



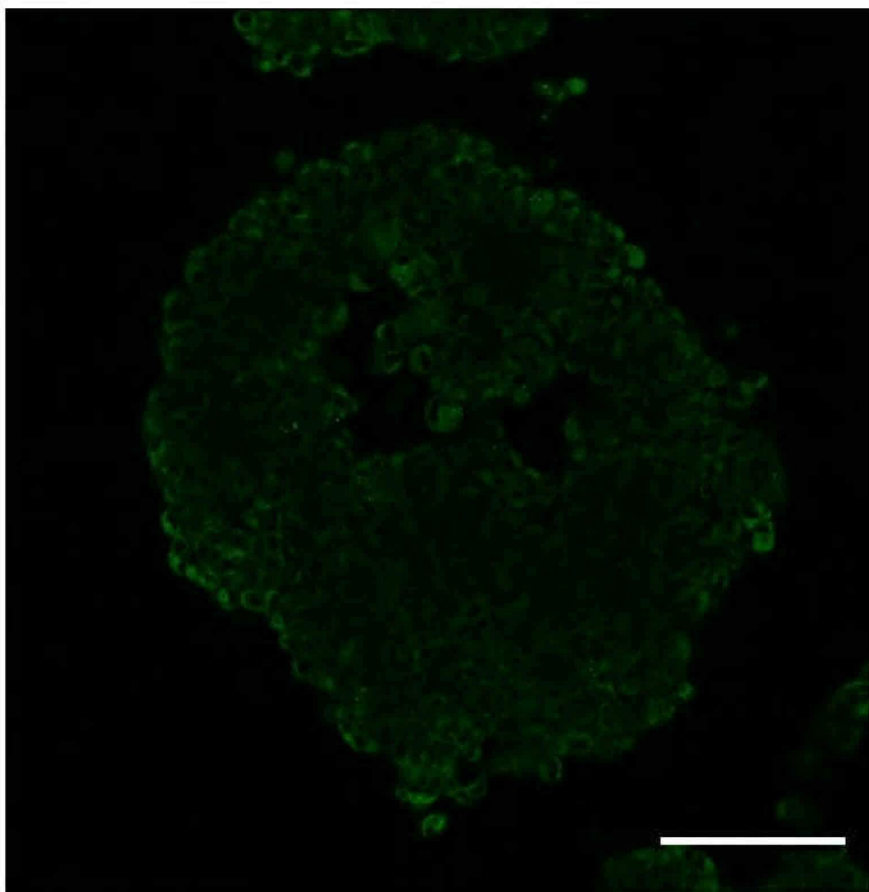
도면4d



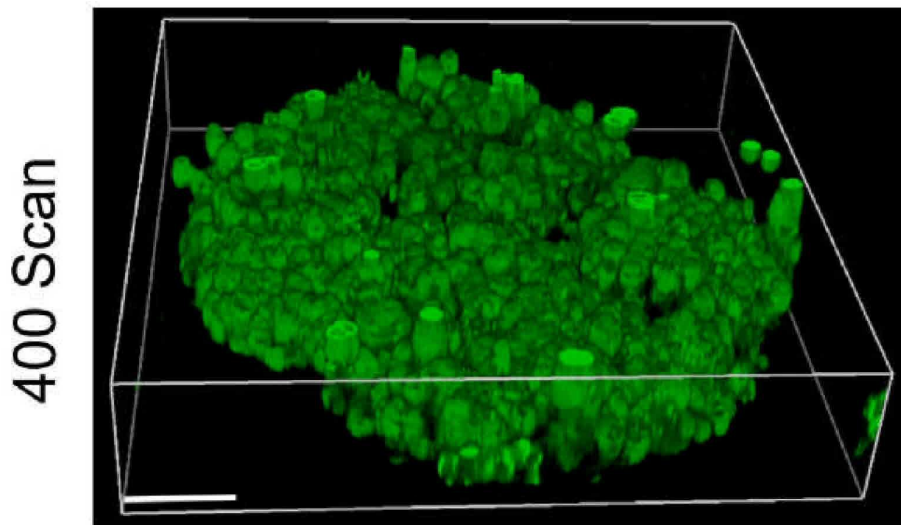
도면5a



도면5b



도면5c



도면5d

