

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2012년 9월 20일 (20.09.2012)



(10) 국제공개번호
WO 2012/124858 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 31/18 (2006.01) *A61P 9/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/003773
- (22) 국제출원일: 2011년 5월 23일 (23.05.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0023211 2011년 3월 16일 (16.03.2011) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **연세대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY)** [KR/KR]; 서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세대학교, 120-749 Seoul (KR).
- (72) 발명자: **김**
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **권호정 (KWON, Ho Jeong)** [KR/KR]; 서울특별시 서초구 잠원동 57 대림아파트 1-1307, 137-030 Seoul (KR). **한균희 (HAN, Gyoon Hee)** [KR/KR]; 경기도 화성시 반월동 현대 2 차아파트 209 동 1702 호, 445-330 Gyeonggi-do (KR). **정혜진 (JUNG, Hye Jin)** [KR/KR]; 서울특별시 도봉구 창동 674-49 302 호, 132-040 Seoul (KR). **서정제 (SEO, Jeong**

Jea) [KR/KR]; 서울특별시 노원구 월계3동 서광아파트 101-703, 139-053 Seoul (KR).

(74) 대리인: **양부현 (YANG, Boo-Hyun)**; 서울특별시 관악구 인현동 1659-2 청동빌딩 301 호, 151-832 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.

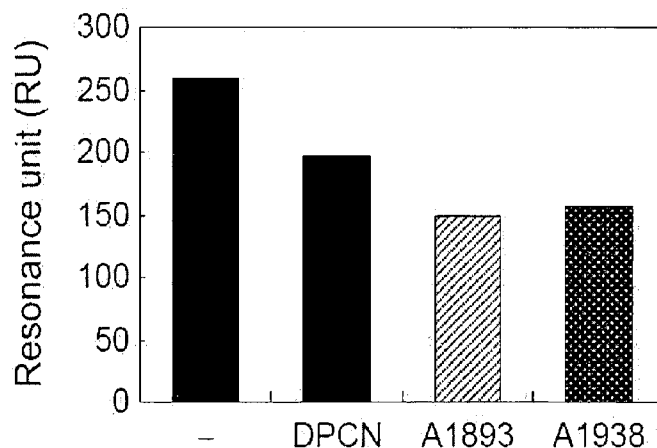
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,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

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION WITH ENHANCED EFFICACY FOR INHIBITING ANGIOGENESIS

(54) 발명의 명칭 : 효능이 강화된 혈관신생 억제용 약제학적 조성물

Fig. 3



(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for inhibiting angiogenesis and a novel sulfonyl amide derivative compound which can be useful for the prevention or treatment of angiogenesis-related diseases or disorders. Since the compound used as an active ingredient in the pharmaceutical composition of the invention is specifically bound to UQCRB and inhibits biological functions thereof, apoptosis is not induced and angiogenic responses are inhibited. Therefore, the compound used as an active ingredient in the pharmaceutical composition of the invention can be useful as an effective and safe angiogenesis inhibitory agent.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

**공개:**

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 혈관신생-관련 질병 또는 질환의 예방 또는 치료에 효과적으로 이용될 수 있는 혈관신생 억제용 약제학적 조성물 및 신규한 세포외막 유도체 화합물에 관한 것이다. 본 발명의 약제학적 조성물에서 유효성분으로 이용되는 화합물은 UQCRB에 특이적으로 결합하여 이의 생물학적 기능을 억제하기 때문에, 세포사멸을 유도하지 않으면서 혈관신생 반응(angiotogenic responses)을 억제하여 효과적이면서도 안전한 혈관생성 억제제로서 유용하게 이용될 수 있다.

【명세서】

【발명의 명칭】

효능이 강화된 혈관신생 억제용 억제학적 조성물

5 【기술 분야】

본 발명은 UQCRB(ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein)를 타겟으로 하는 신규한 합성 저분자화합물을 유효성분으로 하는 혈관신생 억제용 억제학적 조성물에 관한 것이다.

10 【배경 기술】

혈관신생은 많은 고형암의 진행에 있어서 핵심적인 과정이기 때문에, 혈관신생의 억제는 종양의 성장과 전이를 차단하는 강력한 방법으로 간주된다. 결과적으로, VEGFR(vascular endothelial growth factor receptor), MMP(matrix metalloproteinases), 아미노펩티다아제, 히스톤
 15 디아세틸라아제 및 칼모듈린을 포함하는 혈관신생의 몇몇 특정 타겟 단백질이 동정되었으며, 이들의 특정 타겟에 대한 억제활성에 기반하여 다양한 스캐폴드의 항-혈관신생 의약이 개발되었다. 본 발명자들은 최근 곰팡이 대사산물로부터 비사이클로 세스테르테르펜(sesterterpene) 구조를 가지는 신규한 혈관신생 억제제인 테르페스타신(terpestacin)을 분리하였다.
 20 테르페스타신의 항-혈관신생 활성과 관련된 분자적 기작을 조사하기 위하여, 본 발명자들은 역화학 프로테오믹스(reverse chemical proteomics) 방법을 통하여 테르페스타신의 세포결합 단백질을 동정하였다. 테르페스타신은 MRC(mitochondrial respiratory chain)에서 복합체 III의 13.4-kDa 서브유닛(UQCRB)에 특이적으로 결합한다. 최근의 보고는 미토콘드리아
 25 복합체에서의 ROS(reactive oxygen species)의 생성이 저산소 상태 기간동안 HIF-1a (hypoxia-inducible factor-1a)의 안정화를 촉발한다. 실제로, UQCRB 에 결합하는 테르페스타신은 저산소-유도 ROS 생성을 억제하여 결과적으로 미토콘드리아 호흡 및 복합체 III의 기능적 구조를 붕괴시키지 않으면서 HIF-1a 및 종양 혈관신생을 억제한다(14). 또한,
 30 UQCRB 발현의 조절은 단백질이 미토콘드리아 ROS-매개 시그널링을 경유하는 저산소-유도 종양 혈관신생에서의 중요한 매개자임을 보여준다. 이러한

발견은 미토콘드리아 복합체 III에서 UQCRB 를 타겟팅하는 저분자화합물이 호흡 독소로 작용하지 않으면서 종양 혈관신생을 억제한다는 사실을 시사한다. 이에, 본 발명자들은 UQCRB 의 기능을 특이적으로 조절하는 새로운 저분자화합물을 개발하고자 하였다.

5 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

10 【발명의 상세한 설명】

본 발명자들은 세포독성이 없으면서 효과적으로 혈관신생을 억제하는 항-혈관신생제를 개발하고자 예의 연구노력하였다. 그 결과, 혈관신생에 대한 새로운 분자 타겟인 미토콘드리아 복합체 III의 유비퀴논-결합 단백질인 UQCRB(ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein)를
15 타겟으로 하는 신규한 합성 저분자화합물을 발굴하였으며, 이 화합물은 UQCRB 에 결합하여, 혈관신생을 효과적으로 차단함을 확인함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서 본 발명의 목적은 혈관신생 억제용 약제학적 조성물을 제공하는 데 있다.

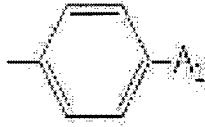
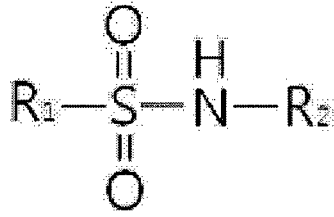
20 본 발명의 다른 목적은 신규한 설폰일 아마이드 유도체 화합물을 제공하는 데 있다.

본 발명의 또 다른 목적은 비조절성 혈관신생-관련 질병 또는 질환의 예방 또는 치료방법을 제공하는 데 있다.

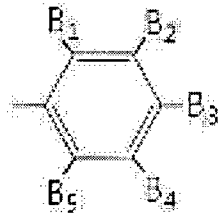
25 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 화학식 1 로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 혈관신생 억제용 약제학적 조성물을
30 제공한다:

화학식 1



상기 화학식에서, R_1 은 (A_1 은 직쇄 또는 분쇄의 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬, 비치환되거나 직쇄 또는 분쇄의 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 할로젠으로 치환된 페닐 또는 비치환되거나 직쇄 또는 분쇄의 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 할로젠으로



5 치환된 나프탈릴이다)이고, R_2 는 ($\text{B}_1\text{-B}_5$ 은 각각 독립적으로 수소, 할로젠, 히드록시, 니트로 또는 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬), 하이드록시 나프탈릴, 4-하이드록시벤질 $\text{C}_1\text{-C}_3$ 알킬, 4-(2-하이드록시에틸)사이클로헥실 또는 비치환되거나 직쇄 또는 분쇄의 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬, 할로젠 또는 하이드록시기로 치환된 퀴놀린이다.

10 본 발명의 다른 양태에 따르면, 상기 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 비조질성 혈관신생-관련 질병 또는 질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

본 발명자들은 세포독성이 없으면서 효과적으로 혈관신생을 억제하는
15 항-혈관신생제를 개발하고자 예의 연구노력하였다. 그 결과, 혈관신생에 대한 새로운 분자 타겟인 미토콘드리아 복합체 III의 유비퀴논-결합 단백질인 UQCRB(ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein)를 타겟으로 하는 신규한 합성 저분자를 발굴하였으며, 이 화합물은 UQCRB 에 결합하여, 혈관신생을 효과적으로 차단함을 확인하였다.

20 본 발명의 조성물은 “혈관신생 억제용 약제학적 조성물”로 표현되며, 이는 “혈관신생-관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물” 또는

“비조절 혈관신생-관련 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물”로 표현될 수도 있다.

본 발명의 약제학적 조성물에서 유효성분으로 이용되는 화합물은 화학식 1 로 표시된다. 본 발명의 화합물은 기본적으로 설폰일
5 아마이드(sulfonyl amide) 백본(backbone)을 가진다.

본 명세서에서 용어“알킬”은 비치환 또는 치환된 포화 탄화수소기를 의미하며, 예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 트리데실, 펜타데실 및 헵타데실 등을 포함한다.
직쇄 또는 분쇄 C₁-C₆ 알킬은 탄소수 1 내지 4 의 알킬 유니트를 가지는
10 직쇄(strait chain) 또는 분쇄(branched chain)의 알킬기를 의미하며, C₁-C₆ 알킬이 치환된 경우 치환체의 탄소수는 포함되지 않은 것이다.

본 명세서에서 용어 “하이드록시벤질알킬”은 하이드록시벤질(페놀)로 치환된 알킬기를 의미한다. 화학식 1 에서, R₂ 위치의 “4-하이드록시벤질 C₁-C₃ 알킬”은 하이드록시기가 파라(para) 위치에 치환된 페닐기로 치환된
15 탄소수 1 내지 3 의 알킬 유니트를 의미한다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 화학식 1 의 R₁ 의 A₁은 메틸, 에틸, 페닐, 또는 tert-부틸이다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 화학식 1 의 R₂ 의 B₁은 수소, 염소, 플루오르, 하이드록시, 니트로 또는 메틸이다.

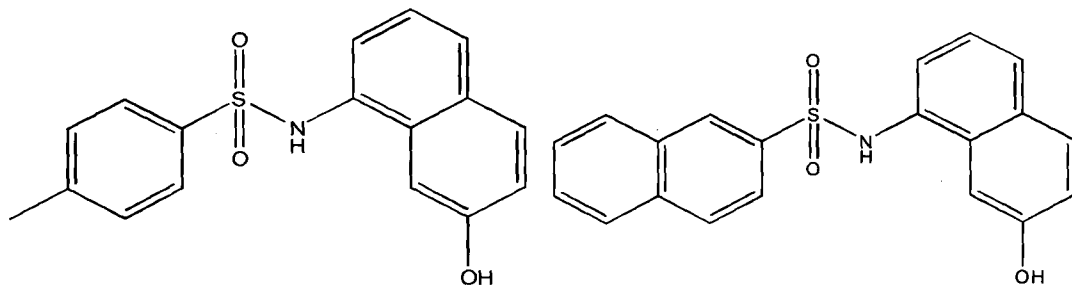
20 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 화학식 1 의 R₂ 의 하이드록시 나프탈릴은 7-하이드록시 나프탈릴이다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 화학식 1 의 R₂ 의 퀴놀린은 8-하이드록시 퀴놀린이다.

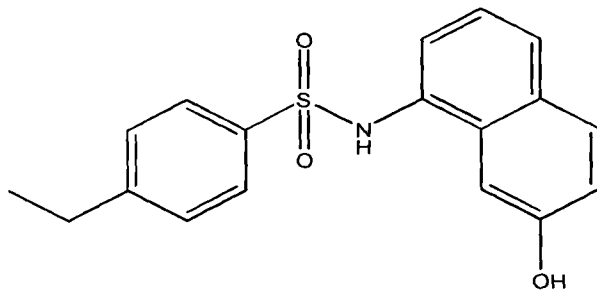
본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 화합물은 하기의
25 화학식 2 내지 29 로 표시되는 화합물로 구성된 군으로부터 선택된다:

화학식 2

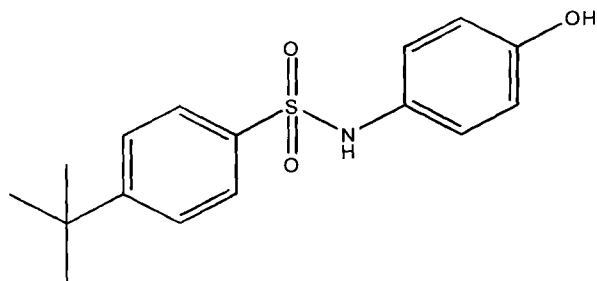
화학식 3



화학식 4

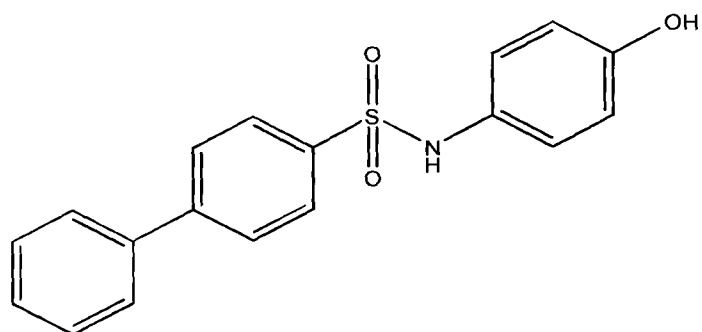


화학식 5

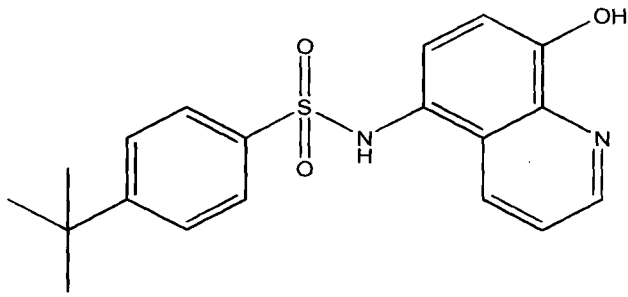


5

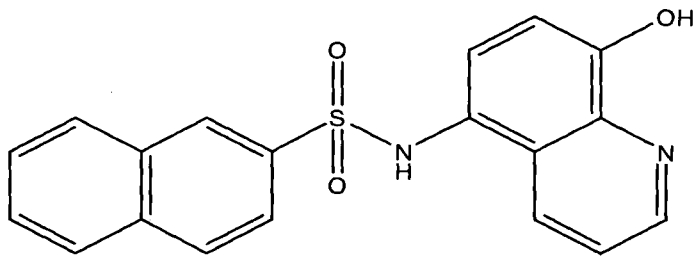
화학식 6



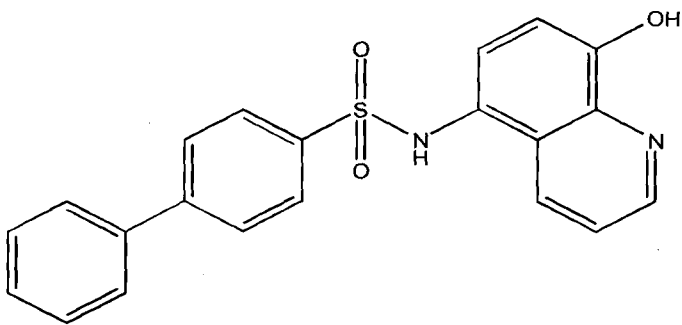
10 화학식 7



화학식 8

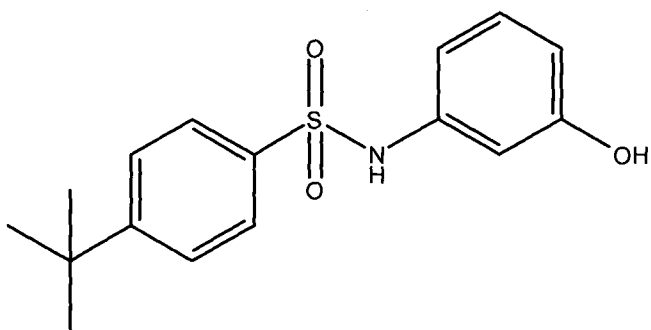


화학식 9

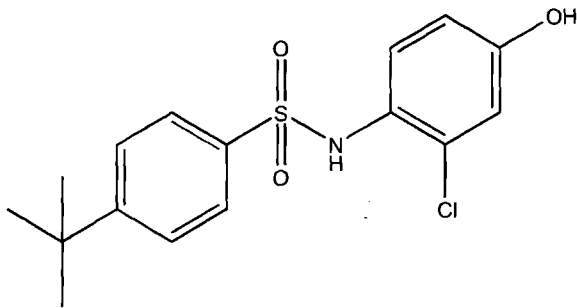


5

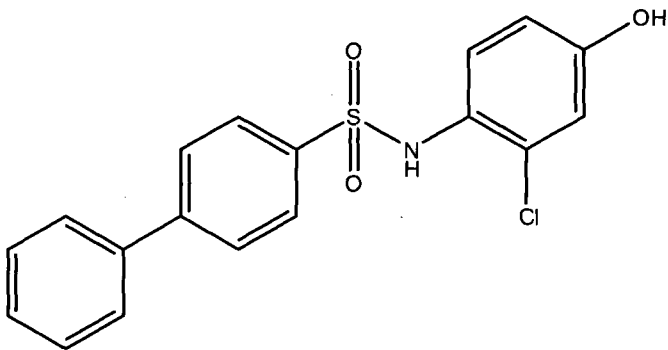
화학식 10



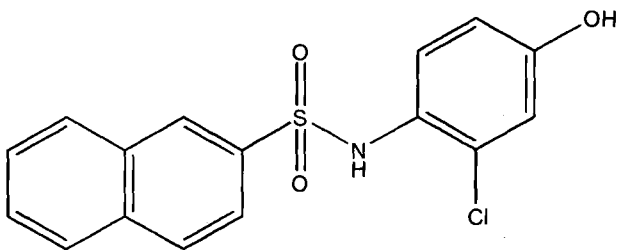
10 화학식 11



화학식 12

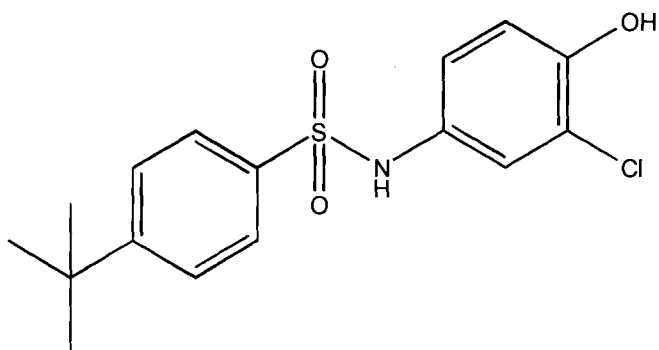


화학식 13

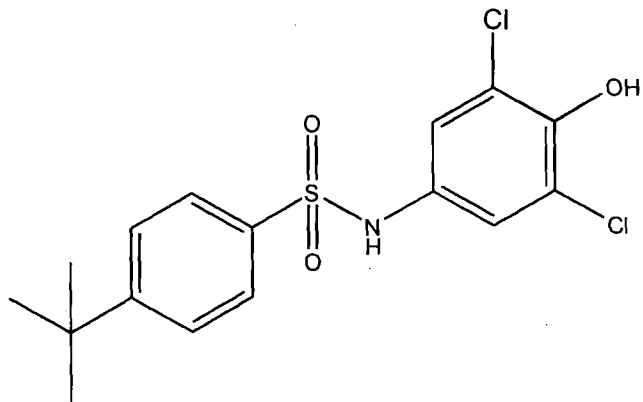


5

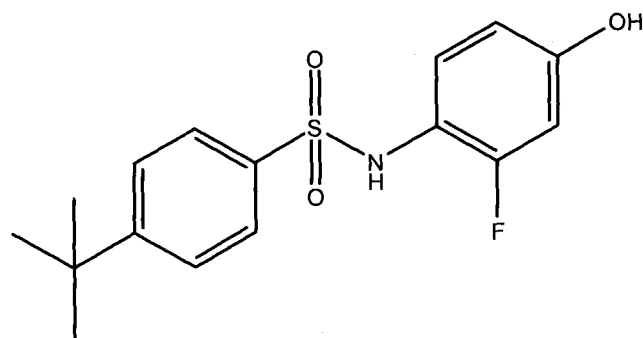
화학식 14



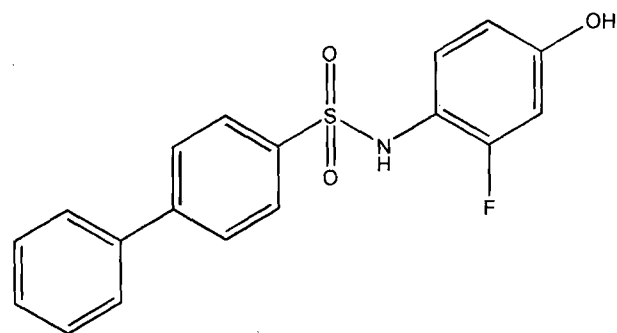
10 화학식 15



화학식 16

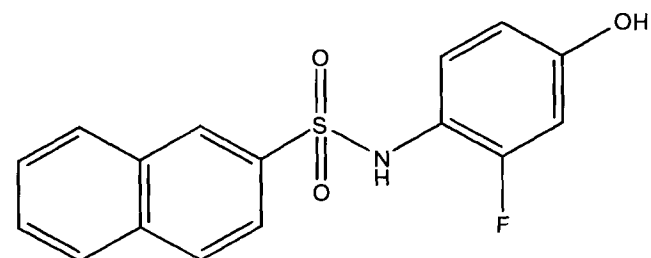


화학식 17

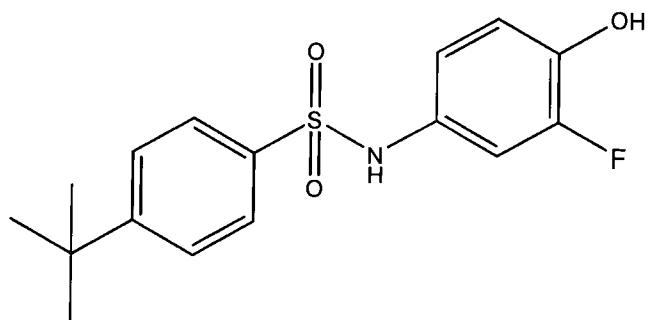


5

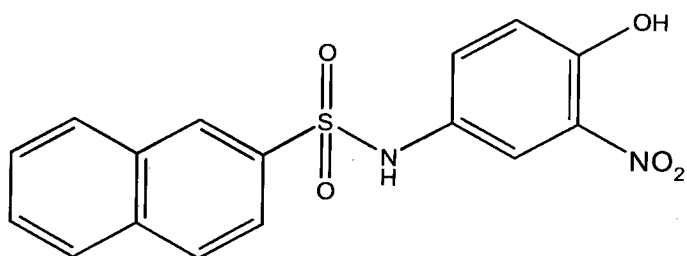
화학식 18



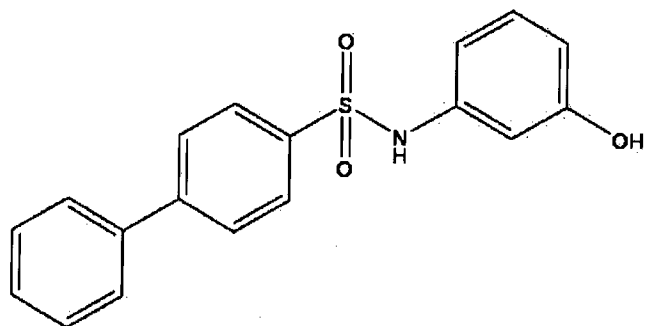
화학식 19



화학식 20

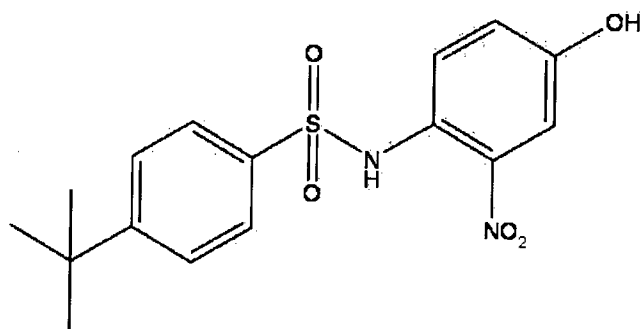


화학식 21

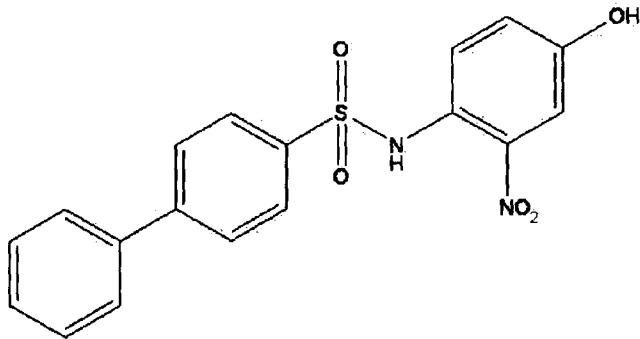


5

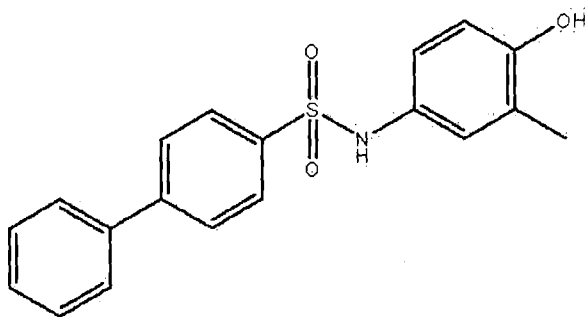
화학식 22



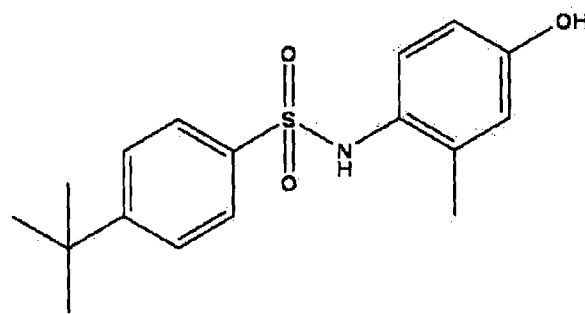
화학식 23



화학식 24

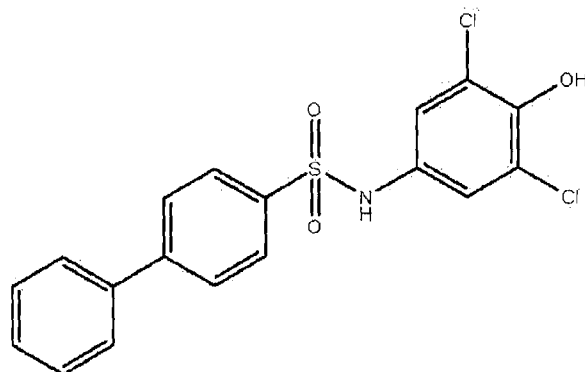


화학식 25

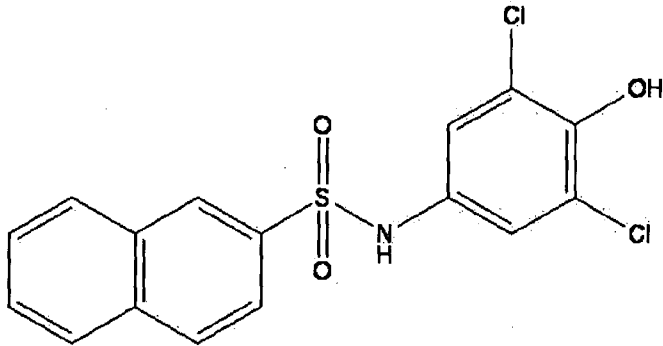


5

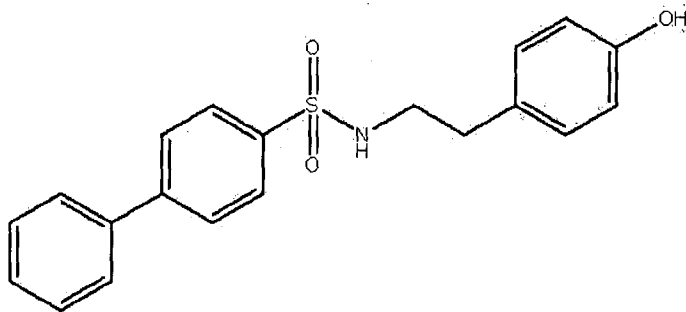
화학식 26



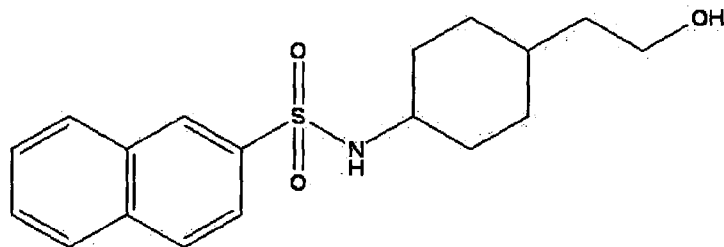
화학식 27



화학식 28



화학식 29



5

보다 바람직하게는, 본 발명의 화합물은 상기의 화학식 5, 6, 12, 17, 21, 23 및 24로 표시되는 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

본 발명에 따르면, 상기 나열한 7 가지 화합물은 HIF-1 α 단백질 수준에 있어서 낮은 IC₅₀ 값을 가진다. 따라서 이들은 혈관신생과 관련된 다양한 질환의 효과적인 치료 조성물로 이용될 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물에 의해 예방 또는 치료될 수 있는 질병, 질환 또는 상태는 혈관신생과 관련된 다양한 질환을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 약제학적 조성물은 암, 당뇨병성 망막증, 미숙아 망막증, 각막 이식 거부, 신생혈관 녹내장, 홍색증, 증식성 망막증, 건선, 혈우병성 관절, 아테롬성 동맥경화 플라크 내에서의 모세혈관 증식, 켈로이드, 상처 과립화, 혈관 접착, 류마티스 관절염, 골관절염, 자가면역

15

질환, 크론씨병, 재발협착증, 아테롬성 동맥경화, 장관 접착, 캣 스크래치
 질환, 궤양, 간경병증, 사구체신염, 당뇨병성 신장병증, 악성 신경화증,
 혈전성 미소혈관증, 기관 이식 거부, 신사구체병증, 당뇨병, 염증 또는
 신경퇴행성 질환의 비조절성 혈관신생-관련 질병 또는 질환의 예방 또는
 5 치료에 이용된다.

본 발명의 조성물에 의해 예방 또는 치료될 수 있는 자가면역질환은
 알로페시아 그레아타(alopecia greata), 강직성 척추염, 항인지질 증후군,
 자가면역 아디슨 질환, 부신의 자가면역 질환, 자가면역 용혈성 빈혈,
 자가면역 간염, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판감소증,
 10 베체트병, 수포성 유천포창, 심근병증, 복강 스프루우-피부염(celiac sprue-
 dermatitis), 만성 피로 면역이상 증후군, 만성염증성 탈수초 다발성
 신경병증, Churg-Strauss 증후군, 반흔성유천포창, CREST 증후군, 한냉
 응집소 질환, 크론씨병, 원판성 낭창, 복태성복합한냉글로불린혈증,
 섬유근통-섬유근염, 사구체신염, 그레이브스 질환, 켈레인 바레 증후군,
 15 하시모토 갑상선염, 특발성 폐섬유화증, 특발성 혈소판 감소성 자반증, IgA
 신경염, 연소자성 관절염, 편평태선, 홍반성 루푸스, 메니에르병, 혼합성
 연결 조직 질환, 다발성 경화증, 타입 I 또는 면역-매개 당뇨병,
 중증근무력증, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 결정성 다발동맥염, 다발연골염,
 자가면역성 다선 증후군, 류마티스 다발성근통, 다발성 근염과 피부근염,
 20 일차성 무감마글로불린혈증, 일차성 담증성 간경변, 건선, 건선성 관절염,
 레이노 현상, 라이터 증후군, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 공피증,
 강직인간 증후군, 전신성 홍반성 루푸스, 홍반성 루푸스, 다가야스 동맥염,
 일시적 동맥염, 거대세포 동맥염, 궤양성 대장염, 포도막염, 백반증 및
 베게너 육아종증을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

본 발명의 조성물에 의해 예방 또는 치료될 수 있는 염증성 질환의
 예는, 천식, 엔세팔리티스(encephilitis), 염증성 장염, 만성 폐쇄성
 폐질환, 알러지, 폐혈병성 쇼크증, 폐섬유증, 미분화 척추관절증, 미분화
 관절병증, 관절염, 염증성 골용해 및 만성 바이러스 또는 박테리아 감염에
 의한 만성 염증을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

보다 바람직하게는, 본 발명의 약제학적 조성물에 의해 예방 또는 치료될 수 있는 질환은 암, 당뇨병성 망막증 또는 증식성 망막증이다. 가장 바람직하게는, 상기 증식성 망막증은 연령관련황반변성이다.

바람직하게는, 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 *Remington's Pharmaceutical Sciences* (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.

본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다.

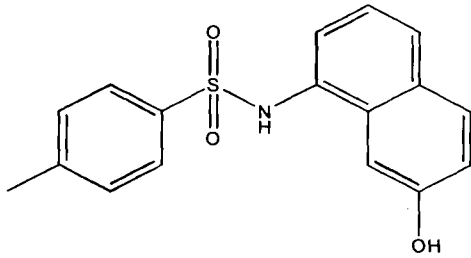
본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 예컨대 0.001-100 mg/kg이다.

본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

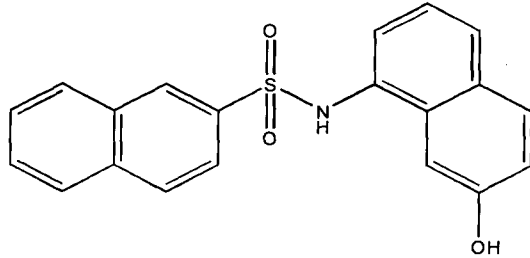
본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 화학식 2 내지 4, 8, 9, 11 내지 13, 15, 16 내지 20, 22 내지 24, 26, 28 및 29 로 표시되는

화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 설포닐 아마이드(sulfonyl amide) 유도체를 제공한다:

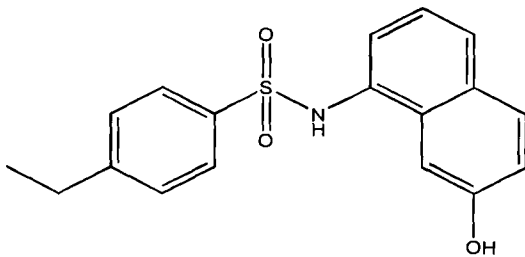
화학식 2



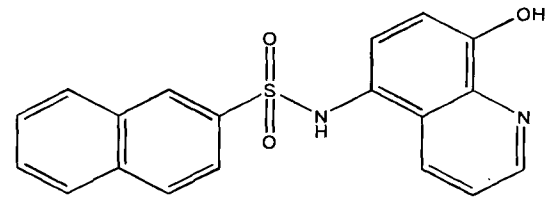
화학식 3



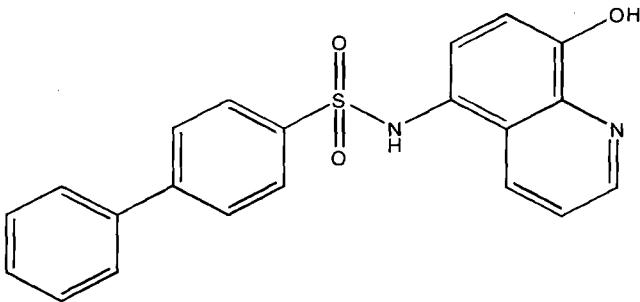
5 화학식 4



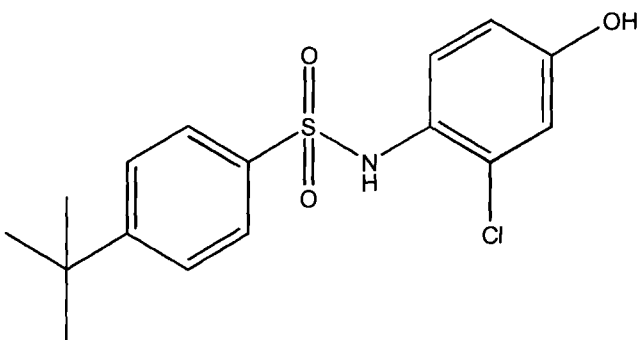
화학식 8



화학식 9



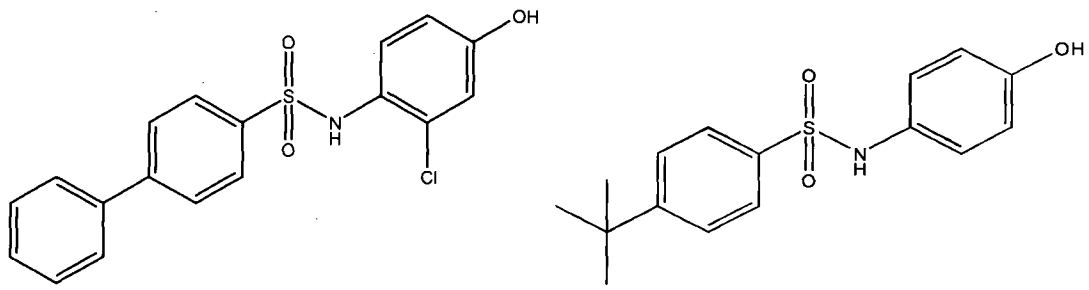
화학식 11



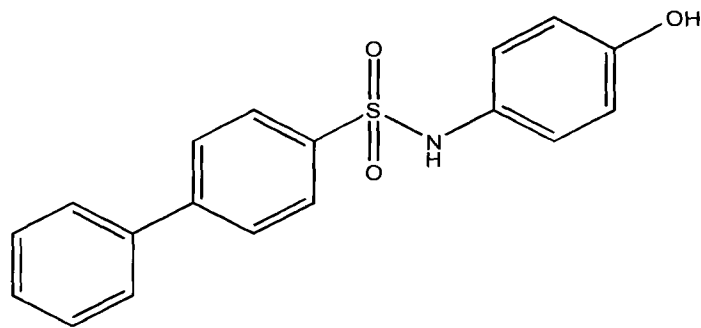
10

화학식 12

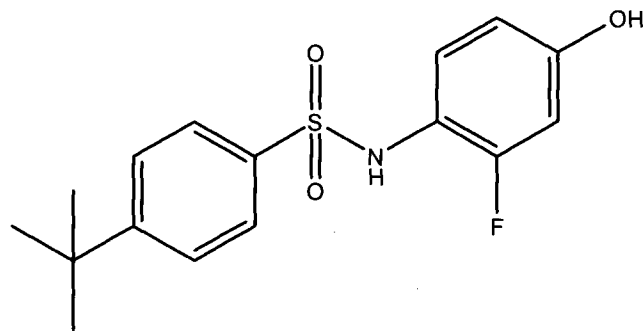
화학식 13



화학식 15

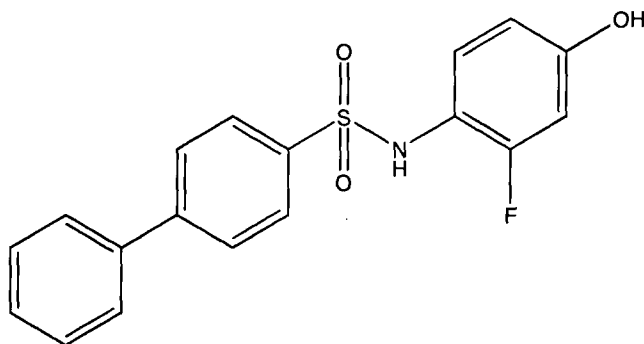


화학식 16

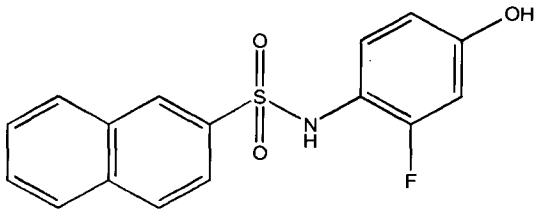


5

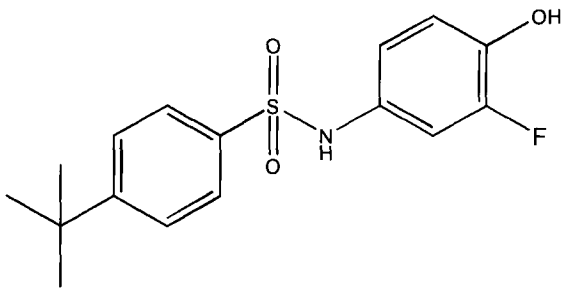
화학식 17



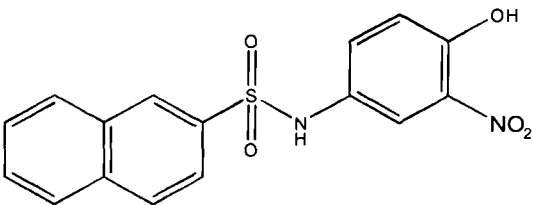
화학식 18



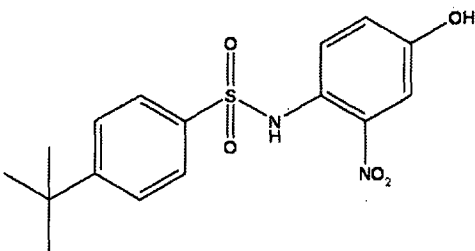
화학식 19



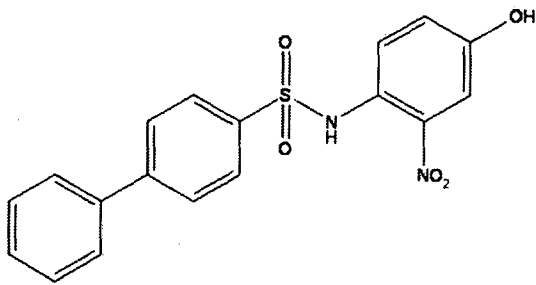
5 화학식 20



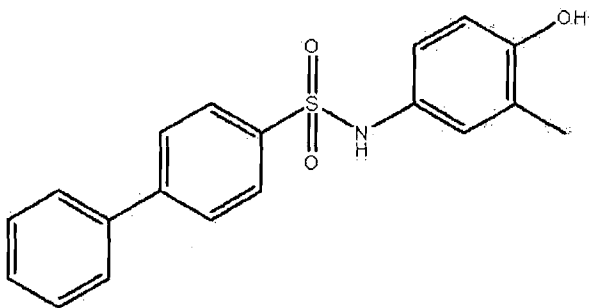
화학식 22



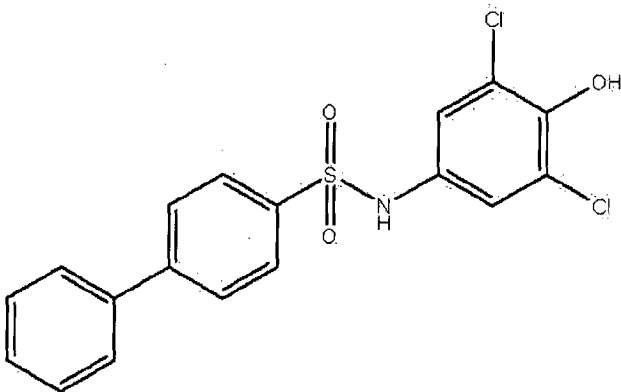
10 화학식 23



화학식 24

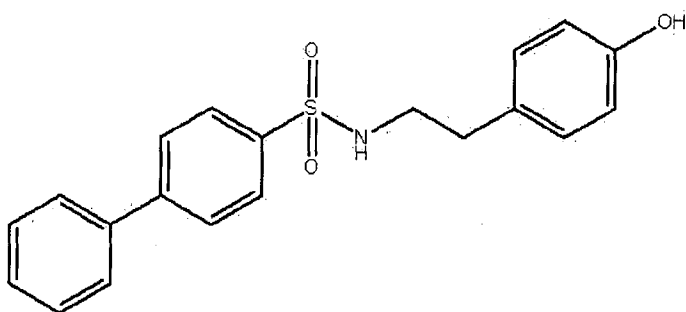


화학식 26

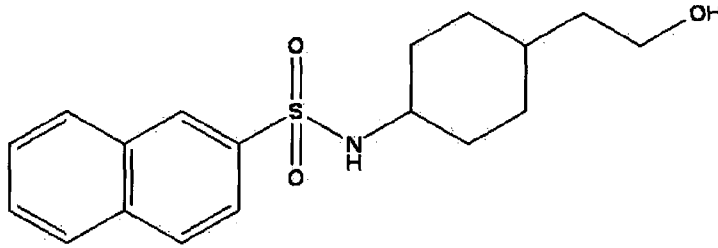


5

화학식 28



화학식 29



본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

- 5 (a) 본 발명은 혈관신생-관련 질병 또는 질환의 예방 또는 치료에 효과적으로 이용될 수 있는 혈관신생 억제용 억제학적 조성물 및 신규한 설폰아마이드 유도체 화합물을 제공한다.
- (b) 본 발명의 억제학적 조성물에서 유효성분으로 이용되는 화합물은 UQCRB 에 특이적으로 결합하여 이의 생물학적 기능을 억제하기 때문에,
- 10 세포사멸을 유도하지 않으면서 혈관신생 반응(angiogenic responses)을 억제하므로, 약물의 안전성을 크게 개선한다.

【도면의 간단한 설명】

도 1 은 DPCN 유사체의 합성 전략을 나타낸 그림이다. DPCN 은 UQCRB 을 타겟팅하는 신규 저분자화합물로서, UQCRB 의 산소감지 기능을 조절함으로써 항-혈관신생 활성을 보인다. DPCN 과 UQCRB 의 결합형태를 분석함으로써, 보다 강력한 혈관신생 억제 효능을 가지는 DPCN 유도체들을 합성하였다.

도 2 는 HIF-1 α 단백질 축적에 대해 합성 유도체들이 미치는 효과를 나타낸 그림이다. HepG2 세포에 합성 유도체들을 지시된 농도로 30 분간 전처리하고 1% O₂ 에 4 시간 동안 노출시켰다. HIF-1 α 및 튜불린 단백질 수준은 웨스턴 블롯팅 분석으로 측정하였다. HepG2 세포에 A1893 및 A1938 를 처리하자 저산소-유도 HIF-1 α 단백질 축적이 크게 감소하였다.

도 3 은 선정된 화합물과 UQCRB 간의 상호작용을 분석한 결과를 나타낸 그림이다. 화합물의 UQCRB 에 대한 결합을 분석하기 위하여 SPR 분석을 수행하였다. 대조군 바이오틴 및 바이오틴화된 테르페스타신(BT)을 순차적으로 스트렙타비딘-코팅 센서 칩의 표면에

고정시키고 명확한 결합 친화도를 바이오틴화된 테르페스타신에 결합하는 UQCRB 의 공명 값에서 대조군 바이오틴에 결합하는 UQCRB 의 공명 값을 뺀으로써 계산하였다. 경쟁결합 분석을 위하여, 화합물들을 각각 UQCRB 단백질과 함께 배양하고, 복합체들을 센서 칩의 유세포(flow cell)에 주입하였다. UQCRB 의 BT 에 대한 결합 친화도는 화합물들과 UQCRB 단백질을 함께 배양함으로써 크게 감소하였으며, 이에 의하여 A1893 및 A1938 가 UQCRB 에 직접적으로 결합한다는 사실을 확인하였다.

도 4 는 A1893 및 A1938 이 인/비트로 혈관신생에 미치는 효과를 나타낸 그림이다. 영양부족(serum-starved) HUVEC 에 A1893 또는 A1938 을 첨가하거나 첨가하지 않은 채 VEGF(30 ng/mL)를 처리하고 인/비트로 혈관신생 분석을 수행하였다. 도 4a 는 A1893 및 A1938 의 상피세포 침투에 대한 억제활성을 나타낸 그림이다. 도 4b 는 A1893 및 A1938 가 HUVEC 의 관-형성 능력에 미치는 영향을 나타낸 그림이다. A1893 및 A1938 는 상피세포의 생존성에 영향을 미치지 않으면서 VEGF-유도 침투 및 HUVEC 의 관 형성을 억제한다.

도 5 는 A1893 및 A1938 가 미토콘드리아 ROS 형성에 미치는 영향을 나타낸 그림이다. 세포내 ROS 수준은 DCF 형광으로 측정하였다. HepG2 세포는 화합물로 30 분간 전처리하고 1% O₂ 에 10 분간 동안 노출시켰다. A1893 및 A1938 은 저산소-유도 미토콘드리아 ROS 생성을 억제하였으며, 이에 의하여 A1893 및 A1938 가 UQCRB 의 산소감지 기능을 조절한다는 사실을 확인하였다.

【실시예】

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

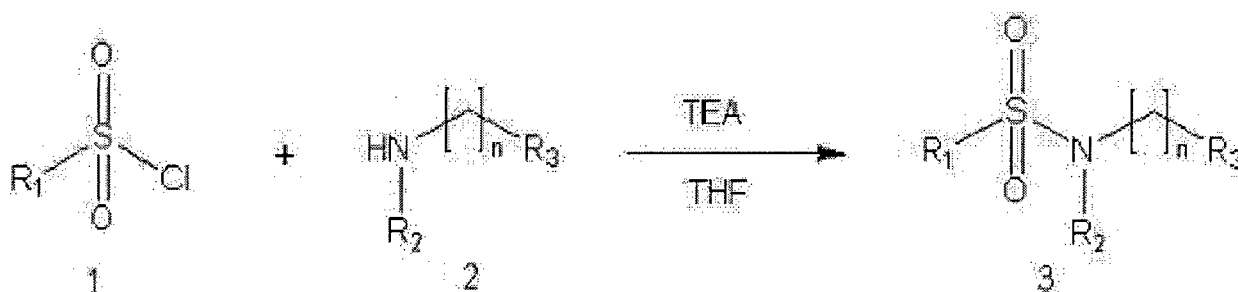
실시예

화합물의 제조

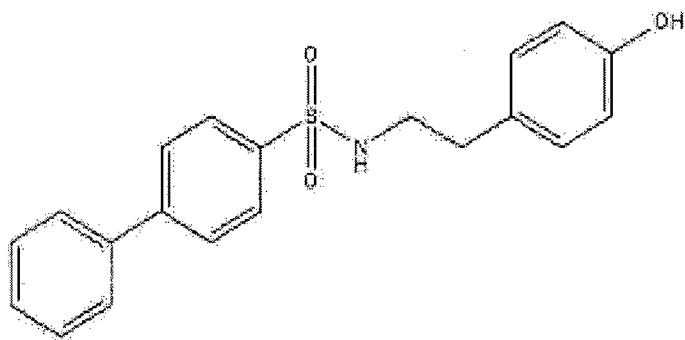
하기의 합성 모식도의 2 번 반응물(아민 유도체)을 테트라하이드로퓨란 0.1M 용액에서 1 번 반응물(설폰클로라이드 유도체)를 넣어 상온에서 교반하고 트라이에틸아민을 첨가해 실온에서 12 시간 교반하였다. 이후 에틸아세테이트로 여과한 뒤 감압 농축하였다.

- 5 얻어진 화합물을 실리카겔 컬럼 크로마토 그래피 방법 또는 재결정 방법을 통하여 3 번 생성물을 얻었다.

합성 모식도



- 상기 합성 모식도에 기초한 본 발명의 화합물들의 예시적인 제조예를
10 A2060(바이페닐-4-설폰닉 액시드 [2-(4-하이드록시-페닐)-에틸]-아미드의 제조)의 예를 들어 기술하면 아래와 같다:



- 바이페닐-4-설폰닐 클로라이드(1, 300mg, 1.19mmol)의 테트라하이드로퓨란 0.1M 에 4-(2-아미노에틸)페놀(2, 217mg, 1.25mmol)와
15 트라이에틸아민(497ml, 3.57mmol)을 교반 상태에서 주입한 후 12 시간 상온에서 교반하였다. 생성 혼합물을 에틸아세테이트를 이용해서 여과시킨 후, 감압농축하였다. 얻어진 혼합물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 방법 (용출제 - 헥세인:에틸아세테이트 = 1:5)으로 정제하거나 또는 에틸알콜을 이용하여 재결정하였다. 목적화합물을 25%의
20 수득율(104mg, 0.29mmol)로 얻었다.

500 MHz, DMSO-d₆, δ 9.18 (s, 1H), 7.86 (q, 4H, J= 9.0 Hz), 7.74 (d, 3H, J= 8.5 Hz), 7.51 (t, 2H, J= 7.5 Hz), 7.44 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 6.94 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 6.64 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 2.92 (t, 2H, J= 9.3 Hz), 2.58 (t, 2H, J= 7.5 Hz) ESI (m/z) 354.10 (M⁺), 376.10 (MNa⁺)

5 그 밖의 본 발명의 화합물은 모두 상술한 합성 모식도 및 대표 제조예와 동일한 방법으로 제조하였으며, 이들의 분광학적 데이터는 표 1에 기재하였다.

【표 1】

각 화합물들의 분광학 데이터

KBH-A-Nr	IUPAC 명칭	LC/MS	¹ H NMR
A1882	N-(7-하이드록시-나프탈렌-1-일)-4-에틸-벤젠설포아미드	ESI (m/z) 314.00 (M ⁺), 355.00 (MAc ⁺)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 7.86 (d, 1H, J= 2.5 Hz), 7.75 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.69 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 7.46 (d, 2H, J= 8.0 Hz), 7.22 (t, 1H, J= 7.7 Hz), 7.06 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 6.93 (dd, 1H, J= 2.5, 9.0 Hz), 6.69 (d, 1H, J= 7.5 Hz), 5.76 (s, 2H), 2.41 (s, 3H)
A1883	나프탈렌-2-설포닉 엑시드 (7-하이드록시-나프탈렌-1-일)-아미드	ESI (m/z) 350.00 (M ⁺), 391.00 (MAc ⁺)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 8.59 (s, 1H), 8.21 (t, 2H, J= 9.0 Hz), 8.11 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 7.92-7.89 (m, 2H), 7.78 (t, 1H, J= 7.2 Hz), 7.70 (t, 1H, J= 7.2 Hz), 7.65 (t, 1H, J= 8.5 Hz), 7.20 (t, 1H, J= 7.7 Hz), 7.03 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 6.92 (dd, 1H, J= 2.3, 8.8 Hz), 6.67 (d, 1H, J= 7.5 Hz), 5.74 (s, 2H)
A1891	4-에틸-N-(7-하이드록시-나프탈렌-1-일)-벤젠설포아미드	ESI (m/z) 328.00 (M ⁺), 369.00 (MAc ⁺)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 7.87 (d, 1H, J= 2.5 Hz), 7.80-7.78 (m, 2H), 7.70 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 7.49 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.22 (t, 1H, J= 7.8 Hz), 7.07 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 6.95 (dd, 1H, J= 2.0, 9.0 Hz), 6.70 (d,

			1H, J= 7.5 Hz), 2.76 (s, 2H), 2.70 (q, 2H, J= 7.5 Hz), 1.19 (t, 3H, J= 7.7 Hz)
A1893	4-터트-부틸-N-(4-하이드록시-페닐)-벤젠설폰아미드	ESI (m/z) 347.00 (MAc+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 9.73 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 7.59 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.54 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 6.86 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 6.59 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 1.26(s, 9H)
A1938	바이페닐-4-설폰닉 엑시드 (4-하이드록시-페닐)-아미드	APCI (m/z) 326.00 (M+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 9.80 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.72 (t, J = 7.9 Hz, 4H), 7.49 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.42 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.61 (d, J = 8.8 Hz, 2H).
A1958	4-터트-부틸-N-(8-하이드록시-퀴놀린-5-일)-벤젠설폰아미드	ESI (m/z) 357.00 (M+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 10.28 (s, 1H), 8.99 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.71 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.80 (dd, J = 8.4, 4.9 Hz, 1H), 7.50 (s, 4H), 7.31 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 1.25 (s, 9H).
A1959	나프탈렌-2-설폰닉 엑시드 (8-하이드록시-퀴놀린-5-일)-아미드	ESI (m/z) 351.00 (M+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 10.37 (s, 1H), 8.96 (d, 1H, J= 5.0 Hz), 8.85 (d, 1H, J= 7.0 Hz), 8.20 (s, 1H), 8.11 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 8.04 (t, 2H, J= 7.8 Hz), 7.76 (dd, 1H, J= 1.7, 8.8 Hz), 7.70 (t, 2H, J= 8.0 Hz), 7.62 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 7.15 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 7.02 (d, 1H, J= 8.0 Hz)
A1961	바이페닐-4-설폰닉 엑시드 (8-하이드록시-퀴놀린-5-일)-아미드	ESI (m/z) 376.95 (M+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 10.23 (s, 1H), 8.94 (d, 1H, J= 4.0 Hz), 7.82 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 7.77 - 7.67 (m, 4H), 7.50 (t, 3H, J= 8.0 Hz), 7.47 - 7.42 (m, 3H), 7.16 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 7.11 (d, 1H, J= 8.0 Hz)
A1999	4-터트-부틸-N-(3-하이드록시-	ESI (m/z) 306.05 (M+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 10.16 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 7.70 (d, 1H, J= 8.3 Hz), 7.57 (d,

	페닐)- 벤젠설포아미드		2H, J= 8.0 Hz), 6.97 (t, 1H, J= 8.0 Hz), 6.60 (s, 1H), 6.53 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 6.38 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 1.26 (s, 9H)
A2000	4-터트-부틸-N- (2-클로로-4- 하이드록시- 페닐)- 벤젠설포아미드	ESI (m/z) 340.05 (M+ ₁), 342.05 (M++1), 381.05 (MAc+ ₁), 383.05 (MAc++1)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 7.71 (q, 4H, J= 9.0 Hz), 6.77 (t, 1H, J= 1.2 Hz), 6.68 (d, 2H, J= 1.5 Hz), 5.51 (s, 2H), 1.30 (s, 9H)
A2001	바이페닐-4- 설포닉 엑시드 (2-클로로-4- 하이드록시- 페닐)-아미드	ESI (m/z) 360.00 (M+), 401.00 (MAc+)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 7.97 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.89 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.78 (d, 2H, J= 7.5 Hz), 7.53 (t, 2H, J= 7.5 Hz), 7.47 (q, 1H, J= 7.0 Hz), 6.56 (d, 1H, J= 2.0 Hz), 6.72 - 6.68 (m, 2H),
A2002	나프탈렌-2- 설포닉 엑시드 (2-클로로-4- 하이드록시- 페닐)-아미드	ESI (m/z) 334.05 (M+ ₁), 336.05 (M++1), 374.95 (MAc+ ₁), 376.95 (MAc++1)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 8.54 (s, 1H), 8.23- 8.21 (m, 2H), 8.12 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 7.83 (dd, 1H, J= 2.0, 8.5 Hz), 7.79 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 7.71 (tm, 1H, J= 7.5 Hz), 6.91 (s, 1H), 6.62 (s, 2H), 5.49 (s, 2H)
A2003	4-터트-부틸-N- (3-클로로-4- 하이드록시- 페닐)- 벤젠설포아미드	ESI (m/z) 340.05 (M+ ₁), 342.05 (M++1), 381.05 (MAc+ ₁), 383.05 (MAc++1)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 7.76 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 7.68 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 6.93 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 6.56 (d, 1H, J= 2.5 Hz), 6.45 (dd, 1H, J= 2.5, 9.0 Hz), 5.53 (s, 2H), 1.26 (s, 9H)
A2006	4-터트-부틸-N- (3,5-다이클로로- 4-하이드록시- 페닐)- 벤젠설포아미드	ESI (m/z) 373.95 (M+ ₁), 375.95 (M++1), 415.00 (MAc+ ₁), 417.05 (MAc++1)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 7.87 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.71 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 6.60 (s, 2H), 5.82 (s, 2H), 1.32 (s, 9H)
A2007	4-터트-부틸-N- (2-플루오로-4-	ESI (m/z) 324.00 (M+), 365.05	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 7.74 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 7.67 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 6.69 (dd,

	하이드록시- 페닐)- 벤젠설포나미드	(MAc+)	1H, J= 2.5, 11.5 Hz), 6.94 (t, 1H, J= 9.5 Hz), 6.53 (dd, 1H, J= 2.5, 9.0 Hz), 5.29 (s, 2H), 1.26 (s, 9H)
A2008	바이페닐-4- 설포닉 엑시드 (2-플루오로-4- 하이드록시- 페닐)-아미드	ESI (m/z) 344.00 (M+), 385.05 (MAc+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 7.96 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.87 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.78 (d, 2H, J= 7.0 Hz), 7.53 (t, 2H, J= 7.1 Hz), 7.47 (t, 1H, J= 7.2 Hz), 6.78 (dd, 1H, J= 2.5, 11.5.0 Hz), 6.64 (t, 1H, J= 8.5 Hz), 6.57 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 5.31 (s, 2H)
A2009	나프탈렌-2- 설포닉 엑시드 (2-플루오로-4- 하이드록시- 페닐)-아미드	ESI (m/z) 318.00 (M+), 359.05 (MAc+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 8.53 (s, 1H), 8.22-8.20 (m, 2H), 8.11 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.83 (d, 2H, J= 7.5 Hz), 7.79 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 7.71 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 6.76 (dd, 1H, J= 2.3, 11.8 Hz), 6.59 (t, 1H, J= 9.5 Hz), 6.50 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 5.27 (s, 2H)
A2010	4-터트-부틸-N- (3-플루오로-4- 하이드록시- 페닐)- 벤젠설포나미드	ESI (m/z) 324.00 (M+), 346.00 (MNa+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 7.75 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.69 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 6.71 (t, 1H, J= 9.5 Hz), 6.52 (dd, 1H, J= 2.5, 13.0 Hz), 6.26 (dd, 1H, J= 2.5, 9.0 Hz), 5.54 (s, 2H), 1.31 (s, 9H)
A2013	나프탈렌-2- 설포닉 엑시드 (3-나이드로-4- 하이드록시- 페닐)-아미드	ESI (m/z) 345.00 (M+), 367.05 (MNa+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 8.51 (s, 1H), 8.23 - 8.21 (m, 2H), 8.12 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 7.82 - 7.76 (m, 2H), 7.72 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 7.05 (d, 1H, J= 2.5 Hz), 6.73 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 6.68 (dd, 1H, J= 2.5, 9.0 Hz), 5.92 (s, 1H), 3.36 (s, 1H)
A2033	바이페닐-4- 설포닉 엑시드 (3-하이드록시-		500 MHz, DMSO-d6, δ 7.95 (q, 4H, J= 24.5 Hz), 7.77 (d, 2H, J= 7.0 Hz), 7.67 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 7.61 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 7.53

	페닐)-아미드		(t, 3H, J= 8.3 Hz), 7.48 (t, 2H, J= 7.2 Hz), 7.17 (dd, 1H, J= 2.8, 9.2 Hz), 6.98 (d, 1H, J= 9.5 Hz)
A2037	4-터트-뷰틸-N-(2-나이트로-4-하이드록시-페닐)-벤젠설폰아미드	ESI (m/z) 351.00 (M+), 373.05 (MNa+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 7.78 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.69 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.55 (s, 2H), 7.32 (d, 1H, J= 3.0 Hz), 7.16 (dd, 1H, J= 2.8, 9.0 Hz), 6.98 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 1.30 (s, 9H)
A2038	바이페닐-4-설폰익 엑시드 (2-나이트로-4-하이드록시-페닐)-벤젠설폰아미드	ESI (m/z) 371.00 (M+), 393.00 (MNa+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 7.94 (q, q, 4H, J= 25.3 Hz), 7.78 (d, 2H, J= 7.5 Hz), 7.53 (t, 2H, J= 7.5 Hz), 7.47 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 6.95 (t, 1H, J= 8.0 Hz), 6.45 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 6.30 (s, 1H), 6.08 (d, 1H, J= 5.5 Hz), 5.40 (s, 2H)
A2040	바이페닐-4-설폰익 엑시드 (4-하이드록시-3-메틸-페닐)-아미드	ESI (m/z) 340.05 (M+), 381.10 (MAc+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 9.73 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 7.83 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.74 - 7.70 (m, 4H), 7.49 (t, 2H, J= 7.2 Hz), 7.42 (t, 1H, J= 6.8 Hz), 6.79 (s, 1H), 6.70 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 6.60 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 1.9 (s, 3H)
A2041	바이페닐-4-설폰익 엑시드 (4-하이드록시-3-메틸-페닐)-아미드	ESI (m/z) 340.05 (M+), 381.10 (MAc+)	500 MHz, DMSO-d6, δ 7.97 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.92 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 7.77 (d, 2H, J= 7.5 Hz), 7.68 - 7.66 (m, 3H), 7.61 (d, 2H, J= 8.0 Hz), 7.66 (t, 2H, J= 7.6 Hz), 7.37 (t, 1H, J= 7.6 Hz), 2.17 (s, 3H)
A2043	바이페닐-4-설폰익 엑시드 (3,5-다이클로로-4-하이드록시-페닐)-아미드	ESI (m/z) 393.95 (M+ ₁), 395.90 (M++ ₁), 415.90 (MAc+ ₁), 417.95 (MAc++ ₁)	500 MHz, DMSO-d6, δ 8.01 (q, 4H, J= 8.5 Hz), 7.79 (d, 2H, J= 7.0 Hz), 7.54 (t, 2H, J= 7.5 Hz), 7.48 (t, 1H, J= 7.0 Hz), 6.63 (s, 2H), 5.84 (s, 2H)

A2044	나프탈렌-3- 설폰릭 엑시드 (3,5-다이클로로- 4-하이드록시- 페닐)-아미드	ESI (m/z) 367.95 (M+ ₁), 369.95 (M++1), 389.80 (MNa+ ₁), 391.90 (MNa++1)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 8.67 (s, 1H), 8.27 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 8.22 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 8.12 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 7.95 (d, 1H, J= 8.5 Hz), 7.79 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 7.72 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 6.59 (s, 2H), 5.83 (s, 2H)
A2060	바이페닐-4- 설폰릭 엑시드 [2-(4- 하이드록시- 페닐)-에틸]- 아미드	ESI (m/z) 354.10 (M+), 376.10 (MNa+)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 9.18 (s, 1H), 7.86 (q, 4H, J= 9.0 Hz), 7.74 (d, 3H, J= 8.5 Hz), 7.51 (t, 2H, J= 7.5 Hz), 7.44 (t, 1H, J= 7.5 Hz), 6.94 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 6.64 (d, 2H, J= 8.5 Hz), 2.92 (t, 2H, J= 9.3 Hz), 2.58 (t, 2H, J= 7.5 Hz)
A2069	나프탈렌-2- 설폰릭 엑시드 [4-(2- 하이드록시- 에틸)- 싸이틀로헥실]- 아미드	ESI (m/z) 334.15 (M+), 356.10 (MNa+)	500 MHz, DMSO-d ₆ , δ 8.43 (s, 1H), 8.15 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 8.12 (d, 1H, J= 9.0 Hz), 8.03 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 7.88 - 7.82 (m, 1H), 7.71 - 7.65 (m, 3H), 4.27 - 4.23 (m, 1H), 3.18 (s, 1H), 3.38 - 3.30 (m, 2H), 1.57 (t, 2H, J= 13.2 Hz), 1.40 - 1.30 (m, 6H), 1.21 - 1.18 (m, 1H), 1.20 (d, 1H, J= 12.0 Hz), 0.81 (q, 1H, J= 11.0 Hz)

HIF-1α 안정성 분석

HepG2 세포에 합성 유도체들을 지시된 농도로 30 분간 전처리하고 1% O₂ 에 4 시간 동안 노출시켰다. HIF-1α 및 튜블린 단백질 수준은 웨스턴 블롯팅 분석으로 측정하였다. HepG2 세포에 A1893 및 A1938 를 처리한 경우 저산소-유도 HIF-1 α 단백질 축적이 가장 크게 감소하였다(표 2 및 도 1).

【표 2】

10 각 화합물들의 HIF-1 α 에 대한 IC₅₀ 값

KBH-A-Nr	IC ₅₀ (μ M)
A1882	20
A1883	20
A1891	10
A1893	5
A1938	5
A1958	20
A1959	20
A1961	20
A1999	20
A2000	10
A2001	5
A2002	20
A2003	10
A2006	10
A2007	10
A2008	5
A2009	20
A2010	10
A2013	20
A2033	5
A2037	10
A2038	5
A2040	5
A2041	10
A2043	10
A2044	10
A2060	10
A2069	10

이하, IC₅₀ 값이 가장 낮은 두 화합물인 A1893 및 A1938 를 이용하여 추가적인 실험을 진행하였다

SPR(surface plasmon resonance) 분석

5 A1893 및 A1938 의 UQCRB 에의 결합을 좀더 조사하기 위하여, 본 발명자들은 SPR (BIAcore) 분석을 실시하였다. 바이오틴 및 바이오틴화된 테르페스타신을 순차적으로 스트렙타비딘-코팅 센서 칩 표면에 고정하였다. 경쟁결합 분자(A1893 및 A1938, 25 μ M)를 정제된 UQCRB 단백질(25 μ M)과 함께 완충액(10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA (pH 7.4))에서
10 반응시키고, UQCRB-경쟁결합 분자 복합체를 센서칩 위에 30 μ l/min 의 유속으로 주입하였다. 센서 칩의 표면은 재생 완충액(regeneration buffer, 50 mM NaOH)을 5 μ l 주입함으로써 재생하였다. 분자 상호작용의 분석은 BIAcore 2000 시스템(BIAcore AB)을 이용하여 수행하였으며, 명확한 결합 친화도를 바이오틴화된 테르페스타신(BT)에 결합하는 UQCRB 의 공명
15 값에서 대조군 바이오틴에 결합하는 UQCRB 의 공명 값을 뺀으로써 계산하였다. 경쟁결합 분석을 위하여, 테르페스타신 및 본 발명의 화합물들을 각각 UQCRB 단백질과 함께 배양하고, 복합체들을 센서 칩의 유세포(flow cell)에 주입하였다. 결론적으로, 테르페스타신 및 본 발명의 화합물들을 각각 UQCRB 단백질과 함께 미리 반응시킨 경우 UQCRB 의
20 BT 에 대한 결합 효율은 크게 감소하여 A1893 및 A1938 이 UQCRB 에 직접적으로 결합한다는 사실을 확인하였다(도 3).

혈관신생 저해활성 분석

1. 침투 분석

25 영양부족(serum-starved) HUVEC 에 A1893 또는 A1938 를 첨가하거나 첨가하지 않은 채 VEGF 를 처리하고 인 비트로 혈관신생 분석을 수행하였다. 8.0 μ m 포어 크기의 폴리카보네이트 필터가 포함된 트랜스웰 챔버 시스템(Corning Costar)을 이용하여 HUVEC 의 침투성을 조사하였다. 우선, 상기 필터의 하부를 10 μ l 젤라틴(10 mg/ml)으로 1 시간 동안 코팅하고,
30 필터의 상부를 10 μ l 마트리젤(3 mg/ml)로 2 시간 동안 코팅하였다. 이어, 트랜스웰에 600 μ l EBM-2 배지를 넣은 후, VEGF(30 ng/ml) 및 본 발명

화합물인 DPCN(2.5 μ M 및 5 μ M)를 첨가하였다. 코팅된 필터를 상기 트랜스웰 위에 올려 놓았고, 필터의 상부에 혈관내피세포(HUVECs, 1×10^5 세포/웰)를 접종하여 항온에서 18 시간 동안 배양하였다. 그 후, 70% 메탄올로 세포를 고정시키고 헤마톡실린/에오신으로 염색한 후, 침투된

5 전체 세포의 숫자는 100 배율의 광학 현미경을 이용하여 측정하였다. 측정 결과, A1893 및 A1938 는 상피세포의 생존성에 영향을 미치지 않으면서 VEGF-유도 침투를 억제함을 확인하였다(도 4a).

2. 관-형성 분석

관 형성 분석은 매트리지(Matrigel, Collaborative Biomedical Products)에서 배양한 HUVEC 을 이용하여 수행하였다. 48-웰 플레이트에 150 μ l의 매트리지겔을 코팅하고, 37°C에서 2 시간 동안 중합시켰다. 이어, 혈관내피세포(HUVECs, 1×10^5 세포/웰)를 상기 매트리지겔에 접종하고, VEGF (30 ng/ml, Upstate Biotechnology) 및 본 발명 화합물인 DPCN (2.5 μ M 및 5 μ M)를 첨가하였다. 상온에서 8 시간 동안 배양하면서 세포의 형태학적

15 변화를 현미경으로 관찰하였으며, 관 형성은 무작위로 선택한 필드에서 연결된 세포들의 숫자를 측정하고, 이를 동일한 필드 내 전체 세포 숫자로 나눔으로써 정량화하였다. 측정 결과, A1893 및 A1938 는 상피세포의 생존성에 영향을 미치지 않으면서 HUVEC 의 관 형성을 크게 억제하였다(도 4b).

20

미토콘드리아 ROS 생성 분석

저산소 상태 동안 복합체-III로 인한 ROS 생성의 증가는 HIF-1a 안정화를 촉발하며, 결과적으로 VEGF 와 같은 타겟 유전자의 발현을 매개한다. UQCRB 는 미토콘드리아 복합체 III의 핵심 요소로서 O_2 센서로

25 작용하며, 저산소-유도 종양 혈관신생을 매개한다. A1893 및 A1938 의 항-혈관신생 활성이 UQCRB 의 O_2 감지기능과 조절과 관련되는지를 조사하기 위하여, 본 발명자들은 A1893 및 A1938 의 미토콘드리아 ROS-매개 저산소 신호전달 과정을 조사하였다. HepG2 간암세포를 A1893 또는 A1938 로 30 분간 전처리하고 1% O_2 에 10 분간 동안 노출시켰으며, 세포내 ROS 수준은

30 DCF 형광으로 측정하였다. A1893 및 A1938 는 HepG2 세포에서 저산소-유도 미토콘드리아 ROS 생성을 용량-의존적으로 억제하였다(도 5). 이러한

결과는 A1893 및 A1938 의 항-혈관신생 활성이 UQCRB 의 O_2 감지기능의 조절과 관련되어 있음을 보여준다.

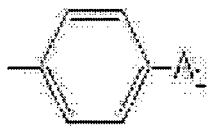
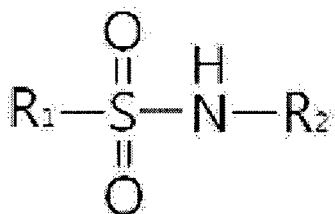
5 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

【청구의 범위】

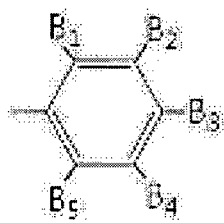
【청구항 1】

하기의 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는
혈관신생 억제용 약제학적 조성물:

5 화학식 1



상기 화학식에서, R_1 은 (A_1 은 직쇄 또는 분쇄의 C_1 - C_6 알킬, 비치환되거나 직쇄 또는 분쇄의 C_1 - C_6 알킬 또는 할로겐으로 치환된 페닐 또는 비치환되거나 직쇄 또는 분쇄의 C_1 - C_6 알킬 또는 할로겐으로



10 치환된 나프탈릴이다)이고, R_2 는 (B_1 - B_5 은 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 히드록시, 니트로 또는 C_1 - C_6 알킬); 하이드록시 나프탈릴, 4-하이드록시벤질 C_1 - C_3 알킬, 4-(2-하이드록시에틸)사이클로헥실 또는 비치환되거나 직쇄 또는 분쇄의 C_1 - C_6 알킬, 할로겐 또는 하이드록시기로 치환된 퀴놀린이다.

15

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 상기 R_1 의 A_1 은 메틸, 에틸, 페닐, 또는 tert-부틸인 것을 특징으로 하는 조성물.

20 【청구항 3】

제 1 항에 있어서, 상기 R_2 의 B_1 은 수소, 염소, 플루오르, 하이드록시, 니트로 또는 메틸인 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 4】

제 1 항에 있어서, 상기 R₂의 하이드록시 나프탈릴은 7-하이드록시 나프탈릴인 것을 특징으로 하는 조성물.

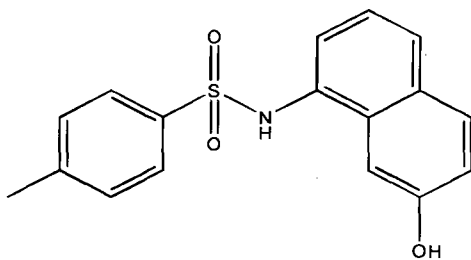
5 【청구항 5】

제 1 항에 있어서, 상기 R₂의 퀴놀린은 8-하이드록시 퀴놀린인 것을 특징으로 하는 조성물.

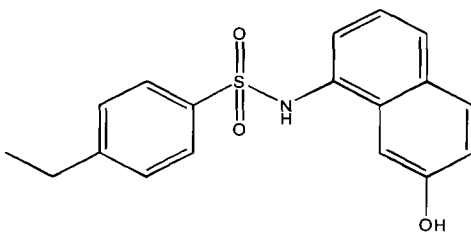
【청구항 6】

10 제 1 항에 있어서, 상기 화합물은 하기의 화학식 2 내지 29로 표시되는 화합물로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

화학식 2



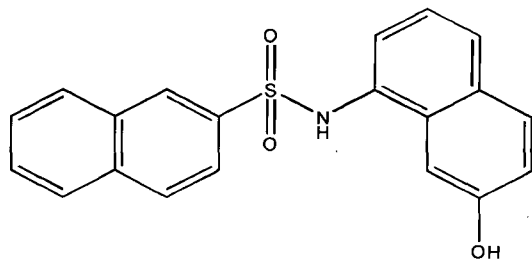
화학식 4



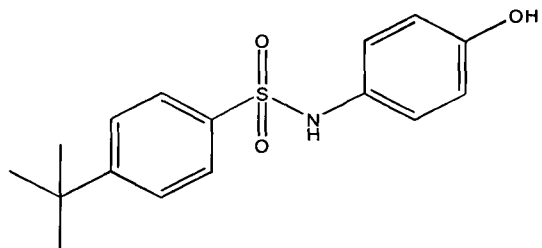
15

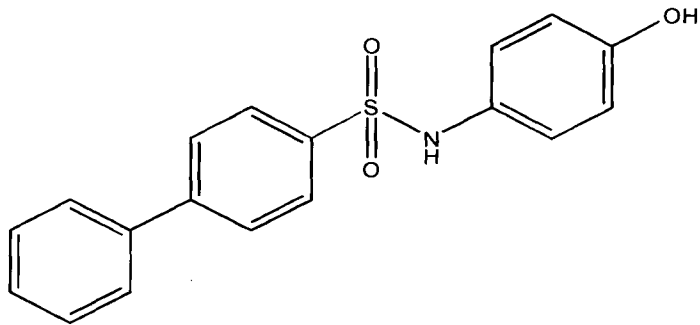
화학식 6

화학식 3

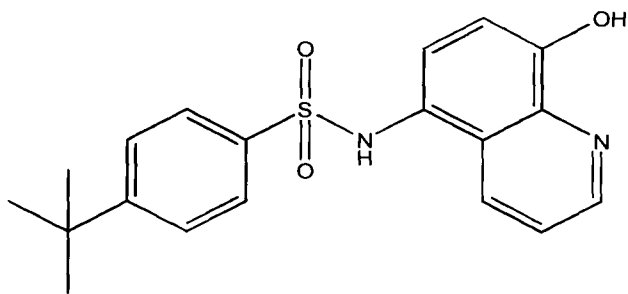


화학식 5

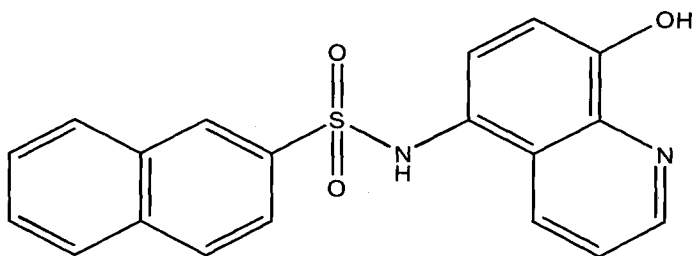




화학식 7

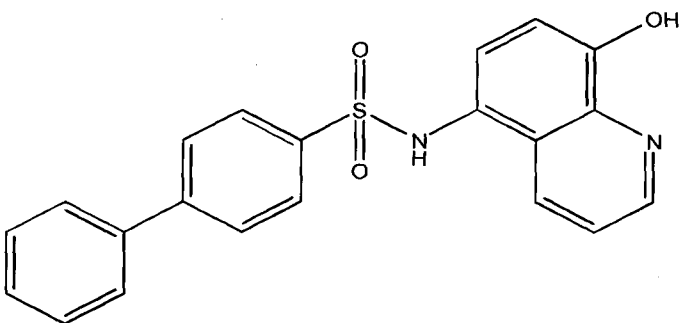


화학식 8

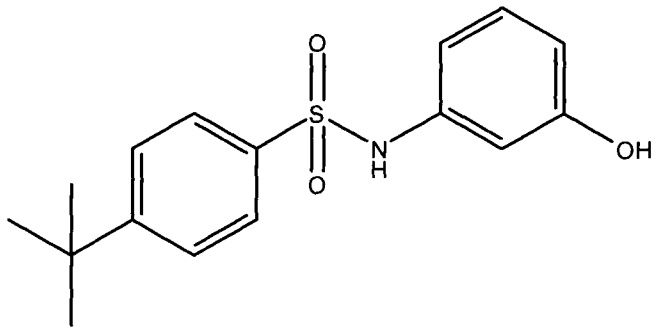


5

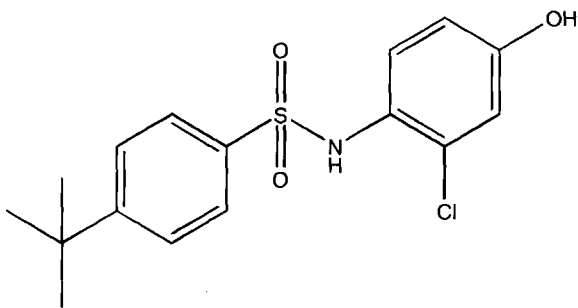
화학식 9



화학식 10

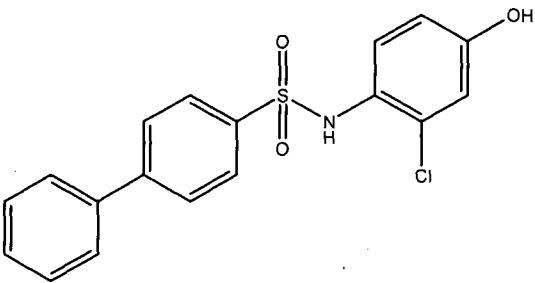


화학식 11

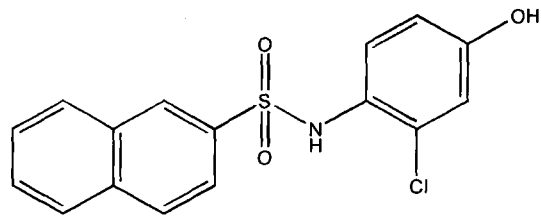


화학식 12

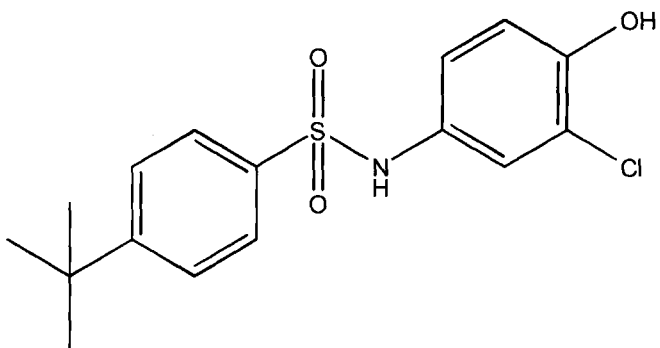
화학식 13



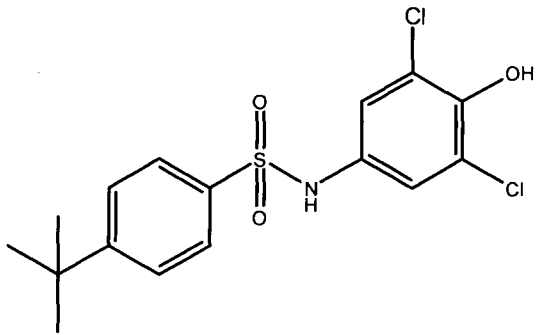
화학식 14



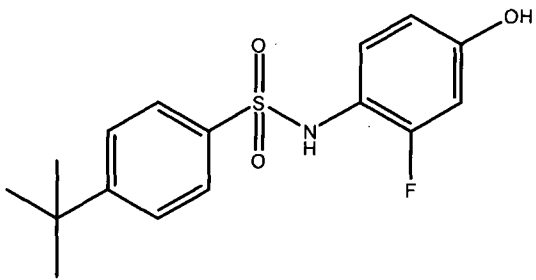
5



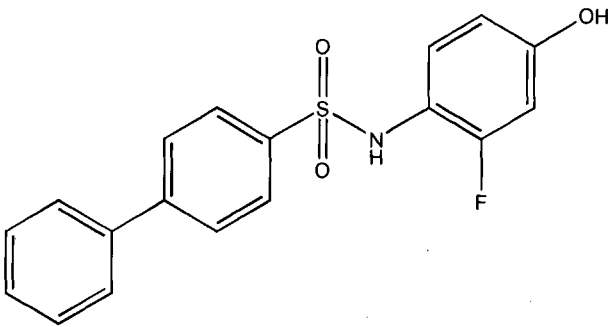
화학식 15



화학식 16

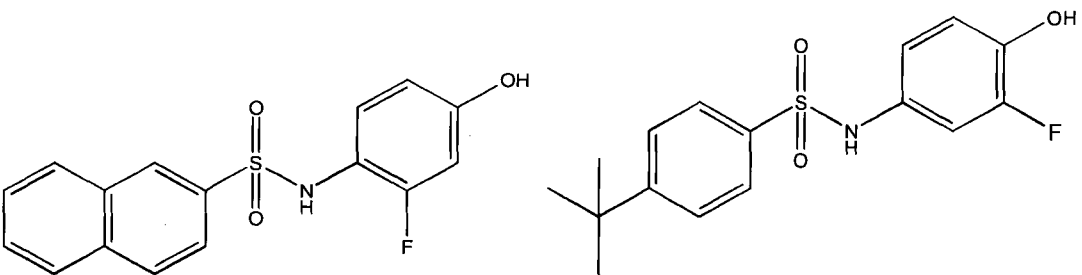


화학식 17

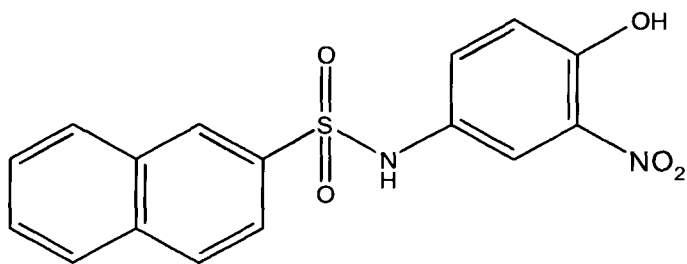


화학식 18

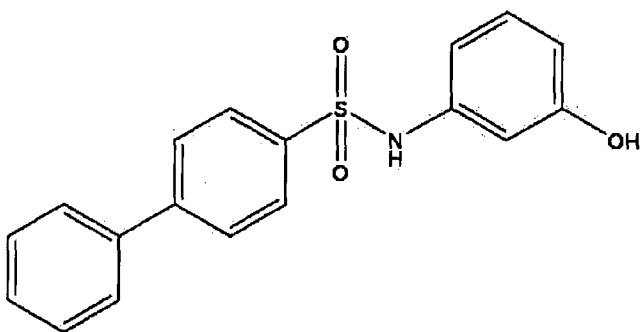
화학식 19



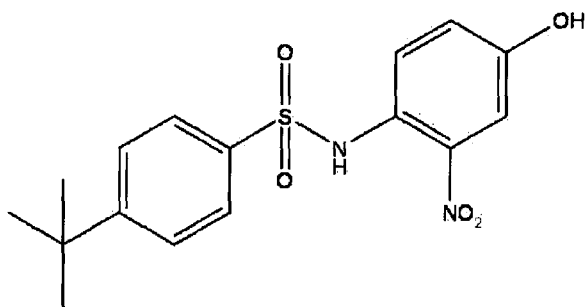
화학식 20



화학식 21

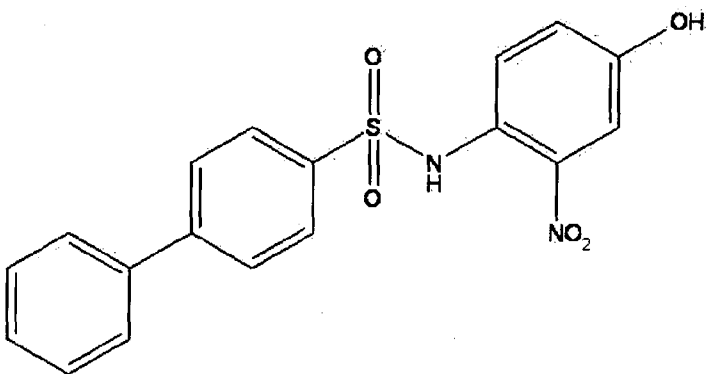


화학식 22

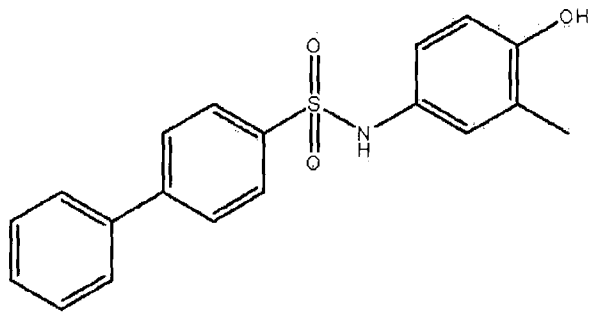


5

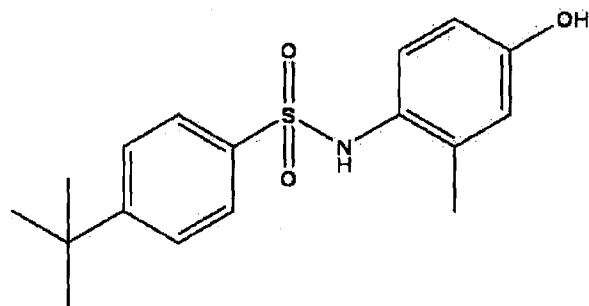
화학식 23



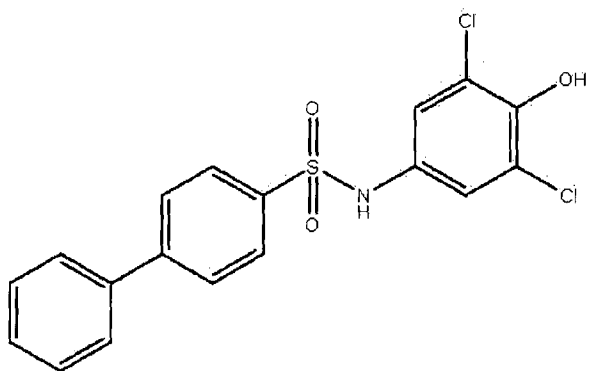
화학식 24



화학식 25

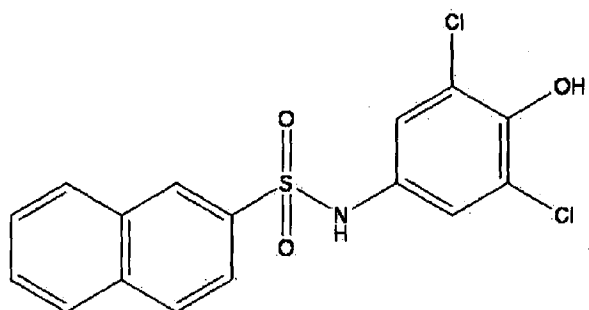


화학식 26

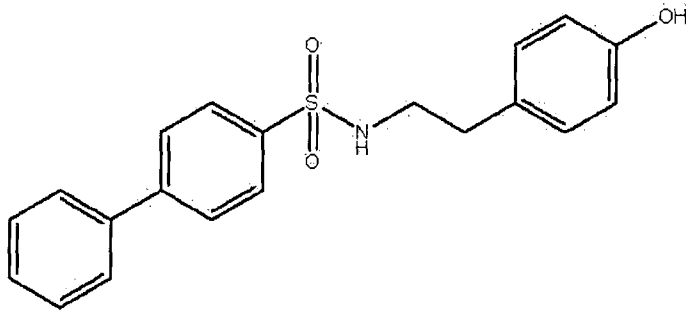


5

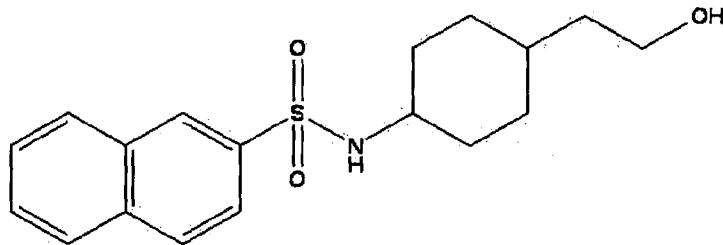
화학식 27



화학식 28



화학식 29



5 【청구항 7】

제 6 항에 있어서, 상기 화합물은 상기의 화학식 5, 6, 12, 17, 21, 23 및 24 로 표시되는 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

10 【청구항 8】

제 1 항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 암, 당뇨병성 망막증, 미숙아 망막증, 각막 이식 거부, 신생혈관 녹내장, 홍색증, 증식성 망막증, 건선, 혈우병성 관절, 아테롬성 동맥경화 플라크 내에서의 모세혈관 증식, 켈로이드, 상처 과립화, 혈관 접착, 류마티스 관절염, 골관절염, 자가면역 질환, 크론씨병, 재발협착증, 아테롬성 동맥경화, 장관 접착, 캣 스크래치 질환, 궤양, 간경병증, 사구체신염, 당뇨병성 신장병증, 악성 신경화증, 혈전성 미소혈관증, 기관 이식 거부, 신사구체병증, 당뇨병, 염증 또는 신경퇴행성 질환의 비조절성 혈관신생-관련 질병 또는 질환의 예방 또는 치료에 이용되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

20

【청구항 9】

제 8 항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 암, 당뇨병성 망막증 또는 증식성 망막증의 예방 또는 치료에 이용되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

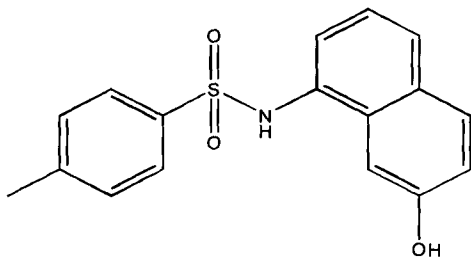
5 【청구항 10】

제 9 항에 있어서, 상기 증식성 망막증은 연령관련황반변성인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

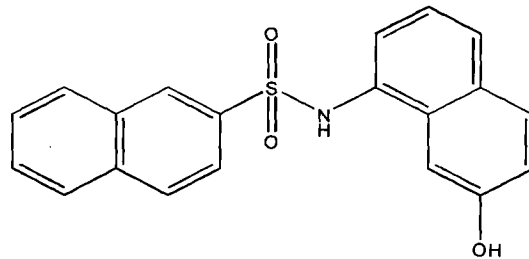
【청구항 11】

- 10 하기의 화학식 2 내지 4, 8, 9, 11 내지 13, 15, 16 내지 20, 22 내지 24, 26, 28 및 29 로 표시되는 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 설포닐 아마이드(sulfonyl amide) 유도체:

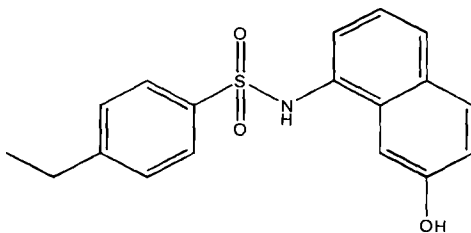
화학식 2



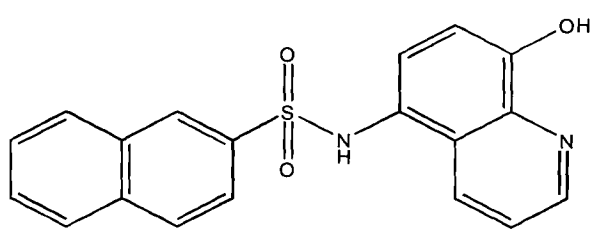
화학식 3



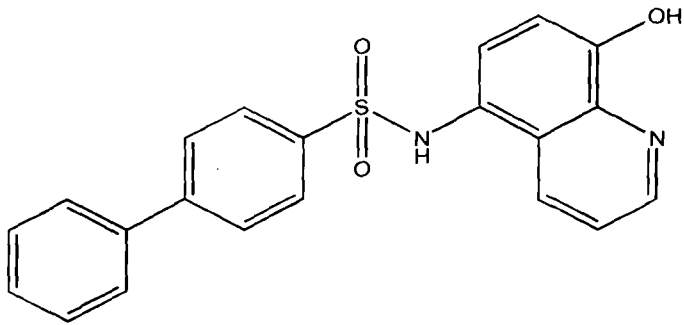
15 화학식 4



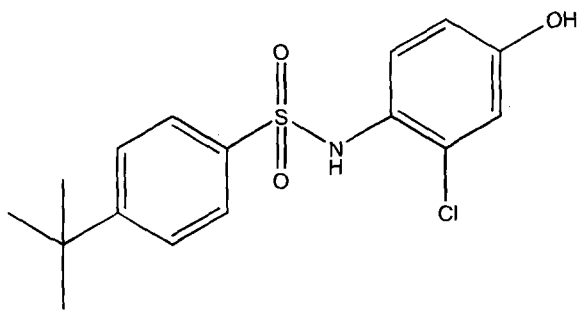
화학식 8



화학식 9

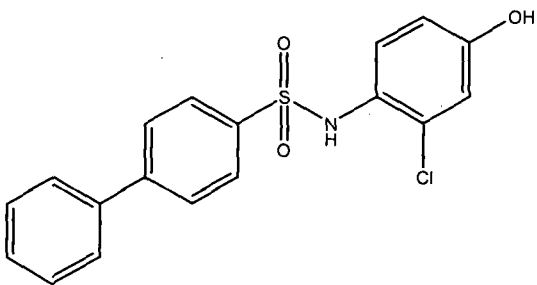


화학식 11



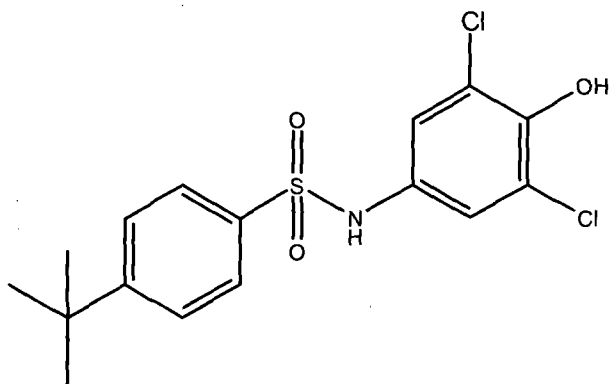
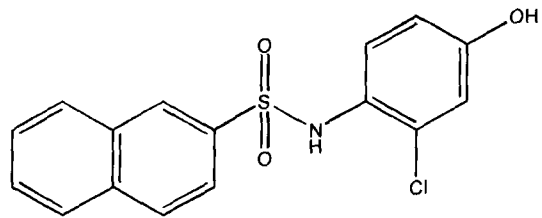
화학식 12

화학식 13

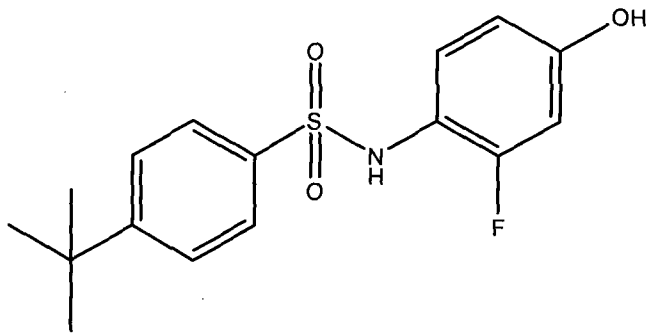


5

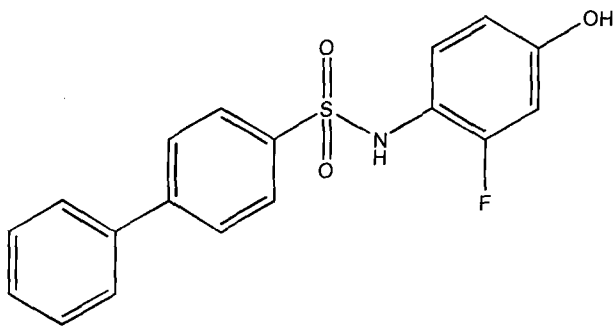
화학식 15



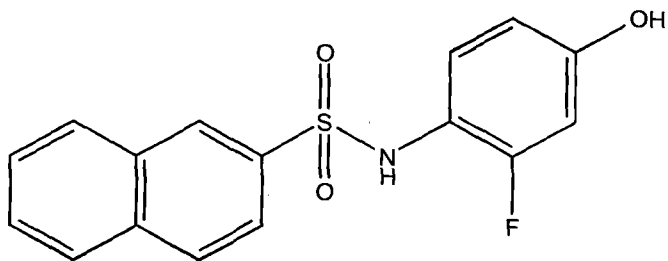
화학식 16



화학식 17

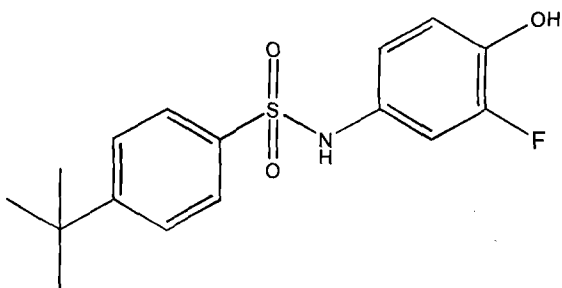


화학식 18

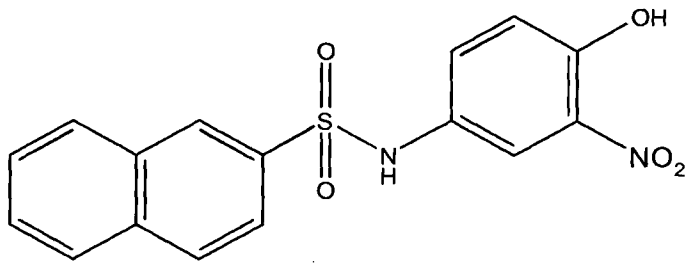


5

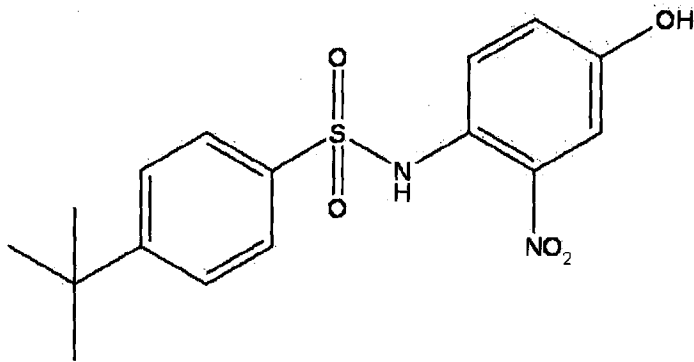
화학식 19



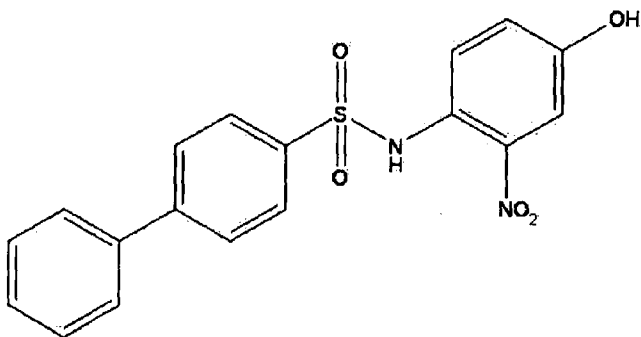
화학식 20



화학식 22

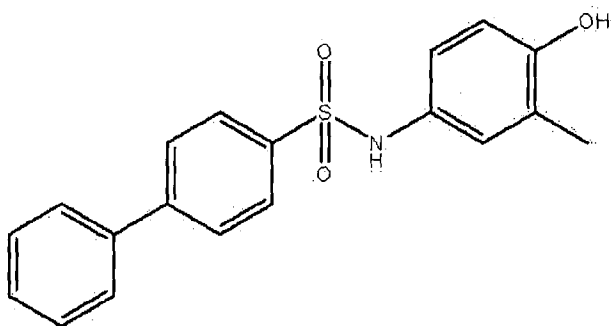


화학식 23

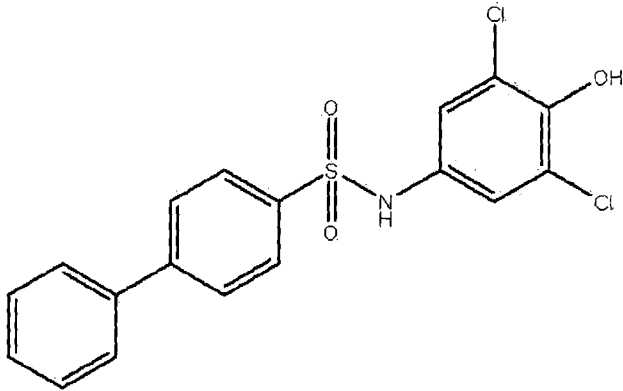


5

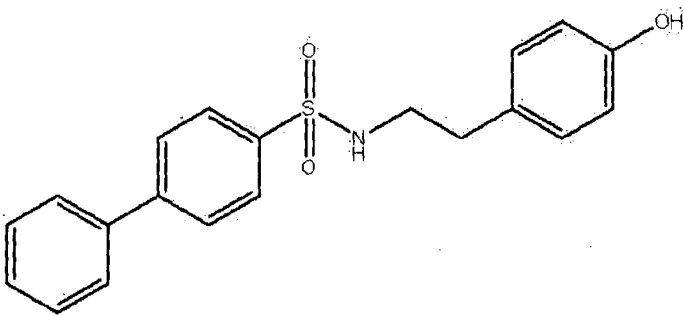
화학식 24



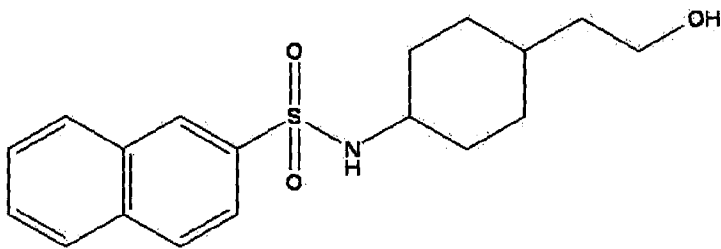
화학식 26



화학식 28



화학식 29



5

【청구항 12】

상기 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항의 억제학적 조성물을 이룰
 필요로 하는 대상(subject)에게 투여하는 단계를 포함하는 비조절성
 10 혈관신생-관련 질병 또는 질환의 예방 또는 치료방법.

1/5

Fig. 1

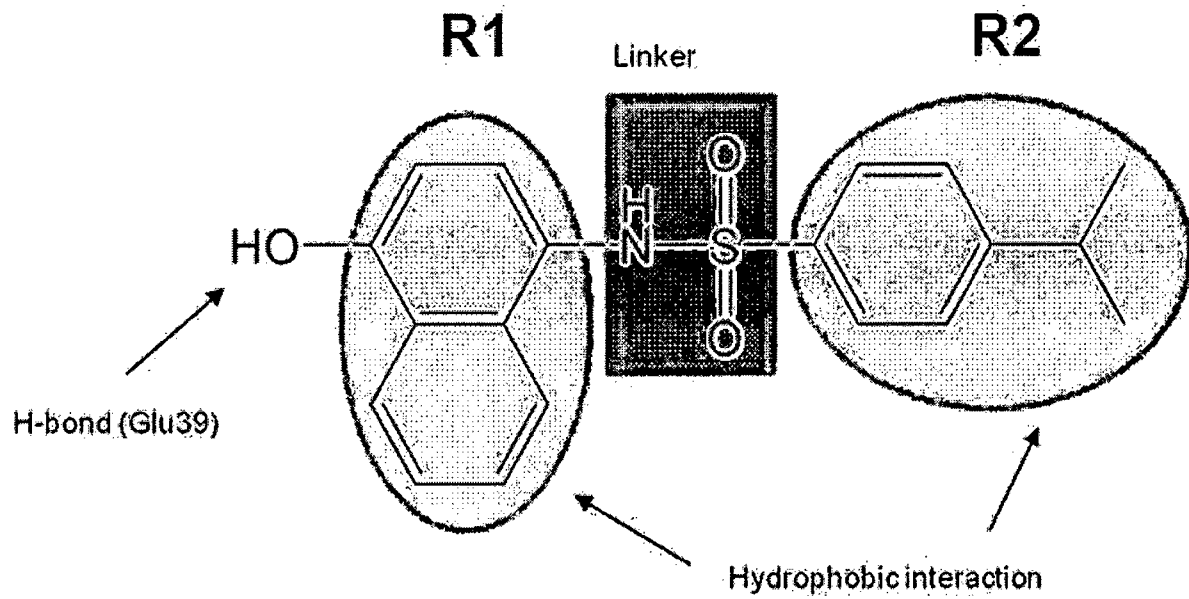


Fig. 2

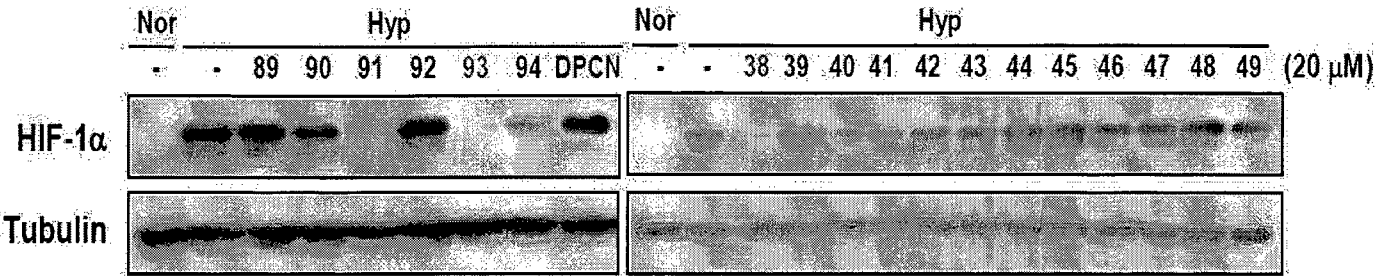
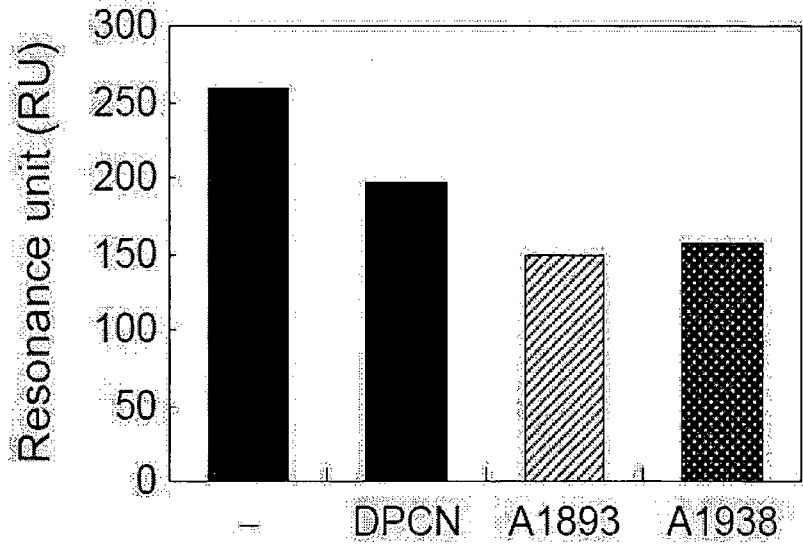
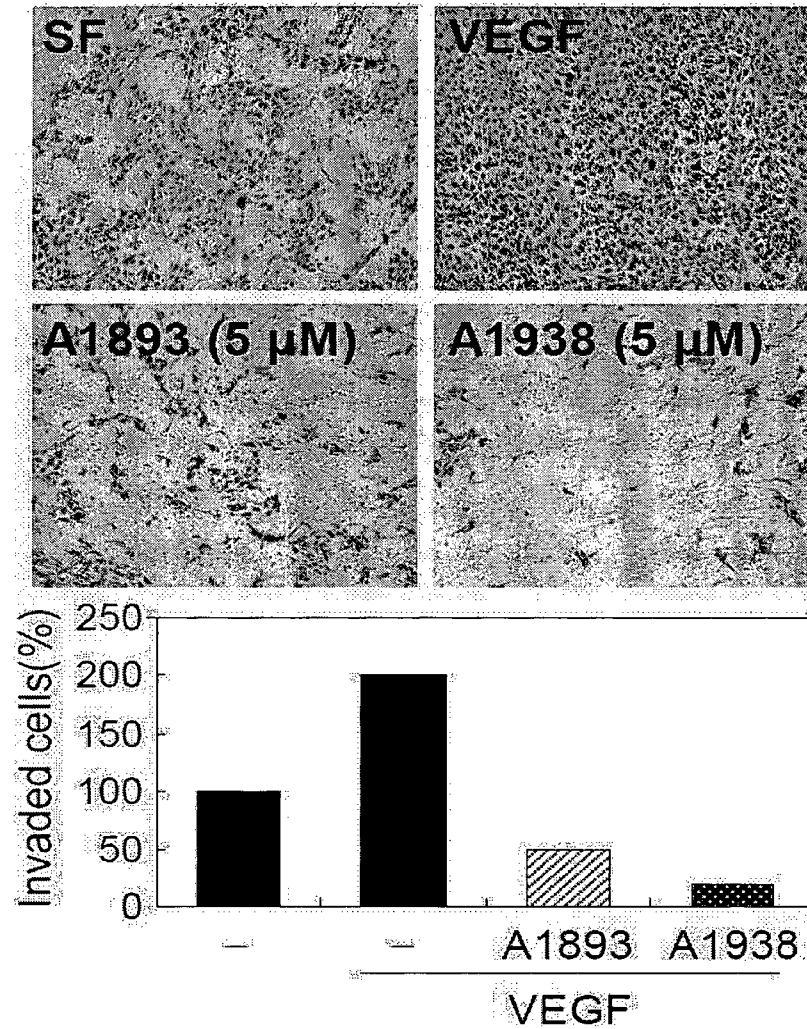


Fig. 3



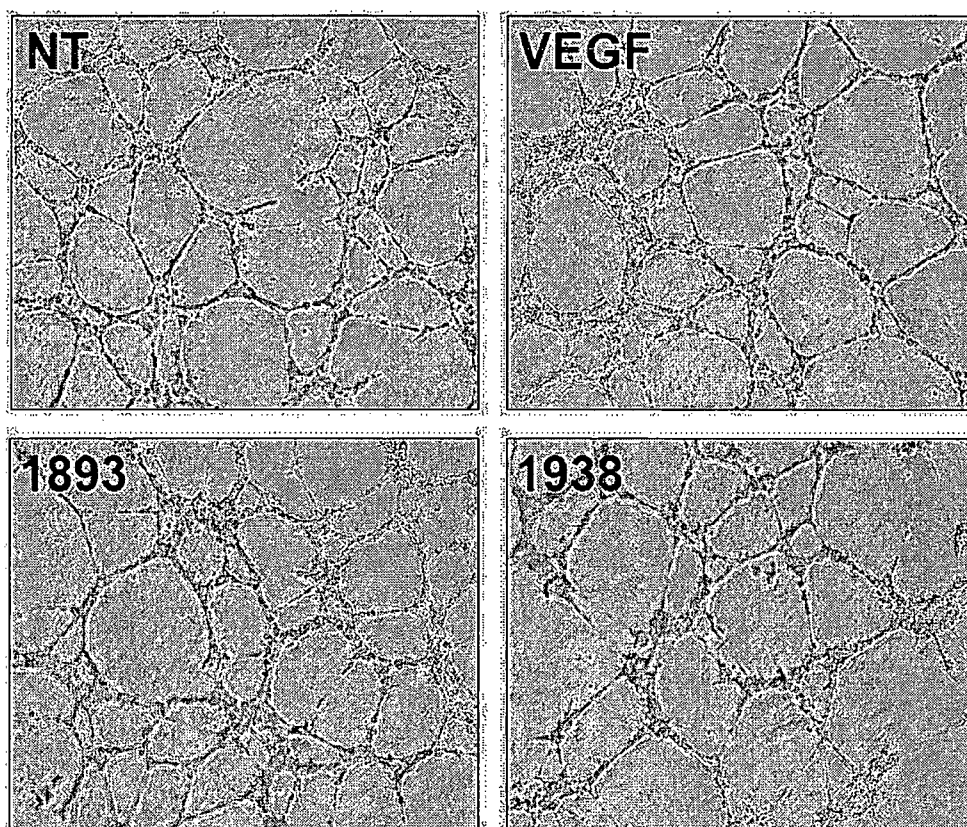
3/5

Fig. 4a



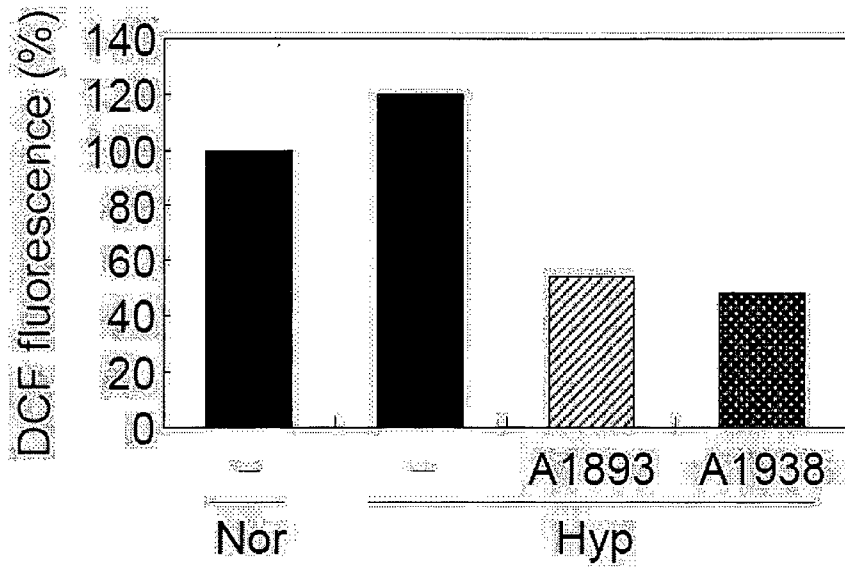
4/5

Fig. 4b



5/5

Fig. 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2011/003773**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****A61K 31/18(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61P 9/00(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)

A61K 31/18; G03C 8/40; C07C 311/08; C07C 311/09

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

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal), PubMed, JPO, USPTO, Google & Keywords: angiogenesis, anti-cancer, sulfonyl amide

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JENNIFER A. JACOBSEN et al., "Identifying Chelator for Metalloprotein Inhibitors Using a Fragment-Based Approach", Journal of Medicinal Chemistry, (28 December 2010), Vol.54, pp.591-602.	11
A	See abstract; page 595, compound 77c.	1-10
A	JP 11-184056 A (FUJI PHOTO FILM CO., LTD.) 09 July 1999 See the entire document.	1-11
A	KR 10-2009-0010979 A (DOMPE' PHA.R.MA S.P.A.) 30 January 2009 See the entire document.	1-11



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

"T" 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

22 MARCH 2012 (22.03.2012)

Date of mailing of the international search report

23 MARCH 2012 (23.03.2012)

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/KR2011/003773

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.: **12**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 12 pertains to a method for treatment of the human body, and thus pertains 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/KR2011/003773

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 11-184056 A	09.07.1999	NONE	
KR 10-2009-0010979 A	30.01.2009	AU 2007-253424 A1	29.11.2007
		CA 2649794 A1	29.11.2007
		CN 101448784 A	03.06.2009
		EP 2024329 A2	18.02.2009
		JP 2010-505742 A	25.02.2010
		US 2009-0093530 A1	09.04.2009
		US 2010-0152256 A1	17.06.2010
		US 7652169 B2	26.01.2010
		US 7868046 B2	11.01.2011
		WO 2007-135080 A2	29.11.2007
		WO 2007-135080 A3	29.11.2007

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) <i>A61K 31/18(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i, A61P 9/00(2006.01)i</i>		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 31/18; G03C 8/40; C07C 311/08; C07C 311/09 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), PubMed, JPO, USPTO, Google & 키워드: 혈관신생, 항암, 세포닐아마이드		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JENNIFER A. JACOBSEN 외 4명, "Identifying Chelator for Metalloprotein Inhibitors Using a Fragment-Based Approach", Journal of Medicinal Chemistry, (2010.12.28), Vol.54, pp.591-602.	11
A	초록; 595 페이지, 화합물 77c 참조.	1-10
A	JP 11-184056 A (FUJI PHOTO FILM CO., LTD.) 1999.07.09 전체 문헌 참조.	1-11
A	KR 10-2009-0010979 A (동페 파르마 에스.피.에이.) 2009.01.30 전체 문헌 참조.	1-11
☐ 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 03월 22일 (22.03.2012)		국제조사보고서 발송일 2012년 03월 23일 (23.03.2012)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 김문정 전화번호 82-42-481-5610

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: 12
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 12항은 사람의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(IV)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 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 합니다.
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 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 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
JP 11-184056 A	1999.07.09	없음	
KR 10-2009-0010979 A	2009.01.30	AU 2007-253424 A1	2007.11.29
		CA 2649794 A1	2007.11.29
		CN 101448784 A	2009.06.03
		EP 2024329 A2	2009.02.18
		JP 2010-505742 A	2010.02.25
		US 2009-0093530 A1	2009.04.09
		US 2010-0152256 A1	2010.06.17
		US 7652169 B2	2010.01.26
		US 7868046 B2	2011.01.11
		WO 2007-135080 A2	2007.11.29
		WO 2007-135080 A3	2007.11.29