



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0166374  
(43) 공개일자 2024년11월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/416 (2006.01) A61K 31/422 (2006.01)  
A61K 31/433 (2006.01) A61K 31/497 (2006.01)  
A61K 31/506 (2006.01) A61K 38/12 (2006.01)  
A61P 31/10 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/416 (2013.01)  
A61K 31/422 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2024-0027088

(22) 출원일자 2024년02월26일

심사청구일자 2024년02월26일

(30) 우선권주장

1020230063673 2023년05월17일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

윤철원

서울특별시 노원구 덕릉로79길 23 (중계동, 염광아파트)

(74) 대리인

특허법인(유)남아이피그룹, 특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 14 항

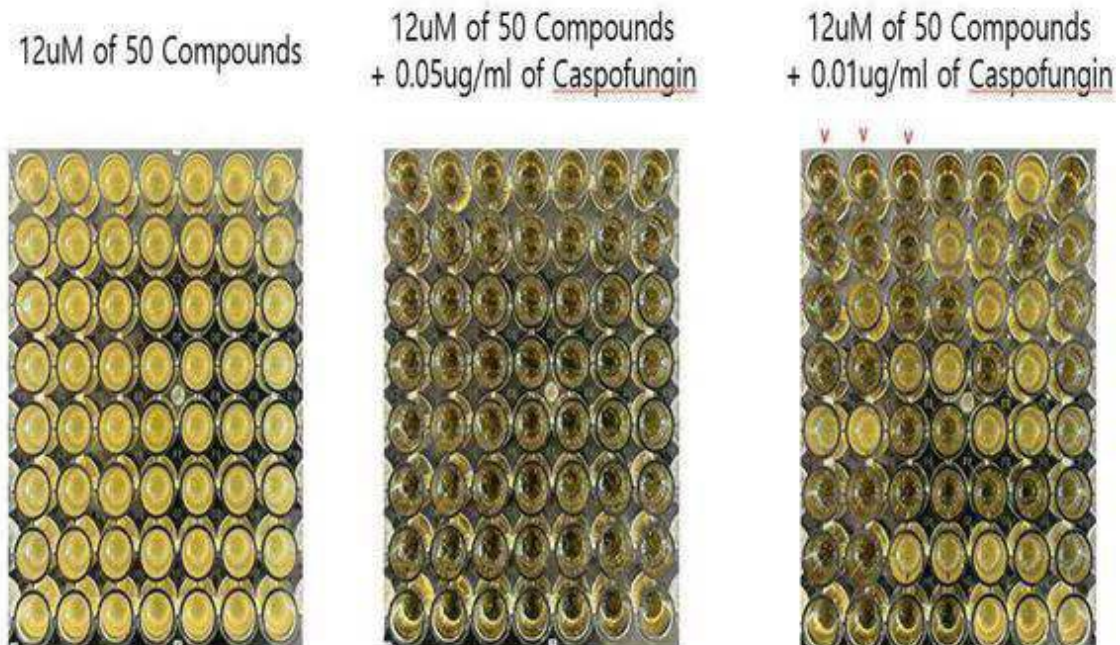
(54) 발명의 명칭 항진균제에 대한 시너지 효과를 갖는 인다졸계 화합물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 항진균제에 대한 시너지 효과를 갖는 인다졸계 화합물 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명은 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 항진균 보조제, 상기 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유

(뒷면에 계속)

대표도 - 도2



효성분으로 포함하는 항진균성 병용 제제, 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 본 발명의 항진균 보조제를 에키노칸딘계 항진균제와 병용 처리하는 단계를 포함하는 생체 외에서 진균을 억제하는 방법에 관한 것이다. 본 발명에서 제공하는 항진균 보조제는 에키노칸딘계 항진균제와 병용처리할 경우, 소량의 항진균제 사용만으로도 효과적으로 진균의 성장을 억제할 수 있도록 함으로써 항진균제의 항균 시너지 효과를 유도할 수 있고 에키노칸딘계 항진균제의 정균효과를 개선할 수 있는 효과가 있는 효과가 있으므로, 진균 감염의 예방을 위한 항균용 조성물 및 진균 감염 질환의 치료를 위한 의약품의 제조에 유용하게 사용할 수 있다.

(52) CPC특허분류

**A61K 31/433** (2013.01)

**A61K 31/497** (2013.01)

**A61K 31/506** (2013.01)

**A61K 38/12** (2013.01)

**A61P 31/10** (2018.01)

**A61K 2300/00** (2023.05)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항진균 보조제.

| 화학식<br>번호 | 구조식 | 화학식<br>번호 | 구조식 |
|-----------|-----|-----------|-----|
| 1         |     | 9         |     |
| 2         |     | 10        |     |
| 3         |     | 11        |     |
| 4         |     | 12        |     |
| 5         |     | 13        |     |
| 6         |     | 14        |     |
| 7         |     | 15        |     |
| 8         |     | 16        |     |

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화합물은 항진균제의 항균 활성에 대한 시너지 효과를 가지며, 항진균제와 병용 투여하는 것을 특징으로 하는, 항진균 보조제.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 항진균제는 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제인 것을 특징으로 하는, 항진균 보조제.

#### 청구항 4

제3항에 있어서,

상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)인 것을 특징으로 하는, 항진균 보조제.

#### 청구항 5

제1항의 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는, 항진균성 병용 제제.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)인 것을 특징으로 하는, 항진균성 병용 제제.

#### 청구항 7

제5항에 있어서,

상기 항진균성 병용 제제는 아스페질러스 푸미가투스, 칸디다 알비칸스 및 크립토코쿠스 네오포르만스로 이루어진 군 중에서 선택되는 하나 이상의 곰팡이균에 대한 항진균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는, 항진균성 병용 제제.

#### 청구항 8

제1항의 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는, 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

#### 청구항 9

제8항에 있어서,

상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)인 것을 특징으로 하는, 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

#### 청구항 10

제8항에 있어서,

상기 진균은 아스페질러스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 또는 크립토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)인 것을 특징으로 하는, 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

#### 청구항 11

제1항의 항진균 보조제를 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제와 병용 처리하는 단계를 포함하는, 생체 외에서 진균을 억제하는 방법.

#### 청구항 12

제11항에 있어서,

상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)인 것을 특징으로 하는, 생체 외에서 진균을 억제하는 방법.

#### 청구항 13

제11항에 있어서,

상기 진균은 아스페질러스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 또는 크립

토록쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)인인 것을 특징으로 하는, 생체 외에서 진균을 억제하는 방법.

#### 청구항 14

하기 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는,

크립토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)에 대해 항진균 활성을 갖는 항진균용 조성물.

| 화학식<br>번호 | 구조식 | 화학식<br>번호 | 구조식 |
|-----------|-----|-----------|-----|
| 1         |     | 9         |     |
| 2         |     | 10        |     |
| 3         |     | 11        |     |
| 4         |     | 12        |     |
| 5         |     | 13        |     |
| 6         |     | 14        |     |
| 7         |     | 15        |     |
| 8         |     | 16        |     |

#### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 항진균제에 대한 시너지 효과를 갖는 인다졸계 화합물 및 이의 용도에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 최근 코로나 팬데믹으로 인하여 진균 감염의 빈도가 증가하고 있다. 이는 코로나바이러스에 감염된 환자의 경우 면역력이 약화되어 기회성 감염균인 병원성진균에 의해 감염이 증가되고 있기 때문이다. 따라서 병원성진균에 대한 효과적인 치료가 절실히 요구되고 있다.

[0003] 항진균제는 진균의 증식과 성장을 억제하여 진균 감염증을 치료하는 약물로서, 현재 의약품으로 사용되고 있는

항진균제는 크게 3 그룹으로 분류되는데, 폴리엔계(polyene), 아졸계(azole) 및 에키노칸딘계(echinocandins)로 분류된다.

[0004] 폴리엔계 항진균제는 세포막 내로 삽입되어 세포막의 에르고스테롤에 결합하여 세포막의 투과성을 변화시킴으로써 세포 내용물을 누출시키고, 진균의 성장을 방해한다. 폴리엔계 항진균제는 가장 오래되고 널리 사용되지만 독성이 매우 강하다는 문제점이 있다.

[0005] 아졸계 항진균제는 진균 세포막의 주성분인 에르고스테롤을 합성하는 효소를 억제하여 항진균 작용을 나타낸다. 진균의 사이토크롬 P450(cytochrome P450, CYP450) 효소 중 하나와 결합하여 작용을 나타내는데, 인체에서도 CYP450 대사 효소계를 광범위하게 억제함으로써 다른 약물의 대사를 방해하여 약물상호작용을 일으킬 수 있고, Aspergillus 계통의 병원성진균에는 효과가 낮은 단점이 있다.

[0006] 또한, 가장 최근에 개발된 에키노칸딘계 항진균제는 진균 세포벽의 주성분인 글루칸을 만드는 효소(glucan synthase)를 억제한다. 이로써 세포벽에 구멍이 형성되고, 세포벽은 삼투압을 지탱할 수 없게 되어 항진균 활성을 나타낸다. 또한 에키노칸딘계 항진균제는 부작용이 적으나 가격이 매우 비싸고 살균효과(cidal effects)보다는 정균효과(static effect)를 나타낸다는 문제점이 있다.

[0007] 이처럼 현재 개발되어 사용되고 있는 항진균제들의 경우, 약물의 종류에 따라 독성과 내성 등 다양한 부작용을 나타내고 있으므로, 이러한 부작용은 최소화하면서 기존 항진균제의 항균 활성을 향상시킬 수 있는 병용처방을 위한 새로운 항진균제의 개발이 필요하다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국등록특허 10-1952715

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0009] 이에 본 발명자들은 기존 항진균제들이 가지고 있는 문제점을 해소할 수 있는 항진균제 보조제를 개발하기 위해 연구하던 중, 에키노칸딘계 항진균제와 병용처리할 경우, 소량의 항진균제 사용만으로도 효과적으로 진균의 성장을 억제할 수 있어 항진균제의 항균 시너지 효과를 유도할 수 있을 뿐만 아니라 에키노칸딘계 항진균제의 정균효과를 개선할 수 있는 새로운 항진균제의 보조제를 발굴하였고, 이의 효능을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0010] 그러므로 본 발명의 목적은 하기 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항진균 보조제를 제공하는 것이다.

| 화학식<br>번호 | 구조식 | 화학식<br>번호 | 구조식 |
|-----------|-----|-----------|-----|
| 1         |     | 9         |     |
| 2         |     | 10        |     |
| 3         |     | 11        |     |
| 4         |     | 12        |     |
| 5         |     | 13        |     |
| 6         |     | 14        |     |
| 7         |     | 15        |     |
| 8         |     | 16        |     |

본 발명의 다른 목적은 본 발명의 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는 항진균성 병용 제제를 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는, 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 항진균 보조제를 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제와 병용 처리하는 단계를 포함하는, 생체 외에서 진균을 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 크립토кок쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)에 대해 항진균 활성을 갖는 항진균용 조성물을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

그러므로 본 발명은 상기 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항진균 보조제를 제공한다.

본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 화합물은 항진균제의 항균 활성에 대한 시너지 효과를 가지며, 항진균제와 병용 투여하는 것일 수 있다.

본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 항진균제는 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제일 수 있다.

본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포펄진(caspofungin), 미카펄진(micafungin)

또는 아니둘라핀진(anidulafungin)일 수 있다.

- [0020] 또한 본 발명은 상기 본 발명에 따른 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는, 항진균성 병용 제제를 제공한다.
- [0021] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 항진균성 병용 제제는 아스페질러스 푸미가투스, 칸디다 알비칸스 및 크립토크쿠스 네오포르만스로 이루어진 군 중에서 선택되는 하나 이상의 곰팡이균에 대한 항진균 활성을 갖는 것일 수 있다.
- [0023] 또한 본 발명은 본 발명에 따른 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는, 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 진균은 아스페질러스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 또는 크립토크쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)일 수 있다.
- [0026] 나아가 본 발명은 본 발명에 따른 항진균 보조제를 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제와 병용 처리하는 단계를 포함하는, 생체 외에서 진균을 억제하는 방법을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 에키노칸딘계 항진균제는 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 진균은 아스페질러스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 또는 크립토크쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)일 수 있다.
- [0029] 또한 본 발명은 본 발명의 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 크립토크쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)에 대해 항진균 활성을 갖는 항진균용 조성물을 제공한다.

### 발명의 효과

- [0030] 본 발명에서 제공하는 항진균 보조제는 에키노칸딘계 항진균제와 병용처리할 경우, 소량의 항진균제 사용만으로도 효과적으로 진균의 성장을 억제할 수 있도록 함으로써 항진균제의 항균 시너지 효과를 유도할 수 있고 에키노칸딘계 항진균제의 정균효과를 개선할 수 있는 효과가 있을 뿐만 아니라, 에키노칸딘계 항진균제에 내성을 갖는 진균에 대해서도 우수한 항균 활성이 있으므로, 진균 감염의 예방을 위한 항진균용 조성물 및 진균 감염 질환의 치료를 위한 의약품의 제조에 유용하게 사용할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 본 발명의 일실시예에서 항진균제에 대한 시너지 효과를 갖는 항진균 보조제 화합물들을 탐색하는 과정에 대한 모식도를 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 일실시예에서 항진균제인 카스포핀진(caspofungin)과 병용처리 시, 진균(칸디다 알비칸스)의 성장을 저해하는 인다졸계 화합물을 스크리닝한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명의 일실시예에서 항진균제인 카스포핀진(caspofungin)과 본 발명에서 스크리닝된 NE-G10 화합물을 농도별로 단독 또는 병용처리 후, 진균(아스페질러스 푸미가투스)의 성장 저해 정도를 분석한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명의 일실시예에서 항진균제인 카스포핀진(caspofungin)과 본 발명에서 스크리닝된 NE-G10 화합물을 농도별로 단독 또는 병용처리 후, 진균(아스페질러스 푸미가투스)의 성장 저해 정도를 6월 플레이트에서 분석한 결과를 나타낸 것이며, 도면에서 빨간색 숫자는 각 실험군의 약물 처리 농도를 나타낸 것이다.
- 도 5는 본 발명의 일실시예에서 카스포핀진(caspofungin) 및 NE-G10 화합물을 병용 투여 시, 진균(아스페질러스 푸미가투스)에 감염된 마우스의 생존율을 증진시킬 수 있음을 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에서 항진균제인 카스포핀진(caspofungin)과 본 발명에서 스크리닝된 NE-G10 화합물을 농도별로 단독 또는 병용처리 후, 진균(칸디다 알비칸스)의 성장 저해 정도를 분석한 결과를 나타낸 것이다.

도 7은 본 발명에 따른 인다졸계 화합물의 크립토콕쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*) 곰팡이 균에 대한 항진균 활성을 분석한 결과로, 카스포핀진(caspofungin) 항생제를 처리한 군과의 비교결과를 나타낸 것이다.

도 8은 본 발명에서 스크리닝된 NE-G10 화합물 및 NE-F7 화합물의 크립토콕쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*) 곰팡이 균에 대한 항진균 활성을 분석한 결과를 나타낸 것으로, 기존 항생제로 알려진 카스포핀진(caspofungin), 보리코나졸(voriconazole) 및 암포테리시니 B(amphotericin B)를 처리한 군과의 비교결과를 나타낸 것이다.

도 9 내지 도 12는 본 발명에서 스크리닝된 인다졸계 화합물들의 항진균 활성을 분석한 결과를 나타낸 것으로, 각 화합물에 대한 아스퍼질러스 푸미가투스, 칸디다 알비칸스 및 크립토콕쿠스 네오포르만스 곰팡이 균에 대한 항진균 활성을 분석한 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 본 발명은 항진균제의 활성을 더욱 증진시켜 보다 효과적으로 항균 활성을 나타낼 수 있는 새로운 항진균 보조제를 제공함에 특징이 있다.
- [0033] 본 발명자들은 기존 항진균제들의 문제점인 낮은 항균효과를 개선시킬 수 있으면서 사용단가를 낮춰 경제적인 효과를 도출할 수 있는 새로운 항진균 보조제를 개발하기 위하여, 한국화합물 은행에서 분양받은 약 8000종의 화합물을 대상으로 항진균제의 항균 시너지 효과를 유도할 수 있는 화합물들을 스크리닝하였다.
- [0034] 본 발명의 일실시예에서는, 아스퍼질러스 푸미가투스 곰팡이균, 칸디다 알비칸스 곰팡이균 및 크립토콕쿠스 네오포르만스 곰팡이균을 대상으로 항진균제와 병용처리 시, 항진균 활성을 더욱 증진시키는 효과를 보이는 16종의 화합물들을 발굴하였다.
- [0035] 특히 본 발명에서 스크리닝한 16종의 화합물들은 구조 분석 결과, 인다졸(Indazole)계에 속하는 화합물들로 확인되었고, 이들 화합물은 각각 단독 처리할 때 보다 카스포핀진 항생제와 병용처리 시, 매우 효과적으로 진균의 성장을 저해하는 것으로 나타났으며, 카스포핀진을 단독 처리한 경우에 비해서도 더 우수한 항진균 활성을 나타내었다.
- [0036] 따라서 본 발명은 항진균제의 항균 시너지 활성을 유도할 수 있는 새로운 항진균 보조제를 스크리닝하였고, 스크리닝된 16개의 새로운 항진균 보조제 화합물들은 하기 화학식 1 내지 16의 화합물들이다.
- [0037] 그러므로 본 발명은 하기 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 항진균 보조제를 제공함에 특징이 있다.

| 화학식<br>번호 | 구조식 | 화학식<br>번호 | 구조식 |
|-----------|-----|-----------|-----|
| 1         |     | 9         |     |
| 2         |     | 10        |     |
| 3         |     | 11        |     |
| 4         |     | 12        |     |
| 5         |     | 13        |     |
| 6         |     | 14        |     |
| 7         |     | 15        |     |
| 8         |     | 16        |     |

[0038]

[0039]

본 발명의 상기 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 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트,  $\beta$ -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0040]

본 발명에서 "항진균 보조제"는 "항균 보조제"라고도 하며, 유해균을 직접적으로 사멸시키지 않더라도 유해균의 항균제에 대한 저항성을 억제하거나 항균제의 세포 내 축적을 유도하는 방법 등으로 유해균의 항진균제 또는 항균제에 대한 감수성을 증가시켜주는 물질을 의미한다.

[0041]

본 발명에서 스크리닝된 상기 항진균 보조제는 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제 특이적으로 항균 시너지

활성을 갖는 특징이 있어, 에키노칸딘계 항진균제와 병용하여 사용할 수 있다.

- [0042] 항진균제는 진균의 증식과 성장을 억제하여 진균 감염증을 치료하는 약물로서도 사용되는데, 크게 폴리엔계(polyene), 아졸계(azole) 및 에키노칸딘계(echinocandins)로 분류된다.
- [0043] 한편, 본 발명의 항진균 보조제로서 스크리닝된 상기 화합물은 특이하게도 폴리엔계(polyene) 및 아졸계(azole) 항진균제에 대해서는 시너지 효능을 나타내지 않는 반면, 에키노칸딘계(echinocandins) 항진균제에 대해서만 특이적으로 시너지 효능을 나타낸다.
- [0044] 상기 본 발명의 항진균 보조제가 시너지 효과를 유도하는 에키노칸딘계 항진균제로는 이에 제한되지는 않으나, 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)일 수 있고, 바람직하게는 카스포핀진(caspofungin)일 수 있다.
- [0045] 또한 본 발명은 상기 본 발명의 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는, 항진균성 병용 제제를 제공할 수 있다.
- [0046] 본 발명에 따른 항진균성 병용 제제는 본 발명에서 스크리닝한 상기 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 항진균 보조제와 에키노칸딘계 항진균제를 함께 투여할 수 있도록 제조된 조성물로서, 진균의 성장을 저해하거나 진균의 세포사멸을 유도하는 등 진균에 대한 항균 활성을 유도한다.
- [0047] 상기 본 발명의 항진균성 병용 제제에 포함될 수 있는 에키노칸딘계 항진균제로는 이에 제한되지는 않으나, 카스포핀진(caspofungin), 미카펑진(micafungin) 또는 아니둘라핀진(anidulafungin)일 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일실시예에서, 스크리닝된 상기 본 발명의 항진균 보조제 화합물들에 대한 항진균 보조제로서의 활성을 분석한 결과, 상기 16개의 화합물들은 단독 처리할 때 보다 카스포핀진과 병용처리 시, 진균의 성장억제 활성을 더욱 증진시키는 것으로 나타났으며, 특히 화학식 2번의 NE-G10 화합물은 카스포핀진(caspofungin)과 병용처리 시, 아스페질러스 푸미가투스 및 칸디다 알비칸스 곰팡이균 모두에 대해 우수한 항진균 증진활성을 보이는 것으로 나타났다.
- [0049] 또한 본 발명은 본 발명에 따른 항진균 보조제 및 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제를 유효성분으로 포함하는, 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.
- [0050] 앞서 기술한 바와 같이, 본 발명에 따른 항진균 보조제는 에키노칸딘계 항진균제의 항균 시너지 효과를 유도함으로써 효과적으로 진균의 성장을 억제할 수 있고 진균의 사멸을 유도할 수 있다.
- [0051] 본 발명에 따른 진균감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 진균의 감염에 의해 유도되는 질환에 대해 예방, 개선 또는 치료효과를 갖는다.
- [0052] 바람직하게 상기 진균은 아스페질러스 푸미가투스 곰팡이균, 칸디다 알비칸스 곰팡이균 또는 크립토코쿠스 네오포르만스 곰팡이균일 수 있고, 상기 질환은 아스페질러스 푸미가투스, 칸디다 알비칸스 또는 크립토코쿠스 네오포르만스 곰팡이균의 감염으로 유도되는 질환을 모두 포함할 수 있다.
- [0053] 아스페질러스 푸미가투스는 면역이 저하된 사람에게 감염되는 대표적인 아스페르길루스 곰팡이로서, 이들의 균락은 회녹색을 띄며 포자가 공기를 통해 폐에 침투하게 되면 질병을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다. 구체적으로 아스페질러스 푸미가투스 감염으로 유도되는 질환으로는 이에 제한되지는 않으나, 국균증, 천식, 국균종 또는 알레르기성 폐포염일 수 있다.
- [0054] 또한, 칸디다 알비칸스(Candida albicans)는 인체 내의 상피세포에서 주로 번식한다. 칸디다 알비칸스는 정상적인 피부, 점막, 분변, 객담, 소변 등에 존재하며 인체에는 해가 없지만, 항생물질이나 부신피질 호르몬을 사용한 경우나, 인체의 면역력이 저하된 경우에는 이상증식을 하여 병을 일으킨다. 또한, 구내염 및 질염과 같은 국소 점막염을 일으키거나 전신성 감염으로 진행될 수 있다. 칸디다 알비칸스에 의해 발생하는 칸디다증의 종류로는 구각, 혀, 외음부, 질 등이 짓무르고 통증이 발생하는 점막 칸디다증, 피부의 주름 사이나 손가락 사이, 항문 부근이나 유방 등이 붉게 짓무르는 피부 칸디다증, 설사, 복통, 황달 등을 일으키는 소화관 칸디다증, 패혈증과 같은 증세를 나타내며 수막염이나 심내막염을 수반하는 전신성 칸디다증이 있다.
- [0055] 또한, 크립토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)는 이형 담자균 강에 속하는 진균의 하나로 주로 전 세계 대부분 지역의 해수와 담수, 토양, 나무, 축산동물 및 조류의 배설물 등 다양한 자연환경에서 광범위하게 발견된다.

- [0056] 인체에 감염된 것은 1894년에 처음 보고되었으며 급성, 아급성 및 만성으로 폐, 뇌수막 및 전신에 감염을 일으키는 것으로 알려져 있다. 크립토코쿠스 네오포만스의 감염은 자연환경에서 효모 형태의 세포가 폐로 흡입되어 일어나며 면역저하 환자에 흔히 감염되지만, 선행질환이 없는 환자도 감염될 수 있다. 정상적인 면역성을 가진 숙주에서 초기 감염은 폐 육아종(granuloma)을 생성하며 항체 반응을 일으키는 반면, 장기 이식 또는 후천성면역결핍증(Acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) 등으로 인하여 면역 기능이 저하된 환자에서는 중추 신경계(Central nervous system, CNS)를 감염시켜 뇌수막염을 일으키는 것으로 알려져 있고, 특히 전 세계적으로 AIDS의 주요 사망 원인으로 밝혀졌다.
- [0057] 본 발명의 상기 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 포함할 수 있으며, 약학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이드실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엷, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당 등이 사용될 수 있다.
- [0058] 본 발명에 따른 약학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 내지 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0059] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 실제 임상 투여시에 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있으며, 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science, 최근, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 것을 이용하는 것이 바람직하다. 상기 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 올리고당, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유 등이 있다.
- [0060] 상기 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스 (Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 또한, 상기 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0061] 상기 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다.
- [0062] 비수성용제, 현탁제제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로세라틴 등이 사용될 수 있다. 상기 비경구투여는 피부외용 또는 복강 내 주사, 직장 내 주사, 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사 주입방식을 사용하여 이루어질 수 있다.
- [0063] 본 발명의 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다.
- [0064] 상기 '약학적으로 유효한 양'은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 감염된 바이러스 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0065] 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0066] 본 발명에 있어서 사용되는 용어 '투여'는 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [0067] 본 발명에 있어서, 상기 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는

데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사에 의해 투여될 수 있다.

- [0068] 본 발명에 있어서, '예방'은 조성물의 투여에 의해 진균감염을 억제시키거나 진균감염 질환의 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0069] 본 발명에 있어서, '개선'은 조성물의 투여에 의해 진균감염에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.
- [0070] 본 발명에 있어서, '치료'는 조성물의 투여에 의해 진균감염 질환을 낮게 하는 행위를 모두 의미한다.
- [0071] 나아가 본 발명은 본 발명의 항진균 보조제를 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제와 병용 처리하는 단계를 포함하는, 생체 외에서 진균을 억제하는 방법을 제공할 수 있다.
- [0072] 상기 진균은 아스퍼질러스 푸미가투스, 칸디다 알비칸스 및 크립토크쿠스 네오포르만스로 이루어진 군 중에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0073] 또한 상기 병용 처리는 상기 항진균 보조제와 에키노칸딘계 항진균제를 동시에 함께 처리하거나, 또는 이들 성분을 순차적으로 처리하는 등, 항진균 보조제와 에키노칸딘계 항진균제를 단독이 아닌 함께 처리하는 것을 의미한다.
- [0074] 본 발명에서 스크리닝한 항진균 보조제를 병용 처리할 경우, 기존 에키노칸딘계 항진균제의 처리 농도보다 훨씬 적은 농도로도 효과적으로 진균을 억제할 수 있어 에키노칸딘계 항진균제의 사용량을 절감할 수 있고 동시에 비용도 절감할 수 있다.
- [0075] 나아가 본 발명은 상기 본 발명의 화학식 1 내지 16으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 크립토크쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)에 대해 항진균 활성을 갖는 항진균용 조성물을 제공함에 특징이 있다.
- [0076] 본 발명자들은 본 발명에서 스크리닝한 상기 16개의 인다졸계 화합물에 대해 크립토크쿠스 네오포르만스 곰팡이 균의 성장을 저해하는 항진균 활성이 있는지를 분석하였는데, 그 결과, 본 발명의 인다졸계 화합물은 항생제와 병용처리하지 않아도 인다졸계 화합물 단독 처리 시, 크립토크쿠스 네오포르만스에 대한 우수한 항진균 활성이 있는 것을 확인할 수 있었다.
- [0077] 따라서 본 발명의 인다졸계 화합물은 크립토크쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*) 곰팡이 균에 대해서 상기 인다졸계 화합물 자체만으로도 항진균제로서 사용 가능하다.
- [0079] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

## [0081] <준비에 및 실험방법>

### [0082] (1) 96 웰 플레이트 성장 어세이

[0083] 실험에 사용할 약물(항진균 보조제 화합물)을 10mM 농도에 맞추어 DMSO 용매에 녹여 준비한다(1mL 양으로 준비함). 96 웰 플레이트의 첫번째 칸의 최종농도를 10μM로 맞추기 위해 0.4mM 농도의 약물을 준비한다. 0.4mM 농도의 약물을 96 웰 플레이트 첫번째 칸에 첨가하고 DMSO를 사용하여 2번째 칸에 절반 농도로 희석시킨 약물을 만든다(예컨대, 첫번째 칸에 100μL의 0.4mM 약물을 넣고, 50μL DMSO를 두번째 칸에 첨가한 후, 첫번째 칸의 약물 50μL을 두번째 칸으로 이동시켜 혼합함). 총 8번째 칸까지 2배씩 희석시키는 연속 희석을 수행한다. 이후 제조된 약물을 멸균된 새로운 96웰 플레이트에 각각 5μL씩 분주한다. 이때 대조군은 DMSO만 처리한 군을 사용한다. 플레이트 1개당 20mL 정도의 배지가 사용되므로, 20mL의 CM배지를 falcon tube에 옮긴 후 0.5μg/mL 농도로 echinocandin 계열의 약물인 caspofungin을 처리한다(20mL당 10μg). 이후, Conidia stock (0.01% Tween)을  $2 \times 10^5$  개/mL 이 되도록 균수를 맞춘 후 caspofungin 처리한 20mL의 CM배지에 넣어준다(20mL 기준  $4 \times 10^6$  개). 그런 뒤, 준비된 conidia가 첨가된 배지를 용기에 첨가하고 multi-pipette을 사용하여 약물이 각각 5μL씩 함유되어 있는 96 웰 플레이트에 200μL씩 분주한다. 랩과 알루미늄 호일로 잘 밀봉하고 37℃에서 배양 후, 곰팡이의 성장 정도를 사진으로 촬영하여 확인한다.

[0085] (2) 6 웰 플레이트 스폿팅 어세이(spotting assay)

[0086] MM 아가 배지 또는 YPD 아가 배지를 제조하고, caspofungin를 0.5ug/mL 농도로 처리 후, 50mL 튜브에 각각 20mL씩 분주한다. 이후 사용할 약물(본 발명의 항진균 보조제 후보약물)의 최종농도를 5uM로부터 1/2단위로 희석하여 분주해 놓은 튜브에 처리한다. 이때 대조군으로는 caspofungin 0.5ug/mL과 DMSO 100uL만 처리한 배지와 처리하지 않은 배지를 각각 사용하였다. 멸균된 6 웰 플레이트에 준비한 배지 5mL씩 분주하고 고체화 시킨 후, *A. fumigatus*의 conidia를  $5 \times 10^3$  개씩 스폿팅하였고, *C. albicans* 및 *C. neoformans*는 각각 OD600=0.01에 맞추어 스폿팅하여 분석하였다.

[0088] (3) 동물실험

[0089] *A. fumigatus*의 포자를 37°C에서 5일간 고체 MM 배지에서 배양하였다. 포자는 0.01% Tween 80을 함유한 0.9% 식염수를 사용하여 채취하였다. 실험에 사용된 마우스는 5주령 수컷 BALB/C 마우스를 구입하여 1주일간 환경에 적응하도록 하였으며 면역억제를 실시할 때 모든 마우스의 체중은 18~20g이었다. 면역 억제를 위해 곰팡이 감염 4일 전에 사이클로포스파미드 150 mg/kg을 마우스에 주사하고, 3일 간격(감염 -4, -1, +1, +4, +7일)으로 주사를 계속하였다. 코르티손(112 mg/kg)은 곰팡이 감염 전날에 한 번 주사하였으며 곰팡이 감염 동안 흡입 마취제인 이소플루란을 사용하여 마우스를 마취하였다.  $5 \times 10^5$ 개의 원주 포자를 비강을 통해 감염시키고 곰팡이 감염 24시간 후 1mg/kg caspofungin을 복강 내 주사하였다. 이어서 5mg/kg의 본 발명의 인다졸계 화합물인 NE-G10을 20% HP-β-CD에 녹여 경구 투여하였다. 실험 종료 시점까지 매일 화합물을 투여하였다. 마우스를 모니터링하고 매일 생존율을 기록하였으며 박테리아 감염을 예방하기 위해 테트라사이클린을 1 g/L 투여하였다. 실험 종료 시점에 생존한 마우스는 고려대학교 동물실험윤리위원회(IACUC)의 지침에 따라 이산화탄소 가스로 안락사시켰다.

[0091] <실시예 1>

[0092] 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제의 항균활성을 향상시키는 효과(synergic effect)를 갖는 화합물의 발굴

[0093] 에키노칸딘계 항진균제의 경우, 많은 장점에도 불구하고 가격이 비싸고 살균효과(cidal effects)보다는 정균효과(static effect)로 인해 사용이 제한되어 왔다. 이에 본 발명자들은 에키노칸딘계 항진균제의 항진균 활성을 상승시킬 수 있고 동시에 정균효과를 개선할 수 있는 항진균제의 보조제들을 발굴하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였으며, 본 연구는 한국화학물은행으로부터 분양 받은 화합물라이브러리를 이용하여 연구를 수행하였다.

[0094] 후보 물질들은 한국화학물은행으로부터 분양받은 약 8,000종의 화합물을 기반으로, 도 1과 같은 방법을 통해 탐색하였으며, 본 실험에서 사용한 화합물라이브러리는 한국화학물은행([www.chembank.org](http://www.chembank.org))에서 제공받아 사용하였다.

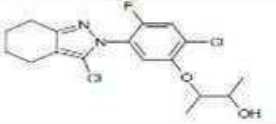
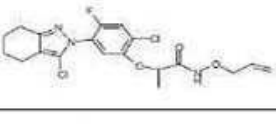
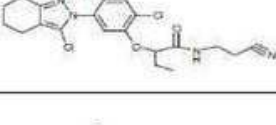
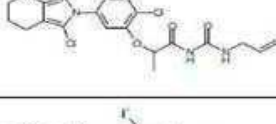
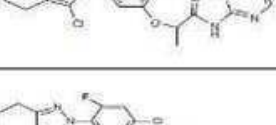
[0095] 구체적으로, 아스퍼질러스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*) 곰팡이균, 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 곰팡이균 및 에 대해 에키노칸딘계 항진균제인 caspofungin와 후보 물질을 함께 처리한 후, caspofungin의 항진균 활성을 향상시킬 수 있는 후보 물질을 선별하였다.

[0096] 보다 구체적으로, caspofungin 항진균제(0.5ug/ml)와 후보 화합물(6.2uM)을 함께 처리한 배지에서 아스퍼질러스 푸미가투스를 배양 후, 성장상태를 분석하였다. 또한 이때 비교를 위해 caspofungin 항진균제만을 단독 처리한 균을 사용하였다.

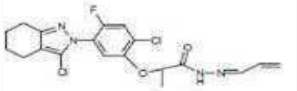
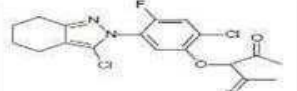
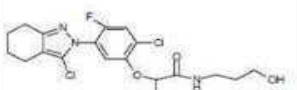
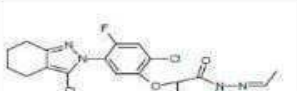
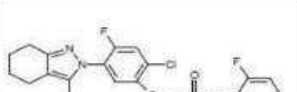
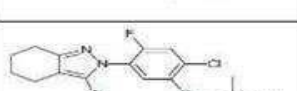
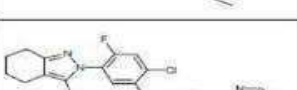
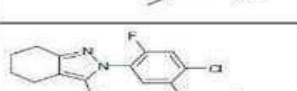
[0097] 또한, caspofungin 항진균제(0.01ug/ml)와 후보 화합물(6.2uM)을 함께 처리한 배지에서 칸디다 알비칸스를 배양 후, 성장상태를 분석하였다.

[0098] 상기와 같은 분석 결과는 하기 표 1에 나타낸 바와 같다.

표 1

| 번호<br>(부여명칭) | 화합물 구조식                                                                             | 아스퍼질러스 푸미가투스<br>에 대한 항진균 활성분석 |                              | 칸디다 알비칸스에 대한<br>항진균 활성분석 |                              |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------------|
|              |                                                                                     | MIC(μM)<br>(화합물<br>단독처리)      | MIC(μM)<br>(CAS+화합물<br>병용처리) | MIC(μM)<br>(화합물<br>단독처리) | MIC(μM)<br>(CAS+화합물<br>병용처리) |
| ①            |    | 2.1                           | -                            | -                        | -                            |
| ②            |    | 3.1                           | -                            | -                        | -                            |
| ③            |    | 3.1                           | -                            | -                        | -                            |
| ④<br>NE-A03  |    | 1.56                          | -                            | -                        | 3                            |
| ⑤            |  | 3.1                           | -                            | -                        | -                            |
| ⑥<br>NE-G10  |  | 0.39                          | 0.03                         | -                        | 0.4                          |
| ⑦            |  | 12.5                          | -                            | -                        | -                            |

[0099]

|             |                                                                                     |      |   |   |     |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------|---|---|-----|
| ⑨<br>NE-A12 |    | 3.1  | - | - | 1.5 |
| ⑩           |    | 0.78 | - | - | -   |
| ⑪           |    | 6.2  | - | - | -   |
| ⑫<br>NE-G11 |    | 6.1  | - | - | 3   |
| ⑬<br>NE-F06 |    | 3.1  | - | - | 0.8 |
| ⑭<br>NE-E04 |    | 3.1  | - | - | 3   |
| ⑮           |   | 0.78 | - | - | -   |
| ⑯           |  | 0.78 | - | - | -   |

[0100]

|             |  |      |      |   |     |
|-------------|--|------|------|---|-----|
| ⑬           |  | 1.56 | -    | - | -   |
| ⑭<br>NE-D03 |  | 0.78 | 12.5 | - | 1.5 |
| ⑮<br>NE-E07 |  | 3.1  | -    | - | 6   |
| ⑯           |  | 3.1  | -    | - | -   |
| ⑰<br>NE-B06 |  | 0.78 | -    | - | 1.5 |
| ⑱           |  | 6.1  | -    | - | -   |
| ㉑<br>NE-F11 |  | 1.56 | -    | - | 0.8 |
| ㉓<br>NE-H08 |  | 3.1  | -    | - | 0.8 |

[0101]

|             |  |      |   |   |     |
|-------------|--|------|---|---|-----|
| ②           |  | 3.1  | - | - | -   |
| ⑤           |  | 6.1  | - | - | -   |
| ⑦<br>NE-D07 |  | 1.56 | - | - | 1.5 |
| ⑧           |  | 3.1  | - | - | -   |
| ⑨           |  | 3.1  | - | - | -   |
| ⑩<br>NE-F09 |  | 3.1  | - | - | 3   |
| ⑪<br>NE-F08 |  | 1.56 | - | - | 0.8 |
| ⑬           |  | 6.2  | - | - | -   |

[0102]

|             |  |      |   |   |   |
|-------------|--|------|---|---|---|
| ⑭<br>NE-F07 |  | 0.78 | - | - | 3 |
| ⑮<br>NE-A03 |  | 3.1  | - | - | 6 |
| ⑯           |  | 1.56 | - | - | - |

[0103]

[0105] 그 결과, 상기 표 1에 기재된 바와 같이, 아스퍼질러스 푸미가투스에 대한 항진균 활성 분석결과, 각 화합물을 단독 처리한 경우, 아스퍼질러스 푸미가투스의 성장을 저해하는 항진균 활성이 있는 것으로 나타났으며, 특히 표 1의 화합물 중에서 ⑥번 화합물의 경우, 상기 화합물을 단독 처리한 군에 비해 caspofungin와 함께 처리한 군에서 아스퍼질러스 푸미가투스에 대한 항진균 활성이 매우 현저하게 증가되어 있는 것으로 나타났다.

[0106] 또한, 칸디다 알비칸스에 대한 항진균 활성 분석결과, 화합물을 단독 처리한 군의 대부분에서는 칸디다 알비칸스의 성장을 저해시키지 못하는 것으로 나타난 반면, 반면, 상기 표 1의 후보 화합물들 중에서 4번, 6번, 8번, 11번, 12번, 13번, 17번, 18번, 20번, 22번, 23번, 26번, 29번, 30번, 32번 및 33번 화합물들은 caspofungin와

함께 처리할 경우, 칸디다 알비칸스에 대한 향상된 항진균 활성을 나타내었다(도 2 참조).

[0108] 따라서, 본 발명자들은 상기와 같은 결과를 통해, echinocandin 계열의 항진균제인 caspofungin과 병용 처리 시, caspofungin의 항진균 활성을 더욱 증진시킬 수 있는 보조용 항진균제로서 상기 16종의 화합물을 사용할 수 있음을 확인하였으며, 이들 화합물은 인다졸(indazole)계 화합물에 해당됨을 알 수 있었고, 특히 화합물 ⑥번의 화합물은 caspofungin과 병용 처리 시, 아스퍼질러스 푸미가투스 및 칸디다 알비칸스 모두에 대해 가장 우수한 항진균 활성을 보이는 것으로 나타났다. 이에 본 발명자들은 ⑥번 화합물을 "NE-G10" 화합물로 명명하였다.

[0110] <실시예 2>

[0111] **본 발명의 인다졸계 화합물의 에키노칸딘계(Echinocandins) 항진균제에 대한 시너지 항균활성 분석**

[0113] <2-1> 아스퍼질러스 푸미가투스에 대한 항진균 활성 분석

[0114] 상기 <실시예 1>을 통해 발굴된 항진균 활성을 갖는 화합물들 중에서, caspofungin과 병용 처리 시 가장 우수한 항진균 활성을 나타낸 NE-G10 화합물(6번 화합물)에 대하여, 항진균제에 대한 시너지 항균활성 여부를 재확인하기 위한 실험을 수행하였다.

[0115] 이를 위해, 96웰 플레이트에서 NE-G10 화합물(5, 2.5, 1.2, 0.6, 0.3, 0.15, 0.08, 0.04 $\mu$ M) 및 caspofungin(CAS) 항진균제(0.1, 0.5, 1.0 $\mu$ g/ml)를 농도별로 병용 처리 후, 아스퍼질러스 푸미가투스에 대한 성장 정도를 분석하였다. 이때 대조군으로는 DMSO만을 처리한 군 및 NE-G10 화합물만을 단독 처리한 군을 각각 사용하였다.

[0116] 그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, DMSO만을 처리한 대조군의 경우, 아스퍼질러스 푸미가투스 곰팡이가 모두 성장한 것으로 나타났고, NE-G10 화합물만을 단독 처리한 군 및 caspofungin을 단독 처리한 군에서도 아스퍼질러스 푸미가투스 곰팡이가 성장한 것으로 나타난 반면, NE-G10 화합물과 caspofungin을 병용 처리한 군에서는 이들을 단독 처리한 군에 비해 아스퍼질러스 푸미가투스의 성장 저해 활성이 월등히 우수한 것으로 나타났다.

[0117] 또한, 6웰 플레이트의 고체배지에서 항진균 활성을 육안으로 분석한 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, DMSO만을 처리한 대조군의 경우, 48시간 배양 후, 아스퍼질러스 푸미가투스 곰팡이가 충분히 성장한 것을 확인할 수 있었다. 반면, caspofungin을 단독 처리한 경우, 0.1 $\mu$ g/ml 처리 농도부터 아스퍼질러스 푸미가투스의 성장이 억제되어 0.5 및 1.0  $\mu$ g/ml 처리 농도에서 성장이 가장 많이 억제되는 것으로 나타났다. 그러나 96시간 배양 후에는 caspofungin을 다양한 농도로 처리하여도 다시 아스퍼질러스 푸미가투스 곰팡이의 성장이 회복되는 것으로 나타났다.

[0118] 한편, caspofungin 0.5 $\mu$ g/ml 농도와 NE-G10 화합물 다양한 농도로 병용처리한 경우, NE-G10 화합물을 0.62 $\mu$ M 농도로 병용처리한 경우에는 아스퍼질러스 푸미가투스의 성장이 매우 느려진 것으로 나타났고, 96시간 배양 후에도 상기 곰팡이의 성장을 관찰할 수 없었다.

[0119] 이를 통해 본 발명자들은 본 발명에서 스크리닝된 인다졸계 화합물들을 에키노칸딘계열의 항진균제와 병용 처리할 경우, 에키노칸딘계 항진균제의 항균 활성을 효율적으로 상승시킬 수 있는 시너지 효과뿐만 아니라, 에키노칸딘계 항진균제의 사용량을 감소시키면서 동시에 우수한 항진균 활성을 유도할 수 있음을 알 수 있었다.

[0121] 나아가 본 발명자들은 동물실험을 통해 본 발명의 인다졸계 화합물의 항진균 효과를 검증하기 위한 실험을 수행하였다. 구체적으로 이를 위해 5주령 수컷 BALB/c 마우스를 구입하였고 4일부터 3일에 한 번씩 사이클로포스파마이드(체중 150 mg/kg)를 주사하여 면역 체계를 억제하고, 1일째에는 하이드로코르티손 아세테이트(체중 112.5 mg/kg)를 주사했다. 마우스를 이소플루란 흡입으로 마취한 후 포자 용액 20  $\mu$ l를 5 x 10<sup>5</sup>개의 분생포자가 포함된 용액 한 방울로 비강 내 감염시켰다. 마취된 마우스의 코에 포자 용액 한 방울을 떨어뜨려 마우스가 고통 없이 용액을 흡입할 수 있도록 했으며 각 실험군에는 8마리의 생쥐가 사용되었고 두 번의 독립적인 실험이 수행되었다. 감염 24시간 후, 그림 4와 같이 caspofungin 1mg/kg과 NE-G10 5mg/kg을 매일 경구 투여하거나 단독 투여 또는 두 약물을 모두 투여하였다. 한 가지 약물만 투여한 경우에는 약물을 녹이는 데 사용되는 용매인 20%

hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin 을 약물 대신 투여하였다.

[0123] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, *A. fumigatus*에 감염된 마우스는 NE-G10을 투여했음에도 불구하고 감염 5일 후부터 죽기 시작했고, 감염 6일 후 6마리가 죽었으며, 감염 8일 후에는 모든 마우스가 죽어 0%의 생존율을 나타내었다. 감염 후 약물을 투여하지 않은 마우스는 4일 후부터 죽기 시작했고, 10일 후에 역시 모든 마우스가 죽어 0%의 생존율을 나타내었다. caspofungin을 투여한 쥐는 감염 6일 후부터 죽기 시작했고 감염 10일 후에 12.5%의 마우스가 생존했다.

[0124] 반면, caspofungin과 NE-G10 화합물을 병용 투여한 군은 모두 6일 후 죽기 시작했고 25%의 마우스가 감염 10일 후에도 생존하는 것으로 나타났다.

[0125] 이를 통해 본 발명자들은 본 발명의 인다졸계 화합물이 caspofungin의 항진균 효과에 시너지 효과를 유도할 수 있음을 보다 명백히 확인할 수 있었다.

#### [0127] <2-2> 칸디다 알비칸스에 대한 항진균 활성 분석

[0128] 나아가 본 발명자들은 본 발명의 인다졸계 화합물의 병용처리에 따른 항진균제의 시너지 효과를 칸디다 알비칸스에 대해 재확인하는 실험을 수행하였다. 상기 <2-1>의 96웰 플레이트에서의 실험 조건과 동일하게 수행하되, 곰팡이로서 칸디다 알비칸스를 사용하였다.

[0130] 앞서 실시예 1에서 확인된 바와 같이, 본 발명에서 발굴한 인다졸계 화합물 중, 16개의 화합물은 caspofungin을 단독 처리한 군에 비해 함께 처리하였을 때, 현저하게 상승된 항진균 활성을 확인할 수 있었다(상기 표 1).

[0131] 병용처리 시, 항진균 활성을 증가시킨 16개 화합물 중에서, NE-G10 화합물에 대해 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[0132] 고체 배지 상에서, 칸디다 알비칸스의 곰팡이를 분주한 후, 각기 다른 농도의 caspofungin을 단독 처리한 군, NE-G10 화합물을 단독 처리한 군 및 각기 다른 농도의 NE-G10 화합물을 caspofungin과 병용 처리한 군에 대해, 칸디다 알비칸스의 곰팡이에 대한 항진균 활성을 분석하였다.

[0134] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, NE-G10 화합물을 단독 처리한 군 및 caspofungin을 단독 처리한 군에서는 여전히 칸디다 알비칸스의 곰팡이가 성장되는 것으로 나타난 반면, NE-G10 화합물과 caspofungin을 병용처리한 군들에서는 상기 약물을 단독 처리한 군에 비해 월등히 향상된 항진균 활성을 확인할 수 있었다(도 6A).

[0135] 또한, 도 6B에 나타난 바와 같이, 0.01 $\mu$ g/ml - 0.02 $\mu$ g/ml의 caspofungin만을 처리한 경우, *C. albicans* 곰팡이가 활발히 성장하는 것으로 나타나, *C. albicans*에 대한 항진균 활성이 미비한 것으로 나타났다. caspofungin과 다양한 농도의 NE-G10 화합물을 처리한 경우, *C. albicans*의 성장이 효과적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

[0136] 이러한 결과는 본 발명의 인다졸계 화합물이 caspofungin 항진균제와 함께 처리할 경우, 본 발명의 인다졸계 화합물이 항진균제의 항균 활성을 상승시켜, *C. albicans*에 대한 항진균 활성에 대한 시너지 효과를 유도할 수 있음을 알 수 있었다.

#### [0138] <2-3> 크립토코쿠스 네오포르만스에 대한 항진균 활성 분석

[0139] 본 발명자들은 *A. fumigatus* 및 *C. albicans* 이외에도 *Cryptococcus neoformans*(*C. neoformans*) 곰팡이 군에 대해 본 발명의 인다졸계 화합물이 항진균 활성을 가지는지 확인하기 위해 플레이트 어sey 실험을 수행하였다.

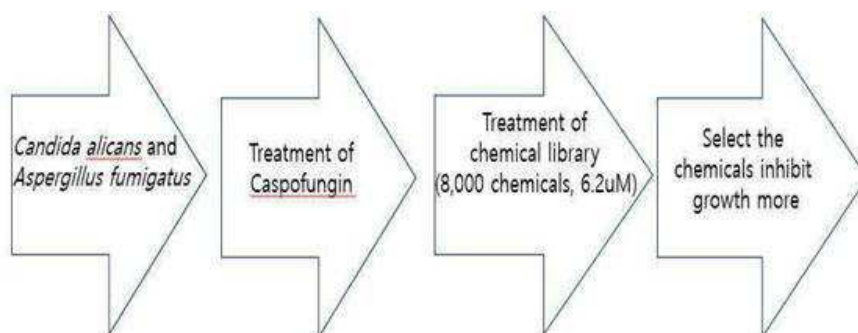
[0141] 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이, 본 발명의 인다졸계 화합물이 *C. neoformans* 곰팡이 군에 대해 우수한 항진균 활성을 가지고 있는 것으로 나타났으며, 이러한 항진균 활성은 본 발명의 인다졸계 화합물을 caspofungin과

병용처리한 균들에 비해 더 우수한 것으로 나타났다.

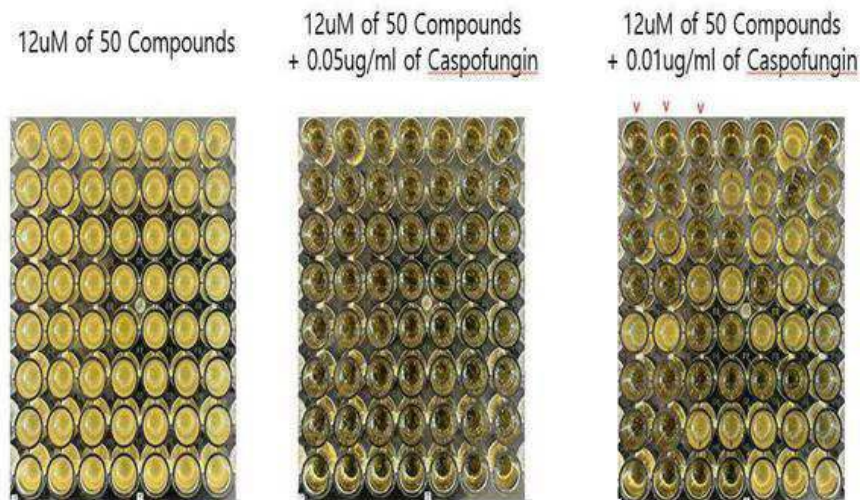
- [0143] 또한, 본 발명자들은 본 발명의 인다졸계 화합물들 중에서 NE-G10과 NE-F07 화합물의 항진균 활성을 항진균제들의 활성과 비교하였다. 이때 상기 항진균제로는 caspofungin, azole계인 voriconazole, polyene계통인 amphotericin B를 사용하였다.
- [0145] 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, 흥미롭게도 caspofungin에 대해서는 *C. neoformans* 곰팡이균이 높은 저항성을 보여 caspofungin 처리에도 불구하고 곰팡이 균이 잘 성장하는 것으로 나타났다. 한편, azole계인 voriconazole과 polyene계통인 amphotericin B를 처리한 균에서는 이들 항생제에 대해 저항성을 보이지 않는 것으로 나타나, 곰팡이 균의 성장이 억제되는 것으로 나타났다(voriconazole 및 amphotericin B의 MIC는 각각 0.63과 1.25로 나타남).
- [0146] 반면, 본 발명의 인다졸계 화합물인 NE-G10 및 NE-F07을 처리한 균에서는 상기 항생제들에 비해 더 우수한 항진균 활성이 있는 것으로 나타났으며, NE-G10 및 NE-F07의 *C. neoformans*에 대한 MIC는 각각 1.25 및 0.31인 것으로 나타났다.
- [0147] 본 발명의 상기 실시예들에서 수행한 본 발명의 인다졸계 화합물들에 대한 3종류 곰팡이 균에 대한 항진균 활성을 분석한 결과(MIC 분석)는 도 9 내지 도 12에 나타내었다.
- [0149] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명의 인다졸계 화합물은 항생제의 병용처리 없이도 단독으로 *C. neoformans* 곰팡이 균에 대해 우수한 항진균 활성을 보여, *C. neoformans* 곰팡이 균에 대한 단독 항진균제로도 유용하게 사용할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0151] 이상 본 발명에서 발굴한 인다졸계 화합물들은 *A. fumigatus* 및 *C. albicans* 이외에도 *Cryptococcus neoformans*(*C. neoformans*) 곰팡이에 대한 항진균 활성을 보여, 다양한 병원성 진균에 작용하는 항진균제로서 유용하게 사용할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0153] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

## 도면

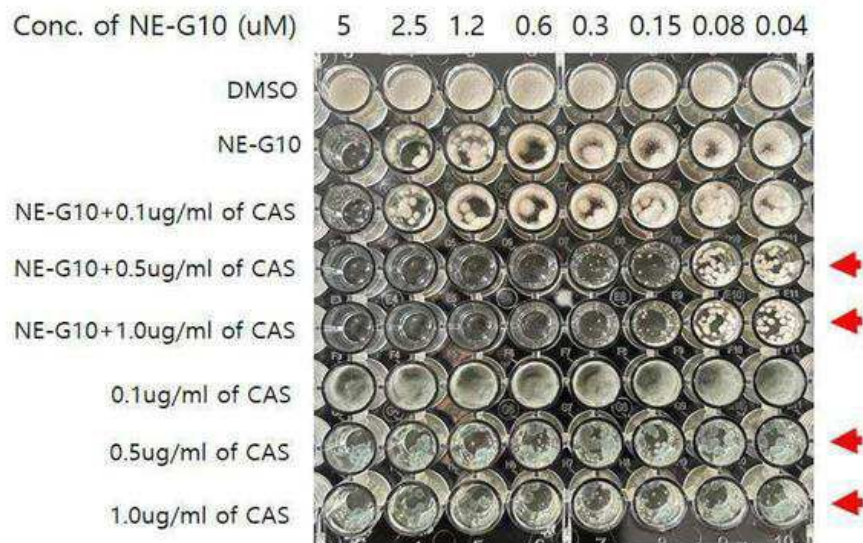
### 도면1



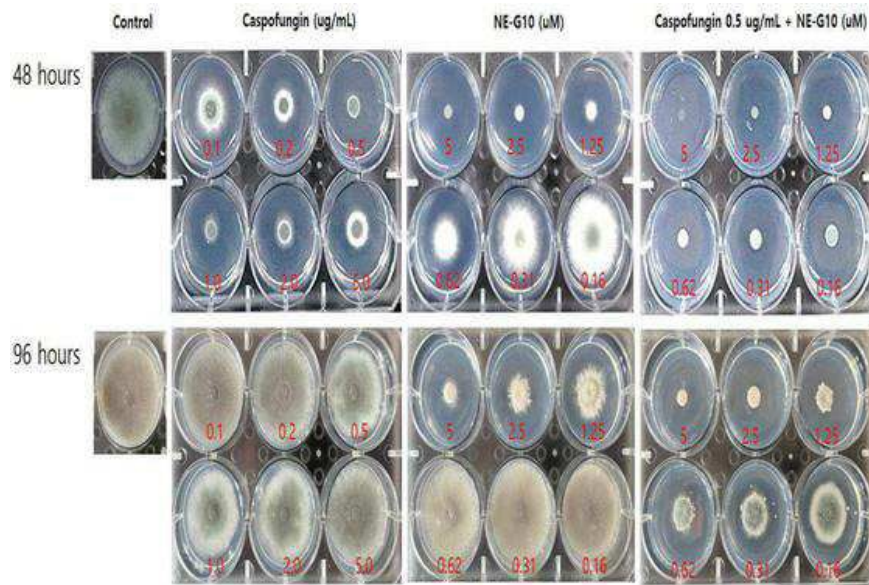
도면2



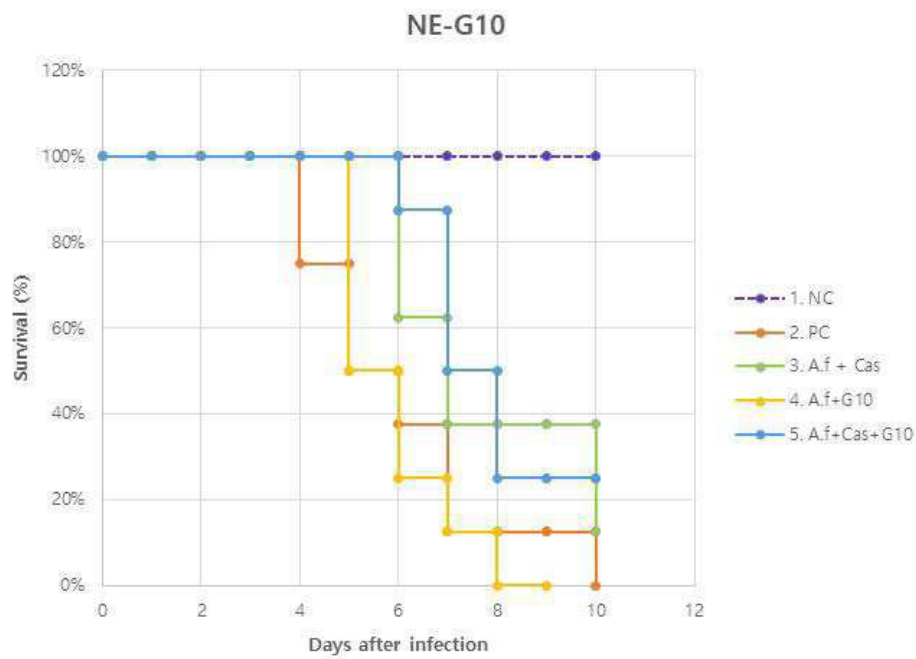
도면3



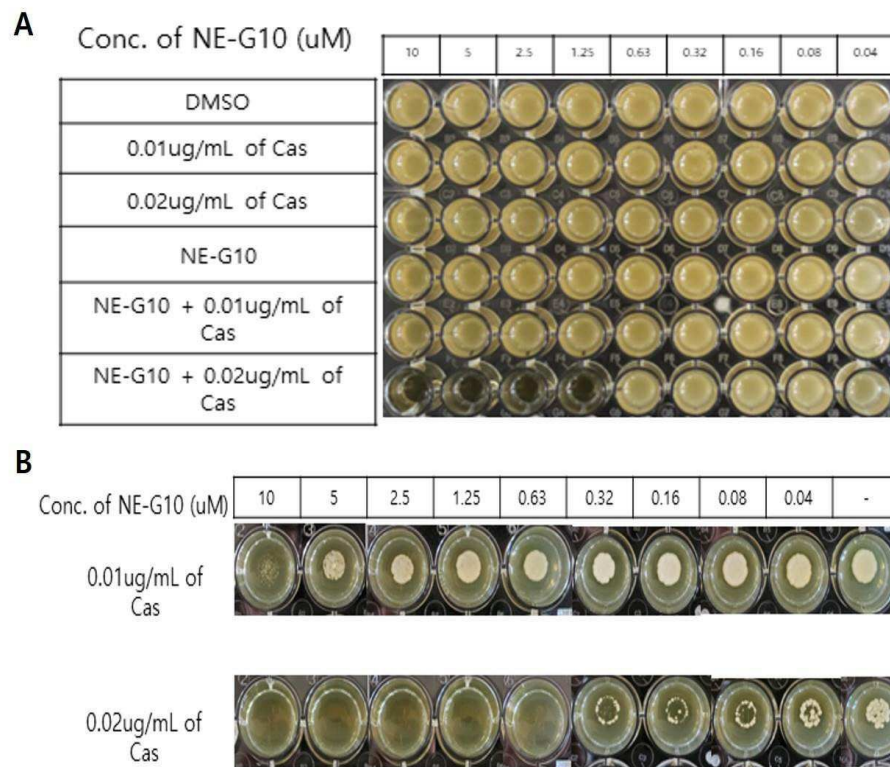
도면4



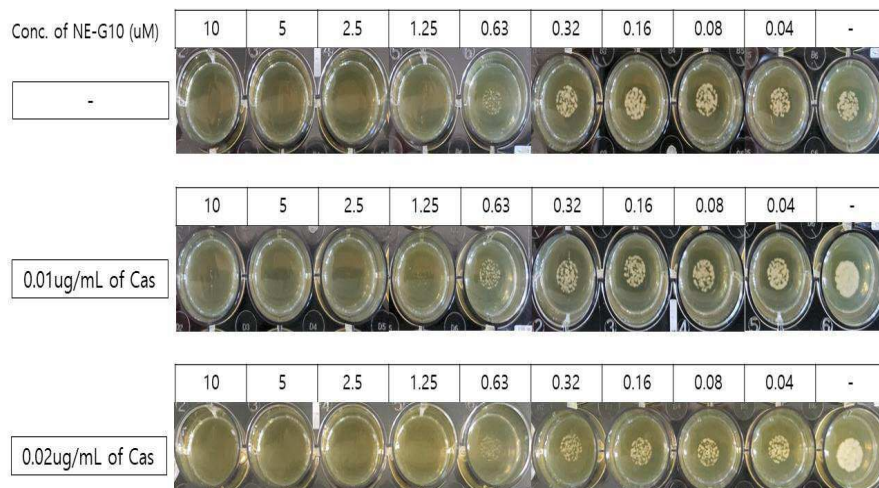
도면5



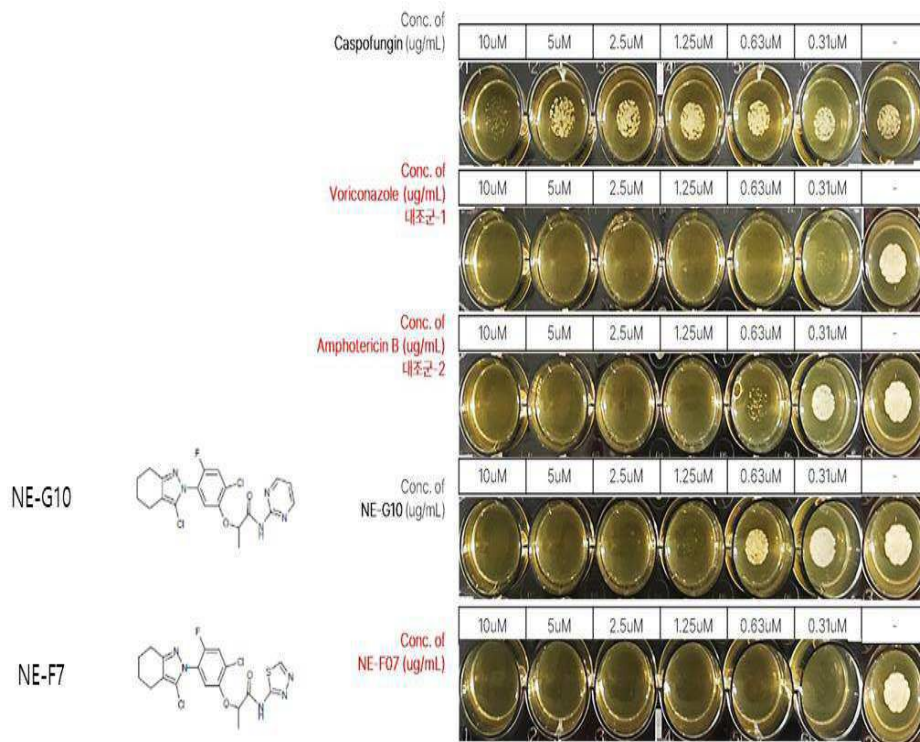
도면6



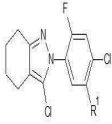
도면7



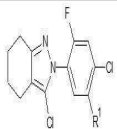
도면8



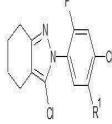
도면9

|                                                                                   |                                                                                     | <i>A. fumigatus</i> |                        | <i>C. albicans</i> |                         | <i>C. neoformans</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
|  | R1                                                                                  | MIC (uM)            | MIC (+0.5ug/ml of CAS) | MIC (uM)           | MIC (+0.02ug/ml of CAS) | MIC (uM)             |
|                                                                                   |    | 0.78                | 0.78                   | >12.5              | 1.5                     | 2.5                  |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | 6                       | -                    |
|                                                                                   |    | 6.1                 | 6.1                    | >12.5              | >12.5                   | -                    |
|                                                                                   |    | 2.1                 | 2.1                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | >12.5                   | 2.5                  |
|                                                                                   |   | 1.56                | 1.56                   | >12.5              | >12.5                   | 2.5                  |
|                                                                                   |  | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | 3                       | 2.5                  |
|                                                                                   |  | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | 3                       | 2.5                  |
|                                                                                   |  | 0.78                | 0.78                   | >12.5              | >12.5                   | 5                    |

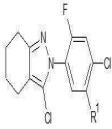
도면10

|                                                                                   |                                                                                     | <i>A. fumigatus</i> |                        | <i>C. albicans</i> |                         | <i>C. neoformans</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
|  | R1                                                                                  | MIC (uM)            | MIC (+0.5ug/ml of CAS) | MIC (uM)           | MIC (+0.02ug/ml of CAS) | MIC (uM)             |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |    | 12.5                | 12.5                   | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |   | 6.2                 | 6.2                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |  | 0.78                | 0.78                   | >12.5              | >12.5                   | -                    |
|                                                                                   |  | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |  | 0.78                | 0.78                   | >12.5              | >12.5                   | -                    |

도면11

|                                                                                   |                                                                                     | <i>A. fumigatus</i> |                        | <i>C. albicans</i> |                         | <i>C. neoformans</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
|  | R1                                                                                  | MIC (uM)            | MIC (+0.5ug/ml of CAS) | MIC (uM)           | MIC (+0.02ug/ml of CAS) | MIC (uM)             |
|                                                                                   |    | 1.56                | 1.56                   | >12.5              | >12.5                   | -                    |
|                                                                                   |    | 6.2                 | 6.2                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |    | 1.56                | 1.56                   | >12.5              | 3                       | 5                    |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | >12.5                   | 10                   |
|                                                                                   |   | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | 1.5                     | -                    |
|                                                                                   |  | 6.1                 | 6.1                    | >12.5              | 3                       | 20                   |
|                                                                                   |  | 6.2                 | 6.2                    | >12.5              | >12.5                   | -                    |
|                                                                                   |  | 0.39                | 0.03                   | >12.5              | 0.4                     | 1.5                  |

도면12

|  | R1                                                                                  | <i>A. fumigatus</i> |                        | <i>C. albicans</i> |                         | <i>C. neoformans</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|
|                                                                                   |                                                                                     | MIC (uM)            | MIC (+0.5ug/ml of CAS) | MIC (uM)           | MIC (+0.02ug/ml of CAS) | MIC (uM)             |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | 0.8                     | -                    |
|                                                                                   |    | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | 0.8                     | 2.5                  |
|                                                                                   |    | 1.56                | 1.56                   | >12.5              | 0.8                     | 10                   |
|                                                                                   |    | 0.78                | 0.78                   | >12.5              | 1.5                     | -                    |
|                                                                                   |   | 1.56                | 1.56                   | >12.5              | 0.8                     | -                    |
|                                                                                   |  | 1.56                | 1.56                   | >12.5              | 1.5                     | 20                   |
|                                                                                   |  | 0.78                | 0.78                   | >12.5              | 3                       | 0.3                  |
|                                                                                   |  | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | >12.5                   | 20                   |
|                                                                                   |  | 3.1                 | 3.1                    | >12.5              | 6                       | 1.25                 |