

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2016-0049211 (43) 공개일자 2016년05월09일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 31/506 (2006.01) A01N 43/62 (2006.01) A61K 31/513 (2006.01) A61K 47/00 (2006.01)	(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)	
(21) 출원번호 10-2014-0145684 (22) 출원일자 2014년10월27일 심사청구일자 2014년10월27일	(72) 발명자 송재준 서울특별시 서초구 신반포로3길 19 73동 504호(반포동)	
	(74) 대리인 특허법인충현	

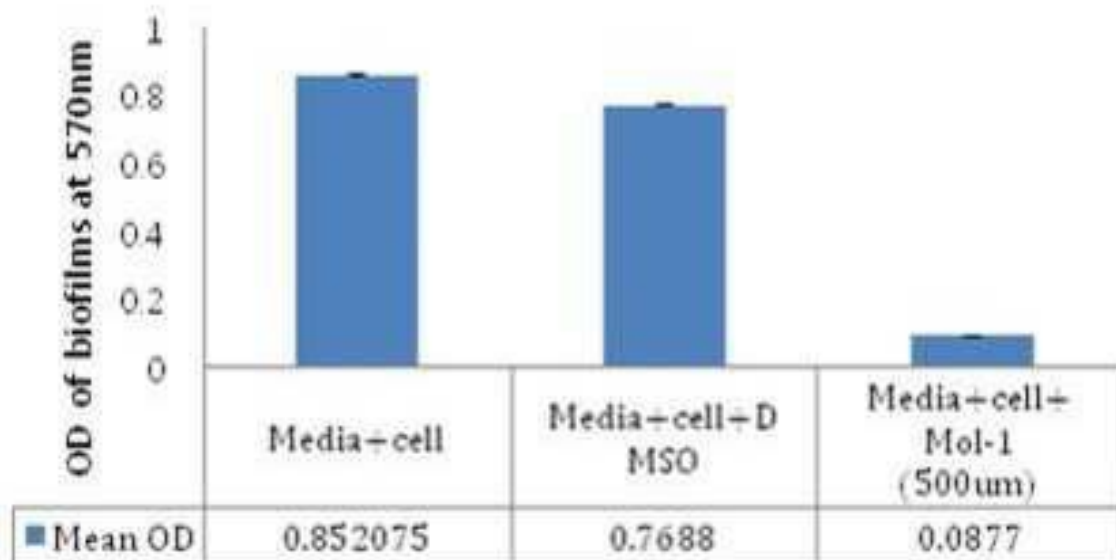
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물 및 바이오필름 형성을 억제하기 위한 코팅용 조성물

(57) 요약

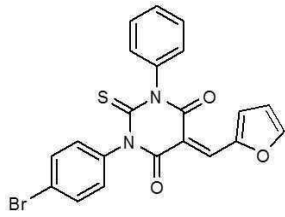
본 발명은, 하기 [화합식 1]의 피리미딘다이온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1



하며, 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다:

[화학식 1]



본 발명에 따른 약학적 조성물 및 코팅용 조성물은 우수한 항균 효과를 보유하며, 바이오필름 형성 억제 및 제거에 탁월한 효능을 나타내는바, 바이오필름에 의해서 유발되는 각종 감염증의 예방 또는 치료, 및 각종 의료기기, 의료용 재료 또는 의료용 이식물 등에 형성되는 바이오필름을 억제하기 위한 코팅용 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

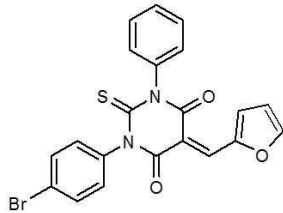
명세서

청구범위

청구항 1

하기 [화학적 1]의 피리미딘다이온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하며, 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물:

[화학적 1]



청구항 2

제1항에 있어서,

상기 감염증은 충치, 치주염, 중이염, 근골격 감염, 괴사성 근막염, 담관계 감염, 골수염, 세균성 전립선염, 자연 관막의 심내막염, 낭포성 섬유증 폐렴, 멜로이도시스 (meloidosis), 병원내 감염 (nosocomial infection), ICU 폐렴, 요로 카테터 방광염 (urinary catheter cystitis), 복막 투석 (CAPD) 복막염 및 담도 배액관 폐쇄 (biliary stent blockage)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 감염증인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 3

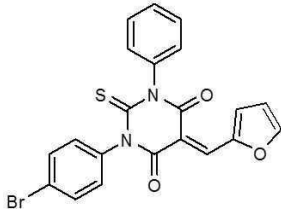
제1항에 있어서,

상기 바이오필름은 살모넬라균 (Salmonella spp.), 적리균 (Shigella spp.), 장염비브리오 (Vibrio parahaemolyticus), 콜레라균 (Vibrio cholerae), 대장균 O-157 (Escherichia coli O-157), 캄필로박터 (Campylobacter jejuni), 위막성 대장균 (Clostridium difficile), 웰치균 (Clostridium perfringens), 엘시니아 장염균 (Yersinia enterocolitica), 피로리균 (Helicobacter pylori), 아메바 적리균 (Entamoeba histolytica), 세레우스균 (Bacillus cereus), 보툴리누스균 (Clostridium botulinum), 인플루엔자균 (Haemophilus influenzae), 폐렴구균 (Streptococcus pneumoniae), 클라미디아 폐렴균 (Chlamidia pneumoniae), 레지오넬라 폐렴균 (Legionella pneumoniae), 부란하멜라균 (Branhamella catarrhalis), 결핵균 (Mycobacterium tuberculosis), 마이코플라스마 (Mycoplasma pneumoniae), A형 용련균 (Streptococcus pyogenes), 디프테리아균 (Corynebacterium diphtheriae), 백일해균 (Bordetella pertussis), 음병균 (Chlamidia psittaci), 녹농균 (Pseudomonas aeruginosa), 메티실린 내성 황색 포도상 구균 (methicillin resistant Staphylococcus aureus, MRSA), 대장균 (Escherichia coli), 폐렴 간균 (Klebsiella pneumoniae), 엔테로박터 (Enterobacter spp.), 프로테우스속 (Proteus spp.), 아시네토박터 (Acinetobacter spp.), 장구균 (Enterococcus faecalis), 포도상 구균 (Staphylococcus saprophyticus), B형 용련균 (Streptococcus agalactiae)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 균에 의해서 형성된 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 4

하기 [화학적 1]의 피리미딘다이온 유도체를 유효성분으로 포함하며, 바이오필름 형성을 억제하기 위한 코팅용 조성물:

[화학적 1]



청구항 5

제4항에 있어서,

상기 조성물은 의료기기, 의료용 재료 또는 의료용 이식물에 코팅되는 것을 특징으로 하는 코팅용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 바이오필름에 의해 유발되는 감염증을 예방 및 치료하기 위한 약학적 조성물, 및 바이오필름 형성을 억제하기 위한 코팅용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 스트렙토코커스 뉴모니아 (*Streptococcus pneumoniae*, pneumococci)는 어린이 및 노인에게서 폐렴, 뇌수막염, 균혈증 (bacteremia), 및 중이염 (otitis media, OM)을 발병시키는 주된 원인이다 (Ispahani *et al.*, 2004; Kadioglu, 2008). 폐렴균의 군락형성 및 질병은 종종 바이오필름의 형성과 관련이 있다 (Hall-Stoodley L & *et al.*, 2006).

[0003] 대부분의 박테리아는 일반적으로 물속에서 플랑크톤 형태 (planktonic form)로 존재하지만, 영양분의 감소나 항생제의 공격 등으로 생존조건이 열악해지는 경우, 고체의 표면에 붙어서 군락을 형성하는 바이오필름의 형태로 표현형이 변화하게 된다. 따라서, 바이오필름은 세균, 효모, 곰팡이 등 미생물이 특정조건에서 인체 (피부, 구강, 치아 등)나 설비 (배관, 저장탱크 등) 등의 표면에 필름처럼 부착되어 있는 미생물의 집합체라 할 수 있으며, 그 자체가 미생물의 서식처로도 제공되어 균의 서식을 가속화하기도 한다. 이러한 바이오필름의 미생물은 산업계 및 의학계 전반에서 심각한 문제를 일으킬 수 있으므로, 이에 대한 연구가 요구되는 상황이다.

[0004] 착생 박테리아는 숙주 표면 및 서로에 대해서 부착되어 외부 기질 (exopolysaccharide, EPS)에 의해서 덮인 다층 구조를 형성하게 된다 (Costerton *et al.*, 1999; Wolcott *et al.*, 2008). 즉, 바이오필름의 형성은 박테리아가 당단백으로 이루어진 기질을 세포 주위에 3차원적으로 형성하고, 이것이 주위의 고형물에 부착되는 과정을 통하여 이루어지며, 박테리아는 정족수 감지 (quorum sensing, QS)라는 일련의 과정을 통하여 부족한 영양물질을 기질 내에 가두어 두고 외부의 공격 (항생물질, 저산소)으로부터 자신을 보호할 수 있게 된다. 또한, 바이오필름의 형성으로 인해 박테리아의 생존에 필요한 대사율을 낮춤으로써, 소량의 영양물질로도 생존이 가능하게 되어 열악한 환경에서의 생존가능성이 높아지게 된다. 바이오필름은 실제로 자연계에서는 흔히 볼 수 있는 현상으로, 일정한 유속을 가지고 있는 강에서도 바위의 표면에 박테리아들이 바이오필름의 형태로 서식하는 것으로 알려져 있다.

[0005] 바이오필름 중의 박테리아는 항생제 및 숙주 방어 시스템에 대해서 증진된 내성을 나타내며, 이는 종종 지속적이며 치료가 어려운 감염증으로 이어진다 (Kania *et al.*, 2008; Vlastarakos *et al.*, 2007). 다양한 연구들에 의해서 폐렴균성 바이오필름이 페니실린, 테트라사이클린, 림파피신, 아목실린, 에리쓰로마이신, 클린다마이신 및 레보플록사신에 대해서 현저하게 높은 내성을 갖는다는 사실이 보고된 바 있다 (del Prado *et al.*, 2010; Garcia-Castillo *et al.*, 2007). Marks 등은 (2012), 마우스의 비인두 조직 (nasopharyngeal tissue) 상에 형성된 폐렴균성 바이오필름이 플랑크톤성 바이오필름에 비해서 젠타마이신 및 페니실린 G에 대해서 더욱 내성을 갖는다는 사실을 보고한 바 있다 (Marks *et al.*, 2012). 따라서, 폐렴균성 바이오필름에 대한 항미생물성 화합물을 개발하기 위해서는, 대안적인 항미생물성 표적을 검색해야 하는 시급한 필요성이 존재한다.

[0006] 특히, 인체의 감염성 질환에 있어서 바이오필름은 임상적으로 많은 문제를 일으키게 된다. 예를 들어, 치아의 표면에 바이오필름의 형태로 박테리아가 존재하여 치석을 형성할 경우에는 충치와 치주질환의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 구강의 건강 요소와 관련하여 가장 커다란 영향을 끼치는 요소는 치아의 부식 또는 충치, 잇

몸 질환 혹은 치주질환, 그리고 불쾌한 입냄새의 발생이라고 할 수 있으며, 그 근본 원인은 구강에 서식하는 병원균들에 의해 형성되는 바이오필름이다. 상기 병원균들은 구강 표면에 부착되지 않은 상태에서는 타액 등의 용액 상태로 존재하다가 양치질이나 음료섭취와 함께 쉽게 제거될 수 있어, 구강에 질환을 일으킬 기회가 매우 적다. 그러나, 상기 병원균들은 효과적인 생존을 위하여 구강 표면에 부착되는 성질이 있어, 바이오필름을 형성하게 된다. 일단 바이오필름이 형성되면, 외부의 물리, 화학적 자극에 대한 방어력이 현저하게 커지기 때문에, 일반적인 물리적 방법으로 제거하기 어려울 뿐만 아니라, 독성이 매우 강한 항균제를 사용하거나 많은 양의 항균제를 사용하여야만 일시적으로 제거될 수 있다. 이러한 바이오 필름은 방치될 경우, 더욱 두터워지고 강해져 치석을 형성하여 수많은 세균의 서식처가 되어 각종 구강 질환을 일으키게 된다. 또한, 중심정맥관이나 이식물의 표면에 바이오필름이 존재하는 경우에는 일반적인 항생제로 제거가 되지 않고 바이오필름에서 박테리아가 떨어져 나오면서 주기적인 발열을 보이는 양상의 세균감염을 나타내게 된다. 또한, 기관절개관, 인공와우 이식기 등 이식물이나 의료용 재료의 표면에서도 바이오필름의 형성이 보고되고 있다.

[0007] 현재까지 바이오필름에 의한 감염의 치료는 감염원이 되는 이식물을 제거하거나, 바이오필름의 서식처를 물리적으로 제거하는 것이 유일한 해결책으로 알려져 있다.

[0008] 이에 본 발명의 발명자는 바이오필름에 의해 유발되는 감염증을 치료하기 위한 물질에 대해 연구하던 중, 하기의 [화학식 1]의 구조를 가지는 피리미딘다이온 유도체가 세균의 바이오필름의 형성을 억제시키는 효과가 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

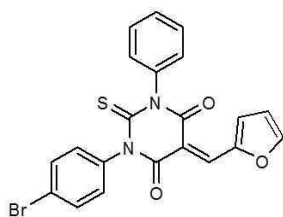
해결하려는 과제

[0009] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 하기 [화학식 1]의 구조를 가지는 피리미딘다이온 유도체가 세균 증식 및 바이오필름 형성 억제에 탁월한 효과를 나타낸다는 점에 기초하여, 상기 피리미딘다이온 유도체를 유효성분으로 포함하는, 바이오필름에 의해서 유발되는 감염증의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물, 및 바이오필름 형성을 억제하기 위한 코팅용 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 상기 첫 번째 과제를 해결하기 위하여, 하기 [화학식 1]의 피리미딘다이온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하며, 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다

[0011] [화학식 1]



[0012]

[0013] 또한, 본 발명은 상기 두 번째 과제를 해결하기 위하여, 상기 [화학식 1]의 피리미딘다이온 유도체를 유효성분으로 포함하며, 바이오필름 형성을 억제하기 위한 코팅용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명에 따른 약학적 조성물 및 코팅용 조성물은 우수한 항균 효과를 보유하며, 바이오필름 형성 억제 및 제거에 탁월한 효능을 나타내는바, 바이오필름에 의해서 유발되는 각종 감염증의 예방 또는 치료, 및 각종 의료기기, 의료용 재료 또는 의료용 이식물 등에 형성되는 바이오필름을 억제하기 위한 코팅용 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 피리미딘다이온의 폐렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 미치는 효과를 나타낸 것으로서, 570 nm(OD₅₇

o)에서 광학 밀도를 측정한 결과 그래프이다.

도 2는 피리미딘다이온의 페렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 미치는 효과를 나타낸 것으로서, 페렴균성 바이오필름의 CFU 카운트를 측정한 그래프이다.

도 3은 피리미딘다이온의 페렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 대한 농도의존 효과를 나타낸 것으로서, 570 nm(OD₅₇₀)에서 광학 밀도를 측정한 결과 그래프이다.

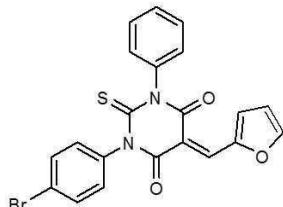
도 4는 피리미딘다이온의 페렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 대한 농도의존 효과를 나타낸 것으로서, 페렴균성 바이오필름의 CFU 카운트를 측정한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

본 발명은, 하기 [화학적식 1]의 피리미딘다이온 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하며, 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료를 위한 약학적 조성물을 제공한다:

[화학적식 1]



상기 [화학적식 1]의 화합물의 IUPAC 명은 1-(4-bromophenyl)-5-(2-furylmethylene)-3-phenyl-2-thiocodihydro-4,6(1H, 5H)-pyrimidinedione로서, 하기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, [화학적식 1]의 피리미딘다이온 유도체는 페렴구균(*Streptococcus pneumonia*)의 유전자 발현을 감소시켜 바이오필름의 형성을 억제함으로써, 항균효과가 우수하며, 따라서 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

상기 [화학적식 1]로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않은 화합물의 제형을 의미한다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 본 발명의 화합물을 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 술폰산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 카프릭산, 이소부탄산, 말론산, 석신산, 프탈산, 클루론산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카본산과 반응시켜 얻어질 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물을 염기와 반응시켜, 암모늄 염, 나트륨 또는 칼륨염 등의 알칼리 금속염, 칼슘 또는 마그네슘 염 등의 알칼리 토금속염 등의 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸) 메틸아민 등의 유기염기들의 염 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 형성함으로써 얻어질 수도 있다.

또한, 상기 [화학적식 1]로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.

본 발명에서, 바이오필름에 의해 유발되는 감염증은 항균효과로 억제될 수 있는 감염증일 수 있으며, 이는 기존의 소독제, 항생제로 치료하던 감염증과 질병 진단시 감염증이 유발될 수 있는 경우를 포함한다. 이러한 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예로는, 이에 제한되지 않으나, 충치, 치주염, 중이염, 근골격 감염, 피사성 근막염, 담관계 감염, 골수염, 세균성 전립선염, 자연 판막의 심내막염, 낭포성 섬유증 폐렴, 멜로이도시스(meloidosis), 및 병원내 감염(nosocomial infection), 예컨대 ICU 폐렴, 요로 카테터 방광염(urinary catheter cystitis), 복막 투석(CAPD) 복막염 및 담도 배액관 폐쇄(biliary stent blockage)를 포함한다.

바이오필름이 형성될 수 있는 위치로는, 봉합, 적출부, 동정맥부, 공막돌출술(scleral buckle) 부위, 콘택트 렌즈, IUD, 기관 튜브, 히크만 카테터(Hickman catheter), 중심 정맥 카테터, 인공 심장 판막, 판막 그래프트, 정형외과 기기, 음경 보형물 등을 예로 들 수 있으며, 기타 다른 예들이 Costerton J et al 및 Costerton J and Steward (2001 Battling Biofilms, Scientific American pp 75-81)에 의한 논문에서 기재되어 있고, 상기 논

문은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. 기타, 바이오필름이 형성될 수 있는 위치로는, 치주농주 (gum disease) 및 강(cavity)으로 진행될 수 있는 충치, 눈 감염으로 진행될 수 있는 콘택트 렌즈, 만성 감염이 될 수 있는 귀 및 폐렴이 될 수 있는 폐를 포함한다.

[0025] 본 발명에 있어서, 감염은 낭성 섬유증일 수 있으며, 이는 피부 감염, 화상 감염 및/또는 상처 감염으로부터 초래될 수 있다. 본 발명의 조성물은 면역 저하 개체에서 감염을 치료하는데 특히 적합할 수 있다.

[0026] 한편, 바이오필름은 병원균에 의해 유발되어 형성될 수 있는데, 병원균이라 함은, 이에 제한되지는 않으나, 세균이나 바이러스 등 병의 원인이 되는 미생물을 일컫는 것으로서, 장관 감염증, 호흡기 감염증, 요로 감염증 등 각종 감염증의 원인균을 말한다. 이러한 원인균의 구체적인 예로는, 살모넬라균 (*Salmonella* spp.), 적리균 (*Shigella* spp.), 장염비브리오 (*Vibrio parahaemolyticus*), 콜레라균 (*Vibrio cholerae*), 대장균 0-157 (*Escherichia coli* 0-157), 캄필로박터 (*Campylobacter jejuni*), 위막성 대장염균 (*Clostridium difficile*), 웰치균 (*Clostridium perfringens*), 엘시니아 장염균 (*Yersinia enterocolitica*), 피로리균 (*Helicobacter pylori*), 아메바 적리균 (*Entamoeba histolytica*), 세레우스균 (*Bacillus cereus*), 보툴리누스균 (*Clostridium botulinum*), 인플루엔자균 (*Haemophilus influenzae*), 폐렴구균 (*Streptococcus pneumoniae*), 클라미디아 폐렴균 (*Chlamidia pneumoniae*), 레지오넬라 폐렴균 (*Legionella pneumoniae*), 부란하멜라균 (*Branhamella catarrhalis*), 결핵균 (*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코플라즈마 (*Mycoplasma pneumoniae*), A형 용련균 (*Streptococcus pyogenes*), 디프테리아균 (*Corynebacterium diphtheriae*), 백일해균 (*Bordetella pertussis*), 음병균 (*Chlamidia psittaci*), 녹농균 (*Pseudomonas aeruginosa*), 메티실린 내성 황색 포도상 구균 (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 대장균 (*Escherichia coli*), 폐렴 간균 (*Klebsiella pneumoniae*), 엔테로박터 (*Enterobacter* spp.), 프로테우스속 (*Proteus* spp.), 아시네토박터 (*Acinetobacter* spp.), 장구균 (*Enterococcus faecalis*), 포도상 구균 (*Staphylococcus saprophyticus*), B형 용련균 (*Streptococcus agalactiae*) 등을 들 수 있다.

[0027] 본 발명에서 소독이라 함은, 병원균을 사멸시키는 것을 말하며, 비병원성 미생물의 잔존 여부는 문제로 하지 않는다. 상기 소독제는 과산화수소 (hydrogen peroxide), 염소제 (chlorine), 요오드제 (iodophors), 페놀, 알코올류, 클로로헥시딘 글루코네이트 (chlorhexidine gluconate), 트리클로산 (triclosan) 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0028] 상기 질병 진단시에는 의료기기 등을 이용하여 진단하는 것을 포함하되, 의료기기 표면이 고분자 재료나 금속재료인 의료기기가 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

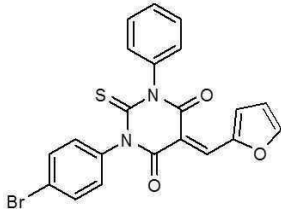
[0029] 또한, 본 발명의 조성물은 [화학식 1]의 피리미딘다이온 유도체와 함께 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 더 나아가, 본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 포함할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 이상의 혼합물일 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수도 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수도 있다. 더 나아가, 당분야의 적절한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Science (Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수도 있다.

[0030] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 투여량은 개체의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 상기 [화학식 1]의 피리미딘다이온 유도체의 일일 투여량은 0.5 ~ 3.0 mg/kg, 바람직하게는 약 1.0 ~ 2.0 mg/kg이며, 카바크롤 및 유제놀의 복합제제의 일일 투여량은 0.5 ~ 3.0 mg/kg, 바람직하게는 약 1.0 ~ 2.0 mg/kg이나, 임상결과에 따라 가감될 수 있으며, 하루 일 회 내지 수회에 걸쳐 분할 투여하는 것이 바람직하다.

[0031] 본 발명의 조성물은 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료 효과를 위하여 단독으로, 또는 기존의 소독제나 항생제, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제와 병용하여 사용될 수도 있다.

[0032] 한편, 본 발명은 하기 [화학식 1]의 피리미딘다이온 유도체를 유효성분으로 포함하며, 바이오필름 형성을 억제하기 위한 코팅용 조성물을 제공한다:

[0033] [화학식 1]



[0034]

[0035]

[0036]

[0037]

[0038]

[0039]

[0040]

[0041]

[0042]

[0043]

[0044]

상기 코팅제는 의료기기, 의료용 재료, 의료용 이식물에 코팅되는 것을 특징으로 한다.

상기 의료기기는, 이에 제한되지는 않으나, 진찰 및 진단용기기 (Consultation & diagnosis equipment), 임상 검사용기기 (Clinical examination equipment), 방사선관련기기 (Radiology equipment), 수술관련기기 및 장비 (Surgical apparatus & equipment), 치료관련기기 (Cure apparatus & equipment), 재활의학 및 물리치료기 (Physiotherapy appartus), 안과관련기기 (Ophthalmic appartus), 치과관련기기 (Dental appartus), 중앙공급 실 관련기기 (Central supply equipment), 병원설비 및 응급장비 (Hospital accommdation & emergency equipment), 한방관련기기 (Oriental medicine & equipment), 제약관련기기 (Pharmaceutical equipment), 비만 및 건강관련기기 (Obesity cure & healthcare equipment), 의료용품, 소모품 등을 예로 들 수 있다.

상기 의료용 재료는 그 재질에 따라 금속재료, 무기재료, 고분자재료, 복합재료 등으로 구분된다. 금속재료는 코발트계, 크롬계, 스테인레스스틸계, 티타늄계 및 탈탄계 등으로 구분되며, 무기재료는 생체유리 (bioglass) 및 세라믹계 등이 포함되고, 고분자재료에는 천연 고분자재료, 바이오플라스틱, 합성고분자재료, 합성고무, 합성섬유 등이 포함되며, 의료용 복합재료는 섬유강화플라스틱 (Fiber reinforced plastics)계, 유리섬유, 탄소섬유 등을 예로 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

상기 의료용 이식물 (medical implants)들에는 도뇨관 (catheter)처럼 매우 간단한 것부터 인공장기 (artificial organs)나 감지기 (sensors)처럼 매우 복잡하고 정교한 장치까지 다양한 이식물들이 포함된다. 그러나, 질병의 치료나 생활의 불편함을 해소시켜 주기 위해 환자의 피하에 이식하는 의료용 이식물이 본래의 의도와는 달리 환자의 생명을 위협하는 원인이 되기도 하는데, 이는 의료용 이식물을 환자에게 이식하는 과정에서 심각한 감염이 발생할 수 있기 때문이다. 병원에서 발생한 감염증의 절반 이상이 의료용 장치의 이식과 관련 있으며, 의료용 이식물의 구체적 예로는, 혈관 내 인공 삽입물, 스텐트, 심장 스텐트, 말초 스텐트, 정형외과용 이식물, 뼈 또는 관절 보형물, 인공 심장, 인공 심장 밸브, 피하 및/또는 근육 내 이식물을 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 의료기기의 표면은 고분자재료 또는 금속재료가 바람직하다.

상기 고분자재료는 의료활동에 쓰이는 고분자재료 즉, 진단과 치료를 포함한 각종 의료행위에 쓰이는 의료기구나 신체 일부를 대신하기 위해 인공장기로 사용되는 중합체를 말한다. 활용되는 분야로는 수혈용 주머니를 비롯한 수혈용 장비, 주사기, 소프트 콘택트렌즈, 인공신장용 필터, 요도, 심장의 판막, 인공 혈관, 뼈, 피부, 힘줄, 귀, 턱, 안구, 치아 및 치아 충전제 등이 있다. 사용되는 물질로는 폴리염화비닐, 폴리에틸렌, 천연고무, 실리콘고무, 폴리프로필렌, 폴리우레탄 등을 예로 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

상기 금속재료는 스테인리스강, 코발트합금, 타이타늄합금, 금속생체재료, 코발트크롬합금, 티타늄합금, 탄탈륨, 형상기억합금 (Shape memory alloys) 등을 예로 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

이하, 실시예를 통해서 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기로 하되, 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.

실시예 1 : 박테리아 균주 및 배양조건

S. pneumoniae D-39 균주는 (NCTC 7466) 캡슐화된, 혈청형 2 병원성 균주를 사용하였으며, 이는 Health Protection Agency Culture Collections (HPA, Salisbury, UK)로부터 획득하였다. 박테리아는, 5% v/v 양혈 (sheep blood)로 보충된, 대두 성분을 트립신으로 처리한 배지 (tryptic soy broth, TSB; BD Difco, Detroit, MI, USA) 중에서, 또는 혈액 아가 (blood agar, BA; Hye In, Seoul, Korea) 상에서, 37℃, 5% CO₂ 대기 조건으로 배양하였다. *Vibro harveyi* (*V. harveyi*) 균주 MM32 (ATCC BAA-1121) (Miller *et al.*, 2004)는 자가유도체 생분석 (autoinducer bioassay, AB) 배지 상에서, 30℃ (Greenberg *et al.*, 1979)에서 배양하였다. [화학식 1]로 표시되는 1-(4-bromophenyl)-5-(2-furylmethylene)-3-phenyl-2-thiocodihydro-4,6(1H, 5H)-

pyrimidinedione는 Chembridge company로부터 구입하였다.

[0045] 실험예 1 : 인 비트로 폐렴균 바이오필름 성장억제에 대한 효과

[0046] 인 비트로 폐렴균성 바이오필름 성장을 96-웰, 평바닥, 폴리스티렌 마이크로적정 플레이트(BD falcon, Sparks, MD, USA)에서, 정적 모델 (Oggioni et al., 2006)을 사용하여 수행하였다. 요약하면, BA 상에서 밤새 배양된 *S. pneumoniae*의 신선한 균락을 끓여내서 TSB+1% 글루코오스 배지에서 배양하였다 (Moscoso et al., 2006). 중간-로그 상 (mid-logarithmic phase) 세포 현탁액 (10^6 CFU/ml)을 신선한 멸균 TSB+1% 배지로 1:100 희석하였으며, 200 μ L의 분획을 96-웰 마이크로적정 플레이트의 웰 중에 접종한 다음, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 중에서 배양하였다. 배양 이후에, 배지를 폐기하고, 플레이트들을 200 μ L의 멸균 포스페이트 완충 식염수 (PBS)로 3회 세척하였다. 이후, 플레이트들을 건조시키고, 50 μ L의 크리스탈 바이올렛(CV; 0.1%)으로 15분 동안 염색하였다. 과량의 염색약을 따라내고, 플레이트들을 멸균 증류수로 3회 세척하였다. 바이오필름을 200 μ L의 95% 에탄올에 용해시키고, 570 nm (OD₅₇₀)에서의 광학 밀도를, SpectraMax plus 384 자동화 마이크로플레이트 판독기 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 데이터는 3회 측정의 평균값을 나타낸다.

[0047] 도 1은 피리미딘다이온의 폐렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 미치는 효과를 나타낸 것으로서, 570 nm(OD₅₇₀)에서 광학 밀도를 측정한 결과 그래프이다.

[0048] 이를 통해, 500 μ M의 피리미딘다이온을 처리한 군에서 통계적으로 유의하게($p < 0.05$) 바이오필름의 성장이 감소한다는 것을 확인할 수 있다.

[0049] 실험예 2 : 인 비트로 폐렴균 바이오필름 성장억제에 대한 균주의 수 측정

[0050] 상기 실험예 1과 같은 조건으로 배양을 시행하여 100 μ L의 침전물을 채취하여 CFU counting을 시행하여 균주의 수를 비교하였다.

[0051] 도 2는 피리미딘다이온의 폐렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 미치는 효과를 나타낸 것으로서, 폐렴균성 바이오필름의 CFU 카운트를 측정한 그래프이다.

[0052] 이를 통해, 500 μ M의 피리미딘다이온을 처리한 군에서 통계적으로 유의하게($p < 0.05$) 균주의 수가 감소(<99%)한다는 것을 확인할 수 있다.

[0053] 실험예 3 : 인 비트로 폐렴균 바이오필름 성장 억제에 대한 농도의존 효과

[0054] 폐렴균성 바이오필름에 대한 [화학식 1]로 표시되는 피리미딘다이온 유도체의 농도의존성 효과를 알아보기 위해서, *S. pneumoniae* 바이오필름을 0.5-10 μ M의 피리미딘다이온 유도체와 함께 배양하였다. 중간-로그 상 (mid-logarithmic phase) 세포 현탁액 (10^6 CFU/ml)을 신선한 멸균 TSB+1% 배지로 1:100 희석하였으며, 200 μ L의 분획을 96-웰 마이크로적정 플레이트의 웰 중에 접종한 다음, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 중에서 배양하였다. 배양 이후에, 배지를 폐기하고, 플레이트들을 200 μ L의 멸균 포스페이트 완충 식염수 (PBS)로 3회 세척하였다. 이후, 플레이트들을 건조시키고, 50 μ L의 크리스탈 바이올렛(CV; 0.1%)으로 15분 동안 염색하였다. 과량의 염색약을 따라내고, 플레이트들을 멸균 증류수로 3회 세척하였다. 바이오필름을 200 μ L의 95% 에탄올에 용해시키고, 570 nm (OD₅₇₀)에서의 광학 밀도를, SpectraMax plus 384 자동화 마이크로플레이트 판독기 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 데이터는 3회 측정의 평균값을 나타낸다.

[0055] 도 3은 피리미딘다이온의 폐렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 대한 농도의존 효과를 나타낸 것으로서, 570 nm(OD₅₇₀)에서 광학 밀도를 측정한 결과 그래프이다.

[0056] 이를 통해, 1 μ M의 피리미딘다이온을 처리한 군에서부터 통계적으로 유의하게($p < 0.05$) 바이오필름의 형성이 감소한다는 것을 확인할 수 있다.

[0057] **실험예 4 : 인 비트로 폐렴균 바이오필름 성장 억제에 대한 균주의 수 농도의존 효과**

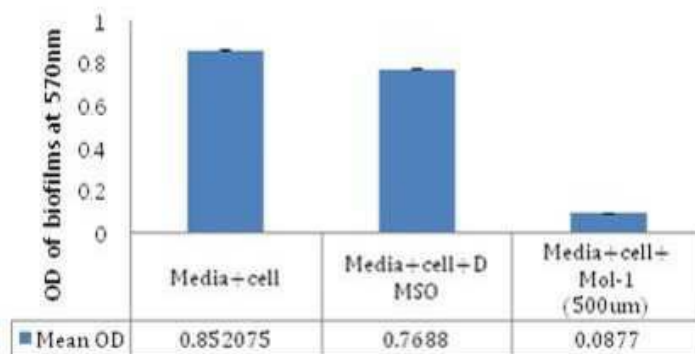
[0058] 상기 실험예 3과 같은 조건으로 배양을 시행하여 100 μ L의 침전물을 채취하여 CFU counting을 시행하여 균주의 수를 비교하였다.

[0059] 도 4는 피리미딘다이온의 폐렴균성 인 비트로 바이오필름 성장에 대한 농도의존 효과를 나타낸 것으로서, 폐렴균성 바이오필름의 CFU 카운트를 측정된 그래프이다.

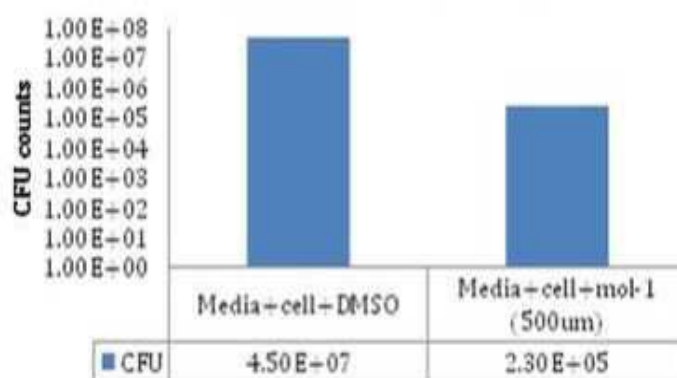
[0060] 이를 통해, 1 μ M의 피리미딘다이온을 처리한 군에서부터 통계적으로 유의하게($p < 0.05$) 바이오필름의 형성이 감소(<99%) 한다는 것을 확인할 수 있다.

도면

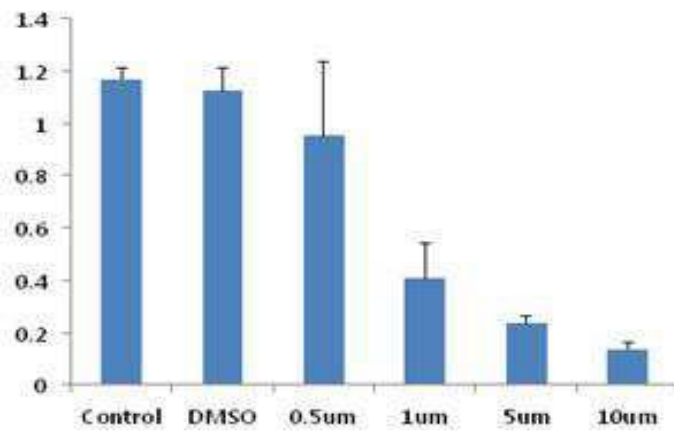
도면1



도면2



도면3



도면4

