

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2016년 3월 31일 (31.03.2016)



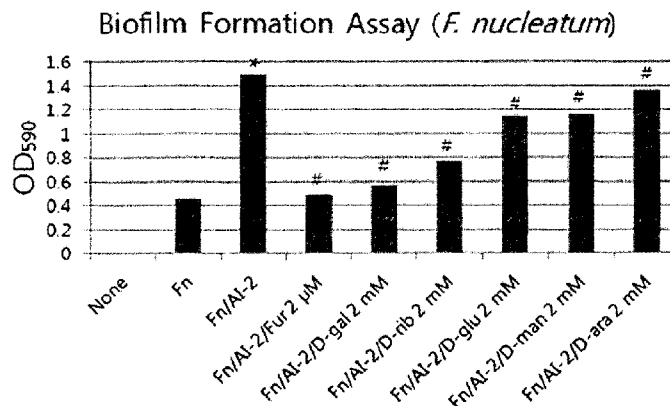
(10) 국제공개번호
WO 2016/048007 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 31/7004 (2006.01) *A61P 1/02* (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/009948
- (22) 국제출원일: 2015년 9월 22일 (22.09.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
62/054,431 2014년 9월 24일 (24.09.2014) US
- (71) 출원인: 서울대학교 산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R & DB FOUNDATION) [KR/KR]; 08826 서울시 관악구 관악로 1, Seoul (KR). 송실대학교 산학협력단 (FOUNDATION OF SOONGSIL UNIVERSITY INDUSTRY COOPERATION) [KR/KR]; 06978 서울시 동작구 상도로 369, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 최봉규 (CHOI, Bong Kyu); 07953 서울시 양천구 목동중앙북로 8길 132, Seoul (KR). 류은주 (RYU, Eun Ju); 21358 인천시 부평구 부평대로 144 1202 호, Incheon (KR). 심재현 (SIM, Jae Hyun); 10885 경기도 파주시 패랭이길 31-15, Gyeonggi-do (KR). 김병문 (KIM, Byeong Moon); 08792 서울시 관악구 낙성대로 37 201 동 1202 호, Seoul (KR). 이주련 (LEE, Julian); 05502 서울시 송파구 올림픽로 135 256 동 801 호, Seoul (KR). 심준 (SIM, Jun); 21596 인천시 남동구 담방로 21 번길 61 103 동 1113 호, Incheon (KR).
- (74) 대리인: 유미특허법인 (YOU ME PATENT AND LAW FIRM); 06134 서울시 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, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, 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 제 21 조(3))

(54) Title: QUORUM SENSING INHIBITOR CONTAINING D-GALACTOSE

(54) 발명의 명칭 : D-갈락토오스를 포함하는 퀴럼센싱 저해제

[Fig. 1]



(57) Abstract: The present invention relates to a use of D-galactose for inhibiting quorum sensing and/or preventing and/or treating bacterial oral diseases, and provides a quorum sensing inhibitor containing D-galactose, and a composition for preventing and/or treating bacterial oral diseases.

(57) 요약서: D-galactose의 퀴럼센싱 저해 및 /또는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 용도에 관한 것으로, D-galactose를 포함하는 퀴럼센싱 저해제 및 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료용 조성물이 제공된다.



WO 2016/048007 A1

【명세서】

【발명의 명칭】

D-갈락토오스를 포함하는 퀴럼센싱 저해제

5 【기술분야】

D-galactose의 퀴럼센싱 저해 및/또는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 용도에 관한 것으로, D-galactose를 포함하는 퀴럼센싱 저해제 및 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료용 조성물이 제공된다.

10 【배경기술】

충치 및 치주질환은 구강질환의 대표적인 질환으로 발치의 주요한 원인이 된다. 이러한 질환들을 효과적으로 예방하고 치료하기 위한 많은 시도들이 있었지만 현재로서는 많은 한계점을 가지고 있다.

항생제는 충치 및 치주질환을 일으키는 세균들을 직접적으로 제거하는 작용을 하지만 유익한 세균들까지 같이 죽이게 되고, 내성 등의 문제로 장기간 사용이 어렵다. 몇몇 나라에서 치주질환 치료제로 사용되고 있는 옥수수불화추출물 같은 물질은 중등도 이상의 질환에서는 실질적인 효과를 기대하기 어렵고 약효에 대한 유효성 논란이 있는 상태이다. 전 세계적으로 널리 사용되고 있는 구강청결제는 항생제와 마찬가지로 비선택적인 살균작용 문제뿐만 아니라 알코올을 함유하고 있기 때문에 구강암과 구강건조증 유발 위험이 있다.

최근 연구결과에 따르면 치주질환뿐만 아니라 충치도 한 종류의 세균에 의하여 유발되는 것이 아니라 다양한 세균들간의 신호전달 시스템에 의하여 매개된다고 알려지고 있다. 세균들에 의해서 분비되는 신호분자들이 일정한 수, 즉 정족수(Quorum)를 이루게 되면 세균들이 이를 인지(Quorum Sensing, QS)하여 퀴럼센싱 유도인자(Autoinducer, AI)를 분비하고, 세균들은 이 신호들을 감지하여 세균막 형성을 시작하고 병독성을 나타내게 된다. 현재까지 알려진 퀴럼센싱 유도인자에는 같은 종의 세균들에게 작용하는 인자(Autoinducer-1, AI-1)와 같은 종뿐만 아니라 다른 종의 세균들에게도 작용하는 인자(Autoinducer-2, AI-2), 그리고 펩타이드 계열의 퀴럼센싱 인자가 있다고 알려졌다. 그 중에서도 AI-2는 광범위하게 다른 종류의 세균들에게 작용하는 인자로서 biofilm형성과 병독성 발현에 중요한

역할을 한다.

충치 및 치주질환을 효과적으로 제어하기 위해서 병원성을 나타내는 세균들의 이러한 특징을 잘 이용하면 효과적인 구강질환 치료제를 개발할 수 있다. 다시 말하면, 세균을 직접 죽이지 않고 세균들이 세균막을 형성하고 병독성을 나타내도록 유도하는 퀴럼센싱을 효과적으로 차단하는 약물을 개발하면, 현재 치료제들이 가지고 있는 단점을 해결하는 뛰어난 예방 및 치료제가 제공될 수 있다.

퀴럼센싱 억제제는 세균을 직접 죽이지 않기 때문에 내성이 생기지 않아 장기적으로 사용할 수 있고, 특정 세균에 대한 것이 아니라 세균들 간의 의사소통을 방해하는 것이기 때문에 사용범위가 매우 넓다. 또한 항생제와 같이 사용할 경우 항생제의 작용을 도와주기 때문에 소량의 항생제만으로도 큰 효과를 발휘하도록 한다. 퀴럼센싱 억제제는 이러한 장점들을 가지고 있기 때문에 효과적으로 치주질환을 제어할 수 있는 차세대 치주질환 예방 및 치료제가 될 수 있다.

현재까지 개발된 퀴럼센싱 억제제는 퓨라논과 호모세린락톤 등을 리드화합물로 이용하여 합성된 화합물, 펩타이드 유사물질, 그리고 sugar의 일종인 D-ribose 등이 있다. 그러나 아직까지는 퀴럼센싱 억제제로 의약품이나 제품에 사용되고 있는 물질이 거의 없는 실정이다. 퀴럼센싱 억제제가 산업화에 이용되기 위해서는 실질적으로 인체에서 퀴럼센싱을 억제하는 보이는 유효성과 장기간 사용되어도 인체에 무해하다는 안전성이 모두 입증되어야만 한다. 합성된 화합물은 퀴럼센싱 저해 효능은 우수하지만 독성실험, 동물실험, 임상실험을 통하여 안전성이 확보되지 못하는 경우가 있다. Sugar의 일종인 D-ribose는 오랜 기간 사용되어 안전성의 문제는 없지만 퀴럼센싱 저해 효능이 합성물질들에 비해서 현저히 낮다는 문제점이 있다.

따라서, 우수한 퀴럼센싱 저해 효능을 가지면서 안정성 또한 확보될 수 있는 퀴럼센싱 저해제의 개발이 요구된다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

D-galactose의 퀴럼센싱 저해 활성과 관련된 용도가 제공된다.

구체적으로, 일 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 포함하는 세균의 퀴럼센싱 저해용 조성물을 제공한다.

다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균의 퀴럼센싱 저해를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균의 퀴럼센싱 저해 방법을 제공한다.

다른 예는 세균의 퀴럼센싱 저해에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

5 다른 예는 세균의 퀴럼센싱 저해제 생산에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 포함하는 세균의 biofilm 형성 저해용 조성물을 제공한다.

10 다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균의 biofilm 형성 저해를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균의 biofilm 형성 저해 방법을 제공한다.

다른 예는 세균의 biofilm 형성 저해에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

다른 예는 세균의 biofilm 형성 저해제 생산에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

15 다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

다른 예는 D-galactose를 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

20 다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 또는 개선을 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 및/또는 개선 방법을 제공한다.

다른 예는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 및/또는 개선에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

25 다른 예는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 및/또는 개선용 조성물의 제조에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

상기 예방 및/또는 치료용 조성물, 예방 및/또는 치료 방법, 및/또는 용도에 있어서, 상기 세균성 구강 질환은 충치 (dental caries), 치주질환 (예컨대, 치주염, 치은염, 등) 일 수 있다

30 **【기술적 해결방법】**

D-galactose는 sugar의 일종으로 우유에서 얻을 수 있다. 우유의 2~8%를 구성하고 있는 lactose가 단당류로 분해되면서 glucose와 D-galactose로 분해된다. D-galactose는 천연물질로 오랜 기간 동안 사용된 물질로 효능만 입증된다면 즉시 산업화가 가능하다. 본 명세서에서는 D-galactose가 기존의 퀴럼센싱 억제 기능을 갖는 것으로 알려진 D-ribose보다 2배 정도의 퀴럼센싱 억제 효능을 나타낸다는 것을 밝혀서, D-galactose의 퀴럼센싱 저해제로서의 용도를 제안한다.

퀴럼센싱(Quorum Sensing, QS)은 세균간의 의사소통으로 이것에 의해 세균막(biofilm)이 형성되고 병독성의 발현이 증가한다. 퀴럼센싱 억제제는 항생제의 한계를 극복하고, 충치 및 치주감염 등 구강질환을 효과적으로 제어할 수 있는 차세대 항생물질로 전도유망한 물질이다. 따라서, 본 명세서에서는 D-galactose의 퀴럼센싱 억제 효과에 의한 항생제의 한계를 극복할 수 있는 세균성 구강 질환, 예컨대, 세균성 구강 질환 치료제로서의 용도를 제안한다.

우선, 일 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 포함하는 세균의 퀴럼센싱 저해용 조성물을 제공한다.

다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균의 퀴럼센싱 저해를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균의 퀴럼센싱 저해 방법을 제공한다.

다른 예는 세균의 퀴럼센싱 저해에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

다른 예는 세균의 퀴럼센싱 저해제 생산에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

상기 세균은 구강질환 유발균일 수 있다. 상기 구강질환 유발균은 *Fusobacterium*속 세균 (e.g., *Fusobacterium nucleatum*, 등), *Porphyromonas*속 세균 (e.g., *Porphyromonas gingivalis* 등), *Tannerella*속 세균 (e.g., *Tannerella forsythia* 등), *Aggregatibacter* 속 세균 (e.g., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 등), *Treponema* 속 세균 (e.g., *Treponema denticola* 등), *Prevotella*속 세균 (e.g., *Prevotella intermedia* 등) 등의 치주질환 유발균; 일부 *Streptococcus*속 세균 (e.g., *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* 등) 등의 치아우식균 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상, 예컨대, 1종, 2종 이상, 또는 3종 이상일 수 있다.

앞서 설명한 바와 같이, 세균들에 의해서 분비되는 신호분자들이 일정한 수, 즉 정족수(Quorum)를 이루게 되면 세균들이 이를 인지(Quorum Sensing, QS)하여

5 퀴럼센싱 유도인자(Autoinducer, AI)를 분비하고, 세균들은 이 신호들을 감지하여
 세균막 형성을 시작하고 병독성을 나타내게 된다. 따라서, 퀴럼센싱 유도인자를
 저해하면 퀴럼센싱을 저해하고, 더 나아가 세균막 (biofilm) 형성을 저해하고
 병독성을 나타내지 않도록 할 수 있다. 상기와 같은 퀴럼센싱 유도인자에는 같은
 5 종의 세균들에게 작용하는 인자(Autoinducer-1, AI-1)와 같은 종뿐만 아니라 다른 종의
 세균들에게도 작용하는 인자(Autoinducer-2, AI-2), 펩타이드 계열의 퀴럼센싱 인자
 등이 있다. 그 중에서도 AI-2는 광범위하게 동종 세균뿐 아니라 다른 종류의
 세균들에게 작용하는 인자로서 biofilm형성과 병독성 발현에 중요한 역할을 한다.

10 본 명세서의 실시예 7에 입증된 바와 같이, D-galactose는 우수한 AI-2 활성
 저해 효과를 갖는다.

따라서, 다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 포함하는 세균의 퀴럼센싱
 유도 인자 저해용 조성물을 제공한다.

15 다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균의 퀴럼센싱 유도 인자 저해를
 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균의 퀴럼센싱 유도 인자 저해
 방법을 제공한다.

다른 예는 세균의 퀴럼센싱 유도 인자 저해에 사용하기 위한 D-galactose의
 용도를 제공한다.

다른 예는 세균의 퀴럼센싱 유도 인자 저해제 생산에 사용하기 위한 D-
 galactose의 용도를 제공한다.

20 상기 퀴럼센싱 유도 인자는, Autoinducer-1 (AI-1), Autoinducer-2 (AI-2), 또는
 이들의 혼합물일 수 있으며, 예컨대, AI-2일 수 있다. 상기 퀴럼센싱 유도인자는
 구강질환 유발균에서 유래하는(분리된) 것일 수 있다. 예컨대, 상기 퀴럼센싱
 유도인자는 *Fusobacterium*속 세균 (e.g., *Fusobacterium nucleatum* 등), *Porphyromonas*속
 세균 (e.g., *Porphyromonas gingivalis* 등), *Tannerella*속 세균 (e.g., *Tannerella forsythia* 등),
 25 *Aggregatibacter* 속 세균 (e.g., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 등), *Treponema* 속
 세균 (e.g., *Treponema denticola* 등), *Prevotella*속 세균 (e.g., *Prevotella intermedia* 등)
 등의 치주질환 유발균; 일부 *Streptococcus*속 세균 (e.g., *Streptococcus mutans*,
Streptococcus sobrinus 등) 등의 치아우식균 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상,
 예컨대, 1종, 2종 이상, 또는 3종 이상에서 유래하는(분리된) 것일 수 있다. 일
 30 예에서, 상기 퀴럼센싱 유도인자는 *Fusobacterium nucleatum*에서 유래하는 AI-2일 수

있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

앞서 설명한 바와 같이, 퀴럼센싱 유도인자를 저해함으로써 세균의 세균막 (biofilm) 형성을 저해할 수 있다.

따라서, 다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 포함하는 세균의 세균막 (biofilm) 형성 저해용 조성물을 제공한다.

다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균의 세균막 (biofilm) 형성 저해를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균의 세균막 (biofilm) 형성 저해 방법을 제공한다.

다른 예는 세균의 세균막 (biofilm) 형성 저해에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

다른 예는 세균의 세균막 (biofilm) 형성 저해제 생산에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

상기 세균막은 구강질환 유발균, 예컨대, *Fusobacterium*속 세균 (e.g., *Fusobacterium nucleatum* 등), *Porphyromonas*속 세균 (e.g., *Porphyromonas gingivalis* 등), *Tannerella*속 세균 (e.g., *Tannerella forsythia* 등), *Aggregatibacter* 속 세균 (e.g., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 등), *Treponema* 속 세균 (e.g., *Treponema denticola* 등), *Prevotella*속 세균 (e.g., *Prevotella intermedia* 등) 등의 치주질환 유발균; 일부 *Streptococcus*속 세균 (e.g., *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* 등) 등의 치아우식균 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상, 예컨대, 1종, 2종 이상, 또는 3종 이상에 의하여 형성되는 것일 수 있다.

세균에 의한 세균막 (biofilm) 형성은 병독성 (virulence)과 관련 있으므로, 세균막 형성 저해 효과에 의하여 병원성 세균의 병독성이 저감될 수 있고, 상기 병원성 세균과 관련된 세균성 구강 질환을 예방 및/또는 치료할 수 있다.

따라서, 다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

다른 예는 D-galactose를 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 개선용 식품 조성물을 제공한다. 상기 식품 조성물은 각종 식품, 음료, 식품 첨가제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균성 구강 질환 유발균의 저해를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균성 구강 질환 유발균의 저해

방법을 제공한다. 상기 대상은 세균성 구강 질환 유발균의 병독성 저감을 필요로 하는 대상일 수 있으며, 저해 방법은 세균성 구강 질환 유발균의 병독성을 저감시키는 것일 수 있다.

다른 예는 D-galactose의 약학적 유효량을 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 또는 개선을 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 및/또는 개선 방법을 제공한다.

다른 예는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 및/또는 개선에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

다른 예는 세균성 구강 질환의 예방 및/또는 치료 및/또는 개선용 조성물의 제조에 사용하기 위한 D-galactose의 용도를 제공한다.

상기 세균성 구강 질환은 세균성 구강 질환일 수 있으며, 예컨대, 충치 (dental caries), 치주질환 (예컨대, 치주염, 치은염, 등) 일 수 있다. 상기 세균성 구강 질환 유발균은 예컨대, *Fusobacterium*속 세균 (e.g., *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium polymorphum*, 등), *Porphyromonas*속 세균 (e.g., *Porphyromonas gingivalis* 등), *Tannerella*속 세균 (e.g., *Tannerella forsythia* 등), *Aggregatibacter* 속 세균 (e.g., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 등), *Treponema* 속 세균 (e.g., *Treponema denticola* 등), *Prevotella*속 세균 (e.g., *Prevotella intermedia* 등) 등의 치주질환 유발균; 일부 *Streptococcus*속 세균 (e.g., *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* 등) 등의 치아우식균 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상, 예컨대, 1종, 2종 이상, 또는 3종 이상일 수 있다.

본 명세서에 제안된 조성물, 방법, 및/또는 용도에 있어서, 유효성분인 D-galactose는 (비병원성) 구강 상주균에 대해서는 퀴럼센싱 억제, 퀴럼센싱 유도 인자 저해, 세균막 형성 저해 등의 억제 효과를 나타내지 않는 것을 특징으로 할 수 있다. 상기 구강 상주균은 구강에 상주하지만 병원성을 나타내지 않으며, 경우에 따라서는 구강 면역에 관여한다. 따라서, 본 명세서에 제안된 조성물, 방법 및/또는 용도에 있어서, 상기 D-galactose를 유효성분으로 사용함으로써, 구강 상주균을 저해하지 않고, 앞서 설명한 구강 질환 유발균을 선택적으로 저해하여, 구강 건강을 유지하면서 구강 질환의 예방 및/또는 치료 효과를 발휘할 수 있다. 상기 구강 상주균은 *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

본 명세서에 제안된 조성물, 방법, 및/또는 용도에 있어서, 유효성분인 D-galactose는 사용 형태 및 목적, 적용 대상의 상태, 증상의 종류 및 경중 등에 따라서 그 사용량(합량)을 적절하게 조절할 수 있다. 예컨대, 조성물 내 D-galactose의 합량은 0.001 내지 50 중량%, 0.001 내지 30중량%, 0.001 내지 10중량%, 0.001 내지 5 중량%, 또는 0.001 내지 1중량%일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

또한, 상기 유효성분의 투여 용량은 대상의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태, 및 질환정도 등에 따라 적절히 조절될 수 있으며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다. 예컨대, 상기 유효성분의 1회 적용량은 0.0001 내지 100mg/kg 또는 0.0005 내지 50mg/kg일 수 있다. 상기 적용량은 평균적인 경우를 예시한 것으로서 개인적인 차이에 따라 그 적용량이 높거나 낮을 수 있다.

본 명세서에 사용된 "약학적 유효량"은 소망하는 약리적 효과를 나타낼 수 있는 유효 성분의 합량 또는 투여량을 의미하는 것일 수 있으며, 제제화 방법, 투여 방식, 대상의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 간격, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 정해질 수 있다.

상기 유효성분인 D-galactose의 투여 대상은 인간을 포함하는 포유동물일 수 있으며, 다양한 경로로 투여될 수 있다. 상기 유효 성분의 투여 방식은 통상적으로 사용되는 모든 투여 방식일 수 있으나, 예컨대, 경구 투여, 구강 투여, 병변 부위 국소 투여(예컨대 구강 점막, 치아, 치은, 혀 등의 구강 외용 투여)와 같은 비경구 투여일 수 있다. 상기 약학 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구 제형, 경피제, 및 멸균 주사용액의 형태의 비경구 제형, 또는 용액, 현탁액, 에멀전, 시럽, 페이스트, 패치, 에어로졸, 연고, 스프레이 등의 구강 점막, 치아, 치은, 혀 등의 구강 외용 투여를 위한 제형등으로 제형화하여 사용될 수 있다.

상기 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 허용 및/또는 식품학적으로 적합 및/또는 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 및 희석제 등의 보조제를 추가로 함유하는 것일 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물,

메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용할 수 있다.

- 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며,
- 5 이러한 고형 제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 연고제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에
- 10 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여 또는 구강 외용 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 경피제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

- 15 상기 건강 기능성 식품에 함유된 유효성분으로서의 생약 추출물의 함량은 식품의 형태, 소망하는 용도 등에 따라 적절하게 특별한 제한이 없으며, 예컨대, 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

- 또 다른 예는, D-galactose 를 함유하는 구강 제품을 제공한다. 또 다른 예는
- 20 D-galactose의 구강 제품으로 사용하기 위한 용도 또는 구강 제품 제조에 사용하기 위한 용도를 제공한다. 상기 구강 제품은 세균성 구강 질환, 예컨대 충치, 치주질환 등의 예방 및/또는 개선에 효과가 있다. 상기 구강 제품은 치약, 구강 청정제, 구강 스프레이, 껌, 구강 연고, 구강 패취제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

- 25 상기의 구강 제품은 종류 및 사용목적에 따라 통상 사용하는 연마제, 습윤제, 결합제, 기포제, 감미제, 방부제, 약효제, 향료, 산성도 조정제, 증백제 등으로 이루어진 군에서 선택된 첨가제를 적당량 추가로 배합하여 사용할 수 있다.

- 예컨대, 상기 연마제는 인산일수소칼슘, 침강 실리카, 탄산 칼슘, 함수 알루미늄, 카오린, 중조(NaHCO_3) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을
- 30 사용할 수 있으며, 연마제의 함량은 20 내지 60 중량%(전체 제품 중량 기준, 이하

- 동일)로 사용할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 습윤제로는 글리세린, 소르비톨, 비결정성 소르비톨액, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 자이리톨 등으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 20 내지 60 중량%를 사용할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 결합제로는 카라기난, 잔탄검, 카르복시 메틸 셀룰로오스 나트륨, 카르복시 비닐 폴리머, 알긴산 나트륨, 라포나이트 등으로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 0.1 내지 3.0 중량%, 예컨대, 0.5 내지 2.0 중량%를 사용할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 기포제로는 라우릴 황산 나트륨, 라우릴 사르코신산 나트륨 등의 음이온 계면활성제와, 소르비탄 지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 경화 피마자유, 폴리옥시에틸렌, 폴리옥시프로필렌계 축합 고분자 물질 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있으며, 기포제의 함량은 0.5 내지 5.0 중량%, 예컨대, 0.5 내지 3.5 중량%로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 감미제는 사카린 나트륨, 아스파탐, 감초산 등을 단독 또는 2 종 이상 혼합 사용할 수 있으며, 함량은 0.05 내지 0.5 중량%로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 방부제로는 파라옥시 안식향산 에스테르, 안식향산 나트륨 등을 단독 또는 2 종 이상 혼합 사용할 수 있다. 상기 약효제로는 불화나트륨, 불화인산나트륨, 불화 제일석, 불화아민, 클로르헥시딘, 트라넥사민산, 알란토인류, 카프론산류, 폴리인산염류, 효소류 및 생약추출물 등을 사용할 수 있다. 향료로는 페퍼민트 오일, 스페아민트 오일, 멘톨, 카르본 등을 적당량 혼합하여 사용할 수 있다. 상기 산성도 조정제로는 인산, 인산나트륨, 구연산, 구연산나트륨, 호박산, 호박산나트륨, 주석산, 주석산 나트륨 등을 사용할 수 있으며, 바람직한 산성도는 5 내지 8 정도이다. 상기 증백제로는 산화티탄을 사용할 수 있으며, 예컨대, 0.1 내지 2 중량%로 사용하는 것이 좋으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

25 【발명의 효과】

상기한 바와 같이, D-galactose가 sugar 종류 중에서 퀴럼센싱 억제제로서 가장 뛰어난 활성을 가지고 있다고 알려진 D-ribose보다 훨씬 더 우수한 효능을 가지고 있음이 제안된다. D-galactose는 구강의 양대질환인 치주염과 충치 유발균의 퀴럼센싱에 의한 biofilm 형성을 효과적으로 차단할 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 *F. nucleatum* (Fn)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 crystal violet 염색으로 확인한 결과를 보여주는 그래프이다 (*: Fn biofilm('Fn'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 (p<0.05); #: Fn에 AI-2를 첨가했을 때 형성된 biofilm('Fn/AI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 (p<0.05)).

도 2는 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 *F. nucleatum* (Fn)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 형광염색으로 확인한 결과를 보여주는 형광이미지로서, 연한 회색으로 표시된 부분은 살아있는 세균을 보여준다 (bar: 10μm).

도 3은 도 2의 형광이미지의 형광세기를 정량화하여 보여주는 그래프이다 (*: Fn 단독 biofilm('Fn'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임(p<0.05); #: Fn에 AI-2를 첨가했을 때 형성된 biofilm('Fn/AI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임(p<0.05)).

도 4는 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 *P. gingivalis* (Pg)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 crystal violet 염색으로 확인한 결과를 보여주는 그래프이다 (*: Pg 단독 biofilm('Pg'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 (p<0.05); #: Pg에 AI-2를 첨가했을 때 형성된 biofilm('Pg/AI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 (p<0.05)).

도 5는 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 *P. gingivalis* (Pg)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 형광염색으로 확인한 결과를 보여주는 형광이미지로서, 연한 회색으로 표시된 부분은 살아있는 세균을 보여준다 (bar: 10 μm).

도 6은 도 5의 형광이미지의 형광세기를 정량화하여 보여주는 그래프이다 (*: Pg 단독 biofilm('Pg'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임(p<0.05); #: Pg에 AI-2를 첨가했을 때 형성된 biofilm('Pg.FnAI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임(p<0.05)).

도 7은 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 *T. forsythia* (Tf)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 crystal violet 염색으로 확인한 결과를 보여주는 그래프이다 (*: Tf 단독 biofilm('Tf'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을

보임 ($p<0.05$); #: Tf에 AI-2를 첨가했을 때 형성된 biofilm('Tf/AI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 ($p<0.05$)).

도 8은 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 *T. forsythia* (Tf)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 형광염색으로 확인한 결과를 보여주는

5 형광이미지이다 (bar: 10 μ m).

도 9는 도 8의 형광이미지의 형광세기를 정량화하여 보여주는 그래프이다 (*: Tf biofilm('Tf'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임($p<0.05$); #: Fn에 AI-2를 첨가했을 때 형성된 biofilm('Tf.FnAI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임($p<0.05$)).

10 도 10은 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn 분비물에 의해 유도된 *P. gingivalis* (Pg)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 crystal violet 염색으로 확인한 결과를 보여주는 그래프이다 (*: Pg 단독 biofilm('Pg alone'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 ($p<0.05$); #: Pg에 Fn 분비물을 첨가했을 때 형성된 biofilm('Fn/Pg/AI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 ($p<0.05$)).

15 도 11은 퀴럼센싱 저해제 후보물질들의 Fn 분비물에 의해 유도된 *T. forsythia* (Tf)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 crystal violet 염색으로 확인한 결과를 보여주는 그래프이다 (*: Tf 단독 biofilm('Tf alone'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 ($p<0.05$); #: Tf에 Fn 분비물을 첨가했을 때 형성된 biofilm('Fn/Tf/AI-2'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임 ($p<0.05$)).

20 도 12는 *V. harveyi* BB170에 Fn AI-2와 퀴럼센싱 저해제 후보물질들을 처리한 경우에 측정된 bioluminescence 정도를 나타낸 그래프로써, bioluminescence 정도가 낮을수록 Fn AI-2 활성 저해 효과가 높음을 의미한다.

도 13은 D-gal이 처리된 경우와 처리되지 않은 경우의 *F. nucleatum*의 성장곡선이다.

25 도 14는 D-gal의 *S. mutans* (Sm)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 crystal violet 염색으로 확인한 결과를 보여주는 그래프이다 (#: Sm 단독 biofilm ('Sm'으로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임($p<0.05$)).

도 15는 D-gal의 *S. mutans* (Sm)의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 형광염색으로 확인한 결과를 보여주는 형광이미지이다 (bar: 10 μ m).

30 도 16은 도 15의 형광이미지의 형광세기를 정량화하여 보여주는 그래프이다

(#: *S. mutans* (Sm))과 비교할 때 통계적 유의성을 보임($p < 0.05$)).

도 17은 D-gal의 So의 biofilm 형성에 대한 저해 효과를 crystal violet 염색으로 확인한 결과를 보여주는 그래프이다 (#: So 단독 biofilm('So'로 표시)과 비교할 때 통계적 유의성을 보임($p < 0.05$)).

【발명의 실시를 위한 형태】

Hereafter, the present invention will be described in detail by examples.

The following examples are intended merely to illustrate the invention and are not construed to restrict the invention.

실시예 1: 세균 배양

쿼럼센싱 시험에 사용하기 위하여, 치주질환 유발균인 *F. nucleatum* (ATCC 25586)을 peptic medium (6 g of peptic digest of animal tissue, 6 g of desiccated beef extract, 5 g of sodium chloride, 14.5 g of pancreatic digest of casein, 2.5 g of sodium phosphate)에서 배양하고, *P. gingivalis* (ATCC 33277)을 hemin (10 mg/ml)과 vitamin K (0.2 mg/ml)가 첨가된 brain heart infusion medium 에서 배양하였으며, *T. forsythia* (ATCC 43037)를 vitamin K (0.2 mg/ml)와 N-acetylmuramic acid (0.01 mg/ml)가 첨가된 new oral spirochete (NOS) broth (ATCC medium 1494)에서 배양하였다. 상기 세균들의 배양은 37°C에서 2-4일 동안 anaerobic conditions (5% H₂, 10% CO₂ and 85% N₂)에서 수행하였다. AI-2 reporter strain *Vibrio harveyi* BB170(ATCC BAA-1117)와 AI-2 producing strain *V. harveyi* BB152(ATCC BAA-1119)는 30°C에서 OD660 nm = 0.7이 될 때까지 autoinducer bioassay (AB) medium (ATCC Medium 2746)에서 배양하였다. 또한, 치아우식균인 *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)와 구강 상주균인 *Streptococcus oralis* (ATCC 9811)는 tryptic soy broth (TSB) 배지(17 g of pancreatic digest of casein, 3 g of enzymatic digest of soybean meal, 2.5 g of dextrose, 5 g of sodium chloride, 2.5 g of dipotassium phosphate) 에서 37°C, 호기조건에서 24시간 동안 배양하였다.

실시예 2: 쿼럼센싱(QS) 억제제 후보물질 준비

쿼럼센싱(QS) 유도인자-2(Autoinducer-2, AI-2)의 억제제(AI-2 Quorum Sensing Inhibitor, QSI) 후보물질로 D-ribose (D-rib), D-galactose (D-gal), D-glucose (D-Glu), D-

mannose(D-Man)와 D-arabinose(D-ara)를 준비하였다. D-ribose는 Tokyo Chemical Industry Co. (Tokyo, Japan)에서 구매하였고, 나머지 물질들은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다. 또한, QSI 후보물질(양성대조군)로서 합성화합물인 (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanone (furanone compound; Fur)를 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 준비하였다.

실시예 3: *F. nucleatum* (Fn)의 biofilm 형성에 대한 억제 효과 시험

F. nucleatum (Fn)은 치주세균의 biofilm을 형성하는데 매개체 역할을 하는 치주질환의 핵심 세균으로 치주질환에서 아주 중요한 역할을 하는 세균이다.

Fn에 의한 Biofilm 형성을 시험하기 위해서, 24-well plate에 들어 있는 glass slip (round, 12 mm radius)에 Fn 배양액 (2ml; 음성대조군, 세균 수 2×10^7 /ml), Fn 배양액 (2 ml)과 *F. nucleatum* AI-2 (C18 Sep-Pak reverse-phase column (Waters Co., Milford, MA)을 사용하여 *F. nucleatum* 배양액의 *F. nucleatum* 분비물로부터 정제됨; 이하 'Fn AI-2'; Fn 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v))와의 혼합물, 또는 Fn 배양액 (2ml)과 Fn AI-2 (Fn 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v))와 각각의 QSI 후보물질과의 혼합물을 첨가한 후, 혐기 조건하에서 48~72시간 동안 배양하였다. 상기 QSI 후보물질은 당류 (D-rib, D-gal, D-Glu, D-Man, 또는 D-ara)의 경우 각각 2mM, furanone 화합물 [(5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanone]의 경우 2 μ M의 양으로 사용하였다.

cover slip위에 형성된 biofilm은 10%(w/v) crystal violet[Tris(4-(dimethylamino)phenyl)methylmethyl chloride]을 사용하여 10분간 염색한 후 PBS로 세 번 정도 씻어내고 1 ml acetone-alcohol (20:80, v/v)을 사용하여 탈염색하였다. Crystal violet을 포함한 탈염색 용액의 optical density를 590 nm에서 microplate reader (a Wallac Victor3 microtiter, PerkinElmer Life Sciences, Waltham, MA)를 사용하여 측정하였다. 590nm에서 측정된 optical density (OD₅₉₀) 값이 작을수록 biofilm의 형성이 보다 억제됨, 즉 사용된 QSI 후보물질의 퀴럼센싱 억제 효능이 크다는 것을 보여준다.

상기 얻어진 Fn의 biofilm 형성 결과를 아래의 표 1 및 도 1에 나타내었다:

[표 1]

sample	OD _{590nm}
None	0

Fn	0.46
Fn/AI-2 (음성대조군)	1.5
Fn/AI-2/Fur 2 μ M	0.49
Fn/AI-2/D-gal 2 mM	0.57
Fn/AI-2/D-rib 2 mM	0.77
Fn/AI-2/D-glu 2 mM	1.15
Fn/AI-2/D-man 2 mM	1.16
Fn/AI-2/D-ara 2 mM	1.37

상기 표 1 및 도 1에 나타난 바와 같이, Fn에 AI-2만 첨가한 경우에는 biofilm의 형성이 증가되었다가 D-gal 같은 QSI 후보물질 첨가한 후에 biofilm형성이 억제된 것을 볼 수 있다. 상기 결과에서 QSI 후보물질로 사용된 모든 당류가 음성대조군과 비교하여 유의미한 정도의 QSI 억제 효과를 보임을 알 수 있고, 특히
5 그 중에서도 D-gal는 furanone 화합물과 동등 정도로 우수한 QSI 억제 효과 (biofilm형성 억제 효과)를 나타냄을 확인할 수 있다.

또한, 각 QSI 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 Fn의 biofilm 형성에 대한 억제 효과를 형광염색으로 확인하였다. Fn 배양액은 2 ml(세균수 2×10^7 /ml)의 양으로 사용하고, Fn AI-2는 Fn 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v)의 양으로
10 사용하였다. QSI 후보물질의 사용량은 D-rib 또는 D-gal의 경우 각각 200mM, furanone 화합물의 경우 20 μ M로 하였다. cover slip위에 형성된 세균막을 live/dead-BacLight viability kit (Invitrogen, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 형광물질로 염색한 후 공초점현미경(Carl Zeiss, LSM 700)으로 관찰하였다. 상기 얻어진 형광이미지를 도 2에 나타내었다. 형광이미지에서, 살아있는 세균은 SYTO green으로 염색되어
15 초록형광을 나타내고 (도 2에서 연한 회색으로 표시됨), 죽은 세균은 propidium iodide(PI)로 염색되어 붉은 형광을 나타낸다. 상기 얻어진 각각의 형광이미지의 형광강도를 공초점 현미경의 ZEN 2010 프로그램을 이용하여 정량 분석하여, 도 3에 나타내었다.

도 2 및 도 3에 나타난 바와 같이, 형성된 Fn biofilm을 형광염색한 후
20 공초점현미경으로 분석한 결과, crystal violet 염색으로 분석한 결과와 마찬가지로, Fn에 AI-2만 투여한 경우에는 Fn의 biofilm의 형성이 증대되었다가 D-gal, D-rib 등의 QSI 후보물질을 투여한 후에는 Fn의 biofilm 형성이 억제된 것을 알 수 있으며, 특히, D-gal은 Fn의 biofilm 형성 억제효과가 현저하게 우수한 것을 확인할 수 있다.

실시예 4: *P. gingivalis*(Pg)의 biofilm 형성에 대한 억제 효과 시험

P. gingivalis (Pg)는 치조골 소실 등 치주염뿐만 아니라 동맥경화 등 전신질환과도 연관성이 매우 높은 중요한 세균으로 알려져 있다.

- 5 Pg에 의한 Biofilm 형성을 시험하기 위해서, 상기 실시예 3과 동일한 시험을 수행하였다. 즉, 24-well plate에 들어 있는 glass slip (round, 12 mm radius)에 Pg 배양액 (2ml; 음성대조군, 세균수 4×10^8 /ml), Pg 배양액 (2 ml)과 Fn AI-2 (Pg 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v))와의 혼합물, 또는 Pg 배양액 (2ml)과 Fn AI-2 (Fn 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v)와 D-gal (2mM)과의 혼합물을 첨가한 후, 10 혐기 조건하에서 48~72시간 동안 배양하였다. 비교를 위하여, D-gal (2mM) 대신 furanone 화합물 [(5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanone] 2 μ M를 사용하여 동일한 시험을 수행하였다.

- cover slip위에 형성된 biofilm은 10%(w/v) crystal violet[Tris(4-(dimethylamino)phenyl)methylum chloride]을 사용하여 10분간 염색한 후 PBS로 세 번 15 정도 씻어내고 1 ml acetone-alcohol (20:80, v/v)을 사용하여 탈염색하였다. Crystal violet을 포함한 탈염색 용액의 optical density를 590 nm에서 microplate reader (a Wallac Victor3 microtiter, PerkinElmer Life Sciences, Waltham, MA)를 사용하여 측정하였다. 590nm에서 측정된 optical density (OD₅₉₀) 값이 작을수록 biofilm의 형성이 보다 억제됨, 즉 사용된 QSI 후보물질의 퀴럼센싱 억제 효능이 크다는 것을 보여준다.

- 20 상기 얻어진 Pg의 biofilm 형성 결과를 아래의 표 2 및 도 4에 나타내었다:

[표 2]

Sample	OD _{590nm}
None	0
Pg	0.66
Pg/AI-2(음성대조군)	2.00
Pg/AI-2/Fur 2 μ M	0.98
Pg/AI-2/D-gal 2 mM	1.24

상기 표 2 및 도 4에 나타난 바와 같이, D-gal은 furanone 화합물과 유사한 정도로 Pg의 biofilm 형성을 억제하였다.

- 25 또한, D-gal의 Fn AI-2에 의해 유도된 Pg의 biofilm 형성에 대한 억제 효과를

형광염색으로 확인하였다. Pg 배양액은 2 ml(세균수 4×10^8 /ml)의 양으로 사용하고, Fn AI-2은 Pg 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v)의 양으로 사용하였다. D-gal의 사용량은 200mM로 하였고, 비교를 위하여, furanone 화합물 20 μ M를 사용하여 동일한 시험을 수행하였다. cover slip위에 형성된 세균막을 live/dead-BacLight viability kit (Invitrogen, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 형광물질로 염색한 후 공초점현미경(Carl Zeiss, LSM 700)으로 관찰하였다. 상기 얻어진 형광이미지를 도 5에 나타내었다. 형광이미지에서, 살아있는 세균은 SYTO green으로 염색되어 초록형광을 나타내고 (도 5에서 연한 회색으로 표시됨), 죽은 세균은 propidium iodide(PI)로 염색되어 붉은 형광을 나타낸다. 상기 얻어진 각각의 형광이미지의 형광강도를 공초점 현미경의 ZEN 2010 프로그램을 이용하여 정량 분석하여, 도 6에 나타내었다.

도 5 및 도 6에 나타난 바와 같이, 형성된 Pg biofilm을 형광염색한 후 공초점현미경으로 분석한 결과, crystal violet 염색으로 분석한 결과와 마찬가지로, Pg에 AI-2만 투여한 경우에는 Pg의 biofilm의 형성이 증대되었다가, D-gal 등의 QSI 후보물질을 투여한 후에는 Pg의 biofilm 형성이 억제된 것을 알 수 있으며, D-gal은 furanone 화합물과 유사한 정도로 Pg의 biofilm 형성을 억제하는 것을 확인할 수 있다.

실시에 5: *T. forsythia* (Tf)의 biofilm 형성에 대한 억제 효과 시험

T. forsythia (Tf)는 치주조직에 가장 높은 병독력을 나타내는 red complex의 한 종류이다.

Tf에 의한 Biofilm 형성을 시험하기 위해서, 상기 실시예 3과 동일한 시험을 수행하였다. 즉, 24-well plate에 들어 있는 glass slip (round, 12 mm radius)에 Tf 배양액 (2ml; 음성대조군 세균수 2×10^8 /ml), Tf 배양액 (2 ml)과 Fn AI-2 (Tf 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v))와의 혼합물, 또는 Tf 배양액 (2ml)과 Fn AI-2 (Tf 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v))와 D-gal (2mM)과의 혼합물을 첨가한 후, 혐기 조건하에서 48~72시간 동안 배양하였다. 비교를 위하여, D-gal 대신 D-rib 2mM 또는 furanone 화합물 [(5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanone] 2 μ M를 사용하여 동일한 시험을 수행하였다.

cover slip위에 형성된 biofilm은 10%(w/v) crystal violet[Tris(4-

(dimethylamino)phenyl)methylium chloride]을 사용하여 10분간 염색한 후 PBS로 세 번 정도 씻어내고 1 ml acetone-alcohol (20:80, v/v)을 사용하여 탈염색하였다. Crystal violet을 포함한 탈염색 용액의 optical density를 590 nm에서 microplate reader (a Wallac Victor3 microtiter, PerkinElmer Life Sciences, Waltham, MA)를 사용하여 측정하였다.

- 5 590nm에서 측정된 optical density (OD₅₉₀) 값이 작을수록 biofilm의 형성이 보다 억제됨, 즉 사용된 QSI 후보물질의 퀴럼센싱 억제 효능이 크다는 것을 보여준다.

상기 얻어진 Tf의 biofilm 형성 결과를 아래의 표 3 및 도 7에 나타내었다:

[표 3]

Sample	OD _{590nm}
None	0
Tf	0.32
Tf/AI-2(음성대조군)	0.48
Tf/AI-2/Fur 2μ M	0.35
Tf/AI-2/D-gal 2 mM	0.2
Tf/AI-2/D-rib 2 mM	0.41

- 10 상기 표 3 및 도 7에 나타난 바와 같이, D-gal과 D-rib는 Tf의 biofilm 형성을 유의미한 정도로 억제하였으며, 특히 D-gal의 Tf의 biofilm 형성 억제 효과가 우수하였다.

- 또한, 각 QSI 후보물질들의 Fn AI-2에 의해 유도된 Tf의 biofilm 형성에 대한 억제 효과를 형광염색으로 확인하였다. Tf 배양액은 2 ml(세균수 2×10^8 /ml)의 양으로 사용하고, Fn AI-2은 Tf 배양액과의 혼합물 총 부피 대비 10%(v/v)의 양으로
- 15 사용하였다. QSI 후보물질의 사용량은 D-rib 또는 D-gal의 경우 각각 200mM, furanone 화합물의 경우 20μM로 하였다. cover slip위에 형성된 세균막을 live/dead-BacLight viability kit (Invitrogen, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 형광물질로 염색한 후 공초점현미경(Carl Zeiss, LSM 700)으로 관찰하였다. 상기 얻어진 형광이미지를 도
- 8에 나타내었다. 형광이미지에서, 살아있는 세균은 SYTO green으로 염색되어
- 20 초록형광을 나타내고, 죽은 세균은 propidium iodide(PI)로 염색되어 붉은 형광을 나타낸다. 상기 얻어진 각각의 형광이미지의 형광강도를 공초점 현미경의 ZEN 2010 프로그램을 이용하여 정량 분석하여, 도 9에 나타내었다.

도 8 및 도 9에 나타난 바와 같이, 형성된 Tf biofilm을 형광염색한 후 공초점현미경으로 분석한 결과, crystal violet 염색으로 분석한 결과와 마찬가지로,

Tf에 AI-2만 투여한 경우에는 Tf의 biofilm의 형성이 증대되었다가, D-gal, D-rib 등의 QSI 후보물질들을 투여한 후에는 Tf의 biofilm 형성이 억제된 것을 알 수 있으며, 특히, D-gal가 가장 우수한 Tf의 biofilm 형성 억제 효과는 나타냄을 확인할 수 있다.

5 실시예 6: Transwell을 이용하여 *F. nucleatum*(Fn) 분비물질에 의해 유도되는 *P. gingivalis*(Pg)와 *T. forsythia*(Tf) biofilm 형성에 대한 억제효능 시험

F. nucleatum (Fn)이 분비하는 물질에 의한 치주병원균의 biofilm 형성에 대한 퀴럼센싱 저해제(QSI) 후보물질들의 효능을 보기 위하여, transwell system을 이용하여 시험하였다. 상기 Fn의 분비물질에는 Fn이 자연적으로 분비하는 AI-2가 포함되어
10 있다. 따라서, 상기 transwell system을 이용한 시험에서, Fn AI-2를 세균에 직접 추가하지 않고, 위 챔버에는 Fn을, 아래 챔버에는 Pg 또는 Tf를 넣고, QSI 후보물질이 있거나 없는 상태에서 배양 및 형성된 biofilm을 crystal violet으로 염색한 후 분석하였다. 이러한 조건에서는 정제된 AI-2가 아니라 AI-2를 포함하여 Fn이
15 biofilm이 형성되었다면 D-gal 등의 QSI 후보물질들이 이를 억제할 수 있는지를 평가하기 위한 것이다.

보다 구체적으로, 상기 transwell system(24-well)은 위 챔버와 아래 챔버가 0.4 μ m 크기의 막으로 분리되어 있으며, 위 챔버에는 500 μ l의 *F. nucleatum*(Fn) 배양액 (세균 수 2×10^7 CFU/ml)을 배양하고, 아래 챔버에는 glass slip을 넣고 같은 수의 *P. gingivalis*(Pg) 또는 *T. forsythia*(Tf)를 접종하여 48~72시간 동안 배양하였다. 상기 QSI
20 후보물질은 당류 (D-rib 또는 D-gal)의 경우 각각 2mM, furanone 화합물 [(5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-2(5H)-furanone]의 경우 2 μ M의 양으로 사용하였다. 아래 챔버에 있는 세균의 biofilm 형성이 Fn 분비물질과 QSI 후보물질에 의해 영향을 받는지 알기 위해 glass slip위에 형성된 biofilm을 crystal violet으로 염색한 후
25 정량분석하였다 (상기 실시예 3 내지 5 참조).

아래 챔버에 Pg를 배양한 경우의 얻어진 결과를 표 4 및 도 10에 나타내었다:

[표 4]

Sample	OD _{590nm}
None	0
Pg alone	0.30

Fn/Pg	0.57
Fn/Pg/Fur 2 μ M	0.30
Fn/Pg/D-gal 2 mM	0.45
Fn/Pg/D-rib 2 mM	0.58

또한, 챔버에 Tf를 배양한 경우의 얻어진 결과를 표 5 및 도 11에 나타내었다:

[표 5]

Sample	OD ₅₉₀
None	0
Tf alone	0.17
Fn/Tf	0.55
Fn/Tf/Fur 2 μ M	0.39
Fn/Tf/D-gal 2 mM	0.36
Fn/Tf/D-rib 2 mM	0.69

상기 표 4, 5 및 도 10, 11에 나타난 바와 같이, Fn 분비물에 의해 Pg와 Tf의 biofilm 형성이 증가하였으나, D-gal 처리에 의해 Pg와 Tf에서 모두 biofilm 형성이 감소되었으며, D-gal에 의한 억제 효과가 D-rib와 비교하여 현저하게 우수한 것으로 나타났다.

실시예 7: D-galactose의 AI-2 activity 억제 활성 시험

본 실시예에서는 상기 실시예 3-6에서 biofilm 형성 저해 효과가 가장 우수한 D-galactose가 세균을 죽이거나 세균간의 부착을 방해하여 세균간의 응집이나 biofilm 형성을 억제하는 것이 아닌, 세균간의 퀴럼센싱을 방해함으로써 효과를 발휘함을 입증하였다.

퀴럼센싱을 유도하는 인자인 AI-2는 *V. harveyi*의 luciferase operon (lux genes)을 자극하여 luciferase의 발현을 유도하고 이 결과로 발광을 나타내게 된다. 따라서, AI-2 활성 억제 여부는 AI-2에 의한 생물발광(bioluminescence)을 측정하여 확인하였다. AI-2가 매개하는 bioluminescence는 AI-2 reporter strain인 *V. harveyi* BB170을 이용하여 결정하였다. *V. harveyi* BB170을 AB medium에서 30°C에서 OD_{600 nm} = 0.7가 될 때까지 배양하였다. 배양된 세균들을 신선한 AB medium으로 씻어내고, 이 배지로

10⁶ cells/ml까지 희석하였다. 그 후, 상기 배양된 *V. harveyi* BB170 배양액(5 ml)을 부분 정제된 *F. nucleatum* AI-2('Fn AI-2') 및 D-gal (0 또는 20mM) 또는 D-rib(0 또는 20mM)와 혼합하였다. 상기 부분 정제된 Fn AI-2는 C18 Sep-Pak reverse-phase column (Waters Co., Milford, MA)을 사용하여 Fn 배양액으로부터 Fn이 분비하는 AI-2는 부분적으로
 5 분리하여 얻었다. 상기 첨가된 Fn 배양액 또는 부분 정제된 Fn AI-2은 혼합물 내 AI-2의 최종 농도가 10%(v/v)되도록 하는 양으로 사용하였다. 상기 10%(v/v)의 Fn AI-2는 Fn 세균 1.9X10⁸개에 해당하는 수치이다. 그 후, 30°C에서 1-8시간 동안 배양을 수행하였다. Bioluminescence는 luminometer (GloMax1-Multi detection System, Promega, Madison, WI)로 측정하였다. BB170은 AI-2를 인지하여 발광하는 특성을 가진 *V.*
 10 *harveyi* 세균의 한 종류로, 상기 측정된 bioluminescence 값이 클수록 AI-2 활성이 큰 것을 나타낸다.

상기 얻어진 결과를 표 6 및 도 12에 나타내었다:

[표 6]

Sample	Bioluminescence
BB170	856873
Fn/AI-2	10712312
Fn/AI-2 D-gal 20 mM	1138752
Fn/AI-2 D-rib 20 mM	5481975

15 상기 표 6 및 도 12에 나타난 바와 같이, D-gal을 첨가한 실험에서 bioluminescence가 현저히 감소하였고 (bioluminescence가 D-rib를 첨가한 경우의 약 20% 수준), 이러한 결과로부터 D-gal이 AI-2의 활성을 억제하는 퀴럼센싱 억제제임을 확인할 수 있다.

퀴럼센싱은 충치 및 치주질환 원인균의 biofilm 형성과 병독력 발현을
 20 위해서는 꼭 필요한 과정이다. 따라서, 본 실시예는 D-galactose가 AI-2 활성을 억제하는 우수한 퀴럼센싱 억제제이며, 이러한 작용으로 인하여 biofilm 생성과 병독력 발현을 억제하여, 단순히 Fn과 몇몇 세균들간의 응집저해라는 한계를 뛰어넘어, 광범위하게 biofilm과 치주질환을 제어할 수 있는 물질임을 제안한다.

25 실시예 8: D-galactose이 세균 성장에 미치는 영향

본 실시예에서는 상기 실시예 3-6에서 biofilm 형성 저해 효과가 가장 우수한

D-galactose가 박테리아의 성장에 미치는 영향을 시험하였다.

구체적으로, *F. nucleatum*을 37°C 혐기조건 하에서 D-galactose 0mM (대조군) 및 100mM와 함께 24~48시간 동안 배양한 후 600nm에서 optical density를 측정하여 세균의 성장 정도를 측정하였다.

- 5 상기 얻어진 결과를 도 13에 나타내었다. 도 13에 나타난 바와 같이, D-gal을 첨가한 경우 세균성장 곡선은 D-gal을 첨가하지 않은 대조군(Cont)과 유사한 양상을 보였으며, 이러한 결과는, D-gal이 세균을 직접적으로 죽이지 않고 세균의 성장에는 전혀 영향을 미치지 않음을 입증하는 것이다.

10 실시예 9: 충치균의 biofilm 형성에 대한 D-galactose의 억제효능

- 최근 알려진 바에 의하면, 충치 발병의 경우에도 주된 원인으로 알려진 대표적인 치아우식균인 *S. mutans*(Sm) 단독으로 충치를 발병시키는 것이 아니라 비슷한 성격을 보이는 여러 종류의 세균들의 집합체들(*mutans streptococcus*)이 이루는 biofilm에 의해서 충치가 유발된다. 충치균인 Sm은 치아에 형성된 타액피막에 붙는
- 15 부착인자와 세균간의 응집을 촉진하는 glucosyl transferase, glucan binding protein 등을 세균표면에 발현하고 있으며 또한 주위로 분비한다. 따라서 치아에 부착된 Sm에 더 많은 세균이 응집함으로써 biofilm이 발달하면 세균의 대사산물인 젖산(lactic acid)의 축적으로 인해 치아주위의 pH가 5.5 이하로 내려가 치아부식이 일어나 충치가 발생한다.

- 20 본 실시예에서는, 상기 알려진 내용에 근거하여, 충치를 유발하는 biofilm 형성과 높은 산도를 가지는 물질을 분비하는 과정이 AI-2에 의하여 매개됨을 도출하여, 앞서 치주병원균의 biofilm 형성을 억제하는 것으로 확인된 D-gal이 충치균에도 효능이 있는지를 시험하였다.

- 대표적인 치아우식균인 *S. mutans* (Sm) 배양액 2mL (2×10^7 /ml)와 구강
- 25 상주균인 *S. oralis* (SO) 배양액 2mL(2×10^7 /ml)를 타액이 코팅된 glass slip (round, 12 mm radius)에 각각 첨가하고, D-galactose 0mM 또는 2mM과 함께 배양하여, biofilm을 형성시키고, 형성된 biofilm 앞서 실시예 3-6에서 설명한 방법과 같이 crystal violet으로 염색하여, D-galactose 존재 여부에 다른 biofilm 형성을 시험하였다. 또한, 상기 biofilm을 live/dead-BacLight viability kit(Invitrogen, Grand Island, NY, USA)을
- 30 사용하여 형광염색한 후 분석하였다. 비교를 위하여, D-galactose 대신 furanone

화합물을 2 μ M 사용하여 시험하였다.

상기 얻어진 Sm의 biofilm 형성 결과를 아래의 표 7 및 도 14에 나타내었다:

[표 7]

Sample	OD _{590nm}
None	0
Sm	0.48
Sm/ Fur 2 μ M	0.51
Sm/ D-gal 2 mM	0.37

5 표 7 및 도 14에서 확인되는 바와 같이, furanone 화합물은 Sm의 biofilm 형성 억제 효과가 거의 없는 반면, D-gal은 현저한 Sm의 biofilm 형성 효과를 나타내었다.

또한, D-gal의 Sm의 biofilm 형성에 대한 억제 효과를 형광염색으로 확인하였다. Sm 배양액은 2 ml(2 x 10⁷/ml)의 양으로 사용하고, D-gal 은 200mM, furanone 화합물의 경우 20 μ M의 양으로 사용하였다. cover slip위에 형성된 세균막을
10 live/dead-BacLight viability kit (Invitrogen, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 형광물질로 염색한 후 공초점현미경(Carl Zeiss, LSM 700)으로 관찰하였다. 상기 얻어진 형광이미지를 도 15에 나타내었다. 형광이미지에서, 살아있는 세균은 SYTO green으로 염색되어 초록형광을 나타내고, 죽은 세균은 propidium iodide(PI)로 염색되어 붉은 형광을 나타낸다. 상기 얻어진 각각의 형광이미지의 형광강도를
15 공초점 현미경의 ZEN 2010 프로그램을 이용하여 정량 분석하여, 도 16에 나타내었다.

도 15 및 도 16에 나타난 바와 같이, 형성된 Sm biofilm을 형광염색한 후 공초점현미경으로 분석한 결과, crystal violet 염색으로 분석한 결과와 마찬가지로, D-gal 투여에 의하여 Sm의 biofilm 형성이 억제된 것을 알 수 있으며, 이러한 D-gal의 Sm의 biofilm 형성 억제 효과는 D-rib 및 furanone 화합물보다 우수함을 확인할 수
20 있다.

또한, 상기 얻어진 So의 biofilm 형성 결과를 아래의 표 8 및 도 17에 나타내었다:

[표 8]

Sample	OD ₅₉₀
None	0
So	0.59

So/ Fur 2 uM	0.64
So/ D-gal 2 mM	1.07
So/ D-rib 2 mM	0.85

상기 표 8 및 도 17에 나타난 바와 같이, D-gal은, D-rib 및 furanone 화합물과 달리, 구강상주균인 *Streptococcus oralis*(So)의 biofilm 형성은 억제하지 않고 오히려 증가시켰다.

- 상기 표 7, 8 및 도 14 내지 17에 나타난 바와 같이, D-galactose는
- 5 치아우식균인 Sm의 biofilm 형성은 유의하게 억제한 반면, 구강상주균인 *Streptococcus oralis*(So)의 biofilm 형성은 억제하지 않고 오히려 증가시켰다. 구강의 건강을 유지하기 위해서는 구강상주균을 저해하지 않고 유지하는 것이 매우 중요하다.

- 상기 실시예 1-9에 나타난 결과로 볼 때, D-galactose가 양대 구강질환인
- 10 치주염과 충치를 유발하는 원인균의 biofilm을 억제하는데 탁월한 효능이 있음을 확인할 수 있고, 또한 D-galactose는 구강상주균의 biofilm에는 영향을 주지 않기 때문에 구강의 병원성세균에 선택적으로 적용할 수 있는 탁월한 물질이다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

D-galactose를 포함하는, 구강 질환 유발 세균의 퀴럼센싱 저해용 조성물.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 세균은 *Fusobacterium*속 세균, *Porphyromonas*속 세균, *Tannerella*속 세균, *Aggregatibacter* 속 세균, *Treponema* 속 세균, *Prevotella*속 세균, 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 퀴럼센싱 저해용 조성물.

【청구항 3】

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서, 비병원성 구강 상주균의 퀴럼센싱은 저해하지 않는 것을 특징으로 하는, 퀴럼센싱 저해용 조성물.

【청구항 4】

D-galactose을 포함하는 구강 질환 유발 세균의 퀴럼센싱 유도 인자 저해용 조성물.

【청구항 5】

제4항에 있어서, 상기 퀴럼센싱 유도 인자는 *Fusobacterium*속 세균, *Porphyromonas*속 세균, *Tannerella*속 세균, *Aggregatibacter* 속 세균, *Treponema* 속 세균, *Prevotella*속 세균, 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로부터 분리된 Autoinducer-2 (AI-2)인, 퀴럼센싱 유도 인자 저해용 조성물.

【청구항 6】

제4항 또는 제5항에 있어서, 비병원성 구강 상주균의 퀴럼센싱 유도 인자는 저해하지 않는 것을 특징으로 하는, 퀴럼센싱 유도 인자 저해용 조성물.

【청구항 7】

D-galactose를 포함하는 구강 질환 유발 세균의 세균막 (biofilm) 형성 저해용 조성물.

【청구항 8】

제7항에 있어서, 상기 세균은 *Fusobacterium*속 세균, *Porphyromonas*속 세균, *Tannerella*속 세균, *Aggregatibacter* 속 세균, *Treponema* 속 세균, *Prevotella*속 세균, 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 세균막 형성 저해용 조성물.

【청구항 9】

제7항 또는 제8항에 있어서, 비병원성 구강 상주균의 세균막 형성은 저해하지 않는 것을 특징으로 하는, 세균막 형성 저해용 조성물.

【청구항 10】

D-galactose을 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

【청구항 11】

제10항에 있어서, 상기 세균성 구강 질환은 충치 또는 치주질환인, 세균성 구강 질환의 예방 또는 치료용 조성물.

【청구항 12】

D-galactose을 포함하는 세균성 구강 질환의 예방 또는 개선용 구강 제품.

【청구항 13】

제12항에 있어서, 상기 세균성 구강 질환은 충치 또는 치주질환인, 구강 제품.

【청구항 14】

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 구강 제품은 치약, 구강 청정제, 구강 스프레이, 껌, 구강 연고, 또는 구강 패취제인, 구강 제품.

【청구항 15】

D-galactose의 구강 질환 유발 세균의 퀴럼센싱 저해 또는 퀴럼센싱 유도 인자 저해에 사용하기 위한 D-galactose.

【청구항 16】

제15항에 있어서, 상기 세균은 *Fusobacterium*속 세균, *Porphyromonas*속 세균, *Tannerella*속 세균, *Aggregatibacter* 속 세균, *Treponema* 속 세균, *Prevotella*속 세균, 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 퀴럼센싱 저해 또는 퀴럼센싱 유도 인자 저해에 사용하기 위한 D-galactose.

【청구항 17】

제15항 또는 제16항에 있어서, 비병원성 구강 상주균의 퀴럼센싱은 저해하지 않는 것을 특징으로 하는, 퀴럼센싱 저해 또는 퀴럼센싱 유도 인자 저해에 사용하기 위한 D-galactose.

【청구항 18】

구강 질환 유발 세균의 세균막 (biofilm) 형성 저해에 사용하기 위한 D-galactose.

【청구항 19】

제18항에 있어서, 상기 세균은 *Fusobacterium*속 세균, *Porphyromonas*속 세균, *Tannerella*속 세균, *Aggregatibacter* 속 세균, *Treponema* 속 세균, *Prevotella*속 세균, 및 *Streptococcus mutans*로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 세균막 형성 저해에 사용하기 위한 D-galactose.

【청구항 20】

제18항 또는 제19항에 있어서, 비병원성 구강 상주균의 세균막 형성은 저해하지 않는 것을 특징으로 하는, 세균막 형성 저해에 사용하기 위한 D-galactose.

【청구항 21】

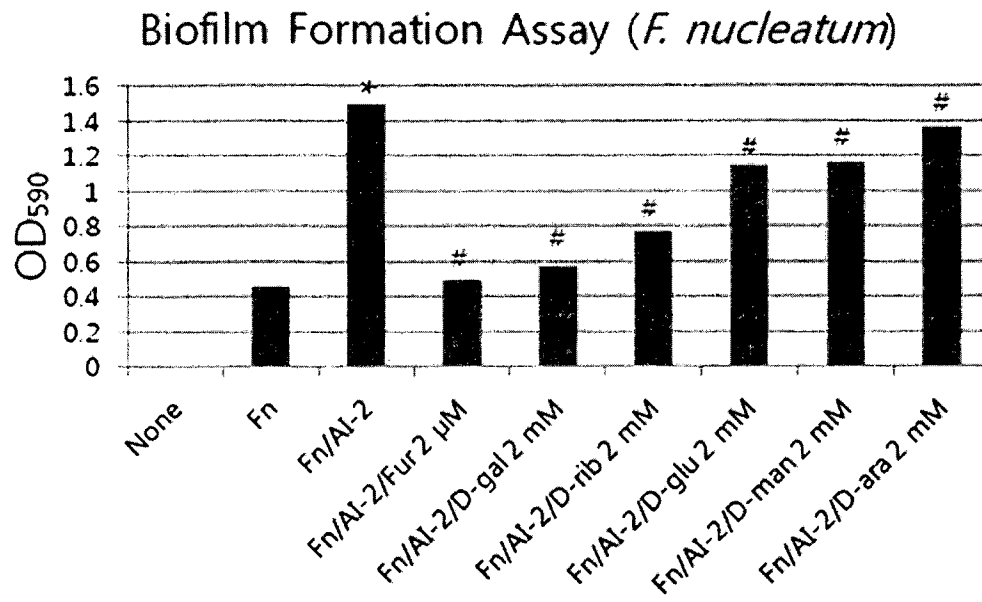
세균성 구강 질환의 예방, 치료, 또는 개선에 사용하기 위한 D-galactose.

【청구항 22】

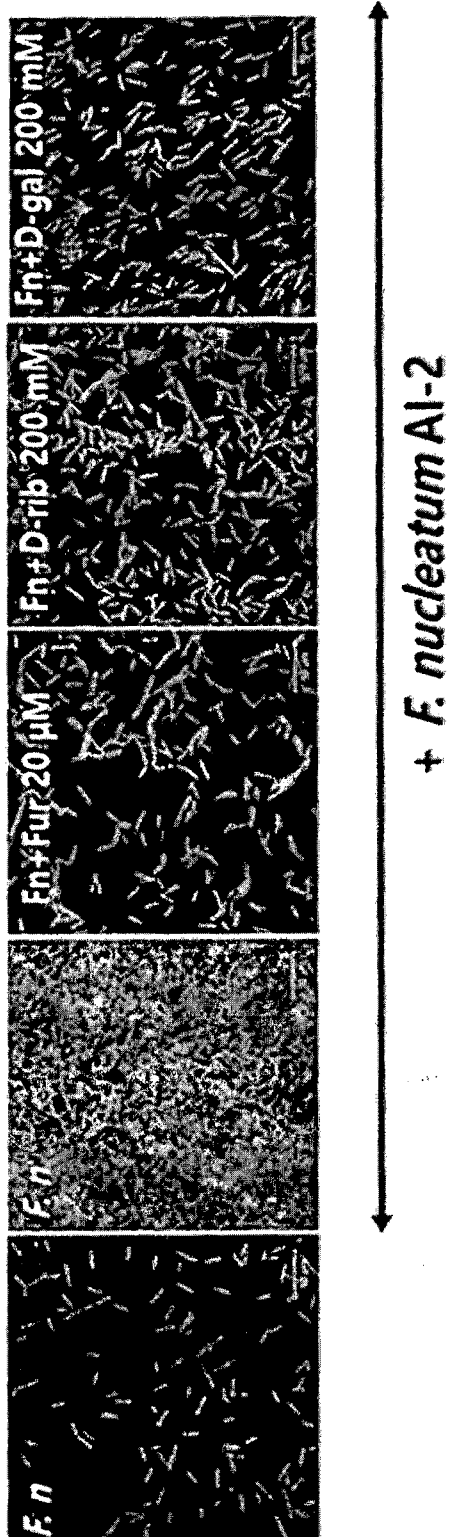
제21항에 있어서, 상기 세균성 구강 질환은 충치 또는 치주질환인, 세균성

구강 질환의 예방, 치료, 또는 개선에 사용하기 위한 D-galactose.

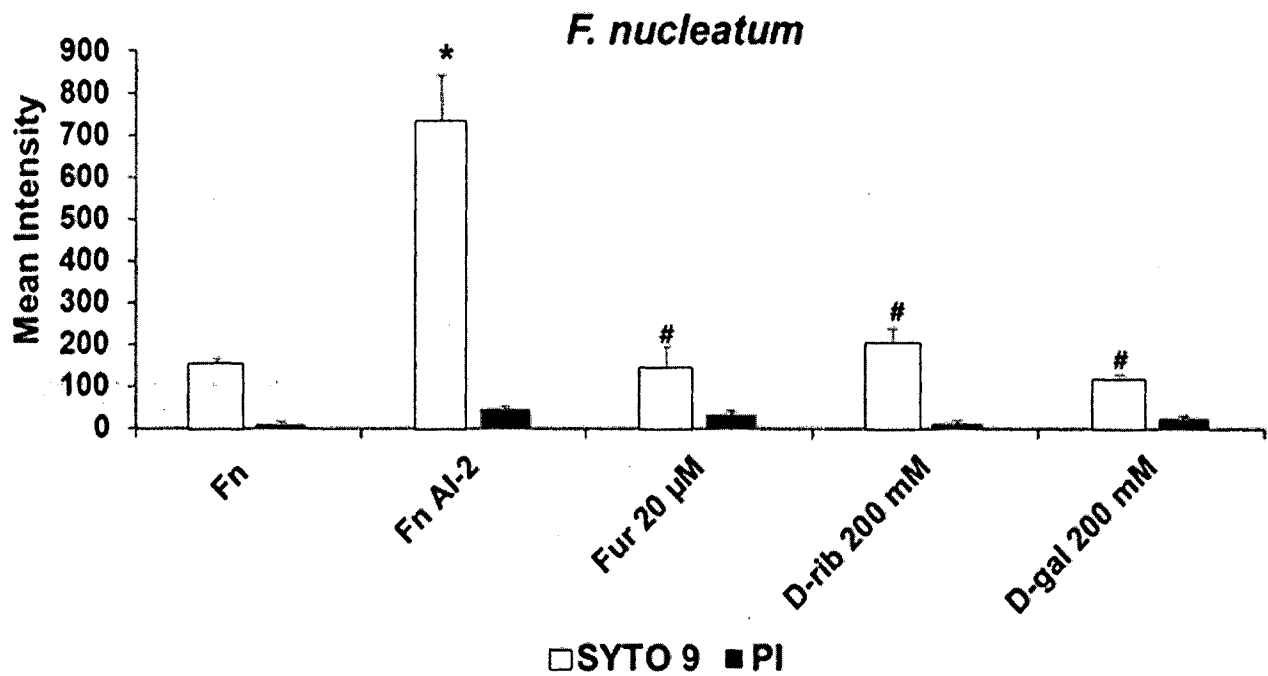
[Fig. 1]



[Fig. 2]

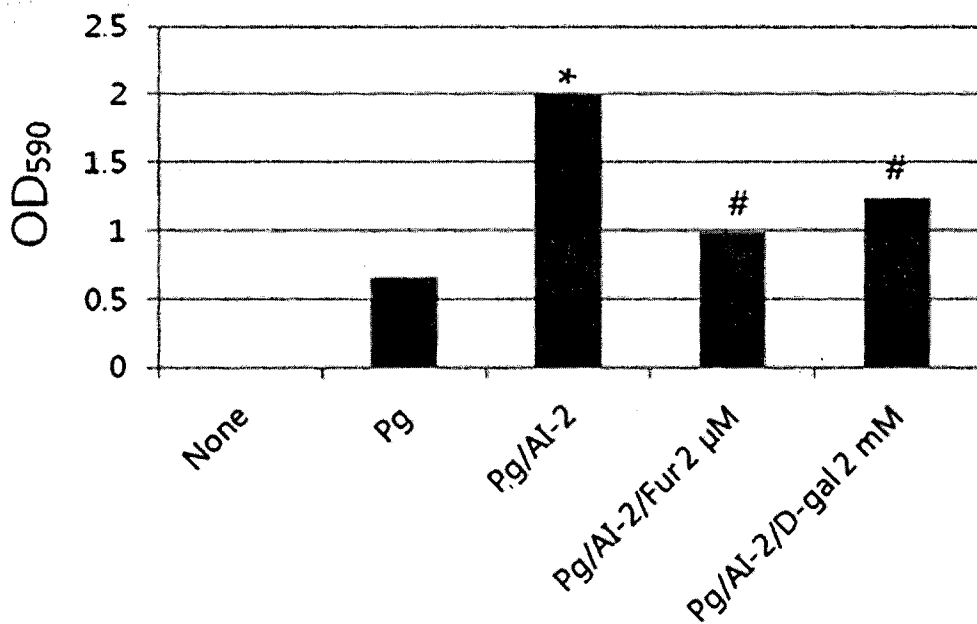


[Fig. 3]

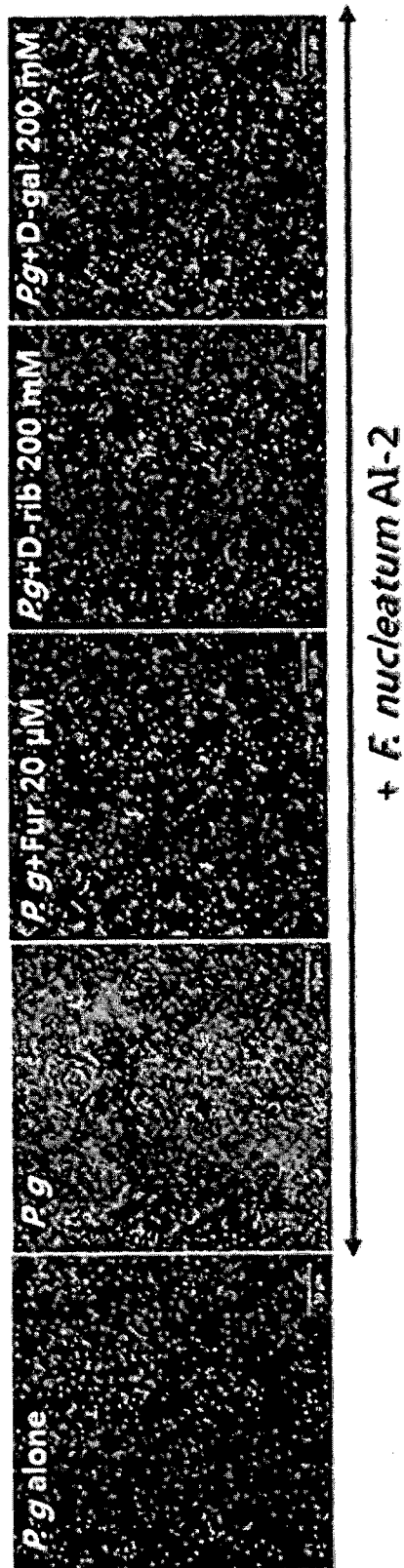


[Fig. 4]

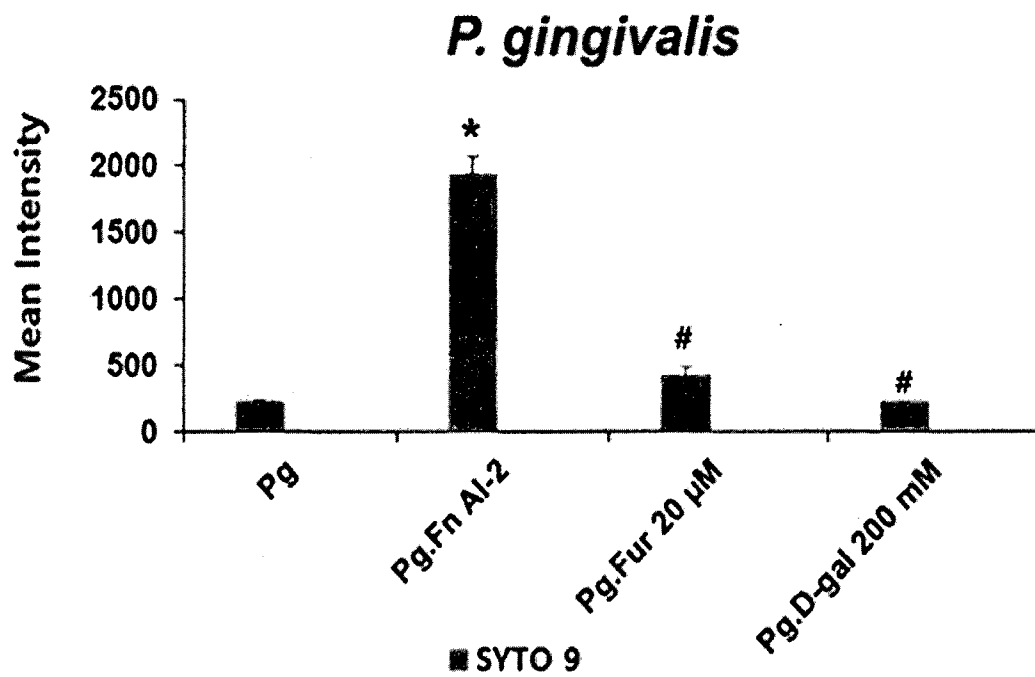
Biofilm Formation Assay (*P. gingivalis*)



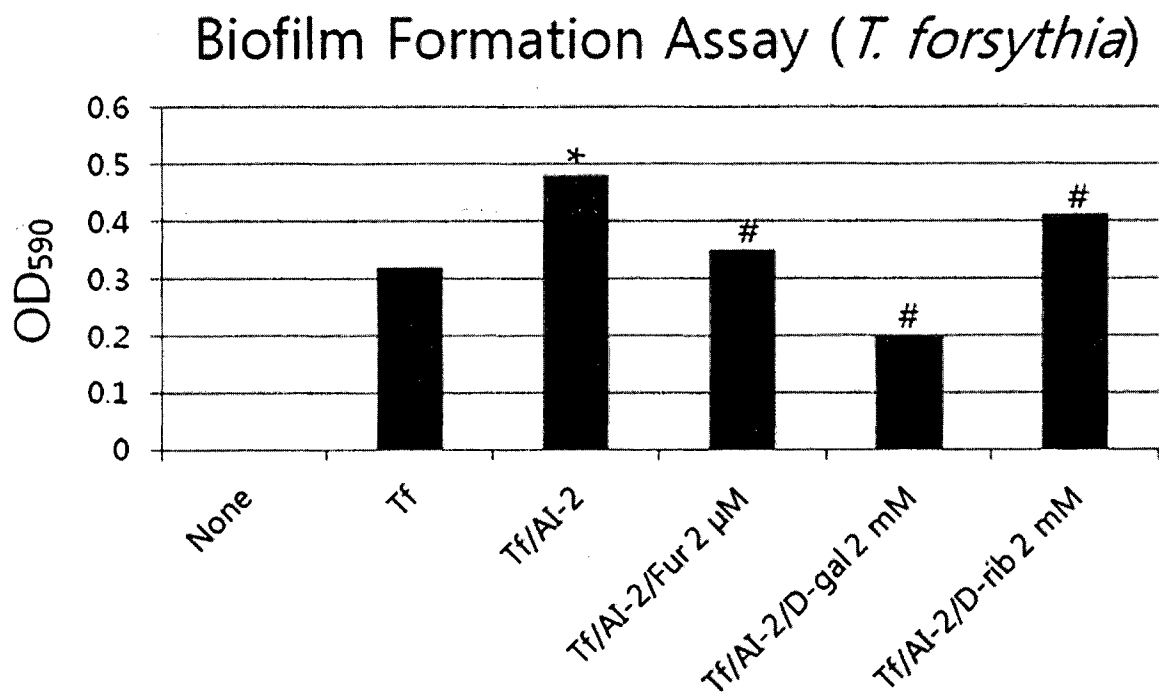
[Fig. 5]



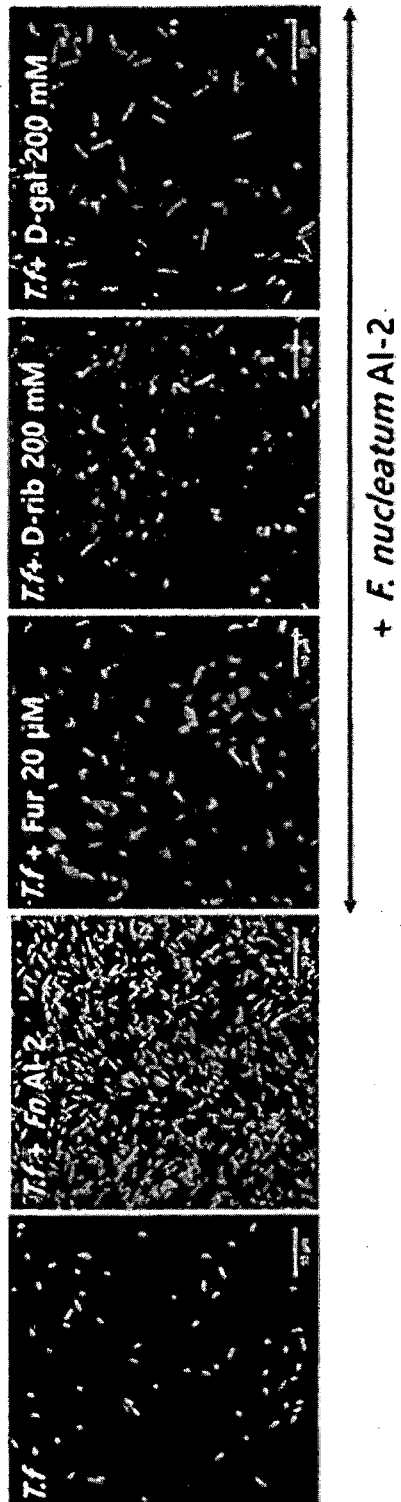
[Fig. 6]



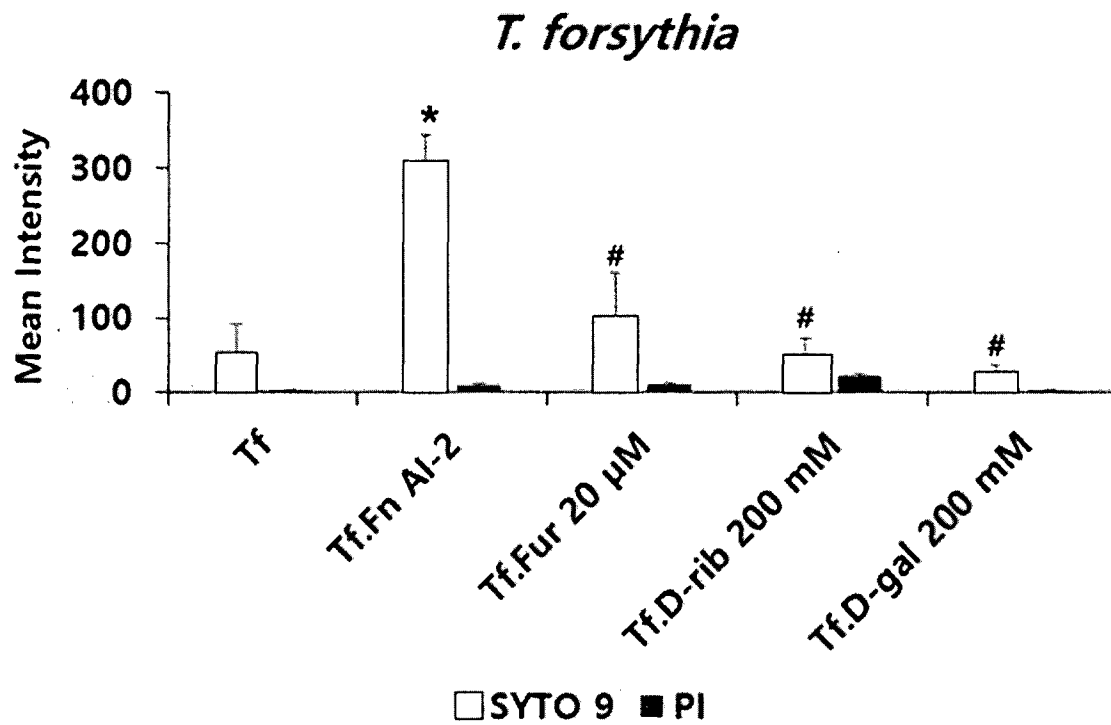
[Fig. 7]



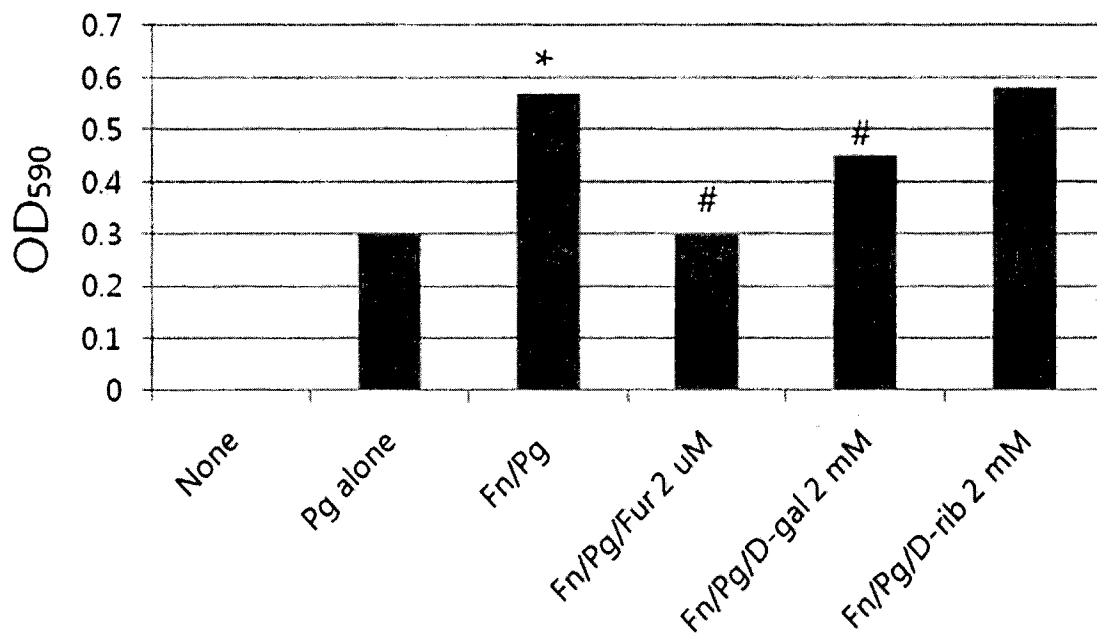
[Fig. 8]



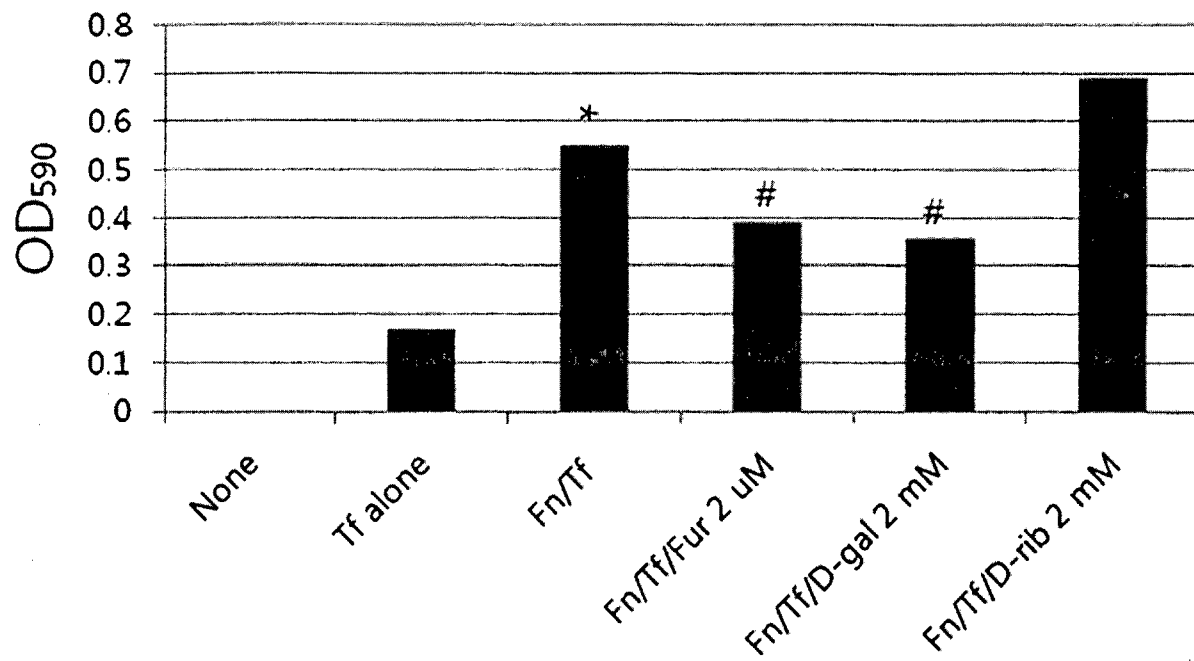
[Fig. 9]



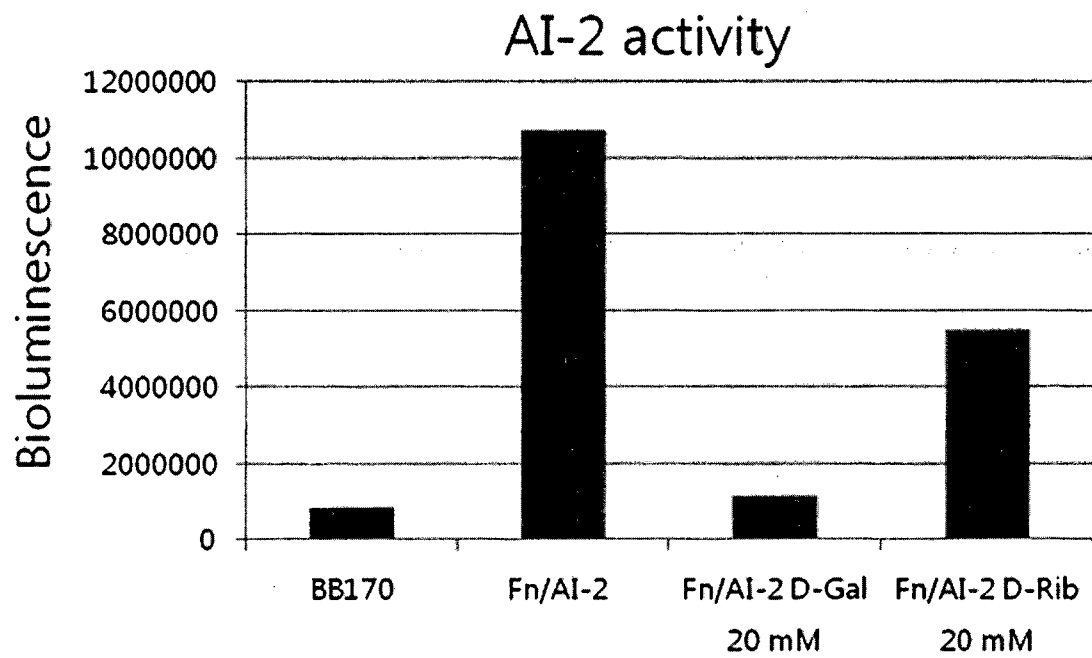
[Fig. 10]



[Fig. 11]

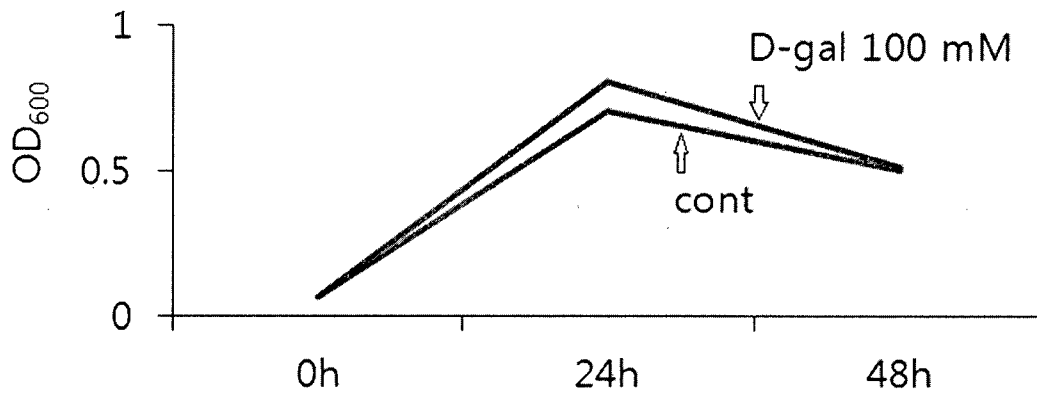


[Fig. 12]



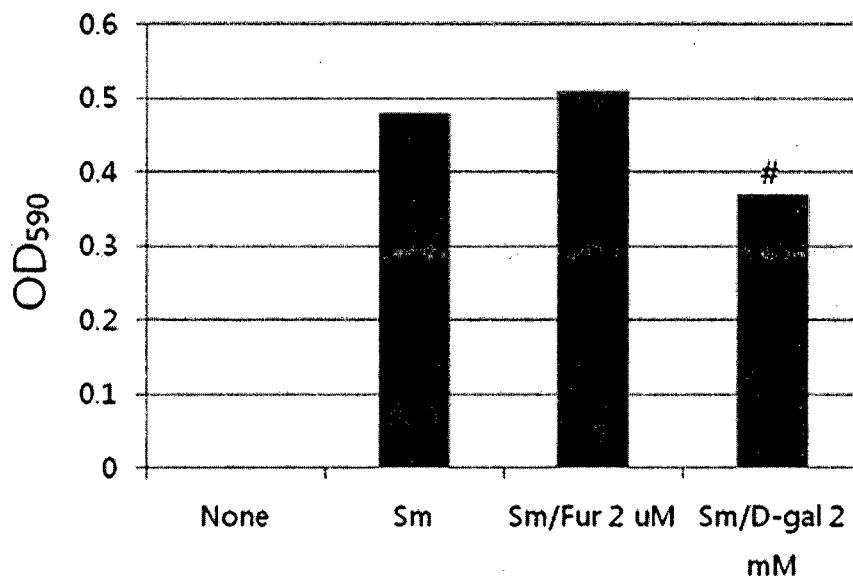
[Fig. 13]

Effect of D-Galactose on *F. nucleatum* growth

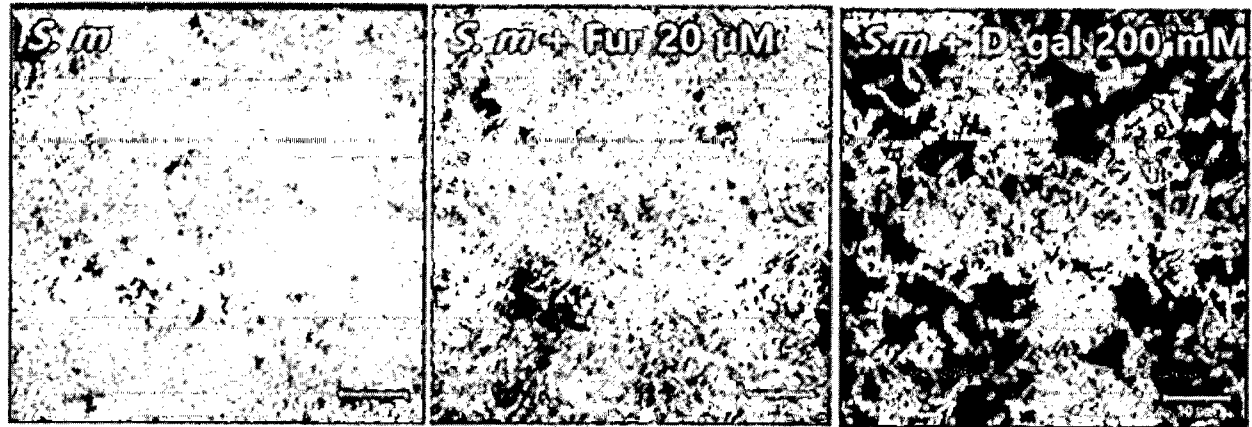


[Fig. 14]

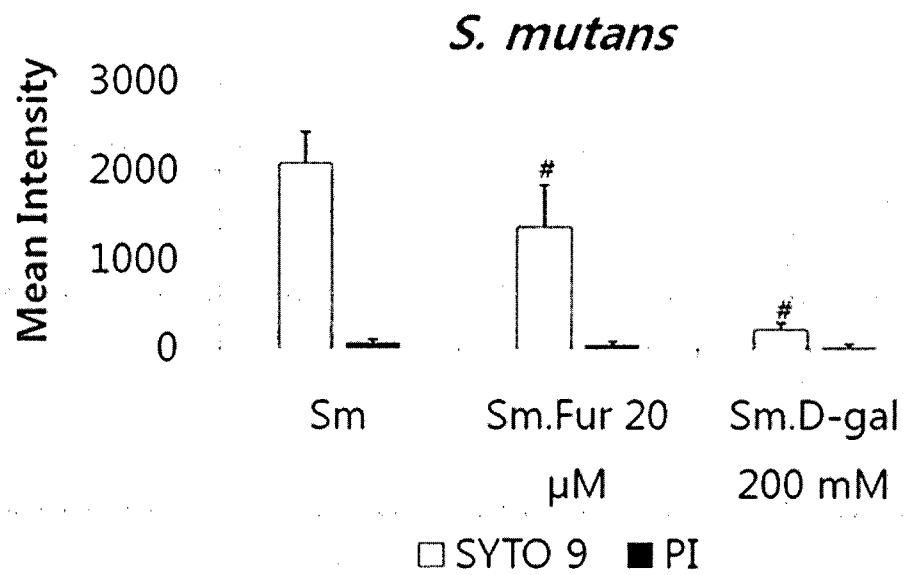
Biofilm Formation Assay (*S. mutans*)



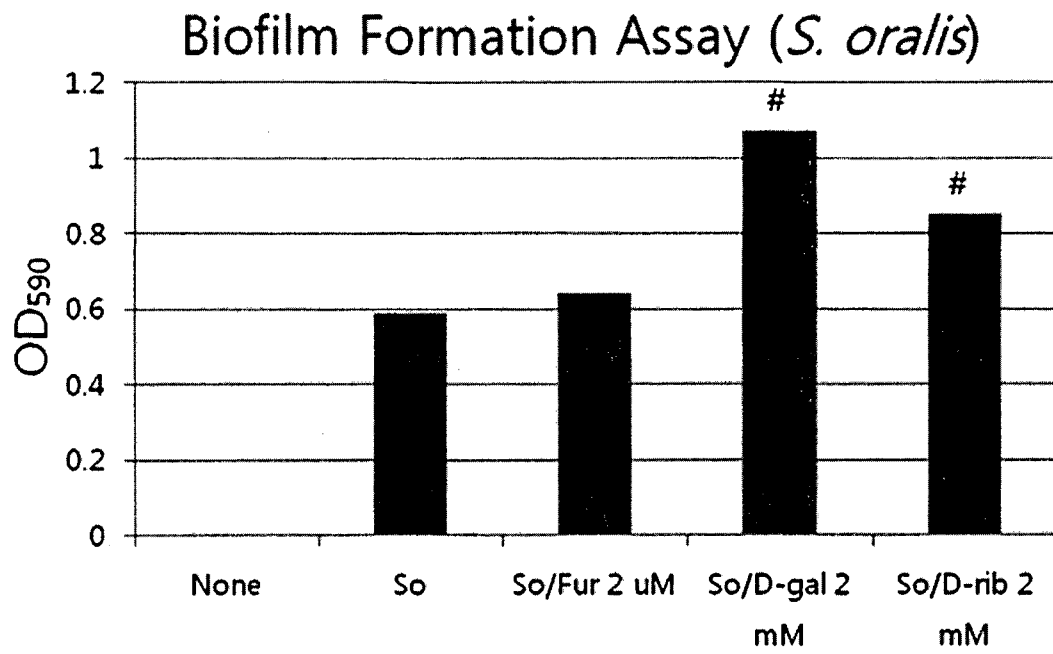
[Fig. 15]



[Fig. 16]



[Fig. 17]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2015/009948

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/7004(2006.01)i, A61K 31/70(2006.01)i, A61P 1/02(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/7004; A61K 8/60; A61K 36/48; A61K 8/34; A61K 36/898; A23G 4/00; A61P 1/02

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) & Keywords: D-galactose, quorum sensing, periodontal disease

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KOLENBRANDER, P. E. et al., "Inhibition of coaggregation between <i>Fusobacterium nucleatum</i> and <i>Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis</i> by lactose and related sugars", <i>Infection and Immunity</i> , 1989, vol. 57, no. 10, pages 3204-3209 See abstract; pages 3204, 3206; and figure 3.	7-22
Y		1-6
Y	JANG, Y.-J. et al., "Autoinducer 2 of <i>Fusobacterium nucleatum</i> as a target molecule to inhibit biofilm formation of periodontopathogens", <i>Archives of Oral Biology</i> , 2013, vol. 58, pages 17-27 See abstract.	1-6
X	KR 10-2014-0061349 A (LOTTE CO., LTD.) 21 May 2014 See abstract; and paragraphs [0017], [0025]-[0027].	15-22
A	KR 10-2006-0075868 A (HWANG, Jae Kwan) 04 July 2006 See the entire document.	1-22
A	KR 10-2013-0106837 A (LOTTE CO., LTD. et al.) 30 September 2013 See the entire document.	1-22



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 DECEMBER 2015 (21.12.2015)

Date of mailing of the international search report

22 DECEMBER 2015 (22.12.2015)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2015/009948

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2014-0061349 A	21/05/2014	JP 2013-010724 A WO 2013-001817 A1	17/01/2013 03/01/2013
KR 10-2006-0075868 A	04/07/2006	NONE	
KR 10-2013-0106837 A	30/09/2013	EP 2620160 A1 JP 2012-067018 A US 2013-0189202 A1 WO 2012-039101 A1	31/07/2013 05/04/2012 25/07/2013 29/03/2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/7004(2006.01)i, A61K 31/70(2006.01)i, A61P 1/02(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/7004; A61K 8/60; A61K 36/48; A61K 8/34; A61K 36/898; A23G 4/00; A61P 1/02

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) & 키워드: D-galactose, 퀴럼 센싱, 치주질환

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KOLENBRANDER, P. E. 등, 'Inhibition of coaggregation between Fusobacterium nucleatum and Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis by lactose and related sugars', Infection and Immunity, 1989년, 57권, 10호, 페이지 3204-3209 초록; 페이지 3204, 3206; 및 도면 3 참조.	7-22
Y		1-6
Y	JANG, Y.-J. 등, 'Autoinducer 2 of Fusobacterium nucleatum as a target molecule to inhibit biofilm formation of periodontopathogens', Archives of Oral Biology, 2013년, 58권, 페이지 17-27 초록 참조.	1-6
X	KR 10-2014-0061349 A (가부시킴가이샤 롯데) 2014.05.21 요약; 및 단락 [0017], [0025]-[0027] 참조.	15-22
A	KR 10-2006-0075868 A (황재관) 2006.07.04 문헌 전체 참조.	1-22
A	KR 10-2013-0106837 A (가부시킴가이샤 롯데 등) 2013.09.30 문헌 전체 참조.	1-22

☐ 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

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2015년 12월 21일 (21.12.2015)

국제조사보고서 발송일

2015년 12월 22일 (22.12.2015)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

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

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

이정아

전화번호 +82-42-481-8740



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0061349 A	2014/05/21	JP 2013-010724 A WO 2013-001817 A1	2013/01/17 2013/01/03
KR 10-2006-0075868 A	2006/07/04	없음	
KR 10-2013-0106837 A	2013/09/30	EP 2620160 A1 JP 2012-067018 A US 2013-0189202 A1 WO 2012-039101 A1	2013/07/31 2012/04/05 2013/07/25 2012/03/29