



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년05월27일
(11) 등록번호 10-1982521
(24) 등록일자 2019년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C09B 69/10 (2006.01) A61B 90/00 (2016.01)
C09B 11/24 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C09B 69/109 (2013.01)
A61B 90/39 (2016.02)
(21) 출원번호 10-2018-0039153
(22) 출원일자 2018년04월04일
심사청구일자 2018년04월04일
(56) 선행기술조사문헌
KR101805861 B1
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
부산대학교병원
부산광역시 서구 구덕로 179, 부산대학교병원 (아미동1가)
(72) 발명자
최창인
부산광역시 금정구 금강로 225, 208동 1903호(장전동, 벽산블루밍디자인시티)
김일
부산광역시 금정구 부산대로 10, 대우아파트 105동 1304호 (부곡동)
백석현
부산광역시 금정구 장전온천천로 123-8, 305호(장전동)
(74) 대리인
김종석

전체 청구항 수 : 총 5 항

심사관 : 박범용

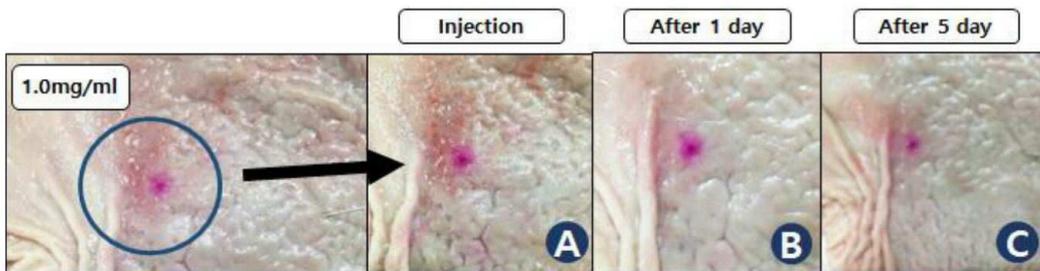
(54) 발명의 명칭 **염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 염료 및 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 염료로서 로다민(Rhodamine) 또는 로즈벵갈(Rose Bengal)을 사용하고 고차가지구조 고분자로서 하기 [화학식 1] 화합물을 사용하여 합성 복합체를 제조하고, 상기

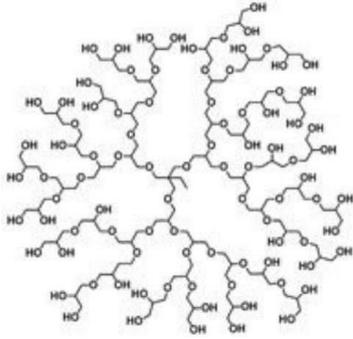
(뒷면에 계속)

대표도 - 도2



합성 복합체가 최소침습수술(minimal invasive surgery)을 위한 복강경 수술(laparoscopic surgery), 내시경(endoscope) 또는 로봇에 의한 수술 시 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 효과를 나타내는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

[화학식 1]



(52) CPC특허분류

C09B 11/24 (2013.01)

A61B 2090/3937 (2016.02)

(56) 선행기술조사문헌

JP2016196636 A

W02016000070 A1

Biomacromolecules, 2017, 18, pp.2427-2438

Biomacromolecules, 2016, 17, pp.3632-3639

Dalton Trans., 2017, 46, pp.16640-16654

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711058667

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 임상의과학자 연구역량강화사업

연구과제명 최소침습수술을 위한 복강경 수술용 병변 확인 마커 개발

기여율 1/1

주관기관 부산대학교병원

연구기간 2017.07.01 ~ 2018.05.30

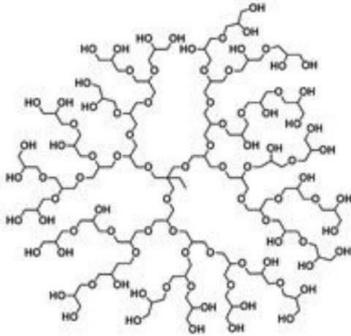
명세서

청구범위

청구항 1

염료 및 하기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물.

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서,

상기 염료는 로다민(Rhodamine) 또는 로즈벵갈(Rose Bengal)인 것을 특징으로 하는 조직 염색 화합물.

청구항 3

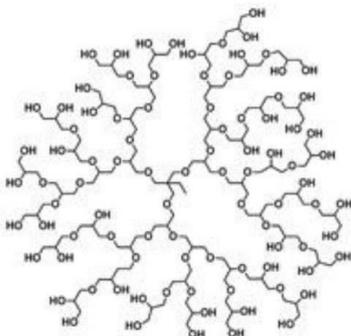
(S1) 하기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)와 로다민(Rhodamine) 또는 로즈벵갈(Rose Bengal)인 염료를 유기용매에 넣고 혼합하고 냉각시키는 단계;

(S2) 상기 (S1) 단계에서 제조된 혼합물에 촉매제를 첨가하고 교반하는 단계;

(S3) 상기 (S2) 단계 후, 용매를 제거하고 유기용매로 침전하는 단계; 및

(S4) 상기 (S3) 단계에서 제조된 침전물에 유기용매로 용해시키고 건조하여 합성 복합체를 제조하는 단계;를 포함하는 염료 및 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물의 제조방법.

[화학식 1]



청구항 4

제3항에 있어서,

상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 아세트산에틸, 디클로로메탄, 에테르, 클로로포름, 아세톤, 디클로로메탄, 1,2-디메톡시에탄, 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO) 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 조직 염색 화합물의 제조방법.

청구항 5

제3항에 있어서,

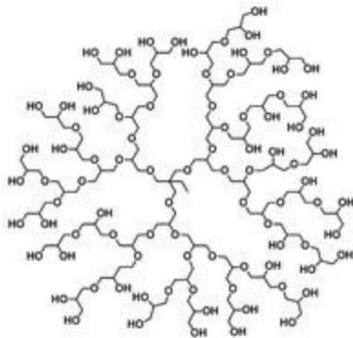
상기 (S2) 단계에 사용된 촉매제는 4-디메틸아미노피리딘(4-Dimethylaminopyridine, DMAP) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, EDC)인 것을 특징으로 하는 조직 염색 화합물의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 염료 및 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 염료로서 로다민(Rhodamine) 또는 로즈벵갈(Rose Bengal)을 사용하고 고차가지구조 고분자로서 하기 [화학식 1] 화합물을 사용하여 합성 복합체를 제조하고, 상기 합성 복합체가 최소침습수술(minimal invasive surgery)을 위한 복강경 수술(laparoscopic surgery), 내시경(endoscope) 또는 로봇에 의한 수술 시 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 효과를 나타내는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

[0002] [화학식 1]



[0003]

배경 기술

[0004] 최근 작은 금속 튜브를 이용하여 피부를 최소한으로 절개한 후 그 통로를 통해 수술하는 방법인 최소침습수술(minimal invasive surgery)이 보급되고 있으며, 그 예로 복강경 수술(laparoscopic surgery)을 들 수 있다.

[0005] 일반적으로 복강경 수술은 복부에 작은 절개 창을 여러 개 내고, 이 구멍을 통해 비디오, 카메라 및 각종 기구들을 복강 내에 넣고 시행하는 수술을 의미하며, 최소한의 수술 상처를 형성하게 되고, 빠른 속도로 회복되어 일상생활로 빠르게 복귀할 수 있는 등 다양한 장점들로 인해 최근 들어 가장 주목받고 있는 수술법 중 하나이다.

[0006] 복강경 수술을 진행할 경우, 개복을 하지 않기 때문에 수술하고자 하는 병변을 정확하게 확인할 수 없어 해당 수술 병변을 염색하는 단계를 필수적으로 수행하게 된다.

[0007] 그러나, 현재 개발된 조직 염색 화합물의 경우 지속 시간이 길지 않아 수술 도중에 지워지거나 조직 내 액으로 인해 넓은 부위로 번지는 경우가 비일비재(非一非再) 일어나고 있다. 그로 인해 수술 중 정확한 수술 병변 위치를 확인할 수 없어 넓은 범위를 제거하거나 추가 염색이 진행되는 등 수술에 어려움이 생기게 된다.

[0008] 따라서, 전술한 문제점을 보완하기 위해 본 발명가들은 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 효과를 나타내는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법의 개발이 시급하다 인식하여, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-0926485호
 (특허문헌 0002) 대한민국 공개특허공보 제10-2017-0100486호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 효과를 나타내는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 효과를 나타내는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.

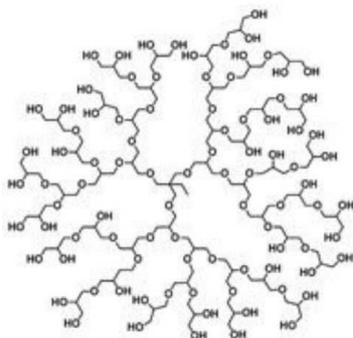
과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 효과를 나타내는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법을 제공한다.

[0013] 이하, 본 명세서에 대하여 더욱 상세하게 설명한다.

[0014] 본 발명은 염료 및 하기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물을 제공한다.

[0015] [화학식 1]

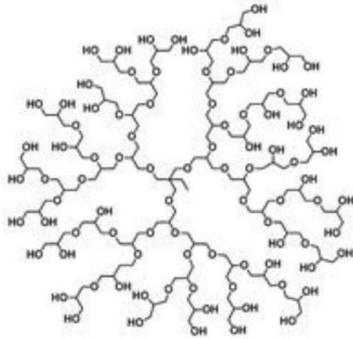


[0016] 구체적으로, 상기 염료는 로다민(Rhodamine) 또는 로즈벵갈(Rose Bengal)인 것을 특징으로 한다.

[0017]

[0018] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물의 제조방법을 제공한다.

- [0019] (S1) 하기 [화학적식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자와 로다민 또는 로즈벵갈인 염료를 유기용매에 넣고 혼합하고 냉각시키는 단계;
- [0020] (S2) 상기 (S1) 단계에서 제조된 혼합물에 촉매제를 첨가하고 교반하는 단계;
- [0021] (S3) 상기 (S2) 단계 후, 용매를 제거하고 유기용매로 침전하는 단계; 및
- [0022] (S4) 상기 (S3) 단계에서 제조된 침전물에 유기용매로 용해시키고 건조하여 합성 복합체를 제조하는 단계;를 포함하는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물의 제조방법.
- [0023] [화학적식 1]



- [0024]
- [0025] 구체적으로, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 아세트산에틸, 디클로로메탄, 에테르, 클로로포름, 아세톤, 디클로로메탄, 1,2-디메톡시에탄, 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO) 또는 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 한다.
- [0026] 또한, 상기 (S2) 단계에 사용된 촉매제는 4-디메틸아미노피리딘(4-Dimethylaminopyridine, DMAP) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, EDC)인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

- [0027] 본 발명의 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물은 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 우수한 효과를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은 본 발명에 따라 제조된 조직 염색 화합물을 농도별로 나타낸 도면이다.
- 도 2는 염료로 로다민을 사용하여 제조된 본 발명에 따른 조직 염색 화합물을 위의 점막 층에 염색한 것을 시간에 지남에 따라 나타낸 도면이다.
- 도 3은 염료로 로다민을 사용하여 제조된 본 발명에 따른 조직 염색 화합물을 대장의 상복부 표면에 염색한 것을 시간에 지남에 따라 나타낸 도면이다.
- 도 4는 염료로 로즈벵갈을 사용하여 제조된 본 발명에 따른 조직 염색 화합물을 대장 혈청 표면에 농도별로 염색하고 시간에 지남에 따라 나타낸 도면이다.
- 도 5는 염료로 로즈벵갈을 사용하여 제조된 본 발명에 따른 조직 염색 화합물을 위의 점막 층에 농도별로 염색하고 시간에 지남에 따라 나타낸 도면이다.

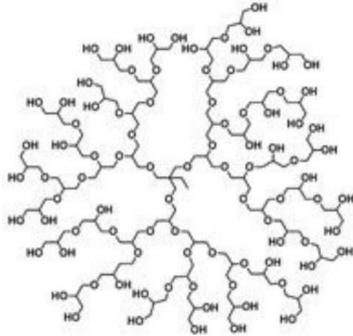
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 본 발명은 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법을 제공한다.
- [0030] 이하, 본 명세서에 대하여 더욱 상세하게 설명한다.

[0031] **염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물**

[0032] 본 발명은 염료 및 하기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물을 제공한다.

[0033] [화학식 1]



[0034]

[0035] 본 발명에 있어서, 상기 염료는 로다민(Rhodamine) 또는 로즈벵갈(Rose Bengal)일 수 있다.

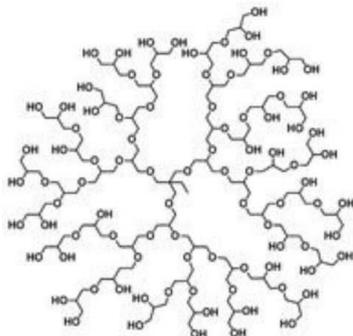
[0036] 본 발명에 있어서, 상기 로다민은 염기성 염료의 하나로 푸른 형광(螢光)이 나는 노란빛을 띤 붉은색을 특징으로 하는 염료로서, 조직을 염색할 경우 밝은 적자색으로 염색되는 것을 특징으로 한다.

[0037] 본 발명에 있어서, 상기 로즈벵갈은 분자구조에 염소와 요오드를 갖는 타르성 색소로서, 물에 용해되어 청적색을 띠는 것을 특징으로 한다.

[0038] 본 발명에 있어서, 상기 로다민 및 로즈벵갈은 인체에 무해한 염료로 알려져 있으며, 다른 염료와 비교하여 가격적으로 매우 저렴하여 대량화하는데 비용적 부담을 감소시킬 수 있는 효과를 나타낸다.

[0039] 본 발명에 있어서, 상기 고차가지구조 고분자는 일반적으로 분자량이 5000 이상의 다수의 가지를 갖는 고분자의 총칭으로 사용되며, 본 발명의 상기 고차가지구조 고분자는 하기 [화학식 1]의 구조를 갖는 것을 특징으로 한다.

[0040] [화학식 1]



[0041]

[0042] 본 발명에 있어서, 상기 합성 복합체는 상기 염료에 존재하는 카복실산 그룹과 상기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자의 알코올 그룹이 에스테르화 반응에 의해 H₂O가 떨어져나가면서 상기 염료와 상기 고차가지구조 고분자가 결합되어 형성될 수 있다.

[0043] **염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물의 제조방법**

[0044] 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0045] (S1) 하기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자와 로다민 또는 로즈벵갈인 염료를 유기용매에 넣고 혼합

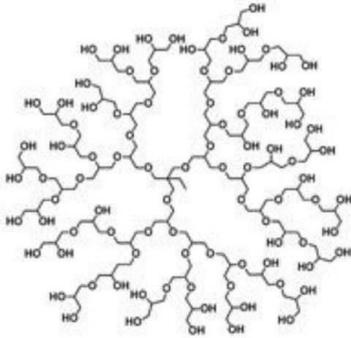
하고 냉각시키는 단계;

[0046] (S2) 상기 (S1) 단계에서 제조된 혼합물에 촉매제를 첨가하고 교반하는 단계;

[0047] (S3) 상기 (S2) 단계 후, 용매를 제거하고 유기용매로 침전하는 단계; 및

[0048] (S4) 상기 (S3) 단계에서 제조된 침전물에 유기용매로 용해시키고 건조하여 합성 복합체를 제조하는 단계;를 포함하는 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물의 제조방법.

[0049] [화학식 1]



[0050]

[0051] 본 발명에 있어서, 상기 염료, 상기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자 및 합성 복합체는 앞서 기재한 바와 같다.

[0052] 본 발명에 있어서, 상기 (S1) 단계를 수행하기 전, 상기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자의 수분을 제거하기 위해 40 내지 80 °C에서 20 내지 240분 동안 진공건조하는 단계를 추가적으로 수행할 수 있다. 상기 고차가지구조 고분자의 건조반응으로 인해 상기 조직 염색 화합물을 제조함에 있어서 수분으로 인한 부반응을 방지할 수 있다.

[0053] 본 발명에 있어서, 상기 (S1) 단계는 상기 진공 건조된 고차가지구조 고분자와 상기 염료를 유기용매에 넣고 혼합시키고 5 내지 20분 동안 교반하고 -10 내지 10 °C로 냉각시킨다.

[0054] 본 발명에 있어서, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 아세트산에틸, 디클로로메탄, 에테르, 클로로포름, 아세톤, 디클로로메탄, 1,2-디메톡시에탄, 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO) 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 바람직하게는 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO) 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0055] 본 발명에 있어서, 상기 (S2) 단계에 사용된 촉매제는 4-디메틸아미노피리딘(4-Dimethylaminopyridine, DMAP) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, EDC)인 것을 특징으로 한다.

[0056] 본 발명에 있어서, 상기 (S2) 단계는 상기 (S1) 단계에서 제조된 혼합물에 상기 촉매제를 첨가하고, 10 내지 60분 동안 교반한 후, 서서히 가온하면서 18 내지 24 시간 동안 교반한다.

[0057] 본 발명에 있어서, 상기 (S3) 단계는 상기 (S2) 단계 반응 종료 후, 용매를 제거한다. 상기 용매를 제거하는 방법으로는 진공건조, 분무건조, 동결건조, 열풍건조 등 상기 용매를 제거할 수 있는 방법이라면 이에 제한되는 것은 아니다.

[0058] 본 발명에 있어서, 상기 (S3) 단계는 상기 용매를 모두 제거하고, 유기용매를 사용하여 침전시키는 반응을 수행한다.

[0059] 본 발명에 있어서, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 아세트산에틸, 디클로로메탄, 에테르, 클로로포름, 아세톤, 디클로로메탄, 1,2-디메톡시에탄, 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO) 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 바람직하게는 디클로로메탄, 에테르, 클로로포름 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0060] 본 발명에 있어서, 상기 (S4) 단계는 상기 (S3) 단계에서 제조된 침전물을 유기용매를 용해시켜 투석막(dialysis membrane)을 사용하여 물에서 24 내지 48시간 동안 투석시키고, 상기 유기용매 및 물을 건조하여 본

발명의 염료 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물을 제조한다.

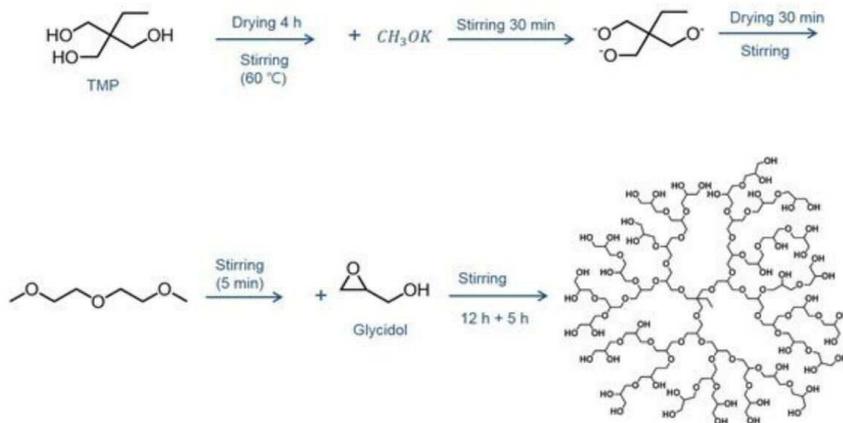
[0061] 본 발명에 있어서, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 아세트산에틸, 디클로로메탄, 에테르, 클로로포름, 아세톤, 디클로로메탄, 1,2-디메톡시에탄, 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO) 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 바람직하게는 디메틸포름아미드(DMF) 일 수 있다.

[0062] 본 발명에 있어서, 상기 조직 염색 화합물 및 그의 제조방법에서 언급된 모든 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.

[0064] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해 질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려 주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0065] 이하에서 언급된 시약 및 용매는 특별한 언급이 없는 한 Sigma-Aldrich Korea로부터 구입한 것이다.

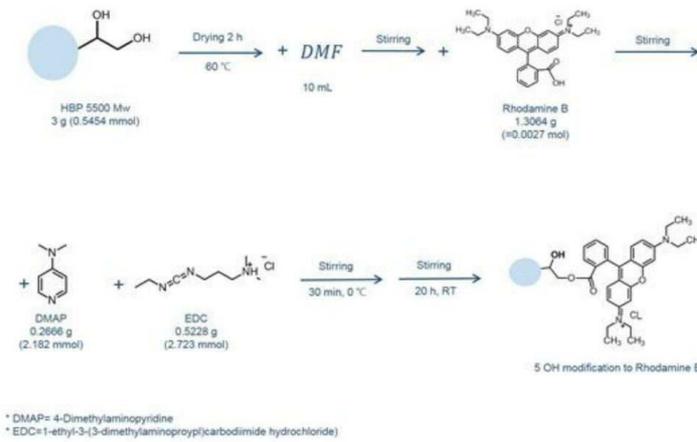
[0067] **제조예 1. [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자(hyperbranched polymer)의 제조**



[0068]

[0069] 트리메틸올프로판(Trimethylolpropane)을 60 °C에서 4시간 동안 진공 건조하였다. 그리고 포타슘 메톡사이드(Potassium methoxide)를 첨가하여 30분 동안 교반하여 탈수소화 반응을 수행하였다. 상기 반응에서 부산물로 발생하는 메탄올을 제거하기 위해 30분 동안 진공건조하고, 디글림(Diglyme)을 분산하기 위해 15분 동안 추가적으로 교반하였다. 상기 반응이 종결되고, 글리시돌(glycidol)을 12시간 동안 일정한 속도로 첨가하고, 첨가가 완료되고 5시간 동안 추가적으로 반응을 수행하였다. 그리고 상기 반응 완료 후, 메탄올을 첨가하여 활성을 제거하고 과량의 아세톤은 첨가하여 침전시켰다. 상기 과정을 3회 반복하고, 상기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자를 정제시키고, 정제된 상기 고차가지구조 고분자를 80 °C에서 12시간 동안 진공 건조하여 메탄올과 아세톤을 제거하고 상기 [화학식 1]로 표시되는 고차가지구조 고분자를 제조하였다.

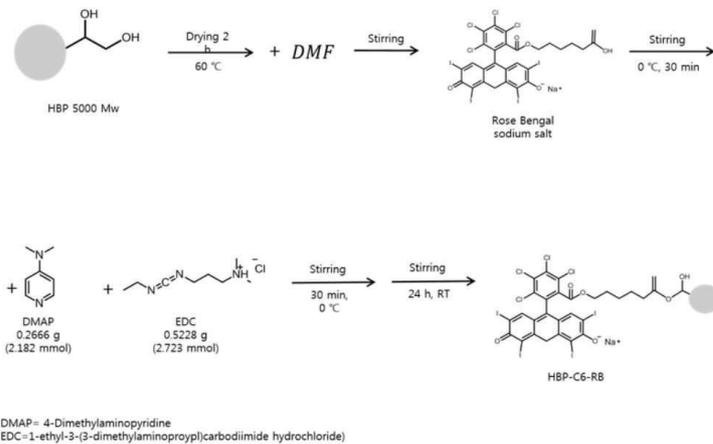
[0071] 실시예 1. 염료로 로다민을 포함하는 본 발명에 따른 조직 염색 화합물 제조



[0072]

[0073] 상기 제조예 1에서 제조된 고차가지구조 고분자의 수분을 제거하기 위해 60 °C에서 2시간 동안 진공 건조하였다. 그리고 상기 진공 건조된 고차가지구조 고분자와 로다민에 디메틸포름아미드(DMF)를 넣고 혼합한 후, 5분 동안 교반하고 0 °C로 냉각시켰다. 그 후, 촉매제로서 4-디메틸아미노피리딘(4-Dimethylaminopyridine, DMAP) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, EDC)를 첨가하고, 30분 동안 교반하고, 상온까지 천천히 온도를 가온시키며 20시간 동안 교반하였다. 반응 종결 후, 용매를 제거한 후, 디에틸 에테르로 침전시키고, 상기 단계에서 제조된 침전물을 디메틸포름아미드에 용해시켜 투석막(dialysis membrane)을 사용하여 물에서 36시간 동안 투석시키고, 용매 및 물을 모두 건조하여 본 발명의 로다민 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물을 제조하였고, 이를 도 1에 나타내었다.

[0075] 실시예 2. 염료로 로즈벵갈을 포함하는 본 발명에 따른 조직 염색 화합물 제조



[0076]

[0077] 상기 제조예 1에서 제조된 고차가지구조 고분자의 수분을 제거하기 위해 60 °C에서 2시간 동안 진공 건조하였다. 그리고 상기 진공 건조된 고차가지구조 고분자와 로즈벵갈에 디메틸포름아미드(DMF)를 넣고 혼합한 후, 5분 동안 교반하고 0 °C로 냉각시켰다. 그 후, 촉매제로서 4-디메틸아미노피리딘(4-Dimethylaminopyridine, DMAP) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, EDC)를 첨가하고, 30분 동안 교반하고, 상온까지 천천히 온도를 가온시키며 20시간 동안 교반하였다. 반응 종결 후, 용매를 제거한 후, 디에틸 에테르로 침전시키고, 상기 단계에서 제조된 침전물을 디메틸포름아미드에 용해시켜 투석막(dialysis membrane)을 사용하여 물에서 36시간 동안 투석시키고, 용매 및 물을 모두 건조하여 본 발명의 로즈벵갈 및 고차가지구조 고분자의 합성 복합체를 유효성분으로 포함하는 조직 염색 화합물을 제조하였고, 이를 도 1에 나타내었다.

[0079] 실험예 1. 로다민-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물 지속 능력 확인

[0080] 1.1 위의 점막 층에서의 염색 지속 능력 확인

[0081] 수정 17~18일 째 (E17-18)의 Sprague-Dawley (SD) 랫트의 위의 점막 층을 분리하여 실험을 진행하였다. 상기 실시예 1에서 제조된 로다민-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물을 1.0 mg/ml 농도로 상기 랫트의 위의 점막 층에 주입하여 염색하고, 이를 (A) 주입 직후, (B) 주입 1일 후 및 (C) 주입 5일 후 각각 확인하였고, 이를 도 2에 나타내었다.

[0082] 도 2를 참조하면, (A) 주입 직후부터 (B) 주입 1일 후 및 (C) 주입 5일 후까지 염색 변화가 거의 없고, 번짐 현상도 거의 일어나지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[0083] 1.2 대장의 상복부 표면에서의 염색 지속 능력 확인

[0084] 수정 17~18일 째 (E17-18)의 Sprague-Dawley (SD) 랫트의 대장 상복부 표면을 분리하여 실험을 진행하였다. 상기 실시예 1에서 제조된 로다민-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물을 1.0 mg/ml 농도로 상기 랫트의 대장 상복부 표면에 주입하여 염색하고, 이를 (A) 주입 1일 후 및 (B) 주입 5일 후 각각 확인하였고, 이를 도 3에 나타내었다.

[0085] 도 3을 참조하면, (A) 주입 1일 후 및 (B) 주입 5일 후까지 염색 변화가 거의 없고, 번짐 현상도 거의 일어나지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[0086] 상기 결과로부터, 본 발명에 따른 로다민-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물은 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 우수한 효과를 나타냄을 입증하였다.

[0088] 실험예 2. 로즈벵갈-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물 농도별 지속 능력 확인

[0089] 2.1 대장 혈청 표면에서의 농도별 염색 지속 능력 확인

[0090] 수정 17~18일 째 (E17-18)의 Sprague-Dawley (SD) 랫트의 대장 혈청 표면을 분리하여 실험을 진행하였다. 상기 실시예 2에서 제조된 로즈벵갈-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물을 (B) 10 mg/ml, (C) 5 mg/ml 및 (D) 1 mg/ml 농도로 상기 랫트의 대장 혈청 표면에 주입하여 염색하고, 이를 주입 1일 후 및 주입 5일 후 각각 확인하였고, 이를 도 4에 나타내었다.

[0091] 도 4를 참조하면, 주입 직후부터 주입 1일 후 및 주입 5일 후까지 염색 변화가 거의 없고, 번짐 현상도 거의 일어나지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[0092] 2.2 위의 점막 층에서의 농도별 염색 지속 능력 확인

[0093] 수정 17~18일 째 (E17-18)의 Sprague-Dawley (SD) 랫트의 위 점막 층을 분리하여 실험을 진행하였다. 상기 실시예 2에서 제조된 로즈벵갈-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물을 (B) 10 mg/ml, (C) 5 mg/ml 및 (D) 1 mg/ml 농도로 상기 랫트의 위 점막 층에 주입하여 염색하고, 이를 주입 1일 후 및 주입 5일 후 각각 확인하였고, 이를 도 5에 나타내었다.

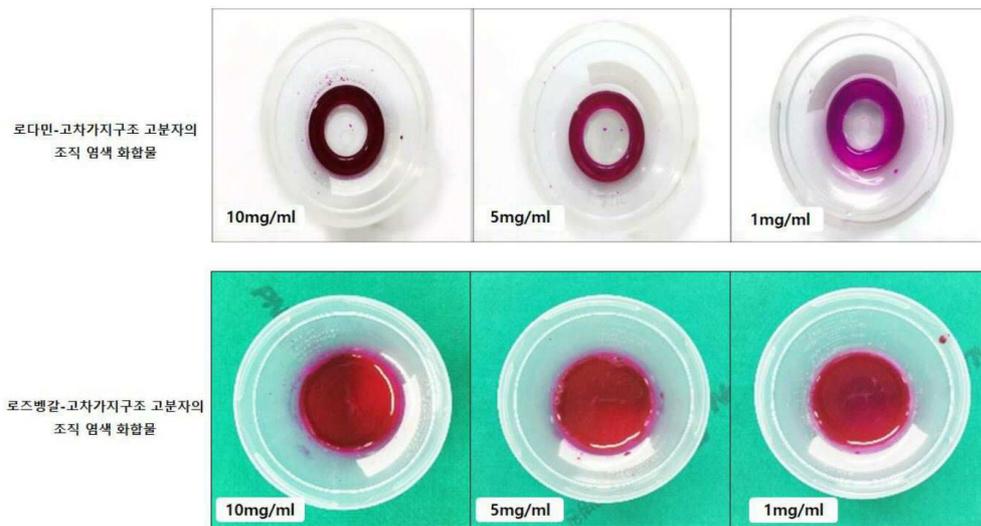
[0094] 도 5를 참조하면, 주입 직후부터 주입 1일 후 및 주입 5일 후까지 염색 변화가 거의 없고, 번짐 현상도 거의 일어나지 않는 것을 확인할 수 있었다.

[0095] 본 발명에 따른 로즈벵갈-고차가지구조 고분자의 조직 염색 화합물은 장시간 염색을 한다 할지라도 번지거나 지워지지 않아 수술 시간이 연장된다 할지라도 추가 염색의 필요가 없으며, 수술 시 안전 경계면을 확보하면서 정확한 세포 위치를 확인할 수 있는 우수한 효과를 나타냄을 입증하였다.

[0096] 이상 설명으로부터, 본 발명에 속하는 기술 분야의 당업자는 본 발명의 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며, 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다.

도면

도면1



도면2

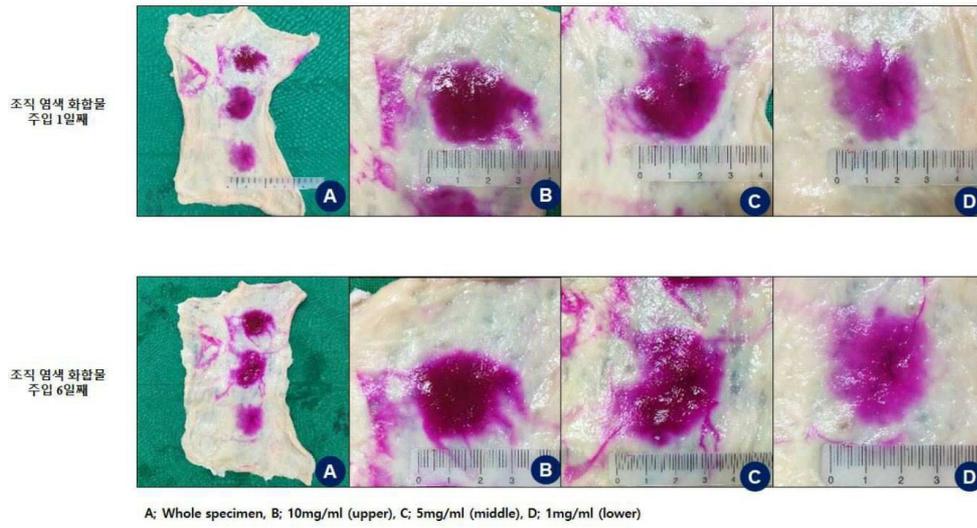


도면3



A: at 1 day after injection, B: at 5 day after injection

도면4



도면5



| | | | |
|----------------|----------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译) | 组织染色化合物，包括染料和高级结构聚合物的合成复合物作为活性成分 | | |
| 公开(公告)号 | KR101982521B1 | 公开(公告)日 | 2019-05-27 |
| 申请号 | KR1020180039153 | 申请日 | 2018-04-04 |
| [标]申请(专利权)人(译) | PUSAN NAT UNIV HOSPITAL | | |
| 申请(专利权)人(译) | 釜山大学医院 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 釜山大学医院 | | |
| [标]发明人 | 김일 백석현 | | |
| 发明人 | 최창인 김일 백석현 | | |
| IPC分类号 | C09B69/10 A61B90/00 C09B11/24 | | |
| CPC分类号 | C09B69/109 A61B90/39 C09B11/24 A61B2090/3937 | | |
| 代理人(译) | Gimjongseok | | |
| 审查员(译) | Bakbeomyong | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |

摘要(译)

本发明涉及一种以染料和超支化聚合物的合成配合物为有效成分的组织染色化合物及其制备方法。更具体地，通过使用罗丹明或玫瑰红作为染料，并且使用由化学式(1)表示的化合物作为超支化聚合物来制备合成配合物。在用于微创手术的腹腔镜手术以及使用内窥镜或机器人进行手术的过程中，即使长时间染色，合成复合物也不会被弄脏或擦除。因此，即使延长了手术时间也不需要额外的染色，并且可以在确保手术时的安全界面的同时确认精确的细胞位置。

