

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2021년 12월 30일 (30.12.2021) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호

WO 2021/261925 A1

(51) 국제특허분류:

C07D 265/38 (2006.01)

C12Q 1/46 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

C09K 11/06 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2021/007914

(22) 국제출원일:

2021년 6월 23일 (23.06.2021)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2020-0077381 2020년 6월 24일 (24.06.2020) KR

(71) 출원인: 이화여자대학교 산학협력단 (EWha UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) [KR/KR]; 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR).

(72) 발명자: 윤주영 (YOON, Ju Young); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR). 우샤오펑 (WU, Xi-aofeng); 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR).

(74) 대리인: 리앤목 특허법인 (Y.P.LEE, MOCK & PARTNERS); 06292 서울시 강남구 언주로 30길 13, 대림아크로텔 12층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

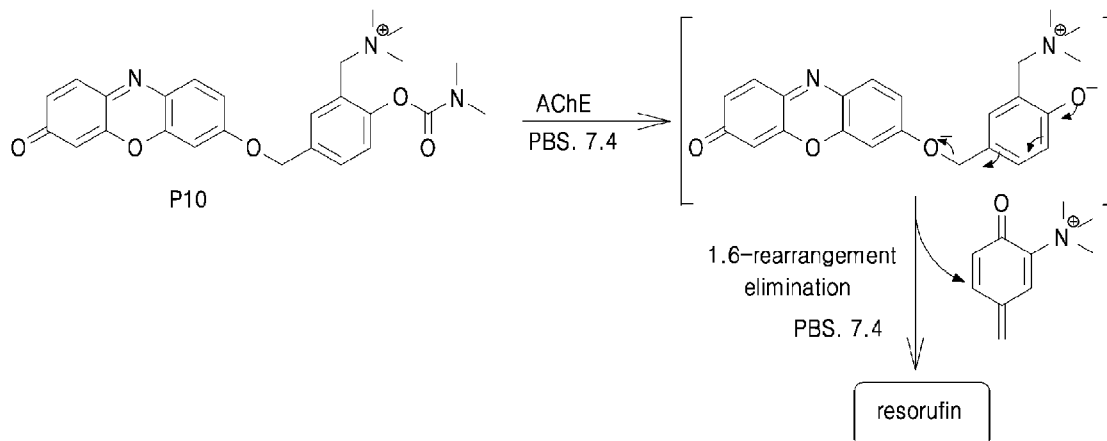
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,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

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: COMPOUND, COMPOSITION COMPRISING SAME, AND FLUORESCENCE SENSOR FOR DETECTING ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY

(54) 발명의 명칭: 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서



(57) Abstract: Disclosed are a compound, a composition comprising same, and a fluorescent sensor for detecting acetylcholinesterase activity.

(57) 요약서: 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서가 개시된다.

WO 2021/261925 A1

명세서

발명의 명칭: 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서

기술분야

- [1] 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 아세틸콜린에스테라제는 아세틸콜린을 아세틸과 콜린으로 가수분해하는 효소이다. 상기 아세틸콜린에스테라제는 부교감 신경을 지배하는 기관과 자율 신경절 등에 있으며, 시냅스 신호전달물질을 제거하는 역할을 한다.
- [3] 아세틸콜린에스테라제 활성은 알츠하이머 등과 같은 인지능 장애질환과 관련이 있다. 예를 들어, 알츠하이머 환자들에게서 아세틸콜린 레벨이 약 90%까지 저하될 수 있다. 이러한 아세틸콜린 결핍은 뇌손상을 악화시키는 여러가지 요소들 중 하나로 여겨지고 있다.
- [4] 그러나, 현재까지 인지능 장애질환을 치료하기 위한 약물 중 일부는 상업적으로 이용하기에 어려운 면이 있고, 이러한 점을 보완하기 위하여 아세틸콜린의 농도를 낮추고자 하는 방법에 대한 연구가 진행되어오고 있다. 예를 들어, 아세틸콜린에스테라제 검출을 위한 효과적이고 편리한 방법에 대해 주목하고 있다. 상기 방법들 중 하나로서, 색변환 및 형광 아세틸콜린에스테라제 어세이(assay)법에 대한 많은 연구가 수행되었으나, 생리학적 조건 하에 낮은 감도 등과 같은 결점들이 있다.
- [5] 따라서 이러한 문제를 해결하기 위하여 아세틸콜린에스테라제 활성 검출을 위한 신규한 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 형광 센서에 대한 요구가 여전히 있다.

발명의 상세한 설명

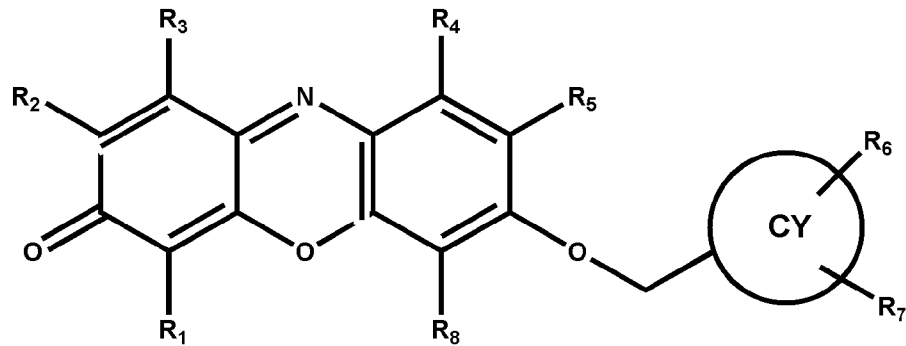
기술적 과제

- [6] 일 측면은 아세틸콜린에스테라제 활성 검출을 위한 신규한 화합물을 제공하는 것이다.
- [7] 다른 측면은 상기 화합물을 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.
- [8] 또다른 측면은 상기 화합물을 유효성분으로 포함하는 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서를 제공하는 것이다.

기술적 해결방법

- [9] 일 측면에 따라,
- [10] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물이 제공된다:
- [11] [화학식 1]

[12]



[13] 상기 화학식 1에서,

[14] CY는 치환 또는 비치환된 C₆-C₆₀ 아릴렌기 및 치환 또는 비치환된 C₆-C₆₀ 헤테로아릴렌기 중에서 선택될 수 있고;[15] R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₈은 서로 독립적으로 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬기, 또는 이들 조합일 수 있고;[16] R₆은 치환 또는 비치환된 카바모일기일 수 있고; 및[17] R₇은 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 니트로기, -N₃, -N(R_a)(R_b), -(CH₂)_nN⁺(R_a)(R_b)(R_c), 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬기, 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알콕시기, 치환 또는 비치환된 C₃-C₂₀ 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C₃-C₂₀ 헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C₆-C₅₀ 아릴기, 치환 또는 비치환된 C₆-C₅₀ 아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C₆-C₅₀ 헤테로아릴기, 또는 이들 조합이며, 여기서 n은 0 내지 5이고 R_a, R_b, R_c는 각각 수소원자, 또는 치환 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬기일 수 있다.[18] 상기 R₆은 CY 고리의 파라(para) 위치에 있을 수 있다.[19] 상기 R₆, R₇은 CY 고리에서 오르쏘(ortho) 위치관계에 있을 수 있다.

[20] 상기 화합물은 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 프로브일 수 있다.

[21] 다른 측면에 따라,

[22] 전술한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및

[23] 용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액 중에서 선택된 하나 이상을 포함하는 조성물이 제공된다.

[24] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 아세틸콜린에스테라제와 반응하여 형광단(fluorophore)을 방출할 수 있다.

[25] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 아세틸콜린에스테라제와 반응하여 최대흡수피크(maximum absorption peak)가 475 ~ 485 nm 파장영역에서 571 nm 파장으로 시프트될 수 있다.

[26] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 아세틸콜린에스테라제와 반응하여 방출피크가 582 nm 파장에서 나타날 수 있다.

[27] 또다른 측면에 따라,

[28] 전술한 화합물을 유효성분으로 포함하는 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서가 제공된다.

- [29] 상기 화합물은 pH 7.4 및 37°C에서 아세틸콜린에스테라제와 반응시 최대형광강도를 나타낼 수 있다.
- [30] 상기 화합물은 아세틸콜린에스테라제와 반응시 색변환이 나타날 수 있다.
- [31] 상기 화합물은 시간과 농도에 비례하여 아세틸콜린에스테라제와의 형광강도가 증가할 수 있다.

발명의 효과

- [32] 일 측면에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 프로브일 수 있다. 상기 화합물은 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 선택적으로 반응하여 형광단(flurorophore)을 방출함으로써 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서로 사용할 수 있다. 상기 화합물은 생체 반응조건 하에 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 선택적으로 반응할 수 있으며, 색변환 및 시간과 농도에 비례한 형광강도를 나타낼 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [33] 도 1은 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 아세틸콜린에스테라제와 반응시키는 과정을 나타낸 메커니즘이다.
- [34] 도 2는 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시켜 생성된 반응 생성물에 대한 전자분무 이온화 질량 스펙트럼(ESI-MS)을 분석한 결과이다.
- [35] 도 3은 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시켜 생성된 반응 생성물에 대한 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 분석한 결과이다.
- [36] 도 4(a), (b), (c)는 각각 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 0~10 U/mL 농도의 아세틸콜린에스테라제(AChE), 부티릴콜린에스테라제(BChE), 및 카르복실 에스테라제(CE)를 첨가한 반응액과 반응시켜 상기 화합물의 효소들에 대한 선택성을 형광 발광 스펙트럼으로 분석한 결과이다.
- [37] 도 5는 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 PBS 블랭크 용액(1), 10 U/mL 잔틴 옥시다제(2), 10 U/mL 티로시나제(tyrosinase)(3), 10 U/mL 모노아민 옥시다제 A(MAO-A)(4), 10 U/mL 모노아민 옥시다제 B(MAO-B)(5), 10 U/mL β -글루코시다제(β -glucosidases)(6), 10 μ g/mL 트립신(7), 10 U/mL ALP(8), 10 U/mL 아피라아제(apyrase)(9), 10 μ M HSA(10), 10 μ M BSA(11), 및 10 U/mL 아세틸콜린에스테라제(AChE)(12)를 첨가한 반응액과 각각 반응시켜 상기 화합물의 효소들에 대한 선택성을 형광 발광 스펙트럼으로 분석한 결과이다.
- [38] 도 6은 합성에 1~10에 의해 제조된 P1~P10 화합물을 10 U/mL 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시킬 때 형광 발광 스펙트럼으로 분석한 결과이다.
- [39] 도 7은 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 0~20 U/mL 농도에서 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시킬 때 형광 발광 스펙트럼으로 분석한

결과이다.

- [40] 도 8(a), (b)는 각각 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 37°C에서 5시간 동안 20 U/mL 농도에서 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시키기 전후에 형광 흡수 스펙트럼 및 형광 발광 스펙트럼으로 분석하고 색변환 여부를 육안으로 관찰한 결과이다.

- [41] 도 9는 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물에 대하여, 파라옥손 에틸(paraoxon ethyl; PO)에 대한 IC_{50} 값을 측정한 결과이다.

발명의 실시를 위한 형태

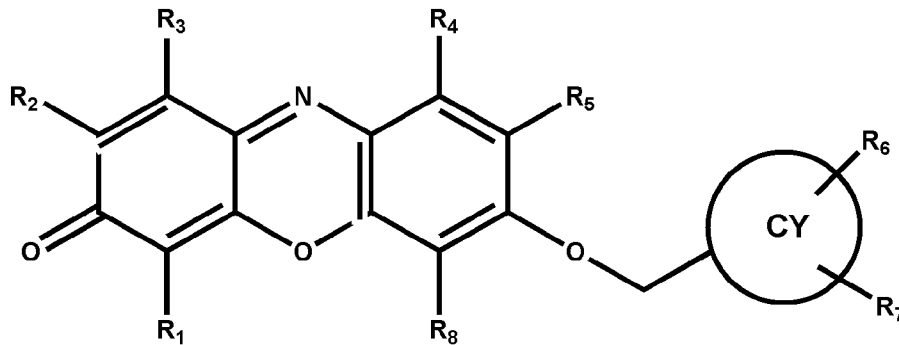
- [42] 이하, 첨부된 도면을 참조하면서 본 발명의 일 구현예에 따른 화합물, 이를 포함하는 조성물 및 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서에 관하여 상세히 설명하기로 한다. 이하는, 예시로서 제시되는 것으로서 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않으며 본 발명은 후술할 특허청구범위의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [43] 본 명세서에서 "포함"이라는 용어는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 추가 또는/및 개재할 수 있음을 나타내도록 사용된다.
- [44] 본 명세서에서 "이들 조합"이라는 용어는 기재된 구성요소들 하나 이상과의 혼합 또는 조합되는 것을 의미한다.
- [45] 본 명세서에서 "약학적으로 허용가능한 염"은 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서 이 염에 기인한 부작용이 화학식 1 등으로 표시되는 화합물의 이로운 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, 글루세페이트, 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.

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

[47] [화학식 1]

[48]



[49] 상기 화학식 1에서,

[50] CY는 치환 또는 비치환된 C₆-C₆₀ 아릴렌기 및 치환 또는 비치환된 C₆-C₆₀ 헤테로아릴렌기 중에서 선택될 수 있고;

[51] R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₈은 서로 독립적으로 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬기, 또는 이들 조합일 수 있고;

[52] R₆은 치환 또는 비치환된 카바모일기일 수 있고; 및

[53] R₇은 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 니트로기, -N₃, -N(R_a)(R_b), -(CH₂)_nN⁺(R_a)(R_b)(R_c), 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알킬기, 치환 또는 비치환된 C₁-C₂₀ 알콕시기, 치환 또는 비치환된 C₃-C₂₀ 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C₃-C₂₀ 헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C₆-C₅₀ 아릴기, 치환 또는 비치환된 C₆-C₅₀ 아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C₆-C₅₀ 헤테로아릴기, 또는 이들 조합이며, 여기서 n은 0 내지 5이고 R_a, R_b, R_c는 각각 수소원자, 또는 치환 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬기일 수 있다.

[54] 상기 R₆은 CY 고리의 파라(para) 위치에 있을 수 있다.

[55] 상기 R₆, R₇은 CY 고리에서 오르쏘(ortho) 위치관계에 있을 수 있다.

[56] 상기 화합물은 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 프로브일 수 있다.

상기 형광 프로브는 치환기 R₆이 CY 고리의 파라(para) 위치에 존재하거나 또는/및 치환기 R₆, R₇이 CY 고리에서 오르쏘 위치관계에 있기에, 지방족 탄소에 치환기 R₆이 위치하는 화합물과 달리 입체 장애(steric hindrance) 효과로서 아세틸콜린에스테라제에 대한 선택성을 나타낼 수 있다. 상기 형광 프로브는 아세틸콜린에스테라제 활성부위(active site)에 들어가 촉매부위(catalytic site)와 상호작용을 한다.

[57] 도 1은 일 구현예로서 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을

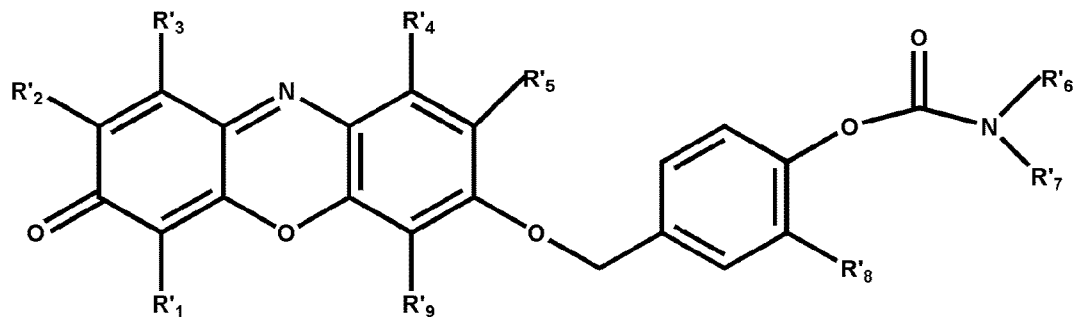
아세틸콜린에스테라제와 반응시키는 과정을 나타낸 메커니즘이다.

- [58] 도 1을 참조하면, 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물은 pH 7.4인 PBS 중 아세틸콜린에스테라제와 반응시킬 때, 1, 6-재배열 제거(1, 6-rearrangement elimination)가 일어나 형광단(레조루핀)을 방출할 수 있다. 상기 형광 프로브의 치환기 R_6 이 CY 고리의 파라(para) 위치에 존재하지 않거나 또는/및 치환기 R_6 , R_7 이 CY 고리에서 오르쏘 위치관계에 있지 않다면, 1, 6-재배열 제거(1, 6-rearrangement elimination)가 일어나지 않아 형광단이 생성될 수 없다.

- [59] 예를 들어, 상기 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함할 수 있다:

- [60] [화학식 2]

- [61]



- [62] 상기 화학식 2에서,

- [63] R'_1 , R'_2 , R'_3 , R'_4 , R'_5 , R'_6 , R'_7 , R'_9 는 서로 독립적으로 수소원자, 중수소원자, 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{20} 알킬기, 또는 이들 조합일 수 있고; 및

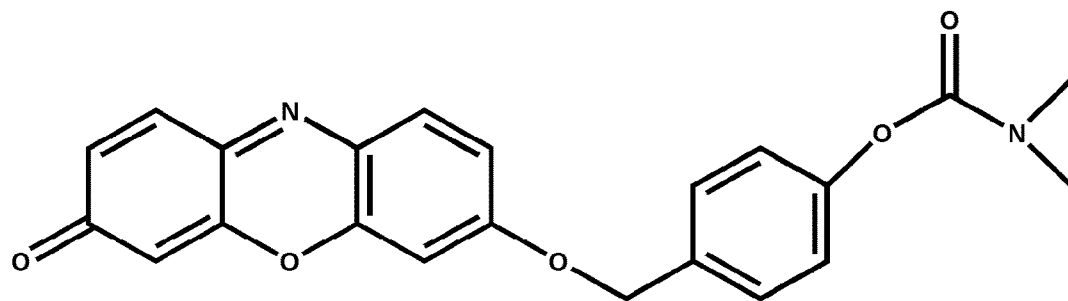
- [64] R'_8 은 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 니트로기, $-N_3$, $-N(R'_a)(R'_b)$, $-(CH_2)_nN^+(R'_a)(R'_b)(R'_c)$, 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{20} 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{20} 알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3 - C_{20} 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3 - C_{20} 헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_6 - C_{50} 아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6 - C_{50} 아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6 - C_{50} 헤테로아릴기, 또는 이들 조합이며, 여기서 n 은 0 내지 5이고 R'_a , R'_b , R'_c 는 각각 수소원자 또는 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{10} 알킬기일 수 있다.

- [65] 상기 R'_8 은 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 니트로기, $-N_3$, $-N(R''_a)(R''_b)$, $-(CH_2)_nN^+(R''_a)(R''_b)(R''_c)$, 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{20} 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{20} 알콕시기, 또는 이들 조합일 수 있으며, 여기서 n 은 0 내지 3이고 R''_a , R''_b , R''_c 는 각각 수소원자 또는 치환 또는 비치환된 C_1 - C_5 알킬기일 수 있다.

- [66] 예를 들어, 상기 화합물이 하기 화학식 3 내지 화학식 11 중 어느 하나를 포함할 수 있다:

- [67] [화학식 3]

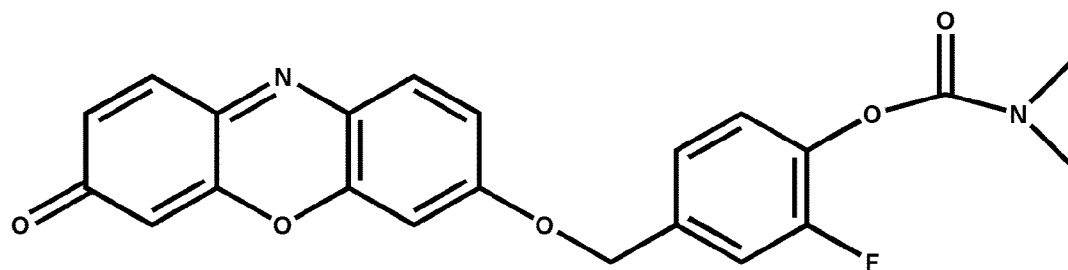
[68]



[69]

[화학식 4]

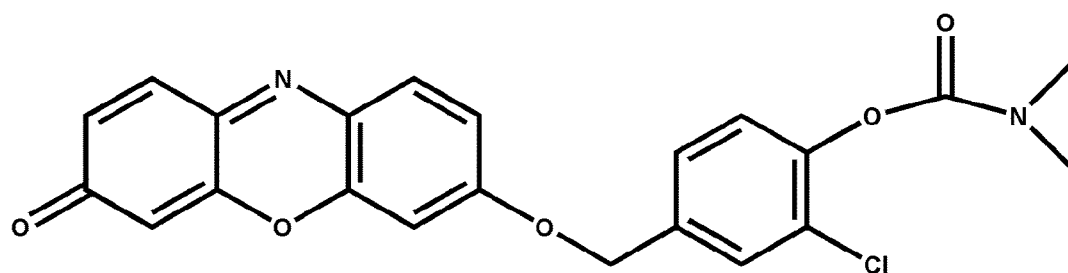
[70]



[71]

[화학식 5]

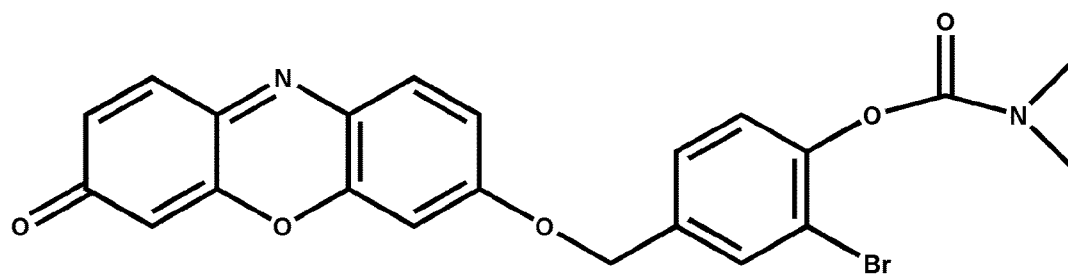
[72]



[73]

[화학식 6]

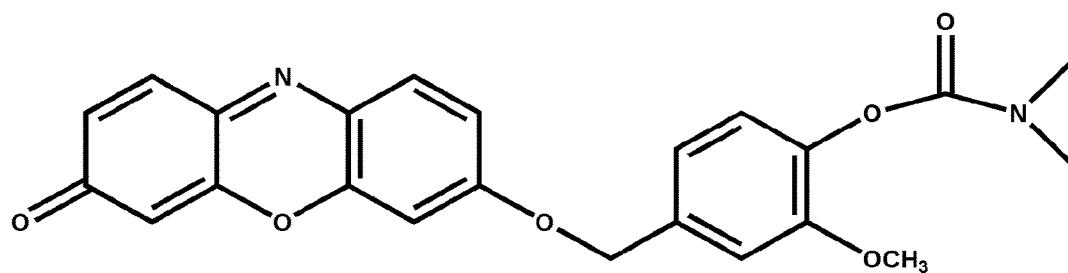
[74]



[75]

[화학식 7]

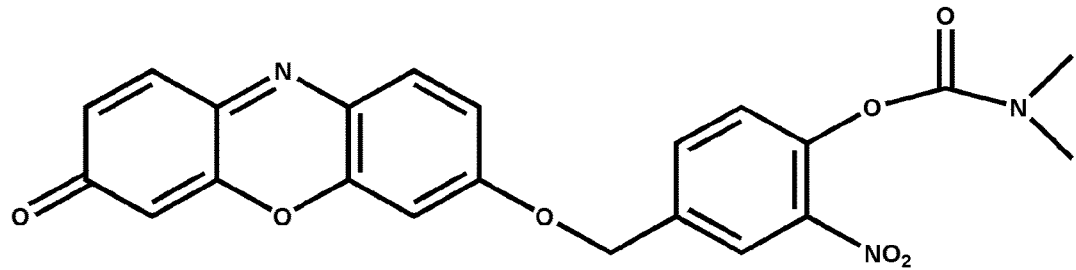
[76]



[77]

[화학식 8]

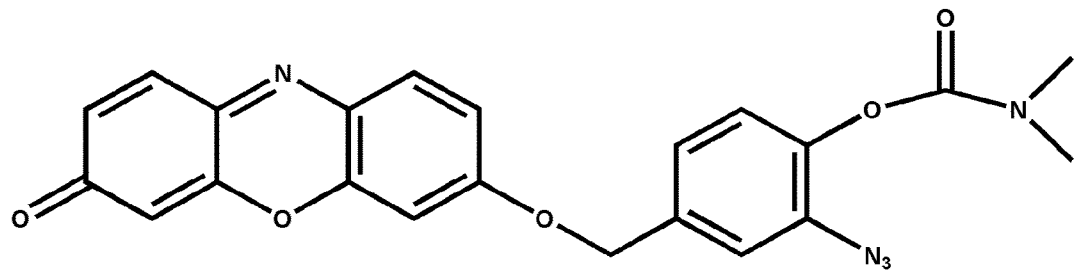
[78]



[79]

[화학식 9]

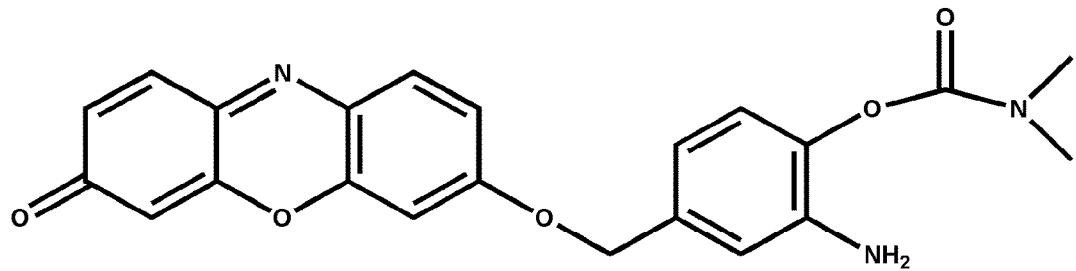
[80]



[81]

[화학식 10]

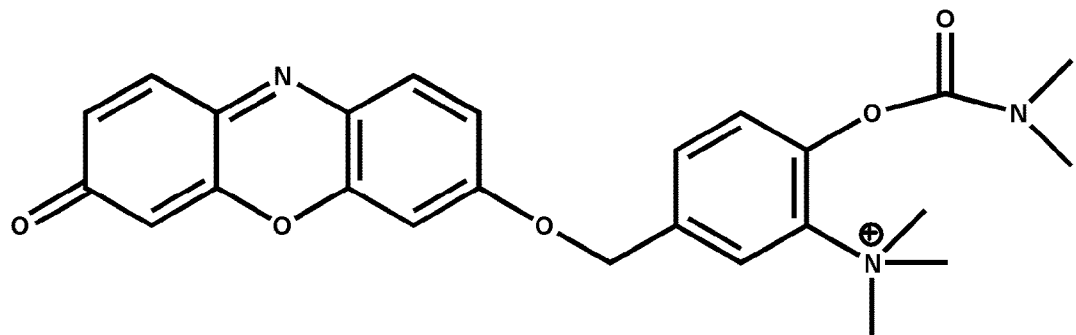
[82]



[83]

[화학식 11]

[84]



[85]

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 선택적으로 반응하여 형광단(flurorophore)을 방출함으로써, 아세틸콜린에스테라제(AChE) 활성을 감지할 수 있다.

[86]

다른 일 구현예에 따른 조성물은 전술한 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및 용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액 중에서 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다.

[87]

상기 조성물은 용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액 중에서 선택된 하나 이상을 더 포함할 수 있다. 상기 조성물은 용매, 버퍼 용액 또는 이들의 혼합물에 전술한 화합물을 첨가하고, 여기에 산, 및/또는 염기를 첨가하여 준비될 수 있다. 또한

상기 조성물은 당해 기술분야에서 사용할 수 있는 다른 첨가제를 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물이 포함하는 용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액의 함량은 요구되는 성능에 따라 적절히 조절될 수 있다. 상기 용매는 물, THF, 메탄올, 에탄올, HI 수용액, N, N-디메틸포름아미드, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 또는 상기 조성물은 시료(sample)와 혼합될 수 있다. 상기 시료는 미생물(microorganism), 세포(cell), 및 조직(tissue) 중에서 선택된 하나 이상을 포함하는 생물학적 시료일 수 있으나, 반드시 이들로 한정되지 않으며 당해 기술분야에서 생물학적 시료로 사용할 수 있는 것이라면 모두 가능하다.

- [88] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 아세틸콜린에스테라제와 반응하여 형광단(fluorophore)을 방출할 수 있다. 상기 형광단은 레조루핀일 수 있다.
- [89] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 아세틸콜린에스테라제와 반응하여 최대흡수피크(maximum absorption peak)가 475 ~ 485 nm 파장영역에서 571 nm 파장으로 시프트될 수 있다.
- [90] 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염은 아세틸콜린에스테라제와 반응하여 방출피크가 582 nm 파장에서 나타날 수 있다.
- [91] 또다른 일 구현예에 따른 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서는 전술한 화합물을 유효성분으로 포함할 수 있다.
- [92] 상기 화합물은 pH 7.4 및 37°C에서 아세틸콜린에스테라제와 반응시 최대형광강도를 나타낼 수 있다. 상기 화합물은 생리학적 조건 하에서 아세틸콜린에스테라제와 높은 반응성을 가질 수 있다.
- [93] 상기 화합물은 아세틸콜린에스테라제와 반응시 색변환이 나타날 수 있다.
- [94] 상기 화합물은 간과 농도에 비례하여 아세틸콜린에스테라제와의 형광강도가 증가할 수 있다.
- [95] 상기 화합물은 알츠하이머병 등과 같은 인지능 장애 질환 진단, 예방 또는 치료에 사용할 수 있다.
- [96] 상기 화합물은 유기 인산염 살충제 또는 사린(Sarin), 타분(Tabun), 소만(Soman) 등의 신경가스에 의한 아세틸콜린에스테라제 효소활성의 억제진단에 사용할 수 있다.
- [97] 상기 화합물은 중증 근무력증 또는 녹내장 질환의 진단, 예방 또는 치료에 사용할 수 있다.
- [98]
- [99] 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 알키닐기, 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.

[100] 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.

[101] 본 명세서에서, 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.

[102] 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.

[103] 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.

[104] 본 명세서에서, "알콕시"라는 용어는 각각 산소 원자에 결합된 알킬 또는 아릴을 의미한다.

[105] 본 명세서에서, "시클로알킬"이라는 용어는 1가 포화 탄화수소 모노시클릭을 의미한다. 시클로알킬기의 비제한적인 예로는 시클로프로필기, 시클로부틸기, 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 시클로헵틸기 등을 들 수 있다.

[106] 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-옥사트리아졸리디닐기(1,2,3,4-oxatriazolidinyl), 테트라히드로퓨라닐기(tetrahydrofuranyl), 테트라히드로티오펜닐기 등을 들 수 있다.

[107] 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.

[108] 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-디히드로티오펜일기 등을 들 수 있다.

[109] 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, -O-, -S-, -C(=O)-, -S(=O)₂-, -Si(R_a)(R_b)-(R_a 및 R_b는 서로 독립적으로 탄소수 1 내지 10의 알킬기), 할로젠으로 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 10의 알킬렌기, 또는 -C(=O)-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 비치환될 수 있다.

[110] 본 명세서에서, "아릴옥시"라는 용어는 -OA₁₀₂(여기서, A₁₀₂는 상기 C₆-C₆₀ 아릴기임)를 의미한다.

[111] 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.

[112] "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-옥사디아졸릴기, 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-2일, 피라진-4-일, 피라진-5-일, 2-피리미딘-2-일, 4-피리미딘-2-일, 또는 5-피리미딘-2-일 등을 들 수 있다.

[113] 본 명세서에서, "아릴렌"이라는 용어는 전술한 아릴기 양단의 탄소원자에서 수소원자가 하나씩 빠진 형태를 의미한다.

[114] 본 명세서에서, "헤테로아릴렌"이라는 용어는 전술한 헤테로아릴기 양단의 탄소원자에서 수소원자가 하나씩 빠진 형태를 의미한다.

[115]

[116] 이하 본 발명의 실시예 및 비교예를 기재한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의

일 실시예일뿐 본 발명이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[117]

[118] [실시예]

[119] ^1H -NMR, ^{13}C -NMR 및 ^{19}F -NMR 스펙트럼을 브루커 AM 300 분광계로 기록하였다. 전자분무 이온화 질량 스펙트럼 (ESI-MS)을 Shimadzu LC-MS 2010A 기기(일본 교토)로 기록하였다. 전자분무 이온화 질량스펙트럼(Electrospray ionization mass spectra; ESI-MS)을 Shimadzu LC-MS 2010A 기기(일본 교토)로 기록하였다. 고분해능 전기분무 이온화 질량스펙트럼(HR-ESI-MS)을 APEX IV FTMS 기기(Bruker, Daltonics)로 측정하였다. 한국기초과학원(대구)에서 고속원자충격(Fast atom bombardment; FAB) 질량스펙트럼을 얻기 위해, Jeol JMS 700 고해상도 질량분석기를 사용하였다. Thermo Scientific Evolution 201 UV/VIS 분광계로 UV 흡수 스펙트럼을 획득하였다. 형광 스펙트럼은 JASCO FP8500을 사용하여 얻었다. 고성능 액체 크로마토그래피로 LC-20 AT 용매 전달 유닛, SPD-20 UV-vis 검출기를 갖는 HPLC(Shimadzu, 일본)를 사용하였다.

[120] 바닐린, 이소부틸클로로포메이트, 4-히드록시-3-니트로벤즈알데히드, 디메틸 카바밀 클로라이드, 3-브로모-4-히드록시 벤즈알데히드, 나트륨 아지드, 4-히드록시-3-니트로벤즈알데히드, 트리페닐포스핀, 3-클로로-4-히드록시벤즈알데히드, 4-히드록시벤즈알데히드, 3-플루오로-4-히드록시벤즈알데히드, 및 2-(디페닐포스피노) 벤조산을 도쿄화학공업 주식회사에서 구입하였다. 레조루핀 나트륨염, 포름알데히드 용액, 파라옥손 에틸, 팔라듐 탄소(10 중량%), 히드라진 일수화물, 4-히드록시벤질 알코올, 수소화붕소 나트륨, 아질산 나트륨, 염화 아세틸, 아이오도메탄(iodomethane), 과산화수소, tert-부틸 히드로퍼옥시드(TBHP), CORM-3(CO 공여체), 차아염소산 나트륨, 디메틸아민, 과산화칼륨, 디클로로메탄- d_2 ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-}d_2$), KCl, MgCl_2 , ZnCl_2 , NaNO_2 , CaCl_2 , 글루코오스, 비타민 C, 티로신, 글루탐산, 시스테인, 글리신, 아르기닌, 알라닌, 리신, 글루타티온, 요소, 소혈청알부민(bovine serum albumin; BSA), 인간혈청알부민(human serum albumin; HSA), 알칼리 포스파타제(alkaline phosphatase; ALP), β -글루코시다제, 카르복실 에스테라제(CE), 아세틸콜린에스테라제(AChE), 부티릴콜린에스테라제(BChE), 잔틴 옥시다제, 아피라아제(apyrase), 모노아민 옥시다제 A(MAO-A), 모노아민 옥시다제 B(MAO-B), 나트륨 니트로페리시아나이드(III) 이수화물, 버섯의 티로시나제(tyrosinase), 디메틸 설폭시드(DMSO), N, N- 디메틸포름아미드(DMF, 무수)를 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다. 칼럼 크로마토그래피를 위한 산화 알루미늄(중성)을 EMD Millipore Corporation으로부터 구입하였다. CP 및 P1-P10의 저장 용액(1.0mM)을 DMSO에 필요량을 용해시켜 제조하였다.

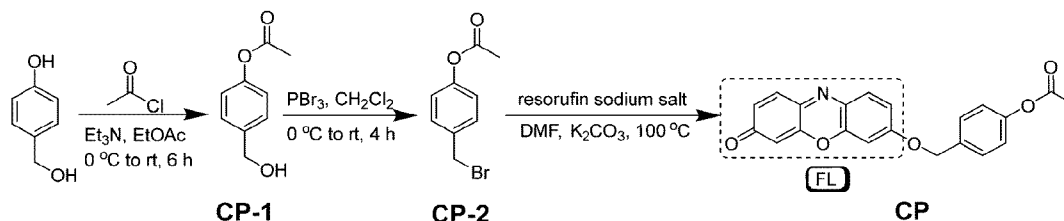
[121]

[122] 참조 합성예 1: CP (control probe) 화합물

[123] 대조군 프로브(CP)를 반응스킴 1에 따라 하기와 같은 방법으로 합성하였다:

[124] [반응스킴 1]

[125]



[126] 4-히드록시 벤즈알코올(0.49g, 4.0mmol) 및 Et₃N(4.80mmol, 0.65mL) 혼합물에 20mL EtOAc 중 아세틸 클로라이드(4.4mmol, 0.31mL)를 첨가한 다음, 실온으로 가온하고 6시간 동안 교반하였다. 이어서, 상기 혼합물을 디클로로메탄(20 mL)으로 희석하고, 물(20 mL)로 3회 세척하였다. 세척한 혼합물에서 유기층을 분리하고 무수 Na₂SO₄상에서 건조하였다. 다음으로, 감압증류 하에 용매를 제거하고, 잔류물에 대하여 CH₂Cl₂:CH₃OH(v/v, 0~10:1) 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 투명한 오일의 CP-1 화합물을 수득하였다(0.47g, 수율 71 %).

[127] 상기 CP-1 화합물(0.4 g, 2.41 mmol)을 0°C에서 20 mL CH₂Cl₂에 용해하고, 이어서 트리브로모포스핀(0.46 mL, 4.82 mmol)을 적가하였다. 30분 후, 생성된 혼합물을 실온으로 가온하고 4시간 동안 교반하였다. 이어서, 상기 혼합물을 디클로로메탄(20 mL)으로 희석하고, 물(20 mL)로 3회 세척하였다. 세척한 혼합물에서 유기층을 분리하고 무수 Na₂SO₄상에서 건조하였다. 다음으로, 감압증류 하에 용매를 제거하고, 잔류물에 대하여 CH₂Cl₂ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 투명한 오일의 CP-2 화합물을 수득하였다(0.45g, 수율 82 %).

[128] 무수 DMF(10 mL) 중 레조루핀 나트륨염(0.24 g, 1.0 mmol) 용액에 K₂CO₃(0.28 g, 2.0 mmol)을 첨가한 후, 100°C에서 10분 동안 교반하였다. 이어서, DMF(2 mL) 중 상기 CP-2 화합물(0.23 g, 1.0 mmol) 용액을 적가하였다. 100°C에서 12시간 동안 교반한 후, 용액을 냉각시키고 CH₂Cl₂(20 mL)로 희석하였다. 이어서, 생성된 용액을 염수(15 mL×3)로 세척하였다. 세척한 용액에서 유기층을 분리하고 무수 Na₂SO₄상에서 건조하였다. 다음으로, 용매를 증발제거하고, 잔류물에 대하여 CH₂Cl₂ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 주황색 고체의 CP 화합물을 수득하였다(0.25 g, 수율 70 %).

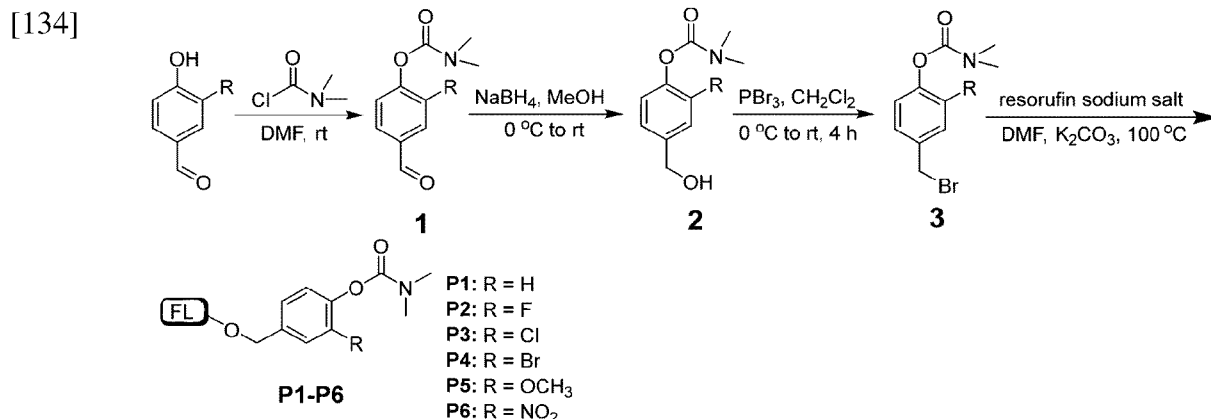
[129] ¹H-NMR (300 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 7.76 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.54-7.49 (m, 2H), 7.45 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 7.20-7.15 (m, 2H), 7.07-7.04 (m, 1H), 6.94 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.82-6.78 (m, 1H), 6.29 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 2.32 (s, 3H). ¹³C-NMR (75 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 185.9, 169.4, 162.5, 150.8, 149.8, 145.9, 145.6, 134.7, 134.1, 133.3, 131.5, 128.8, 128.6, 122.0, 113.9, 106.5, 101.2, 70.2, 20.9. HR-ESI-MS: *m/z* calcd for CP (C₂₁H₁₆NO₅, [M+H]⁺), 362.1023; found, 362.1023.

[130]

[131] 합성예 1~6: P1~P6 (Probe 1~6) 화합물

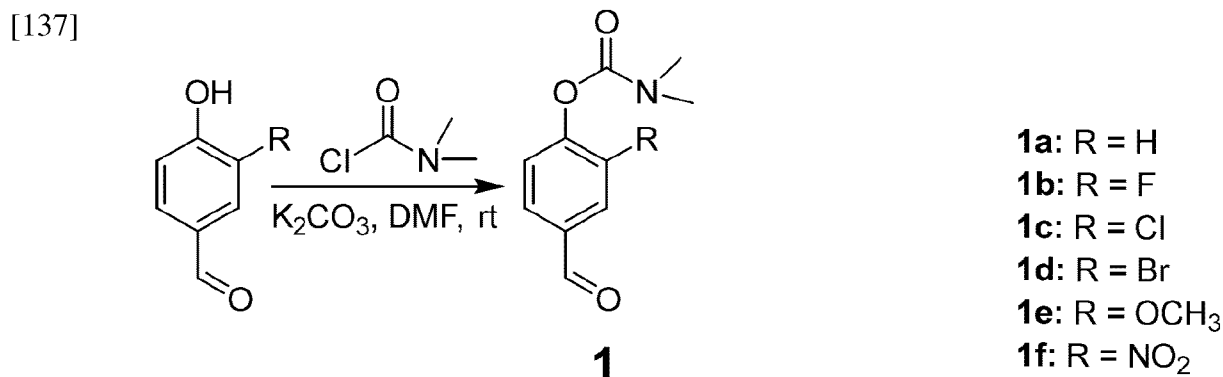
[132] P1~P6 프로브 화합물을 반응스킴 2에 따라 하기와 같은 방법으로 각각 합성하였다:

[133] [반응스킴 2]



[135] 먼저, 상기 반응스킴 2의 1번 화합물을 합성하기 위하여 하기 반응스킴 2-1에 따라 하기와 같은 방법으로 각각 합성하였다:

[136] [반응스킴 2-1]

[138] 1a 중간 화합물 합성[139] DMF (20 mL) 중 p-히드록시벤즈알데히드(0.61 g, 5.0 mmol) 및 K₂CO₃(1.38 g, 10 mmol) 용액에 Me₂NCOCl(0.92 mL, 10 mmol)을 실온에서 첨가하고 8시간 동안 교반하여 혼합물을 얻었다. 상기 혼합물을 물(30 mL)로 희석한 후, CH₂Cl₂(30 mL x 2)로 추출하고, 합한 유기층을 포화 Na₂CO₃ 용액으로 세척하고, 증발시키고, 잔류물을 CH₂Cl₂:CH₃OH (v/v, 0~100:1) 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 투명한 오일의 1a 중간 화합물을 수득하였다(0.87 g, 수율 90 %).[140] 1b 중간 화합물 합성[141] 3-플루오로-4-히드록시벤즈알데히드(0.56g, 4.0 mmol), K₂CO₃(1.1g, 8.0 mmol), 및 Me₂NCOCl(0.73mL, 8.0mmol)을 사용하여 상기 1a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 1b 중간 화합물을 수득하였다(0.59 g, 수율 70 %).[142] 1c 중간 화합물 합성

[143] 3-클로로-4-히드록시벤즈알데히드(0.94 g, 6.0 mmol), K_2CO_3 (1.66 g, 12 mmol), 및 Me_2NCOCl (1.1 mL, 12 mmol)을 사용하여 상기 1a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 1c 중간 화합물을 수득하였다(1.14 g, 수율 83%).

[144] 1d 중간 화합물 합성

[145] 3-브로모-4-히드록시벤즈알데히드(1.0 g, 5.0 mmol), K_2CO_3 (1.38 g, 10 mmol), 및 Me_2NCOCl (0.92 mL, 10 mmol)을 사용하여 상기 1a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 1d 중간 화합물을 수득하였다(0.85 g, 수율 63%).

[146] 1e 중간 화합물 합성

[147] 바닐린(0.76 g, 5.0 mmol), K_2CO_3 (1.38 g, 10 mmol) 및 Me_2NCOCl (0.92 mL, 10 mmol)을 사용하여 1a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 1e 중간 화합물을 수득하였다(0.48 g, 수율 59 %).

[148] 1f 중간 화합물 합성

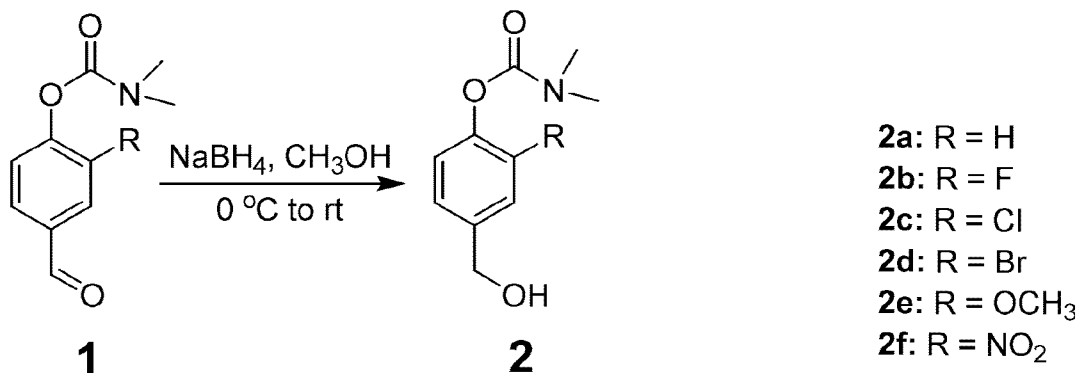
[149] 3-니트로-4-히드록시벤즈알데히드(0.84 g, 5.0 mmol), K_2CO_3 (1.38 g, 10 mmol) 및 Me_2NCOCl (0.92 mL, 10 mmol)을 사용하여 1a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 1f 중간 화합물을 수득하였다(0.78 g, 수율 65 %).

[150]

[151] 다음으로, 상기 반응스킴 2의 2번 화합물을 합성하기 위하여 하기 반응스킴 2-2에 따라 하기와 같은 방법으로 각각 합성하였다:

[152] [반응스킴 2-2]

[153]



[154]

[155] 2a 중간 화합물 합성

[156] 0 °C에서 CH_3OH (30mL) 중 상기 1a 중간 화합물(0.6 g, 2.5 mmol)의 현탁액에 $NaBH_4$ (0.17 g, 5.0 mmol)를 천천히 첨가하였다. 30분 후, 생성된 현탁액을 실온에서 4시간 동안 교반하여 혼합물을 얻었다. 이어서, 상기 혼합물을 디클로로메탄(20 mL)으로 희석하고, 물(20 mL)로 3회 세척하였다. 세척한 혼합물에서 유기층을 분리하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하였다. 감압증류 하에 용매를 제거하고, 잔류물에 대하여 $CH_2Cl_2:CH_3OH$ (v/v, 100:1~50:1) 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 흰색 고체의 2a 중간

화합물을 수득하였다(0.53 g, 수율 88%).

[157] 2b 중간 화합물 합성

[158] 상기 1b 중간 화합물(0.42 g, 2.0 mmol) 및 NaBH₄(0.15 g, 4.0 mmol)를 사용하여 상기 2a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 백색 고체의 2b 중간 화합물을 수득하였다(0.31 g, 수율 73%).

[159] 2c 중간 화합물 합성

[160] 상기 1c 중간 화합물(0.91 g, 4.0 mmol) 및 NaBH₄(0.30 g, 8.0 mmol)를 사용하여 상기 2a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 백색 고체의 2c 중간 화합물을 수득하였다(0.71 g, 수율 71%).

[161] 2d 중간 화합물 합성

[162] 상기 1d 중간 화합물(0.81 g, 3.0 mmol) 및 NaBH₄(0.22 g, 6.0 mmol)를 사용하여 상기 2a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 백색 고체의 2d 중간 화합물을 수득하였다(0.56 g, 수율 69%).

[163] 2e 중간 화합물 합성

[164] 상기 1e 중간 화합물(0.46 g, 2.0 mmol) 및 NaBH₄(0.15 g, 4.0 mmol)를 사용하여 상기 2a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 백색 고체의 2e 중간 화합물을 수득하였다(0.32 g, 수율 71%).

[165] 2f 중간 화합물 합성

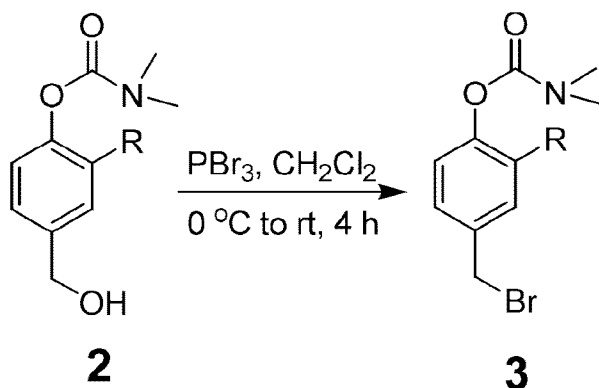
[166] 상기 1f 중간 화합물(0.71 g, 3.0 mmol) 및 NaBH₄(0.22 g, 6.0 mmol)를 사용하여 상기 2a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 황색 오일의 2f 중간 화합물을 수득하였다(0.64 g, 수율 90%).

[167]

[168] 다음으로, 상기 반응스킴 2의 3번 화합물을 합성하기 위하여 하기 반응스킴 2-3에 따라 하기와 같은 방법으로 각각 합성하였다:

[169] [반응스킴 2-3]

[170]



3a: R = H

3b: R = F

3c: R = Cl

3d: R = Br

3e: R = OCH₃

3f: R = NO₂

[171] 3a 중간 화합물 합성

[172] 0 °C에서 디클로로메탄(30 mL) 중 상기 2a 중간 화합물(0.49 g, 2.5 mmol) 용액에 트리브로모포스핀(0.48 mL, 5.0 mmol)을 적가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 4시간 동안 교반하여 혼합물을 얻었다. 이어서, 상기

혼합물을 디클로로메탄(20 mL)으로 희석하고, 물(20 mL)로 3회 세척하였다. 세척한 혼합물에서 유기층을 분리하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하였다. 감압증류 하에 용매를 제거하고, 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 0\sim 50:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 투명한 오일의 3a 중간 화합물을 수득하였다(0.5 g, 수율 78 %).

[173] 3b 중간 화합물 합성

[174] 상기 2b 중간 화합물(0.28 g, 1.3 mmol) 및 트리브로모포스핀(0.25 mL, 2.6 mmol)을 사용하여 상기 3a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 3b 중간 화합물을 수득하였다(0.27 g, 수율 74%).

[175] 3c 중간 화합물 합성

[176] 상기 2c 중간 화합물(0.65 g, 2.84 mmol) 및 트리브로모포스핀(0.55 mL, 5.68 mmol)을 사용하여 상기 3a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 3c 중간 화합물을 수득하였다(0.68 g, 수율 83 %).

[177] 3d 중간 화합물 합성

[178] 상기 2d 중간 화합물(0.5 g, 1.83 mmol) 및 트리브로모포스핀(3.52 mL, 3.66 mmol)을 사용하여 상기 3a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 3d 중간 화합물을 수득하였다(0.48 g, 수율 79 %).

[179] 3e 중간 화합물 합성

[180] 상기 2e 중간 화합물(0.28 g, 1.24 mmol) 및 트리브로모포스핀(0.24 mL, 2.49 mmol)을 사용하여 상기 3a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 3e 중간 화합물을 수득하였다(0.28 g, 수율 78%).

[181] 3f 중간 화합물 합성

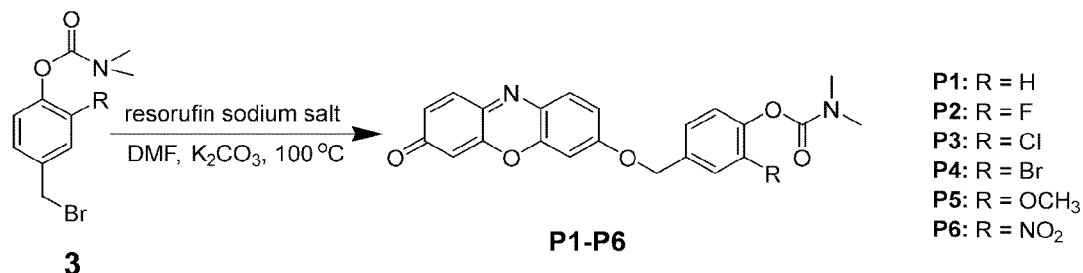
[182] 상기 2f 중간 화합물(0.6 g, 2.5 mmol) 및 트리브로모포스핀(0.48 mL, 5.0 mmol)을 사용하여 상기 3a 중간 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 투명한 오일의 3f 중간 화합물을 수득하였다(0.63 g, 수율 84%).

[183]

[184] 다음으로, 상기 반응스킴 2의 P1-P6 화합물을 합성하기 위하여 하기 반응스킴 2-4에 따라 하기와 같은 방법으로 각각 합성하였다:

[185] [반응스킴 2-4]

[186]



[187]

[188] P1 화합물 합성

[189] 무수 DMF(10 mL) 중 레조루핀 나트륨염(0.29 g, 1.2 mmol) 용액에 K_2CO_3 (0.33 g,

2.4 mmol)을 첨가한 후, 100 °C에서 10분 동안 교반하였다. 이어서, DMF(2 mL) 중 상기 3a 중간 화합물(0.31 g, 1.2 mmol) 용액을 적가하였다. 상기 용액을 100 °C에서 12시간 동안 교반한 후, 상기 용액을 냉각하고 CH₂Cl₂(20 mL)로 희석하였다. 이어서, 생성된 용액을 염수(15 mL×3)로 세척하였다. 세척한 용액에서 유기층을 분리하고 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조하였다. 이후, 용매를 증발시켜 제거하고, 잔류물에 대하여 CH₂Cl₂:CH₃OH(v/v, 200:1~100:1) 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 주황색 고체의 P1 화합물을 제조하였다(0.24 g, 수율 51 %). ¹H-NMR (300 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 7.76 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.51-7.46 (m, 2H), 7.46 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 7.21-7.16 (m, 2H), 7.07 (m, 1H), 6.94 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.82-6.78 (m, 1H), 6.29 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.12 (s, 3H), 3.01 (s, 3H). ¹³C-NMR (75 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 185.9, 162.5, 154.5, 151.8, 149.8, 145.9, 145.6, 134.7, 134.1, 132.4, 131.5, 128.6, 128.5, 122.2, 114.0, 106.4, 101.0, 70.4, 36.5, 36.3. HR-ESI-MS: *m/z* calcd for **P1** (C₂₂H₁₉N₂O₅, [M+H]⁺), 391.1288; found, 391.1289.

[190] P2 화합물 합성

[191] 상기 3b 중간 화합물(0.20 g, 0.73 mmol), K₂CO₃(0.2 g, 1.46 mmol), 및 레조루핀 나트륨염(0.18 g, 0.73 mmol)을 사용하여 상기 P1 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 오렌지색 고체의 P2 화합물을 제조하였다(0.18 g, 수율 60 %). ¹H-NMR (300 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 7.77 (d, J = 8.88 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 9.81 Hz, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.27-7.25 (m, 2H), 7.07 (dd, J = 6.21, 2.7 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.67 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 7.77, 2.07 Hz, 1H), 6.29 (d, J = 2.04 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.14 (s, 3H), 3.01 (s, 3H). ¹³C-NMR (75 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 185.9, 162.2, 156.3, 153.5, 153.0, 149.8, 146.1, 145.6, 139.1, 139.0, 134.7, 134.6, 134.5, 134.1, 131.6, 128.6, 124.6, 123.2, 123.2, 115.7, 115.4, 113.9, 106.5, 101.1, 69.7, 36.7 36.4. ¹⁹F-NMR (300 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ -129.2, -129.2, -129.2, -129.2, -129.3, -129.3, -129.3. HR-ESI-MS: *m/z* calcd for **P2** (C₂₂H₁₈FN₂O₅, [M+H]⁺), 409.1194; found, 409.1193.

[192] P3 화합물 합성

[193] 상기 3c 중간 화합물(0.29 g, 1.0 mmol), K₂CO₃(0.28 g, 2.0 mmol), 및 레조루핀 나트륨염(0.24 g, 1.0 mmol)을 사용하여 상기 P1 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 오렌지색 고체의 P3 화합물을 제조하였다(0.2 g, 수율 48 %). ¹H-NMR (300 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 7.77 (d, J = 8.88 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 1.98 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 9.84 Hz, 1H), 7.41-7.39 (m, 1H), 7.31 (d, J = 8.31 Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 6.24, 2.67 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.67 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 7.77, 2.04 Hz, 1H), 6.29 (d, J = 2.04 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 3.17 (s, 3H), 3.03 (s, 3H). ¹³C-NMR (75 MHz, 298 K, CD₂Cl₂-d₂): δ 185.9, 162.2, 153.5, 149.8, 147.8, 146.1, 145.6, 134.7, 134.3, 134.1, 131.6, 129.0, 128.6, 127.5, 126.7, 124.5, 113.9, 106.5, 101.1, 69.6, 36.6, 36.4. HR-ESI-MS: *m/z* calcd for **P3** (C₂₂H₁₈ClN₂O₅, [M+H]⁺), 425.0899; found, 425.0898.

[194] P4 화합물 합성

[195] 상기 3d 중간 화합물(0.34 g, 1.0 mmol), K_2CO_3 (0.28 g, 2.0 mmol), 및 레조루핀 나트륨염(0.24 g, 1.0 mmol)을 사용하여 상기 P1 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 오렌지색 고체의 P4 화합물을 제조하였다(0.24 g, 수율 52 %). 1H -NMR (300 MHz, 298 K, $CD_2Cl_2-d_2$): δ 7.77 (d, J = 6.57 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.47-7.43 (m, 2H), 7.30 (d, J = 8.31 Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 6.24, 2.67 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 2.64 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 7.77, 2.04 Hz, 1H), 6.29 (d, J = 2.04 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 3.18 (s, 2H), 3.03 (s, 3H). ^{13}C -NMR (75 MHz, 298 K, $CD_2Cl_2-d_2$): δ 185.9, 162.2, 153.4, 149.8, 149.0, 146.1, 145.6, 134.7, 134.5, 134.1, 132.0, 131.6, 128.6, 127.4, 124.4, 116.7, 113.9, 106.5, 101.1, 67.5, 36.6, 36.4. HR-ESI-MS: m/z calcd for **P4** ($C_{22}H_{18}BrN_2O_5$, $[M+H]^+$), 469.0934; found, 469.0932.

[196] P5 화합물 합성

[197] 상기 3e 중간 화합물(0.22 g, 0.77 mmol), K_2CO_3 (0.21 g, 1.54 mmol), 및 레조루핀 나트륨염(0.19 g, 0.77 mmol)을 사용하여 상기 P1 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 오렌지색 고체의 P5 화합물을 제조하였다(0.19 g, 수율 58 %). 1H -NMR (300 MHz, 298 K, $CD_2Cl_2-d_2$): δ 7.73 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 7.10-7.7.06 (m, 2H), 7.05-7.01 (m, 2H), 6.91 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.78-6.74 (m, 1H), 6.25 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 2.97 (s, 3H). ^{13}C -NMR (75 MHz, 298 K, $CD_2Cl_2-d_2$): δ 185.9, 162.5, 154.4, 152.1, 149.8, 145.9, 145.6, 140.8, 134.7, 134.1, 133.9, 131.5, 128.5, 123.5, 119.7, 114.0, 111.8, 106.4, 101.0, 70.6, 36.5, 36.4. HR-ESI-MS: m/z calcd for **P5** ($C_{23}H_{21}N_2O_6$, $[M+H]^+$), 421.1394; found, 412.1392.

[198] P6 화합물 합성

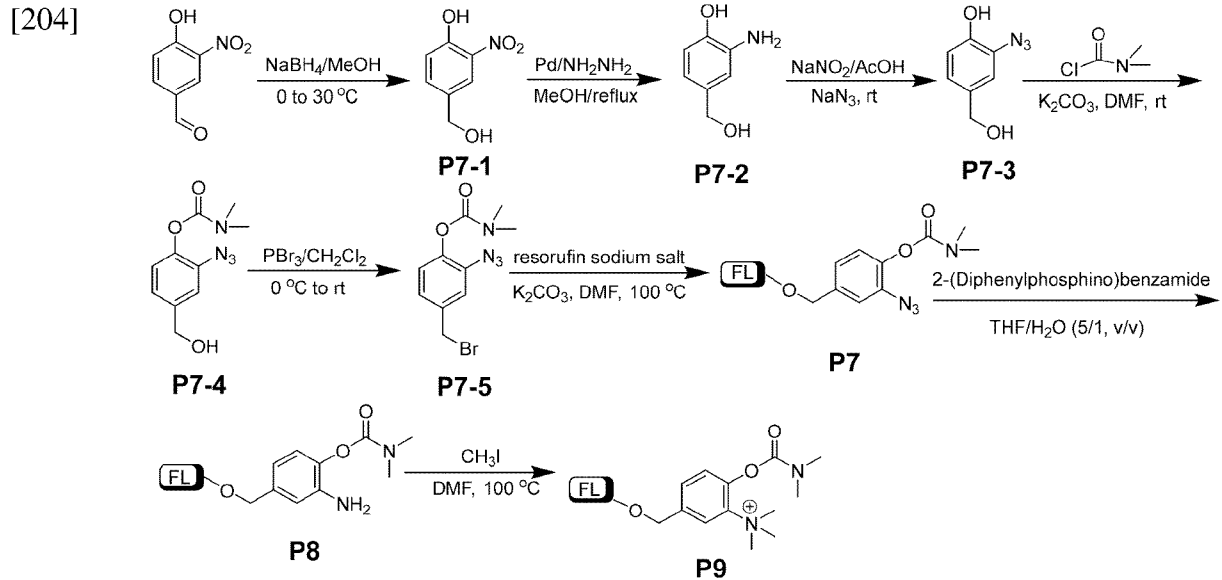
[199] 상기 3f 중간 화합물(0.48 g, 1.6 mmol), K_2CO_3 (0.44 g, 3.2 mmol), 및 레조루핀 나트륨염(0.39 g, 1.6 mmol)을 사용하여 상기 P1 화합물과 유사한 방법으로 합성하여 오렌지색 고체의 P6 화합물을 제조하였다(0.32 g, 수율 46 %). 1H -NMR (300 MHz, 298 K, $CD_2Cl_2-d_2$): δ 8.16-8.15 (m, 1H), 7.77-7.73 (m, 2H), 7.44 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.07-7.03 (m, 1H), 6.93 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.81-6.77 (m, 1H), 6.28 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.24 (s, 2H), 3.14 (s, 3H), 3.01 (s, 3H). ^{13}C -NMR (75 MHz, 298 K, $CD_2Cl_2-d_2$): δ 185.9, 161.8, 153.0, 149.8, 146.3, 145.6, 144.8, 134.7, 134.2, 134.1, 133.1, 131.7, 128.8, 125.8, 124.3, 113.7, 106.6, 101.2, 69.0, 36.7, 36.4. HR-ESI-MS: m/z calcd for **P6** ($C_{22}H_{18}N_3O_7$, $[M+H]^+$), 436.1139; found, 436.1139.

[200]

[201] 합성예 7~9: P7~P9 (Probe 7~9) 화합물

[202] P7~P9 프로브 화합물을 반응스킴 3에 따라 하기와 같은 방법으로 각각 합성하였다:

[203] [반응스킴 3]



[205]

[206] 0 °C에서 CH_3OH (30 mL) 중 4-히드록시-3-니트로벤즈알데하이드(8.35 g, 50.0 mmol)의 현탁액에 NaBH_4 (0.34 g, 10.0 mmol)를 천천히 첨가하였다. 30분 후, 생성된 현탁액을 실온에서 4시간 동안 교반하여 혼합물을 얻었다. 이어서, 상기 혼합물을 디클로로메탄(20 mL)으로 희석하고, 물(20 mL)로 3회 세척하였다. 세척한 혼합물에서 유기층을 분리하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 감압증류 하에 용매를 제거하고, 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 150:1\sim 50:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 황색 고체의 P7-1 중간 화합물을 수득하였다(4.73 g, 수율 56 %).

[207] 다음으로, 30 mL 에탄올 중 상기 P7-1 중간 화합물(4.2 g, 25.0 mmol) 및 10 % Pd/C (422 mg)의 용액에 히드라진 일수화물(10 mL)을 첨가한 후, 생성된 혼합물을 2시간 동안 가열 환류하였다. 그리고 나서, 반응용액을 여과하여 Pd/C 를 제거하고, 수집한 용액을 증발시켜 잔류물에 대하여 $\text{DCM}:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 100:1\sim 20:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 갈색 고체의 P7-2 중간 화합물을 수득하였다(2.76 g, 수율 80 %).

[208] 다음으로, 실온에서 AcOH (20 mL) 중 상기 P7-2 중간 화합물(2.5 g, 17.99 mmol)을 교반한 현탁액에 NaNO_2 (1.37 g, 17.79 mmol)를 서서히 첨가하였다. 1시간 후, NaN_3 (1.75g, 26.99mmol)을 나누어 첨가하고, 1.5시간 동안 교반을 계속하여 혼합물을 얻었다. 이어서, 상기 혼합물을 물(50 mL)로 희석하고 EtOAc (3 x 30 mL)를 사용하여 추출하였다. 이로부터, 합한 유기층을 물(100 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조하고, 수집한 용액을 감압 하에 증발시켰다. 그리고 나서, 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 100:1\sim 50:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 담황색 오일의 P7-3 중간 화합물을 수득하였다(1.93 g, 수율 65 %).

[209] 다음으로, DMF (20 mL) 중 상기 P7-3 중간 화합물(1.65 g, 10.0 mmol) 및 K_2CO_3

(2.07 g, 15 mmol) 용액에 Me_2NCOCl (1.01 mL, 11 mmol)을 실온에서 첨가하고 8시간 동안 교반하여 혼합물을 수득하였다. 상기 혼합물을 물(30 mL)로 희석한 후, CH_2Cl_2 (30 mL x 2)로 추출하고, 이로부터 합한 유기층을 포화 Na_2CO_3 용액으로 세척하고 증발시킨 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (v/v, 0~100:1) 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 회색 고체의 P7-4 중간 화합물을 수득하였다(1.94 g, 수율 82 %).

[210] 다음으로, 디클로로메탄(30 mL) 중 상기 P7-4 중간 화합물(1.42 g, 6.0 mmol) 용액에 0 °C에서 트리브로모포스핀(1.15 mL, 12.0 mmol)을 적가하여 혼합물을 수득하였다. 상기 혼합물을 실온으로 가온하고 4시간 동안 교반한 후, 디클로로메탄(20 mL)으로 희석하고, 물(20 mL)로 3회 세척하였다. 세척한 혼합물에서 유기층을 분리하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하였다. 그리고 나서, 감압증류 하에 용매를 제거하여 P7-5 중간 화합물을 수득하였다.

[211] 다음으로, 무수 DMF(10 mL) 중 레조루핀 나트륨염(0.47 g, 2.0 mmol) 용액에 K_2CO_3 (0.55 g, 4.0 mmol)을 첨가한 후, 100 °C에서 10 분 동안 교반하고 DMF(2 mL) 중 상기 P7-5 중간 화합물(0.60 g, 2.0 mmol) 용액을 적가하여 혼합물을 수득하였다. 상기 혼합물을 100 °C에서 12시간 동안 교반한 후, 용액을 냉각하고 CH_2Cl_2 (20 mL)로 희석하였다. 이어서, 생성된 용액을 염수(15 mL x 3)로 세척하였다. 세척한 용액에서 유기층을 분리하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하고 용매를 증발시켜 제거하였다. 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (v/v, 200:1~100:1) 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 주황색 고체의 P7 화합물을 수득하였다(0.39 g, 수율 45 %). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, 298 K, $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$): δ 7.77 (d, J = 8.88 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 9.84 Hz, 1H), 7.27 (m, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.08(dd, J = 6.21, 2.67 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 2.64, 1H), 6.82 (dd, J = 7.77, 2.04 Hz, 1H), 6.29 (d, J = 2.04 Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 3.14 (s, 3H), 3.02 (s, 3H), 7.28-7.26 (m, 1H), 3.10 (s, 3H), 3.01 (s, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, 298 K, $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$): δ 185.9, 162.2, 153.8, 149.8, 146.0, 145.6, 143.1, 134.7, 134.3, 134.1, 133.1, 131.6, 128.6, 124.5, 124.4, 119.3, 113.9, 106.5, 101.1, 69.8, 36.7, 36.3. HR-ESI-MS: m/z calcd for **P7** ($\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_5$, $[\text{M}]^+$), 431.1230; found, 431.1230.

[212] THF- H_2O (10 mL, 9:1, v/v) 혼합물 중 상기 P7 화합물(0.3 g, 0.7 mmol) 용액에, 2-(디페닐포스피노)벤즈아미드(0.32 g, 1.05 mmol)를 첨가하여 혼합물을 얻었다. 상기 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반하고 진공에서 증발시켰다. 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (v/v, 100:1~20:1) 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 주황색 고체의 P8 화합물을 수득하였다(0.20 g, 수율 71 %). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, 298 K, DMSO-d_6): δ 7.80 (d, J = 8.85 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 9.81 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 2.52 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 6.24, 2.58 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.82-6.80 (m, 1H), 6.63 (dd, J = 6.06, 2.07 Hz, 1H), 6.28 (d, J = 2.07 Hz, 1H), 5.14 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.90 (s, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, 298 K, DMSO-d_6): δ 185.8, 162.9, 154.4, 150.2, 145.7, 145.6, 141.4, 137.9, 135.4, 133.7,

31.8, 128.4, 123.3, 115.7, 115.3, 114.9, 106.1, 101.6, 70.9, 37.0, 36.7. HR-EI-MS: m/z calcd for **P8** ($C_{22}H_{19}N_3O_5$, $[M]^+$), 405.1325; found, 405.1325.

- [213] 상기 P8 화합물(0.081 g, 0.2 mmol)을 10 mL DMF에 용해하고, CH_3I (0.25 mL, 4 mmol)을 천천히 첨가하였다. 이어서, 생성된 혼합물을 100 °C에서 교반하였다. 이어서, 10 시간 후, 상기 혼합물에서 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물에 대하여 CH_2Cl_2 : CH_3OH (v/v, 100:1~10:1) 용리액으로 중성 산화알루미늄에 적용하여, 주황색 고체의 P9 화합물을 수득하였다(0.11 g, 수율 9.6 %). 1H -NMR (300 MHz, 298 K, $MeOD-d_4$): δ 8.08 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.85-7.79 (m, 2H), 7.58 (d, J = 9.81 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.21 (m, 2H), 6.88 (dd, J = 7.7, 2.1 Hz, 1H), 6.34 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 3.79 (s, 9H), 3.27 (s, 3H), 3.11 (s, 3H). ^{13}C -NMR (75 MHz, 298 K, $MeOD-d_4$): δ 187.0, 162.8, 153.0, 150.5, 145.7, 145.3, 143.9, 137.3, 135.3, 135.2, 133.3, 131.6, 130.8, 128.8, 127.1, 120.4, 114.3, 105.5, 100.9, 69.1, 36.1, 36.8. HR-ESI-MS: m/z calcd for **P9** ($C_{25}H_{26}N_3O_5^+$, $[M]^+$), 448.1867; found, 448.1866.

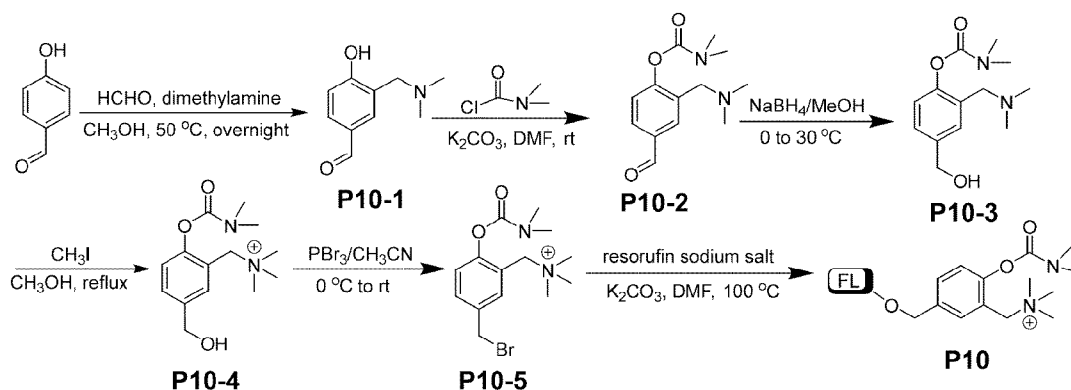
[214]

[215] **합성예 10: P10 (Probe 10) 화합물**

[216] P10 프로브 화합물을 반응스킴 4에 따라 하기와 같은 방법으로 합성하였다:

[217] [반응스킴 4]

[218]



[219]

- [220] 50 mL 메탄올 중 4-히드록시벤즈알데히드(6.25 g, 50 mmol), 33% 수성 디메틸아민(6.88 g, 50 mmol) 및 35% 포름알데히드 용액(5.1g, 60mmol) 혼합물을 50°C에서 밤새 교반하였다. 이어서, 감압 하에 용매를 제거하고, 잔류물을 CH_2Cl_2 (15 mL x 3)로 추출하였다. 수집한 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조하고 감압 하에 농축하였다. 잔류물에 대하여 CH_2Cl_2 : CH_3OH (v/v, 100:1~10:1) 용리액으로 칼럼 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 황색 고체의 P10-1 중간 화합물을 수득하였다(3.85 g, 수율 42 %).

- [221] DMF(20 mL) 중 상기 P10-1 중간 화합물(1.79 g, 10.0 mmol) 및 K_2CO_3 (2.76 g, 20 mmol) 용액에 Me_2NCOCl (1.84 mL, 20 mmol)을 실온에서 첨가하고 12시간 동안 실온에서 교반하여 혼합물을 수득하였다. 상기 혼합물을 물(30 mL)로 희석한 후, CH_2Cl_2 (30 mL x 2)로 추출하고, 합한 유기층을 포화 Na_2CO_3 용액으로 세척하고,

증발시켰다. 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 0\sim 100:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 투명한 오일의 P10-2 중간 화합물을 수득하였다(2.17 g, 수율 87%).

[222] 0°C 에서 CH_3OH (30 mL) 중 상기 P10-2 중간 화합물(1.75 g, 7.0 mmol) 현탁액에 NaBH_4 (0.48 g, 14.0 mmol)를 천천히 첨가하였다. 30분 후, 생성된 현탁액을 실온에서 4시간 동안 교반하여 혼합물을 수득하였다. 이어서, 상기 혼합물을 디클로로메탄(20 mL)으로 희석하고, 물(20 mL)로 3회 세척하였다. 세척한 혼합물에서 유기층을 분리하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하였다. 감압증류 하에 용매를 제거하고 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 100:1\sim 50:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 황색 오일의 P10-3 중간 화합물을 수득하였다(1.53 g, 수율 87%).

[223] CH_3OH (30 mL) 중 상기 P10-3 중간 화합물(1.0 g, 4.0 mmol) 용액에 CH_3I (2 mL, 32 mmol)을 적가하였다. 생성된 반응 혼합물을 12시간 동안 환류하였다. 이어서, 용매를 제거하고 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 100:1\sim 10:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 백색 고체의 P10-4 중간 화합물을 수득하였다(1.17 g, 수율 75%).

[224] 0°C 에서 CH_3CN (30 mL) 중 상기 P10-4 중간 화합물(0.99 g, 2.5 mmol) 현탁액에 트리브로모포스핀(0.48 mL, 5.0 mmol)을 적가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 밤새 교반하였다. 이어서, 용매를 감압 하에 증발 제거하고, 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 100:1\sim 10:1)$ 용리액으로 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 정제함으로써, 백색 고체의 P10-4 중간 화합물을 수득하였다(0.46 g, 수율 40%).

[225] 무수 DMF(15 mL) 중 레조루핀 나트륨염(0.21 g, 0.9 mmol) 용액에 K_2CO_3 (0.25 g, 1.8 mmol)을 첨가한 후, 100°C 에서 10분 동안 교반하였다. 이어서, DMF(2 mL) 중 상기 P10-5 중간 화합물(0.41 g, 0.9 mmol) 용액을 적가하여 혼합물을 수득하였다. 상기 혼합물을 100°C 에서 12 시간 동안 교반한 후, 냉각시키고 CH_2Cl_2 (20 mL)로 희석하였다. 이어서, 생성된 용액을 염수(15 mL $\times$ 3)로 세척하였다. 세척한 용액에서 유기층을 분리하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조하였다. 용매를 증발시켜 제거하고, 잔류물에 대하여 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(\text{v/v}, 100:1\sim 10:1)$ 로 용리된 중성 산화 알루미늄을 적용하여 오렌지색 고체의 P10 화합물을 제조하였다(0.28 g, 수율 52%). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, 298 K, DMSO-d_6): δ 7.82 (d, J = 8.88 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 2.04 Hz, 1H), 7.70 (dd, J = 6.30, 2.07 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 9.81 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.37 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 2.64 Hz, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.82 (dd, J = 7.74, 2.07 Hz, 1H), 6.29 (d, J = 2.07 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.09 (s, 3H), 3.06 (s, 9H), 2.95 (s, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, 298 K, DMSO-d_6): δ 185.8, 162.5, 153.9, 151.7, 150.2, 145.9, 145.7, 135.4, 134.6, 134.3, 133.9, 131.9, 131.8, 128.5, 124.6, 121.3, 114.8, 106.2, 101.8, 69.8, 62.7, 52.6, 37.2, 36.8. HR-ESI-MS: m/z calcd for **P10** ($\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_5^+$, $[\text{M}]^+$), 462.2023; found, 462.2023.

[226]

[227] **분석예 1:** 질량 스펙트럼 및 고성능 액체 크로마토그래피

[228] 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시켜 생성된 반응 생성물을 확인하기 위하여 전자분무 이온화 질량 스펙트럼(ESI-MS) 및 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 분석하였다. 그 결과를 도 2 및 도 3에 각각 나타내었다.

[229] 전자분무 이온화 질량 스펙트럼(ESI-MS) 분석을 위한 시료는 다음과 같이 준비하였다. 5 mL 시험관에서 5 μ M P10 화합물에 PBS를 첨가하여 혼합한 후, 50 U/mL 아세틸콜린에스테라제(AChE)를 첨가하여 혼합액을 수득하였다. 상기 혼합액을 PBS를 2 mL로 조정하여 반응액을 수득하였다. 이어서, 상기 반응액을 37°C에서 5시간 동안 인큐베이션하여 시료를 준비하였다.

[230] 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 분석을 위한 시료는 5 μ M P10 화합물에 PBS, 50 U/mL 아세틸콜린에스테라제(AChE)를 첨가하고 PBS를 2 mL로 조정한 반응액(c) 외에, 비교를 위해 PBS 블랭크 용액(a), PBS에 50 U/mL 아세틸콜린에스테라제(AChE)만을 포함하는 반응액(b), PBS에 5 μ M P10 화합물만을 포함하는 반응액(d), 및 PBS에 5 μ M 레조루핀 화합물만을 포함하는 반응액(e)을 각각 준비하고 37°C에서 5시간 동안 인큐베이션하여 비교 시료들을 준비하였다.

[231] 도 2를 참조하면, 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시켜 생성된 반응 생성물은 $m/z = 212$ 에서 피크가 나타나며, 상기 피크는 레조루핀의 주피크임을 알 수 있다.

[232] 도 3을 참조하면, 반응액(c)의 HPLC 스펙트럼은 5.73분에서 나타난 피크가 점차 줄어들고 10.52분에서 새로운 피크가 나타남을 확인할 수 있다. 이들 피크들에 대한 정보를 위해 다른 시료들과의 비교해 본 결과, 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시 P10 화합물이 감소하고 레조루핀이 생성됨을 알 수 있다.

[233]

[234] **분석예 2:** 형광 스펙트럼

[235] 5 mL 시험관에서 5 μ M P1~P10 화합물에 PBS를 첨가하여 혼합한 후, 후술하는 농도의 아세틸콜린에스테라제(AChE)를 첨가하여 혼합액을 수득하였다. 상기 혼합액을 PBS를 2 mL로 조정하여 반응액을 수득하였다. 이어서, 상기 반응액(pH = 7.4)을 37°C에서 5시간 동안 인큐베이션하고 1 cm 석영 큐벳으로 옮겨 시료를 준비하였다. 형광 스펙트럼 분석에 JASCO FP8500 기기를 사용하였다.

[236] (2-1) 아세틸콜린에스테라제(AChE)에 대한 선택성

[237] 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 0~10 U/mL 농도의 아세틸콜린에스테라제(AChE), 부티릴콜린에스테라제(BChE), 및 카르복실 에스테라제(CE)를 첨가한 반응액과 각각 반응시켜 상기 화합물의 효소들에 대한

선택성을 형광 발광 스펙트럼으로 분석하였다. 그 결과를 도 4 (a), (b), (c)에 각각 나타내었다.

[238] 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 PBS 블랭크 용액(1), 10 U/mL 잔틴 옥시다제(2), 10 U/mL 티로시나제(tyrosinase)(3), 10 μ g/mL 모노아민 옥시다제 A(MAO-A)(4), 10 μ g/mL 모노아민 옥시다제 B(MAO-B)(5), 10 U/mL β -글루코시다제(β -glucosidases)(6), 10 μ g/mL 트립신(7), 10 U/mL ALP(8), 10 U/mL 아피라아제(apyrase)(9), 10 μ M HSA(10), 10 μ M BSA(11), 및 10 U/mL 아세틸콜린에스테라제(AChE)(12)를 첨가한 반응액과 각각 반응시켜 상기 화합물의 효소들에 대한 선택성을 형광 발광 스펙트럼으로 분석하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[239] 도 4(a), (b), (c), 및 도 5를 참조하면, 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물은 아세틸콜린에스테라제(AChE)를 첨가한 반응액에 대한 선택성이 현저함을 확인할 수 있다.

[240] (2-2) 형광 반응

[241] 합성에 1~10에 의해 제조된 P1~P10 화합물을 10 U/mL 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시킬 때 반응 전후의 형광 강도의 차(ΔF)를 형광 발광 스펙트럼으로 분석하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[242] 도 6을 참조하면, 합성에 5에 의해 제조된 P5 화합물을 제외하고, 합성에 1~4 및 6~10에 의해 제조된 P1~P4 및 P6~P10 화합물은 반응 전후의 형광 강도의 차(ΔF)가 뚜렷이 나타났다. 이 중에서, P10 화합물이 가장 높은 반응 전후의 형광 강도의 차(ΔF)를 보여주었다.

[243] 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 0~20 U/mL 농도에서 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시킬 때 형광 강도 및 반응 전후의 형광 강도의 차(ΔF)를 형광 발광 스펙트럼으로 분석하였다. 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[244] 도 7을 참조하면, 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물은 582 nm 파장에서 피크가 나타났고, 아세틸콜린에스테라제(AChE)의 농도가 0~20 U/ml(아래부터 위로 각각 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 U/ml임)로 증가함에 따라 형광 강도가 증가하는 선형성(linearity)을 보여주었다.

[245] (2-3) 색변환 여부

[246] 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물을 37°C에서 5시간 동안 20 U/mL 농도에서 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시키기 전후의 흡광도(absorbance) 및 형광 강도를 형광 흡수 스펙트럼 및 형광 발광 스펙트럼으로 각각 분석하였고, 색변환 여부를 육안으로 관찰하였다. 그 결과를 도 8(a), (b)에 각각 나타내었다.

[247] 도 8(a), (b)를 참조하면, 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물은 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시킨 후의 흡광도 피크가 571 nm 파장으로 시프트되었고, 형광 피크 강도의 세기도 컸다. 또한 합성에 10에 의해 제조된 P10 화합물은 아세틸콜린에스테라제(AChE)와 반응시킨 후, 무색("a"로 표기)에서

핑크색("b"로 표기)으로 색변환이 뚜렷이 나타났다.

[248]

[249] 분석예 3: 파라옥손 에틸(paraoxon ethyl)에 대한 IC_{50} 값

[250] 합성예 10에 의해 제조된 P10 화합물에 대하여, 공지된 효과적인

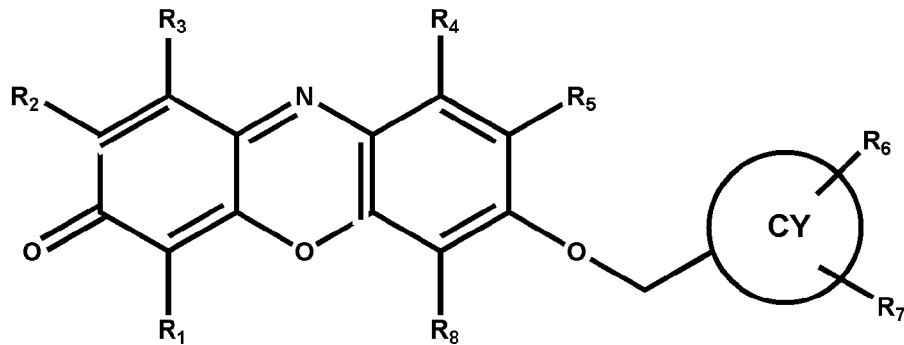
아세틸콜린에스테라제(AChE) 억제제인 파라옥손 에틸(paraoxon ethyl; PO)에 대한 IC_{50} 값을 측정하였다. 그 결과를 도 9에 나타내었다.

[251] IC_{50} 값을 측정하기 위하여, 아세틸콜린에스테라제(AChE) 및 5 μ M P10 화합물이 첨가된 수용액에 10^{-9} ~ 10^{-3} M 파라옥손 에틸을 첨가한 후 형광 발광 스펙트럼을 얻었다. 또한 파라옥손을 첨가하지 않은 수용액의 582nm 파장에서 형광 강도값(ΔF)에 대한 각 용액의 582nm 파장에서 형광 강도값(ΔF)의 비율을 계산하고 그래프에 도시하였다. 도 9를 참조하면, 합성예 10에 의해 제조된 P10 화합물은 파라옥손 에틸(paraoxon ethyl; PO)에 대한 IC_{50} 값이 110 nM임을 확인할 수 있다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

CY는 치환 또는 비치환된 C_6-C_{60} 아릴렌기 및 치환 또는 비치환된 C_6-C_{60} 헤테로아릴렌기 중에서 선택되고;

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_8$ 은 서로 독립적으로 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 또는 이들 조합이고;

R_6 은 치환 또는 비치환된 카바모일기이고; 및

R_7 은 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 니트로기, $-N_3$, $-N(R_a)(R_b)$, $-(CH_2)_n$, $N^+(R_a)(R_b)(R_c)$, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{20} 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{20} 헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{50} 아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{50} 아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{50} 헤테로아릴기, 또는 이들 조합이며, 여기서 n 은 0 내지 5이고 R_a, R_b, R_c 는 각각 수소원자, 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10} 알킬기이다.

[청구항 2] 제1항에 있어서,

상기 R_6 은 CY 고리의 파라(para) 위치에 있는 화합물.

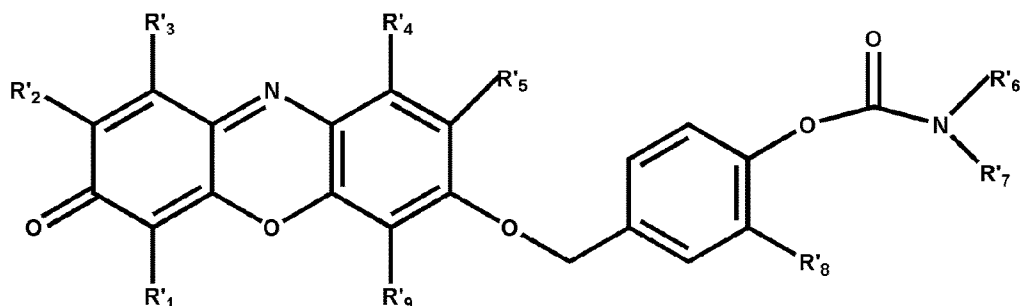
[청구항 3] 제1항에 있어서,

상기 R_6, R_7 은 CY 고리에서 오르쏘(ortho) 위치관계에 있는 화합물.

[청구항 4] 제1항에 있어서,

하기 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함하는 화합물:

[화학식 2]



상기 화학식 2에서,

$R'_1, R'_2, R'_3, R'_4, R'_5, R'_6, R'_7, R'_9$ 는 서로 독립적으로 수소원자, 중수소원자, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 또는 이들 조합이고; 및

R'_8 은 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 니트로기, $-N_3$, $-N(R'_a)(R'_b)$, $-(CH_2)_nN^+(R'_a)(R'_b)(R'_c)$, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알콕시기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{20} 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_3-C_{20} 헤테로시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{50} 아릴기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{50} 아릴옥시기, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{50} 헤테로아릴기, 또는 이들 조합이며, 여기서 n 은 0 내지 5이고 R'_a, R'_b, R'_c 는 각각 수소원자 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10} 알킬기이다.

[청구항 5]

제4항에 있어서,

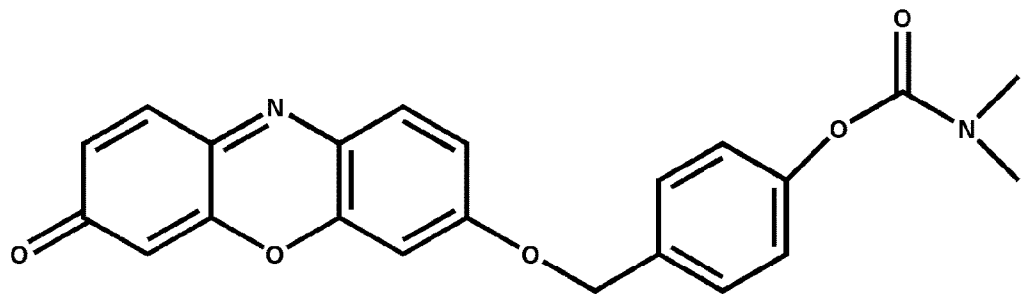
상기 R'_8 은 수소원자, 중수소원자, 할로젠원자, 니트로기, $-N_3$, $-N(R''_a)(R''_b)$, $-(CH_2)_nN^+(R''_a)(R''_b)(R''_c)$, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알콕시기, 또는 이들 조합이며, 여기서 n 은 0 내지 3이고 R''_a, R''_b, R''_c 는 각각 수소원자 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_5 알킬기인 화합물.

[청구항 6]

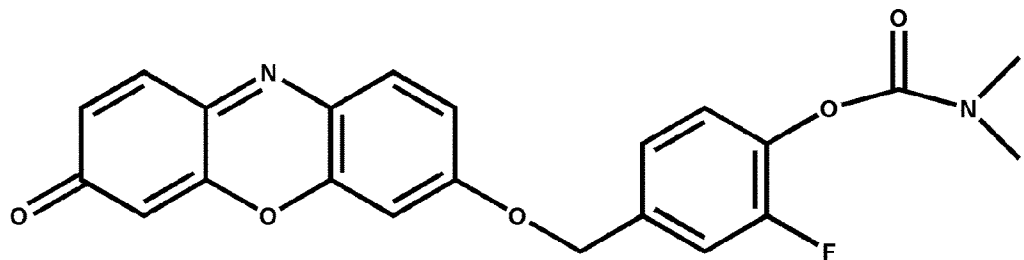
제1항에 있어서,

상기 화합물이 하기 화학식 3 내지 화학식 11 중 어느 하나를 포함하는 화합물:

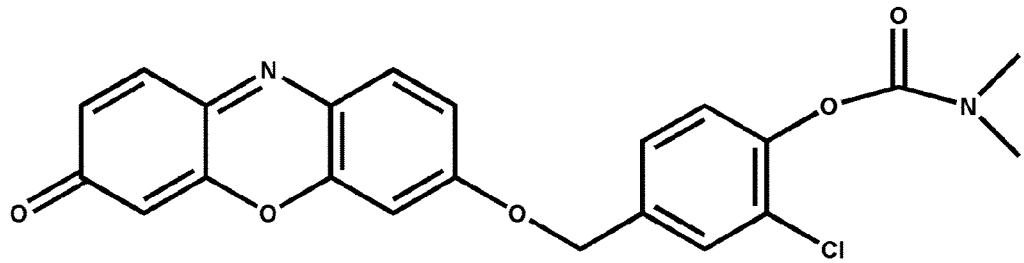
[화학식 3]



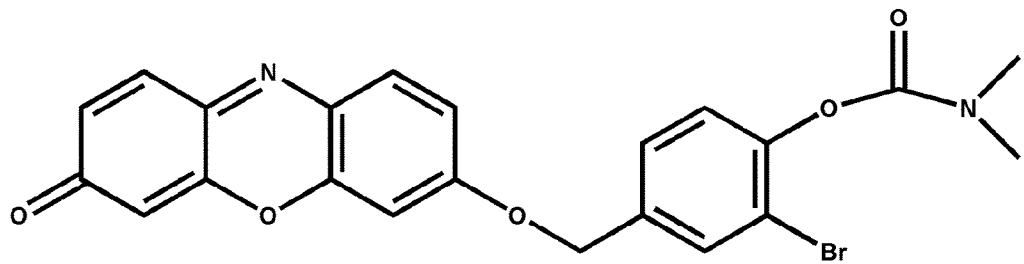
[화학식 4]



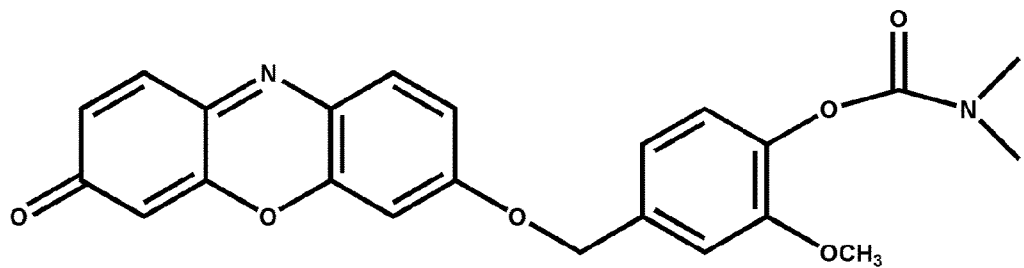
[화학식 5]



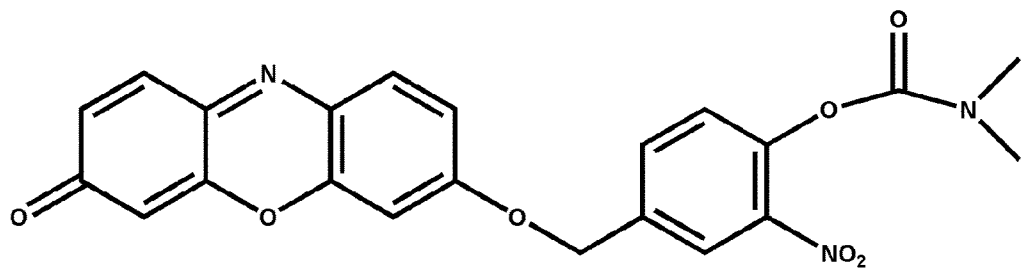
[화학식 6]



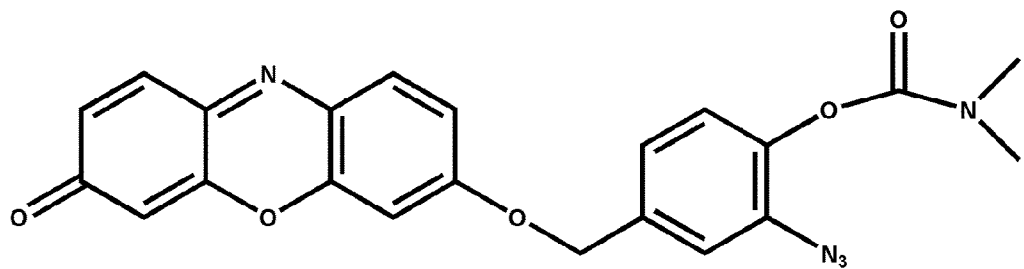
[화학식 7]



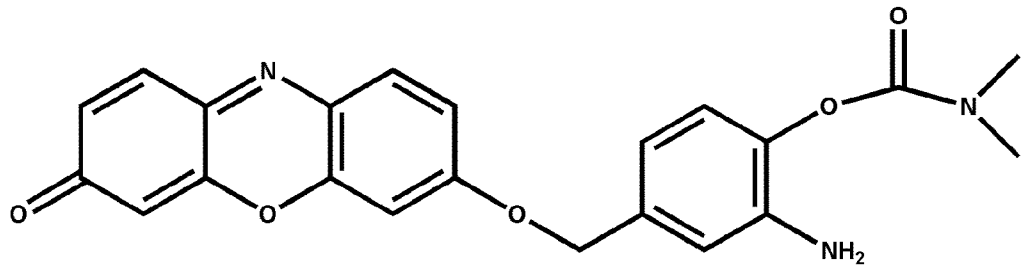
[화학식 8]



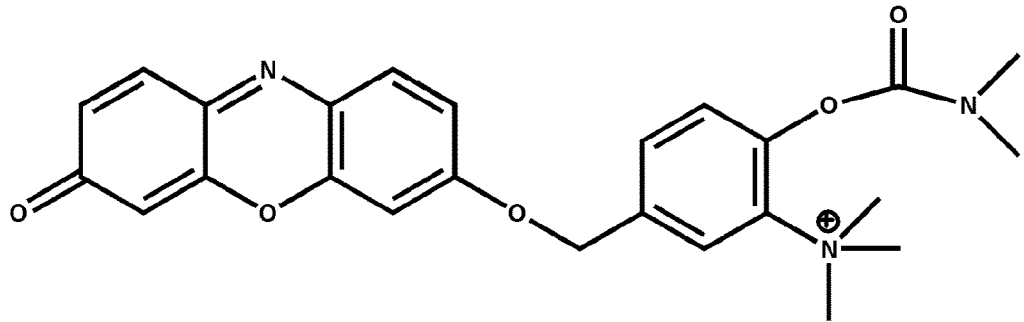
[화학식 9]



[화학식 10]



[화학식 11]

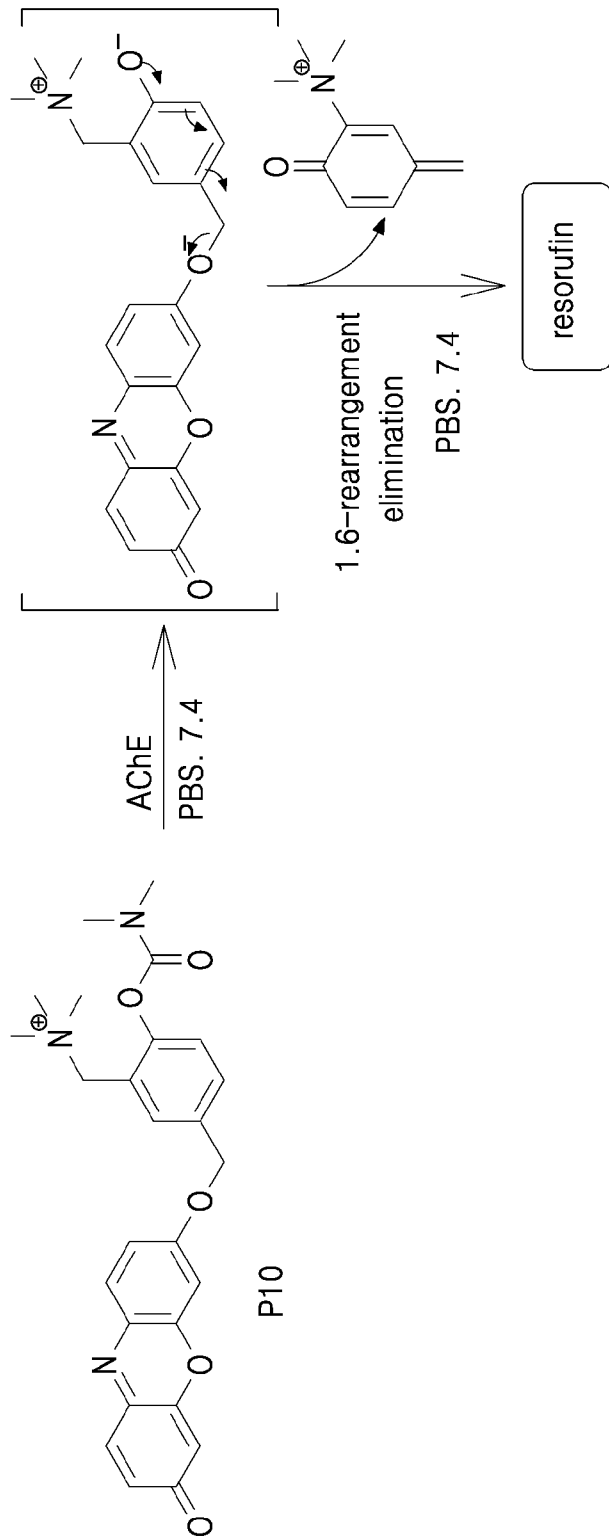


- [청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 화합물이 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 프로브인 화합물.
- [청구항 8] 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염; 및
용매, 산, 염기, 및 버퍼 용액 중에서 선택된 하나 이상을 포함하는 조성물.
- [청구항 9] 제8항에 있어서,
상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이
아세틸콜린에스테라제와 반응하여 형광단(fluorophore)을 방출하는 조성물.
- [청구항 10] 제8항에 있어서,
상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이
아세틸콜린에스테라제와 반응하여 최대흡수피크(maximum absorption peak)가 475 ~ 485 nm 파장영역에서 571 nm 파장으로 시프트되는 조성물.
- [청구항 11] 제8항에 있어서,
상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용되는 염이
아세틸콜린에스테라제와 반응하여 방출피크가 582 nm 파장에서 나타나는 조성물.
- [청구항 12] 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 화합물을 유효성분으로 포함하는 아세틸콜린에스테라제 활성 검출용 형광 센서.
- [청구항 13] 제12항에 있어서,
상기 화합물이 pH 7.4 및 37°C에서 아세틸콜린에스테라제와 반응시 최대형광강도를 나타내는 형광 센서.
- [청구항 14] 제12항에 있어서,

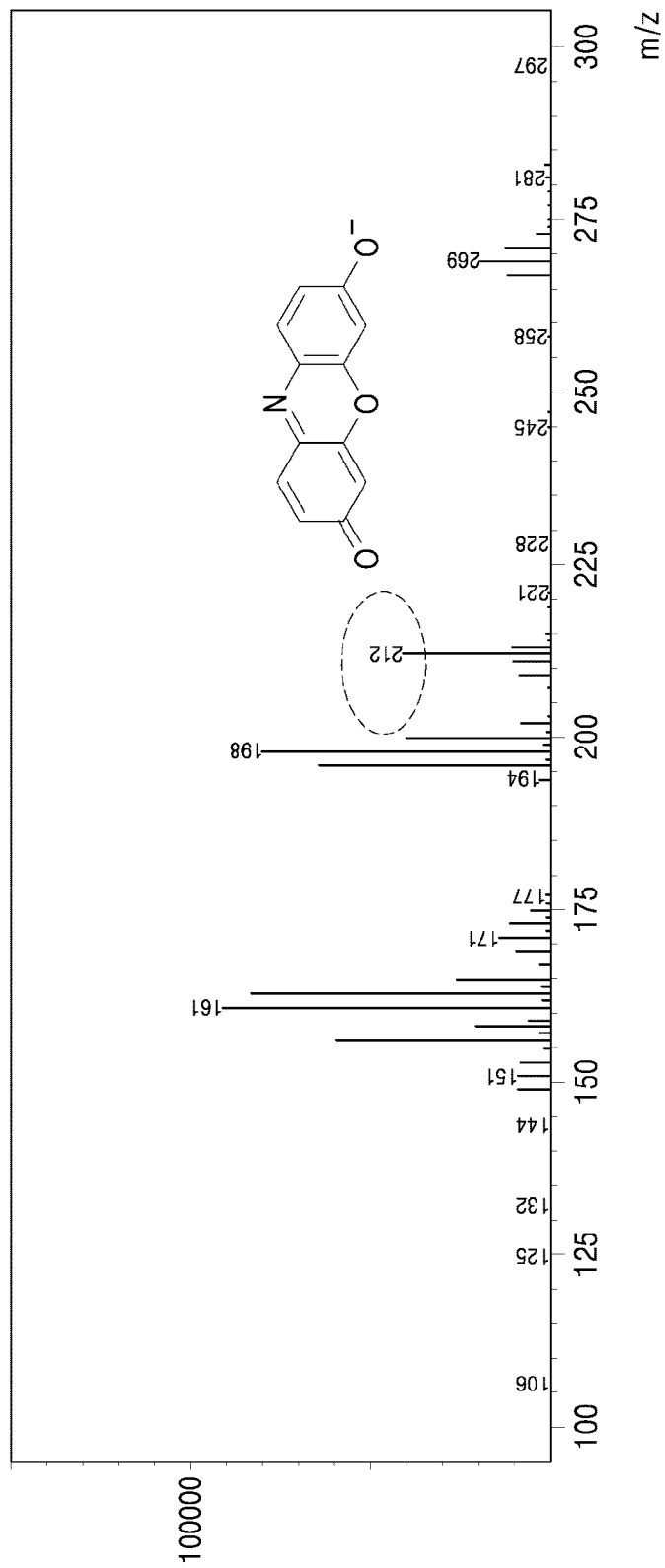
상기 화합물이 아세틸콜린에스테라제와 반응시 색변환이 나타나는 형광 센서.

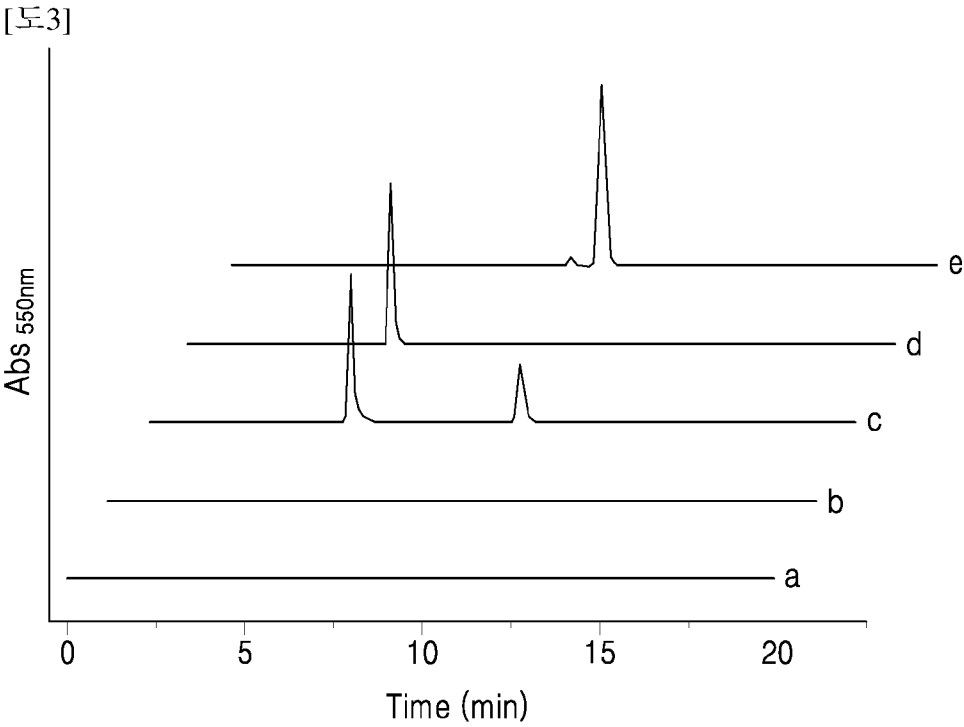
- [청구항 15] 제12항에 있어서,
상기 화합물은 시간과 농도에 비례하여 아세틸콜린에스테라제와의
형광강도가 증가하는 형광 센서.

[도1]

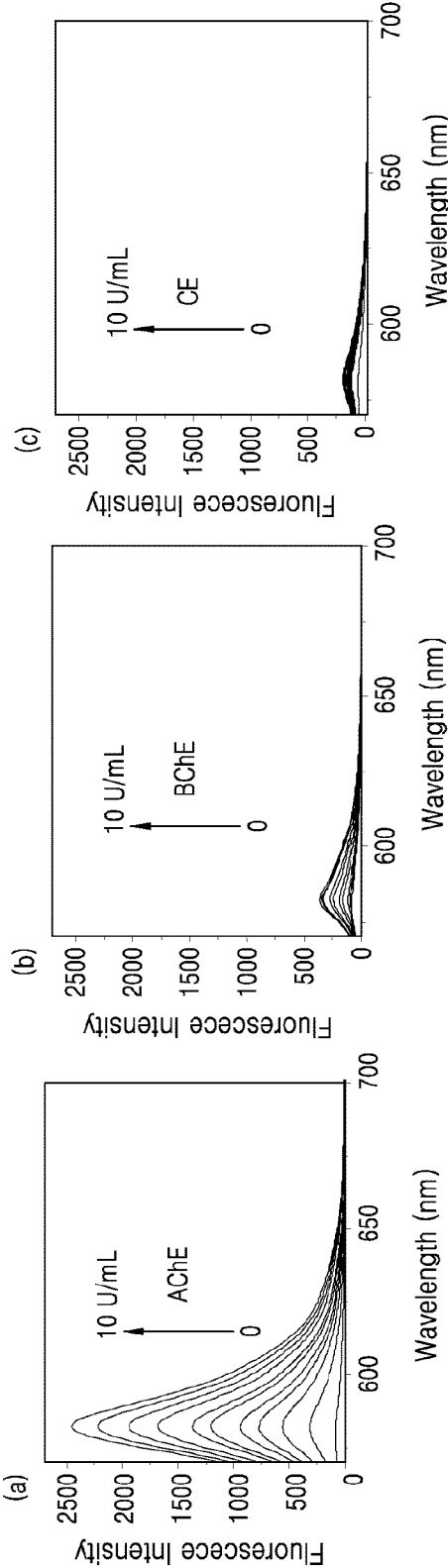


[도2]

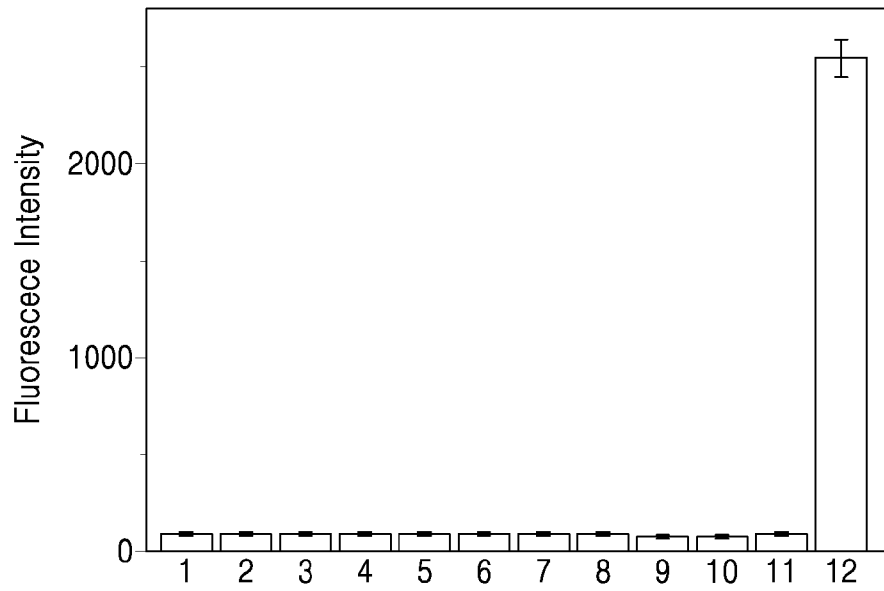




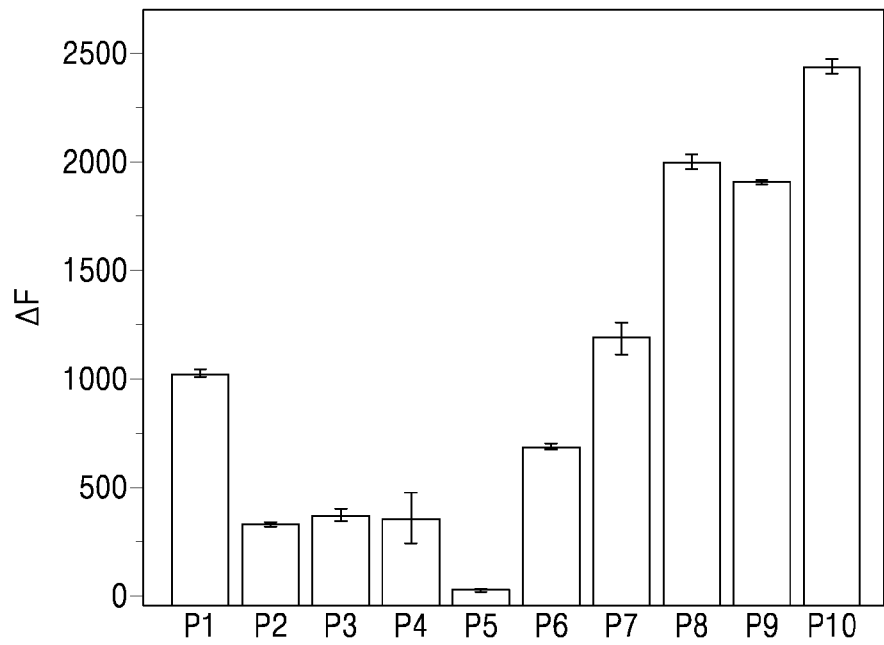
[도4]



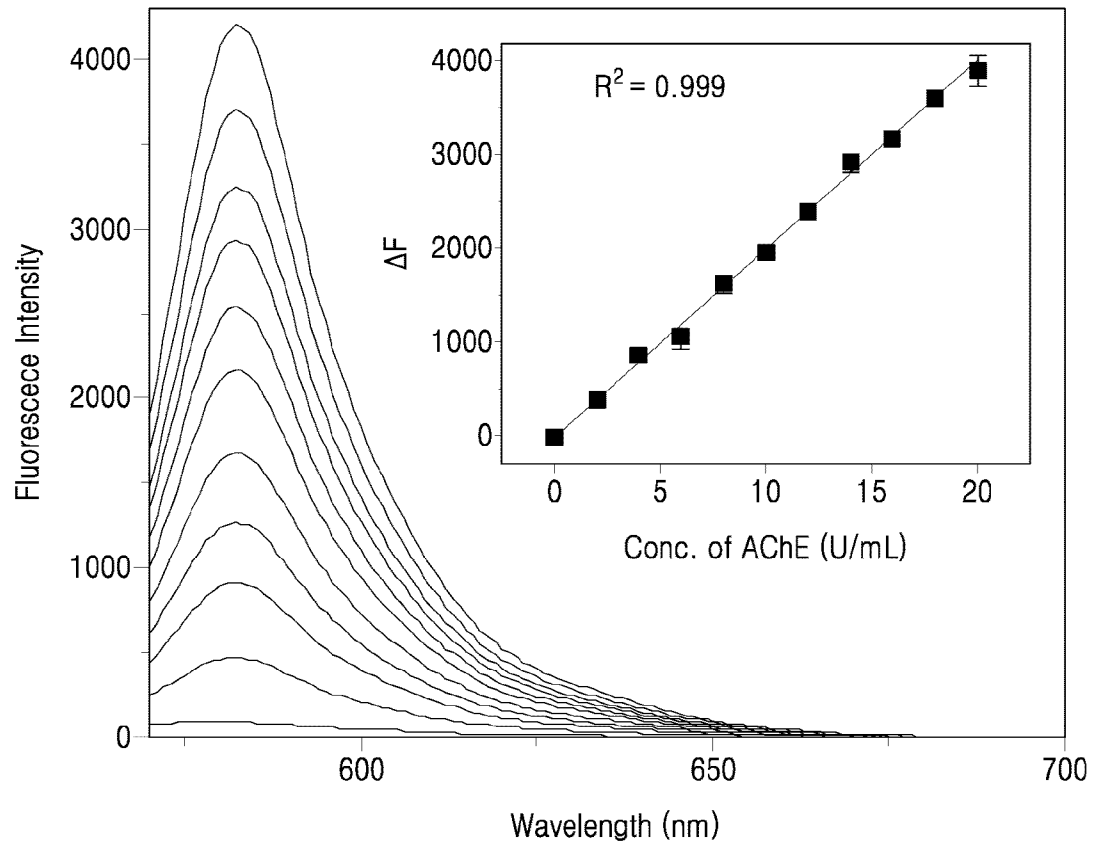
[도5]



[도6]

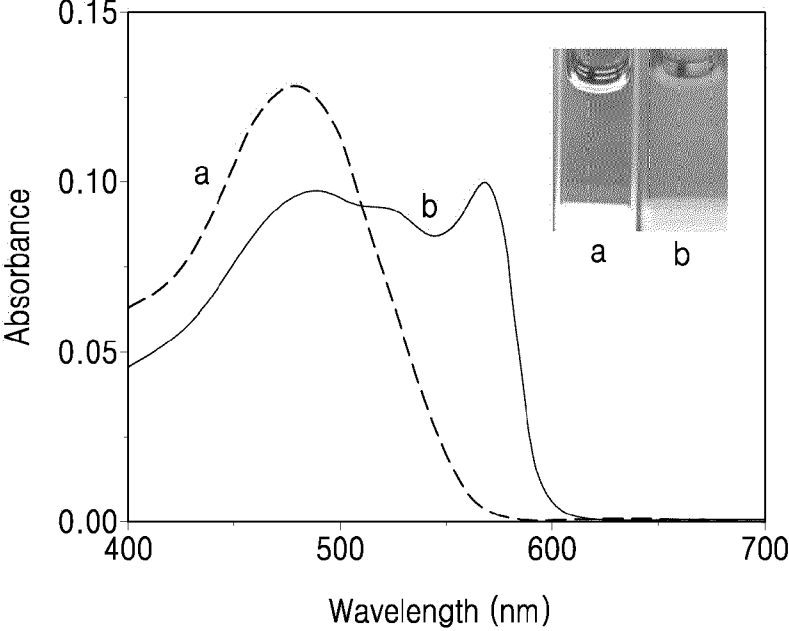


[도7]

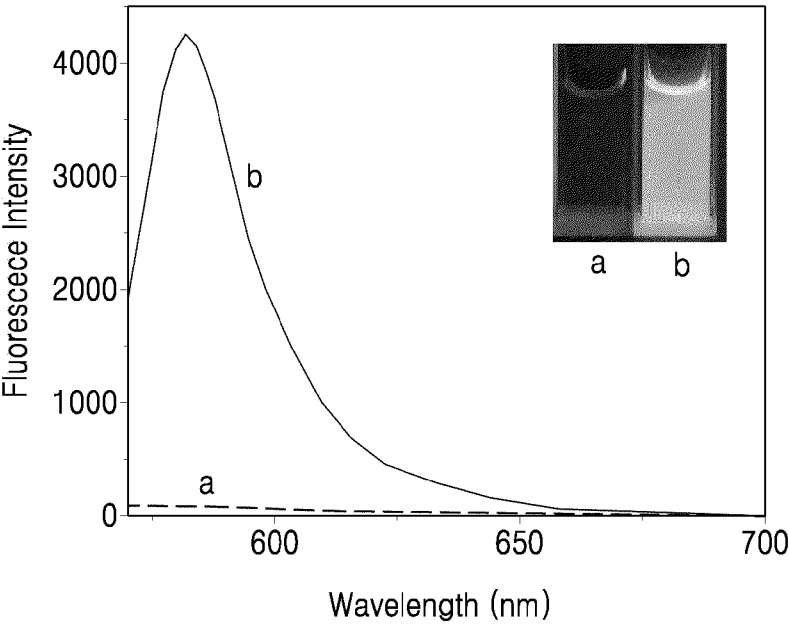


[도8]

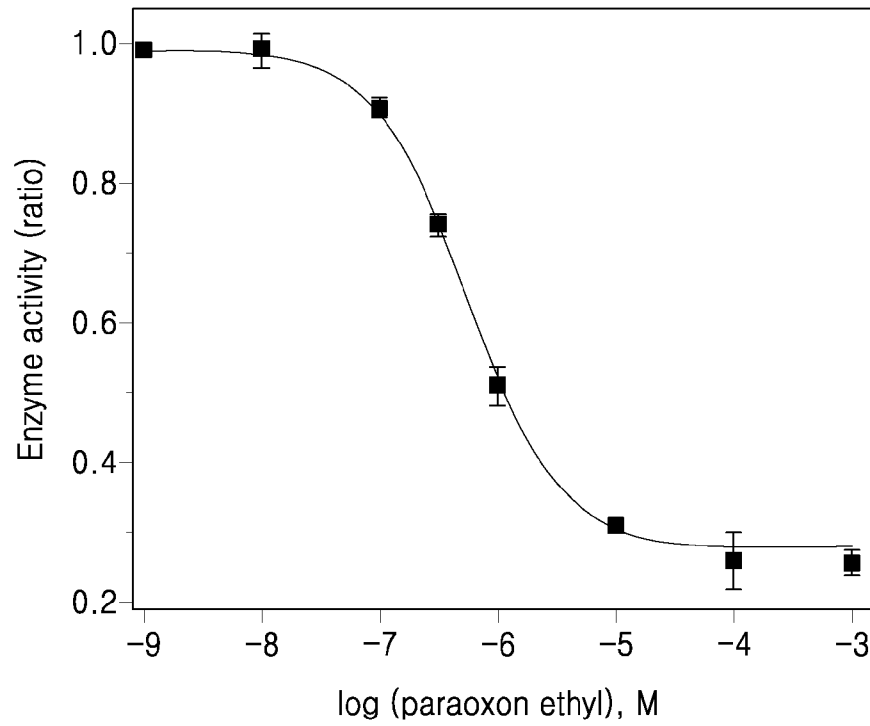
(a)



(b)



[도9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/007914

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07D 265/38(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i; C12Q 1/46(2006.01)i; C09K 11/06(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D 265/38(2006.01); C09K 11/06(2006.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal), Google & keywords: 플루오론 (fluorone), 카바모일기 (carbamoyl group), 형광 검출 (fluorophore detection), 아세틸콜린에스테라제 (acetylcholinesterase)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHENG, P. et al. Multiplex optical urinalysis for early detection of drug-induced kidney injury. Analytical chemistry. 03 April 2020, vol. 92, no. 8, pp. 6166-6172. See page 6168; and scheme 1.	1-15
A	KYOUNG, S. et al. Mitochondrial relocation of a common synthetic antibiotic: a non-genotoxic approach to cancer therapy. Chem. 11 June 2020, vol. 6, no. 6, pp. 1408-1419. See figure 2.	1-15
A	CN 110452187 A (CHANGSHA UNIVERSITY OF SCIENCES AND TECHNOLOGY) 15 November 2019 (2019-11-15) See abstract; and claim 1.	1-15
A	US 6514687 B1 (MAKINGS, L. R. et al.) 04 February 2003 (2003-02-04) See table 9.	1-15
A	GAO, X. et al. Detection of glucose via enzyme-coupling reaction based on a DT-diaphorase fluorescence probe. Talanta. 2014, vol. 120, pp. 456-461. See scheme 1.	1-15
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 September 2021		Date of mailing of the international search report 27 September 2021
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/007914

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	110452187	A	15 November 2019	None			
US	6514687	B1	04 February 2003	AT	240310	T	15 May 2003
				AU	3119000	A	03 July 2000
				CA	2352631	A1	22 June 2000
				DE	69907962	T2	19 May 2004
				DK	1140888	T3	25 August 2003
				EP	1140888	A1	10 October 2001
				EP	1140888	B1	14 May 2003
				ES	2199605	T3	16 February 2004
				JP	2002-532487	A	02 October 2002
				PT	1140888	E	30 September 2003
				US	2003-0027238	A1	06 February 2003
				US	2003-0186349	A1	02 October 2003
				US	2007-0072256	A1	29 March 2007
				US	2008-0125586	A1	29 May 2008
				US	2010-0105095	A1	29 April 2010
				US	6143492	A	07 November 2000
				US	6420130	B1	16 July 2002
				US	6638713	B2	28 October 2003
				US	7132252	B2	07 November 2006
				US	8153828	B2	10 April 2012
				WO	00-35900	A1	22 June 2000

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C07D 265/38(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i; C12Q 1/46(2006.01)i; C09K 11/06(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C07D 265/38(2006.01); C09K 11/06(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), 구글 & 키워드: 플루오론 (fluorone), 카바모일기 (carbamoyl group), 형광 검출 (fluorophore detection), 아세틸콜린에스테라제 (acetylcholinesterase)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	CHENG, P. 등, "Multiplex optical urinalysis for early detection of drug-induced kidney injury", Analytical chemistry, 2020.04.03, 92권, 8호, 페이지 6166-6172 페이지 6168; 스킵 1	1-15
A	KYOUNG, S. 등, "Mitochondrial relocation of a common synthetic antibiotic: a non-genotoxic approach to cancer therapy", Chem, 2020.06.11, 6권, 6호, 페이지 1408-1419 도면 2	1-15
A	CN 110452187 A (CHANGSHA UNIVERSITY OF SCIENCES AND TECHNOLOGY) 2019.11.15 요약; 청구항 1	1-15
A	US 6514687 B1 (MAKINGS, L. R. 등) 2003.02.04 표 9	1-15
A	GAO, X. 등, "Detection of glucose via enzyme-coupling reaction based on a DT-diaphorase fluorescence probe", Talanta, 2014, 120권, 페이지 456-461 스킵 1	1-15
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2021년09월27일(27.09.2021)		국제조사보고서 발송일 2021년09월27일(27.09.2021)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 정다원 전화번호 +82-42-481-5373

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
CN 110452187 A	2019/11/15	없음	
US 6514687 B1	2003/02/04	AT 240310 T	2003/05/15
		AU 3119000 A	2000/07/03
		CA 2352631 A1	2000/06/22
		DE 69907962 T2	2004/05/19
		DK 1140888 T3	2003/08/25
		EP 1140888 A1	2001/10/10
		EP 1140888 B1	2003/05/14
		ES 2199605 T3	2004/02/16
		JP 2002-532487 A	2002/10/02
		PT 1140888 E	2003/09/30
		US 2003-0027238 A1	2003/02/06
		US 2003-0186349 A1	2003/10/02
		US 2007-0072256 A1	2007/03/29
		US 2008-0125586 A1	2008/05/29
		US 2010-0105095 A1	2010/04/29
		US 6143492 A	2000/11/07
		US 6420130 B1	2002/07/16
		US 6638713 B2	2003/10/28
		US 7132252 B2	2006/11/07
		US 8153828 B2	2012/04/10
		WO 00-35900 A1	2000/06/22