



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0122167
(43) 공개일자 2022년09월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/12 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/12 (2013.01)

A61P 31/04 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2021-0026438

(22) 출원일자 2021년02월26일

심사청구일자 2021년02월26일

(71) 출원인

건양대학교산학협력단

충청남도 논산시 대학로 121 (내동)

(72) 발명자

김종석

대전광역시 서구 청사로 254, 107동 104호(둔산동, 둥지아파트)

김호원

대전광역시 서구 봉우로56번길 23-19(관저동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최규환

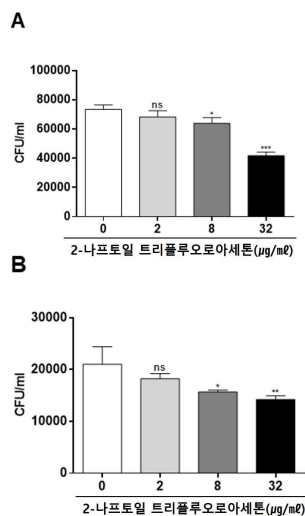
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*)에 대한 항균활성이 있다. 따라서 본 발명의 조성물은 비결핵항산균 감염에 의한 질환에 대한 의약품 또는 항균용 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

김도경

대전광역시 서구 관저북로 87, 106동 1903호(관저동, 원앙마을 1단지)

이성기

대전광역시 서구 관저동로 190-14(관저동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711108331

과제번호 NRF-2018R1C1B6007421

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 신진연구자지원사업

연구과제명 마이코박테리움 압세스스 감염에 의한 숙주의 대사반응변화 분석 및 이를 타겟으로 하는 새로운 개념의 치료제 개발연구

기 여 율 1/2

과제수행기관명 건양대학교 산학협력단

연구기간 2020.03.01 ~ 2021.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345315469

과제번호 2017R1A6A1A03015713

부처명 교육부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 중점연구소지원사업

연구과제명 저출산 위기극복을 위한 연구플랫폼 구축과 신개념 치료법 개발

기 여 율 1/2

과제수행기관명 건양대학교 산학협력단

연구기간 2020.03.01 ~ 2021.02.28

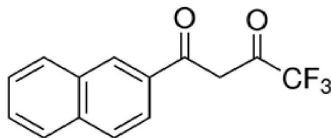
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 2-나프토일 트리플루오로아세톤(2-naphthoyl trifluoroacetone), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균의 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 비결핵항산균은 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*), 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*), 마이코박테리움 인트라셀룰레어(*Mycobacterium intracellulare*), 마이코박테리움 칸사시(*Mycobacterium kansasii*) 및 마이코박테리움 포투이툼(*Mycobacterium fortuitum*) 중에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 비결핵항산균의 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

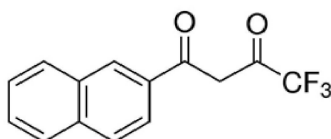
청구항 3

제1항에 있어서, 상기 비결핵항산균의 감염에 의한 질환은 폐질환, 림프절염, 피부 및 연조직 감염증, 골감염증 및 파종성 질환(disseminated disease) 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 비결핵항산균의 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 4

하기 화학식 1로 표시되는 2-나프토일 트리플루오로아세톤(2-naphthoyl trifluoroacetone), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균에 대한 항균용 조성물.

[화학식 1]



청구항 5

제4항에 있어서, 상기 비결핵항산균은 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*), 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*), 마이코박테리움 인트라셀룰레어(*Mycobacterium intracellulare*), 마이코박테리움 칸사시(*Mycobacterium kansasii*) 및 마이코박테리움 포투이툼(*Mycobacterium fortuitum*) 중에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 비결핵항산균에 대한 항균용 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 비결핵항산균(Nontuberculous mycobacteria, NTM)이란 결핵균(*M. tuberculosis*)과 나병균(*M. leprae*)을 제외한 항산균을 말하며, 동물계 숙주 안에서만 발견되는 결핵균과는 달리 상기 비결핵항산균은 동물계뿐만 아니라 토양이나 수계 등 환경에 정상적으로 존재하며 현재 약 150종 이상이 알려져 있다. 비결핵항산균에 의한 질환은 임상에 의해 폐질환, 림프절염, 피부 및 연조직 감염증, 골감염증, 파종성 질환으로 분류되며, 이 중 폐질환이 90% 이상을 차지하고 있다.
- [0003] 비결핵항산균에 의한 감염 질환은 국가별로 병원체별 발생율의 차이를 보이고 있다. 미국이나 일본에서는 *Mycobacterium avium complex*(MAC)에 의한 감염이 가장 많고, 두 번째로 *M. kansasii*이 보고되고 있고, *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. xenopi*, *M. chelonae*, *M. goodii* 등 다수 보고되고 있다. 국내에서도 MAC에 의한 감염이 가장 많고, 그 다음이 *M. abscessus*이며, 이외에 *M. fortuitum*, *M. chelonae* 등이 보고되고 있다.
- [0004] 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*)는 우리나라에서 발병 빈도수가 크게 증가하고 있으며, 대부분의 항생제에 대한 내성을 가지고 있어 감염질환에 있어 큰 문제로 지적되고 있다. 마이코박테리움 압세수스(*M. abscessus*)는 결핵균과 마찬가지로 세포 내 기생 세균이나 결핵균과는 다르게 토양, 물 등 자연계에 널리 존재하는 세균으로 항산균 중 유일하게 현재 사용 중인 모든 항결핵제에 내성을 보이고 있다. 과거에는 면역기능이 저하된 사람에게서 질병을 유발시키는 기회감염균으로 인식되었으나, 최근에는 면역기능의 정상 유무에 관계없이 인체에 심각한 질환을 일으키는 진정한 병원균(true pathogen)으로 인정되었다. 그 특징으로, *M. abscessus* ATCC19977T의 게놈 크기는 약 5Mb이며 다른 마이코박테리아(*mycobacteria*)와는 다르게 특징적인 삽입 서열은 갖고 있지 않지만, 81kb에 달하는 전체 길이의 프로파지(full-length prophage)를 보유하고 있다. 마이코박테리움 압세수스는 고체배지에서 자라는 콜로니 모양에 따라 거친 형(rough type)과 매끄러운 형(smooth type)으로 나눌 수 있으며 일반적으로 거친 형의 균주가 병원성이 높고, 표준 치료 기간이 2년으로 매우 오랜 기간 동안 치료함에도 불구하고 완치율이 낮다.
- [0005] 따라서, 이러한 비결핵항산균의 감염에 의한 질환의 치료를 위해서는 균 자체의 성장을 억제하는 새로운 항생제의 개발이 일차적인 목표지만, 최근에는 감염 숙주의 신호 전달 기전 및 면역 조절 등을 조절하여 균의 성장을 억제하고자 하는 숙주 타겟의 치료 기법(host-directed therapy)의 연구가 활발히 진행되고 있다.
- [0006] 한편, 한국등록특허 제2031409호에 비결핵항산균 감염 질환 치료용 약학 조성물이 개시되어 있고, 한국등록특허 제2107659호에 MMAGNU1 화합물을 유효성분으로 함유하는 결핵균 또는 비결핵 항산균 감염 질환 예방 또는 치료용 조성물이 개시되어 있으나, 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 대해 개시된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하고, 2-나프토일 트리플루오로아세톤이 비결핵항산균인 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*)에 대한 항균활성이 있다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 2-나프토일 트리플루오로아세톤(2-naphthoyl trifluoroacetone), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균의 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 2-나프토일 트리플루오로아세톤(2-naphthoyl trifluoroacetone), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균에 대한 항균용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0010] 본 발명은 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*)에 대한 항균활성이 있다.

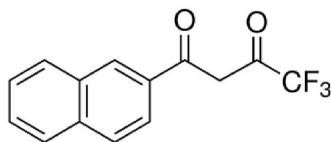
도면의 간단한 설명

- [0011] 도 1은 본 발명에 따른 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 마이코박테리움 압세수스 smooth type(A)과 rough type(B)에 대한 최소저해농도(Minimal inhibitory concentration; MIC)를 확인한 결과이다.
- 도 2은 본 발명에 따른 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 항균활성을 확인하기 위하여, 마이코박테리움 압세수스 smooth type(A)과 rough type(B)에 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 농도별 처리에 따른 72시간 후의 균수를 확인한 결과이다. ***, ****은 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리하지 않은 군 대비 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리한 군에서의 마이코박테리움 압세수스 균수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, ***은 $p < 0.001$ 이며, ****은 $p < 0.0001$ 이다. ns는 균수의 변화가 통계적으로 무의미하다는 것이다.
- 도 3은 본 발명에 따른 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 대식세포에 대한 세포독성을 확인한 결과로, 대식세포에 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 농도별 처리하고 2일 후의 세포독성을 확인한 결과이다. ****은 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리하지 않은 대조군 대비 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리한 군에서의 세포 생존률이 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, $p < 0.0001$ 이며, ns는 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리하지 않은 대조군 대비한 세포 생존률의 변화가 통계적으로 무의미하다는 것이다.
- 도 4는 마이코박테리움 압세수스 smooth type(A)과 rough type(B)의 균을 대식세포에 감염시키고, 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리한 2일 후의 균수를 확인한 결과이다. *, **, ***은 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리하지 않은 군 대비 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리한 군에서의 마이코박테리움 압세수스 균수가 통계적으로 유의미하게 감소하였다는 것으로, *는 $p < 0.05$ 이고, **은 $p < 0.01$ 이며, ***은 $p < 0.001$ 이다. ns는 균수의 변화가 통계적으로 무의미하다는 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 2-나프토일 트리플루오로아세톤(2-naphthoyl trifluoroacetone), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균의 감염에 의한 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

화학식 1

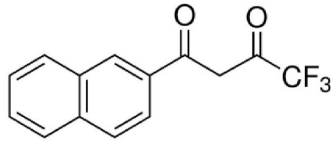


- [0013]
- [0014] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 히드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류 등과 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설포산, 4-톨루엔설포산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 다이하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부탄-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 히드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -히드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트

트, 프로판설폰네이트, 나프탈렌-1-설폰네이트, 나프탈렌-2-설폰네이트, 만텔레이트 등을 포함한다.

- [0015] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.
- [0016] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 용매화물, 광학 이성질체, 수화물 등을 모두 포함한다.
- [0017] 상기 비결핵항산균은 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*), 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*), 마이코박테리움 인트라셀룰레어(*Mycobacterium intracellulare*), 마이코박테리움 칸사시(*Mycobacterium kansasii*) 및 마이코박테리움 포투이툼(*Mycobacterium fortuitum*) 중에서 선택된 하나 이상인 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*)이지만 이에 한정하는 것은 아니다.
- [0018] 상기 비결핵항산균의 감염에 의한 질환은 폐질환, 림프절염, 피부 및 연조직 감염증, 골감염증 및 파종성 질환(disseminated disease) 중에서 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않는다.
- [0019] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있다. 비경구 투여인 경우에는 정맥 내 주입, 피하주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여, 점막 투여 또는 점안 투여 등으로 투여할 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉쇄제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.
- [0020] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스테arate 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 있고, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0021] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명의 화합물의 인체에 대한 효과적인 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로 약 0.001~100 mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.01~35 mg/kg/일이다. 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.07~7000 mg/일이며, 바람직하게는 0.7~2500mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.
- [0023] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 포함하는 약학 조성물의 제조에서, 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 포함하는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 이산 칼슘, 규산 칼슘, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 스테아르산 마그네슘 및 광물유를 들 수 있다.
- [0024] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 이를 유효성분으로 함유하는 약학 조성물은 비결핵항산균에 우수한 항균효과를 나타내며, 특히 경구투여 또는 비경구투여 (복강 주입)에서 항균 효과가 매우 우수하여 비결핵항산균 감염 질환 치료제로 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.
- [0025] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 2-나프토일 트리플루오로아세톤(2-naphthoyl trifluoroacetone), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 비결핵항산균에 대한 항균용 조성물에 관한 것이다.

[0026] [화학식 1]



[0027]

[0028] 상기 비결핵항산균은 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*), 마이코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*), 마이코박테리움 인트라셀룰레어(*Mycobacterium intracellulare*), 마이코박테리움 칸사시(*Mycobacterium kansasii*) 및 마이코박테리움 포투이툼(*Mycobacterium fortuitum*) 중에서 선택된 하나 이상인 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 마이코박테리움 압세수스(*Mycobacterium abscessus*)이지만 이에 한정하는 것은 아니다.

[0029] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[0030] **실시예 1. 대식세포(macrophage)의 분리 및 배양**

[0031] C57BL/6 마우스로부터 골수 채취용 주사를 이용하여 대퇴부 골수를 채취하였다. 채취한 골수를 세척한 후, 염화암모늄을 이용하여 적혈구를 제거하였다. 이후, 대식세포를 분리하여, 10%의 FBS(Fetal Bovine Serum), 100U/ml의 페니실린, 0.1μg/ml의 스트렙토마이신 설페이트(streptomycin sulfate), 0.25μg/ml의 암포테리신 B, 10ng/ml의 M-CSF를 포함하는 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에서 6일 동안 배양하였다.

[0032] **실시예 2. 마이코박테리움 압세수스(*M. abscessus*)의 배양**

[0033] 마이코박테리움 압세수스 ATCC 19977는 야생형 균주로서 사용되었다. 10%의 올레인산-ADC(oleic acid-albumin-dextrose-catalase; OADC), 0.05% Tween 80(LPS solution)가 첨가된 Middle brook 7H9 broth 및 10% 올레인산-ADC(oleic acid-ADC; OADC)가 첨가된 Middle brook 7H10 plates에서 마이코박테리움 압세수스 smooth type 및 rough type 균주를 각각 37℃에서 배양하였다.

[0034] **실시예 3. 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 마이코박테리움 압세수스에 대한 최소저해농도(Minimal inhibitory concentration, MIC) 확인**

[0035] 마이코박테리움 압세수스에 대한 2-나프토일 트리플루오로아세톤(AA Blocks, Cat# AA003kA1)의 최소저해농도(Minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하기 위하여, Middle brook 7H9 액체배지를 14ml 크기의 시험관에 4ml 씩 분주하고, 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 초기 농도 64μg/ml으로 하여 2배 계단 희석하였다. 마이코박테리움 압세수스 smooth type과 rough type 각각의 균을 녹인 후 시험관 당 5×10^5 cfu가 되게 첨가하여 72시간 동안 배양하면서 균이 자라는지를 관찰하여 균체의 성장을 저해하는 최소 농도를 확인하였다.

[0036] 그 결과, 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 마이코박테리움 압세수스 smooth type에 대한 최소저해농도는 64μg/ml이고, 마이코박테리움 압세수스 rough type에 대한 최소저해농도는 32μg/ml임을 확인하였다(도 1).

[0037] **실시예 4. 마이코박테리움 압세수스에 대한 2-나프토일 트리플루오로아세톤(2-naphthoyl trifluoroacetone)의 *in vitro* 항균 효과 확인**

[0038] 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 마이코박테리움 압세수스에 대한 항균 효과는 시험관 희석 방법에 따라 실시하였다. Middle brook 7H9 액체배지를 14ml 크기의 시험관에 4ml 씩 분주하고, 2, 8, 및 32μg/ml의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 첨가하였다. 이후, 마이코박테리움 압세수스 smooth type과 rough type 각각의 균을 시험관 당 5×10^5 cfu가 되도록 첨가하여 72시간 동안 배양하였다. 72시간 후에 시험관 내 항균활성을 확인하고, 이를 7H10 배지에 단계적 희석 평판 배양하여 균수를 확인하였다.

[0039] 그 결과, 도 2에 개시한 바, 2-나프토일 트리플루오로아세톤은 농도 의존적으로 마이코박테리움 압세수스 smooth type과 rough type의 성장을 억제하였다.

[0040] **실시예 5. 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 처리에 따른 대식세포에서의 세포독성 확인**

[0041] 본 발명의 2-나프토일 트리플루오로아세톤의 농도별 처리에 따른 대식세포의 세포독성을 확인하기 위하여 CCK-8

어세이를 실시하였다.

[0042] 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리하지 않고 대식세포에 기본 배양액을 처리한 군(0), 32, 64, 128 및 256 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리한 군은 각각 48시간 동안 인큐베이션 하였다. 48시간 후 각각의 웰에 10% CCK-8이 포함된 배양액으로 교체한 후, 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이후 450nm로 흡광도를 측정하여 분석하였다.

[0043] 그 결과, 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리한 대식세포에서는 세포독성이 있는 것으로 나타났다(도 3). 이와 같은 결과를 기반으로 본 발명에서는 세포독성이 나타나지 않는 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하의 농도 범위에서 실험을 실시하였다.

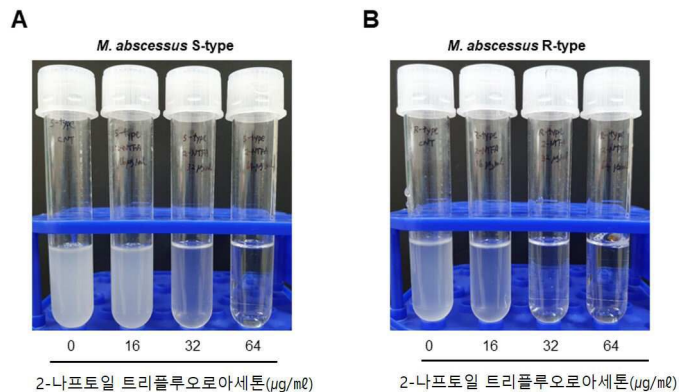
[0044] **실시예 6. 마이코박테리움 압세수스 감염 후 2-나프토일 트리플루오로아세톤 처리에 따른 대식세포에서의 균수 변화 측정**

[0045] 마이코박테리움 압세수스 smooth type과 rough type을 각각 대식세포에 MOI(multiplicity of infection)=1로 4시간 동안 감염시켰다. 이후, 2, 8 및 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 2-나프토일 트리플루오로아세톤을 처리하고, 48시간 동안 방치하였다. 이후에 증류수로 세포를 터뜨리고 PBS로 10배씩 계단 희석하고 7H10 고형 배지에 점적하여 마이코박테리움 압세수스의 균수(cfu)를 측정하였다.

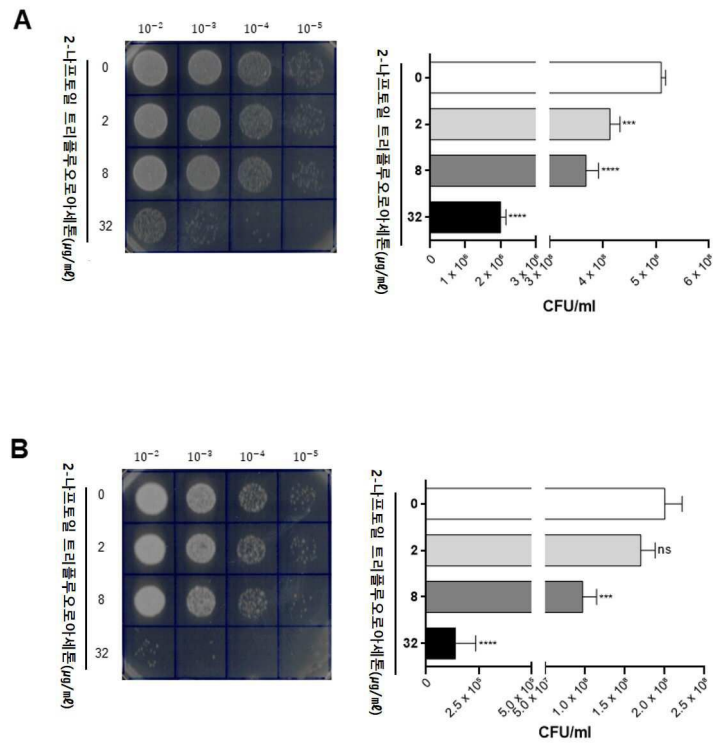
[0046] 그 결과, 도 4에 개시한 바와 같이 2-나프토일 트리플루오로아세톤은 대식세포에 감염된 마이코박테리움 압세수스 smooth type과 rough type의 성장을 억제하였다.

도면

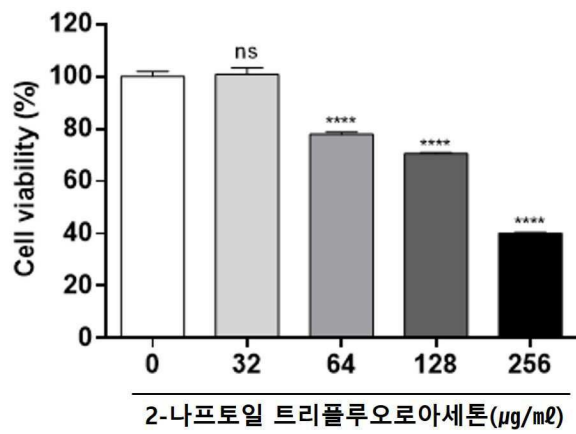
도면1



도면2

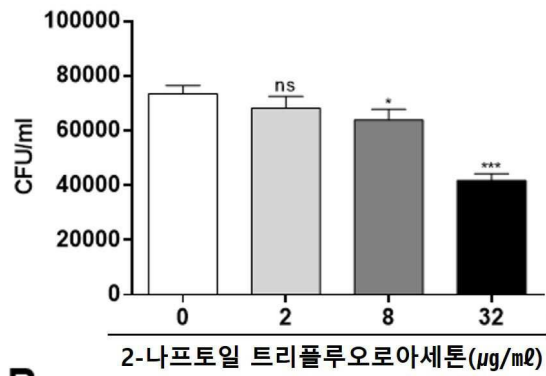


도면3



도면4

A



B

