

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2023년 8월 24일 (24.08.2023)



(10) 국제공개번호

WO 2023/158290 A1

(51) 국제특허분류:

A61K 31/4035 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) A23K 20/195 (2016.01)
A23L 33/10 (2016.01) A23K 20/132 (2016.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2023/002477

(22) 국제출원일: 2023년 2월 21일 (21.02.2023)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:

10-2022-0022320 2022년 2월 21일 (21.02.2022) KR
10-2022-0140639 2022년 10월 27일 (27.10.2022) KR
10-2022-0146145 2022년 11월 4일 (04.11.2022) KR
10-2023-0022804 2023년 2월 21일 (21.02.2023) KR

(71) 출원인: 퀴럼바이오 주식회사 (QUORUM BIO CO., LTD.) [KR/KR]; 03080 서울특별시 종로구 대학로 101, 서울대학교 치의학대학원 생체동 501-1, Seoul (KR).

(72) 발명자: 심재현 (SIM, Jae Hyun); 07988 서울특별시 양천구 목동동로 339, 11층 B-1104호, Seoul (KR). 이림자 (LI, Linzi); 08758 서울특별시 관악구 남부순환로 1805, 411호, Seoul (KR). 류은주 (RYU, Eunju); 07703 서울특

별시 강서구 화곡로13길 107, 143동 301호, Seoul (KR). 김윤지 (KIM, Yunji); 01701 서울특별시 노원구 덕릉로 79길 23, 103동 1306호, Seoul (KR). 김혜은 (KIM, Hye Eun); 05033 서울특별시 광진구 구의로12길 3-8, 201호, Seoul (KR). 임상은 (YIM, Sangeun); 05649 서울특별시 송파구 양재대로 1218, 111동 1201호, Seoul (KR).

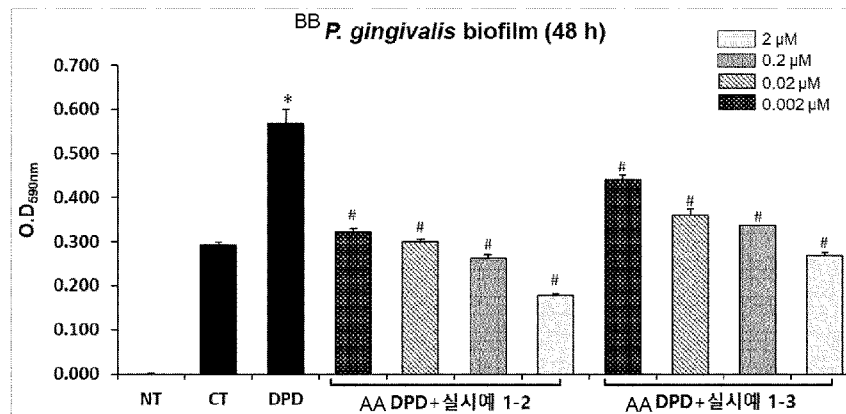
(74) 대리인: 유미특허법인 (YOU ME PATENT AND LAW FIRM); 06134 서울특별시 강남구 테헤란로 115, Seoul (KR).

(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, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, 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 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM),

(54) Title: NOVEL COMPOUND, AND COMPOSITION FOR PREVENTING, ALLEVIATING OR TREATING BACTERIAL INFLAMMATION AND INFLAMMASOME-MEDIATED DISEASES, COMPRISING SAME AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 신규 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 세균성 염증 및 인플라마솜 매개 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물



AA ... DPD+example

BB ... *P. gingivalis* biofilm (48 h)

(57) Abstract: The present application relates to: a compound of chemical formula 1, an isomer thereof or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and use thereof for preventing, alleviating and/or treating inflammasome-mediated diseases and/or gram-negative bacteria infections or diseases caused by gram-negative bacteria, does not exhibit cell cytotoxicity, and thus is safe, and can effectively inhibit inflammasomes, thereby having the excellent effects of preventing, alleviating and/or treating these diseases.

(57) 요약서: 본 출원은 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이들의 인플라마솜 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료 용도 등에 관한 것으로, 세포 독성이 나타나지 않아 안전하고, 인플라마솜을 효과적으로 억제할 수 있어 상기 질병에 대한 예방, 개선, 및/또는 치료 효과가 우수하다.

[다음 쪽 계속]

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))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 신규 화합물 및 이를 유효성분으로 포함하는 세균성 염증 및 인플라마좀 매개 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물 기술분야

[1] 관련 출원(들)과의 상호 인용

[2] 본 출원은 2022년 2월 21일자 대한민국 특허출원 제10-2022-0022320호, 2022년 10월 27일자 대한민국 특허출원 제10-2022-0140639호, 2022년 11월 4일자 대한민국 특허출원 제10-2022-0146145호, 2023년 2월 21일자 대한민국 특허출원 제10-2023-0022804호에 기초한 우선권의 이익을 주장하며, 해당 대한민국 특허출원의 문헌에 개시된 모든 내용은 본 명세서의 일부로서 포함된다.

[3]

배경기술

[4] 그람음성균은 치주질환, 요로감염, 방광염, 신우신염, 복강감염, 폐렴 등을 일으키는 것으로 알려져 있으며 인체에 미치는 병독력이 높아 원내감염, 기회감염 등의 2차 감염으로 이어지는 경우가 많다. 이렇게 국소부위에 감염된 세균이 초기에 제대로 제어되지 못할 경우, 세균들의 병독력이 높아지게 되고 결국 혈류를 타고 돌면서 전신성 염증반응(패혈증)까지 이르게 되어 장기부전 및 쇼크사까지 이어질 수 있다.

[5] 그람음성균의 경우 그람양성균에는 없는 외막(outer membrane)이 있어 기본적으로 약물의 침투가 어렵고, 그람음성균들의 퀴럼센싱에 의해 발달한 세균막 때문에 고농도의 항생제가 필요하게 되고 투여 후 약물의 유효기간 또한 짧아 항생제 남용 및 내성문제로 이어질 수 있다. 그러나 퀴럼센싱 억제제를 이용해 그람음성균의 세균막 형성을 억제하고 세균이 가지고 있는 병독력을 제어함으로써 관련 질환으로 진행되는 것을 근본적으로 예방할 수 있다 (도 9 및 도 10 참조).

[6] 특히 퀴럼센싱 억제제를 항생제와 같이 투여하는 경우 세균막 효과를 상쇄하여 항생제의 효과를 증대시켜 유효농도는 낮아지고 유효기간은 길어져 항생 효과를 증가시키고 약제내성 유발을 최소화시킬 수 있다.

[7] 전신적인 염증반응 증후군인 패혈증을 비롯하여 치주염, 골수염, 요로감염, 방광염, 복강감염, 폐렴 등 각종 염증을 야기하는 그람음성균 (대장균(*E. coli*), 녹농균(*P. aeruginosa*), 아시네토박터균(*A. baumannii*), 포르피로모나스 진지발리스(*P. gingivalis*) 등)을 표적으로 하는 신규 치료제 개발이 필요한 실정이다.

[8]

[9] 한편, 그람음성균 감염 등의 원인에 의하여 인플라마좀 염증복합체가 활성화되어 면역반응을 유발할 수 있으며, 과도하게 활성화된 NLRP3 인플라마좀은 신경 퇴행성 질환, 자가염증성 질환, 암 등 다양한 인플라마좀 매개 질환을 야기하는

것으로 알려져 있다. 이에 NLRP3 인플라마솜을 억제함으로써 상기 질병을 효과적으로 치료할 수 있는 치료제의 개발이 필요하다.

[10]

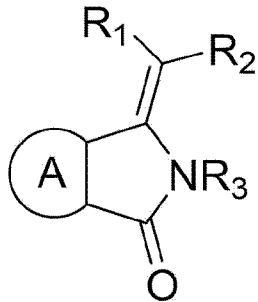
발명의 상세한 설명

기술적 과제

[11] 본 출원의 일 예는 신규한 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[12] [화학식 1]

[13]



[14] 다른 예는 상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 인플라마솜 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료용, 신경세포 보호용, 및/또는 신경세포 재생 (또는 생성)용 조성물 (약학 조성물, 식품 조성물, 사료 조성물 등)을 제공한다.

[15] 다른 예는 상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 인플라마솜 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료, 신경세포 보호용, 및/또는 신경세포 재생 (또는 생성)에 사용하기 위한 용도를 제공한다.

[16] 다른 예는 상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 인플라마솜 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료용, 신경세포 보호용, 및/또는 신경세포 재생 (또는 생성)용 조성물 (약학 조성물, 식품 조성물, 사료 조성물 등)의 제조에 사용하기 위한 용도를 제공한다.

[17] 다른 예는, 상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 유효량을 인플라마솜 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료, 신경세포 보호, 및/또는 신경세포 재생 또는 생성을 필요로 하는 대상(개체)에게 투여하는 단계를 포함하는, 인플라마솜 매개 질환; 및/

또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선 및/또는 치료 방법, 신경세포 보호 방법, 및/또는 신경세포 재생 또는 생성 방법을 제공한다.

- [18] 다른 예는 상기 화학식 1의 화합물을 포함하는 항생제를 제공한다. 상기 항생제는 그람음성균에 대해 항생 활성을 나타내는 것일 수 있다.
- [19] 본 명세서에서 제공되는 항생제 (제1 항생제)는 다른 항생제 (제2 항생제)와 병용됨으로써, 세균의 항생제 감수성 증가 효과, 제1 항생제 자체의 정균작용에 의한 제2 항생제의 살균효과 상승 및 낮은 농도의 제2 항생제로도 우수한 항생 효과를 발휘할 수 있도록 하는 이점을 갖는다. 이로 인하여, 높은 농도의 항생제 사용에 의한 독성 (예컨대, 신장 독성, 간 독성 등) 등의 부작용을 감소시킬 수 있다. 또한, 다른 기전의 항생제 병용을 통한 항생제 내성균의 출현을 억제할 수 있다.
- [20] 이에, 일 예는,
- [21] (a) 화합물; 및
- [22] (b) 제2 항생제
- [23] 를 포함하는, 병용 항생제를 제공한다.
- [24] 다른 예는 상기 항생제 또는 병용 항생제를 유효성분으로 포함하는 사료 첨가제를 제공한다.
- [25] 다른 예는 상기 항생제 또는 병용 항생제를 유효성분으로 포함하는 소독제를 제공한다.
- [26] 다른 예는 상기 항생제 또는 병용 항생제를 소독이 필요한 대상에 적용하는 단계를 포함하는, 소독 방법을 제공한다.
- [27] 다른 예는 상기 항생제 또는 병용 항생제를 유효성분으로 포함하는 세척제를 제공한다.
- [28] 다른 예는 상기 항생제 또는 병용 항생제를 세척이 필요한 대상에 적용하는 단계를 포함하는, 세척 방법을 제공한다.

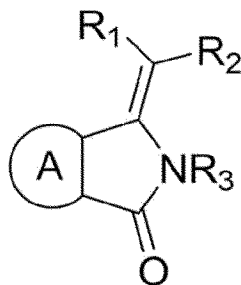
[29]

과제 해결 수단

- [30] 본 출원의 일 예는 아래 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[31] [화학식 1]

[32]



[33]

[34] 용어의 정의

[35] 본 명세서에서 사용된 용어에 대해 이하에서 간략히 설명한다.

[36]

[37] 본 명세서에서 사용된 용어 "약학적으로 허용 가능한 염(pharmaceutically acceptable salt)"은 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는 화합물의 염 형태를 의미하는 것으로, 본 발명의 경우, 화학식 1의 화합물의 생물학적 유효성 및 특성을 동등하게 보유하고, 약제학적, 생물학적 또는 다른 특성의 관점에서 바람직한 염의 염을 총칭할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 약학적으로 허용되는 음이온을 함유하는 무독성 산부가염을 형성하는 산, 예를 들어, 염산, 황산, 질산, 인산, 브롬화수소산, 요오드화수소산 등과 같은 무기산; 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 글루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카본산; 또는 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 등과 같은 설폰산 등에 의해 형성된 산부가염일 수 있다. 구체적인 예로서, 유리 염기 형태의 화합물과, 화학량론적 양의 적절한 산과 반응시켜 일 구현예의 화합물의 산 부가염을 얻을 수 있다. 이때, 상기 반응은 물, 유기 용매, 또는 이들의 혼합물 중에서 진행될 수 있고, 구체적으로 에테르, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올 또는 아세토니트릴 등의 비-수성 매질 중에서 진행될 수 있다. 이외에도 약제학적으로 허용되는 염의 형태에 따라, 당업자에게 자명한 통상적인 반응에 의해 각 형태의 염을 얻을 수 있다. 또한, 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 리튬, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등에 의해 형성된 알칼리 금속염 또는 알칼리 토금속염; 라이신, 아르기닌, 구아니딘 등의 아미노산염; 또는 디사이클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(하이드록시메틸)메틸아민, 디에탄올아민, 콜린, 트리에틸아민 등의 유기염 등일 수 있다.

[38] 본 명세서에서 사용된 용어 "이성질체"는 동일한 화학식 또는 분자식을 가지지만 광학적 또는 입체적으로 다른 화합물 또는 그의 염을 의미한다. 이러한 이성질체, 그의 염, 및 이성질체의 혼합물(racemic mixture) 역시 본 발명의 범위에 포함된다.

[39] 본 명세서에서 사용된 용어 "아릴"은 공유 파이 전자계를 가지며 적어도 하나의 링을 가지는 카보사이클릭 그룹(예를 들어, 페닐) 그룹을 의미한다. 이 용어는 모노사이클릭 또는 융합환 폴리사이클릭(즉, 탄소원자들의 인접한 쌍들을 나뉘어 가지는 링들) 그룹을 포함한다.

[40] 본 명세서에서 사용된 용어 "헤테로아릴"은 공유 파이 전자계를 가지며 적어도 하나의 링을 가지는 헤테로사이클릭 아릴 그룹을 의미하며, 예를 들어 퓨란, 티오펜, 피롤, 이미다졸, 옥사졸, 이속사졸, 옥사디아졸, 테트라졸, 티아졸, 이미다졸, 피라졸, 이소티아졸, 트리아졸, 티아디아졸, 피리딘, 피리다진, 피리미딘, 피라진, 트리아진 등을 나타내지만 이들로 한정되는 것은 아니다.

- [41] 상기 아릴 및/또는 헤테로아릴은 C_{5-10} 의 치환되거나 비치환된 것일 수 있으며, 탄소수 5 내지 10개 ($C5-C10$), 탄소수 5 내지 9개 ($C5-C9$), 탄소수 5 내지 8개 ($C5-C8$), 탄소수 5 내지 7개 ($C5-C7$), 탄소수 5 내지 6개 ($C5-C6$), 탄소수 6 내지 10개 ($C6-C10$), 탄소수 6 내지 9개 ($C6-C9$), 탄소수 6 내지 8개 ($C6-C8$), 탄소수 6 내지 7개 ($C6-C7$), 탄소수 5개, 탄소수 6개, 탄소수 7개, 탄소수 8개, 탄소수 9개, 또는 탄소수 10개의 아릴 및/또는 헤테로아릴일 수 있다.
- [42] 본 명세서에서 사용된 용어 "알킬"은 지방족 탄화수소 그룹을 의미한다. 알킬 부위는 알켄이나 알킨 부위를 전혀 포함하지 않는 "포화 알킬" 그룹일 수도 있고, 적어도 하나의 알켄 또는 알킨 부위를 포함하는 "불포화 알킬" 그룹일 수도 있다. "알켄" 부위는 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합으로 이루어진 그룹을 의미하며, "알킨" 부위는 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중결합으로 이루어진 그룹을 의미한다. 예컨대, "알킬"은 선형, 가지형 또는 고리형 구조를 갖는 포화 알킬 또는 불포화 알킬일 수 있다. 전형적인 알킬 그룹에는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸, 헥실, 에테닐, 프로페닐, 부테닐 등이 포함되지만, 이들만으로 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, $C1-C4$ -알킬은 알킬쇄에 1 내지 4 개의 탄소원자를 가지며, 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, n-부틸, 이소-부틸, sec-부틸 및 t-부틸로 이루어진 그룹에서 선택된다.
- [43] 본 명세서에서, 알킬기는 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬기일 수 있고, 알콕시는 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시기일 수 있다. 상기 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬기, 또는 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시기는 각각 독립적으로 탄소수 1 내지 10개 ($C1-C10$), 탄소수 1 내지 9개 ($C1-C9$), 탄소수 1 내지 8개 ($C1-C8$), 탄소수 1 내지 7개 ($C1-C7$), 탄소수 1 내지 6개 ($C1-C6$), 탄소수 1 내지 5개 ($C1-C5$), 탄소수 1 내지 4개 ($C1-C4$), 탄소수 1 내지 3개 ($C1-C3$), 탄소수 1 내지 2개 ($C1-C2$), 탄소수 1개 ($C1$), 탄소수 2 내지 10개 ($C2-C10$), 탄소수 2 내지 9개 ($C2-C9$), 탄소수 2 내지 8개 ($C2-C8$), 탄소수 2 내지 7개 ($C2-C7$), 탄소수 2 내지 6개 ($C2-C6$), 탄소수 2 내지 5개 ($C2-C5$), 탄소수 2 내지 4개 ($C2-C4$), 탄소수 2 내지 3개 ($C2-C3$), 탄소수 2개 ($C2$), 탄소수 3 내지 10개 ($C3-C10$), 탄소수 3 내지 9개 ($C3-C9$), 탄소수 3 내지 8개 ($C3-C8$), 탄소수 3 내지 7개 ($C3-C7$), 탄소수 3 내지 6개 ($C3-C6$), 탄소수 3 내지 5개 ($C3-C5$), 탄소수 3 내지 4개 ($C3-C4$), 탄소수 3개 ($C3$), 탄소수 4 내지 10개 ($C4-C10$), 탄소수 4 내지 9개 ($C4-C9$), 탄소수 4 내지 8개 ($C4-C8$), 탄소수 4 내지 7개 ($C4-C7$), 탄소수 4 내지 6개 ($C4-C6$), 탄소수 4 내지 5개 ($C4-C5$), 탄소수 4개 ($C4$), 탄소수 5 내지 10개 ($C5-C10$), 탄소수 5 내지 9개 ($C5-C9$), 탄소수 5 내지 8개 ($C5-C8$), 탄소수 5 내지 7개 ($C5-C7$), 탄소수 5 내지 6개 ($C5-C6$), 탄소수 5개 ($C5$), 탄소수 6 내지 10개 ($C6-C10$), 탄소수 6 내지 9개 ($C6-C9$), 탄소수 6 내지 8개 ($C6-C8$), 탄소수 6 내지 7개 ($C6-C7$), 탄소수 6개 ($C6$), 탄소수 7 내지 10개 ($C7-C10$), 탄소수 7 내지 9개 ($C7-C9$), 탄소수 7 내지 8개 ($C7-C8$), 탄소수 7개 ($C7$), 탄

소수 8 내지 10개 (C8-10), 탄소수 8 내지 9개 (C8-C9), 탄소수 9개 (C9), 탄소수 9 내지 10개 (C9-C10), 또는 탄소수 10개 (C10)인 것일 수 있다.

[44] 본 명세서에서 사용된 용어 "할로" 또는 "할로젠"은 플루오르기(-F), 클로로기(-Cl), 브로모기(-Br) 또는 아이오도기(-I)일 수 있다.

[45] 본 명세서에서 사용된 용어 "헤테로사이클"은 환 탄소가 산소, 질소, 황 등으로 대체되어 있는 그룹으로서 임의로 이중결합을 포함할 수 있다. 헤테로사이클의 예로는 피롤린, 피롤리딘, 테트라하이드로퓨란, 이미다졸린, 이미다졸리딘, 피라졸린, 피라졸리딘, 피란, 피페리딘, 피페라진, 모폴린, 티오모폴린 등을 들 수 있지만 이들로 한정되는 것은 아니다.

[46] 상기 "각각 독립적으로 치환"은, 치환 가능한 수소의 개수가 2개 이상인 경우, 각각의 수소는 서로 같거나 상이한 치환기로 치환될 수 있음을 의미한다.

[47] 본 명세서에서, "예방"이란 일 예에 따른 조성물의 투여에 의해 질병(질환)의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"란 일 예에 따른 조성물의 투여에 의해 질병의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미하며, "개선"이란, 일 예에 따른 조성물의 투여로 질병이 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미할 수 있다. 상기 질병은 인플라마좀 매개 질환일 수 있다.

[48] 본 명세서에서 사용된 용어 "약학적 유효량(pharmaceutically effective amount)"은 목적하는 약학적 효과가 얻어질 수 있는 유효성분의 양을 의미하며, 경우에 따라서는 목적하는 약학적 효과 발휘를 위한 약학적 조성물 내의 유효성분의 농도 또는 투여량을 의미할 수 있다.

[49] 상기 설명한 것 이외의 용어들은 본 발명이 속하는 분야에서 당업자에게 통상적으로 이해되는 의미로서 해석될 수 있다.

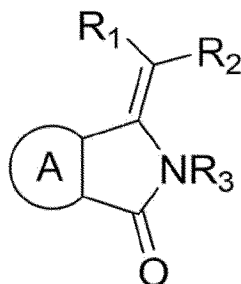
[50]

[51] 화학식 1의 화합물

[52] 본 출원의 일 예는 아래 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[53] [화학식 1]

[54]



[55] 상기 화학식 1에서,

- [56] 상기 "A"는 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 사이클로알킬, 하나 이상의 이중결합을 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 사이클로알케닐, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 헤테로사이클로알킬, 하나 이상의 이중결합을 포함하고 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 헤테로사이클로알케닐, 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 "A"는 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴일 수 있다.
- [57] 상기 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알케닐, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시(-OH), 할로젠(-F, -Br, -Cl, 또는 -I), 시아노(-CN), 니트로(-NO₂), 아미노(-NH), 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상(본 명세서에서, "1종 이상"으로 치환됨은 동일한 치환기로 2종 이상 치환되는 경우를 포함한다: 예컨대, 2개의 OH로 치환되는 경우 등)의 치환기로 치환될 수 있다.
- [58] 상기 치환된 알킬 또는 치환된 알콕시는 히드록시(-OH), 할로젠, 시아노(-CN), 니트로(-NO₂), 아미노(-NH), C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다.
- [59] 상기 R_3 는 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 사이클로알킬, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 헤테로사이클로알킬, 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴일 수 있다. 일 구체예에서 상기 R_3 는 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴일 수 있다.
- [60] 상기 치환된 알킬은 히드록시(-OH), 할로젠, 시아노(-CN), 니트로(-NO₂), 아미노(-NH), C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴로 치환될 수 있다.
- [61] 상기 치환된 알콕시, 치환된 사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시(-OH), 할로젠, 시아노(-CN), 니트로

(-NO₂), 아미노(-NH), C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[62] 상기 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로(또는 모두) 수소(H), 할로젠(-F, -Br, -Cl, 또는 -I), 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₅₋₁₀의 헤테로아릴일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₅₋₁₀의 헤테로아릴일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 치환된 C₆₋₁₀의 아릴 또는 치환된 C₅₋₁₀의 헤테로아릴은 메틸기, 에틸기, 메톡시기, 에톡시기로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[63] 상기 치환된 알킬은 히드록시(-OH), 할로젠, 시아노(-CN), 니트로(-NO₂), 아미노(-NH), C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₅₋₁₀의 헤테로아릴로 치환될 수 있다.

[64] 상기 치환된 알콕시, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시(-OH), 할로젠, 시아노(-CN), 니트로(-NO₂), 아미노(-NH), C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[65] 일 예에서, 상기 화학식 1의 화합물은 아래 화합물들로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다:

[66] 1) 3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(diphenylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one},

[67] 2) 3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(di-p-tolylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one}, 및

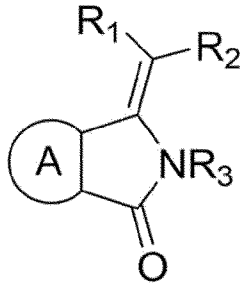
[68] 3) 3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(bis(4-methoxyphenyl)methylene)-2-methylisoindolin-1-one}

[69]

[70] 본 출원의 다른 예는, 아래 화학식 1A의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[71] [화학식 1A]

[72]



[73] 상기 화학식 1A의 화합물에서, "A", R_1 , R_2 , 및 R_3 은 앞에서 설명한 바와 같



다. 단, 상기 화학식 1A의 화합물은 아래 화합물을 포함하지 않을 수 있다:

[74] 3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(diphenylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one} (CAS No. 92172-54-8)

[75] 일 예에서, 상기 화학식 1A의 화합물은 아래 화합물들로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있다:

[76] 1) 3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(di-p-tolylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one}, 및

[77] 2) 3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(bis(4-methoxyphenyl)methylene)-2-methylisoindolin-1-one}.

[78]

[79] 상기 화학식 1 또는 화학식 1A의 화합물(이하, 본 명세서에서 화학식 1 또는 화학식 1A의 화합물은 특별한 언급이 없다면 화학식 1의 화합물로 통일하여 기재한다.)의 이성질체는 상기 화학식 1의 화합물의 광학 이성질체, 입체이성질체, 또는 상기 이성질체의 혼합물(라세믹 혼합물)일 수 있다. 일 구현예에 따른 화학식 1의 화합물에서, 각 치환기는 탄소 원자의 키랄 중심에 부착될 수 있는 것으로 이해된다. 그리고, 상기 일 구현예의 화합물 상의 임의의 비대칭 탄소 원자는 (R)-, (S)- 또는 (R, S)- 배위의 어떠한 형태로도 존재할 수 있고, 적절하게는 각각의 분리된 형태인 (R)- 또는 (S)- 배위로 존재할 수 있다. 또, 일 구현예의 화합물은 가능한 임의의 이성질체 또는 이들의 혼합물 중 어떠한 형태로도 존재할 수 있고, 예를 들어, 순수한 기하 이성질체, 부분 입체 이성질체, 광학이성질체, 라세미체 또는 이들의 혼합물의 임의의 형태로 존재할 수 있다. 부가하여, 일 구현예의 화합물이 이중 결합을 갖는 경우, 이중 결합에 결합된 각 치환기는 E 또는 Z 배열일 수 있다.

[80]

[81] 인플라마솜 매개 질환

[82] 본 명세서에서 사용된 용어, “인플라마솜(inflammasome)”은 카스파제-1-활성화 복합 단백질 복합체로, 1) 감각 단백질(sensor protein)인 NLR(nucleotide-binding oligomerization domain and leucine-rich repeat-containing receptor) 단백질, 2) 연결 단백질(adaptor protein)인 ASC(adaptor protein apoptosis-associated spec-like protein

containing a caspase-recruitment domain), 및 3) 이펙터 단백질인 카스파제의 전구체(pro-caspase-1)을 포함할 수 있다. 염증성 사이토카인 중 하나인 IL-1 β 는 인플라마솜이라는 다단백질 중합체에 의해 형성되며, 염증성 세포 사멸 중 하나인 파이로토시스(Pyroptosis)를 매개할 수 있다. 인플라마솜은 병원체가 가지고 있는 물질인 병원체 연관 분자유형(PAMP, Pathogen-Associated Molecular Pattern molecules)나 죽은 세포에 의해 생성되는 손상 연관 분자유형(DAMP, Damage-Associated Molecular Pattern molecules)에 의해 톨 유사 수용체(TLRs, Toll-like receptors)가 활성화되면 IL-1 β 전구체(pro-IL-1 β)의 발현이 증가하고, 이후 인플라마솜이라는 단백질 복합체에 의해 카스파제(caspase-1)가 활성화되면서 IL-1 β 전구체를 분해함으로써 활성화된 IL-1 β 를 생성할 수 있다.

- [83] 상기 인플라마솜은 NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain-containing 3) 인플라마솜, AIM2 (Absent in melanoma 2) 인플라마솜 및 NLRC4 (NLR family CARD domain-containing protein 4) 인플라마솜으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 NLRP3, AIM2, 또는 NLRC4 인플라마솜은 핵산, 폴리뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 센스 및 안티-센스 폴리뉴클레오타이드 가닥, 상보적 서열, 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 상동성 및/또는 이종상동성 분자, 이소폼, 전구체, 돌연변이체, 변이체, 유도체, 스플라이스 변이체, 대립유전자, 상이한 종, 및 이의 활성 단편을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [84] 상기 인플라마솜이 과도하게 활성화되는 경우 인플라마솜 매개 질환이 발생할 수 있다. 상기 인플라마솜의 활성화는 그람 음성균 감염 또는 그람 음성균에 의하여 유발되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 일 예에서 본 출원의 화합물은 인플라마솜 활성화를 억제함으로써 (예컨대, 염증성 사이토카인 IL-1 β 의 생성 억제 등), 염증성 사이토카인 IL-1 β 의 분비 양을 효과적으로 조절할 수 있어 인플라마솜 매개 질환의 예방, 개선 또는 치료에 탁월한 효과를 나타낼 수 있다.
- [85]
- [86] 상기 인플라마솜 매개 질환은 인플라마솜이 비정상적으로 과도하게 활성화된 경우 발생하는 모든 종류의 질환을 의미할 수 있다.
- [87] 일 예에서 상기 인플라마솜 매개 질환은 치주질환일 수 있다.
- [88] 일 예에서 상기 인플라마솜 매개 질환은 신경퇴행성 질환일 수 있다.
- [89] 일 예에서 상기 인플라마솜 매개 질환은 염증 질환일 수 있다. 상기 염증 질환은 인플라마솜 매개 염증성 질환일 수 있다.
- [90] 일 예에서 상기 인플라마솜 매개 질환은 암일 수 있다.
- [91] 일 예에서 상기 인플라마솜 매개 질환은 그람 음성균 감염 또는 그람 음성균에 의하여 유발되는 질병일 수 있다.
- [92] 일 예에서 상기 인플라마솜 매개 질환은 치주질환, 신경퇴행성 질환, 염증 질환 (예컨대, 인플라마솜 매개 염증성 질환), 암, 그람 음성균 감염 또는 그람 음성균에 의하여 유발되는 질병, 대사성 질환, 패혈증, 패혈성 쇼크, 염증성 장질환, 골관절

염, 고면역글로불린 D 증후군(hyperimmunoglobulin D syndrome), 및 크리오피린 관련 주기적 증후군(cryopyrin-associated periodic syndromes)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[93] 본 출원의 화합물은 아래 설명하는 바와 같이 그람음성균에 대한 항생 효과, 구체적으로 포르피로모나스 속 세균의 병독력 억제 활성을 나타내어, 치주질환의 예방, 개선, 및/또는 치료 활성을 가지는 것일 수 있다.

[94] 상기 그람음성균의 병독력 억제 활성은 그람음성균의 퀴럼센싱을 억제하거나, 및/또는 그람음성균의 병독력 인자 (예컨대, 그람음성균의 생물막(biofilm), 또는 포르피로모나스 속 세균의 경우 진지페인(gingipain) 등)의 발현 억제 (예컨대, mRNA 전사 과정 억제, 또는 단백질 번역 과정 억제 등) 등을 통하여 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 진지페인은 Lysine-gingipain (Kgp), Arginine-gingipain A (RgpA), Arginine-gingipain B (RgpB) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[95] 상기 그람음성균의 병독력을 억제함으로써, 치주 질환의 예방, 개선, 및/또는 치료 효과를 달성할 수 있다. 즉, 상기 치주 질환의 예방, 개선, 및/또는 치료는, 그람음성균의 병독력 억제, 예컨대, 포르피로모나스 속 세균의 퀴럼센싱을 억제하거나, 및/또는 포르피로모나스 속 세균의 병독력 인자 (예컨대, 진지페인(gingipain), 생물막(biofilm) 등)의 발현 억제 (예컨대, mRNA 전사 과정 억제, 또는 단백질 번역 과정 억제 등) 등을 통하여 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[96] 상기 치주 질환은 치주염, 치은염 등으로부터 선택된 1종 이상의 질환일 수 있다.

[97] 본 출원의 화합물은 신경퇴행성 질환 환자에서의 염증성 단백질(예컨대, 염증성 사이토카인 등)의 발현 억제, 신경세포의 염증과 사멸(신경염증 등), 및/또는 진지발리스균에 의한 신경세포 사멸 및/또는 염증의 억제 활성을 갖는 것을 특징으로 할 수 있다.

[98] 본 명세서에 사용된 바로서, 신경퇴행성 질환은 신경세포의 사멸, 감소, 기능 저하 또는 기능 소실 등에 의하여 운동조절능력, 인지기능, 지각기능, 감각기능, 자율신경의 기능에 이상을 보이는 모든 질병들 중에서 선택된 것일 수 있다. 예컨대, 상기 신경퇴행성 질환은 치매 (예컨대, 알츠하이머병(Alzheimer's disease; AD), 혈관성 치매, 혼합성 치매, 루이소체 치매, 전두측두엽 치매 등), 파킨슨병(Parkinson's disease; PD), 헌팅턴병, 근위축성 측색 경화증(Amyotrophic lateral sclerosis; 루게릭병), 수전증, 무도병, 다발성경화증, 운동신경세포병, 척수성근위축증, 크로이츠펔트-야콥병, 피크병, 프리온병, 척수소뇌실조증 등으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[99] 상기 신경퇴행성 질환은 그람음성균, 예컨대 포르피로모나스 속 세균의 감염에 의한 것이거나, 포르피로모나스 속 세균에 의하여 유발되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 포르피로모나스 속 세균은 포르피로

모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*), 포르피로모나스 엔도돈탈리스(*Porphyromonas endodontalis*) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있다.

- [100] 상기 신경세포는 중추신경세포, 예컨대, 뇌(신경)세포일 수 있다.
- [101] 상기 염증성 단백질(예컨대, 염증성 사이토카인)은 IL-6, IL-8, IL-18, TNF- α , IL-1 등일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [102] 상기 염증 질환은 인플라마좀이 비정상적으로 과도하게 활성화된 경우 발생하는 이상 염증성 질환을 의미할 수 있으며, 신경염증성 질환, 자가염증성 질환, 자가면역질환 등을 의미할 수 있다.
- [103] 상기 신경염증성 질환은 염증 반응에 의해 신경 조직의 손상으로 초래된 질환을 의미할 수 있으며, 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌터턴병, 루게릭병, 크로이츠펔트야콥병, 다발성 경화증, 근위축성 측삭 경화증, 염증성 척추손상, 미만성 루이 소체병, 백색질뇌염, 측두엽간질 및 염증성 척추손상으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [104] 상기 자가염증성 질환(auto-inflammatory disease)은 머클-웰스 증후군(Muckle-Wells syndrome; MWS), 성인형 지연성 자가면역 당뇨병(LADA), 가족성 한랭 자가염증성 증후군(FCAS), 크라이오피린 관련 주기적 증후군(CAPS), 신생아-발병 다기관 염증성 증후군(NOMID), 만성 영아 신경 피부 관절(CINCA) 증후군, 가족성 지중해열(FMF), 소아 관절염 (예컨대, 전신 발병 소아 특발성 관절염(SJIA)), 소아 류마티스 관절염 (예컨대, 전신 발병 소아 특발성 류마티스 관절염), 및 통풍으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [105] 상기 자가면역질환 (Autoimmune disease)은 류마티스 관절염(Rheumatoid arthritis; RA), 전신성 홍반성 루푸스(Systemic lupus erythematosus; SLE), 아토피 피부염(Atopic dermatitis; AD) 및 건선(Psoriasis)로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [106] 또한 인플라마좀의 활성화는 많은 암의 발병 이전에 연루되어 있는 것으로 알려져 있으며, 상기 암은 대장암, 급성 골수성 백혈병, 부신피질 암종, 카포시 육종, 림프종, 항문암, 충수암, 기형양/횡문근양 종양, 기저 세포 암종, 담관암, 방광암, 골암, 뇌암, 유방암, 기관지 종양, 카르시노이드 종양, 심장 종양, 자궁경부암, 척삭종, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수증식성 신생물, 결장암, 결장직장암, 두 개인두종, 자궁내막암, 상의세포종, 식도암, 감각신경모세포종, 유잉 육종, 안암, 난관암, 담낭암, 위장 카르시노이드 종양, 위장 기질 종양, 배세포 종양, 모발상 세포 백혈병, 두경부암, 심장암, 간암, 하인두암, 췌장암, 신장암, 후두암, 만성 골수 백혈병, 구순암, 구강암, 폐암, 흑색종, 메르켈 세포 암종, 중피종, 구내암, 구강암, 골육종, 난소암, 음경암, 인두암, 전립선암, 직장암, 타액선암, 피부암, 소장암, 연부 조직 육종, 고환암, 인후암, 갑상선암, 요도암, 자궁암, 질암, 및 외음부암으

로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[107] 본 출원의 화합물은 인플라마좀을 억제하여 상기 암을 효과적으로 예방, 개선 또는 치료할 수 있다.

[108] 상기 대사성 질환은 생체 내 물질대사 장애에 의해서 발생하는 질환을 총칭하는 것으로, 비만, 고지혈증, 고콜레스테롤증, 동맥경화증, 제2형 당뇨병, 비알코올성지방간(NAFLD) 및 비알코올성 지방간염(NASH)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[109]

[110] 그람음성균에 대한 항생제 및 그람음성균 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병

[111] 다른 예는, 상기 화합물을 포함하는, 항생제를 제공한다.

[112] 다른 예는, 상기 화합물을 그람음성균에 대한 항생(예컨대, 그람음성균의 성장(또는 생장)의 저해(또는 억제), 그람음성균의 정균, 그람음성균의 살균, 방제 등)에 사용하기 위한 용도를 제공한다.

[113] 다른 예는, 상기 화합물의 유효량을 그람음성균에 대한 항생(또는 그람음성균의 정균, 살균, 방제 등)을 필요로 하는 대상에게 적용(또는 투여)하는 단계를 포함하는, 그람음성균의 살균방법(또는 정균방법, 방제방법, 성장 저해 방법)을 제공한다.

[114] 다른 예는, 상기 화합물을 항생제 제조에 사용하기 위한 용도를 제공한다.

[115] 상기 정균효과(Bacteriostatic effect)는 항생제가 세균과 가역적으로 결합하여 세균을 살균하지는 않으나 세균의 증식을 억제하는 것을 의미할 수 있다. 상기 살균효과(Bactericidal effect)는 항생제가 세균과 비가역적으로 결합하여 세균의 증식 억제를 넘어 세균을 사멸시키는 것을 의미할 수 있다. 정균효과와 살균효과의 구별은 절대적인 것은 아니며, 투여되는 항생제의 농도에 따라 정균제 또는 살균제로 혼용되어 기능할 수 있다.

[116] 상기 화학식 1의 화합물은 (i) 그람음성균의 병독력 억제 활성화, (ii) 그람음성균에 대한 항생 효과(예컨대, 정균 효과 및/또는 살균 효과) 및/또는 (iii) 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료 활성을 가지는 것일 수 있다.

[117] 상기 그람음성균의 병독력 억제활성, 또는 그람음성균에 대한 항생 효과는 그람음성균의 퀴럼센싱을 억제하거나, 및/또는 그람음성균의 병독력 인자 (예컨대, 생물막(biofilm) 세포외다당류(EPSs), 독소(Toxins) 등)의 발현 억제 (예컨대, mRNA 전사 과정 억제, 또는 단백질 번역 과정 억제 등) 등을 통하여 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[118] 상기 그람음성균의 병독력을 억제하거나 그람음성균에 대한 항생 효과를 통하여 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료 효과를 달성할 수 있다. 즉, 상기 그람음성균의 감염 또는 그람음성

균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료는, 그람음성균의 병독력 억제, 또는 그람음성균에 대한 항생 효과, 예컨대, 그람음성균의 퀴럼센싱을 억제하거나, 및/또는 그람음성균의 병독력 인자 (예컨대, 생물막(biofilm), 세포외다당류(EPSs), 독소(Toxins), 등)의 생성 및/또는 발달 억제 (예컨대, mRNA 전사 과정 억제, 또는 단백질 번역 과정 억제 등) 등을 통하여 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [119] 상기 항생제는 그람음성균에 대하여 항생효과를 갖는 것일 수 있다. 상기 그람음성균은 에스케리차 속 세균, 슈도모나스 속 세균, 아시네토박터 속 세균, 엔테로박터 속 세균, 클렙시엘라 속 세균, 포르피로모나스 속 세균, 퓨조박테리아 속 세균, 타네텔라 속 세균 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상 (예컨대, 1종, 2종, 3종, 4종, 또는 5종)일 수 있다. 예를 들어, 상기 에스케리차 속 세균은 대장균 (*Escherichia coli*)일 수 있고, 상기 슈도모나스 속 세균은 슈도모나스 에루기노사 (*Pseudomonas aeruginosa*) 일 수 있고, 상기 아시네토박터 속 세균은 아시네토박터 바우마니(*Acinetobacter baumannii*)일 수 있고, 상기 엔테로박터 속 세균은 엔테로박터 에어로지너스(*Enterobacter aerogenes*; 또는 *Klebsiella aerogenes*로도 알려짐) 또는 엔테로박터 클로아카(*Enterobacter cloacae*)일 수 있고, 상기 클렙시엘라 속 세균은 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumoniae*)일 수 있고, 상기 포르피로모나스 속 세균은 포르피로모나스 진지발리스(*Porphyromonas gingivalis*), 포르피로모나스 엔도돈탈리스 (*Porphyromonas endodontalis*)일 수 있고, 상기 퓨조박테리아 속 세균은 퓨조박테리아 뉴클레아툼(*Fusobacterium nucleatum*)일 수 있고, 상기 타네텔라 속 세균은 타네텔라 포르시시아(*Tannerella forsythia*)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [120] 상기 그람음성균 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병은 그람음성균의 감염이 원인이 되는 모든 질병들 중에서 선택될 수 있으며, 예컨대, 장염, 크론병, 궤양성 대장염, 세균성이질, 요로감염증, 피부감염, 균혈증, 패혈증, 피부감염, 욕창, 폐렴, 심내막염, 수막염, 외이도염, 중이염, 각막염, 골수염, 복막염, 낭포성섬유증, 치주질환 (예컨대, 치은염, 치주염 등)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [121] 상기 그람음성균 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병은 장염, 크론병, 궤양성 대장염, 세균성이질, 요로감염증, 피부감염, 균혈증, 패혈증 등과 같은 에스케리차 속 세균에 의하여 유발되는 질병; 피부감염, 욕창, 폐렴, 균혈증, 패혈증, 심내막염, 수막염, 외이도염, 중이염, 각막염, 골수염, 장염, 복막염, 낭포성섬유증 등과 같은 슈도모나스 속 세균에 의하여 유발되는 질병; 피부감염, 폐렴, 균혈증, 패혈증 등과 같은 아시네토박터 속 세균에 의하여 유발되는 질병; 치은염, 치주염 등과 같은 포르피로모나스 속 세균, 퓨조박테리움 속 세균 또는 타네텔라 속 세균에 의하여 유발되는 질병 등으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [122] 본 명세서에서 제공되는 항생제는 앞서 설명한 화합물에 더하여, 다른 항생제 (제2 항생제)와 병용하여 사용될 수 있다.
- [123] 이에 다른 양상은 상기 항생제 및 제2 항생제를 포함하는 병용 항생제를 제공한다.
- [124] 상기 병용 항생제는 그람음성균에 대하여 항생효과를 갖는 것일 수 있다. 상기 그람음성균은 앞에서 설명한 바와 같다.
- [125] 상기 제2 항생제는 통상적으로 사용되는 항생제, 예를 들어 그람음성균에 대하여 항생 활성을 갖는 항생제 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 상기 제2 항생제는 베타락탐계 항생제, 세균 세포막 투과 억제제, 세균 리보솜 억제제, 세균 핵산 합성 억제제, 및 세균 엽산 합성 억제제로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있다.
- [126] 일 구체예에서, 상기 제2 항생제는 베타락탐계 항생제;
- [127] 폴리믹신(polymixin) 암포테리신 B (Amphotericin B), 케토코나졸 (ketoconazole), 플루코나졸 (fluconazole), 및 이트라코나졸 (itraconazole) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 세균 세포막 투과 억제제;
- [128] 아미노글리코사이드 (Aminoglycoside), 테트라시클린 (tetracycline), 마크롤라이드 (macrolide), 린코사마이드(lincosamide), 클로람페니콜 (chloramphenicol) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 세균 리보솜 억제제;
- [129] 퀴놀론(quinolone), 플루오로퀴놀론 (fluoroquinolone), 리팜피신 (rifampicin) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 세균 핵산 합성 억제제; 및
- [130] 술폰아미드 (Sulfonamide), 트리메소프림 (trimethoprim) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 세균 엽산 합성 억제제; 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [131] 상기 베타락탐계 항생제는 페니실린 G (penicillin G), 메티실린(meticillin), 옥사실린(oxacillin), 플루클록사실린 (flucloxacillin), 아목시실린 (amoxicillin), 암피실린 (ampicillin), 암피실린/설파탐(ampicillin/sulbactam) 피페라실린 (piperacillin), 피페라실린/타조박탐(piperacillin/tazobactam), 티가실린(ticarcillin), 아즐로실린 (Azlocillin). 카르베니실린(Carbenicillin) 및 아목시실린/클라불란산(amoxicillin/clavulanic acid) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 페니실린 항생제;
- [132] 세파졸린(cefazolin), 세팔렉신(cephalexin), 세팔로틴(cephalothin), 세프트졸 (ceftezol), 세파제돈(cefazedone), 세파클러(cefaclor), 세파만돌(cefamandole), 세프메타졸(cefmetazole), 세포티암(cefotiam), 세푸록심(cefuroxime), 세포탁심(cefotaxime), 세프트리아손(ceftriaxone), 세프트아지딴(ceftazidime) 및 세페핌 (cefepime) 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 세팔로스포린계 항생제;
- [133] 아즈트레오남 (aztreonam) 등으로 이루어지는 모노박탐계 항생제; 또는

- [134] 이미페넴(imipenem), 이미페넴/실라스타틴(imipenem/cilastatin), 파로페넴(faropenem), 메로페넴(meropenem), 도리페넴(doripenem), 및 에르타페넴(ertapenem)로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 카바페넴계 항생제일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [135] 상기 제2 항생제는 클라불란산(clavulanic acid), 설박탐(sulbactam), 타조박탐(tazobactam) 등의 베타락탐 분해효소 억제제나, 실라스타틴과 조합하여 사용 시 향상된 항생 활성을 가질 수 있다.
- [136] 일 예에서, 상기 제2 항생제는 클라불란산(clavulanic acid), 설박탐(sulbactam), 타조박탐(tazobactam), 실라스타틴(cilastatin) 등의 물질과 조합하여 사용될 수 있으며, 예컨대 아목시실린/클라불란산(amoxicillin/clavulanic acid), 암피실린/설박탐(ampicillin/sulbactam), 피페라실린/타조박탐(piperacillin/tazobactam), 이미페넴/실라스타틴(imipenem/cilastatin) 등의 조합으로 사용될 수 있다. 이 때 상기 제2 항생제와 클라불란산(clavulanic acid), 설박탐(sulbactam), 타조박탐(tazobactam), 실라스타틴(cilastatin) 등은 중량 기준으로 1: 10 내지 0.1, 1: 9 내지 0.1, 1: 8 내지 0.1, 1: 7 내지 0.1, 1: 6 내지 0.1, 1: 5 내지 0.1, 1: 4 내지 0.1, 1: 3 내지 0.1, 1: 2 내지 0.1, 1: 10 내지 0.2, 1: 9 내지 0.2, 1: 8 내지 0.2, 1: 7 내지 0.2, 1: 6 내지 0.2, 1: 5 내지 0.2, 1: 4 내지 0.2, 1: 3 내지 0.2, 1: 2 내지 0.2, 1: 10 내지 0.5, 1: 9 내지 0.5, 1: 8 내지 0.5, 1: 7 내지 0.5, 1: 6 내지 0.5, 1: 5 내지 0.5, 1: 4 내지 0.5, 1: 3 내지 0.5, 1: 2 내지 0.5, 1: 10 내지 0.75, 1: 9 내지 0.75, 1: 8 내지 0.75, 1: 7 내지 0.75, 1: 6 내지 0.75, 1: 5 내지 0.75, 1: 4 내지 0.75, 1: 3 내지 0.75, 1: 2 내지 0.75, 1: 2, 1: 0.5 등 다양한 비율로 조합되어 사용될 수 있다.
- [137] 또한 상기 제2 항생제는 2종 이상의 제2 항생제를 조합하여 사용될 수 있으며, 상기 제2 항생제가 2종 이상 조합되어 사용되는 경우, 각 제2 항생제의 조합 비율은 중량 기준으로 1: 10 내지 0.1, 1: 9 내지 0.1, 1: 8 내지 0.1, 1: 7 내지 0.1, 1: 6 내지 0.1, 1: 5 내지 0.1, 1: 4 내지 0.1, 1: 3 내지 0.1, 1: 2 내지 0.1, 1: 10 내지 0.2, 1: 9 내지 0.2, 1: 8 내지 0.2, 1: 7 내지 0.2, 1: 6 내지 0.2, 1: 5 내지 0.2, 1: 4 내지 0.2, 1: 3 내지 0.2, 1: 2 내지 0.2, 1: 10 내지 0.5, 1: 9 내지 0.5, 1: 8 내지 0.5, 1: 7 내지 0.5, 1: 6 내지 0.5, 1: 5 내지 0.5, 1: 4 내지 0.5, 1: 3 내지 0.5, 1: 2 내지 0.5, 1: 10 내지 0.75, 1: 9 내지 0.75, 1: 8 내지 0.75, 1: 7 내지 0.75, 1: 6 내지 0.75, 1: 5 내지 0.75, 1: 4 내지 0.75, 1: 3 내지 0.75, 1: 2 내지 0.75, 1: 2, 1: 0.5 등 다양한 비율로 조합되어 사용될 수 있다.
- [138] 이와 같이, 항생제(제1 항생제)를 다른 항생제(제2 항생제)와 함께 병용함으로써, 세균의 항생제 감수성 증가 효과, 제1 항생제 자체의 정균작용에 의한 제2 항생제의 살균효과 상승 및 낮은 농도의 제2 항생제로도 우수한 항생 효과를 발휘할 수 있도록 하는 이점을 갖는다. 또는, 제1 항생제가 가지는 그람음성균의 퀵럼 센싱 억제 및/또는 생물막 형성 억제 및/또는 병독력 약화 효과로 인하여 제1 항생제와 제2 항생제의 병용 시 그람음성균에 대하여 항생 효과를 갖는 제2 항생제를 낮은 농도로도 우수한 항생 효과를 발휘할 수 있도록 하는 장점을 갖는다. 이

로 인하여, 높은 농도의 항생제 사용에 의한 독성(예컨대, 신장 독성, 간 독성 등) 등의 부작용을 감소시킬 수 있다. 또한, 다른 기전의 항생제 병용을 통한 항생제 내성균의 출현을 억제할 수 있다.

- [139] 본 명세서에서, 용어 "항생제"는 그람음성균에 대하여 성장 저해능(예컨대, 퀴럼센싱 억제능, 생물막 형성 억제능, 및/또는 병독력 약화능) 및/또는 사멸능을 갖는 모든 형태의 제제를 포괄하는 것으로, 특별한 언급이 없는 한, 항균제, 방부제, 살균제 등과 호환적으로 사용될 수 있다.
- [140]
- [141] 약학 조성물
- [142] 다른 양상은 상기 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [143] 다른 양상은 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 또는 치료 용도를 제공한다.
- [144] 다른 양상은 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [145] 다른 양상은 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 유효량을 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 또는 치료를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 또는 치료방법을 제공한다. 상기 방법은, 상기 투여하는 단계 이전에, 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료를 필요로 하는 대상을 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [146] 다른 양상은 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 또는 치료용 조성물의 제조에 사용하기 위한 용도를 제공한다.
- [147] 다른 예는 상기 화합물을 포함하는 신경세포 보호용 약학 조성물, 및/또는 신경세포 재생 또는 생성용 약학 조성물을 제공한다.

- [148] 다른 예는 상기 화합물을 신경세포 보호, 및/또는 신경세포 재생 (또는 생성)을 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 신경세포 보호 방법, 및/또는 신경세포 재생 또는 생성 방법을 제공한다.
- [149] 다른 양상은 상기 화합물의 신경세포 보호용 약학 조성물, 및/또는 신경세포 재생(또는 생성)용 약학 조성물의 제조에 사용하기 위한 용도를 제공한다.
- [150] 이하에서는, 특별히 한정하지 않는 한, 상기 약학적 조성물의 유효성분(활성성분)으로서 화학식 1의 화합물은 상기 화합물의 이성질체, 및 상기 화합물 또는 이성질체의 약학적으로 허용 가능한 염을 모두 포괄하는 의미이며, 이들 화합물, 이성질체, 및 염 모두가 본 출원의 범주에 포함되는 것으로 해석되어야 한다. 다만 편의를 위하여, 본 명세서에서는, 별도의 언급이 없는 한, 상기 약학적 조성물의 유효성분으로서의 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 편의상 '화학식 1의 화합물'로 간단히 표현한다.
- [151] 상기 인플라마좀 매개 질환은 앞에서 설명한 바와 같다.
- [152] 상기 약학적 조성물의 투여 대상은 인간, 원숭이 등의 영장류, 마우스, 래트 등의 설치류, 개, 고양이, 돼지, 소, 말, 양, 염소, 등의 가축류, 닭, 오리, 거위, 꿩, 메추리, 칠면조 등의 가금류 등을 포함하는 포유류에서 선택된 1종 이상, 또는 이들로부터 유래하는 세포, 조직, 또는 이들의 배양물일 수 있다. 예컨대 상기 투여 대상은 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료를 필요로 하는 대상일 수 있으며, 예컨대 인간일 수 있다.
- [153] 일 예에서 상기 투여 대상은 상기 환자는 신경퇴행성 질환을 앓고 있는 인간, 원숭이 등의 영장류, 래트, 마우스 등의 설치류를 포함하는 포유동물 또는 상기 포유동물로부터 분리된 세포 (뇌세포) 또는 조직 (뇌조직) 또는 이들의 배양물 중에서 선택될 수 있으며, 예컨대, 신경퇴행성 질환을 앓고 있는 인간 또는 이로부터 분리된 뇌세포, 뇌조직 또는 이들의 배양물 중에서 선택될 수 있다.
- [154] 상기 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 통상적인 의약품 제제의 형태로 제제화되어 사용될 수 있다. 예컨대, 상기 의약품 제제는 경구 투여 또는 비경구 투여를 위한 여러 가지 제제로 제조될 수 있으며, 상기 제제의 형태는 사용 방법, 투여 방법, 투여 목적 등에 따라 다양하게 결정될 수 있다. 경구 투여 또는 비경구 투여를 위한 여러 가지 제제로 제조되는 경우, 통상적으로 사용되는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제, 부형제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용하여 제제화할 수 있다.
- [155] 상기 약학적 조성물을 경구 투여하는 경우, 단백질 또는 펩타이드는 소화가 되기 때문에 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화 되어야 한다. 경구 투여를 위한 고형 제제로서 정제, 환제, 산제,

과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형 제제는 상기 유효성분과 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose), 젤라틴 등으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 혼합하여 제조할 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 또한, 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 포함될 수 있다. 상기 액상 제제로 제제화하는 경우, 통상적으로 사용되는 단순 희석제인 물, 및/또는 리퀴드 파라핀 등이 사용될 수 있으며, 임의로, 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면, 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이 추가로 포함될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

- [156] 상기 약학적 조성물을 비경구 투여하는 경우, 비경구 투여는 혈관 투여(예컨대, 동맥 투여, 정맥 투여 등), 환자의 병변 부위 (예컨대, 잇몸 등)에 주사(injection) 또는 삽입, 근육내 투여, 피하 투여, 복강내 투여, 비강내 투여, 경피 투여, 내피 투여, 국소 투여, 폐내 투여, 직장내 투여, 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입 등과 같은 임의의 편리한 경로에 의하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용액, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성 용액 제조를 위한 비수성용제, 또는 현탁제 제조를 위한 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 비강내 투여 시, 상기 약학적 조성물을 희석하여 분무기나 분무 시스템을 통해 비강으로 흡수되도록 하는 비강 분무제를 통하여 투여될 수 있으며, 상기 비강 분무를 위하여 비강 분무제 또는 호흡기용 제형으로는 에어로졸제 등을 사용할 수 있다.

- [157] 상기 약학적 조성물 내에 포함되는 유효성분의 함량은, 전체 약학적 조성물의 중량 기준으로, 0.01중량% 내지 99.9중량%, 0.01중량% 내지 90중량%, 0.01중량% 내지 80중량%, 0.01중량% 내지 70중량%, 0.01중량% 내지 60중량%, 0.01중량% 내지 50중량%, 0.01중량% 내지 40중량%, 0.01중량% 내지 30중량%, 1중량% 내지 99.9중량%, 1중량% 내지 90중량%, 1중량% 내지 80중량%, 1중량% 내지 70중량%, 1중량% 내지 60중량%, 1중량% 내지 50중량%, 1중량% 내지 40중량%, 1중량% 내지 30중량%, 5중량% 내지 99.9중량%, 5중량% 내지 90중량%, 5중량% 내지 80중량%, 5중량% 내지 70중량%, 5중량% 내지 60중량%, 5중량% 내지 50중량%, 5중량% 내지 40중량%, 5중량% 내지 30중량%, 10중량% 내지 99.9중량%, 10중량% 내지 90중량%, 10중량% 내지 80중량%, 10중량% 내지 70중량%, 10중량% 내지 60중량%, 10중량% 내지 50중량%, 10중량% 내지 40중량%, 또는 10중량% 내지 30중량%일 수 있으나, 이에 제한되지 않고 제제의 형태, 투여 방법, 투

여 목적 등에 따라서 적절히 조절할 수 있다. 또한, 상기 약학 조성물은, 상기 유효 성분 이외에, 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 단백질, 핵산, 또는 세포를 포함하는 약물의 제제화에 통상적으로 이용되는 것으로서, 생물체를 자극하지 않고 유효성분의 생물학적 활성 및/또는 특성을 저해하지 않는 담체를 의미할 수 있다. 일 예에서, 상기 담체는 락토스, 텍스트로스, 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, 미네랄 오일 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 약학 조성물은 약학 조성물 제조에 통상적으로 사용되는 희석제, 부형제, 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함할 수 있다.

- [158] 상기 약학적 조성물의 약학적 유효량은, 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 간격, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있으며, 하루 일회 내지 수회로 나누어 투여 또는 복용될 수 있으나, 이에 제한되지 않고 다양한 투여용량 및 방법으로 투여 가능하다. 일 예에서, 상기 약학적 조성물의 1회 투여량은 0.0001 내지 5000 mg/kg, 0.0001 내지 4000 mg/kg, 0.0001 내지 3000 mg/kg, 0.0001 내지 2500 mg/kg, 0.0001 내지 2000 mg/kg, 0.0001 내지 1500 mg/kg, 0.0001 내지 1000 mg/kg, 0.0001 내지 500 mg/kg, 0.0001 내지 100 mg/kg, 0.0001 내지 50 mg/kg, 0.0001 내지 10 mg/kg, 0.0001 내지 5 mg/kg, 0.0001 내지 1 mg/kg, 0.001 내지 5000 mg/kg, 0.001 내지 4000 mg/kg, 0.001 내지 3000 mg/kg, 0.001 내지 2500 mg/kg, 0.001 내지 2000 mg/kg, 0.001 내지 1500 mg/kg, 0.001 내지 1000 mg/kg, 0.001 내지 500 mg/kg, 0.001 내지 100 mg/kg, 0.001 내지 50 mg/kg, 0.001 내지 10 mg/kg, 0.001 내지 5 mg/kg, 0.001 내지 1 mg/kg, 0.01 내지 5000 mg/kg, 0.01 내지 4000 mg/kg, 0.01 내지 3000 mg/kg, 0.01 내지 2500 mg/kg, 0.01 내지 2000 mg/kg, 0.01 내지 1500 mg/kg, 0.01 내지 1000 mg/kg, 0.01 내지 500 mg/kg, 0.01 내지 100 mg/kg, 0.01 내지 50 mg/kg, 0.01 내지 10 mg/kg, 0.01 내지 5 mg/kg, 0.01 내지 1 mg/kg, 0.1 내지 5000 mg/kg, 0.1 내지 4000 mg/kg, 0.1 내지 3000 mg/kg, 0.1 내지 2500 mg/kg, 0.1 내지 2000 mg/kg, 0.1 내지 1500 mg/kg, 0.1 내지 1000 mg/kg, 0.1 내지 500 mg/kg, 0.1 내지 100 mg/kg, 0.1 내지 50 mg/kg, 0.1 내지 10 mg/kg, 0.1 내지 5 mg/kg, 0.1 내지 1 mg/kg, 1 내지 5000 mg/kg, 1 내지 4000 mg/kg, 1 내지 3000 mg/kg, 1 내지 2500 mg/kg, 1 내지 2000 mg/kg, 1 내지 1500 mg/kg, 1 내지 1000 mg/kg, 1 내지 500 mg/kg, 1 내지 100 mg/kg, 1 내지 50 mg/kg, 1 내지 10 mg/kg, 1 내지 5 mg/kg, 5 내지 5000 mg/kg, 5 내지 4000 mg/kg, 5 내지 3000 mg/kg, 5 내지 2500 mg/kg, 5 내지 2000 mg/kg, 5 내지 1500 mg/kg, 5 내지 1000 mg/kg, 5 내지 500 mg/kg, 5 내지 100 mg/kg, 5 내지 50 mg/kg, 5 내지 10 mg/kg, 10 내지 5000 mg/kg, 10 내지 4000 mg/kg, 10 내지

3000 mg/kg, 10 내지 2500 mg/kg, 10 내지 2000 mg/kg, 10 내지 1500 mg/kg, 10 내지 1000 mg/kg, 10 내지 500 mg/kg, 10 내지 100 mg/kg, 10 내지 50 mg/kg, 20 내지 5000 mg/kg, 20 내지 4000 mg/kg, 20 내지 3000 mg/kg, 20 내지 2500 mg/kg, 20 내지 2000 mg/kg, 20 내지 1500 mg/kg, 20 내지 1000 mg/kg, 20 내지 500 mg/kg, 20 내지 100 mg/kg, 20 내지 50 mg/kg, 50 내지 5000 mg/kg, 50 내지 4000 mg/kg, 50 내지 3000 mg/kg, 50 내지 2500 mg/kg, 50 내지 2000 mg/kg, 50 내지 1500 mg/kg, 50 내지 1000 mg/kg, 50 내지 500 mg/kg, 50 내지 100 mg/kg, 100 내지 5000 mg/kg, 100 내지 4000 mg/kg, 100 내지 3000 mg/kg, 100 내지 2500 mg/kg, 100 내지 2000 mg/kg, 100 내지 1500 mg/kg, 100 내지 1000 mg/kg, 100 내지 500 mg/kg, 200 내지 5000 mg/kg, 200 내지 4000 mg/kg, 200 내지 3000 mg/kg, 200 내지 2500 mg/kg, 200 내지 2000 mg/kg, 200 내지 1500 mg/kg, 200 내지 1000 mg/kg, 200 내지 500 mg/kg, 500 내지 5000 mg/kg, 500 내지 4000 mg/kg, 500 내지 3000 mg/kg, 500 내지 2500 mg/kg, 500 내지 2000 mg/kg, 500 내지 1500 mg/kg, 500 내지 1000 mg/kg, 1500 내지 5000 mg/kg, 1500 내지 4000 mg/kg, 1500 내지 3000 mg/kg, 1500 내지 2500 mg/kg, 1500 내지 2000 mg/kg, 2000 내지 5000 mg/kg, 2000 내지 4000 mg/kg, 2000 내지 3000 mg/kg, 또는 2000 내지 2500 mg/kg일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[159]

[160] 식품 조성물

[161] 다른 예는 상기 화합물을 포함하는 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방 및/또는 개선용, 신경세포 보호용, 및/또는 신경세포 재생 (또는 생성)용 식품 조성물을 제공한다. 상기 식품 조성물은 건강기능식품일 수 있다.

[162] 상기 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병은 앞에서 설명한 바와 같다.

[163] 일 예에 따른 식품 조성물은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강기능식품 및 건강 식품 등을 의미할 수 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[164] 상기 건강기능식품(functional food)이란, 특정보건용 식품(food for special health use, FoSHU)과 동일한 용어로, 영양 공급 외에도 생체조절기능이 효율적으로 나타나도록 가공된 의학, 의료효과가 높은 식품을 의미한다. 여기서 "기능"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 출원의 식품은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 출원의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리

식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 출원의 식품은 인플라마좀 매개 염증성 질환의 예방 또는 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

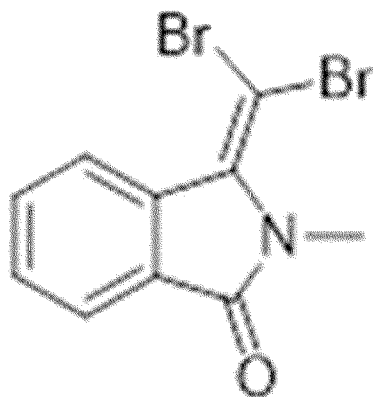
- [165] 상기 건강 식품(health food)은 일반 식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)은 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용될 수 있다.
- [166] 구체적으로, 상기 건강 기능 식품은 일 예에 따른 조성물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품 소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.
- [167] 일 예에 따른 식품 조성물은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 우수한 인플라마좀 매개 염증성 질환의 예방 또는 개선의 효과를 기대할 수 있으므로, 매우 유용하게 사용될 수 있다.
- [168] 상기 식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 또한, 상기 식품 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr), 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크롬(Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.
- [169] 또한, 상기 식품 조성물은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(둘신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.
- [170] 일 예에 따른 조성물은 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 출원의 식품 조성물은 식품 또는 음료에 대하여 50 중량부 이하, 구체적으로 20 중량부 이하의 양으로 첨가될 수

있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

- [171] 상기 식품 조성물의 일 예로 건강 음료 조성물로 사용될 수 있으며, 이 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드; 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.
- [172] 상기 외에 건강 음료 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 출원의 건강음료 조성물 100 중량부당 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.
- [173] 일 예에 따른 식품 조성물은 인플라마좀 매개 염증성 질환의 예방 또는 개선의 효과를 나타낼 수 있다면 다양한 중량%로 포함할 수 있다.
- [174]
- [175] 사료 조성물 등
- [176] 다른 예는 상기 화합물, 상기 항생제 또는 병용 항생제를 유효성분으로 포함하는 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방 및/또는 개선용, 신경세포 보호용, 및/또는 신경세포 재생 (또는 생성)용 사료 첨가제(사료 첨가용 조성물)를 제공한다.
- [177] 상기 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병은 앞에서 설명한 바와 같다.
- [178]
- [179] 다른 예는 상기 사료 첨가제를 포함하는 사료를 제공한다.
- [180] 상기 사료는 상기 항생제 또는 병용 항생제를 사료 첨가제 형태로 따로 제조하여 사료에 혼합하거나, 사료 제조 시 직접 첨가하여 제조할 수 있다.
- [181] 상기 사료 내 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제는 액상 또는 건조 상태일 수 있으며, 예컨대, 건조된 분말형태일 수 있다. 상기 항생제는 전체 사료 중량의 0.005 내지 10 중량%, 0.05 내지 10 중량%, 0.1 내지 10 중량%, 0.005 내지 5 중량%, 0.05 내지 5 중량%, 0.1 내지 5 중량%, 0.005 내지 2 중량%, 0.05 내지 2 중량%, 또는 0.1 내지 2 중량%의 양으로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 사료는 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제 외에 사료의 보존성을 높일 수 있는 통상의 첨가제들을 추가로 포함할 수 있다.

- [182] 본 명세서에서, 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제가 첨가될 수 있는 사료는 시판되는 사료, 또는 곡물류, 근과류, 식품가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류, 곡물부산물류, 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 단세포 단백질, 동물성 플랑크톤류, 남은 음식물 등으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [183] 다른 예는 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제를 유효성분으로 포함하는 식품 첨가제 또는 음용수 첨가제를 제공한다. 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제를 음용수에 혼합하여 공급함으로써, 음용수 내의 그람음성균의 숫자를 감소시킬 수 있다. 상기 그람음성균은 앞서 설명한 바와 같다.
- [184] 다른 예는 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제를 유효성분으로 포함하는 소독제를 제공한다. 다른 예는 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제를 소독이 필요한 대상에 적용하는 단계를 포함하는, 소독 방법을 제공한다. 상기 소독제는 병원균 감염을 막기 위한 제제를 충칭하는 것으로, 일반 생활 소독제, 식품 및 조리 장소 및 설비의 소독제, 양계장, 축사 등의 건물, 축체, 음수, 깔짚, 난좌, 운반 차량, 식기 등의 각종 생육 용품의 소독 등에 사용될 수 있다.
- [185] 다른 예는 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제를 유효성분으로 포함하는 세척제를 제공한다. 다른 예는 상기 화합물, 항생제 또는 병용 항생제를 세척이 필요한 대상에 적용하는 단계를 포함하는, 세척 방법을 제공한다. 상기 항생제가 그람음성균에 대하여 항생 효과를 가지므로, 그람음성균에 노출되었거나 노출될 가능성이 있는 개체의 피부 표면 또는 신체 각 부위 등을 세척(세정)하는 용도로 적용될 수 있다. 상기 그람음성균은 앞서 설명한 바와 같다.
- [186]
- [187] 제조방법
- [188] 다른 예에서, 화학식 1의 화합물의 제조 방법이 제공된다.
- [189] 일 예에서, 상기 제조방법은 아래의 화학식 4의 화합물에 페닐보론산 또는 이의 유도체 (예컨대, 페닐보론산 (phenylboronic acid, Cas No. 98-80-6), 4-메틸페닐보론산 (4-Methylphenylboronic Acid 또는 p-Tolylboronic acid, Cas No. 5720-05-8), 또는 4-메톡시페닐보론산 ((4-methoxyphenyl)boronic acid, Cas No. 5720-07-0))을 도입하여 화학식 1의 화합물을 제조하는 단계를 포함할 수 있다.
- [190] [화학식 4]

[191]



[192] 화학식 1의 화합물에서 "  "가 비치환된 C6의 아릴이고, R₃이 C1의 알킬

(메틸기)인 경우 상기 화학식 1의 화합물을 제조하는 단계는 상기 화학식 4의 화합물에 페닐보론산 (phenylboronic acid, Cas No. 98-80-6), 4-메틸페닐보론산 (4-Methylphenylboronic Acid 또는 p-Tolylboronic acid, Cas No. 5720-05-8), 또는 4-메톡시페닐보론산 ((4-methoxyphenyl)boronic acid, Cas No. 5720-07-0)을 반응시키는 단계에 의하여 수행될 수 있다.

[193] 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 화학식 1의 구조를 바탕으로 다양한 방법에 의해 화합물을 제조하는 것이 가능할 것이며, 이러한 방법들은 모두 발명의 범주에 포함되는 것으로 해석되어야 한다. 즉, 본 명세서에 기재되어 있거나, 선행기술에 게시된 여러 합성법들을 임의로 조합하여 본 발명의 범주내에서 상기 화학식 1의 화합물을 제조할 수 있다. 따라서 본 발명에 따른 제조 방법이 하기 제시된 것들로만 한정되는 것은 아니다.

[194]

발명의 효과

[195] 본 출원은 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이들의 인플라마좀 매개 질환; 및/또는 그람음성균의 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방, 개선, 및/또는 치료 용도 등에 관한 것으로, 세포 독성이 나타나지 않아 안전하고, 인플라마좀을 효과적으로 억제할 수 있어 상기 질병에 대한 예방, 개선, 및/또는 치료 효과가 우수하다.

[196]

도면의 간단한 설명

[197] 도 1 및 도 2는 실시예 1-1 내지 실시예 1-3의 화합물을 각각 진지발리스균(*P. gingivalis*)을 배양한 배지에 농도별로(2 μ M, 0.2 μ M, 0.02 μ M, 0.002 μ M) 처리하고 진지발리스균의 생물막 형성의 정도(O.D_{590nm})를 확인하여 그래프로 나타낸 것이다. "NT"는 아무 것도 처리하지 않는 군, "DPD"는 배양배지에 화합물 DPD를 처리하고 진지발리스균을 배양한 군, "CT"는 배양배지에 DPD 대신 PBS를 처리하

- 고 진지발리스균을 배양한 군, DPD+실시에 1-1, DPD+실시에 1-2, DPD+실시에 1-3은 DPD 및 실시에 화합물을 함께 처리한 군이다.
- [198] 도 3a 내지 도 3e는 실시에 1-2의 화합물과 비교예 화합물을 각각 진지발리스균 (*P. gingivalis*)을 배양한 배지에 농도별로(2 μ M, 0.2 μ M, 0.02 μ M, 0.002 μ M) 처리하고 진지발리스균의 생물막 형성의 정도($O.D_{590nm}$)를 확인하여 그래프로 나타낸 것이다.
- [199] 도 4a 내지 도 4d는 실시에 1-2의 화합물과 비교예 화합물의 인간 혈장 및 래트 혈장에서의 안정성을 나타내는 그래프이다.
- [200] 도 5a 내지 도 5c는 진지발리스균을 배양한 배지에 실시에 1-1 내지 1-3의 화합물을 각각 처리하고 진지발리스균이 생성하는 주요 병독력 인자이자 단백질 분해효소인 3가지 진지페인(gingipain) 단백질((Lysine-gingipain (Kgp), Arginine-gingipain A (RgpA), 및 Arginine-gingipain B (RgpB)))의 발현의 정도를 그래프로 나타낸 것이다. 진지페인 유전자의 발현 수준을 정규화(normalization)하기 위해 16s rRNA 유전자를 사용하였다. "control"은 아무 것도 처리하지 않은 군, "DPD"는 배양배지에 화합물 DPD를 처리하고 진지발리스균을 배양한 군, DPD +실시에 1-1, DPD+실시에 1-2는 DPD 및 실시에 화합물을 함께 처리한 군이다.
- [201] 도 6은 실시에 1-2의 화합물을 마우스 골수 유래 대식세포에 농도별로 (0.5 μ M 내지 16 μ M) 처리하여, 세포 독성 여부를 확인한 그래프이다. "Con"은 아무 것도 처리하지 않은 대조군이다.
- [202] 도 7a 내지 도 7d는 그람음성균에 실시에 화합물을 처리한 결과 실시에 화합물을 처리하지 않은 양성대조군(CT)와 비교하여 대장균의 생물막이 유의하게 억제됨을 나타낸다. (도 7a 및 7b: 대장균 (*E. coli*)에 대한 결과, 도 7c: 녹농균 (*P. aeruginosa*)에 대한 결과, 도 7d: 아시네토박테균 (*A. baumannii*)에 대한 결과)
- [203] 도 8은 대장균에 실시에 화합물과 항생제를 병용 처리한 결과 항생제를 단독 처리한 경우와 비교하여 항생제의 최소 생육 저해 농도가 현저하게 감소하였음을 나타낸다.
- [204] 도 9 및 도 10은 본원 화합물이 그람음성균의 생물막을 억제하는 모식도를 나타낸다.
- [205] 도 11은 진지발리스균(*P. gingivalis*) 감염 자극원에 의해 신경세포에 염증이 유도되어 세포가 손상되었으나, 실시에 화합물의 처리에 의하여 신경세포가 보호되는 것을 나타낸다.
- [206] 도 12 및 도 13은 진지발리스균(*P. gingivalis*) 감염 자극원에 의해 신경세포에서 염증성 사이토카인의 유전자 발현이 증가되었으나, 실시에 화합물의 처리에 의하여 신경 염증이 완화되었음을 보이는 그래프이다.
- [207] 도 14는 실시에 화합물이 신경세포에 대해 독성을 나타내지 않음을 보이는 그래프이다.
- [208] 도 15는 실시에 화합물을 수컷 랫드에 정맥주사하고, 혈액 샘플을 채취하여 시간에 따른 혈장 내 농도를 나타내는 그래프이다.

- [209] 도 16은 실시예 화합물을 수컷 랫드에 정맥주사하고, 뇌 샘플을 채취하여 시간에 따른 뇌 내 농도를 나타내는 그래프로, 실시예 화합물이 혈액을 통해 이동한 뒤 혈뇌장벽을 통과하여 뇌 내에 도달하므로, 표적부위인 뇌 내 병변에 작용하여 신경퇴행성 질환을 치료할 수 있음을 나타낸다.
- [210] 도 17은 실시예 화합물을 마우스 골수 유래 대식세포에 처리하고 대식세포의 염증성 사이토카인(IL-1 β)의 생성 변화를 측정한 결과, 대식세포에서 유도된 염증반응이 실시예 화합물에 의해 억제됨을 나타내는 그래프이다.
- [211] 도 18은 실시예 화합물이 마우스 골수 유래 대식세포에서 세포 독성을 나타내지 않음을 보이는 그래프이다.
- [212] 도 19는 실시예 화합물이 인간 단핵구 세포주에서 세포 독성을 나타내지 않음을 보이는 그래프이다.

[213]

발명의 실시를 위한 형태

[214]

- [215] 이하 본 발명을 다음의 실시예에 의하여 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 그러나 이들은 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[216]

- [217] 실시예 1. 화합물의 제조

[218]

- [219] 실시예 1-1. 3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온의 제조

[220]

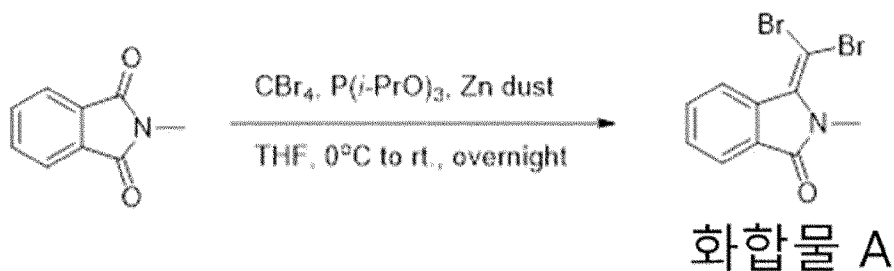
- [221] 실시예 1-1의 화합물 (3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온 {3-(diphenylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one} (CAS No. 92172-54-8))은 아래 단계를 수행하여 제조하였다.

[222]

- [223] 단계 1: 화합물 A의 제조

[224] [반응식 1]

[225]



- [226] Zn 분진 (Cas No. 7440-66-6, sigma aldrich) (490 mg, 7.50 mmol)을 함유하는 10 mL의 THF (Cas No. 109-99-9, sigma aldrich) 중에 트리이소프로필포스파이트 (P(i-PrO)₃, Triisopropylphosphite, Cas No. 116-17-6, sigma aldrich) (2.7 ml, 11.00

mmol)를 Ar (Cas No. 7440-37-1, 성광특수가스) 하에서 0 °C로 냉각시켰다. THF 중 CBr₄ (Cas No. 558-13-4, TCI) (2.49 g, 7.50 mmol)의 용액을 P(i-PrO)₃의 용액에 천천히 첨가하고, 반응물을 색이 황색으로 변할 때까지 교반하였다. 이어서, THF 중 N-메틸프탈이미드 무수물 (N-Methylphthalimide, Cas No. 550-44-7, sigma aldrich) (806 mg, 5.00 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. sat. aq NaHCO₃ 용액 (Cas No. 144-55-8, 삼전화학) (2.5 mL)을 첨가하여 퀀칭시킨 후, 이어서 상을 분리시키고, 에테르로 조 생성물을 수성층으로부터 추출하였다. 잔류물을 에테르에 용해시키고 셀라이트 패드로 여과시켰다. 생성된 여액을 회전 증발에 의해 농축시키고, 컬럼 크로마토그래피 (헥산 중 50 % DCM(dichloromethane))로 정제하여, 화합물 A를 수득하였다.

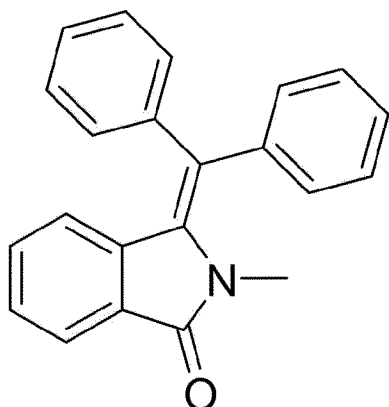
[227]

[228] **단계 2: 실시예 1-1의 화합물 제조**

[229] 아르곤 대기하에, 상기 단계 1에서 제조한 화합물 A (158 mg, 0.5 mmol), Na₂CO₃ (212 mg, 2 mmol), Pd(OAc)₂ (Cas No. 3375-31-3, TCI) (22 mg, 0.1 mmol), PPh₃ (Cas No. 603-35-0, TCI) (52 mg, 0.2 mmol), H₂O (2 ml) 및 THF (8 ml)를 쉬링크(Schlenk) 튜브에 첨가하였다. 페닐보론산 (phenylboronic acid, Cas No. 98-80-6, TCI) (1.2 mmol)을 교반 혼합물에 첨가한 다음, 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM (Cas No. 75-09-2, sigma aldrich) (10 mL)으로 추출하고, 염수로 세척하고, MgSO₄ (Cas No. 10034-99-8, 삼전화학)로 건조시키고, 여과시켰다. 조 생성물을 실리카 겔상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 실시예 1-1의 화합물을 수득하였다.

[230] [실시예 1-1의 화합물]

[231]



[232]

[233] **실시예 1-2. 3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온의 제조**

[234]

[235] 실시예 1-2의 화합물 (3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(di-p-tolylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one})은 아래 단계를 수행하여 제조하였다.

[236]

[237] 단계 1: 화합물 A의 제조

[238] 상기 실시예 1-1의 단계 1과 동일하게 수행하여 화합물 A를 제조하였다.

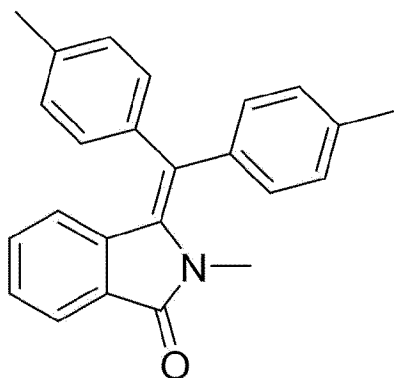
[239]

[240] 단계 2: 실시예 1-2의 화합물 제조

[241] 아르곤 대기하에, 상기 단계 1에서 제조한 화합물 A (158 mg, 0.5 mmol), Na_2CO_3 (212 mg, 2 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (22mg, 0.1 mmol), PPh_3 (52 mg, 0.2 mmol), H_2O (2ml) 및 THF (8 ml)를 쉬링크(Schlenk) 튜브에 첨가하였다. 4-메틸페닐보론산 (4-Methylphenylboronic Acid 또는 p-Tolylboronic acid, Cas No. 5720-05-8, TCI) (1.2 mmol)을 교반 혼합물에 첨가한 다음, 혼합물을 실온에서 24 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM (10 mL)으로 추출하고, 염수로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시켰다. 조 생성물을 실리카 겔상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 실시예 1-2의 화합물을 수득하였다.

[242] [실시예 1-2의 화합물]

[243]



[244]

[245] 실시예 1-3. 3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온의 제조

[246]

[247] 실시예 1-3의 화합물 (3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(bis(4-methoxyphenyl)methylene)-2-methylisoindolin-1-one})은 아래 단계를 수행하여 제조하였다.

[248]

[249] 단계 1: 화합물 A의 제조

[250] 상기 실시예 1-1의 단계 1과 동일하게 수행하여 화합물 A를 제조하였다.

[251]

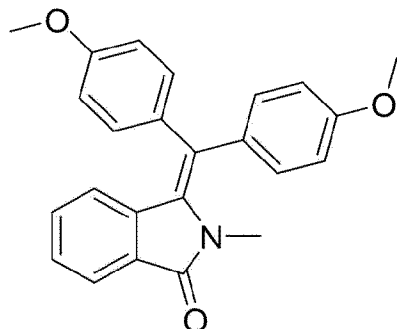
[252] 단계 2: 실시예 1-3의 화합물 제조

[253] 아르곤 대기하에, 상기 단계 1에서 제조한 화합물 A (158 mg, 0.5 mmol), Na_2CO_3 (212 mg, 2 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (22 mg, 0.1 mmol), PPh_3 (52 mg, 0.2 mmol), H_2O (2ml) 및 THF (8 ml)를 쉬링크(Schlenk) 튜브에 첨가하였다. 4-메톡시페닐보론산 ((4-methoxyphenyl)boronic acid, Cas No. 5720-07-0, TCI) (1.2 mmol)을 교반 혼합물에 첨가한 다음, 혼합물을 실온에서 24 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM

(10 mL)으로 추출하고, 염수로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시켰다. 조 생성물을 실리카 겔상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 실시예 1-3의 화합물을 수득하였다.

[254] [실시예 1-3의 화합물]

[255]



[256]

[257] 비교예 화합물 DPD의 제조

[258]

[259] 아래 실험예에서 사용한 화합물 DPD(4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione, CAS NO. 142937-55-1)는 아래 단계 1 내지 단계 5를 수행하여 제조하였다 (Molecules. 2018 Oct; 23(10): 2545. 참조).

[260]

[261] 단계 1: 무수한 (t-butyl)dimethylsilyloxy)acetaldehyde (1.0 eq)의 THF 용액안에 0 °C에서 1-propynylmagnesium bromide (0.5 M in THF, 1.3 eq)를 천천히 첨가하였다. 실온에서 3시간동안 교반하였다. 반응물 용액을 회전 증발에 의해 농축시킨 다음에 냉각한 NH_4Cl 포화용액을 첨가하여 퀀칭시켰다. 이어서 반응 혼합물을 Et_2O 으로 추출하고, 염수로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과시켰다. 노란색 오일형태 물질 1을 얻었다.

[262]

[263] 단계 2: 얻은 물질 1(1.0 eq)을 MeOH에 녹여서 Dowex50WX8 100-200 mesh (100 mg/1 mL)를 첨가하여 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 생산물을 여과하여 물질 2를 얻었다.

[264]

[265] 단계 3: 얻은 물질 2(1.0 eq)에다가 cyclohexanone dimethyl ketal (3.0 eq)과 촉매 p-TSA를 첨가하여 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응물 용액을 회전 증발에 의해 농축시킨 다음에 다시 Et_2O 에 녹여서 NaHCO_3 로 세척하고, MgSO_4 로 건조시키고, 여과하여 물질 3을 얻었다.

[266]

[267] 단계 4: 얻은 물질 3은 1:1:1 의 $\text{CHCl}_3/\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ 용액에 넣고 NaIO_4 (4.4 eq)과 $\text{RuO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2.5% mol)를 첨가하여 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응물 용

액을 회전 증발에 의해 농축시킨 다음에 DCM로 추출하고, MgSO₄로 건조시켜 물질 4를 얻었다.

[268]

[269] 단계 5: 얻은 물질 4를 MeOH에 넣어서 Dowex 50WX8 resin를 첨가하여 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 여과시킨 다음에 화합물 DPD를 얻었다.

[270]

[271] 실시예 2. 진지발리스균(*P. gingivalis*)의 생물막 형성 억제 효과

[272]

[273] 상기 실시예 1-1 내지 1-3의 화합물의 진지발리스균(포르피로모나스 진지발리스, *Porphyromonas gingivalis*)의 생물막 형성 억제 효과를 확인하였다.

[274]

[275] 진지발리스균(*P. gingivalis*, 한국구강미생물자원센터(KCOM)에서 분양받아 사용)을 배양한 배지에 실시예 1-1 내지 1-3의 화합물을 각각 처리하고, 진지발리스균의 생물막 형성의 정도를 확인하였다.

[276]

[277] 세포 배양 판(24 웰 플레이트)에 멸균된 커버 유리 슬립(둥근 모양, 12 mm 반지름)을 핀셋을 이용해 각 웰 바닥에 한 장씩 깔고, 진지발리스균(*P. gingivalis*)이 배양될 배지(BHI 배지 + 보충제)에 세균 간 신호물질 AI-2(Autoinducer-2)의 전구체인 DPD(4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione, CAS NO. 142937-55-1)를 10 µM 되도록 첨가하였다(상기 배지의 성분인 BHI는 Brain Heart Infusion Medium이며, 보충제로는 헤민 (10 µg/ml)과 비타민 K (0.2 µg/ml)가 사용되었다.). 세균은 DPD를 퀴럼 센싱에 이용하면서 세균의 생물막 형성이 증가되는 것으로 알려져 있다. DPD가 포함된 배지에 실시예 화합물(실시예 1-1 내지 1-3의 화합물)을 각각 희석하여, 화합물의 최종 농도가 각각 0.002 µM, 0.02 µM, 0.2 µM, 2 µM 이 되도록 제조하였다.

[278]

[279] 만들어진 배양액을 유리 슬립이 깔린 세포 배양판에 분주하고 세균을 2×10^8 cell/ml 이 되도록 접종하였다. 실시예 화합물을 처리하지 않은 양성대조군(DPD)의 경우 배지(BHI 배지 + 보충제)에 DPD를 첨가한 뒤, 동일 수의 세균을 접종하였다. 실시예 화합물과 DPD를 모두 처리하지 않은 음성대조군(CT)의 경우, 배양 배지(BHI 배지 + 보충제)에 DPD 대신 PBS(Phosphate Buffered Saline)를 동일한 양만큼 넣어주었다. 완성된 세포 배양판은 37 °C, 혐기성 조건(10% H₂, 10% CO₂ 및 80% N₂)에서 48 시간 동안 유지시키며 세균을 배양하였다.

[280]

[281] 각 그룹별로 배양된 세균들이 유리 슬립에 형성한 생물막(Biofilm)은 1% 크리스탈 바이올렛(crystal violet) 용액으로 15분 동안 염색시킨 후, PBS(Phosphate buffered saline) 용액으로 3번 세척한 후 아세톤-알콜(20:80, vol/vol)로 탈색하였다.

크리스탈 바이올렛을 포함한 탈색용액을 그룹별로 마이크로플레이트에 200 μ l 씩 담은 후 흡광 마이크로플레이트 리더기(Absorbance Microplatereader, Epoch2, Bio-Tek, USA)를 사용하여 흡광도(OD_{590nm})를 측정하고 그룹별로 비교 및 분석하였다. 그 결과를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[282]

[283] 도 1 및 도 2에 나타난 바와 같이, 진지발리스균을 배양하지 않은 배지(NT)에는 생물막 형성이 보이지 않았다. 배지에 PBS를 넣어 진지발리스균을 배양한 배지(CT)와 비교하여, 배지에 DPD를 넣어 진지발리스균을 배양한 배지(DPD)의 경우, 퀴럼센싱 작용을 통해 진지발리스균의 생물막 형성이 유의하게 증가하였다. 배지에 DPD와 실시예 화합물을 함께 넣어 진지발리스균을 배양한 배지(DPD+실시예 1-1, DPD+실시예 1-2, DPD+실시예 1-3)의 경우, DPD에 의하여 증가된 진지발리스균의 생물막이 실시예 화합물의 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인하였다.

[284]

[285] 비교실험

[286] 상기 실시예 1-1 내지 실시예 1-3의 화합물이 비교예 화합물보다 우수한 효과가 있음을 입증하기 위하여, 아래와 같은 실험을 수행하였다. 비교예 화합물은 한국 특허공개공보 (KR 10-2019-0130983 A)의 <실시예 1>의 화합물 ((Z)-3-(브로모(페닐)메틸렌)이소벤조퓨란-1(3H)-온)을 사용하였다.

[287]

[288] **1. 진지발리스균 (*P. gingivalis*)의 생물막 형성 억제 효과**

[289]

[290] 실시예 1-2의 화합물과 비교예 화합물의 포르피로모나스 진지발리스 균의 생물막 형성 억제 효과를 확인하였다. 실험과정은 실험예 1과 동일한 방법으로 진행하였으며, 실험결과를 도 3a 내지 도 3e에 나타내었다.

[291]

[292] 도 3a 내지 도 3e에서 확인할 수 있는 바와 같이, 진지발리스균을 배양하지 않은 배지(NT)에는 생물막 형성이 보이지 않았다. 배지에 PBS를 넣어 진지발리스균을 배양한 배지(CT)와 비교했을 때, 배지에 DPD를 넣어 진지발리스균을 배양한 배지(DPD)의 경우에서 퀴럼센싱 작용을 통해 진지발리스균의 생물막 형성이 유의하게 증가하였다. 배지에 DPD와 화합물을 함께 넣어 진지발리스균을 배양한 배지(DPD+비교예, DPD+실시예 1-2)의 경우, DPD에 의하여 증가된 진지발리스균의 생물막이 화합물의 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인하였으며, 동일 농도에서의 진지발리스균의 생물막 형성 억제능 비교에서 비교예 화합물에 비해 실시예 1-2 화합물의 생물막 형성 억제능이 더 좋은 것을 확인하였다.

[293]

[294] **2. 혈장안정성**

[295]

[296] 실시예 1-2의 화합물과 비교예 화합물의 인간 혈장 및 래트 혈장에서의 혈장안정성을 비교하였다.

[297]

[298] **1) 시료준비**

[299] 실시예 1-2의 화합물 및 비교예 화합물과, 양성대조군으로 사용되는 물질 (Eucatropine, Loterpresnol)을 DMSO에 녹여 10 mM 농도의 표준원액(stock solution)으로 만들었다. 그 후 각 시험물질의 표준원액을 희석하여 0.2 mM와 1 mM의 표준용액(working solution)으로 제조한 뒤 시험에 사용하였다 (비교예 화합물의 경우 70% acetonitrile, 실시예 1-2의 화합물의 경우 50% acetonitrile을 용매로 사용).

[300]

[301] **2) 시험방법**

[302] 양성대조군과 시험물질 표준용액을 2종(인간, 래트)의 혈장(plasma)이 각각 1 μ M, 5 μ M의 농도로 포함된 튜브(tube)에 넣은 후, 37 °C에서 시간(0, 30, 60, 120, 240 minutes)에 따라 흔들어 섞어주면서 배양하였다. 각 시간마다 혼합액 샘플을 반응 종료액(quench reagent)이 400 μ l이 포함된 세포배양판(96 well plate)에 100 μ l씩 분주하여 시험을 종료시키고, 원심분리(5000 x g, 10 min)한 후 상층액을 100 μ l 건어내어 200 μ l의 고순도수(ultrapure water)와 섞어준 뒤 해당 용액을 LC-MS/MS 시스템에 주입하여 각 시간대의 약물을 분석함으로써 비교예와 실시예 1-2의 화합물에 대한 혈장안정성을 평가하였다.

[303]

[304] **3) 시험결과**

[305] 인간 혈장에서의 안정성을 나타내는 결과를 도 4a(실시예 1-2의 화합물) 및 도 4b(비교예 화합물)에, 래트 혈장에서의 안정성을 나타내는 결과를 도 4c(실시예 1-2의 화합물) 및 도 4d(비교예 화합물)에 나타내었다.

[306]

[307] 도 4a 내지 도 4d에서 확인할 수 있는 바와 같이, 비교예 화합물은 인간 혈장 및 래트 혈장에서 시간이 흐름에 따라 혈장에 남아있는 화합물의 양이 감소하였으나 (도 4b, 도 4d), 실시예 1-2의 화합물은 혈장에 안정적으로 남아있는 것을 확인하였다 (도 4a, 도 4c).

[308]

[309] **실시예 3. 진지발리스균(*P. gingivalis*)의 진지페인 발현 억제 효과**

[310]

[311] 진지발리스균을 배양한 배지에 실시예 화합물을 각각 처리하고, 진지발리스균이 생성하는 주요 병독력 인자이자 단백질 분해효소인 3가지 진지페인(gingipain) 단백질((Lysine-gingipain (Kgp), Arginine-gingipain A (RgpA), 및 Arginine-gingipain B (RgpB))의 발현의 정도를 확인하였다.

[312]

- [313] 세균 간 신호물질(Autoinducer-2)의 전구체인 DPD (4,5-dihydroxy -2,3- pentane dione) 10 μ M 과 실시예 화합물 2 μ M을 포함하거나 또는 실시예 화합물을 포함 하지 않은 배양액을 세포배양판(48 웰 플레이트)에 각 분주한 뒤, 진지발리스균 (2×10^8 cell/ml)을 균별로 접종하였고, 세균이 접종된 배양액은 37 °C 혐기성 조건 (10% H₂, 10% CO₂ 및 80% N₂)에서 48시간 동안 배양하였다.
- [314] 48시간 후 각 배양액을 13,000 rpm에서 1분 동안 원심분리하여 상층액을 제거 하고, easy-BLUE™ Total RNA Extraction kit (iNtRON Biotechnology, Sungnam, Korea)를 이용하여 total RNA를 추출 후, cDNA를 합성한 뒤 real-time PCR 기법으 로 진지페인 유전자의 발현을 확인하였다. cDNA는 AccuPower® CycleScript RT PreMix dN6 (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용해 합성하였고, Power SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 정량적 역전사 중합효소 연쇄반응(Real-time (quantitative) reverse transcription PCR, RT-qPCR)을 실시하였다.
- [315] 증폭에 사용한 primer sequence는 아래 표 1에 나타내었으며 RT-qPCR 증폭 조건은 95 °C에서 3분간 효소를 활성화(enzyme activation)한 후, 95°C에서 10초 간 변성(denaturation), 60 °C에서 30초간 프라이머 결합(annealing) 과정을 40회 반복하였고, Bio-Rad CFX Connect Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용해 분석하였다. 진지페인 유전자의 발현 수준을 정 규화(normalization)하기 위해 16s rRNA 유전자를 사용하였으며 Comparative Ct Method($\Delta\Delta C_t$)를 이용하여 유전자 발현량을 계산하여 이를 도 5a 내지 도 5c에 나 타내었다.

[316]

[317] [표1]

유전자	프라이머 시퀀스
Lysine-gingipain (Kgp)	fwd: 5'-CAACCAAAGCCAAGAAGA-3' (서열번호 1) rev: 5'-CGAAGCTGAAGTAGGAAC-3' (서열번호 2)
Arginine-gingipain A (RgpA)	fwd: 5'-GCTCTTTCCATAAACGTAAG-3' (서열번호 3) rev: 5'-GACACTCGTGAGATGAAG-3' (서열번호 4)
Arginine-gingipain B (RgpB)	fwd: 5'-CTTCCACTTTTCACATCCTTTA-3' (서열번호 5) rev: 5'-CTGACGATGGTGATATGG-3' (서열번호 6)
16s rRNA	fwd: 5'-ACGAGTATTGCATTGAATG-3' (서열번호 7) rev: 5'-ACCCTTTAAACCCAATAAATC-3' (서열번호 8)

- [318] 도 5a 내지 도 5c에 나타난 바와 같이, 아무것도 처리하지 않은 균(control, 대조 균)과 비교하여, AI-2의 전구체인 DPD를 처리한 균(DPD)의 경우 진지발리스균 이 퀴럼센싱 신호분자를 인식하여 3가지 진지페인 유전자(*rgpA*, *rgpB*, *kgp*)의 발 현량이 모두 대조균보다 증가하였다. DPD와 실시예 화합물을 각각 함께 처리한

균(DPD+실시에 1-1, DPD+실시에 1-2)의 경우, DPD에 의해 증가된 3가지 진지페인 유전자의 발현량이 감소하는 것을 확인하였다.

[319]

[320] 실시예 4. 세포 독성 평가

[321]

[322] 실시예 화합물이 마우스 골수유래 대식세포에서 세포 독성을 나타내는지 여부를 평가하였다.

[323]

[324] 8-12주령 C57BL/6J 마우스 (입수처: 대한바이오링크)의 넓다리뼈 및 정강뼈에서 26 g 주사기를 이용하여 골수를 분리하였고, 분리한 골수는 150 μ l 세포배양 plate에서 IMDM media + 30% L929 cell supernatant + 10% fetal bovine serum + 1% penicillin/streptomycin + 1% non-essential amino acid + 1% sodium pyruvate 조성의 배지로 6일 동안 대식세포로 분화시킨 후 실험에 사용하였다.

[325]

[326] 분화된 대식세포는 1x10⁶ cell/ml의 농도로 48 well plate에 200 μ l씩 seeding 하고 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 12시간 동안 안정화하였다. 배양한 세포의 상층액을 제거한 후 Serum free 배지에 실시예 2의 화합물은 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 μ M 농도로 희석하여 200 μ l씩 처리하고 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 동안 배양하였다.

[327]

이후 배양한 세포의 상층액을 제거하고 400 μ g/ml 농도의 MTT 용액을 200 μ l 처리한 후 7 °C, 5% CO₂ 조건에서 4 시간 반응하였다. 이후 반응액을 제거하고 DMSO를 200 μ l 첨가, 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때, 아무것도 처리하지 않은 세포의 세포 생존율을 100% 기준으로 하여, 시료를 처리한 세포의 생존율을 계산하여 도 6에 나타내었다.

[328]

[329] 도 6에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실시예 1-2의 화합물은 마우스 골수유래 대식세포에서 16 μ M 이하의 농도에서는 세포 독성을 나타내지 않는 것을 확인하였다.

[330]

[331] 실시예 5. 대장균(*E. coli*), 녹농균(*P. aeruginosa*), 아시네토박터균(*A. baumannii*)의 생물막 형성 억제 효과

[332]

[333] 1) 대장균 생물막 형성 억제 효과

[334]

실시예 1-2의 화합물의 대장균(*E. coli*) (KCTC 2571(ATCC 8739); 한국구강미생물자원센터(KCOM)에서 입수)의 생물막 형성 억제 효과를 확인하였다.

[335]

[336] 세포 배양 판(24 웰 플레이트)에 멸균된 커버 유리 슬립(둥근 모양, 12 mm 반지름)을 핀셋을 이용해 각 웰 바닥에 한 장씩 깔고, 세균이 배양될 배지(LB배지)에

상기 실시예 1-2의 화합물을 최종 농도가 0.006 µg/ml, 0.06 µg/ml, 0.6 µg/ml, 1.2 µg/ml, 2.4 µg/ml, 4.8 µg/ml 이 되도록 희석하였다.

[337] 만들어진 배양액을 유리 슬라이드가 깔린 세포 배양판에 분주하고 대장균을 2×10^7 cell/ml이 되도록 접종하였다. 상기 화합물을 처리하지 않는 양성대조군(CT)의 경우 상기 화합물이 포함되지 않은 배지(LB)에 동일한 수의 균만 접종했다. 상기 화합물과 세균을 모두 처리하지 않은 음성대조군(NT)의 경우 배지(LB 배지)만 단독으로 처리하였다. 완성된 세포 배양판은 37 °C, 혐기성 조건(10% H₂, 10% CO₂ 및 80% N₂)에서 48 시간 동안 유지시키며 세균을 배양하였다.

[338] 각 그룹별로 배양된 세균들이 유리 슬라이드에 형성한 생물막(Biofilm)은 1% 크리스탈 바이올렛(crystal violet) 용액으로 15분 동안 염색시킨 후, PBS(Phosphate buffered saline) 용액으로 3번 세척한 후 아세톤-알콜(20:80, vol/vol)로 탈색하였다. 크리스탈 바이올렛을 포함한 탈색용액을 그룹별로 96 웰 마이크로플레이트에 200 µl 씩 담은 후 흡광 마이크로플레이트 리더기(Absorbance Microplatereader, Epoch2, Bio-Tek, USA)를 이용하여 흡광도(OD_{590nm})를 측정하고 생물막 형성도를 비교하였으며 그 결과를 도 7a 및 7b에 나타내었다.

[339]

[340] **2) 녹농균, 아시네토박터균 생물막 형성 억제 효과**

[341] 실시예 1-2의 화합물의 녹농균(*P. aeruginosa*) (입수처: 한국구강 한국구강미생물자원센터(KCOM))와 아시네토박터균(*A. baumannii*) (입수처: 한국미생물보존센터(KCCM))의 생물막 형성 억제 효과를 확인하였다.

[342] 세포 배양 판(24 웰 플레이트)에 멸균된 커버 유리 슬라이드(둥근 모양, 12 mm 반지름)를 핀셋을 이용해 각 웰 바닥에 한 장씩 깔고, 세균이 배양될 배지(녹농균: LB배지, 아시네토박터균: NB배지)에 상기 실시예 1-2의 화합물을 최종 농도가 0.006 µg/ml, 0.06 µg/ml, 0.6 µg/ml 이 되도록 희석하였다.

[343] 만들어진 배양액을 유리 슬라이드가 깔린 세포 배양판에 분주하고 각 세균을 2×10^7 cell/ml이 되도록 접종하였다. 상기 화합물을 처리하지 않는 양성대조군(CT)의 경우 상기 화합물이 포함되지 않은 배지(LB 또는 NB)에 동일한 수의 균만 접종했다. 상기 화합물과 세균을 모두 처리하지 않은 음성대조군(NT)의 경우 배지(LB 또는 NB)만 단독으로 처리하였다. 완성된 세포 배양판은 37 °C, 혐기성 조건(10% H₂, 10% CO₂ 및 80% N₂)에서 48 시간 동안 유지시키며 세균을 배양하였다.

[344] 각 그룹별로 배양된 세균들이 유리 슬라이드에 형성한 생물막(Biofilm)은 1% 크리스탈 바이올렛(crystal violet) 용액으로 15분 동안 염색시킨 후, PBS(Phosphate buffered saline) 용액으로 3번 세척한 후 아세톤-알콜(20:80, vol/vol)로 탈색하였다. 크리스탈 바이올렛을 포함한 탈색용액을 그룹별로 96 웰 마이크로플레이트에 200 µl 씩 담은 후 흡광 마이크로플레이트 리더기(Absorbance Microplatereader,

Epoch2, Bio-Tek,USA)를 이용하여 흡광도(OD_{590nm})를 측정하고 생물막 형성도를 비교하였으며 그 결과를 도 7c 및 도 7d에 나타내었다.

[345]

[346] 상기 도 7a 내지 도 7d에서 확인할 수 있는 바와 같이, 배양 48시간 후 각 세균(대장균, 녹농균, 아시네토박터균)의 생물막(biofilm)이 대조군(CT)에서는 증가했으나 실시예 1-2의 화합물을 처리한 그룹의 경우 생물막이 농도의존적으로 유의하게 억제됨을 확인할 수 있었다.

[347]

[348] 실시예 6. 대장균(*E.coli*)에 대한 항생제 병용효과

[349]

[350] 세포배양판(96 웰 플레이트)에 대장균의 배양배지(LB)를 100 μ l씩 분주한 뒤, 대조군으로는 3가지 항생제(이미페넴(Imipenem; IPM, Sigma-Aldrich), 메로페넴(Meropenem; MEM, Sigma-Aldrich), 세프트리악손(Ceftriaxone; CRO, Sigma-Aldrich))를 각각 최종 농도 0.0312 μ g/ml 내지 32 μ g/ml 이 되도록 첨가하여 연속 희석해 주었다. 상기 실시예 1-2의 화합물 처리에 의해 항생제의 효능이 증가하는지 확인하기 위하여 실험군에는 각 항생제 희석액에 실시예 1-2의 화합물이 1 μ g/ml 포함되도록 혼합하였다. 대조군 및 실험군의 최종 볼륨은 200 μ l이 되도록 하고 각 웰에 대장균을 1×10^5 cell/ml 으로 접종한 뒤 37°C에서 24 내지 48시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 흡광 마이크로플레이트 리더기(Absorbance Microplatereader, Epoch2, Bio-Tek,USA)를 이용하여 각 웰의 흡광도(OD_{600nm})를 측정하여 대조군과 실험군의 최소 생육 저해 농도를 비교해 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[351]

[352] 도 8에서 확인할 수 있는 바와 같이, 대장균에 대한 3가지 항생제(Imipenem(IPM), Meropenem(MEM), Ceftriaxone(CRO))의 최소 생육 저해 농도가 실시예 화합물에 의해 20% 내지 50% 이상 감소하였다. 이를 통해 항생제를 단독으로 처리했을 때에 비해 본원발명의 실시예 화합물의 병용 처리시 기존 항생제의 효능이 향상되었음을 확인하였다.

[353]

[354] 실시예 7. 신경세포 염증억제 및 보호효과 확인

[355]

[356] 세포 배양 판(6 웰 플레이트)에 사람 신경모세포종(SH-SY5Y 세포)(입수처: 한국세포주은행)를 3×10^6 cell/well로 처리해준 후 24시간 동안 37 °C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 세포배양판에 부착된 신경세포에 음성 대조군은 배양배지만 3 ml 처리하였고, 양성 대조군으로는 진지발리스균(*P. gingivalis*)(한국구강미생물자원센터(KCOM)에서 분양받아 사용)을 감염비율 500(MOI500)로 접종하였다. 실시예 화합물의 신경세포 염증 완화 효과를 확인하기 위해 실험군으로는 동

일한 수의 진지발리스균 접종 후 실시예 1-2의 화합물을 1 µg/ml (2.95 µM)이 되도록 배지에 희석하여 처리하였다.

[357] 각 그룹별 완성된 세포배양판은 24시간동안 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양이 끝난 뒤 군별로 광학현미경 분석을 통해 염증반응에 의한 신경세포의 형태(Morphology)변화를 확인하였고 그 결과는 도 11에 나타내었다.

[358]

[359] 도 11에서 확인할 수 있는 바와 같이, 진지발리스균(*P. gingivalis*) 감염 자극원에 의해 염증이 유도된 신경세포에서는 세포의 형태가 변형되는 등 세포의 손상이 확인되었으나 실시예 화합물의 처리에 의해 신경세포가 보호되는 것을 확인하였다.

[360]

[361] **Real-time PCR 분석**

[362] 광학현미경 분석이 끝난 후 세포배양판에서 상층액은 제거하고, 남아있는 세포에 대해 Real-time PCR 분석을 통해 각 군별로 신경세포 내 염증성 사이토카인 레벨을 분석하였다. 군별로 easy-BLUE™ Total RNA Extraction kit (iNtRON Biotechnology, Sungnam, Korea)의 시약 1 ml을 처리하여 신경세포를 용해시킨 뒤 용해액으로부터 total RNA를 추출하여 cDNA를 합성하고 Real-time PCR기법을 이용하여 염증성 사이토카인 유전자 발현을 확인하였다. cDNA는 AccuPower® CycleScript RT PreMix dT20 (Bioneer, Daejeon, Korea)으로 합성하였고, Power SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 Real-time (quantitative) reverse transcription PCR (RT-qPCR)을 진행하였다.

[363] 사용한 primer sequence는 아래 표 2에 나타내었으며 증폭 조건은 95°C에서 10분간 효소를 활성화(enzyme activation)한 후, 95°C에서 10초간 변성(denaturation), 60°C에서 30초간 프라이머 결합(annealing) 과정을 40회 반복하였고 기기는 Bio-Rad CFX Connect Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하였다. 하우스키핑 유전자인 GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)의 발현량을 기준으로 Comparative Ct Method(ΔΔCt)를 이용하여 염증성 사이토카인 유전자의 상대적 발현량을 계산하였으며 그 결과는 도 12에 나타내었다.

[364]

[365] [표2]

유전자	프라이머 시퀀스
TNF-α	fwd: 5'-CAGAGGGAAGAGTTCCCCAG-3' (서열번호 9) rev: 5'-CCTCAGCTTGAGGGTTTGCTAC-3' (서열번호 10)
IL-6	fwd: 5'-GTGAGGAACAAGCCAGAGC-3' (서열번호 11) rev: 5'-TACATTTGCCGAAGAGCC-3' (서열번호 12)
IL-8	fwd: 5'-TTTTGCCAAGGAGTGCTAAAGA-3' (서열번호 13)

	rev: 5'-AACCTCTGCACCCAGTTTTC-3' (서열번호 14)
GAPDH	fwd: 5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3' (서열번호 15) rev: 5'-AGATGGTGATGGGATTTC-3' (서열번호 16)

[366] **ELISA 분석**

[367] 세포배양판에서 분리한 상층액 샘플로는 ELISA 기법을 통해 신경세포에서 분비되는 염증성 사이토카인의 양을 측정하였다. 캡처 안티바디를 96 웰 플레이트에 적절한 농도로 코팅한 후 25°C, 24시간동안 배양한 뒤 워시버퍼로 세 번 세척해주었다. 300 μ l의 Reagent Diluent 버퍼를 이용하여 25°C, 1시간동안 블로킹을 진행하고 워시버퍼로 세 번 세척하였다. 그 후 시험 샘플과 스탠다드 용액을 100 μ l씩 처리한 후 2시간 동안 배양하였다. 모든 실험 군들은 각 그룹당 2개의 웰 (이중)에 동일하게 처리되었고, 처리시 워시버퍼로 세 번 세척해주었다. 디텍션 안티바디를 적절한 농도로 100 μ l씩 처리하여 2시간 동안 배양한 뒤 워시버퍼로 세 번 세척해주었다. 100 μ l의 streptavidin-HRP를 처리한 후 20분동안 빛을 차단한 후 25°C에서 배양하고, 배양이 끝난 후 50 μ l의 stop solution을 처리한 후 흡광도 (O.D_{450nm})를 측정하였다. 측정값들의 평균으로 결과값을 산출하였으며 산출된 염증성 사이토카인의 양은 도 13에 나타내었다.

[368]

[369] 도 12 및 도 13에서 확인할 수 있는 바와 같이, 신경세포에서 주요 염증성 사이토카인(IL-6, IL-8, TNF- α)의 유전자 발현과 생성이 실시예 화합물의 처리에 의해 억제되어 신경염증이 완화되는 것을 확인할 수 있었다.

[370]

[371] **실시예 8. 세포독성 평가**

[372]

[373] 실시예 화합물의 세포안전성을 확인하기 위해 실험에 사용된 신경세포에 대한 세포독성을 확인하였다.

[374]

[375] 실시예 화합물이 신경세포에 대해 독성을 나타내는지 평가하기 위해, 세포 배양판(48 well plate)에 사람 신경모세포종(SH-SY5Y, 3x10⁵ cell/well)를 분주한 뒤 실시예 1-2의 화합물을 2, 4, 8, 16, 32 μ M 농도로 처리하여 37 °C, 5% CO₂배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후 CCK-8(cell counting kit-8, Dojindo Molecular Technologies, Inc) solution을 각 웰에 50 μ l씩 동일하게 첨가한 뒤 37 °C, 5% CO₂배양기에서 1-3시간 동안 재배양하였다. 배양 1시간 간격으로 흡광도 (O.D_{450nm})를 측정하면서 세포활성도를 평가하였고, 실시예 화합물을 처리하지 않은 대조군(Control)의 세포생존율을 100% 기준으로 하여 각 실험군의 세포 생존율을 계산하고 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[376]

[377] 도 14에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실시예 화합물은 신경세포에서 16 μM 이하의 농도에서는 세포 독성을 나타내지 않았다.

[378]

[379] 실시예 9. 혈뇌장벽(Blood-brain barrier) 투과 시험결과

[380]

[381] 실시예 1-2의 화합물을 10% DMSO + 65% PEG400 + 25% Saline 조성의 부형제에 0.4mg/ml의 농도로 희석하여 조제한 뒤, 수컷 SD랫드(Zhejiang Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd)에 kg당 5ml씩 정맥주사(IV) 투여방식으로 주입한 뒤 각 시간별(0.25 h, 0.5 h, 1 h, 5 h, 10 h) 혈액샘플을 60 μl 씩 채취하였다. 채취한 혈액샘플은 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 6분 동안 8000rpm으로 원심분리한 뒤, 상층액을 거둬 각 시간별 혈장샘플을 수집하였으며 분석전까지 -50 $^{\circ}\text{C}$ 에 보관한 뒤 분석에 사용하였다.

[382]

[383] 혈장 내 물질의 농도를 분석하기 위해 20 μl 의 각 시간별 샘플과 표준샘플, QC(Quality Control)샘플을 내부표준물질(톨부타미드(Cas No. 64-77-7) 200ng/ml, 프로프라놀롤(Cas No. 318-98-9) 50ng/ml 및 Dic(N,N'-Diisopropylcarbodiimide)(Cas No. 693-13-0) 500ng/ml)를 포함하고 있는 60 μl 의 아세토나이트릴(ACN)(Cas No. 75-05-8)와 혼합하였다. 혼합액은 1분간 vortex 한 후 원심분리(13000rpm, 4 $^{\circ}\text{C}$, 10분)하고 상층액(50 μl)을 분리하여 정제수(150 μl)가 든 96-well plate에 옮긴 뒤 10분간 흔들어 섞어주었다. 최종 혼합액(3 μl)을 LC-MS/MS system에 주입하여 각 시간별 혈장샘플 내 화합물의 농도를 분석하였고 그 결과를 도 15에 나타내었다.

[384]

[385] 뇌 샘플의 경우 뇌 조직에 있는 샘플만을 얻어내기 위해 심장관류(heart perfusion)를 수행한 후 뇌 조직을 분리하였다. 분리한 뇌 조직에 중량기준으로 3배(w/v)의 식염수를 첨가한 후, 함께 갈아서 균질화된 샘플액을 제조하였다. 20 μl 의 각 뇌샘플, 표준샘플, QC샘플을 내부표준물질(톨부타미드(Cas No. 64-77-7) 200ng/ml, 프로프라놀롤(Cas No. 318-98-9) 50ng/ml 및 Dic(N,N'-Diisopropylcarbodiimide)(Cas No. 693-13-0) 500ng/ml)를 포함하는 60 μl 의 아세토나이트릴(ACN)(Cas No. 75-05-8)와 혼합한 뒤, 혼합액을 1분간 vortex 한 후 원심분리(13000rpm, 4 $^{\circ}\text{C}$, 10분)하였고, 상층액(50 μl)을 분리하여 정제수(150 μl)가 든 96-well plate에 옮긴 뒤 10분간 흔들어 섞어주었다. 최종 혼합액(3 μl)을 LC-MS/MS system에 주입하여 각 시간별 뇌 샘플 내 화합물의 농도를 분석하였다. 뇌 조직 내 화합물의 농도는 산출된 샘플액 농도(ng/ml)에서 희석배수를 반영하여 뇌 조직내 농도(ng/g)로 환산하여 분석하였으며 그 결과를 도 16에 나타내었다.

[386]

[387] 도 15 및 도 16에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실시예 화합물을 Male SD rat에 2mg/kg 용량으로 IV 투여한 결과 실시예 화합물이 혈액을 통해 이동한 뒤 혈뇌장벽을 통과하여 뇌 내에 도달하였고, 투여 후 10시간까지 실시예 화합물이 뇌 내

에 잔류하는 것을 확인하였다. 이를 통해 실시예 화합물이 표적부위인 뇌 내 병변에서 작용하여 신경퇴행성 질환을 치료할 수 있음을 확인하였다.

[388]

[389] 실시예 10. 대식세포에서의 항염증 효과확인

[390]

[391] 실시예 화합물에 의한 염증 감소 효과를 확인하기 위해 마우스 골수유래 대식세포를 분화시키고 화합물 처리에 의한 대식세포의 염증성 사이토카인(IL-1 β)의 생성 변화를 측정하였다.

[392]

[393] 8-12주령 C57BL/6J 마우스(입수처: 대한바이오링크)의 넓다리뼈 및 정강뼈에서 26 g 주사기를 이용하여 골수를 분리하였고, 분리한 골수는 150pi 세포배양 plate에서 IMDM media + 30% L929 cell supernatant + 10% fetal bovine serum + 1% pencillin/streptomycin + 1% non-essential amino acid + 1% sodium pyruvate 조성의 배지로 6일 동안 대식세포로 분화시킨 후 실험에 사용하였다.

[394]

[395] 분화된 대식세포는 1x10⁶ cell/ml 의 농도로 48 well plate에 200 μ l 씩 분주하고 37°C, 5% CO₂ 조건에서 12 시간동안 안정화 하였다. 배양한 세포의 상층액을 제거한 후 Serum free 배지에 LPS를 100 ng/ml 농도로 180 μ l 처리하여 5시간동안 priming 하였다. 실시예 1-2의 화합물은 0.78125, 1.5625, 3.125, 6.25, 12.5, 25 mg/ml 농도로 희석하여 20 μ l씩 첨가하였고 (작용농도 0.078125, 0.15625, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5 mg/ml) 1 시간 후 ATP (10 mM 농도로 20 μ l 첨가. 30분 배양)를 조건에 맞게 처리하였다. 배양한 세포 상층액 샘플을 채취한 후 ELISA 기법을 통해 대표적인 염증성 사이토카인이자 NLRP3 임플라마솜(Inflammasomes) 활성화에 의해 방출되는 사이토카인인 IL-1 β 의 양을 측정하여 도 17에 나타내었다.

[396]

[397] 도 17에서 확인할 수 있는 바와 같이, 대식세포에서 자극원에 의해 증가된 IL-1 β 방출이 실시예 1-2의 화합물에 의해 농도의존적으로 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 이를 통해 대식세포에서 유도된 염증반응이 실시예 화합물에 의해 억제됨을 확인하였다.

[398]

[399] 실시예 11. 세포 독성 평가

[400]

[401] 실시예 화합물의 세포안전성을 확인하기 위하여 마우스 골수유래 대식세포와 인간 단핵구 세포주(THP-1)(입수처: 한국세포주은행(KCLB))에서 세포 독성을 나타내는지 여부를 평가하였다.

[402]

- [403] 대식세포의 경우 분화된 대식세포를 1×10^6 cell/ml 의 농도로 48 well plate에 200 μ l씩 seeding 하고 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 12시간 동안 안정화 하였다. 배양한 세포의 상층액을 제거한 후 Serum free 배지에 실시예 1-2의 화합물을 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 μ M 농도로 희석하여 200 μ l씩 처리하고 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 동안 배양하였다.
- [404]
- [405] 이후 배양한 세포의 상층액을 제거하고 400 μ g/ml 농도의 MTT 용액을 200 μ l 처리한 후 7 °C, 5% CO₂ 조건에서 4 시간 반응하였다. 이후 반응액을 제거하고 DMSO를 200 μ l 첨가, 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때, 아무것도 처리하지 않은 세포의 세포 생존율을 100% 기준으로 하여, 시료를 처리한 세포의 생존율을 계산하여 도 18에 나타내었다.
- [406]
- [407] 인간 단핵구 세포주(THP-1)는 10% fetal bovine serum (Hyclone, Waltham, MA, USA), 2.05 mM L-glutamate 와 항생제(100 units/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin)를 보충한 RPMI 1640 배지(Hyclone, Waltham, MA, USA)에 배양한 뒤, 1×10^5 cells/well의 농도로 96 well microtiter plate에 seeding하고 실시예 1-2의 화합물의 최종 농도가 0.002 μ M, 0.02 μ M, 0.2 μ M, 2 μ M이 되도록 희석하여 각 well의 세포에 처리한 뒤 24시간 동안 배양하였다. 이후 배양된 세포에 Cell Counting Kit-8 (CCK-8, DOJINDO, Kumamoto, Japan) 용액을 각 well에 10 μ l씩 처리한 뒤 시간별(1 h, 2 h, 3 h)로 450 nm에서 흡광도를 측정하고 마지막 시간대인 3 h의 흡광도 데이터를 기준으로 결과를 도출하였다.
- [408]
- [409] 이 때, 아무것도 처리하지 않은 세포의 세포 생존율을 100% 기준으로 하여, 시료를 처리한 세포의 생존율을 계산하여 도 19에 나타내었다.
- [410]
- [411] 도 18 및 도 19에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실시예 1-2의 화합물은 마우스 골수유래 대식세포에서 16 μ M 이하의 농도에서 세포독성을 나타내지 않았으며, 인간 단핵구 세포주(THP-1)에서 모든 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았다.
- [412]
- [413] 실시예 12. 랫드 소핵시험을 통한 약물안전성 평가
- [414]
- [415] 실험동물인 랫드(구입처: ORIENTBIO INC., Republic of Korea)에서의 실시예 화합물의 안전성을 확인하기 위해 Sprague-Dawley 랫드 골수세포를 이용하여 물질 투여 후 일반증상, 체중변화 및 소핵 유발 유무(유전독성)를 평가하였다.
- [416]
- [417] SD 랫드의 투여부위(피하)를 제모하고, 실시예 화합물을 일회용 주사기를 이용하여 투여농도를 저중량 (500mg/kg/day), 중용량 (1000mg/kg/day), 고용량

(2000mg/kg/day)로 설정하여 시험계의 좌우측 경배부 피하에 분할하여 투여(각 10ml/kg/day씩)하였다. 투여기간 동안 2회/일 (투여직전 및 투여직후), 그 외 기간 동안 1회/일, 각 개체별 외관, 행동 및 배설물 등의 일반증상을 관찰하였고 그 결과를 아래 표 3에 나타내었다.

[418]

[419] 또한 투여개시일 및 골수채취일에 체중을 측정하여 물질 투여에 의한 변화 유무를 확인하였고 그 결과를 아래 표 4에 나타내었다.

[420]

[421] 시험물질 2차 투여 후 24시간에는 각 그룹별로 대퇴골을 적출하여 골수세포를 채취였고, 골수세포부유액에 10% 중성포르말린 0.5 mL를 넣고 5분간 고정한 뒤, 5분간 원심분리 (4 °C, 1,000 rpm, Micro17TR, Hanil Science Industrial, Republic of Korea)하여 상층액을 제거하였다. 그 후, 침전된 골수세포에 10% 중성포르말린 0.3 mL를 넣어 부유시킨 후 cell strain로 여과하여 보관용 튜브로 옮겼다. 고정한 골수세포 부유액을 커버글라스에 떨어뜨린 후, 20 μ L의 0.05% acridine orange가 도포된 슬라이드글라스를 덮어 관찰용 슬라이드를 제작하였고, 현미경 (600 배 배율, BX51, Olympus, Japan)으로 관찰용 슬라이드를 관찰하였다. 1개체당 다염성적혈구(PCE, Polychromatic erythrocyte)를 4,000개씩 관찰하고 각 개체마다 다염성적혈구에 대한 소핵다염성적혈구(MNPCE, Micronucleated polychromatic erythrocyte)의 출현율(MNPCE/PCE)을 구하여 그 결과를 아래 표 3에 나타내었다.

[422]

[423] 또한 관찰결과에서 시험물질군(실시에 1-2의 화합물 처리)의 총 적혈구 수에 대한 다염성적혈구의 비율이 음성대조군의 20% 이상으로 나타나는지 확인하였고, 골수세포의 증식억제 지표로서 개체당 총 적혈구 500개를 관찰하여 총 적혈구에 대한 다염성적혈구의 비($PCE/(PCE+NCE)$)를 구하여 그 결과를 아래 표 5에 나타내었다. 양성대조군으로는 사이클로포스파미드(Cyclophosphamide, Cas No: 50-18-0)을 20mg/kg/day의 용량으로 투여하였다.

[424]

[425] [표3]

표 3. 물질 투여 후 랫드에서의 임상징후 변화

Group	Dose (mg/kg/day)	Route	Animal ID	Clinical signs	1 st dosing		2 nd dosing		1 day after 2 nd dosing
					before dosing	immediately after dosing	before dosing	immediately after dosing	
음성 대조군	40 (PEG400) : 1 (Tween 80) : 59 (0.5% HPMC solution) aqueous solution	0	S.C.	1101	-	-	-	-	-
				1102	-	-	-	-	-
				1103	-	-	-	-	-
				1104	-	-	-	-	-
				1105	-	-	-	-	-
시험물질 실시예 1-2	500	S.C.		1201	-	-	-	-	-
				1202	-	-	-	-	-
				1203	-	-	-	-	-
				1204	-	-	-	-	-
				1205	-	-	-	-	-
	1,000	S.C.		1301	-	-	-	-	-
				1302	-	-	-	-	-
				1303	-	-	-	-	-
				1304	-	-	-	-	-
				1305	-	-	-	-	-
	2,000	S.C.		1401	-	-	-	-	-
				1402	-	-	-	-	-
				1403	-	-	-	-	-
				1404	-	-	-	-	-
				1405	-	-	-	-	-
A양성 대조군	CPA	20	P.O.	1501			-	-	-
				1502			-	-	-
				1503			-	-	-
				1504			-	-	-
				1505			-	-	-

S.C. : Subcutaneous
P.O. : Per Os.
CPA: Cyclophosphamide
- : No observable abnormality
A: The positive control substance was administered once at 24 hours prior to sampling time.

[426] [표4]

표 4. 물질 투여 후 랫드에서의 체중변화

Group	Dose (mg/kg/day)	Route	Animal ID	Body weight (g)		
				before 1 st dosing	1 day after 2 nd dosing	
음성 대조군	40 (PEG400) : 1 (Tween 80) : 59 (0.5% HPMC solution) aqueous solution	0	S.C.	1101	265.5	279.0
				1102	248.3	266.8
				1103	269.3	293.6
				1104	263.8	285.0
				1105	258.0	278.1
				Mean	261.0	280.5
				S.D.	8.19	9.8
				1201	266.0	278.4
				1202	253.7	263.3
				1203	277.2	281.9
시험물질	실시예 1-2	500	S.C.	1204	263.4	276.9
				1205	264.1	273.7
				Mean	264.9	274.8
				S.D.	8.41	7.08
				1301	266.1	278.8
				1302	258.8	279.5
				1303	251.3	265.8
				1304	272.4	288.2
				1305	266.1	291.1
				Mean	262.9	280.7
시험물질	실시예 1-2	1,000	S.C.	S.D.	8.07	9.90
				1401	259.6	272.3
				1402	267.5	279.6
				1403	272.8	285.9
				1404	266.2	274.6
				1405	268.4	280.9
				Mean	266.9	278.7
				S.D.	4.77	5.37
				1501	271.7	273.3
				1502	250.2	259.0
A양성 대조군	CPA	20	P.O.	1503	269.0	279.4
				1504	260.7	281.5
				1505	282.2	301.5
				Mean	266.8	278.9
				S.D.	12.05	15.39

S.C. : Subcutaneous

P.O.: Per Os.

S.D.: Standard Deviation

CPA: Cyclophosphamide

A: The positive control substance was administered once at 24 hours prior to sampling time.

[427]

[428] [표5]

표 5. 랫드에서의 시험물질에 의한 소핵유발 출현빈도

Group	Dose (mg/kg/day)	Route	Hours after dosing	Animal ID	PCE/(PCE+NCE)	MNPCE/ PCE						
음성 대조군	40 (PEG400) : 1 (Tween 80) : 59 (0.5% HPMC solution) aqueous solution	0	S.C.	24	1101	171 / 500	0 / 4,000					
					1102	159 / 500	1 / 4,000					
					1103	169 / 500	1 / 4,000					
					1104	171 / 500	0 / 4,000					
					1105	182 / 500	1 / 4,000					
					Total	852 / 2,500	3 / 20,000					
					%(Mean±S.D.)	34.1 ± 1.63	0.015 ± 0.014					
					시험물질	실시예 1-2	1,000	S.C.	24	1201	182 / 500	1 / 4,000
										1202	155 / 500	0 / 4,000
										1203	155 / 500	1 / 4,000
1204	172 / 500	1 / 4,000										
1205	158 / 500	1 / 4,000										
Total	822 / 2,500	4 / 20,000										
%(Mean±S.D.)	32.9 ± 2.42	0.020 ± 0.011										
시험물질	실시예 1-2	2,000	S.C.	24						1301	168 / 500	1 / 4,000
										1302	160 / 500	0 / 4,000
										1303	169 / 500	1 / 4,000
					1304	175 / 500	0 / 4,000					
					1305	168 / 500	2 / 4,000					
					Total	840 / 2,500	4 / 20,000					
					%(Mean±S.D.)	33.6 ± 1.07	0.020 ± 0.021					
					양성 대조군	CPA	20	P.O.	24	1401	162 / 500	1 / 4,000
										1402	157 / 500	1 / 4,000
										1403	158 / 500	0 / 4,000
1404	173 / 500	1 / 4,000										
1405	155 / 500	0 / 4,000										
Total	805 / 2,500	3 / 20,000										
%(Mean±S.D.)	32.2 ± 1.44	0.015 ± 0.014										
양성 대조군	CPA	20	P.O.	24						1501	166 / 500	150 / 4,000
										1502	159 / 500	154 / 4,000
										1503	169 / 500	167 / 4,000
					1504	173 / 500	167 / 4,000					
					1505	170 / 500	154 / 4,000					
					Total	837 / 2,500	792†† / 20,000					
%(Mean±S.D.)	33.5 ± 1.06	3.960 ± 0.200										

S.C. : Subcutaneous

P.O. : Per Os.

MNPCE : Micronucleated polychromatic erythrocyte

PCE : Polychromatic erythrocyte

NCE : Nonmochromatic erythrocyte

S.D. : Standard Deviation

CPA : Cyclophosphamide

Significant difference from negative control by Mann-Whitney U test: †† p <0.01

[429]

[430] 실험결과 상기 표 3에서 확인할 수 있는 바와 같이, 관찰기간 동안 실시예 1-2의 화합물의 모든 투여용량에서, 시험물질군(실시예 1-2의 화합물 투여군)의 랫드의 임상징후에 이상현상이 나타나지 않았다.

[431] 또한 상기 표 4에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실시예 1-2의 화합물의 모든 투여용량에서, 시험물질군은 음성대조군과 비교하여 통계학적으로 유의미한 체중변화가 나타나지 않았다.

[432] 또한 상기 표 5에서 확인할 수 있는 바와 같이, 실시예 1-2의 화합물의 모든 투여용량에서, 시험물질군은 음성대조군과 비교하여 다염성적혈구 중 소핵다염성적혈구의 출현빈도(MNPCE/PCE)가 통계학적으로 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 총 적혈구 중 다염성적혈구의 비율[PCE/(PCE+NCE)]도 음성대조군과 비교하여 통계학적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다. 반면, 양성대조군에서는 다

염성적혈구의 비율은 음성대조군과 비교하여 통계학적으로 유의한 차이가 확인되지 않았지만 다염성적혈구 중 소핵다염성적혈구의 출현빈도가 음성대조군과 비교하여 통계학적으로 유의한 증가가 확인되었다($p < 0.01$).

[433] 상기 결과를 통해 실시예 화합물은 랫드 골수세포에 대해 소핵 유발성이 나타나지 않아 안전한 것으로 확인되었다.

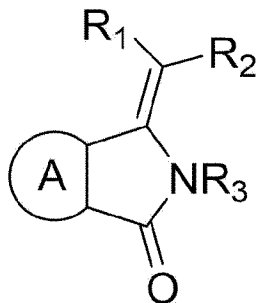
[434]

[435] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

[청구항 1] 아래 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 인플라마좀 매개 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

상기 는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알킬, 하나 이상의 이

중결합을 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알케닐, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 헤테로사이클로알킬, 하나 이상의 이중결합을 포함하고 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 헤테로사이클로알케닐, 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₅₋₁₀의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알케닐, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은, 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알킬 또는 치환된 알콕시는 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 R₃는 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알킬, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 헤테로사이클로알킬, 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으

로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 알킬은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알콕시, 치환된 사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소, 할로젠, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 알킬은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알콕시, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 는 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴이고,

상기 치환된 아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알킬 또는 치환된 알콕시는 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것인, 약학 조성물.

- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 R_3 은 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬인, 약학 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴이고,
상기 치환된 아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것인, 약학 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 아래 화합물들로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 약학 조성물:
1) 3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(diphenylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one},
2) 3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(di-p-tolylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one}, 및
3) 3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(bis(4-methoxyphenyl)methylene)-2-methylisoindolin-1-one}.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 인플라마좀 매개 질환은 치주 질환, 신경퇴행성 질환, 및 염증 질환으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 것인, 약학 조성물.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 치주 질환은 치주염 및 치은염으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 것인, 약학 조성물.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 신경퇴행성 질환은 치매, 파킨슨병, 수전증, 무도병, 근위축성측삭경화증, 다발성경화증, 헌팅턴병, 운동신경세포병, 척수성 근위축증, 크로이츠펔트-야콥병, 피크병, 프리온병 및 척수소뇌실조증으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인, 약학 조성물.
- [청구항 9] 제6항에 있어서, 상기 염증 질환은 비만, 고지혈증, 고콜레스테롤증, 동맥경화증, 제2형 당뇨병, 비알코올성지방간(NAFLD) 및 비알코올성 지방간염(NASH)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 대사성 질환;
머클-웰스 증후군(Muckle-Wells syndrome; MWS), 성인형 지연성 자가면역 당뇨병(LADA), 가족성 한랭 자가염증성 증후군(FCAS), 크라이오피린 관련 주기적 증후군(CAPS), 신생아-발병 다기관 염증성 증후군(NOMID), 만성 영아 신경 피부 관절(CINCA) 증후군, 가족성 지중해열(FMF), 소아 관절염, 소아 류마티스 관절염, 및 통풍으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 자가염증성 질환;
류마티스 관절염(Rheumatoid arthritis; RA), 전신성 홍반성 루푸스(Systemic lupus erythematosus; SLE), 아토피 피부염(Atopic dermatitis; AD) 및 건선(Psoriasis)로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 자가면역질환;

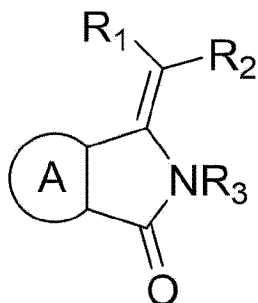
패혈성 쇼크, 염증성 장질환, 골관절염, 고면역글로불린 D 증후군 (hyperimmunoglobulin D syndrome) 및 크리오피린 관련 주기적 증후군 (cryopyrin-associated periodic syndromes)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 것인, 약학 조성물.

[청구항 10] 청구항 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 인플라마좀 매개 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

[청구항 11] 청구항 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 인플라마좀 매개 질환의 예방 또는 개선용 사료 조성물.

[청구항 12] 아래 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 그람음성균 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

상기 는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알킬, 하나 이상의 이

중결합을 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알케닐, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 헤테로사이클로알킬, 하나 이상의 이중결합을 포함하고 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 헤테로사이클로알케닐, 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₅₋₁₀의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알케닐, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테

로아릴은, 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알킬 또는 치환된 알콕시는 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 R_3 는 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 사이클로알킬, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 헤테로사이클로알킬, 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 알킬은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알콕시, 치환된 사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소, 할로젠, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 알킬은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알콕시, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직

쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 는 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴이고,

상기 치환된 아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알킬 또는 치환된 알콕시는 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것인, 약학 조성물.

[청구항 14] 제12항에 있어서, 상기 R₃은 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬인, 약학 조성물.

[청구항 15] 제12항에 있어서, 상기 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴이고,

상기 치환된 아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것인, 약학 조성물.

[청구항 16] 제12항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 아래 화합물들로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 약학 조성물:

- 1) 3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(diphenylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one},
- 2) 3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(di-p-tolylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one}, 및
- 3) 3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(bis(4-methoxyphenyl)methylene)-2-methylisoindolin-1-one}

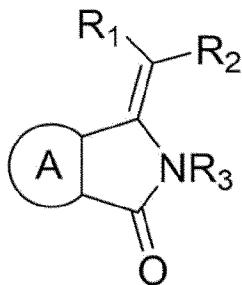
[청구항 17] 제12항에 있어서, 상기 그람음성균 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병은 장염, 크론병, 궤양성 대장염, 세균성이질, 요로감염증, 피부감염, 균혈증, 패혈증, 피부감염, 욕창, 폐렴, 심내막염, 수막염, 외이도염, 중이염, 치주염, 치은염, 각막염, 골수염, 복막염, 및 낭포성섬유증으로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상인 것인, 약학 조성물.

[청구항 18] 청구항 제12항 내지 제17항 중 어느 한 항의 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 그람음성균 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

[청구항 19] 청구항 제12항 내지 제17항 중 어느 한 항의 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 그람음성균 감염 또는 그람음성균에 의하여 유발되는 질병의 예방 또는 개선용 사료 조성물.

[청구항 20] 아래 화학식 1의 화합물, 이의 이성질체, 및 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 유효성분으로 포함하는, 항생제:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

상기 는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알킬, 하나 이상의 이

중결합을 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알케닐, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 헤테로사이클로알킬, 하나 이상의 이중결합을 포함하고 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 헤테로사이클로알케닐, 치환되거나 비치환된 C₆₋₁₀의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C₅₋₁₀의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알케닐, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은, 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알킬 또는 치환된 알콕시는 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 R₃는 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C₃₋₇의 사이클로알킬, N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의

헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{3-7} 의 헤테로사이클로알킬, 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 알킬은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알콕시, 치환된 사이클로알킬, 치환된 헤테로사이클로알킬, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고, 상기 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소, 할로젠, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴이고,

상기 치환된 알킬은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환되거나; 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴, 또는 N, O, 및 S로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 헤테로 원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 C_{5-10} 의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

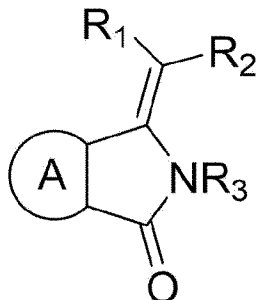
상기 치환된 알콕시, 치환된 아릴, 또는 치환된 헤테로아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[청구항 21] 제20항에 있어서, 상기 는 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴이고,

상기 치환된 아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있고,

상기 치환된 알킬 또는 치환된 알콕시는 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕

- 시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것인, 항생제.
- [청구항 22] 제20항에 있어서, 상기 R_3 은 치환되거나 비치환된 C_{1-10} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬인, 항생제.
- [청구항 23] 제20항에 있어서, 상기 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 치환되거나 비치환된 C_{6-10} 의 아릴이고,
상기 치환된 아릴은 히드록시, 할로젠, 시아노, 니트로, 아미노, C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알킬 및 C_{1-5} 의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 치환기로 치환될 수 있는 것인, 항생제.
- [청구항 24] 제20항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 아래 화합물들로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 항생제:
1) 3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(diphenylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one},
2) 3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(di-p-tolylmethylene)-2-methylisoindolin-1-one}, 및
3) 3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온{3-(bis(4-methoxyphenyl)methylene)-2-methylisoindolin-1-one}.
- [청구항 25] 제20항에 있어서, 그람음성균에 대해 항생 활성을 갖는, 항생제.
- [청구항 26] 제20항에 있어서, 상기 그람음성균은 에스케리차 속 세균, 슈도모나스 속 세균, 아시네토박터 속 세균, 엔테로박터 속 세균, 클렙시엘라 속 세균, 포르피로모나스 속 세균, 퓨조박테리아 속 세균, 및 타네렐라 속 세균으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 항생제.
- [청구항 27] 제20항의 항생제; 및
베타락탐계 항생제, 세균 세포막 투과 억제제, 세균 리보솜 억제제, 세균 핵산 합성 억제제, 및 세균 엽산 합성 억제제로 이루어지는 군에서 선택되는 1종 이상의 제2 항생제를 포함하는, 병용 항생제.
- [청구항 28] 제20항의 항생제를 포함하는, 사료 첨가제.
- [청구항 29] 제20항의 항생제를 포함하는, 소독제.
- [청구항 30] 제20항의 항생제를 포함하는, 세척제.
- [청구항 31] 아래 화학식 1A의 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염:
[화학식 1A]



상기 화학식 1A에서,

상기 , R_1 , R_2 , R_3 은 제1항에서 정의한 바와 같고,

상기 화학식 1A의 화합물은 아래 화합물을 포함하지 않는다:

3-(디페닐메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온 {3-(diphenylmethylene)-2-methylisindolin-1-one}.

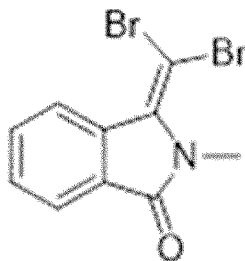
[청구항 32] 제31항에 있어서, 상기 화학식 1A의 화합물은 아래 화합물들로 이루어지는 군에서 선택되는 것인, 화합물, 이의 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염:

i) 3-(디-p-톨릴메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온 {3-(di-p-tolylmethylene)-2-methylisindolin-1-one}, 및

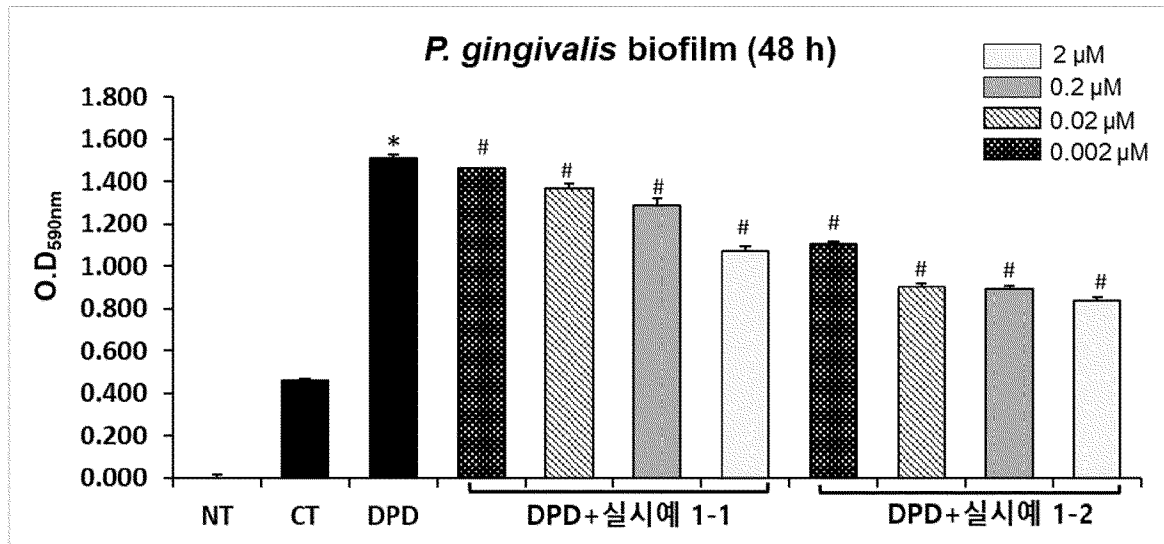
ii) 3-(비스(4-메톡시페닐)메틸렌)-2-메틸이소인돌린-1-온 {3-(bis(4-methoxyphenyl)methylene)-2-methylisindolin-1-one}.

[청구항 33] 하기 화학식 4의 화합물에 페닐보론산 (phenylboronic acid, Cas No. 98-80-6), 4-메틸페닐보론산 (4-Methylphenylboronic Acid, Cas No. 5720-05-8), 또는 4-메톡시페닐보론산 ((4-methoxyphenyl)boronic acid, Cas No. 5720-07-0)을 도입하는 단계를 포함하는, 제31항 또는 제32항의 화합물의 제조방법:

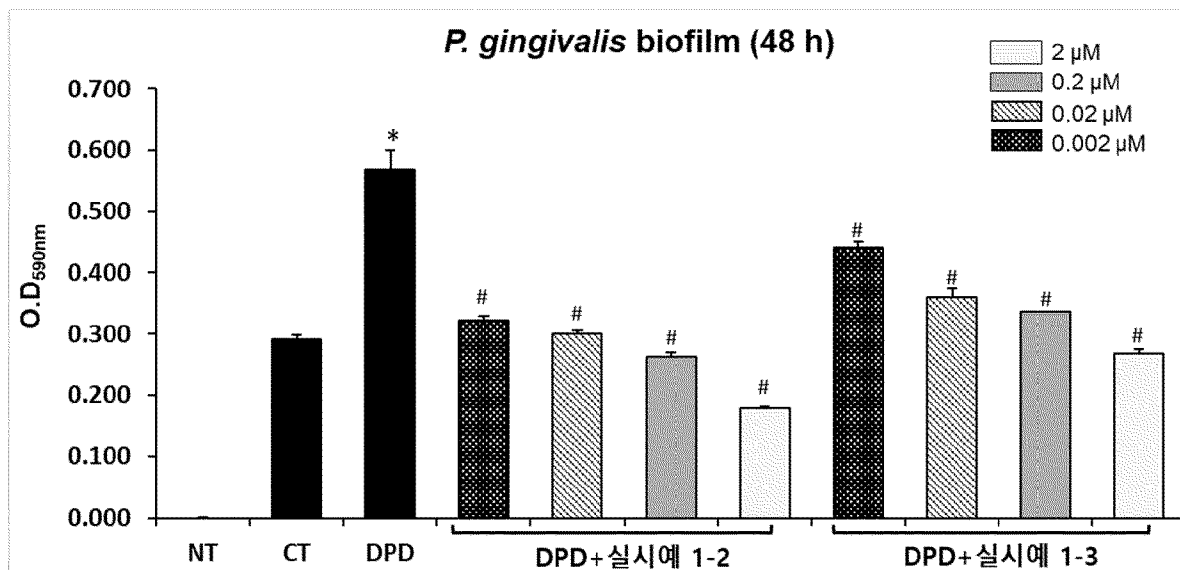
[화학식 4]



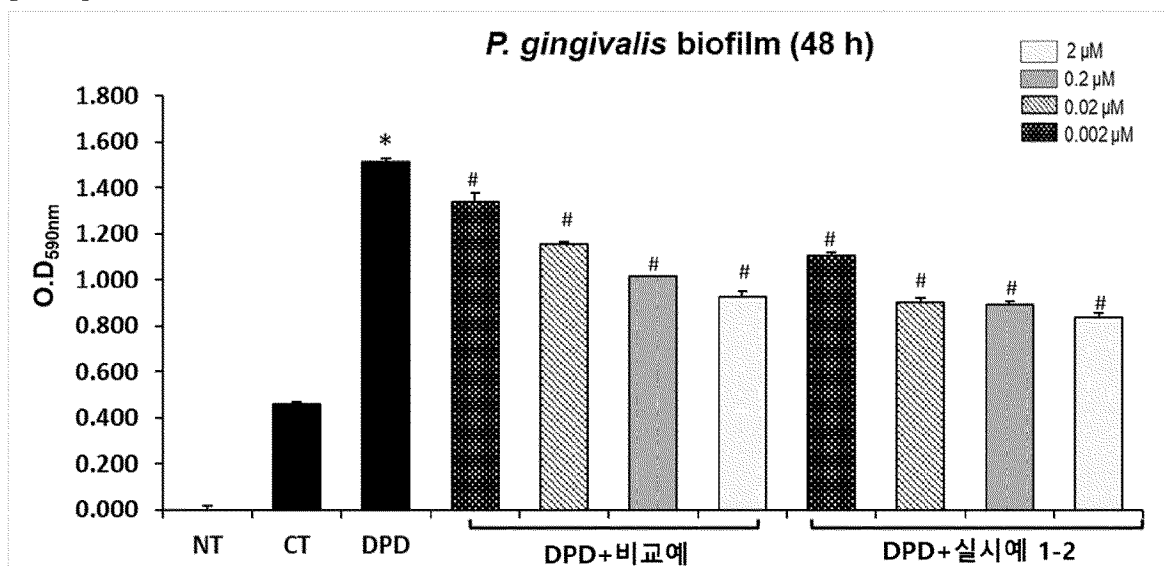
[도1]



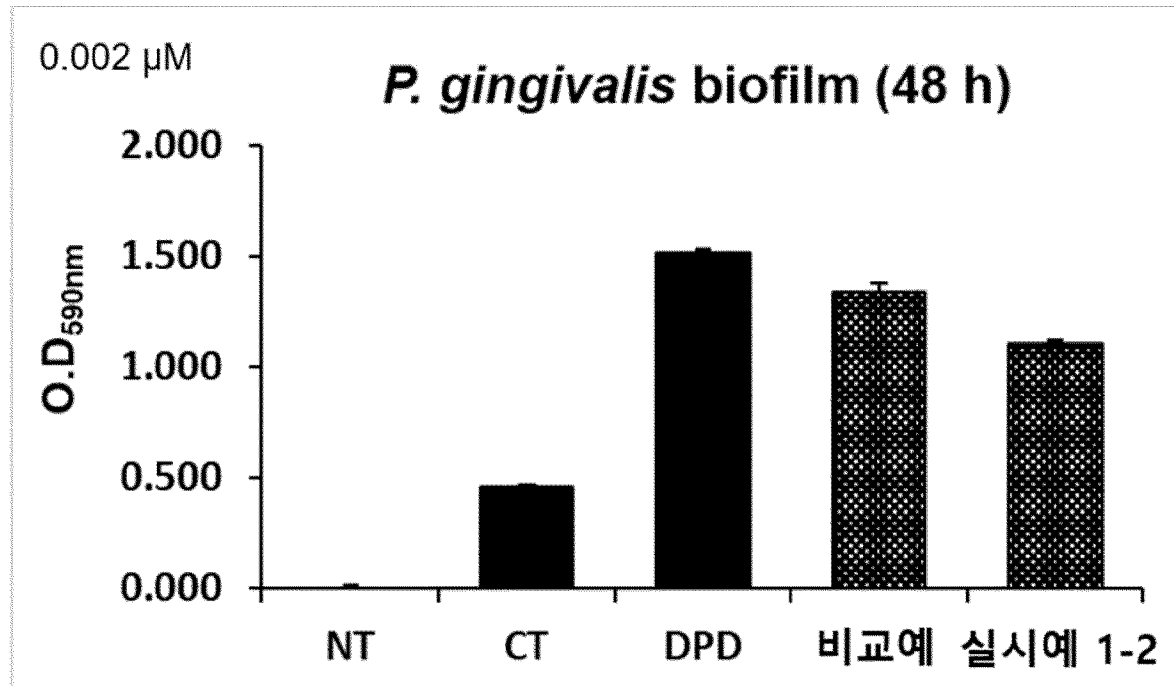
[도2]



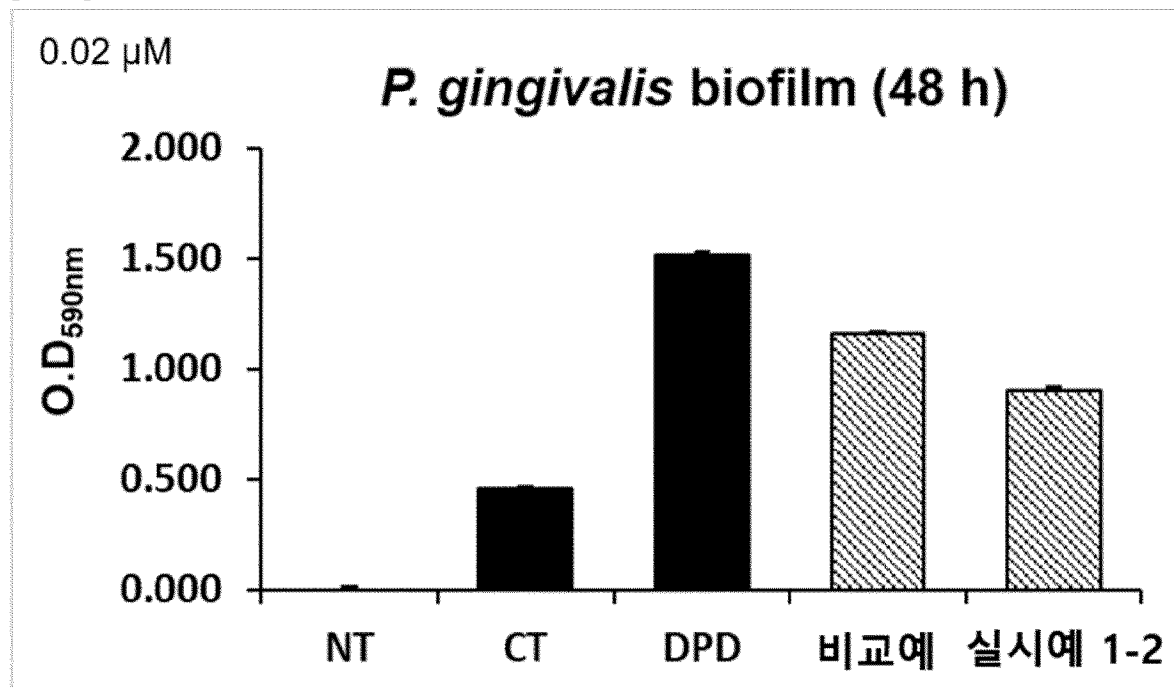
[도3a]



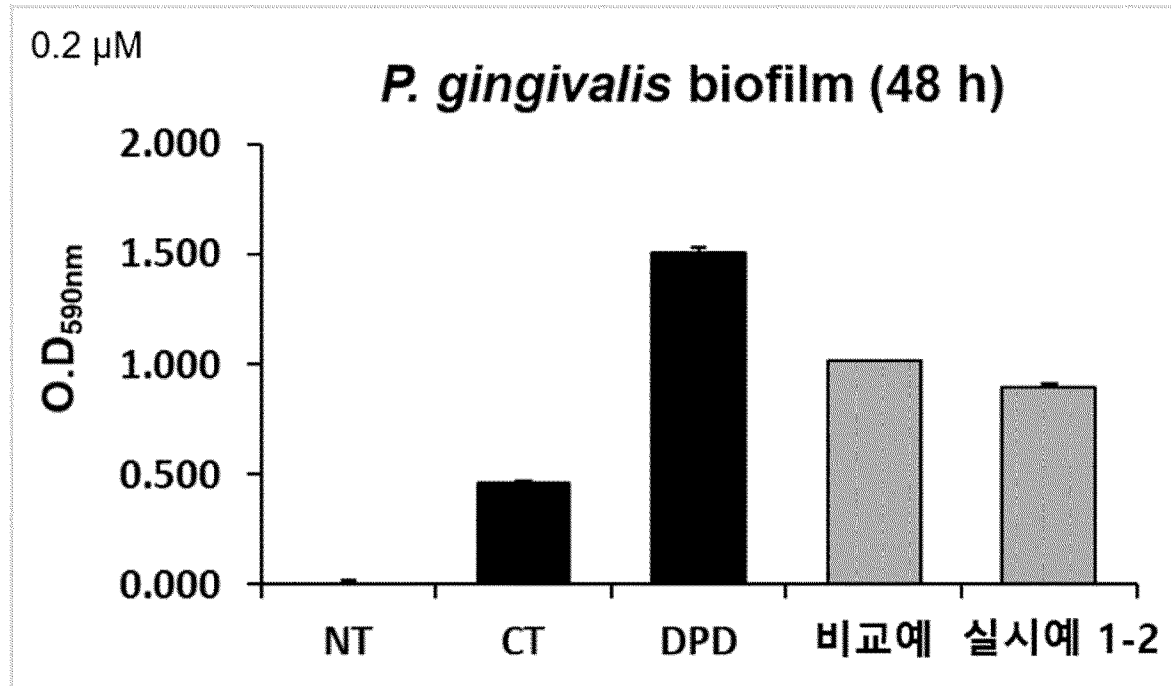
[도3b]



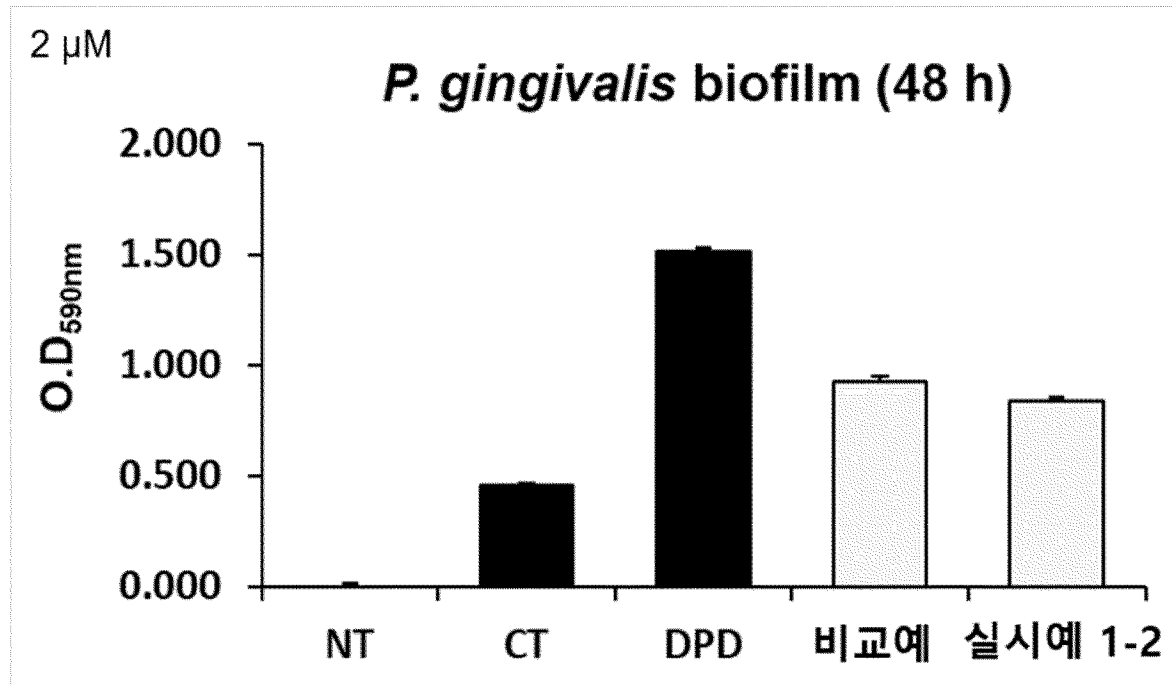
[도3c]



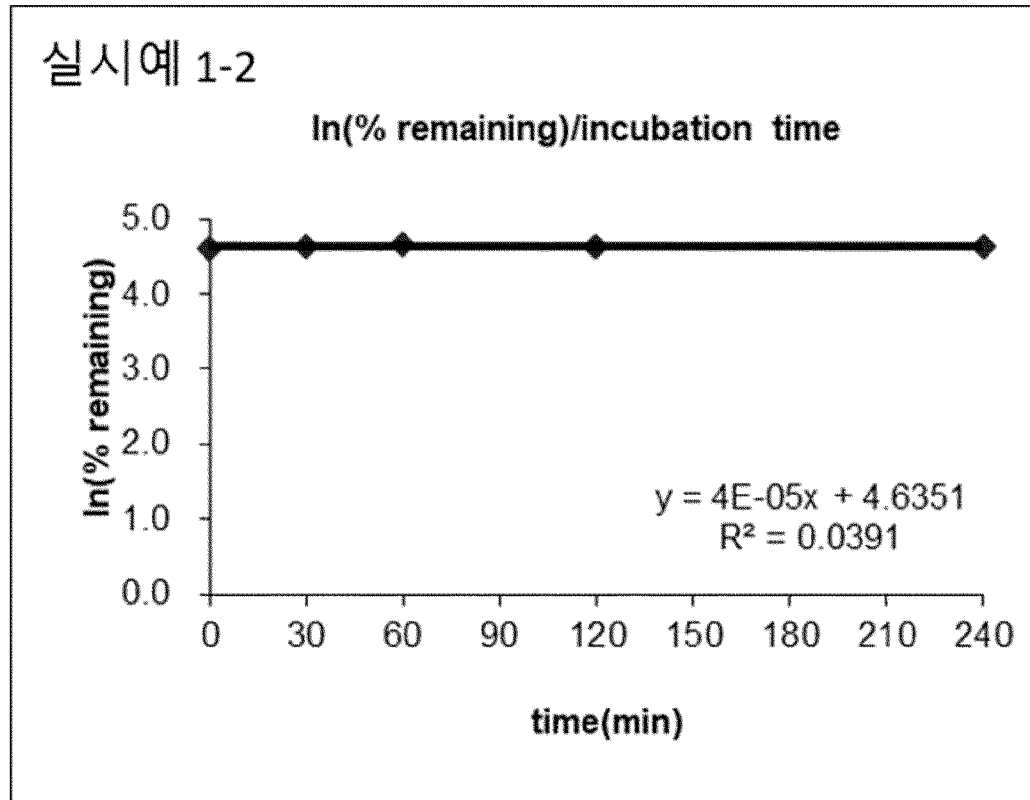
[도3d]



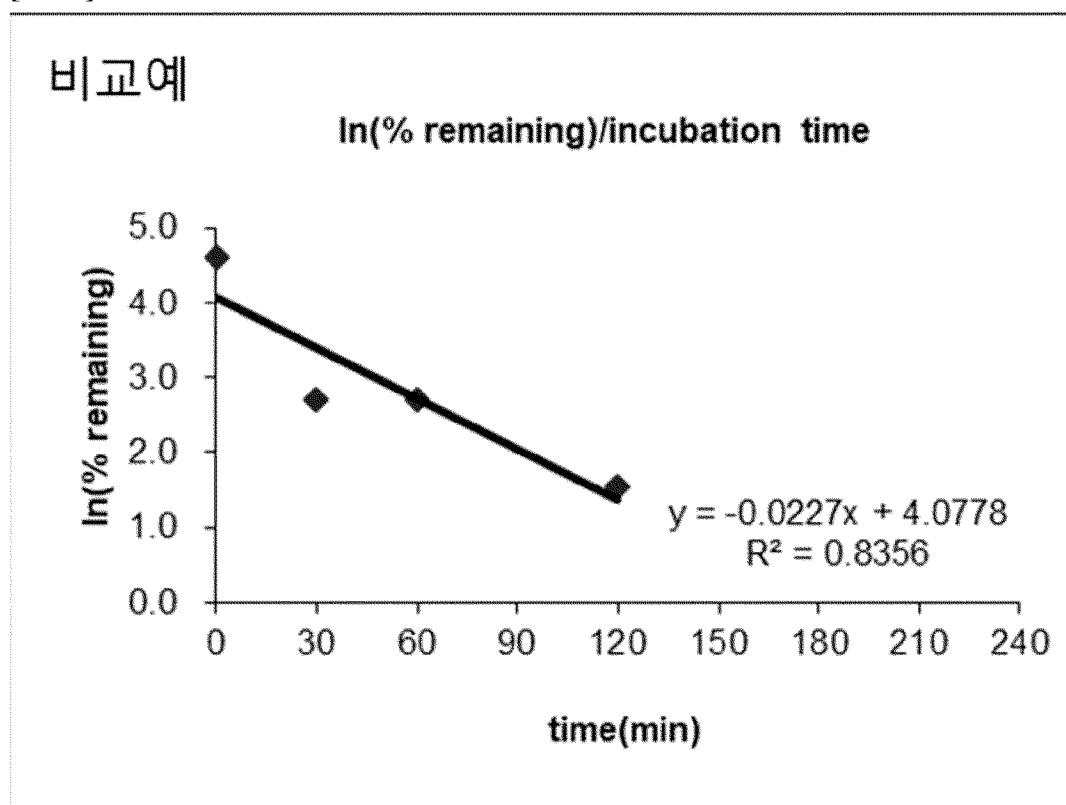
[도3e]



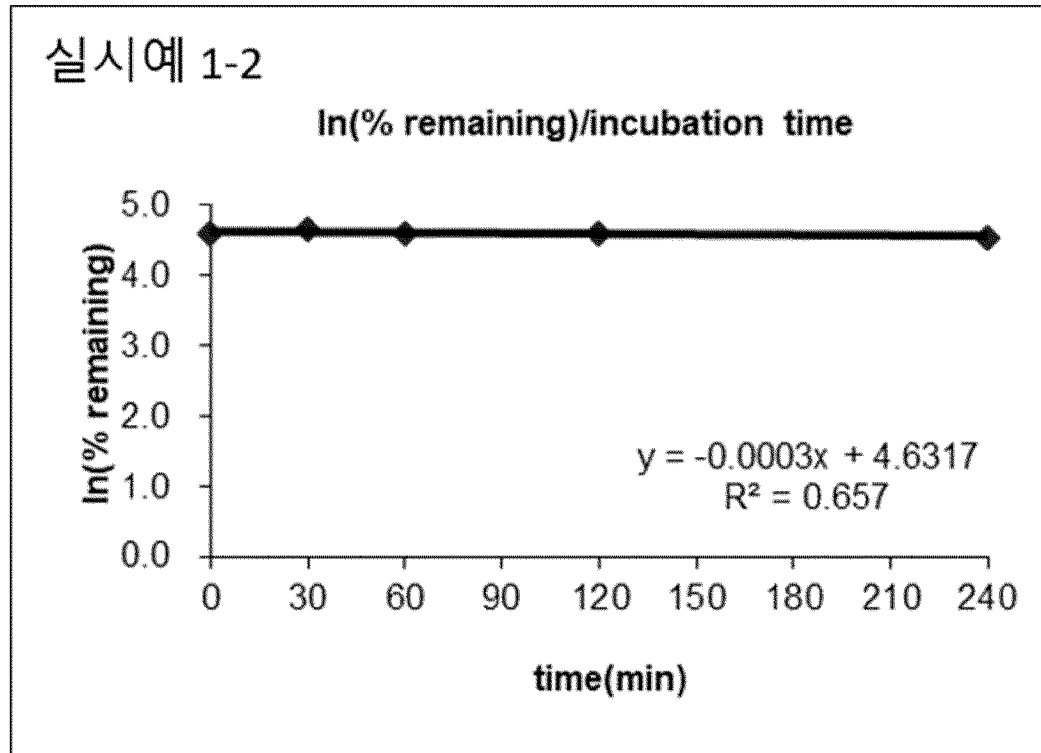
[도4a]



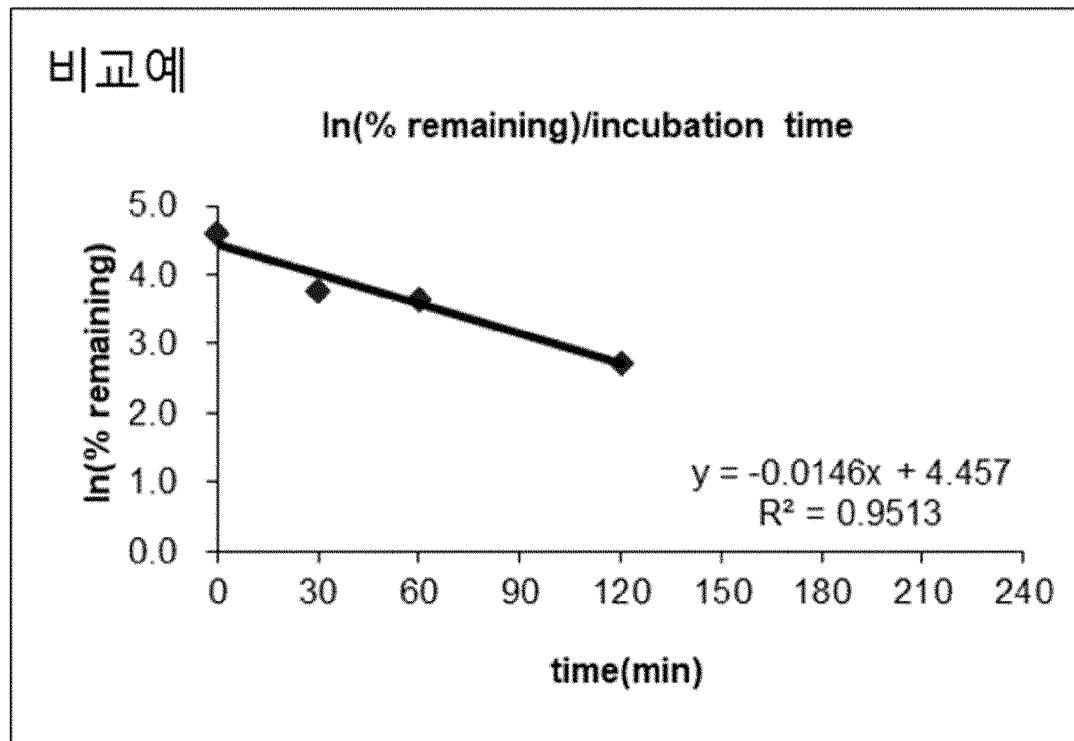
[도4b]



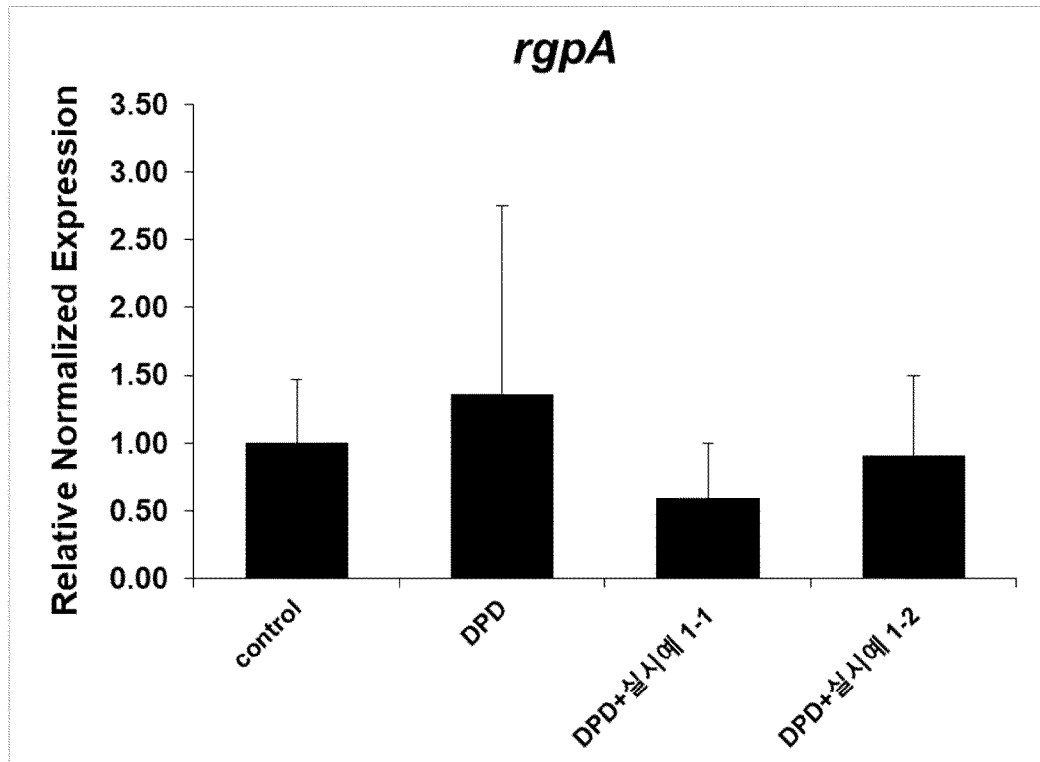
[도4c]



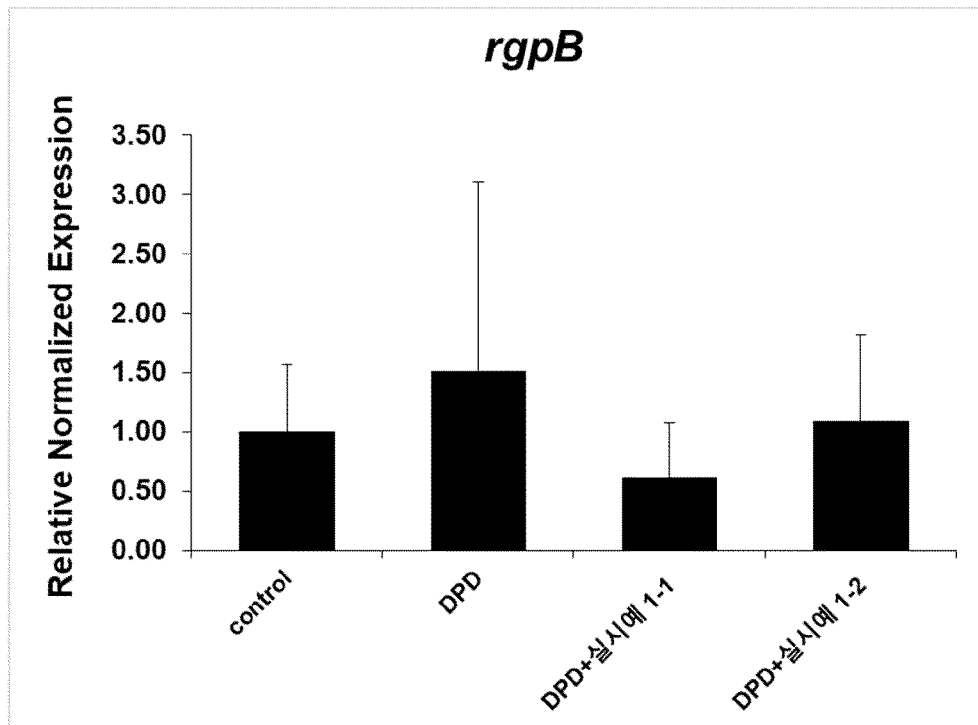
[도4d]



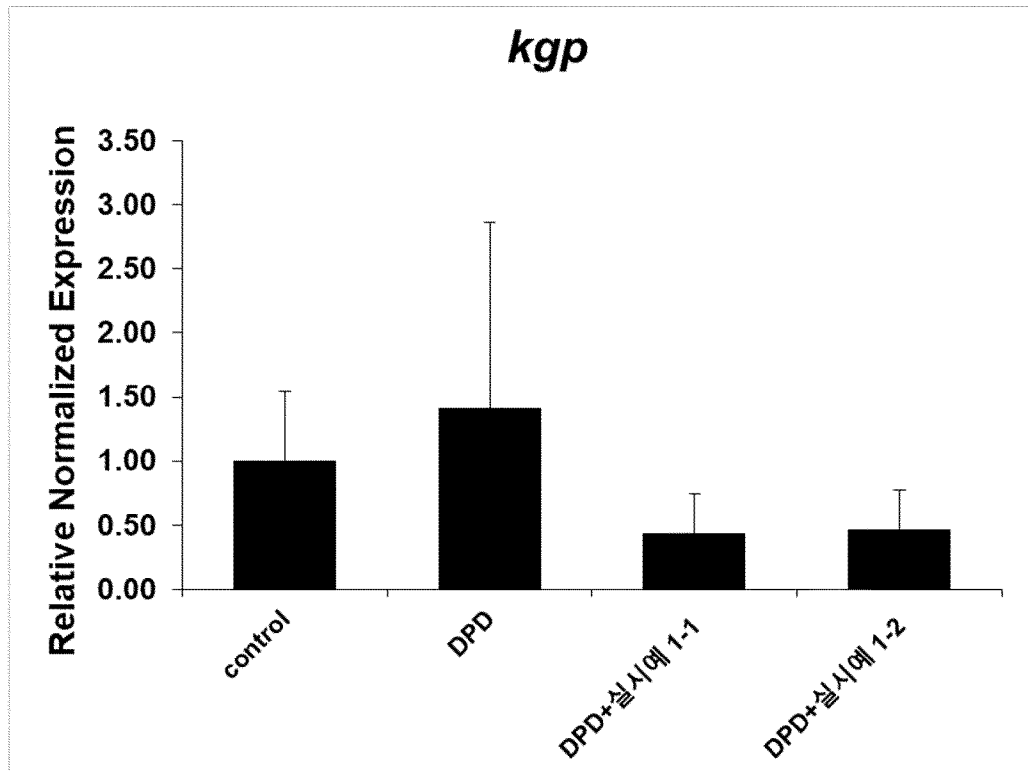
[도5a]



[도5b]

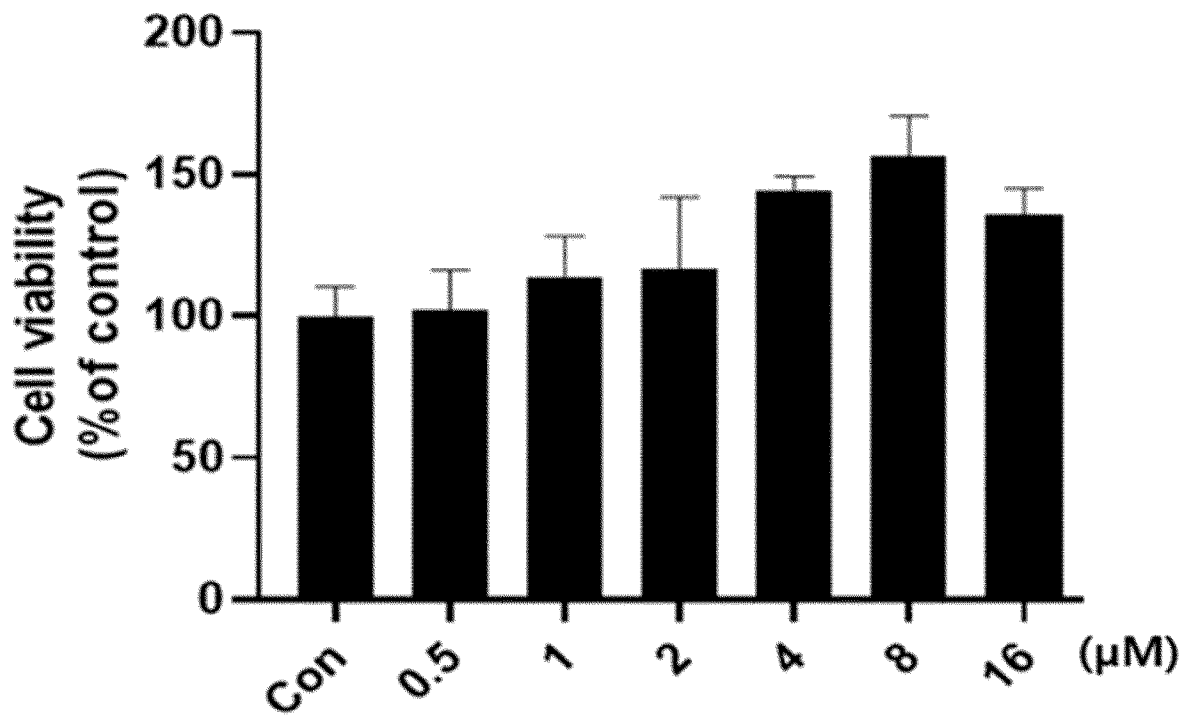


[도5c]

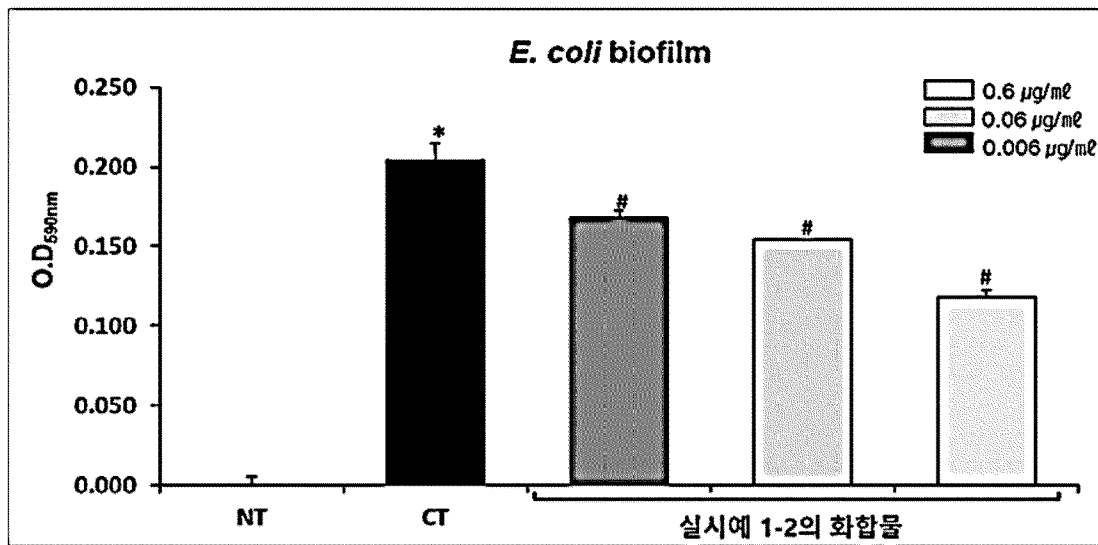


[도6]

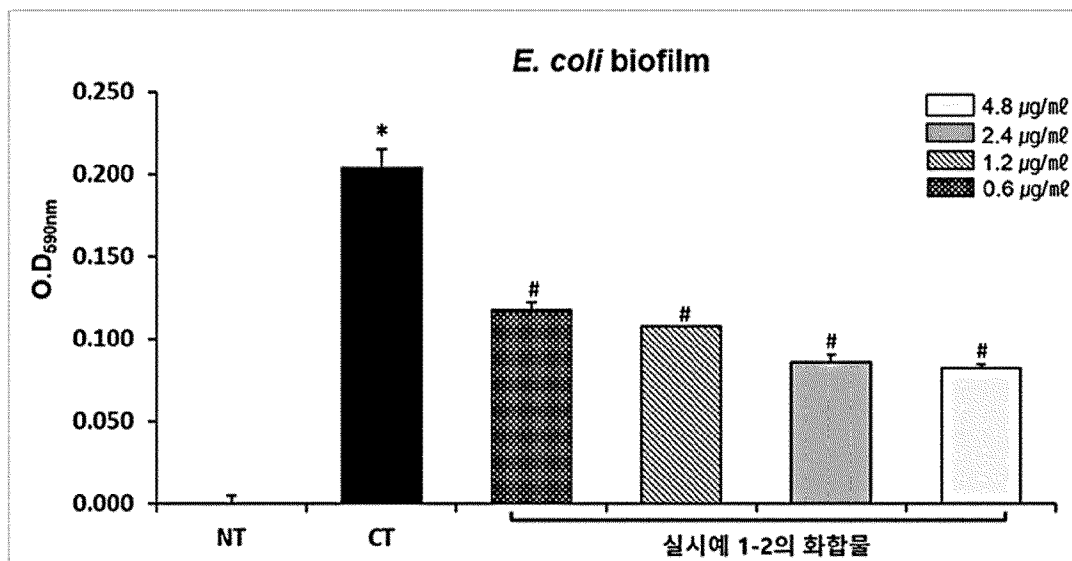
실시에 1-2의 화합물



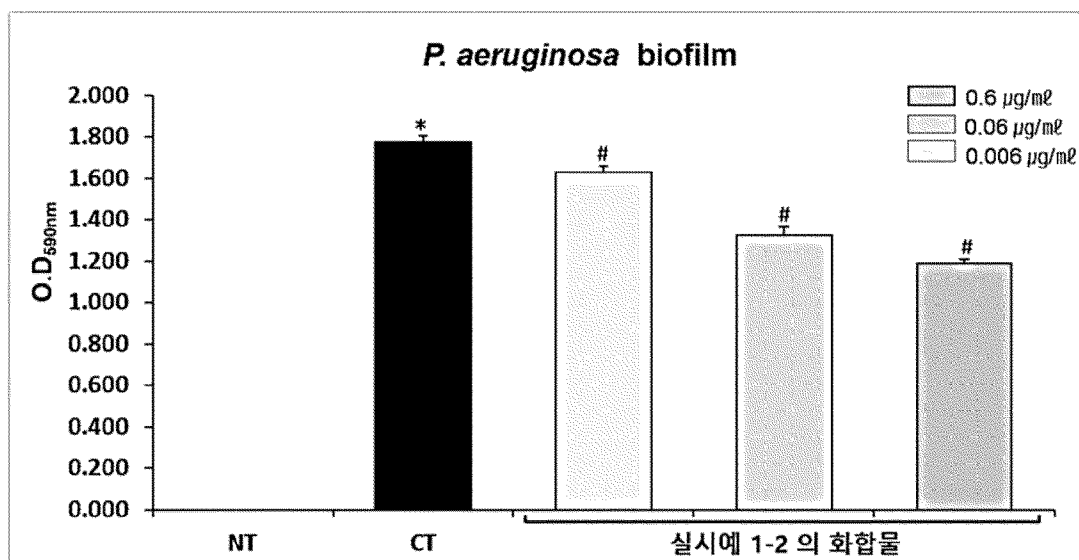
[도7a]



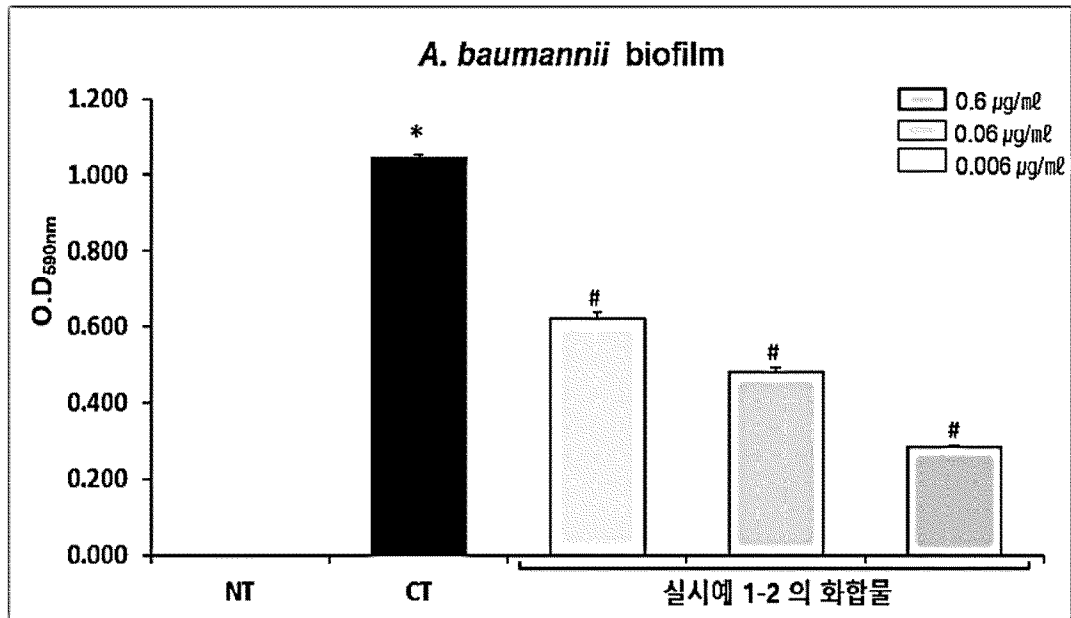
[도7b]



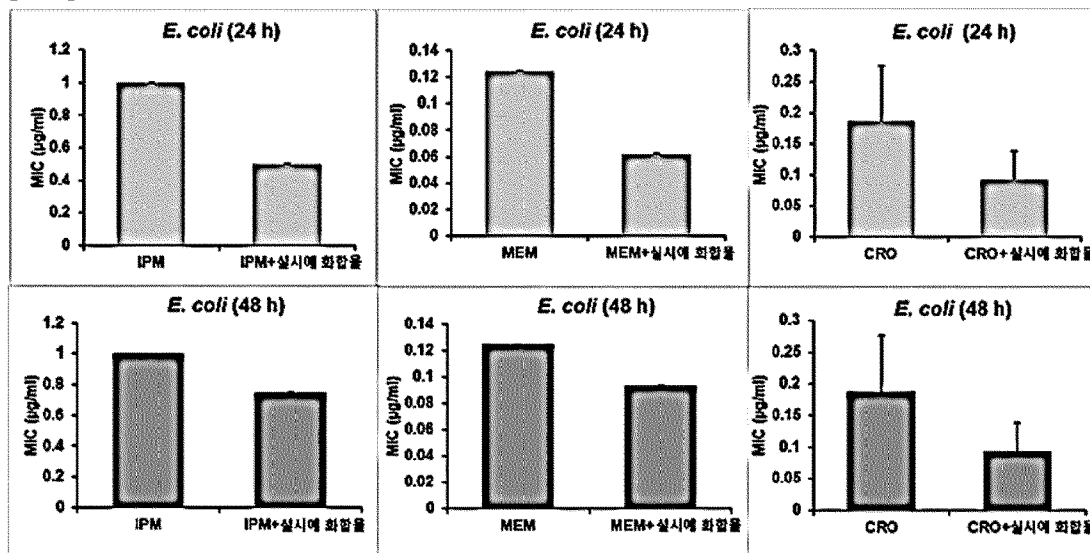
[도7c]



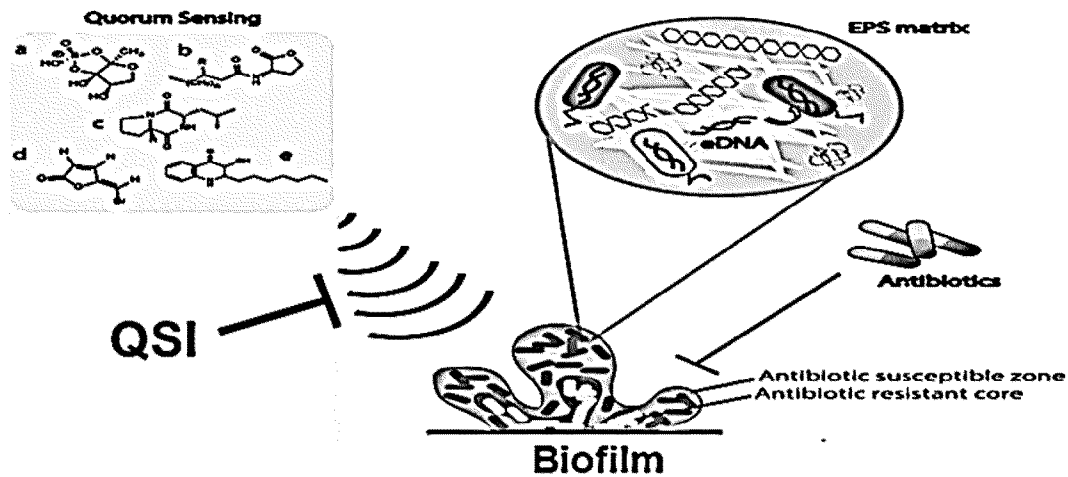
[도7d]



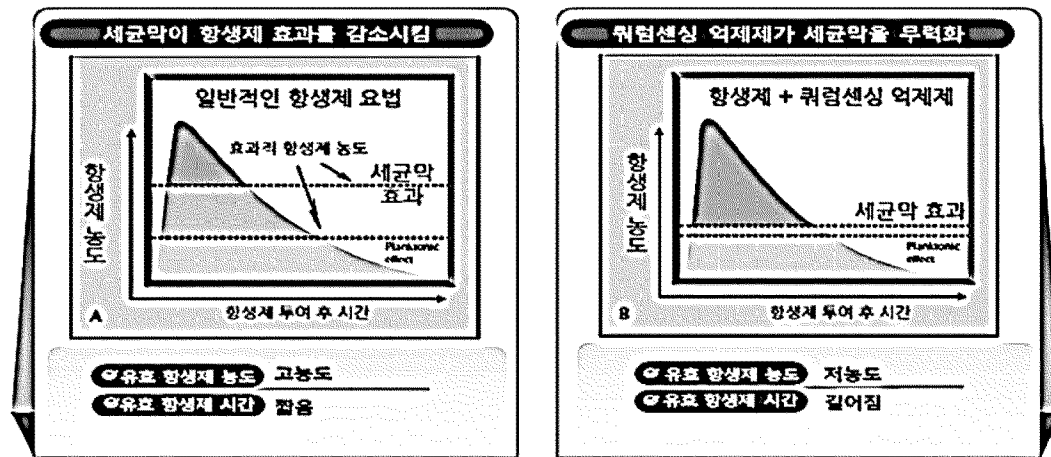
[도8]



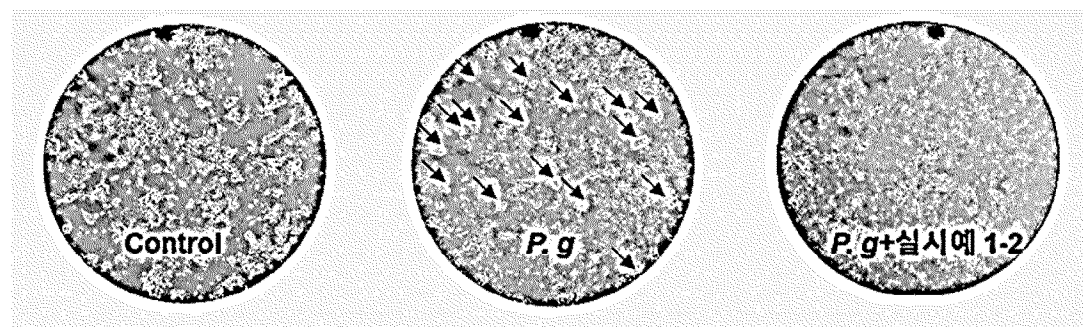
[도9]



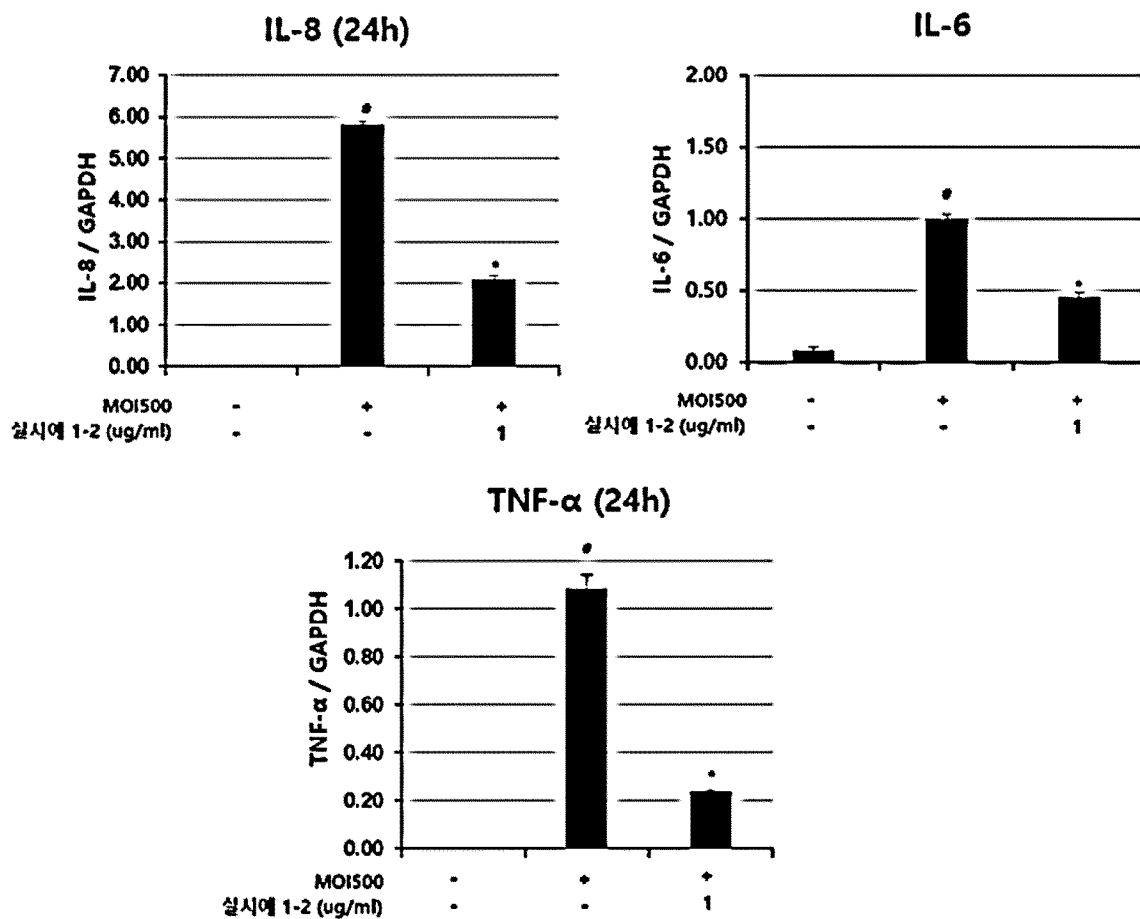
[도10]



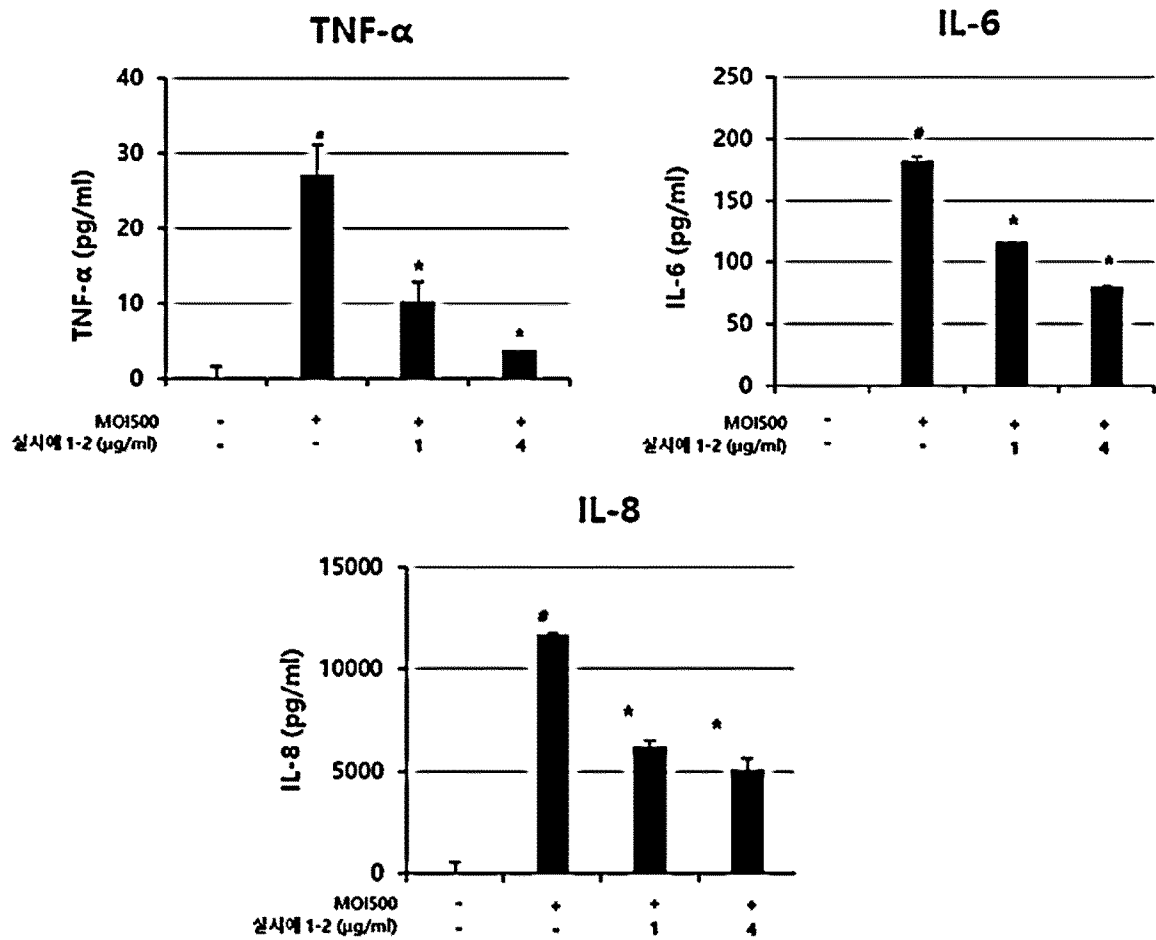
[도11]



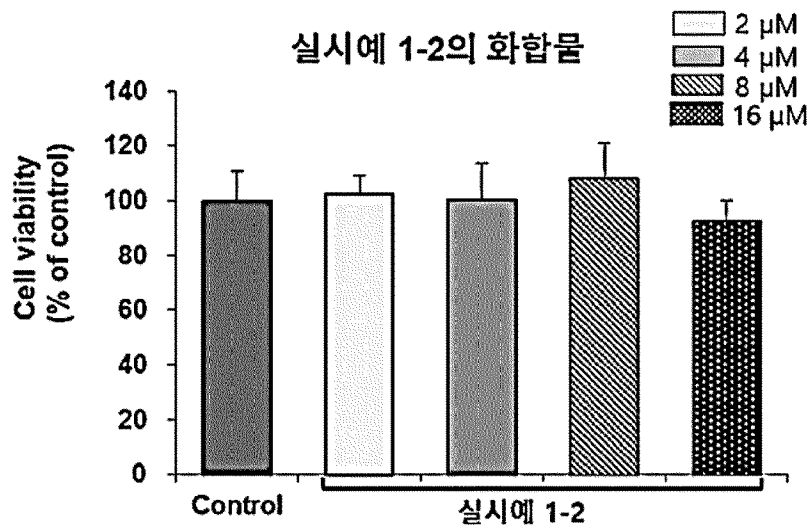
[도12]



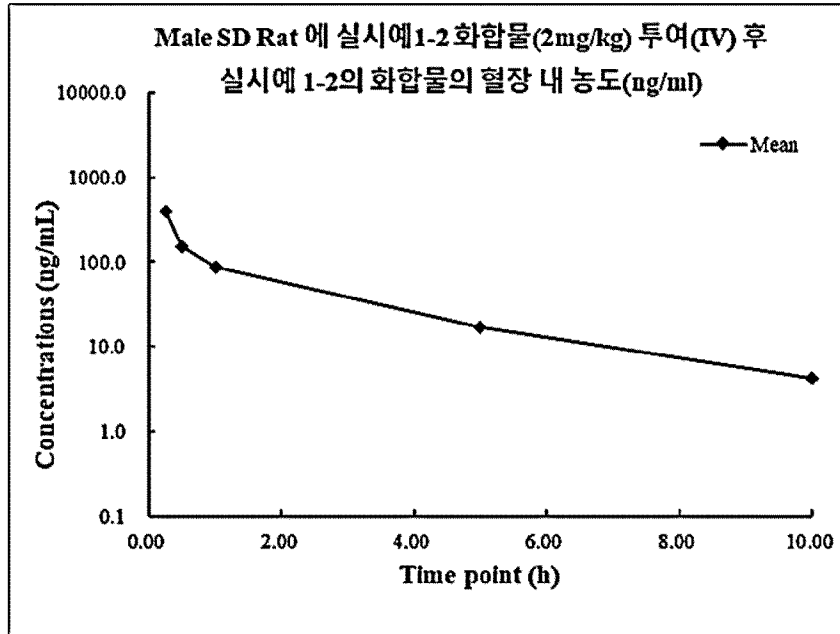
[도13]



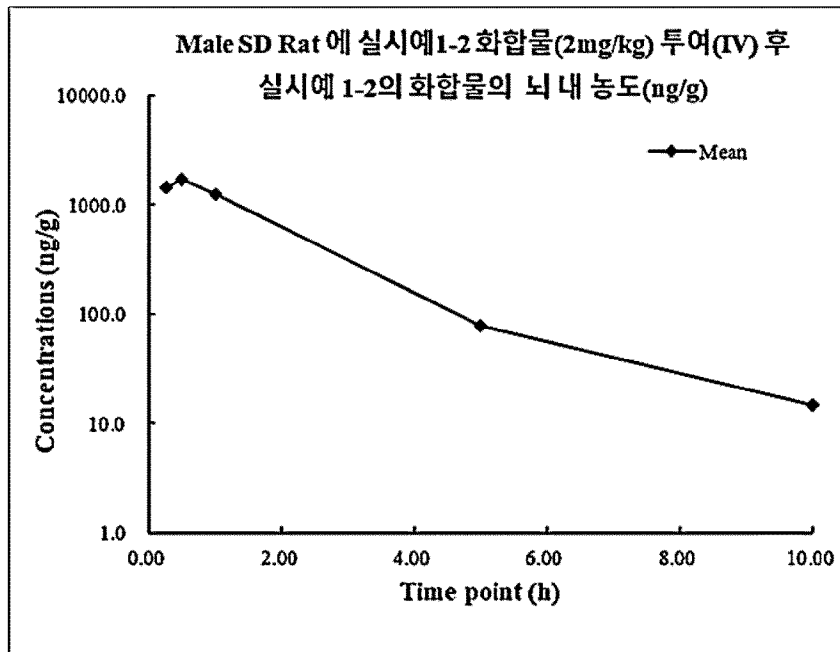
[도14]



[도15]

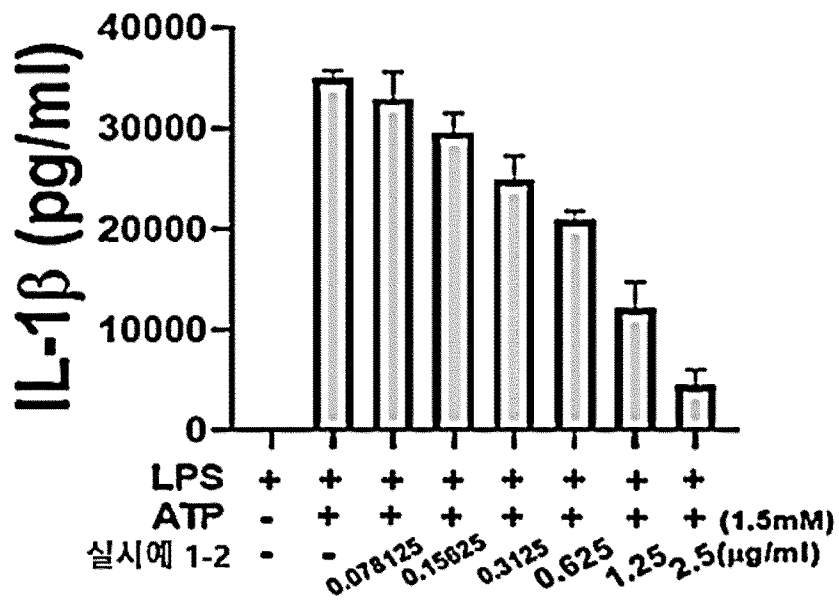


[도16]



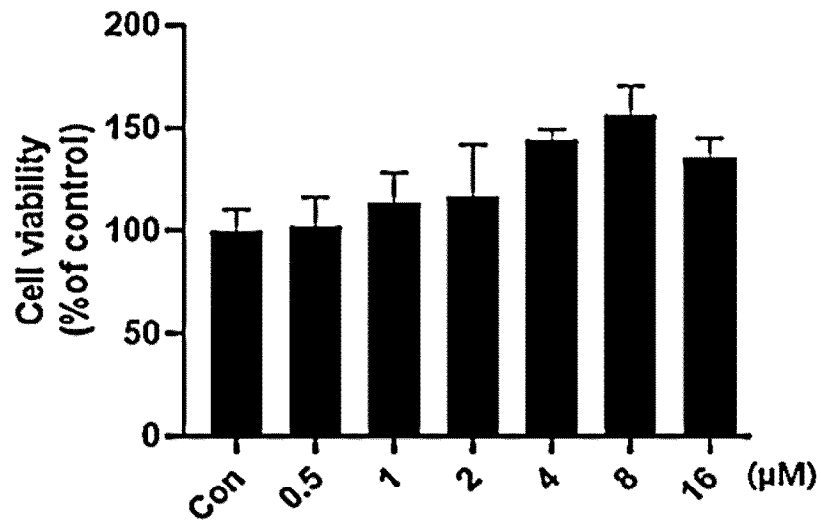
[도17]

실시예 1-2의 화합물

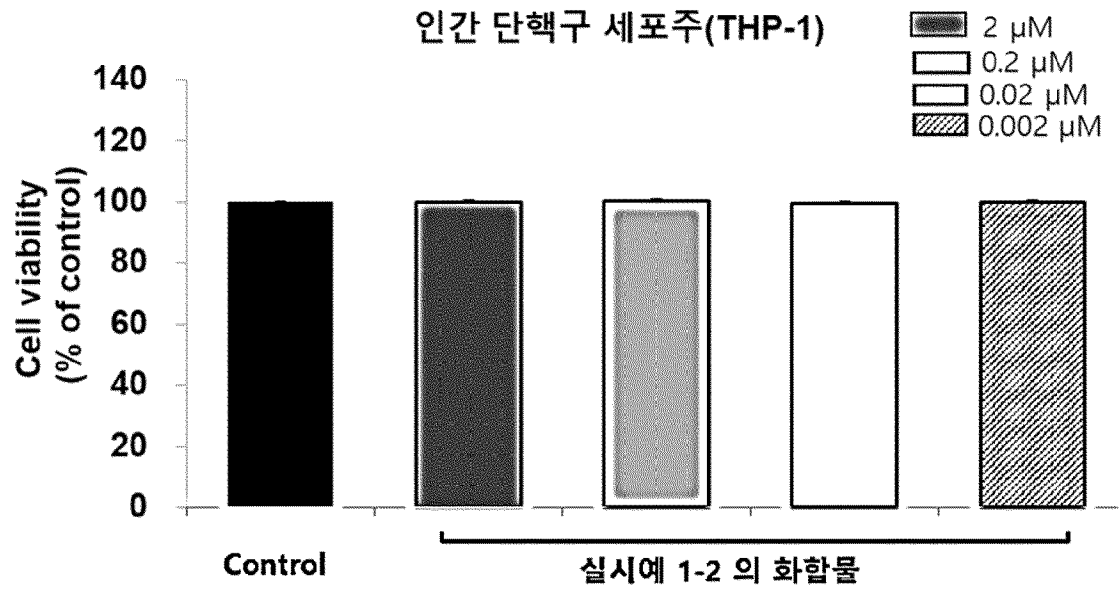


[도18]

실시예 1-2의 화합물



[도 19]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2023/002477

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/4035(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A23L 33/10(2016.01)i; A61K 45/06(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i;
A23K 20/195(2016.01)i; A23K 20/132(2016.01)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 31/4035(2006.01); A23L 33/10(2016.01); A61K 31/343(2006.01); C07D 307/88(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, Marpat), Google & keywords: 염증소체(inflammasome), 이소인돌리논(isoindolinone), 치주질환(periodontal disease), 신경퇴행성질환(neurodegenerative disease), 염증성 질환(inflammatory disease)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2019-0130983 A (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) 25 November 2019 (2019-11-25) See claims 1-14; and paragraphs [0071], [0188]-[0191], [0227]-[0231] and [0330].	1-7,10-33
Y		8,9
X	WARZECHA, K.-D. et al. (Z)-3-(4-Methoxybenzylidene)-2-methylisoindolin-1-one. Acta Cryst. 2005, vol. E61, pp. o1074-o1075. See page o1074.	31
Y	OLSEN, I. Porphyromonas gingivalis-induced neuroinflammation in Alzheimer's disease. Frontiers in neuroscience. 2021, vol. 15, thesis no.: 1216, inner pp. 1-5. See inner pages 1 and 3.	8
Y	YONEDA, M. et al. Involvement of a periodontal pathogen, Porphyromonas gingivalis on the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. BMC gastroenterology. 2012, vol. 12, pp. 1-10. See abstract.	9



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

19 May 2023

Date of mailing of the international search report

19 May 2023

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.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2017-0141133 A (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) 22 December 2017 (2017-12-22) See claims 1-10; paragraphs [0013], [0169] and [0550]; and figure 21.	1-3,6,7,10-14, 17-22,25-31
Y		8,9
X	KRISHNAMURTI, V. et al. C(sp ²)-H Trifluoromethylation of enamides using TMSCF 3: access to trifluoromethylated isoindolinones, isoquinolinones, 2-pyridinones and other heterocycles. Chemical communications. 2018, vol. 54, pp. 10574-10577. See table 1.	31
X	FRECCERO, M. et al. Photochemical reaction of phthalimides and dicyanophthalimides with benzylic donors. The journal of organic chemistry. 1993, vol. 58, pp. 1740-1745. See formula 1.	31
X	ZHOU, X. et al. Rh-catalyzed annulations of N-methoxybenzamides with ketenimines: synthesis of 3-aminoisoindolinones and 3-diarylmethyleneisoindolinones with strong aggregation induced emission properties. Chemical communications. 2016, vol. 52, pp. 10676-10679. See table 2, formula 2.	31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2023/002477

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)			Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
KR	10-2019-0130983	A	25 November 2019	KR	10-2303892	B1	23 September 2021			
				WO	2019-221513	A1	21 November 2019			
KR	10-2017-0141133	A	22 December 2017	KR	10-1931433	B1	21 December 2018			
				US	11021455	B2	01 June 2021			
				US	2019-0345126	A1	14 November 2019			
				WO	2017-217741	A1	21 December 2017			

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 31/4035(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; A23L 33/10(2016.01)i; A61K 45/06(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A23K 20/195(2016.01)i; A23K 20/132(2016.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 31/4035(2006.01); A23L 33/10(2016.01); A61K 31/343(2006.01); C07D 307/88(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, Marpat), 구글 & 키워드: 인플라마좀(염증소체, inflammasome), 이소인돌리논(isoindolinone), 치주질환(periodontal disease), 신경퇴행성질환(neurodegenerative disease), 염증성 질환(inflammatory disease)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2019-0130983 A (서울대학교산학협력단) 2019.11.25 청구항 1-14; 단락 [0071], [0188]-[0191], [0227]-[0231], [0330]	1-7,10-33
Y		8,9
X	WARZECHA, K.-D. 등, "(Z)-3-(4-Methoxybenzylidene)-2-methylisoindolin-1-one", Acta Cryst., 2005, E61권, 페이지 o1074-o1075 페이지 o1074	31
Y	OLSEN, I., "Porphyromonas gingivalis-induced neuroinflammation in Alzheimer's disease", Frontiers in neuroscience, 2021, 15권, 논문번호: 1216, 내부페이지 1-5 내부페이지 1, 3	8
Y	YONEDA, M. 등, "Involvement of a periodontal pathogen, Porphyromonas gingivalis on the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease", BMC gastroenterology, 2012, 12권, 페이지 1-10 초록	9
☒ 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 2023년05월19일(19.05.2023)		국제조사보고서 발송일 2023년05월19일(19.05.2023)
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

C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2017-0141133 A (서울대학교산학협력단) 2017.12.22 청구항 1-10; 단락 [0013], [0169], [0550]; 도면 21	1-3,6,7,10-14, 17-22,25-31
Y		8,9
X	KRISHNAMURTI, V. 등, "C(sp ²)-H Trifluoromethylation of enamides using TMSCF ₃ : access to trifluoromethylated isoindolinones, isoquinolinones, 2-pyridinones and other heterocycles", Chemical communications, 2018, 54권, 페이지 10574-10577 표 1	31
X	FRECCERO, M. 등, "Photochemical reaction of phthalimides and dicyanophthalimides with benzylic donors", The journal of organic chemistry, 1993, 58권, 페이지 1740-1745 도식 1	31
X	ZHOU, X. 등, "Rh-catalyzed annulations of N-methoxybenzamides with ketenimines: synthesis of 3-aminoisoindolinones and 3-diarylmethyleneisoindolinones with strong aggregation induced emission properties", Chemical communications, 2016, 52권, 페이지 10676-10679 표 2, 도식 2	31

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2019-0130983 A	2019/11/25	KR 10-2303892 B1	2021/09/23
		WO 2019-221513 A1	2019/11/21
KR 10-2017-0141133 A	2017/12/22	KR 10-1931433 B1	2018/12/21
		US 11021455 B2	2021/06/01
		US 2019-0345126 A1	2019/11/14
		WO 2017-217741 A1	2017/12/21