

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2012 년 6 월 28 일 (28.06.2012)



(10) 국제공개번호
WO 2012/086889 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 31/34 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/366 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/004629
- (22) 국제출원일: 2011 년 6 월 24 일 (24.06.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0134865 2010 년 12 월 24 일 (24.12.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY)** [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR).
- (72) 발명자: **김원곤 (KIM, Won Gon)** [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **권윤주 (KWON, Yun Ju)** [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR). **손미진 (SOHN, Mi Jin)** [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52 번지, 305-806 Daejeon (KR).
- (74) 대리인: **손민 (SON, Min)**; 서울 강남구 삼성동 159-9 도심공항타워 6 층 한얼국제특허사무소, 135-973 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

규칙 4.17 에 의한 선언서:

— 신규성을 해치지 아니하는 개시 또는 신규성 상실의 예외에 관한 선언 (규칙 4.17(v))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))



WO 2012/086889 A1

(54) Title: NOVEL HISPIDIN-BASED COMPOUND HAVING AN ENOYL-REDUCTASE-INHIBITING AND AN ANTIMICROBIAL ACTIVITY

(54) 발명의 명칭 : 에노일 리덕테이즈 저해 및 항균 활성을 갖는 신규한 히스피딘계 화합물

(57) Abstract: The present invention relates to a hispidin-based compound represented by chemical formula 1 or chemical formula 2, which exhibits an enoyl-reductase-inhibiting activity and an antimicrobial activity, and relates to a use therefor. The compound of the present invention strongly inhibits the activity of the Fab I and Fab K enzymes and therefore has a strong antimicrobial action against pathogenic microorganisms and antibiotic-resistant microbes, and, more particularly, exhibits a powerful antimicrobial action against MRSA and therefore can advantageously be used in the treatment of infectious diseases caused by superbacteria.

(57) 요약서: 본 발명은 에노일 리덕테이즈 저해 활성 및 항균활성을 나타내는 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 히스피딘계 화합물 및 이의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 화합물은 Fab I, Fab K 효소의 활성을 강력하게 저해함으로써, 병원성 미생물 및 항생제 내성균에 대하여 강한 항균력을 가지며, 특히 MRSA 에 대하여 강력한 항균 활성을 나타냄으로써 슈퍼박테리아에 의한 감염성 질환의 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 에노일 리덕테이즈 저해 및 항균 활성을 갖는 신규한 히스피딘계 화합물

기술분야

- [1] 본 발명은 에노일 리덕테이즈 저해 활성 및 항균 활성을 나타내는 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 히스피딘계 화합물 및 이의 용도에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 일반적으로 병원성 미생물에 의한 직접 혹은 간접적인 피해는 경제, 환경, 의학적으로 많은 문제를 야기시키고 있다. 식품산업에서 식품 유통과정 중의 부패로 인한 손실, 농산업에서 농작물에 대한 과량의 화학 살충제의 사용으로 인한 인체의 유해성 및 환경오염, 항생제의 오남용으로 인한 항생제 내성 균주의 출현 등 사회 전반에서 많은 문제들을 야기시키고 있다. 감염병의 치료에 있어 합리적인 항생제 요법은 환자의 예후를 결정하는 중요한 요인임에도 불구하고, 상기와 같은 항생제 내성 균주의 출현으로 인하여 과거와 달리 효과적인 항생제의 선택이 더욱 어려워지고 있다.
- [4] 예를 들어, 인체 감염의 가장 흔한 원인균인 포도상구균의 마지막 치료제라고 하던 반코마이신(vancomycin)에 의해서만 치료가 되는 메치실린 내성 포도상구균(methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)이 1970년대부터 문제시된 이후, 1988년에는 반코마이신에 내성을 보이는 장구균(vancomycin resistant *Enterococcus*, VRE)이 유럽에서 처음으로 발견되었고, 1990년 후반에는 일본, 미국, 프랑스, 한국에서 반코마이신에 내성을 보이는 포도상구균(vancomycin intermediate-resistant *S. aureus*, VISA)이 발생하였다. 나아가 반코마이신(vancomycin)에 대하여 고도의 내성을 보이는 포도상구균(vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA)이 2002년 미국질병통제국(Centers for Disease Control)에서 세계 최초로 보고되면서, 소위 "슈퍼박테리아"의 확산 가능성이 매우 높아지고 있다. 이에 따라, 항생제 내성 문제가 범세계적인 위기로 떠오르며 새로운 개념의 항생제 개발이 시급히 요구되고 있다.
- [5] 한편, 1990년 중반부터 시작한 병원 미생물 유전체 연구 결과, 새로운 항생제 타겟이 발굴되어 신개념의 항생제 개발 가능성이 열리기 시작하였다. 미생물 유전체 정보를 활용하여 발굴 및 검증된 새로운 항생제 타겟 중 하나인 에노일 리덕테이즈(enoyl-ACP reductase)는 지방산 합성 주기(cycle) 중 연장(elongation) 단계의 마지막을 담당하는, 미생물의 생장에 필수적인 효소로서, 그람 양성균 및 음성균에 모두 존재하며, 인간과 상동성(homology)이 매우 낮기 때문에 새로운 항생제 표적으로 주목받고 있다. 특히, 기존에 그 기전이 밝혀지지 않았던

살균제 트리클로산(triclosan)과 결핵 치료제 이소니아지드(isoniazid)의 작용 표적으로 밝혀짐으로써, 항생제 개발 작용점으로 재확인된 바 있다.

- [6] 에노일 리덕테이즈(enoyl reductase) 효소에는 Fab I, Fab K, Fab L 등 3 가지의 이성구조(isoform)가 존재하는데, 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 대장균(*E. coli*) 등 대부분의 주요한 병원성 세균에는 Fab I가 공통적으로 존재하며, 폐렴구균에는 Fab K 만이 존재한다.
- [7] 따라서, 새로운 Fab I 저해물질은 기존의 항생제 내성균을 치료할 수 있는 신개념의 치료제로서 유망하다. 또한, 새로운 Fab K 저해물질은 폐렴구균에 대한 치료제로서 유망하다.

[8]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 이에, 본 발명자들은 미생물, 식물 등 천연물로부터 Fab I, Fab K 저해물질을 개발하기 위해 예의 노력한 결과, *Phellinus linteus* 08090-29 균주에서 분리된 신규한 펠린스타틴 화합물이 Fab I 및 Fab K를 강력하게 저해할 뿐만 아니라, 내성균에 대한 항균 활성을 나타내는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다. 또한, 본 발명자들은 히스피딘 화합물이 Fab I 및 Fab K를 강력하게 저해할 뿐만 아니라 내성균에 대한 항균 활성을 나타내는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[10]

과제 해결 수단

- [11] 본 발명의 목적은 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 그의 이성질체, 유도체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 항균용 조성물을 제공하는 것이다.
- [12] 본 발명의 다른 목적은 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 에노일 리덕테이즈 활성 억제제를 제공하는 것이다.
- [13] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 항균용 의약품 조성물을 제공하는 것이다.
- [14] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환이 발병한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 병원성 미생물 또는 감염성 질환의 치료방법을 제공하는 것이다.
- [15] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 병원성 미생물 또는 내성균의 에노일 리덕테이즈 활성을 억제하는 방법을 제공하는 것이다.

- [16] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는
이의 약학적으로 허용가능한 염의 항균제 제조를 위한 용도를 제공하는 것이다.
- [17] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [18] 본 발명의 또 다른 목적은 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로
허용가능한 염을 제공하는 것이다.

[19]

발명의 효과

- [20] 본 발명의 화합물은 Fab I, Fab K 효소의 활성을 강력하게 저해함으로써,
병원성 미생물 및 항생제 내성균에 대하여 강한 항균력을 가지며, 특히 MRSA에
대하여 강력한 항균 활성을 나타냄으로써 슈퍼박테리아에 의한 감염성 질환의
치료에 유용하게 사용할 수 있다.

[21]

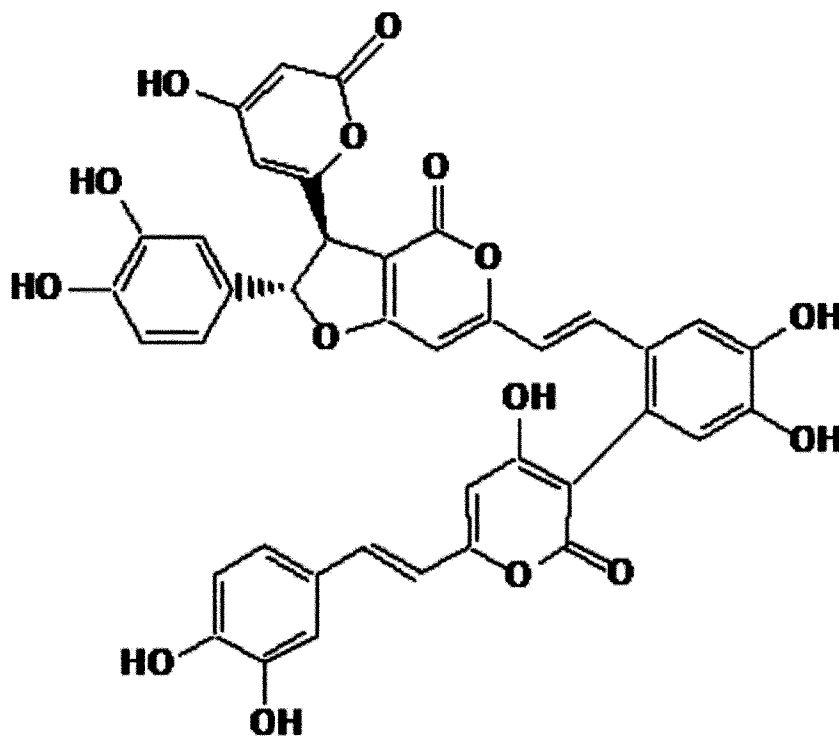
발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [22] 상기의 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 1 또는
화학식 2로 표시되는 화합물, 그의 이성질체, 유도체, 또는 이의 약학적으로
허용가능한 염을 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.

[23]

[24] [화학식 1: 펠린스타틴]

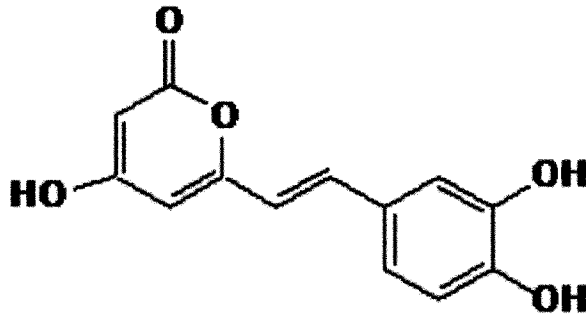
[25]



[26]

[27] [화학식 2: 히스피딘]

[28]



[29]

[30] 본 발명의 화합물은 펠린스타틴 또는 히스피딘 뿐만 아니라, 그의 이성질체, 유도체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 상기 펠린스타틴은 히스피딘계 화합물로서 본 발명자들에 의해 처음으로 발견되었다.

[31] 본 발명에서, '이성질체'란 화학식은 같으나 동일하지는 않은 화합물의 관계를 의미하며, 이러한 이성질체의 종류에는 구조 이성질체, 기하 이성질체, 광학 이성질체 및 기하 이성질체가 있다. 입체이성질체란, 동일한 화학적 구성을 갖지만, 공간 중에서 원자 또는 기의 배열의 측면에서 상이한 화합물 의미하고, 광학 이성질체(거울상 이성질체)는 서로 겹치지 않는 거울상을 갖는 한 화합물의 두 입체이성질체를 의미하며, 부분입체이성질체는 둘 이상의 비대칭 중심을 가지고 그것의 분자들이 서로 거울상이 아닌 입체이성질체를 의미한다.

[32] 본 발명에서, "유도체"는 펠린스타틴 또는 히스피딘 화합물의 구조 일부를 다른 원자나 원자단으로 치환하여 얻어지는 화합물을 의미하며, "약학적으로 허용가능한 염"은 화합물의 상대적으로 무독성인 무기 및 유기산 부가염을 의미한다.

[33] 본 발명의 화합물은 우수한 에노일 리덕테이즈 저해 활성을 갖는다. 특히, 본 발명의 화합물은 Fab I 또는 Fab K에 대하여 우수한 저해 활성을 나타낸다. 본 발명에서 용어, "Fab I" 또는 "Fab K"는 에노일 리덕테이즈의 이성구조를 의미하며, 이는 현재 항생제 타겟으로 주목받고 있는 효소로 본 발명의 화합물은 상기 Fab I 또는 Fab K를 효과적으로 저해하여 항균용 물질로 사용할 수 있다.

[34] 본 발명의 일 실시예에서는, 예시적으로 주요 병원균인 스태필로코커스 아우레우스의 Fab I에 대한 펠린스타틴의 효소 저해능을 측정하였고, 측정 결과, 펠린스타틴의 IC₅₀은 6μM로서 Fab I 활성을 강하게 억제시킴을 알 수 있었다. 또한, 폐렴 원인균인 스트렙토코커스 뉴모니아의 Fab K에 대한 펠린스타틴의 IC₅₀은 5.8 μM로서 Fab K 활성을 강하게 억제시킴을 확인할 수 있었다(실시예 3 및 표 2).

[35] 또한, 본 발명의 일 실시예에서는 예시적으로 주요 병원균인 스태필로코커스 아우레우스의 Fab I에 대한 히스피딘의 효소 저해능을 측정하였고, 측정 결과, 히스피딘의 IC₅₀은 12.6μM로서 Fab I 활성을 강하게 억제시킴을 알 수 있었다. 또한, 폐렴 원인균인 스트렙토코커스 뉴모니아의 Fab K에 대한 히스피딘의 IC₅₀

은 6.4 μ M로서 Fab K 활성을 강하게 억제시킴을 확인할 수 있었다(실시에 3 및 표 2). 이와 같은 결과는, 본 발명의 화합물이 항균용 조성물로 사용될 수 있음을 뒷받침하는 것이다.

[36] 본 발명의 화합물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 따라 합성할 수 있으며, 균주로부터 생산되는 천연 화합물로서 수득할 수도 있다. 본 발명의 화합물은 바람직하게는 펠리너스 린테우스(*Phellinus linteus*) 균주로부터 생산할 수 있으며, 보다 바람직하게는 펠리너스 린테우스(*Phellinus linteus*) 08090-29 균주로부터 생산할 수 있다. 본 발명에서 용어, "펠리너스 린테우스"는 상황버섯 균주를 의미하며, 상기 상황버섯 균주로부터 본 발명자들에 의해 화학식 1의 펠린스타틴을 최초로 분리하였으며, 화학식 2의 히스피딘이 항균 효과를 가지고 있음을 최초로 규명하였다.

[37]

[38] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 에노일 리덕테이즈 활성 억제제를 제공한다.

[39] 본 발명에 있어서, 상기 에노일 리덕테이즈(enoyl-ACP reductase)는 박테리아의 지방산 생합성의 각 주기에 포함된 네 개 반응의 마지막 단계에서 에노일-아실(enoyl-acyl) 담체 단백질 (ACP) 환원 효소로 기능하는 것으로 여겨지는 박테리아성 효소를 의미한다.

[40] 상기 효소는 박테리아 및 식물에 널리 분포된 것으로, 박테리아 생체막을 구성하는 지질을 합성하는데 필요한 단백질 효소로서, Fab I, Fab K, Fab L의 3가지의 아이소폼(isoform)이 존재하며, 이 중, Fab I는 스타필로코커스 아우레우스, 메티실린-저항성 포도상구균 및 퀴놀론-저항성 포도상구균 등의 병원성 세균에 공통적으로 존재하며, Fab K는 주로 폐렴 균주에 존재하는 것으로 알려져 있다.

[41] 바람직하게는, 상기 에노일 리덕테이즈는 Fab I 또는 Fab K 일 수 있으며, 본 발명의 일실시예에서는 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물이 Fab I 및 Fab K에 대한 저해 활성이 있음을 확인하였다(실시에 3 및 표 2).

[42]

[43] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환이 발병한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환의 치료방법을 제공한다.

[44] 또한, 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 병원성 미생물 또는 내성균의 에노일 리덕테이즈 활성을 억제하는 방법을 제공한다.

[45] 본 발명에서 용어, "치료"란 약학 조성물의 투여에 의해 병원성 미생물 또는

내성균에 의한 감염성 질환에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미하며, 본 발명에서 용어, "개체"란 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환이 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 모든 동물 뿐만 아니라, 세포, 혈액, 뇨, 물, 토양, 식품, 동식물 장내, 동식물 조직 또는 생물체 자체를 의미하고, 본 발명의 조성물을 개체에게 투여함으로써, 상기 질환을 효과적으로 치료하거나, 병원성 미생물 또는 내성균의 에노일 리덕테이즈 활성을 억제할 수 있다.

- [46] 본 발명에 있어서, 상기 병원성 미생물은 동식물의 생체에 침입하여 기생하면서 병을 일으키거나 피해를 주는 모든 미생물로서, 그람 양성균 및 그람 음성균의 세균, 효모 및 진균을 포함하고, 바람직하게는 스타필로코커스 아우레우스, 스타필로코커스 에피더미스, 바실러스 서브틸리스, 스트렙토코커스 뉴모니에 또는 칸디다 알비칸스 일 수 있다.
- [47] 본 발명에 있어서, 상기 내성균은 임의의 질환 및 이의 합병증, 또는 임의의 박테리아성 장애 및 이의 합병증을 치료 또는 예방하기 위하여 약물을 지속적으로 사용한 결과, 해당 세균이 항생제에 대한 저항성을 나타내는 것을 의미한다. 상기 항생제의 예로는 세팔로스포린, 퀴놀론 및 플루오로퀴놀론, 페니실린, 베타 락타마제 억제제, 카르베페넴, 모노박탐, 마크롤리드 및 린코사민, 글리코펩티드, 리팜핀, 옥사졸리디논, 테트라사이클린, 아미노글리코시드, 스트렙토그라민 및 술폰아미드 등이 있으며, 항생제 내성균은 상기 열거된 항생제를 처리하는 경우에도 저항성을 나타내어 개체에서 지속적으로 질환이 유지되며, 바람직하게는 MRSA(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 또는 QRSA(Quinolone-resistant *Staphylococcus aureus*)일 수 있다.
- [48] 본 발명의 일 실시예에서는, 예시적으로 스타필로코커스 아우레우스, MRSA 및 스트렙토코커스 뉴모니에에 대한 펠린스타틴의 항균활성을 측정하였고, 측정결과 펠린스타틴의 각 균에 대한 MIC는 모두 128 $\mu\text{g/ml}$ 로서 강력한 항균활성을 나타냄을 확인할 수 있었다(실시예 4 및 표 3).
- [49] 또한, 본 발명의 일 실시예에서는, 예시적으로 스타필로코커스 아우레우스, MRSA 및 스트렙토코커스 뉴모니에에 대한 히스피딘의 항균활성을 측정하였고, 측정결과 히스피딘의 각 균에 대한 MIC는 모두 64 $\mu\text{g/ml}$ 로서 강력한 항균활성을 나타냄을 확인할 수 있었다(실시예 4 및 표 3). 따라서, 본 발명의 항균용 조성물은 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.
- [50] 상기 질환의 치료를 위하여, 본 발명의 조성물은 본 발명의 화합물 뿐만 아니라, 병원성 세균에 대한 항균활성을 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 더 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [51] 본 발명에서의 용어 "약학적으로 허용가능한 담체"는 임의의 대상 조성물 또는

성분을 하나의 기관, 또는 신체의 부분으로부터 다른 기관, 또는 신체의 부분으로의 운반 또는 수송하는 것에 관여하는 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매 또는 캡슐화 물질과 같은 제약상 허용가능한 물질, 조성물 또는 비히클을 지칭하며, 본 발명의 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 스테아린산 마그네슘 및 광물유를 들 수 있다.

- [52] 또한, 본 발명의 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는 제형화할 경우 통상 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형제제는 상기 화학식 1의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등을 포함하나, 이에 한정되지 않으며, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

- [53] 뿐만 아니라, 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 필요에 따라 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있으며, 병원성 세균 및 내성균에 대한 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[54]

- [55] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는

화합물을 유효성분으로 포함하는 항균용 의약외품 조성물을 제공한다. 즉, 본 발명은 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환의 예방 또는 개선을 목적으로 의약외품 조성물을 제공하는 것이다.

[56] 본 발명의 의약외품 조성물은 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[57] 상기 의약외품 조성물은 소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가습기 충전제, 마스크, 연고제 또는 필터충진제 일 수 있다.

[58]

[59] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 항균제 제조를 위한 용도를 제공한다.

[60] 화학식 1로 표시되는 펠린스타틴과 화학식 2로 표시되는 히스피딘은 주요 병원성 미생물과 내성균에 대한 우수한 항균활성을 나타내므로 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 항균제로 사용하여, 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

[61]

[62] 또 하나의 양태로서, 본 발명은 1) 펠리너스 린테우스 균주 또는 그의 돌연변이주를 배양하는 단계; 2) 상기 1) 단계에서 얻어진 균주의 배양액 및 균사체를 유기용매로 추출한 후 에틸아세테이트로 추출하는 단계; 및 3) 상기 2) 단계에서 얻어진 에틸아세테이트 추출물에 크로마토그래피를 수행하여 본 발명에 따른 화합물을 제조하는 방법을 제공한다.

[63] 상기 1) 단계에서는 펠리너스 린테우스 균주는 물론, 상기 균주에서 유래하는 돌연변이주(자연돌연변이 또는 인공돌연변이주), 형질접합체 또는 유전공학적인 방법에 의해 새롭게 만들어진 균주도 포함할 수 있다. 또한, 상기 펠리너스 린테우스 균주는 바람직하게는 펠리너스 린테우스 08090-29 균주일 수 있다.

[64] 상기 펠리너스 린테우스 균주 또는 그의 돌연변이주의 배양은 통상의 미생물이 사용할 수 있는 영양원을 함유하는 배지에서 배양한다. 영양원으로는 종래 곰팡이의 배양에 이용되고 있는 공지의 영양원을 사용한다. 예를 들어, 탄소원으로는 글루코오스, 물엿, 덱스트린, 전분, 당밀, 동물유, 식물유 등을 사용할 수 있으며, 질소원으로는 밀기울, 대두박, 소맥, 맥아, 면실박, 어박, 콘스톱리커, 육즙, 효모 추출물, 황산암모니움, 질산소다, 요소 등을 사용할 수 있다. 필요에 따라, 식염, 칼륨, 마그네슘, 코발트, 염소, 인산, 황산 및 기타 이온생성을 촉진하는 무기염류를 첨가하면 매우 효과적이다. 배양방법으로는 호기적 조건에서는 진탕배양 혹은 정치배양이 가능하다.

[65] 배양온도는 상기의 각 조건들에서 배양할 경우 조건에 따라 약간씩 상이하기는

하나, 보통 20~37°C에서 배양하는 것이 적당하며, 대부분의 경우에는 26~30°C에서 배양한다. 또한, 배양기간은 진탕배양, 정지배양의 경우 모두 통상 7일 내지 10일간 배양할 때 본 발명의 펠린스타틴 화합물의 생산이 최고에 달하였다.

- [66] 상기 2) 단계는 펠리너스 린테우스 균주 또는 그의 돌연변이주의 배양액 및 군사체를 추출하는 단계로, 펠린스타틴 화합물은 균주의 배양액뿐만 아니라 군사체 부분에도 존재한다. 따라서, 균주의 배양액 및 군사체에 아세톤 등의 유기용매를 가하여 배양액 및 군사체로부터 유효성분을 추출한 후 감압하에 아세톤을 증발시키고, 에틸아세테이트로 용매 추출한 후, 에틸아세테이트 용매층을 감압농축하여 에틸아세테이트를 제거한다.
- [67] 상기 3) 단계는 본 발명의 화합물을 분리하는 단계로, 화합물의 정제 및 분리하는 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법이 제한 없이 사용될 수 있으며, 필요에 따라 배지의 종류, 배양 조건, 추출 정제 방법 등을 변화시켜, 수득량 및 수득률을 조절할 수 있음은 자명하다. 본 발명의 일 실시예에서는, 예시적으로 이하의 방법으로 에틸아세테이트 추출물에 크로마토그래피를 수행하여 본 발명의 화합물 제조하였다.
- [68] 상기 2)단계에서 얻은 에틸아세테이트 농축액을 클로로포름:메탄올을 20:1 내지 1:1로 하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하고, 이렇게 얻어진 활성분획을 감압농축하여 오일성 조유효성분을 얻은 뒤, 메탄올을 용매로 하여 세파덱스 ODS 컬럼 크로마토그래피에서 정제하였다. 최종적으로 활성분획을 메탄올:물 = 60:40인 용매조건에서 ODS TLC를 실시하였고, 제차 0.1% TFA 함유한 아세토나이트릴:물 = 30:70인 조건에서 ODS TLC를 실시하여 2개의 순수한 화합물, 펠린스타틴과 히스피딘을 얻었다(실시예 2).
- [69]
- [70] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 펠린스타틴 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.
- [71] 상기 펠린스타틴(Phellinstatin)은 펠리너스 린테우스 08090-29 균주를 배양하여 수득한 신규 화합물로서, 노란색 분말로 획득하였으며, $C_{39}H_{27}O_{15}$ 의 분자식, 734의 분자량을 갖는 화합물이다.

[72]

발명의 실시를 위한 형태

- [73] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 보다 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[74]

[75] <실시예 1> *Phellinus linteus* 08090-29 균주의 배양

[76] 농촌진흥청 국립농업과학원으로부터 분양받은 *Phellinus linteus* 08090-29

균주를 배양하기 위하여 종 배지로는 2% 글루코오즈, 0.5% 폴리펩톤(polypeptone), 0.2% 효모추출액(yeast extract), 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 함유한 배지를 멸균 전에 pH를 5.6 내지 5.8로 조절한 후 사용하였다. 상기 종배지 20 ml가 담긴 100 ml 용량의 삼각 플라스크를 121°C에서 20분간 멸균한 후 *Phellinus linteus* 08090-29 균주의 사면배양 시험관으로부터 1 백금을 접종하여 28°C에서 3일간 진탕배양한 후, 이것을 1차 종배양액으로 사용하였다. 그런 다음에 2% 글루코오즈, 0.5% 폴리펩톤, 0.2% 효모추출액, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 을 함유한 멸균된 배지가 들어 있는 500 ml 용량의 삼각플라스크(48 개)에 종배양액을 접종하여 28°C에서 7 내지 10일간 진탕배양하였다.

[77]

[78] <실시예 2> 본 발명의 화합물의 분리 및 정제

[79] 상기의 실시예 1에서 배양한 배양액 및 균사체의 아세톤 추출액을 에틸아세테이트로 3번 용매 추출하였다. 이와 같이 하여 얻어진 유효성분을 함유하고 있는 에틸아세테이트 용매층을 감압농축하여 에틸아세테이트를 제거한 후 클로로포름:메탄올을 20:1 - 1:1인 용매를 사용한 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하였다. 이와 같이 하여 얻어진 활성분획을 감압농축하여 오일성 조유효성분을 얻은 뒤, 메탄올을 용매로하여 세파덱스 ODS 컬럼 크로마토그래피에서 정제하였다. 최종적으로 활성분획을 메탄올:물 = 60:40인 용매조건에서 ODS TLC 실시하였고, 재차 0.1% TFA 함유한 아세토나이트릴(acetonitrile):물 = 30:70인 조건에서 ODS TLC를 실시하여 펠린스타틴과 히스피딘을 얻었다.

[80]

[81] 상기 *Phellinus linteus* 08090-29 균주로부터 분리한 펠린스타틴 및 히스피딘의 이화학적 특성은 다음과 같았다.

[82]

[83] 화합물 1: 펠린스타틴

[84] 1) 물질의 성상: 노란색 분말;

[85] 2) 분자량: 734;

[86] 3) 고분해능 ESI-MS:

[87] 실험치 m/z 733.1196 (M-H^-) ($\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_9$), 계산치 733.1199;[88] 4) 분자식: $\text{C}_{39}\text{H}_{27}\text{O}_{15}$;[89] 5) 자외선흡수스펙트럼 [UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ):202 (4.37), 284 (3.62), 372 (3.73)nm;[90] 6) IR 스펙트럼: 3432, 2924, 1635, 1500, 1251 cm^{-1} ;[91] 7) 편광도: $[\alpha]_D^{25} = 5.7^\circ$ (c0.14, MeOH);[92] 8) 핵자기 공명 (NMR) 데이터: 메탄올($\text{CD}_3\text{OD-d}_4$)을 용매로 하는 ^1H 및 ^{13}C NMR 데이터는 하기 표 1에 나타내었다.

[93]

[94] 1

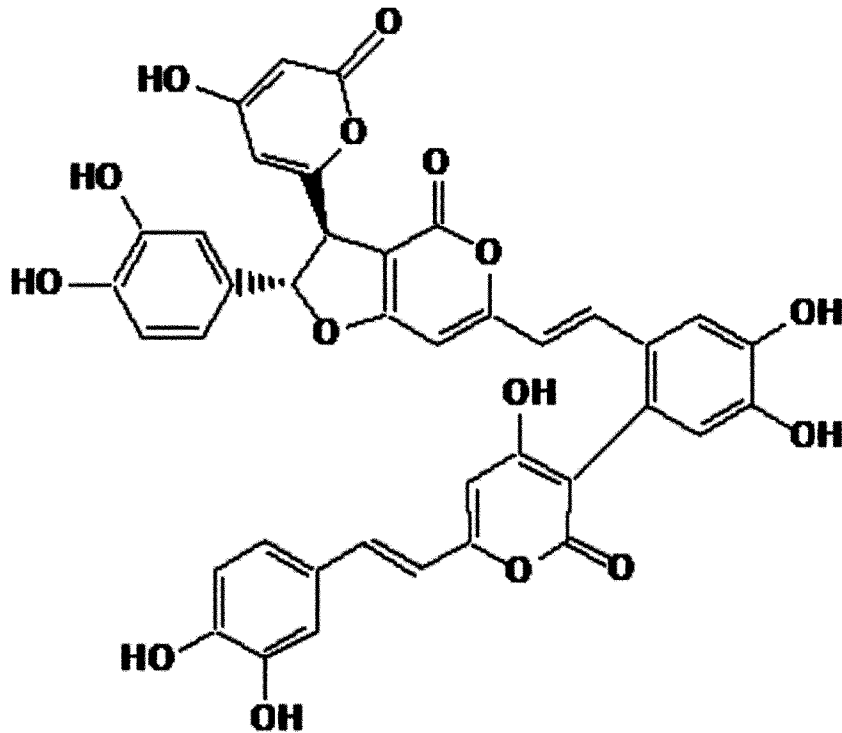
[Table 1]

Position	δ_H (J,Hz)	δ_C	HMBC	Position	δ_H (J,Hz)	δ_C	HMBC	Position	δ_H (J,Hz)	δ_C	HMBC
2		162.6C		7'	4.28 (1H,d,6.5)	53.3CH	C-3,C-4, C-5,C-6', C-8',C-9'	8"	7.35 (1H,d,16.0)	137.4CH	C-6",C-9", C-10",C-14"
3		99.9C						9"		128.8C	
4		174.1C		8'	5.76 (1H,d,6.5)	92.7CH	C-C-4,C-6', C-7',C-9', C-10',C-14'	10"	7.04 (1H,d,1.5)	114.4CH	C-8",C-11", C-12",C-14"
5	6.41(1H,s)	96.3CH	C-2,C-4, C-6,C-7					11"		147.0CH	
6		165.6C		9'		131.4C		12"		148.6C	
7	6.68 (1H,d,16.0)	117.6CII	C-6,C-9	10'	6.76 (1H,d,2.0)	113.6CH	C-8',C-12', C-14'	13"	6.77 (1H,d,8.5)	116.5C	C-9",C-11", C-12",C-14"
8	7.32 (1H,d,16.0)	136.7CH	C-6,C-9, C-10,C-14	11'		146.5C		14"	6.96 (1H,dd,8.5, 1.5)	121.9CH	C-8",C-10", C-12",C-14"
9		128.0C		12'		147.2C					
10	7.26(1H,s)	112.8CH	C-8,C-11, C-14	13'	6.79 (1H,d,8.5)	116.5CH	C-9',C-11'				
11		147.0C		14'	6.72 (1H,d,8.5, 2.0)	119.2CH	C-10',C-12'				
12		148.7C		2"		166.9C					
13	6.70(1H,s)	119.2CH	C-9,C-11, C-3"	3"		103.2C					
14		126.5C		4"		168.8C					
2'		167.8C		5"	6.25(1H,s)	101.4CH	C-3",C-4", C-6"				
3'	Quenched	90.4CH		6"		160.6C					
4'		172.8C		7"	6.63 (1H,d,16.0)	116.8CH	C-5",C-6", C-9"				
5'	6.40(1H,s)	103.0CH	C-3',C-4', C-6',C-7'								
6'		163.7C									

[95]

[96] 9) 화학구조식

[97]



[98]

[99] 화합물 2 : 히스피딘

[100] 1) 물질의 성상 : 노란색 분말;

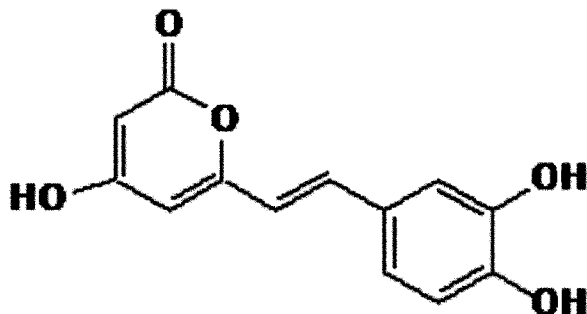
[101] 2) 분자량 : 246;

[102] 3) 분자식 : $C_{13}H_{10}O_5$;[103] 4) 핵자기 공명 (NMR) 흡수스펙트럼 : 메탄올(CD_3OD-d_4)을 용매로 하는 ^1H 데이터는 다음과 같다.

[104] 6.11(1H, s, H-5), 6.58 (1H, d, 15.9, H-7), 7.31 91H, d, 15.9, H-8), 7.03 (1H, d, 2.1, H-10), 6.78 (1H, d, 8.1, H-14), 6.94 (1H, dd, 8.1, 1.8, H-13)

[105] 5) 화학구조식

[106]



[107]

[108] <실시예 3> 펠린스타틴과 히스피딘 화합물의 **Fab I** 및 **Fab K** 저해 활성

[109] 본 발명에 따른 화합물의 Fab I 저해 활성을 확인하기 위하여, 하기와 같은 효소 역가 측정 실험을 수행하였다.

[110] 효소 역가 측정을 위해서 Ward 등의 방법[참조: Biochemistry 38, 12514(1999)]을

변형하여 이용하였다. 유전자 재조합 기술에 의해 제조된 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 유래의 Fab I를 사용하였다. 역가 측정은 50 mM 인산나트륨 완충용액(pH 7.5) 중에서 수행하였으며, 기질로는 트랜스-2-옥테노일 N-아세틸시스테인 티오에스터(trans-2-octenoyl N-acetylcysteamine thioester) 400 μ M, NADPH(nicotinamide adenine dinucleotide) 200 μ M을 사용하였고, Fab I를 150 nM 사용하였다. 효소를 첨가하고 상온에서 60분간 반응시킨 후 UV-분광계(spectrometer)를 이용하여 340 nm에서 NADPH의 흡광도 감소를 측정하였다. 상기 실시예 2에서 제조한 펠린스타틴 및 히스피딘을 디메틸설폭사이드(DMSO) 용매에 용해시켜 전체 반응액의 2% 이내로 첨가하여 효소 저해능을 평가하였다. 효소 저해능은 시험 화합물이 없는 상태에서의 NADH 소실 정도에 대한 시험 화합물 존재하에서의 NADH 소실 정도를 백분율로 표시하며, 50%의 효소 활성을 저해하는 각 시험 화합물의 농도를 IC_{50} 으로 결정하였다. 결과는 표 2에 나타내었다.

- [111] 또한, Fab K 역가 측정을 위해서 Zheng 등의 방법[참조: J. Antibiotics 59(12): 808-812, 2006]을 이용하였다. 유전자 재조합 기술에 의해 제조된 폐렴구균 유래의 Fab K 효소를 사용하였다. 역가 측정은 50 mM 인산나트륨 완충용액(pH 6.5) 중에서 수행하였으며, 기질로는 트랜스-2-옥테노일 N-아세틸시스테인 티오에스터 50 μ M, NADH 200 μ M을 사용하였고, Fab K를 150 nM 사용하였다. 효소를 첨가하고 상온에서 60분간 반응시킨 후 UV-분광계(spectrometer)를 이용하여 340 nm에서 NADH의 흡광도 감소를 측정하였다. 결과는 표 2에 나타내었다.

[112]

[113] 표 2

[Table 2]

화합물	IC_{50} (μ M)	
	<i>S. aureus</i> Fab I	<i>S. pneumoniae</i> Fab K
펠린스타틴	6	5.8
히스피딘	12.6	6.4

[114]

- [115] 표 2에 나타난 바와 같이, 펠린스타틴 및 히스피딘 화합물의 Fab I에 대한 IC_{50} 은 각각 6 μ M 및 12.6 μ M로서 우수한 Fab I 저해 활성을 나타내었다. 또한, 펠린스타틴 및 히스피딘 화합물의 Fab K에 대한 IC_{50} 은 각각 5.8 μ M 및 6.4 μ M로서 우수한 Fab K 저해 활성을 나타내었다.

[116]

[117] <실시예 4> 펠린스타틴과 히스피딘 화합물의 항균 활성

- [118] 본 발명에 따른 펠린스타틴 및 히스피딘 화합물의 항균 활성을 확인하기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[119] 시험균주는 MHB(Mueller Hinton broth)에서 배양하였으며, 액체 배지

희석법(broth microdilution)으로 항균 활성을 측정하였다. 하룻밤 배양한 시험균을 $2 \times 100,000/\text{ml}$ 가 되도록 희석한 후, 96 웰 플레이트에 각 웰(well) 당 $100 \mu\text{l}$ 씩 분주한 다음, 화합물을 최고 $128 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도부터 점차 2-fold 희석하여 처리하였다. 화합물은 DMSO(dimethylsulfoxide)에 희석하였으며, DMSO의 농도는 1/100로 맞추어서 실험을 실시하였다. 20시간 동안 배양한 후, 650 nm 에서 OD 값을 측정하여 세균의 생육을 조사하였다. 세균의 생육을 완전히 저해한 화합물의 최소농도를 MIC로 결정하고, 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

[120]

[121] 표 3

[Table 3]

화합물	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
	S. aureus	MRSA	S. pneumoniae
펠린스타틴	128	128	128
히스피딘	64	64	64

[122]

[123] 표 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 펠린스타틴 화합물은 주요 병원균인 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 항생제 내성균인 MRSA(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 및 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*)에 대하여 우수한 항균 활성을 나타내었다($128 \mu\text{g}/\text{ml}$ MIC). 또한, 본 발명의 히스피딘 화합물 역시 스태필로코커스 아우레우스, 항생제 내성균인 MRSA 및 스트렙토코커스 뉴모니아에 대하여 우수한 항균 활성을 나타내었다($64 \mu\text{g}/\text{ml}$ MIC).

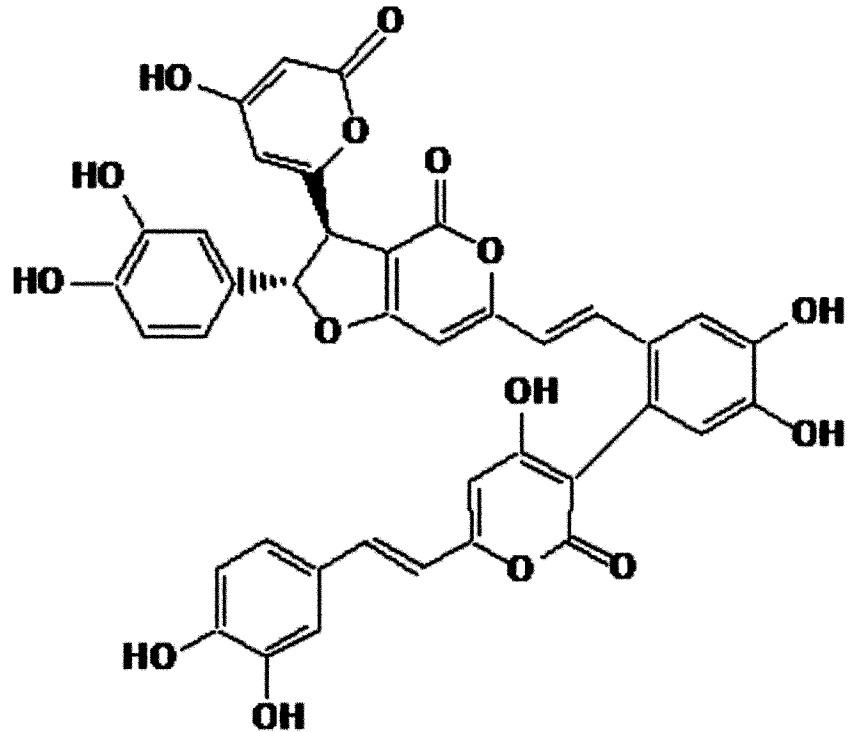
[124]

청구범위

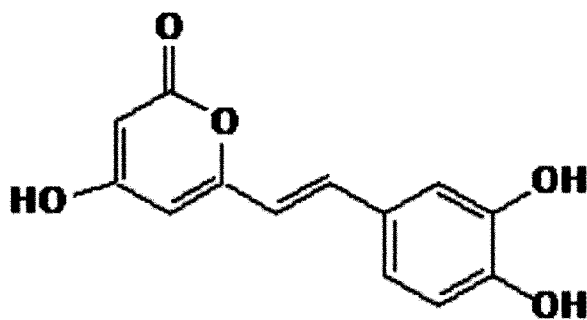
[청구항 1]

하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 그의 이성질체, 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 항균용 조성물.

[화학식 1]



[화학식 2]



[청구항 2]

제1항에 있어서, 상기 화합물은 펠리너스 린테우스(*Phellinus linteus*) 08090-29 균주로부터 생산되는 것인 조성물.

[청구항 3]

제1항에 있어서, 상기 조성물은 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 스태필로코커스 에피데미스(*Staphylococcus epidermis*), 메티실린-저항성 포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 퀴놀론-저항성 포도상구균(Quinolone-resistant *Staphylococcus aureus*, QRSA) 및 스트렙토코커스

뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*)로 이루어지는 균에서 선택된 하나 이상의 균에 대한 항균 활성을 나타내는 것인 조성물.

[청구항 4]

제1항에 있어서, 상기 화합물은 에노일 리덕테이즈 저해 활성을 갖는 것인 조성물.

[청구항 5]

제4항에 있어서, 상기 에노일 리덕테이즈는 Fab I 또는 Fab K인 것인 조성물.

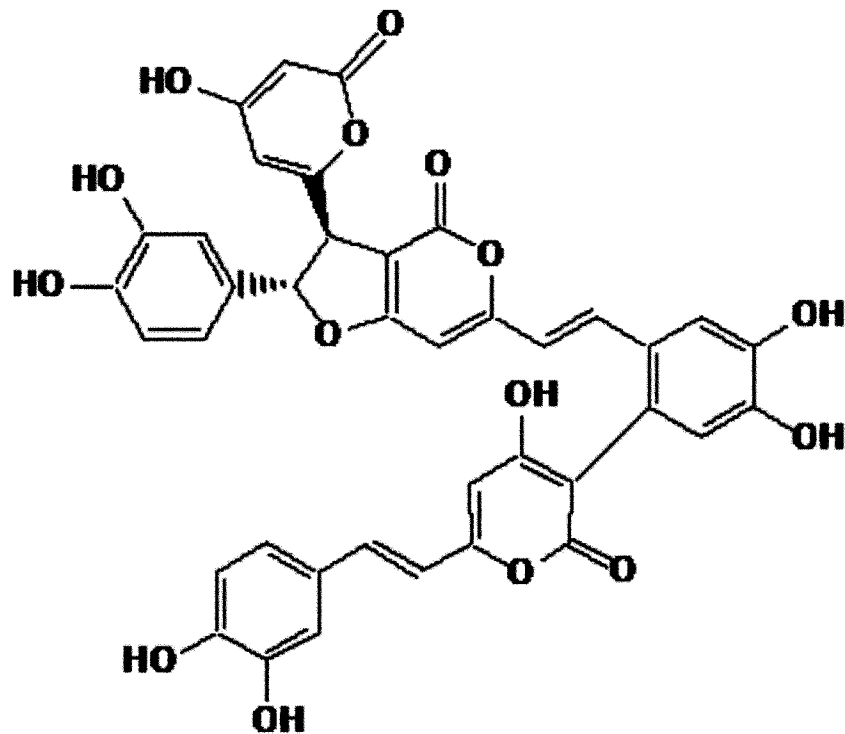
[청구항 6]

제1항에 있어서, 상기 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는 것인 조성물.

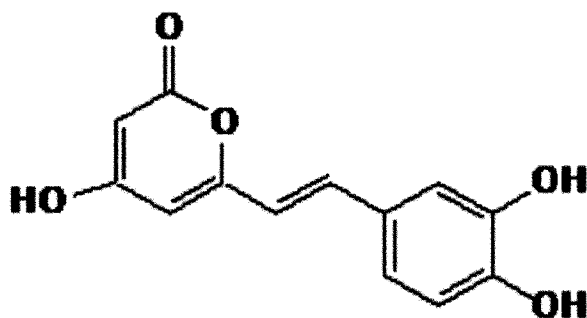
[청구항 7]

하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 에노일 리덕테이즈 활성 억제제.

[화학식 1]



[화학식 2]



[청구항 8]

제7항에 있어서, 상기 에노일 리덕테이즈는 Fab I 또는 Fab K인 것인 억제제.

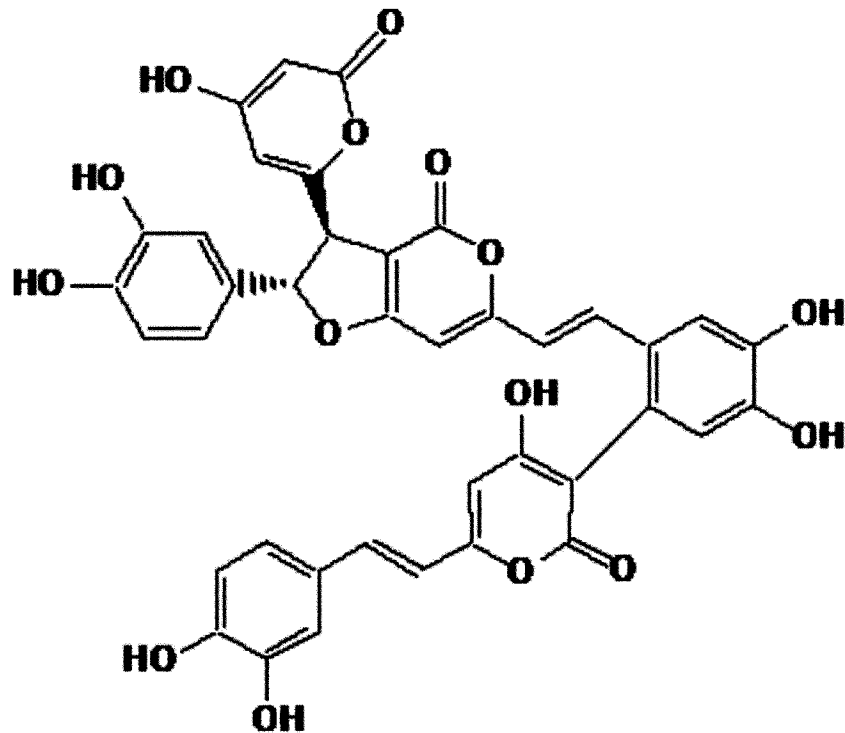
[청구항 9]

제7항에 있어서, 상기 억제제는 스탕필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 스탕필로코커스 에피데미스(*Staphylococcus epidermis*), 메티실린-저항성 포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), 퀴놀론-저항성 포도상구균(Quinolone-resistant *Staphylococcus aureus*) 및 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*)로 이루어지는 군에서 선택된 하나 이상의 균에 대한 항균 활성을 나타내는 것인 억제제.

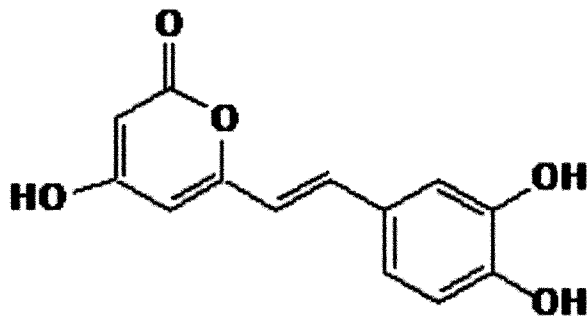
[청구항 10]

하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 항균용 의약품 조성물.

[화학식 1]



[화학식 2]

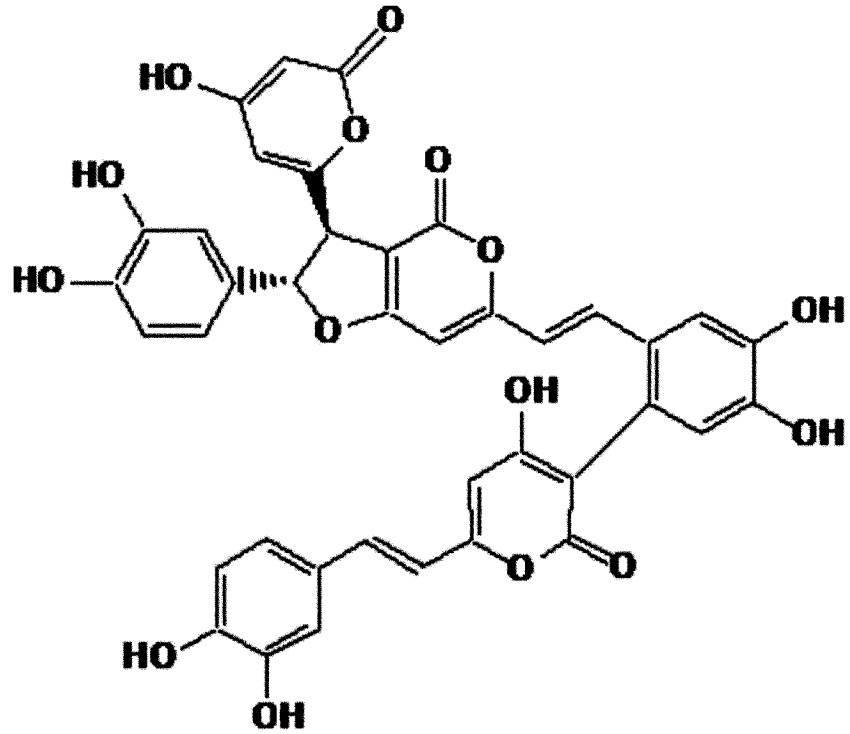


[청구항 11]

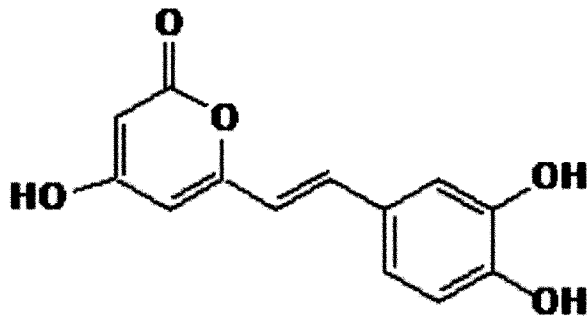
하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 병원성 미생물 또는 내성균에 의한 감염성 질환이 발병한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는,

병원성 미생물 또는 감염성 질환의 치료방법.

[화학식 1]



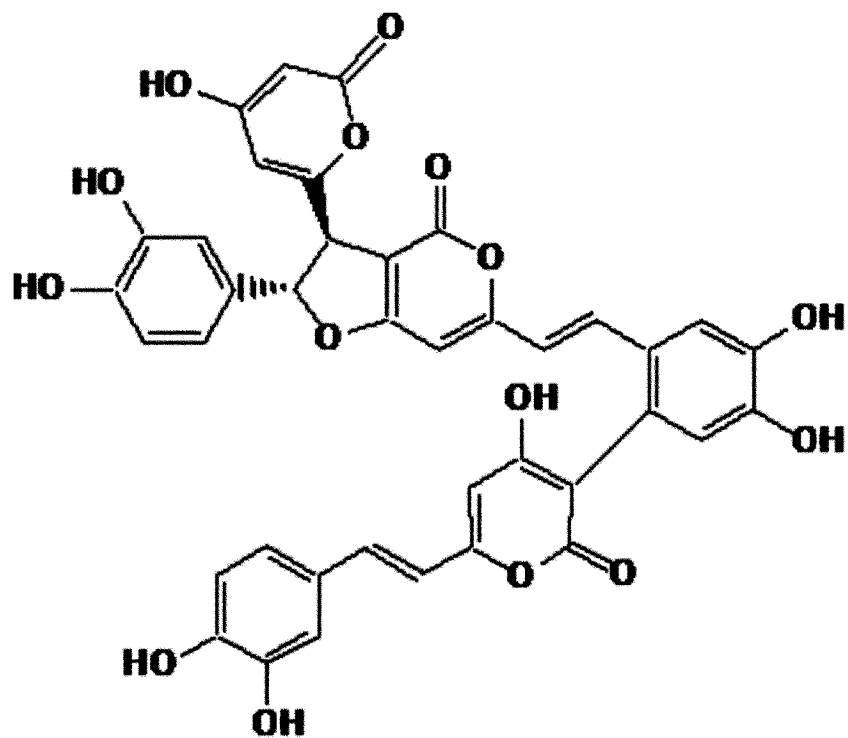
[화학식 2]



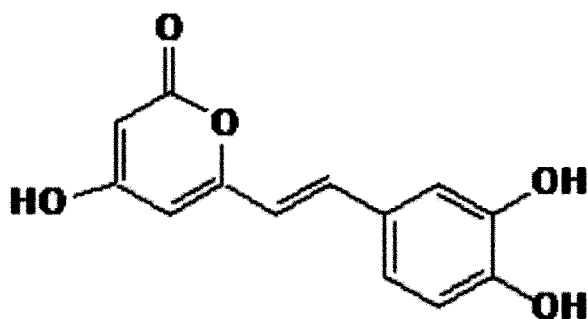
[청구항 12]

하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 병원성 미생물 또는 내성균의 에노일 리덕테이즈 활성을 억제하는 방법.

[화학식 1]



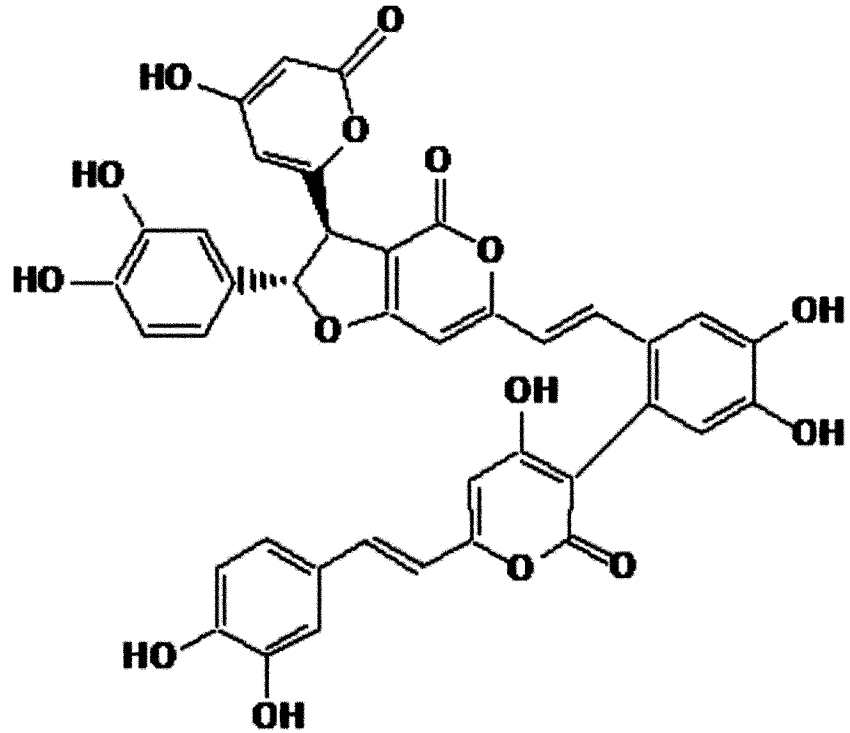
[화학식 2]



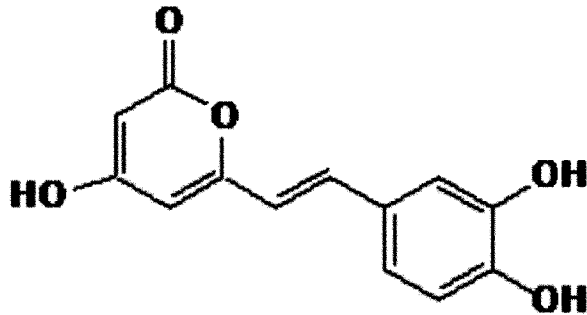
[청구항 13]

하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 항균제 제조를 위한 용도.

[화학식 1]



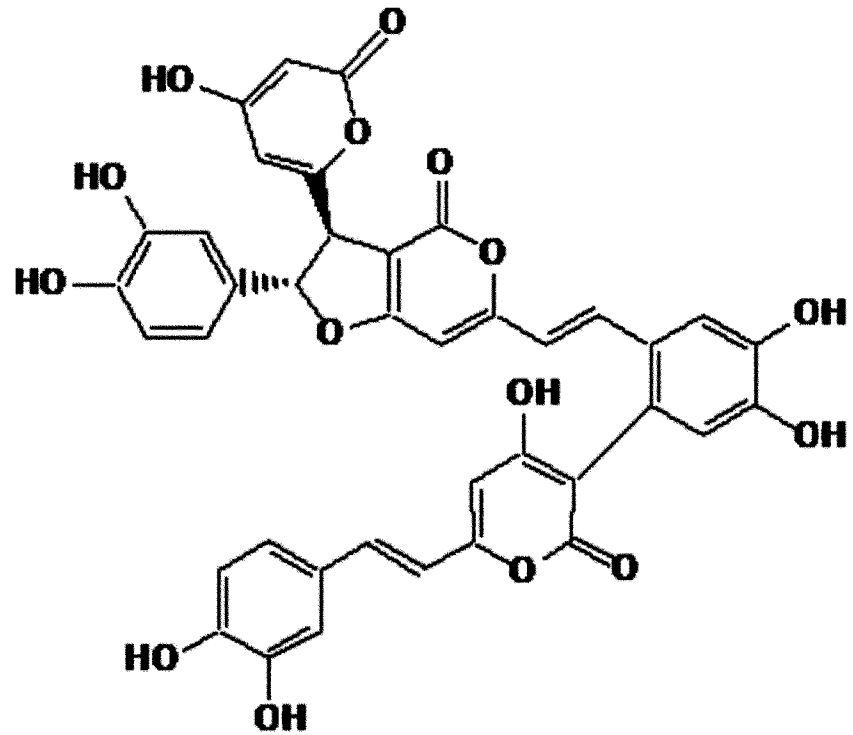
[화학식 2]



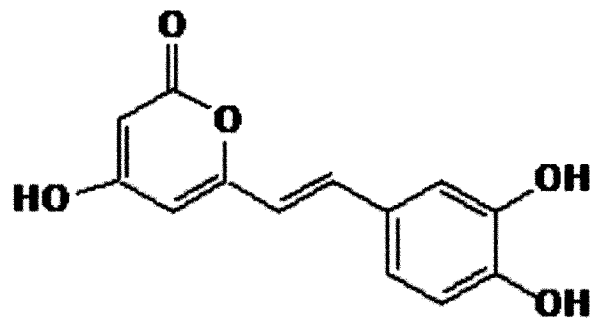
[청구항 14]

- 1) 펠리너스 린테우스(*Phellinus linteus*) 균주 또는 그의 돌연변이주를 배양하는 단계;
- 2) 상기 1) 단계에서 얻어진 균주의 배양액 및 균사체를 유기용매로 추출한 후 에틸아세테이트로 추출하는 단계; 및
- 3) 상기 2) 단계에서 얻어진 에틸아세테이트 추출물에 크로마토그래피를 수행하여 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 얻는 단계를 포함하는, 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물의 제조방법.

[화학식 1]



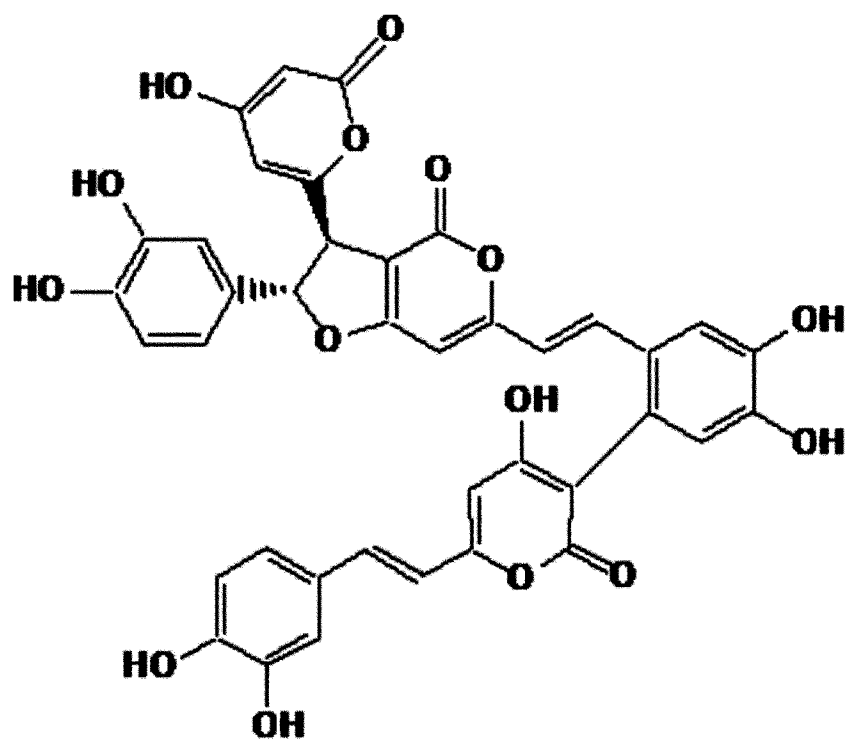
[화학식 2]



[청구항 15]

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

[화학식 1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2011/004629**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****A61K 31/34(2006.01)i, A61K 31/366(2006.01)i, A61P 31/04(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K 31; A61K 33; A61K 36

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), PUBMED

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Benedict, R. G. et al. Antimicrobial activity of mushroom metabolites. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1972, Vol. 61, No. 11, pages 1820-1822. See table 1.	1-6,10,13
A	KR 10-2008-0055753 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) 19 June 2008 See whole document.	1-10,13-15
A	In-Kyoung Lee et al. Hispidin analogs from the mushroom Inonotus xeranticus and their free radical scavenging activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 1 May 2006, Vol. 16, Issue 9, pages 2376-2379. See whole document.	1-10,13-15
A	KR 10-2001-0008772 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) 05 February 2001 See whole document.	1-10,13-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 FEBRUARY 2012 (10.02.2012)

Date of mailing of the international search report

15 FEBRUARY 2012 (15.02.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2011/004629

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **11-12**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 11-12 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2011/004629

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2008-0055753 A	19.06.2008	NONE	
KR 10-2001-0008772 A	05.02.2001	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 31/34(2006.01)i, A61K 31/366(2006.01)i, A61P 31/04(2006.01)i, A61P 31/00(2006.01)i																	
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) IPC: A61K 31; A61K 33; A61K 36 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), PUBMED																	
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>Benedict, R. G. et al. Antimicrobial activity of mushroom metabolites. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1972, Vol. 61, No. 11, pages 1820-1822. See Table 1.</td> <td>1-6,10,13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2008-0055753 A (한국생명공학연구원) 2008.06.19 See whole document.</td> <td>1-10,13-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>In-Kyoung Lee et al. Hispidin analogs from the mushroom Inonotus xeranticus and their free radical scavenging activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 1 May 2006, Vol. 16, Issue 9, pages 2376-2379. See whole document.</td> <td>1-10,13-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2001-0008772 A (생명공학연구소) 2001.02.05 See whole document.</td> <td>1-10,13-15</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	X	Benedict, R. G. et al. Antimicrobial activity of mushroom metabolites. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1972, Vol. 61, No. 11, pages 1820-1822. See Table 1.	1-6,10,13	A	KR 10-2008-0055753 A (한국생명공학연구원) 2008.06.19 See whole document.	1-10,13-15	A	In-Kyoung Lee et al. Hispidin analogs from the mushroom Inonotus xeranticus and their free radical scavenging activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 1 May 2006, Vol. 16, Issue 9, pages 2376-2379. See whole document.	1-10,13-15	A	KR 10-2001-0008772 A (생명공학연구소) 2001.02.05 See whole document.	1-10,13-15
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항															
X	Benedict, R. G. et al. Antimicrobial activity of mushroom metabolites. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1972, Vol. 61, No. 11, pages 1820-1822. See Table 1.	1-6,10,13															
A	KR 10-2008-0055753 A (한국생명공학연구원) 2008.06.19 See whole document.	1-10,13-15															
A	In-Kyoung Lee et al. Hispidin analogs from the mushroom Inonotus xeranticus and their free radical scavenging activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 1 May 2006, Vol. 16, Issue 9, pages 2376-2379. See whole document.	1-10,13-15															
A	KR 10-2001-0008772 A (생명공학연구소) 2001.02.05 See whole document.	1-10,13-15															
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.																	
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌																	
국제조사의 실제 완료일 2012년 02월 10일 (10.02.2012)		국제조사보고서 발송일 2012년 02월 15일 (15.02.2012)															
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 송건형 전화번호 82-42-481-5607 															

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 11-12
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제11항과 제12항은 수술 또는 치료에 의한 사람의 처치방법에 관한 것이므로, 국제조사기관이 국제 조사를 할
무가 없는 대상에 해당됩니다 (PCT 조약 17(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)).
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니
다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합
니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를
요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상
으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발
명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된
기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

KR 10-2008-0055753 A

2008.06.19

없음

KR 10-2001-0008772 A

2001.02.05

없음