

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2025년 3월 6일 (06.03.2025)



(10) 국제공개번호
WO 2025/048409 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/426 (2006.01)

A23L 33/10 (2016.01)

A61P 27/02 (2006.01)

C12Q 1/37 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2024/012593

(22) 국제출원일:

2024년 8월 23일 (23.08.2024)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2023-0111652 2023년 8월 25일 (25.08.2023) KR

(71) 출원인: 재단법인 아산사회복지재단 (THE ASAN FOUNDATION) [KR/KR]; 05505 서울특별시 송파구 올림픽로43길 88, Seoul (KR). 울산대학교 산학협력단 (UNIVERSITY OF ULSAN FOUNDATION FOR INDUSTRY COOPERATION) [KR/KR]; 44610 울산광역시 남구 대학로 93, Ulsan (KR). 성신여자대학교 연구 산학협력단 (SUNGSHIN

WOMEN'S UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 02844 서울특별시 성북구 보문로34다길 2, Seoul (KR).

(72) 발명자: 강민지 (KANG, Min Ji); 13005 경기도 하남시 감일백제로 20, 3211-1204, Gyeonggi-do (KR). 이지연 (LEE, Jiyou); 13588 경기도 성남시 분당구 중앙공원로 53, Gyeonggi-do (KR). 이지유 (LEE, Ji Yu); 01118 서울특별시 강북구 도봉로65길 19-8, Seoul (KR).

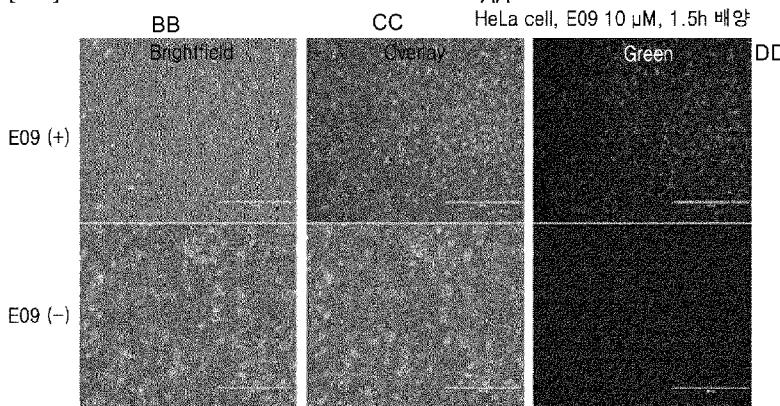
(74) 대리인: 특허법인더웨이브 (THEWAVE IP LAW FIRM); 06097 서울특별시 강남구 선릉로 602 6층, Seoul (KR).

(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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING HTRA ACTIVATOR AS ACTIVE INGREDIENT FOR PREVENTING OR TREATING DEGENERATIVE DISEASES, AND METHOD FOR SCREENING HTRA ACTIVITY MODULATOR

(54) 발명의 명칭: HTRA 활성제를 유효성분으로 포함하는 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 HTRA 활성 조절제의 스크리닝 방법

[도4]



AA ... Cellule HeLa, E09 10 μ M, 1,5 h de culture
BB ... Champ clair
CC ... Superposition
DD ... Vert

(57) Abstract: The compound represented by chemical formula 1, a stereoisomer thereof, a solvate thereof, a hydrate thereof, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, according to one aspect, can be used as a prophylactic or therapeutic agent for degenerative diseases such as age-related macular degeneration (AMD) in which lack of HTRA1 activity is a factor in worsening the disease, cerebral amyloid angiopathy, hereditary stroke (CADASIL), and Alzheimer's disease (AD), and can be used as an adjuvant for efficiently and accurately screening an HTRA activity modulator without a change in temperature or addition of a substrate.

[다음 쪽 계속]



NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,
SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, 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,
ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(57) 요약서: 일 양상에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의
약학적으로 허용가능한 염은 HTRA1의 활성부족이 질병의 악화에 한 요인이 되는 황반변성증(AMD), 뇌 아밀로이드
혈관병증, 유전성 뇌졸중(CADASIL), 알츠하이머병(AD) 등의 퇴행성 질환의 예방 또는 치료제 등으로 활용가능하며,
온도변화나 기질추가 없이 효율적이며 정확하게 HTRA 활성 조절제의 스크리닝을 수행하기 위한 보조제로 활용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: **HTRA** 활성제를 유효성분으로 포

함하는 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학

적 조성물 및 **HTRA** 활성 조절제의 스크리닝 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 HTRA(High temperature requirement A serine protease) 활성제를 유효 성분으로 포함하는 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 퇴행성 HTRA 활성 조절제를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] HTRA(High tmeperature requirement A) 세린 프로테아제는 인간, 균류, 식물, 포유류 및 박테리아를 포함한 다양한 유기체에서 단백질 품질 관리(quality control) 및 세포 스트레스 반응에 관여한다. 특히 포유동물 세포와 미생물의 세포 스트레스 반응 및 단백질 품질 관리(protein quality control)와 관련되어 있는 것으로 알려져 있다.
- [3] HTRA는 프로테아제 도메인과 PDZ 도메인으로 구성되어 있으며, 이러한 다중 결합 도메인 복합체는 그들의 subtype 및 functional states에 따라 oligomerize되는 특징이 있다. HTRA는 protease 뿐만 아니라 chaperone의 기능을 함으로써 protein-folding stress를 완화시키고 스트레스와 관련된 cellular responses를 조절하는데 중요한 역할을 한다.
- [4] HTRA는 광범위한 유기체 어디에서나 발현되기 때문에 많은 질환의 발병 과정과 연관되어 있다. 예를 들어, HTRA1은 알츠하이머병에 관련된 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein, APP), 베타 아밀로이드 응집체(amyloid β aggregate), 및 타우 섬유단백질(tau fibril)을 분해한다는 결과가 보고된 바 있고, HTRA2 활성 저하는 파킨슨 씨병과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 인간 HTRA의 활성 변화는 관절염, 암, 뇌 소혈관질환, 나이 관련 황반변성 질환, 및 신경퇴행성 질환과 연관되어 있다(문헌 [Journal of Visualized Experiments Volume 2016, Issue 113, Article number e54136]).
- [5] 상기 HTRA의 활성은 두 가지 다른 메커니즘에 의해 유발되는데, 첫째로 active conformation으로 협동적 remodeling을 유발하는 PDZ 도메인에 allosteric effector 결합에 의해서이며, 둘째로는 기질-유도 oligomerization을 촉진하는 active site에 pepetide substrate 결합에 의해서이다. 상기 HTRA 활성 메커니즘을 통하여 세포 투과도가 좋은 HTRA 활성제를 HTRA 활성 저하로 인한 퇴행성 질환 치료에 이용할 수 있다.
- [6] 그러나, HTRA의 functional state를 활성화하고 전환시키는 과정에 대해서는 완전히 밝혀진 바가 없고, HTRA 특이적인 저분자 활성 조절제에 대한 연구는 부족한 실정이다.

- [7] HTRA 효소는 활성제의 부재하에서는 그 활성이 낮은 수준으로 유지되어, 기존에는 효소 활성 에세이를 수행하기 위해 기질을 과량으로 추가하거나 가열을 통해 45°C에서 기질과의 반응을 촉진시키는 방법을 사용하였다. 그러나 효소의 활성은 온도 변화에 크게 영향을 받는 것으로서 각각의 효소는 특정한 온도에서 가장 효과적으로 작용하며, 그 보다 더 높거나 낮은 경우에는 그 활성이 감소한다 (Campbell Biology 4th ed. Figure 6.13, p101).
- [8] 이에, HTRA 활성제를 이용한 퇴행성 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 상온에서 효율적으로 HTRA 활성 조절제를 스크리닝할 수 있는 방법의 개발이 필요한 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 일 양상은 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.
- [10] 다른 양상은 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [11] 다른 양상은 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공하는 것이다.
- [12] 다른 양상은 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, HTRA 활성화용 시약 조성물을 제공하는 것이다.
- [13] 다른 양상은 시험관 내(in vitro)에서 시료에 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 처리하는 단계; 상기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 처리한 시료에 후보물질을 처리하는 단계; HTRA(High temperature requirement A) 활성(activity) 수준을 확인하는 단계; 및 상기 HTRA 활성 수준을 후보물질 비처리 시료의 HTRA 활성 수준과 비교하는 단계를 포함하는 HTRA 활성 조절제 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.
- [14] 다른 양상은 퇴행성 질환을 예방 또는 치료하기 위한 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도를 제공하는 것이다.
- [15] 다른 양상은 유효량의 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염

을 유효성분으로 포함하는 조성물을 그를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

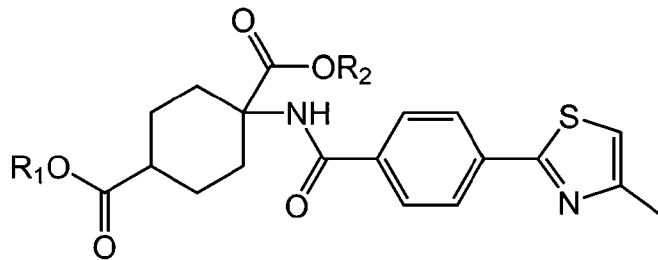
- [16] 다른 양상은 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 의약 제조에 사용하기 위한 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도를 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [17] 본 명세서에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [18] 일 양상은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[19] [화학식 1]

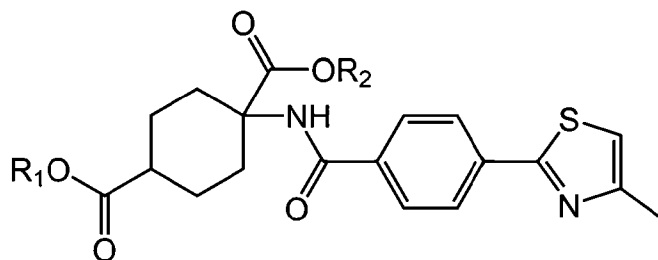
[20]



- [21] 상기 화학식 1에서, R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬, C_2 - C_{10} 알케닐 또는 C_2 - C_{10} 알키닐이다.
- [22] 일 구체예에 있어서, 상기 R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소 또는 C_1 - C_4 알킬인 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것일 수 있다.
- [23] 일 구체예에 있어서, 상기 R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소 또는 메틸인 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것일 수 있다.
- [24] 일 양상은 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[25] [화학식 1]

[26]



- [27] 상기 화학식 1에서,

- [28] R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬, C_2 - C_{10} 알케닐 또는 C_2 - C_{10} 알키닐이다.
- [29] 본 명세서의 용어, "알킬(Alkyl)"은 1차, 2차, 3차 및/또는 4차 탄소 원자를 갖는 탄화수소이며, 직쇄형, 분지형 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [30] 일 구체예에 있어서, 알킬기는 1 내지 10개의 탄소 원자 (즉, C_1 - C_{10} 알킬), 1 내지 4개의 탄소 원자 (즉, C_1 - C_4 알킬), 또는 메틸기를 가질 수 있다.
- [31] 예를 들어, 적합한 알킬기로는 메틸 (Me, $-CH_3$), 에틸 (Et, $-CH_2CH_3$), 1-프로필 (n-Pr, n-프로필, $-CH_2CH_2CH_3$), 2-프로필 (i-Pr, i-프로필, $-CH(CH_3)_2$), 1-부틸 (n-Bu, n-부틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-메틸-1-프로필 (i-Bu, i-부틸, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-부틸 (s-Bu, s-부틸, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-메틸-2-프로필 (t-Bu, t-부틸, $-C(CH_3)_3$), 1-펜틸 (n-펜틸, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$), 3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)_2$), 3-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$), 2-메틸-1-부틸 ($-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$), 1-헥실 ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-헥실 ($-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$), 3-헥실 ($-CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$), 2-메틸-2-펜틸 ($-C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$), 3-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$), 4-메틸-2-펜틸 ($-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$), 3-메틸-3-펜틸 ($-C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$), 2-메틸-3-펜틸 ($-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$), 2,3-디메틸-2-부틸 ($-C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$), 3,3-디메틸-2-부틸 ($-CH(CH_3)C(CH_3)_3$), 및 옥틸 ($-(CH_2)_7CH_3$)일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [32] 본 명세서의 용어, "알케닐(alkenyl)"은 탄소-탄소 이중 결합을 1개 이상 가진, 탄소수 2 내지 10개의 직쇄 또는 측쇄의 불포화 탄화수소에서 유래되는 치환기이다. 예를 들어, 비닐(vinyl), 알릴(allyl), 이소프로펜일(isopropenyl), 2-부텐일(2-butenyl) 등일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [33] 본 명세서의 용어, "알키닐(alkynyl)"은 탄소-탄소 삼중 결합을 1개 이상 가진, 탄소수 2 내지 10개의 직쇄 또는 측쇄의 불포화 탄화수소에서 유래되는 치환기이다. 예를 들어, 에티닐(ethynyl), 2-프로파닐(2-propynyl)일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [34] 본 명세서의 용어, "이성질체(isomer)"는 동일한 화학식 또는 분자식을 가지지만 구조적 또는 입체적으로 다른 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 이러한 이성질체에는 수소 원자의 위치가 변함으로써 생기는 호변이성질체(tautomer) 등의 구조이성질체와, 입체이성질체(stereoisomer)가 있으며, 입체이성질체에는 비대칭 탄소 중심을 가지는 R 또는 S 이성질체(광학 이성질체, enantiomer), 기하이성질체(트랜스, 시스) 등이 모두 포함된다.
- [35] 본 발명에서는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 이성질체 및 그것의 혼합물들 역시 본 발명의 범위에 포함된다.
- [36] 본 명세서의 용어, "수화물(hydrate)"은 비공유적 분자간력(non-covalent intermolecular force)에 의해 결합된 화학양론적(stoichiometric) 또는 비화학양론적(non-stoichiometric)량의 물을 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염

을 의미한다. 구체적으로, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 수화물은 비공유적 분자간 힘으로 결합되는 화학양론적 또는 비화학양론적 양의 물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 수화물은 1당량 이상, 바람직하게는, 1당량 내지 5당량의 물을 함유할 수 있다.

[37] 일 구체예에 있어서, 상기 수화물은 물 또는 물을 함유하는 용매로부터 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이성질체 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 결정화시켜 제조될 수 있다.

[38] 본 명세서의 용어, "용매화물(solvate)"은 비공유적 분자간력에 의해 결합된 화학양론적 또는 비화학양론적 양의 용매를 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 그에 관한 바람직한 용매들로는 휘발성, 비독성, 및/또는 인간에게 투여되기에 적합한 용매들이 있다.

[39] 본 명세서의 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"은 약학적으로 허용 가능하고 모 화합물 (parent compound)의 바람직한 약리 활성을 유지하는 염을 의미한다. 상기 염으로는 약학적으로 허용되는 것이면 특별히 한정되지 않는다. 예를 들어, 상기 약학적으로 허용 가능한 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염을 사용할 수 있다. 구체적으로, 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설포산류 등과 같은 무독성 유기산, 트리플루오로아세트산, 아세테이트, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설포산, 4-톨루엔설포산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻을 수 있다. 상기 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 디하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트 등을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 약학적으로 허용가능한 염은 통상의 방법으로 제조할 수 있다.

[40] 본 명세서에서 용어 "퇴행성 질환"은 조직 또는 기관의 기능과 구조적인 손상이 시간이 지남에 따라 점차적으로 악화되는 질환을 의미한다. 구체적으로, 상기

퇴행성 질환은 HTRA(High temperature requirement A)의 활성 정도에 따라 발생되는 퇴행성 질환을 의미한다.

- [41] 일 구체예에 있어서, 상기 퇴행성 질환은 황반변성증(Age-related Macular Degeneration, AMD)일 수 있다. 상기 황반변성증(Age-related Macular Degeneration, AMD)은 습성 황반변성증, 건성 황반변성증, 지도모양위축증 및 당뇨병성 망막증으로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [42] 일 구체예에 있어서, 상기 퇴행성 질환은 신경 퇴행성 질환일 수 있다. 상기 신경퇴행성 질환으로는 치매, 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD), 파킨슨 병, 헌팅턴 병, 뇌 아밀로이드 혈관병증, 대뇌 아밀로이드 맥관병증, 아밀로이드성 뇌졸중 (stroke), 전신성 아밀로이드병, 더취 (Dutch)형 아밀로이드증, 유전성 뇌졸중 (CADASIL), 근위축성 측삭 경화증 (amyotrophic lateral sclerosis), 척수소뇌성 운동실조증 (Spinocerebellar Atrophy), 프리드리히 보행실조 (Friedrich's Ataxia), 마차도-조셉 병(Machado-Joseph's disease), 루이 소체 치매(Lewy Body Dementia), 근육긴장이상(Dystonia), 진행성 핵상 마비(Progressive Supranuclear Palsy) 및 전두 측두엽 치매(Frontotemporal Dementia)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [43] 상기 HTRA는 세포외 기질의 구성, 세포 증식 및 노화에 관련된 세린 프로테아제(serine protease)의 일종이다. HTRA 활성 수준은 뒤시엔느 근육퇴행위축(문헌[Bakay et al. 2002, Neuromuscul. Disord. 12: 125-141]), 관절염, 예컨대 골관절염(문헌[Grau et al. 2006, JBC 281: 6124-6129]), 암, 가족성 허혈성 뇌 소형-혈관 질환 및 연령-관련 황반 변성, 뿐만 아니라 파킨슨병 및 알츠하이머병을 포함하는 여러 질병과 관련된다. 예를 들어, HTRA1은 성장 인자의 TGF β 패밀리에 의한 신호전달을 억제한다(문헌[Oka et al., 2004, Development 131:1041-1053]). HTRA1은 아밀로이드 전구체 단백질(APP)을 절단할 수 있고, HTRA1 억제제는 배양된 세포에서 A β 펩티드의 축적을 야기한다. 이에 HTRA1의 활성 저하는 알츠하이머병과 관련된다(문헌[Grau et al., 2005, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102:6021-6026]).
- [44] 본 명세서의 용어, "예방"이란 본 발명의 상기 조성물을 이용하여 퇴행성 질환에 의해 기인된 증상을 차단하거나, 진행을 억제 또는 지연시킬 수 있는 모든 행위라면 제한없이 포함될 수 있다. 본 명세서의 용어, "치료"란 목적하는 질병의 완화 및 개선을 위해 수행되는 일련의 활동을 의미한다.
- [45] 일 구체예에 있어서, 상기 약학적 조성물은 HTRA(High temperature requirement A)를 활성화 하는 것일 수 있다.
- [46] 본 명세서의 용어, "HTRA(High temperature requirement A)"는 단백질 접힘 문제 및 손상된 단백질의 분해에 기여하는 역할을 하는 세린 프로테아제(serine protease) 중 하나이다. HTRA는 인간, 균류, 식물, 포유류 및 박테리아를 포함한 다양한 유기체에서 단백질 quality control 및 세포 스트레스 반응에 관여한다.

- [47] 미생물의 경우, HTRA(High temperature requirement A)는 헬리코박터 파이로리(*Helicobacter pylori*) 종 또는 클라미디아(*Chlamydia*) 종과 같이 높은 병원성을 가지며 항생제 내성이 높은 종에서 발견되는 것으로 알려져 있고, 숙주세포에 대한 침투작용에 관여 및 열 스트레스 또는 산스트레스 환경에서 미생물이 생존 하는데 관여하는 것으로 알려져 있다.
- [48] 사람의 경우 HTRA는 HTRA1, HTRA2, HTRA3 및 HTRA4의 4가지 아형(isoform)이 존재한다. HTRA1은 세포막, 세포질 및 세포핵에 위치하는 것으로 알려져 있으며, HTRA2는 미토콘드리아 내부에 위치하고 있는 것으로 알려져 있다. 인간 HTRA(high temperature requirement A) 패밀리는 프로테아제(protease) 및 샤페론(chaperone)의 이중 기능을 조합함으로써 세포외 구간에서 단백질 항상성을 유지하는데 관련되는 보편적으로 발현된 PDZ-프로테아제이다.
- [49] 일 구체예에 있어서, 상기 HTRA는 HTRA1 및 HTRA2로부터 선택되는 하나 이상인 것일 수 있다.
- [50] 본 발명에 따른 약학조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [51] 본 발명에서 사용가능한 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등을 들 수 있다.
- [52] 본 발명에 따른 약학조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [53] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물은 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [54] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[55] 좌제의 기재로는 위텡솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[56] 또한, 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있으며, 숙련된 의료전문가에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

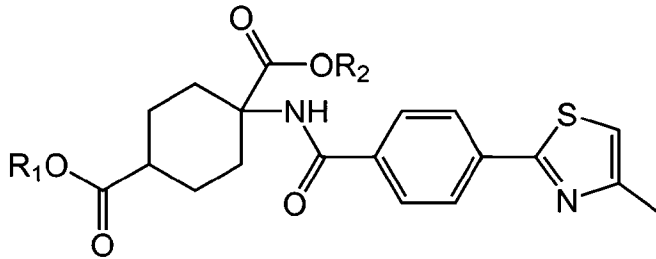
[57] 상기 약학조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 기관지내 흡입, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[58]

[59] 또 다른 양상은 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[60] [화학식 1]

[61]



[62] 상기 화학식 1에서,

[63] R1과 R2는 독립적으로 수소 또는 C1-C10알킬, C2-C10알케닐, C2-C10알키닐이다.

[64] 본 명세서의 용어, "개선"이란 본 발명의 약학적 조성물, 식품 조성물을 퇴행성 질환을 앓고 있는 개체에게 투여, 섭취 또는 적용하여 퇴행성 질환의 증세 경감 또는 완화를 포함하는 의미이다.

[65] 본 명세서의 용어, "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 본 명세서의 용어, "기능성"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 구체적으로, 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상 및 환 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 의미한다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[66] 본 발명의 건강기능식품은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을

첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 건강기능식품의 제형 또한 건강기능식품으로 인정되는 제형이면 제한없이 제조될 수 있다. 구체적으로, 상기 건강기능식품은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있다.

[67] 상기 건강기능식품은 유효성분인 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[68] 본 발명의 약학적 조성물 및 건강기능식품에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.

[69] 다른 양상은 상기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 필요한 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 질환의 예방 또는 치료 방법(method)을 제공한다.

[70] 다른 양상은 퇴행성 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 약제(medicament) 제조에 사용하기 위한 상기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도(use)를 제공한다.

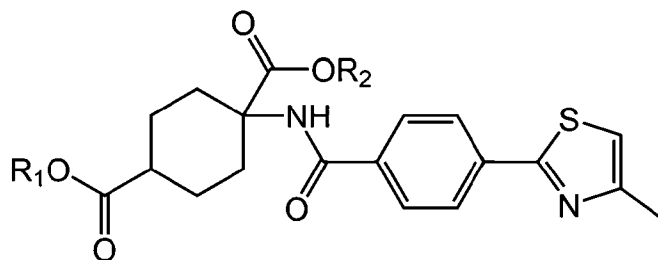
[71] 상기 방법 또는 용도에 있어서, 전술한 약학적 조성물에 대한 상세한 설명이 적용될 수 있다.

[72]

[73] 다른 양상은 상기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, HTRA 활성화용 시약 조성물을 제공한다.

[74] [화학식 1]

[75]



[76] 상기 화학식 1에서,

[77] R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬, C_2 - C_{10} 알케닐 또는 C_2 - C_{10} 알키닐이다.

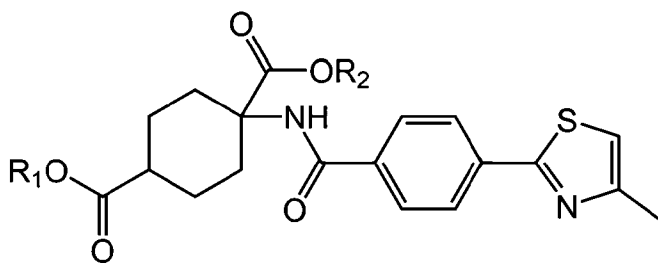
[78] 일 구체예에 있어서, 상기 시약 조성물은 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 10 μ M 내지 100 μ M의 농도로 포함된 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 시약 조성물은 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 허용가능한 염을 10 μ M 내지 20 μ M, 10 μ M 내지 30 μ M, 10 μ M 내지 40 μ M, 10 μ M 내지 50 μ M, 10 μ M 내지 60 μ M, 10 μ M 내지 70 μ M, 10 μ M 내지 80 μ M, 10 μ M 내지 90 μ M, 10 μ M 내지 100 μ M,

20 μ M 내지 30 μ M, 20 μ M 내지 40 μ M, 20 μ M 내지 50 μ M, 20 μ M 내지 60 μ M, 20 μ M 내지 70 μ M, 20 μ M 내지 80 μ M, 20 μ M 내지 90 μ M, 20 μ M 내지 100 μ M, 30 μ M 내지 40 μ M, 30 μ M 내지 50 μ M, 30 μ M 내지 60 μ M, 30 μ M 내지 70 μ M, 30 μ M 내지 80 μ M, 30 μ M 내지 90 μ M, 30 μ M 내지 100 μ M, 40 μ M 내지 50 μ M, 40 μ M 내지 60 μ M, 40 μ M 내지 70 μ M, 40 μ M 내지 80 μ M, 40 μ M 내지 90 μ M, 40 μ M 내지 100 μ M, 50 μ M 내지 60 μ M, 50 μ M 내지 70 μ M, 50 μ M 내지 80 μ M, 50 μ M 내지 90 μ M, 50 μ M 내지 100 μ M, 60 μ M 내지 70 μ M, 60 μ M 내지 80 μ M, 60 μ M 내지 90 μ M, 60 μ M 내지 100 μ M, 70 μ M 내지 80 μ M, 70 μ M 내지 90 μ M, 70 μ M 내지 100 μ M, 80 μ M 내지 90 μ M, 80 μ M 내지 100 μ M, 90 μ M 내지 100 μ M의 농도로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

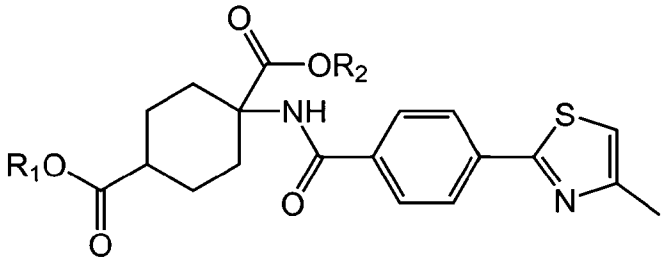
- [79] 상기 효소 활성 에세이(activity assay)는 특정 효소의 기질(substrate) 감소율 측정, 생성물(product)의 증가율 측정 등의 방법으로 그 효소의 활성정도를 측정하는 것을 의미한다.
- [80] 상기 화학식1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 허용가능한 염을 포함하는 HTRA 활성화용 시약 조성물은 HTRA효소의 알로스테릭 사이트(allosteric site)에 결합함으로써 효소의 입체형태를 변형시키는 방법으로 HTRA 효소 활성 에세이(activity assay)를 온도변화나 기질추가 없이 가능하게 한다.
- [81]
- [82] 다른 양상은 시험관 내(in vitro)에서 HTRA(High temperature requirement A)를 포함하는 시료에 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 허용가능한 염을 처리하여 HTRA를 활성화시키는 단계; 상기 활성화된 HTRA를 포함하는 시료에 후보물질을 처리하는 단계; 상기 후보물질이 처리된 시료의 HTRA 활성(activity) 수준을 비처리 시료의 HTRA 활성 수준과 비교하는 단계;를 포함하는 HTRA 활성 조절제 스크리닝 방법을 제공한다.

[83] [화학식 1]

[84]



- [85] 상기 화학식 1에서,
- [86] R₁과 R₂는 독립적으로 수소, C₁-C₁₀알킬, C₂-C₁₀알케닐 또는 C₂-C₁₀알키닐이다.
- [87] 일 구체예에 있어서, 상기 비교하는 단계는 HTRA활성 수준을 변화시킨 후보물질을 HTRA 조절제로 선별하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

- [88] 일 구체예에 있어서, 상기 스크리닝 방법은 후보물질이 처리된 시료의 HTRA 활성 수준이 후보물질 비처리 시료의 HTRA 활성 수준보다 증가된 경우 HTRA 활성제로 선별하는 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.
- [89] 일 구체예에 있어서, 상기 스크리닝 방법은 후보물질이 처리된 시료의 HTRA 활성 수준이 후보물질 비처리 시료의 HTRA 활성 수준보다 감소된 경우 HTRA 저해제로 선별하는 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.
- [90] 상기 HTRA 활성(activity) 수준을 확인하는 단계;는 HTRA 활성 기반 HTRA 검출용 펩타이드 프로브를 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, HTRA 활성 기반 HTRA 검출용 펩타이드 프로브는 인간 HTRA1, 인간 HTRA2 및 미생물 유래 HTRA를 활성 기반으로 검출하는 것을 특징으로 하는 것을 의미한다.
- [91] 일 구체예에 있어서, 상기 시료는 세포, 조직, 혈액, 혈청, 뇨 및 타액으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 사용할 수 있다.
- [92] 다른 양상은 퇴행성 질환을 예방 또는 치료하기 위한 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.
- [93] [화학식 1]
- [94]
- 
- [95] 상기 화학식 1에서, R₁과 R₂는 독립적으로 수소, C₁-C₁₀알킬(Alkyl), C₂-C₁₀알케닐(alkenyl) 또는 C₂-C₁₀알키닐(alkynyl)이다.
- [96] 다른 양상은 유효량의 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물을 그를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 질환의 예방 또는 치료 방법을 제공한다. 화학식 1에서, R₁과 R₂는 독립적으로 수소, C₁-C₁₀알킬(Alkyl), C₂-C₁₀알케닐(alkenyl) 또는 C₂-C₁₀알키닐(alkynyl)이다.
- [97] 다른 양상은 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 의약 제조에 사용하기 위한 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도를 제공한다. 화학식 1에서, R₁과 R₂는 독립적으로 수소, C₁-C₁₀알킬(Alkyl), C₂-C₁₀알케닐(alkenyl) 또는 C₂-C₁₀알키닐(alkynyl)이다.
- [98] 상기 발명에 대해 기술한 용어 및 방법 등은 각 발명들 간에 동일하게 적용된다.

발명의 효과

- [99] 일 양상에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 HTRA1의 활성부족이 질병의 악화에 한 요인이 되는 황반변성증(AMD), 뇌 아밀로이드 혈관병증, 유전성 뇌졸중(CADASIL), 알츠하이머병(AD) 등의 퇴행성 질환의 예방 또는 치료제 등으로 활용가능하며, 온도변화나 기질추가 없이 효율적이며 정확하게 HTRA 활성 조절제의 스크리닝을 수행하기 위한 보조제로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [100] 도 1은 Atomwise를 통해 확보한 E01~E12 화합물의 HTRA1 activity assay 결과를 나타낸 그래프이다.
- [101] 도 2는 HTRA1의 E09 용량에 따른 활성 변화를 나타낸 그래프이다: 도 2(a)는 E09 용량이 1nM ~ 1μM일 때 HTRA1의 활성 변화를 나타낸 그래프이고, 도 2(b)는 E09 용량이 1nM ~ 10μM일 때 HTRA1의 활성 변화를 나타낸 그래프이며, 도 2(c)는 E09 용량이 0μM ~ 100μM일 때 HTRA1의 활성 변화를 나타낸 그래프이고, 도 2(d)는 E09를 투입한 경우(최종농도 10μM)와 투입하지 않은 경우의 HTRA1의 활성을 나타낸 그래프이다.
- [102] 도 3은 HTRA2의 E09 용량에 따른 활성 변화를 나타낸 그래프이다: 도 3(a)는 E09 용량이 1nM ~ 1μM일 때 HTRA2의 활성 변화를 나타낸 그래프이고, 도 3(b)는 E09 용량이 1nM ~ 10μM일 때 HTRA2의 활성 변화를 나타낸 그래프이다.
- [103] 도 4는 HeLa 세포에 HTRA1 probe (DS-1-94, 최종농도 5μM)와 E09 (HTRA activator, 최종농도 10μM)를 처리하여 HTRA1의 활성을 형광현미경으로 관찰한 사진이다.
- [104] 도 5는 HTRA 효소의 기질로 알려진 caseine 또는 HTRA 효소를 활성화 시키는 펩타이드로 알려진 PDZ-opt (GQYYFV)와 E09를 이용하여 HTRA1의 효소활성을 측정한 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [105] 이하 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [106]
- [107] **실시예 1. HTRA 활성제(activator) 발굴**
- [108] 인공지능기반 화합물 디자인 기업인 Atomwise를 통해 확보한 72종의 화합물의 활성스크리닝을 수행하였다. 상기 72종의 화합물은 HTRA family의 bacterial homolog인 DegP(Degradation of periplasmic proteins)의 active site 구조를 활용하여 디자인되었다.
- [109] 상용화된 fluorogenic substrate 인 H2-Opt를 사용하여 high-throughput screening 을 통해 HTRA 활성을 확인하였다.

[110] 구체적으로, 96 well plate 를 사용하여 각 well 당 정제된 재조합 HTRA1 단백질 (50 ng)과 화합물 (최종농도 10 μ M)을 에세이 버퍼 80 μ L 에 첨가하고 상온에서 30분간 방치하였다. 여기에 H2-OPT 용액 20 μ L (최종농도 6.25 μ M)을 첨가하여 혼합한 직후에 molecular devices 사의 M5 microplate reader 장치를 사용하여 발생하는 형광신호를 측정하였다. 형광신호 측정시 kinetic mode 로 하여 excitation 328 nm, emission 393 nm 로 셋팅하고 30초 간격으로 3시간동안 37°C 에서 형광신호 변화를 측정하였다. high-throughput screening을 통해 HTRA 활성 측정 결과는 도 1에 나타내었다.

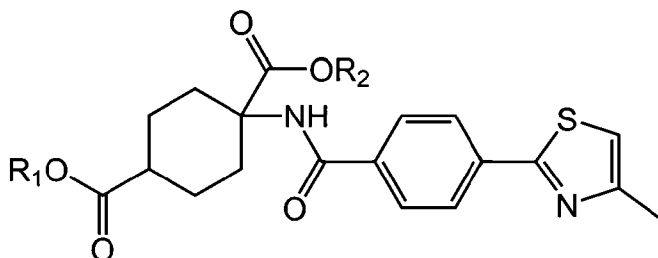
[111] 도 1은 Atomwise를 통해 확보한 E01~E12 화합물의 HTRA1 activity assay 결과를 나타낸 그래프이다.

[112] 도 1에 나타낸 바와 같이, E01~E12 화합물 중, E09가 확연하게 HTRA1을 activation시키는 것을 발견하였다. E09는 HTRA1 뿐만 아니라 HTRA2에서도 모두 뛰어난 activation 능력을 보임을 확인하였다.

[113] 참고로 E09 화합물의 구조는 하기 화학식 1과 같다.

[114] [화학식 1]

[115]



[116] E09 화합물은 Enamine 사 (NJ, USA)에서 구입(카탈로그 넘버 Z1571762517) 하여 사용하였다.

[117]

[118] 실시예 2. HTRA1, HTRA2의 E09 용량 의존적 활성 측정

[119] HTRA1, HTRA2에 대해 각각 E09 용량에 따른 활성 변화(Dose dependency of HTRA1, HTRA2 activity)를 확인하였다.

[120] 구체적으로, 정제된 재조합 HTRA1 과 HTRA2 에 서로 다른 농도의 E09 (0.01, 0.1, 1, 10, 100 μ M)를 첨가하고, 실시예 1의 high throughput screening과 같은 방식으로 HTRA1과 HTRA2의 활성을 측정하였다. 각 농도별로 측정종료시점(3시간)에서의 형광신호를 측정하였다. HTRA1과 HTRA2의 형광신호를 측정한 그래프를 도 2와 도 3에 나타내었다.

[121] 도 2는 HTRA1의 E09 용량에 따른 활성 변화를 나타낸 그래프이다: 도 2(a)는 E09 용량이 1nM ~ 1 μ M일 때 HTRA1의 활성 변화를 나타낸 그래프이고, 도 2(b)는 E09 용량이 1nM ~ 10 μ M일 때 HTRA1의 활성 변화를 나타낸 그래프이며, 도 2(c)는 E09 용량이 0 μ M ~ 100 μ M일 때 HTRA1의 활성 변화를 나타낸 그래프이고, 도 2(d)는 E09를 넣었을 때(최종농도 10 μ M)와 넣지 않았을 때의 HTRA1의 활성을 나타낸 그래프이다.

- [122] 도 3은 HTRA2의 E09 용량에 따른 활성 변화를 나타낸 그래프이다: 도 3(a)는 E09 용량이 1nM ~ 1 μ M일 때 HTRA2의 활성 변화를 나타낸 그래프이고, 도 3(b)는 E09 용량이 1nM ~ 10 μ M일 때 HTRA2의 활성 변화를 나타낸 그래프이다.
- [123] 도 2 및 도 3에 나타난 바와 같이 E09 용량이 증가할수록 HTRA1, HTRA2의 활성이 올라가는 것을 확인하였다. 이는 E09는 농도-의존적으로 HTRA1과 HTRA2를 활성화시키며 인체혈액시료에서도 HTRA1을 활성화시키는 것을 의미한다.
- [124]
- [125] 실시예 3. HeLa 세포에서 E09 존재 여부에 따른 HTRA1의 활성 확인
- [126] 세포에 E09를 처리하는 경우에도 HTRA1 활성이 올라가는지 확인하기 위하여, human adenocarcinoma cell인 HeLa 세포에 HTRA1 활성기반 probe (DS-1-94, 최종 농도 5 μ M)와 E09 (HTRA activator, 최종농도 10 μ M)를 처리하여 E09 존재 여부에 따른 HTRA 1의 활성을 확인하였다.
- [127] 구체적으로, HTRA1 활성기반 probe (DS-1-94)와 E09 (HTRA activator)를 처리한 세포를 37°C incubator에 1시간 동안 두었다. 그 후, 형광현미경으로 세포를 관찰하여 probe가 살아 있는 세포에서 어떻게 반응하는지 확인하였고, 그 결과를 도 4에 나타내었다.
- [128] 도 4는 HeLa 세포에 HTRA1 활성기반 probe (DS-1-94, 최종농도 5 μ M)와 E09 (HTRA activator, 최종농도 10 μ M)를 처리하여 HTRA1의 활성을 형광현미경으로 관찰한 사진이다.
- [129] 도 4에 나타난 것과 같이, activator(E09)를 처리한 세포에서 형광신호가 확연하게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이는 E09를 세포에 처리하는 경우, HTRA1의 활성이 증가됨을 의미한다.
- [130]
- [131] 실시예 4. HTRA 활성제 첨가에 따른 HTRA 활성변화 측정
- [132] 4.1 HTRA 활성 기반 프로브의 제조
- [133] 본 발명자의 선행등록특허 KR 10-2302971에 공지된 방법으로 HTRA 활성 기반 프로브를 제조하였다.
- [134] 구체적으로, HTRA 단백질들 사이에서 잘 보존되어 있는 HTRA의 기질 (substrate)결합 도메인(또는 active domain)의 P1에 위치하는 아미노산 작용기로서 Val 및 Leu의 소수성 작용기를 선택하여 P1-V 테트라 펩타이드 프로브 시리즈(IRRV-프로브, FIMV-프로브, FKL V-프로브, FKGV-프로브, ASPV-프로브, LFLV-프로브, MTP-LFLV-프로브, 및 TPP-LFLV-프로브) 및 P1-L 테트라 펩타이드 프로브 시리즈(FIML-프로브, FKLL-프로브, FKGL-프로브, ASPL-프로브, 및 LFL L-프로브)를 제작하였다. 또한 서브 패밀리 선택성을 확인하기 위하여 P1-V 테트라 펩타이드 프로브 시리즈 및 P1-L 테트라 펩타이드 프로브 시리즈의 P2 위치, P3 위치 및 P4 위치에는 다양한 종류의 아미노산 작용기로 변화시키는 방법으로 각 시리즈를 디자인 하였다. 선행연구결과를 통해 보고된 HTRA 기질 아미노산 서열에 기반하여 13 종류의 테트라 펩타이드 프로브를 합성하였다.

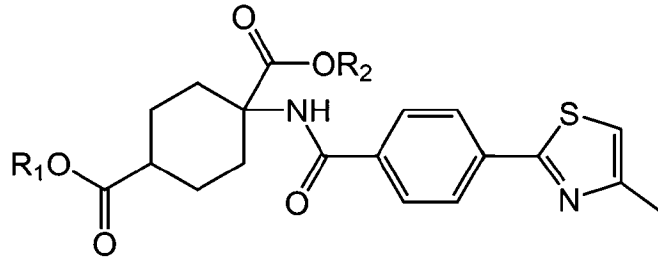
[135] **4.2 HTRA 활성제 별 HTRA 효소 활성 비교**

- [136] 실시에 4.1의 방법으로 합성한 HTRA 활성기반 프로브와 E09를 활용하여 HTRA 활성을 측정하였다. HTRA 효소의 기질로 알려진 caseine 또는 HTRA 효소를 활성화시키는 펩타이드로 알려진 PDZ-opt (GQYYFV)를 첨가한 경우와 E09를 첨가한 경우의 HTRA1 활성변화를 측정하였다.
- [137] 구체적으로, 실시에 1의 방법으로 HTRA1 효소에 β -caseine 또는 PDZ-opt (GQYYFV)를 2 μ g 첨가하거나 E09 10 μ M을 첨가하여 상온에서 15분간 방치 후 실시에 1과 같은 방법으로 37°C에서 3시간 동안 HTRA1 활성을 측정하고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.
- [138] 도 5는 HTRA 효소의 기질로 알려진 caseine 또는 HTRA 효소를 활성화 시키는 펩타이드로 알려진 PDZ-opt(GQYYFV)와 E09를 이용하여 HTRA1의 효소활성을 측정한 그래프이다.
- [139] 도 5에 나타낸 바와 같이, E09는 상온에서 caseine이나 PDZ-opt(GQYYFV) 보다 월등하게 HTRA1 효소를 활성화한다는 것을 확인하였다.
- [140] 이러한 결과는 E09를 이용하면 저용량의 HTRA 효소로도 온도변화나 기질추가 없이 HTRA의 활성을 효과적으로 측정할 수 있음을 의미한다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬(Alkyl), C_2 - C_{10} 알케닐(alkenyl) 또는 C_2 - C_{10} 알키닐(alkynyl)이다.

[청구항 2] 청구항 1에 있어서,

상기 R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소 또는 C_1 - C_4 알킬인 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것인, 약학적 조성물.

[청구항 3] 청구항 1에 있어서,

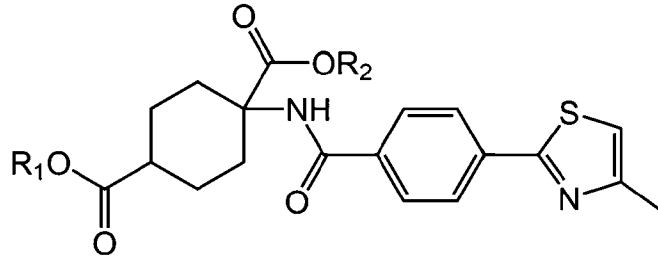
상기 R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소 또는 메틸인 화합물, 이의 입체이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염인 것인, 약학적 조성물.

[청구항 4] 청구항 1에 있어서, 상기 퇴행성 질환은 황반변성증(Age-related Macular Degeneration, AMD)인 것인, 약학적 조성물.

[청구항 5] 청구항 4에 있어서, 상기 황반변성증은 습성 황반변성증, 건성 황반변성증, 지도모양위축증 및 당뇨병성 망막증으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 약학적 조성물.

[청구항 6] 청구항 1에 있어서, 상기 퇴행성 질환은 치매, 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD), 파킨슨 병, 헌팅턴 병, 뇌 아밀로이드 혈관병증, 대뇌 아밀로이드 맥관병증, 아밀로이드성 뇌졸중(stroke), 전신성 아밀로이드병, 더취(Dutch)형 아밀로이드증, 유전성 뇌졸중(CADASIL), 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis), 척수소뇌성 운동실조증(Spinocerebellar Atrophy), 프리드리히 보행실조(Friedrich's Ataxia), 마차도-조셉 병(Machado-Joseph's disease), 루이 소체 치매(Lewy Body Dementia), 근육긴장이상(Dystonia), 진행성 핵상 마비(Progressive Supranuclear Palsy) 및 전두측두엽 치매(Frontotemporal Dementia)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 약학적 조성물.

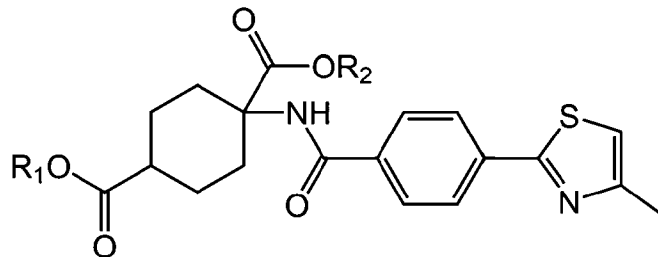
- [청구항 7] 청구항 1에 있어서, 상기 약학적 조성물은 HTRA(High temperature requirement A)를 활성화 하는 것인, 약학적 조성물.
- [청구항 8] 청구항 7에 있어서, 상기 HTRA는 HTRA1 및 HTRA2로부터 선택되는 하나 이상인 것인 약학적 조성물.
- [청구항 9] 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 퇴행성 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품:
[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬, C_2 - C_{10} 알케닐 또는 C_2 - C_{10} 알키닐이다.

- [청구항 10] 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 허용가능한 염을 포함하는, HTRA 활성화용 시약 조성물:
[화학식 1]



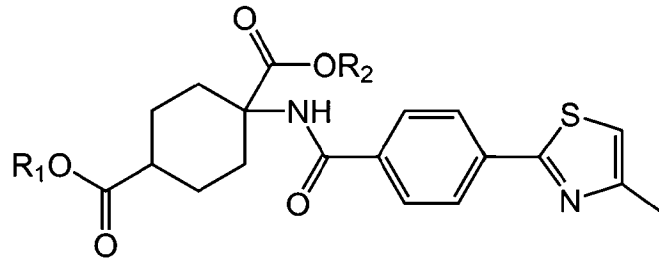
상기 화학식 1에서,

R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬, C_2 - C_{10} 알케닐 또는 C_2 - C_{10} 알키닐이다.

- [청구항 11] 청구항 10에 있어서, 상기 시약 조성물은 화학식 1의 화합물을 $10\mu\text{M}$ 내지 $100\mu\text{M}$ 의 농도로 포함하는 것인, HTRA 활성화용 시약 조성물.
- [청구항 12] 시험관 내(in vitro)에서 HTRA(High temperature requirement A)를 포함하는 시료에 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 허용가능한 염을 처리하여 HTRA를 활성화시키는 단계;
상기 활성화된 HTRA를 포함하는 시료에 후보물질을 처리하는 단계; 및

상기 후보물질이 처리된 시료의 HTRA 활성(activity) 수준을 비처리 시료의 HTRA 활성 수준과 비교하는 단계;를 포함하는 HTRA 활성 조절제 스크리닝 방법:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

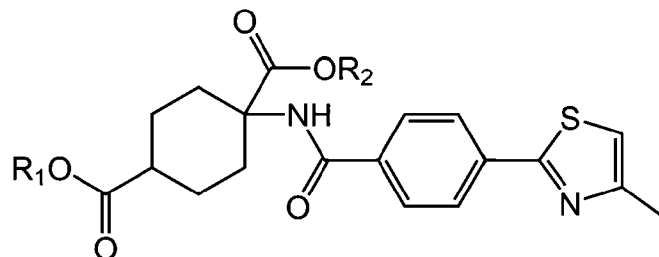
R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬, C_2 - C_{10} 알케닐 또는 C_2 - C_{10} 알키닐이다.

[청구항 13] 청구항 12에 있어서, 상기 비교하는 단계는 HTRA 활성 수준을 변화시킨 후보물질을 HTRA 조절제로 선별하는 단계를 포함하는 것인, HTRA 활성 조절제 스크리닝 방법.

[청구항 14] 청구항 12에 있어서, 상기 시료는 세포, 조직, 혈액, 혈청, 뇨 및 타액으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, HTRA 활성 조절제 스크리닝 방법.

[청구항 15] 퇴행성 질환을 예방 또는 치료하기 위한 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도:

[화학식 1]

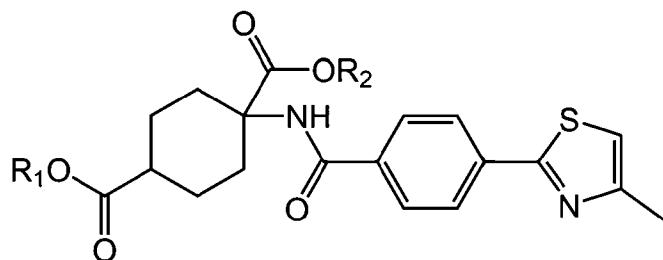


상기 화학식 1에서,

R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬(Alkyl), C_2 - C_{10} 알케닐(alkenyl) 또는 C_2 - C_{10} 알키닐(alkynyl)이다.

[청구항 16] 유효량의 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물을 그를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 질환의 예방 또는 치료 방법:

[화학식 1]



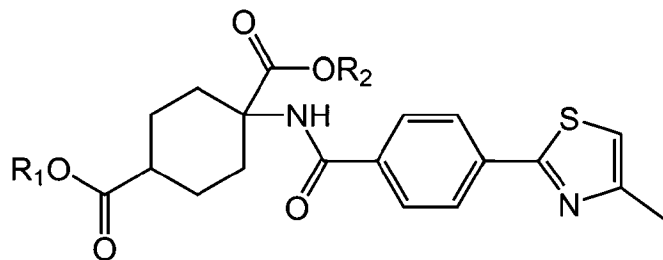
상기 화학식 1에서,

R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬(Alkyl), C_2 - C_{10} 알케닐(alkenyl) 또는 C_2 - C_{10} 알키닐(alkynyl)이다.

[청구항 17]

퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 의약 제조에 사용하기 위한 하기 화학식 1의 화합물, 이의 입체이성질체(stereoisomer), 이의 용매화물(solvate), 이의 수화물(hydrate) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도:

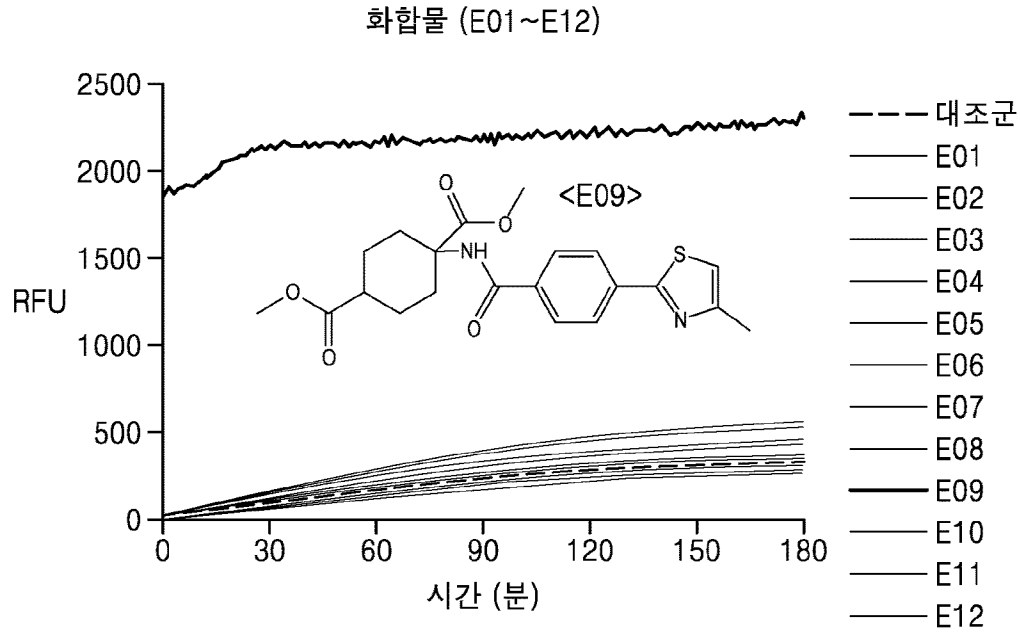
[화학식 1]



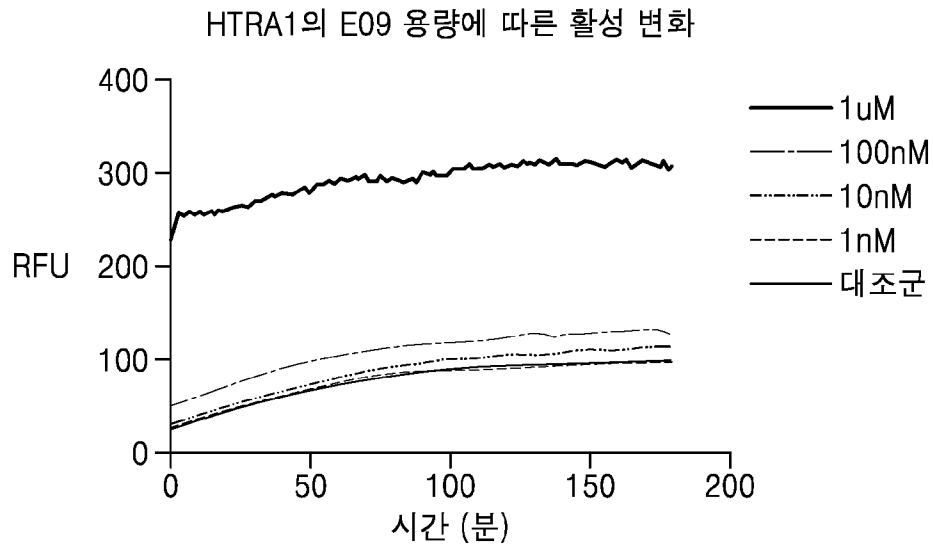
상기 화학식 1에서,

R_1 과 R_2 는 독립적으로 수소, C_1 - C_{10} 알킬(Alkyl), C_2 - C_{10} 알케닐(alkenyl) 또는 C_2 - C_{10} 알키닐(alkynyl)이다.

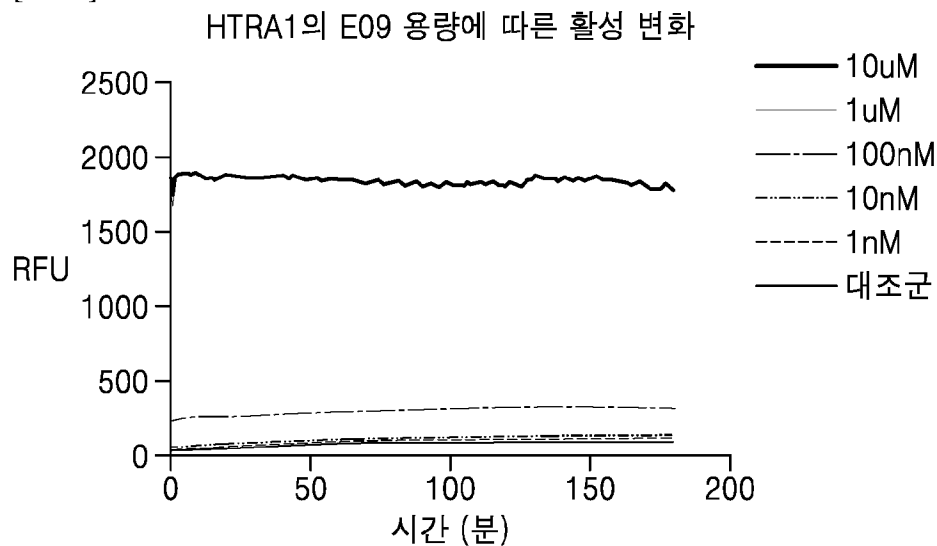
[도1]



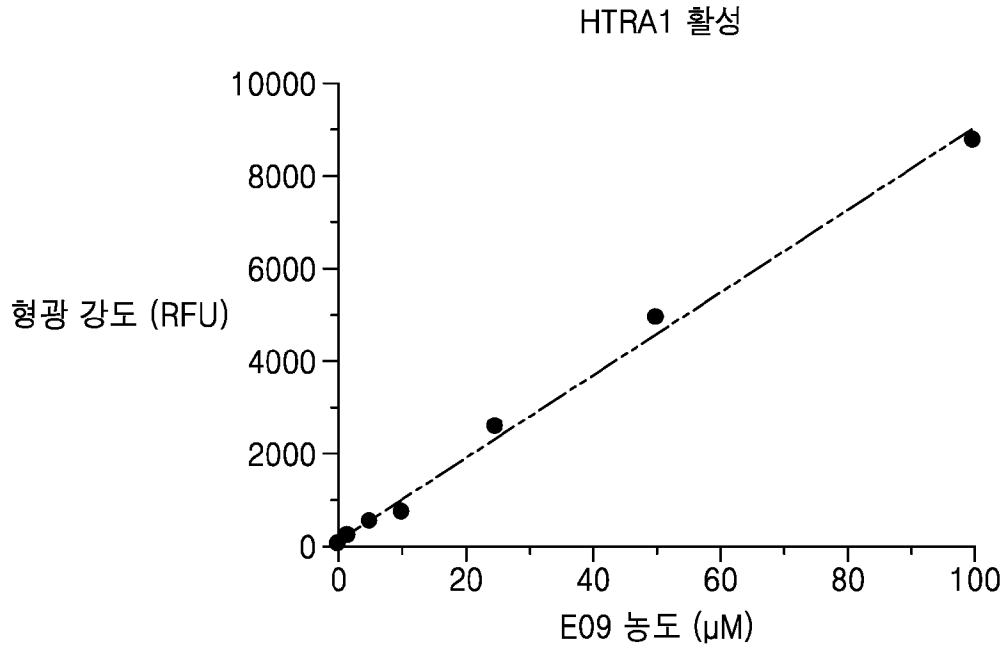
[도2a]



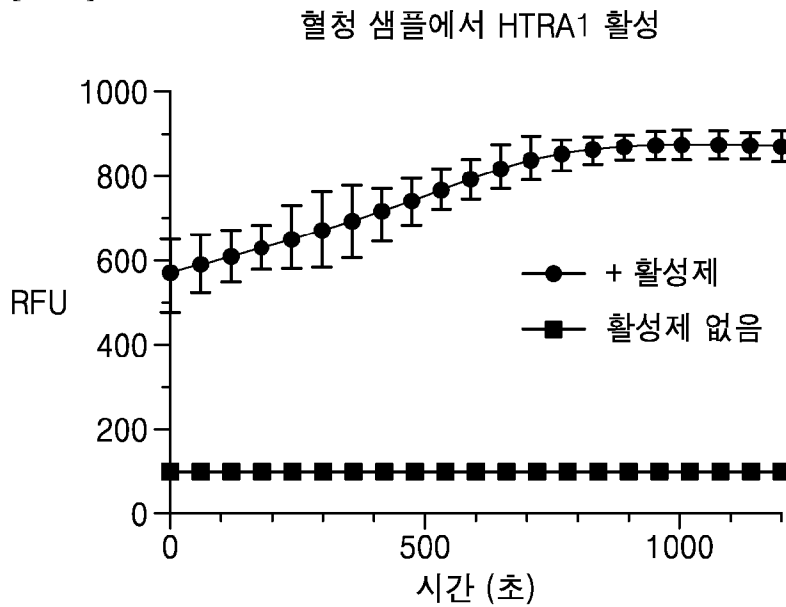
[도2b]



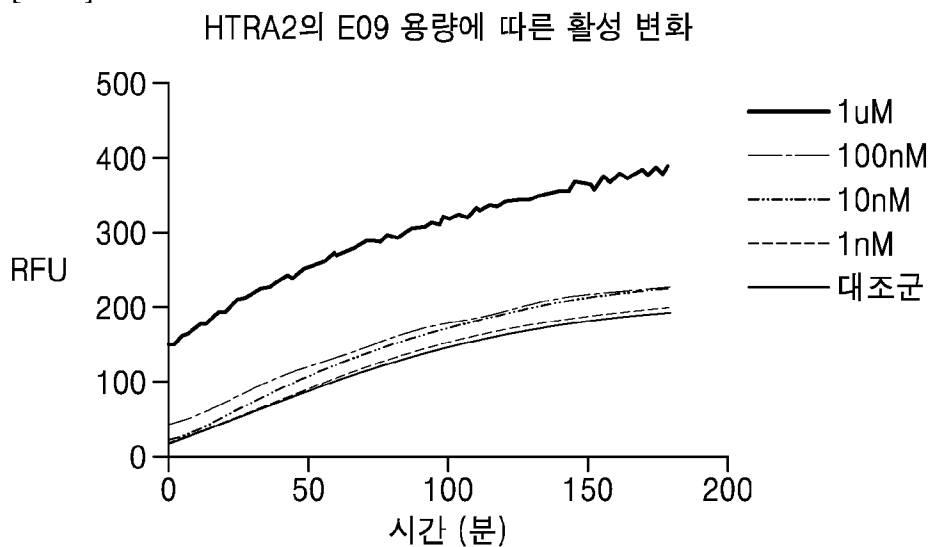
[도2c]



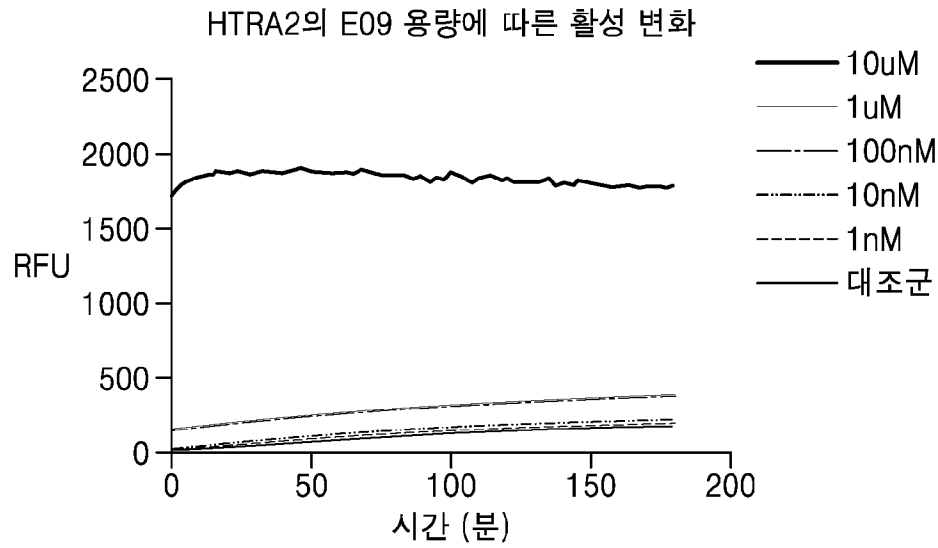
[도2d]



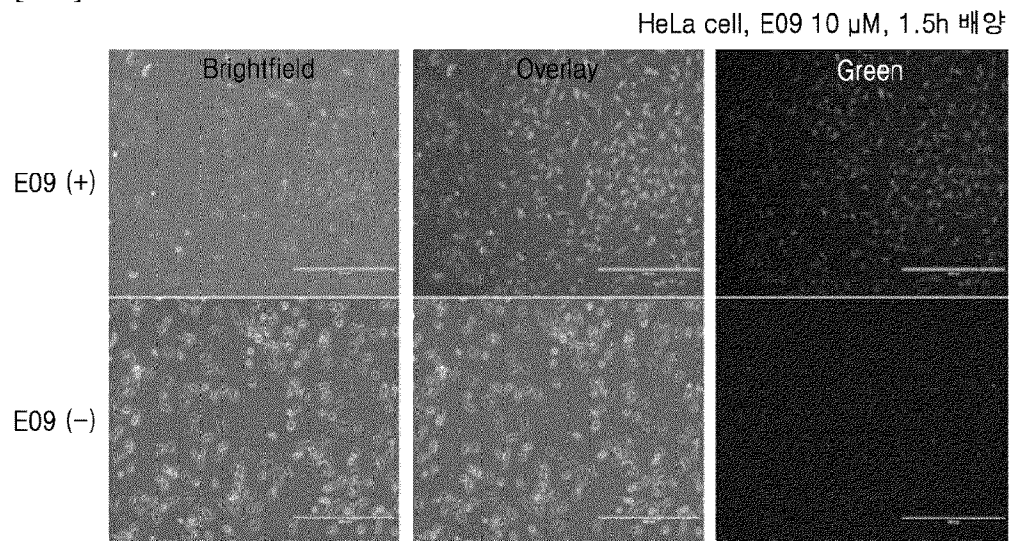
[도3a]



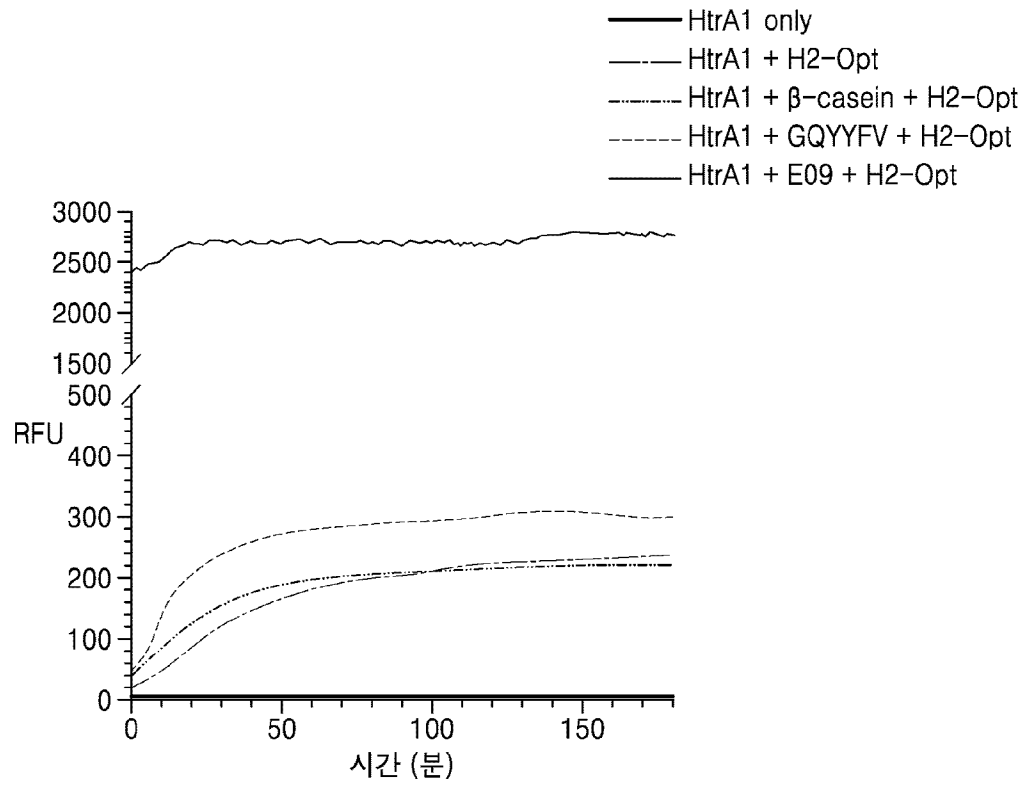
[도3b]



[도4]



[도5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/012593

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/426(2006.01)i; A61P 27/02(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A23L 33/10(2016.01)i; C12Q 1/37(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 31/426(2006.01); A61K 31/18(2006.01); C07D 211/60(2006.01); C07D 295/192(2006.01); C07D 413/02(2006.01); C07D 471/04(2006.01) 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), STN (Registry, CAplus) & keywords: HTRA 활성제(HTRA activator), 퇴행성 질환(degenerative disease), 티아졸(thiazole), 사이클로헥세인(cyclohexane), 벤젠(benzene)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Chemical Abstract Compound, STNext. RN: 1444614-61-2 (16 July 2013). See page 1.	1-15,17
A	KR 10-2022-0159346 A (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al.) 02 December 2022 (2022-12-02) See claims 1, 22 and 26-29.	1-15,17
A	US 2005-0165015 A1 (NCUBE, M. V. et al.) 28 July 2005 (2005-07-28) See claims 1 and 10-12.	1-15,17
A	US 2014-0058097 A1 (SHIONOGI & CO., LTD.) 27 February 2014 (2014-02-27) See claim 1.	1-15,17
A	US 2004-0116423 A1 (NIVOROZHKIN, A. et al.) 17 June 2004 (2004-06-17) See claims 11, 16 and 17.	1-15,17
☐ 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 “D” document cited by the applicant in the international application “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 28 November 2024		Date of mailing of the international search report 29 November 2024
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/012593

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.: **16**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 16 pertains to a method for treatment of the human body by surgery or therapy (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).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/012593

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2022-0159346	A	02 December 2022	AU	2020-386639	A1	02 June 2022
				BR	112022009881	A2	11 October 2022
				CA	3162470	A1	27 May 2021
				CN	115335039	A	11 November 2022
				EP	4061341	A1	28 September 2022
				IL	293222	A	01 July 2022
				JP	2023-502268	A	23 January 2023
				MX	2022006052	A	15 August 2022
				US	2023-202974	A1	29 June 2023
				WO	2021-102361	A1	27 May 2021
US	2005-0165015	A1	28 July 2005	WO	2005-073193	A1	11 August 2005
US	2014-0058097	A1	27 February 2014	EP	2151435	A1	10 February 2010
				JP	5383483	B2	08 January 2014
				US	2010-0160290	A1	24 June 2010
				US	8653067	B2	18 February 2014
				US	8895548	B2	25 November 2014
				WO	2008-133273	A1	06 November 2008
US	2004-0116423	A1	17 June 2004	AR	046154	A1	30 November 2005
				AU	2003-249313	A1	09 February 2004
				BR	0312768	A	10 May 2005
				CA	2492847	A1	29 January 2004
				CN	1694875	A	09 November 2005
				EP	1542980	A1	22 June 2005
				HU	P0500871	A2	28 December 2005
				HU	P0500871	A3	28 November 2006
				IL	166331	A	15 January 2006
				JP	2005-535678	A	24 November 2005
				KR	10-2005-0028038	A	21 March 2005
				MX	PA05000765	A	19 October 2005
				NZ	538313	A	30 September 2005
				PL	374833	A1	31 October 2005
				RU	2005104429	A	27 August 2005
				TW	200510348	A	16 March 2005
				US	2004-0019208	A1	29 January 2004
				US	2005-0159418	A1	21 July 2005
				US	2005-0159467	A1	21 July 2005
				US	2006-0135519	A2	22 June 2006
				US	7078423	B2	18 July 2006
				US	7087631	B2	08 August 2006
				US	7135491	B2	14 November 2006
				UY	28419	A1	28 February 2005
				WO	2004-009563	A1	29 January 2004
				ZA	200501431	B	22 February 2006

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/426(2006.01)i; A61P 27/02(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A23L 33/10(2016.01)i; C12Q 1/37(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/426(2006.01); A61K 31/18(2006.01); C07D 211/60(2006.01); C07D 295/192(2006.01); C07D 413/02(2006.01); C07D 471/04(2006.01)

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), STN(Registry, CAplus) & 키워드: HTRA 활성제(HTRA activator), 퇴행성 질환(degenerative disease), 티아졸(thiazole), 사이클로헥세인(cyclohexane), 벤젠(benzene)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	Chemical Abstract Compound, STNext. RN: 1444614-61-2 (2013.07.16) 페이지 1	1-15,17
A	KR 10-2022-0159346 A (더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아 등) 2022.12.02 청구항 1, 22, 26-29	1-15,17
A	US 2005-0165015 A1 (NCUBE, M. V. 등) 2005.07.28 청구항 1, 10-12	1-15,17
A	US 2014-0058097 A1 (SHIONOGI & CO., LTD.) 2014.02.27 청구항 1	1-15,17
A	US 2004-0116423 A1 (NIVOROZHKIN, A. 등) 2004.06.17 청구항 11, 16, 17	1-15,17



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

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 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

2024년11월28일(28.11.2024)

국제조사보고서 발송일

2024년11월29일(29.11.2024)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동,
정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-5373

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: **16**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 16은 수술 또는 치료에 의한 사람의 치치방법에 관한 것입니다(PCT 제17조(2)(a)(i) 및 PCT
규칙 39.1(iv)).
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.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2022-0159346 A	2022/12/02	AU 2020-386639 A1	2022/06/02
		BR 112022009881 A2	2022/10/11
		CA 3162470 A1	2021/05/27
		CN 115335039 A	2022/11/11
		EP 4061341 A1	2022/09/28
		IL 293222 A	2022/07/01
		JP 2023-502268 A	2023/01/23
		MX 2022006052 A	2022/08/15
		US 2023-202974 A1	2023/06/29
		WO 2021-102361 A1	2021/05/27
US 2005-0165015 A1	2005/07/28	WO 2005-073193 A1	2005/08/11
US 2014-0058097 A1	2014/02/27	EP 2151435 A1	2010/02/10
		JP 5383483 B2	2014/01/08
		US 2010-0160290 A1	2010/06/24
		US 8653067 B2	2014/02/18
		US 8895548 B2	2014/11/25
		WO 2008-133273 A1	2008/11/06
US 2004-0116423 A1	2004/06/17	AR 046154 A1	2005/11/30
		AU 2003-249313 A1	2004/02/09
		BR 0312768 A	2005/05/10
		CA 2492847 A1	2004/01/29
		CN 1694875 A	2005/11/09
		EP 1542980 A1	2005/06/22
		HU P0500871 A2	2005/12/28
		HU P0500871 A3	2006/11/28
		IL 166331 A	2006/01/15
		JP 2005-535678 A	2005/11/24
		KR 10-2005-0028038 A	2005/03/21
		MX PA05000765 A	2005/10/19
		NZ 538313 A	2005/09/30
		PL 374833 A1	2005/10/31
		RU 2005104429 A	2005/08/27
		TW 200510348 A	2005/03/16
		US 2004-0019208 A1	2004/01/29
		US 2005-0159418 A1	2005/07/21
		US 2005-0159467 A1	2005/07/21
		US 2006-0135519 A2	2006/06/22
		US 7078423 B2	2006/07/18
		US 7087631 B2	2006/08/08
		US 7135491 B2	2006/11/14
		UY 28419 A1	2005/02/28
		WO 2004-009563 A1	2004/01/29
		ZA 200501431 B	2006/02/22