

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

WO 2023/018199 A1

2023 년 2 월 16 일 (16.02.2023) WIPO | PCT

(51) 국제특허분류:

A61K 47/64 (2017.01)

A61K 38/47 (2006.01)

A61K 47/65 (2017.01)

A61P 31/04 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2022/011886

(22) 국제출원일:

2022 년 8 월 9 일 (09.08.2022)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2021-0104596 2021 년 8 월 9 일 (09.08.2021) KR

(71) 출원인:

주식회사

레고캠바이오사이언스

(LEGOCHEM BIOSCIENCES, INC.) [KR/KR]; 34302 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR).

(72) 발명자: 이재호 (LEE, Jae Ho); 34002 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR). 송호영 (SONG, Ho Young); 34002 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR). 신송주 (SHIN, Song Ju); 34002 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR). 김규혜 (KIM, Gue Hye); 34002 대전광역시 유성구 국제과학10

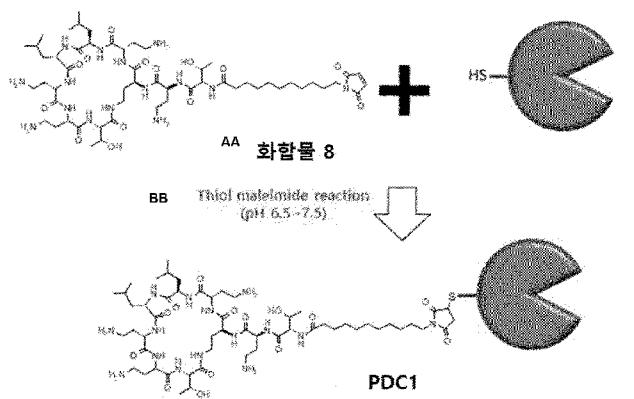
로 10, Daejeon (KR). 이원미 (LEE, Won Mi); 34002 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR). 김형래 (KIM, Hyung Rae); 34002 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR). 김주현 (KIM, Ju Hyeon); 34002 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR). 정철웅 (CHUNG, Chul-Woong); 34302 대전광역시 유성구 국제과학10로 10, Daejeon (KR).

(74) 대리인: 특허법인 한성 (HANSUNG INTELLECTUAL PROPERTY); 06233 서울특별시 강남구 강남대로 84길 23, 4층, 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, 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,

(54) Title: NOVEL ANTIBIOTIC AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 신규 항생제 및 이의 용도



AA ... Compound 8

BB ... Thiol maleimide reaction (pH 6.5~7.5)

(57) Abstract: The present invention relates to a novel antibiotic and a use thereof and, more specifically, to a novel antibiotic in which polymyxin or a derivative thereof and an endolysin or derivative thereof are linked to each other, and a pharmaceutical composition comprising same.

(57) 요약서: 본 발명은 신규 항생제 및 이의 용도에 관한 것으로, 상세하게는 폴리믹신(Polymyxin) 또는 이의 유도체; 및 엔도라이신 또는 이의 변이체가 연결된 형태의 신규 항생제 및 이를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[다음 쪽 계속]



WO 2023/018199 A1

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 역
내 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), 유
럽 (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 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수
하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

명세서

발명의 명칭: 신규 항생제 및 이의 용도

기술분야

- [1] 본 발명은 신규 항생제 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 엔도라이신을 포함하는 신규 항생제에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 박테리오파지(bacteriophage)는 박테리아를 숙주세포로 하는 바이러스를 통칭하는 용어로, ssRNA, dsRNA, ssDNA 등의 유전물질과 단백질 캡시드로 구성되어 있다. 박테리오파지의 용혈과정에서 세포벽을 분해하기 위한 효소인 엔도라이신(Endolysin)이 분비되는데, 엔도라이신은 암호화된 펩티도글리칸 가수분해효소에 해당한다. 박테리오파지의 용혈과정은 글리코시드 결합, 펩타이드 결합 또는 아미드 결합에 의해 펩티도글리칸을 가수분해한 후 삼투압에 의해 용해되는 과정을 거쳐 용혈된다.
- [4] 엔도라이신은 세균의 세포벽을 파괴하는 기전에 기초하여, 항생제로써 연구가 진행되고 있다. 엔도라이신은 세포벽 내의 펩티도글리칸(peptidoglycan)의 특정 부위를 절단할 수 있고, 작용기의 종류에 따라 절단가능한 부위가 달라질 수 있다고 알려져 있다. 또한, 엔도라이신은 일반적으로 효소적 활성을 나타내는 N-말단 부위, 세포벽에 결합하는 C-말단 부위로 구분될 수 있는데, 이러한 구조 및 기능상 특징에 의해 종 특이성을 가질 수 있다. 뿐만 아니라, 엔도라이신은 자연 발생 물질로 항생제에 내성을 가진 박테리아에 대하여 항생 활성을 가질 수 있다. 그러나 엔도라이신의 경우 세포벽을 파괴하는 방식에 의해 항생 활성을 나타내므로, 세포벽이 외부에 위치하여 외부에 노출되어 있는 형태인 그람 양성균(Gram-positive bacteria)과 세포벽이 외막 안쪽에 위치하는 그람 음성균(Gram-negative bacteria)에 대하여는 효과면에서 차이를 나타낸다. Fischetti 등은 A군 연쇄구균(*Sterptococci*)에 대한 박테리오파지 C1 엔도라이신의 치료학적 잠재성을 확인한바 있으며, 엔도라이신은 특히 그람 양성 세균에 의한 세균 감염 조절제로 주로 연구되어 왔다.
- [5] 그람 음성균은 크리스탈 바이올렛(Crystal violet) 용액 및 아이오딘 용액을 통해 염색하는 방법인 그람염색을 통해 염색할 때, 크리스탈 바이올렛의 색을 유지하지 못하는 박테리아 그룹을 의미한다. 그람 음성균은 펩티도글리칸으로 이루어진 세포벽이 세포질막과 외막 사이에 위치된 것을 특징으로 하며, 이러한 특성에 의해 거의 모든 생활 환경에서 살 수 있는 것으로 알려져 있다. 그람 음성균은 BV1, BV2 및 BV4로 분류될 수 있고, 그람 음성균의 예로 *Helicobacter pylori*, *Legionella pneumophila*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* 등이 존재한다. 그람 음성균은 외막 구조를 가지기 때문에

- 리소자임과 페니실린에 내성이 있고, 순환계에 들어가면 LPS(lipopolysaccharide)를 형성하여 독성 반응을 일으킬 수 있다는 특징이 있다.
- [6] 그람 음성균은 세포벽 구조가 그람 양성균과는 차이를 가지므로 항생제에 대한 반응이 다르며, 이에 그람 음성균에 대하여는 별도의 항생제가 요구된다. 특히, 그람 음성균은 3가지 계열 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제내성균이 다수이고, 내성에 의해 항생제 치료가 어려우며, 중증 감염 환자의 치료에 심각한 악영향을 미치고 있다. 다제내성균의 경우 내성 기전도 복잡하여 이를 치료하기 위한 항생제의 개발이 요구된다. 그람 음성균 항생제를 위한 연구가 1970년대 이후로 꾸준히 진행되었으나, 아직까지 안전하면서도 효과적인 그람 음성균 치료제가 개발되지 못한 실정이다. 현재 주로 사용되는 그람 음성균 항생제는 도리페넴(Doripenem), 이미페넴(Imipenem), 메로페넴(Meropenem) 등의 카바페넴(Carbapenem) 계열 항생제, 아미카신(Amikacin), 젠타마이신(Gentamicin) 등의 아미노글리코사이드(Aminoglycoside) 계열 등이 존재한다.
- [7] 엔도라이신을 통한 항생제와 관련하여, *Bacillus subtilis*에 대한 효과(Fukushima T 외 2명, 2007. *Mol. Genet. Genomics* 278: 371-383)를 포함하여 *Streptococcus pneumoniae*, *Lactobacillus fermentum* 등의 다수의 박테리아에 대한 효과가 연구진행된 바 있다. 또한, 킬레이트제, 구조적 변형 등을 통해 그람 음성균에 대한 활성을 나타내도록 하는 연구결과도 발표된 바 있다(Lu kacik P 외 3명, 2013. *Virulence* 4: 90-91). 관련 특허로는 대한민국공개특허 제10-2020-0012844호에서 동물체의 박테리아성 감염을 치료하기 위하여 구형 그람 음성 엔도라이신의 일부를 포함하는 폴리펩티드가 공개된 바 있고, 미국등록특허 제10,829,749호에서 *Staphylococcus* 세포를 표적으로 하는 폴리펩티드가 공개된 바 있다.
- [8] 폴리믹신(Polymyxin)은 디아미노부티르산(di-amino butyric acid, Dab)과 친유성꼬리에서 양으로 하전된 5개의 아민 잔기가 존재하는 것을 특징으로 하는 양이온성 사이클릭 데카펩티드의 한 종류이다. 폴리믹신은 1950년대 처음 임상 시험에 사용된바 있으나, 독성(특히, 신장독성)에 대한 결과가 알려져 사용이 제한되었다. 다만, 지난 10년간 다제내성 그람음성균에 의한 유병률의 증가로 폴리믹신을 사용하는 것에 대한 연구가 새로이 진행되고 있다.
- [9] 폴리믹신의 작용 방식은 완전하게 알려진 것은 아니나, 그람 음성균에서 외막의 음전하 지질 다당류(lipopolysaccharide)에 결합하여 파괴하여 주변 세포질 공간으로 약물이 전달될 수 있도록 하는 메커니즘은 알려져 있다. 다만, 치료용량을 투입하기 위해서는 독성 문제를 해결할 필요가 있으며, 이를 해결하기 위하여 폴리믹신 유도체를 합성하는 방식 등으로 해결하려는 시도가 이루어지고 있다.
- [10] 이와 관련하여, 아스트라제네카(AstraZeneca)의 폴리믹신 B 노나펩티드(PMBN)의 생체 내 연구에 의해 독성 감소가 확인된바 있고, 노던

엔티바이오틱스(Northern Antibiotics)는 양전하 수를 줄이는 방식에 의해 독성 감소를 위한 노력이 시도되고 있으며, 큐비스트 파마슈티컬즈(Cubist Pharmaceuticals)는 폴리믹신의 친유성 꼬리를 아릴 우레아(aryl urea)로 대체함에 따라 독성 감소를 시도하는 등 다양한 연구가 진행되고 있다. 다만, 그러한 노력에도 불구하고 독성과 치료효과를 모두 만족하는 약물이 요구되고 있다.

- [11] 엔도라이신은 단백질이라는 특성상 불안정하여 일반적인 외부 환경에서 작동하기 어려워 pH, 염 농도 등의 특정한 조건을 요구한다는 한계가 있으며, 그에 따른 세포벽 분해 활성의 정도도 현저한 차이를 나타낸다는 안정성의 문제를 가지고 있다. 폴리믹신은 신장 독성이 치명적이라는 문제가 있다. 또한, 연구가 진행되고 있음에도 불구하고, 그람 음성균은 높은 내성을 가진다는 점, 항생제의 안정성이 떨어지는 문제가 있다는 점 등의 문제가 있어, 이러한 문제들을 해결할 수 있는 새로운 치료제가 요구되고 있다.

[12]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [13] 본 발명의 목적은 신규 항생제 및 이의 용도를 제공하고자 하는 것이며, 상세하게는 그람 음성균에 대해 효과적인 항균 효과를 갖는 항생제를 제공하는 것이다.
- [14] 또한, 본 발명의 목적은 신규 항생제를 포함하는 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[15]

과제 해결 수단

- [16] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 본 발명은 하기 일반식 I로 표시되는 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 제공한다.
- [17] [일반식 I]
- [18] $(D - \text{Linker})_a - (E)_n$
- [19] 상기 식에서,
- [20] D는 폴리믹신(Polymyxin) 또는 이의 유도체이고;
- [21] Linker는 링커이며;
- [22] E는 엔도라이신(Endolysin) 또는 이의 변이체이며,
- [23] a는 1 내지 5의 정수이며, n은 1 내지 3의 정수이고,
- [24] 여기에서 a 또는 n 이 2 이상의 정수인 경우, D, Linker 및 E는 각각 서로 상이한 것일 수 있다.

[25]

발명의 효과

- [26] 본 발명은 신규 항생제 및 이의 용도에 관한 것으로서, 세균 감염의 예방 또는 치료에 유효성을 나타낸다.

[27] 또한, 본 발명에 따른 항생제는 폴리믹신 또는 이의 유도체와 엔도라이신 또는 이의 변이체가 결합된 형태의 항생제를 제공함으로써, 그람 음성균에 대해 효과적인 항균 효과를 나타낼 수 있다.

[28]

도면의 간단한 설명

[29] 도 1은 본 발명의 일 실시형태에 따른 단백질 항생제를 나타낸 도이다.

[30] 도 2 내지 도 4는 본 발명의 일 실시양태에 따른 신규 항생제, 엔도라이신 단독, 링커-약물 단독, 및 엔도라이신과 링커-약물 혼합(1:1)의 타임킬 분석 결과를 나타낸 도이다.

[31] 도 5 내지 도 6은 본 발명의 일 실시양태에 따른 신규 항생제, 엔도라이신 단독 및 콜리스틴 단독의 세포막 투과 분석 결과를 나타낸 도이다.

[32]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[33] 본 발명은 특정 서열의 엔도라이신 변이체 및 특정 구조의 폴리믹신 유도체의 결합에 의한 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물에 관한 것이다.

[34]

발명의 실시를 위한 형태

[35] 이하 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시형태를 들어 상세히 설명한다. 본 발명의 실시형태는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것으로, 본 발명의 실시형태는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 이하 설명하는 실시형태로 한정되는 것은 아니다.

[36] 본 발명에서 달리 정의하지 않는 한, 본 발명에서 사용된 과학 및 기술적 용어는 본 기술분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 대로 의미를 가진다. 나아가 문맥상 특별히 요구되지 않는다면, 단수는 복수를 포함하고, 복수는 단수를 포함한다.

[37] 본 발명의 명세서 전체에서 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 “포함”한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[38]

[39] 본 발명은 하기 일반식 I로 표시되는 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물에 관한 것이다.

[40] [일반식 I]

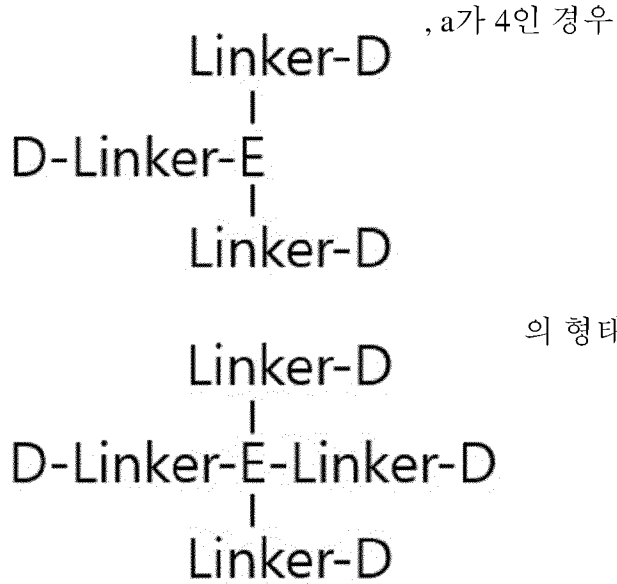
[41] $(D - \text{Linker})_a - (E)_n$

[42] 상기 식에서,

- [43] D는 폴리믹신(Polymyxin) 또는 이의 유도체이고;
 [44] Linker는 링커이며;
 [45] E는 엔도라이신(Endolysin) 또는 이의 변이체이며,
 [46] a는 1 내지 5의 정수이며, n은 1 내지 3의 정수이고,
 [47] 여기에서 a 또는 n 이 2 이상의 정수인 경우, D, Linker 및 E는 각각 서로 상이한 것일 수 있다.
- [48]
- [49] 본 발명에서, 폴리믹신(Polymyxin), 엔도라이신(Endolysin) 또는 이의 유도체, 변이체는 각각 결합되지 않은 형태의 화합물을 지칭할 수 있다. 또한, 폴리믹신(Polymyxin), 엔도라이신(Endolysin)은 항생제를 형성하는 과정에서 일부가 탈락되거나 변형될 수 있고, 상기 D, Linker 및 E는 각각 공유결합에 의해 결합된 전체로써 항생제를 나타낸다.
- [50] 본 발명에서, 폴리믹신(Polymyxin)은 제1 세포벽, 예를 들어 세균의 외막(outer membrane)을 분해시키거나 또는 투과할 수 있고, 엔도라이신(Endolysin)은 제2 세포벽, 예를 들어 세균의 펩티도글리칸 층(peptidoglycan layer)을 분해시킬 수 있다.
- [51] 여기에서, 폴리믹신(Polymyxin), 엔도라이신(Endolysin) 또는 이의 유도체, 변이체는 각각 세포 결합 도메인을 포함할 수 있다. 상기 세포 결합 도메인은 특정 서열 또는 특정 구조를 포함하여 세포벽 결합 특성을 보유하는 것을 의미한다.
- [52] 본 발명에서, 상기 D는 세균의 외부막(outer membrane)을 표적으로 하거나, 또는 세균의 외부막을 투과할 수 있다.
- [53] 본 발명의 일 양태에서, 상기 a는 1 내지 3의 정수이다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 a는 1이다.
- [54] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 a가 2 이상의 정수인 경우, 엔도라이신의 서로 다른 부위에 결합할 수 있다. 또한, 상기 a가 2 이상의 정수인 경우, D 및 Linker는 각각 상이할 수 있고, 독립적으로 선택된다.
- [55] 상기 a가 2 이상의 정수인 경우, D-Linker는 엔도라이신의 서로 다른 부위에 각각 결합할 수 있고, 예를 들어, a가 2 인 경우 상기 일반식 I로 표시되는 항생제는



여기에서 각각의 Linker는 엔도라이신의 다른 부위에 결합할 수 있다. 또한, 상기



의 형태로 존재할 수 있고, 각각의

Linker는 엔도라이신의 다른 부위에 결합할 수 있다.

- [56] 본 발명의 일 양태에서, 상기 n은 1이다.
- [57] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D는 폴리믹신 B(Polymyxin B), 디아실콜리스틴(Deacylcolistin), 콜리스틴(Colistin), 테트라리신(Tetralysin), 펜타리신(Pentalysine), 폴리믹신 B 헵타펩티드(Polymyxin B heptapeptide), 폴리믹신 B 옥타펩티드(Polymyxin B octapeptide), 폴리믹신 B 노나펩티드(Polymyxin B nonapeptide), 폴리믹신 B 데카펩티드(Polymyxin B decapeptide), 폴리믹신 B 운데카펩티드(Polymyxin B undecapeptide), 폴리믹신 B 도데카펩티드(Polymyxin B dodecapeptide), 콜리스틴 헵타펩티드(Colistin heptapeptide), 콜리스틴 옥타펩티드(Colistin octapeptide), 콜리스틴 노나펩티드(Colistin nonapeptide), 콜리스틴 데카펩티드(Colistin decapeptide), 콜리스틴 운데카펩티드(Colistin undecapeptide), 콜리스틴 도데카펩티드(Colistin dodecapeptide) 및 이의 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 1종이다.
- [58] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D는 폴리믹신 B 헵타펩티드, 폴리믹신 B 옥타펩티드, 폴리믹신 B 노나펩티드, 폴리믹신 B 데카펩티드, 폴리믹신 B 운데카펩티드, 폴리믹신 B 도데카펩티드, 콜리스틴 헵타펩티드, 콜리스틴 옥타펩티드, 콜리스틴 노나펩티드, 콜리스틴 데카펩티드, 콜리스틴 운데카펩티드 및 콜리스틴 도데카펩티드로 구성된 군으로부터 선택된 1종이다.
- [59] 여기에서, 상기 헵타펩티드, 옥타펩티드, 노나펩티드, 데카펩티드, 운데카펩티드 및 도데카펩티드는 폴리믹신 B 또는 콜리스틴을 구성하는 펩티드를 의미하는 것으로, 사이클 구조 및 사이클 구조 외부로 연결된 하나 이상의 펩티드를 포함한다.
- [60] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D는 폴리믹신 B, 콜리스틴 또는 이의 유도체를 포함한다.
- [61] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D는 콜리스틴 또는 이의 유도체를 포함한다.

- [62] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D는 지방산 체인(fatty acid chain)이 제거된 콜리스틴 유도체이다.
- [63] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D는 콜리스틴 헵타펩티드, 콜리스틴 옥타펩티드, 콜리스틴 노나펩티드 또는 콜리스틴 데카펩티드이다.
- [64]
- [65] 본 발명에서, 엔도라이신(Endolysin)은 통상의 기술자에게 일반적으로 인식되는 물질을 의미하며, 표적 결합을 통해 세포벽의 펩티도글리칸을 가수분해 또는 비가수분해할 수 있는 모든 종류의 물질을 포함한다. 예를 들어, 엔도라이신은 용해성 트랜스글리코실라제(lytic transglycosylases), 뮤라미다제(muramidase), 엔도펩티다아제(endopeptidase), 아미다아제(amidase) 등을 포함하고, 펩티도글리칸의 내부, 층 및 외부 모두에서 결합을 절단할 수 있는 모든 종류의 물질을 포함한다.
- [66] 또한, 본 발명은 엔도라이신 및/또는 엔도라이신 변이체를 포함한다. 본 발명에서 엔도라이신 또는 엔도라이신 변이체는 자연적으로 발생하거나, 특이적으로 분절되거나, 변형된 형태를 포함한다.
- [67] 본 발명의 엔도라이신 및/또는 엔도라이신 변이체는 예를 들어, ABgp46, LysAB2, PlyF307, PlyE146, PlyAB1, PlyPa103, PlyPa91, ABgp46, Ply6A3, KZ144, LysPA26, KP26, EL188, EndoT5, GN121, CF370 등을 포함한다.
- [68] 본 발명에서, 엔도라이신 및/또는 엔도라이신 변이체는 하기 속주로부터 유래된 것일 수 있다:
- [69] 앱시엘라(*Absiella* sp.), 아크로모박터 파지(*Achromobacter* phage), 아시디사르시나 폴리모르파(*Acidisarcina polymorpha*), 아시디티오바실러스 파지(*Acidithiobacillus* phage), 아시도보렉스 파지(*Acidovorax* phage), 아시네토박터 베레지니아(*Acinetobacter bereziniae*), 아시네토박터 파지(*Acinetobacter* phage), 아시네토박터 프라젠시스(*Acinetobacter pragensis*), 아시네토박터 솔리(*Acinetobacter soli*), 액티노바실러스 델피니콜라(*Actinobacillus delphinicola*), 액티노바실러스 포르시누스(*Actinobacillus porcinus*), 액티노바실러스 세미니스(*Actinobacillus seminis*), 액티노마이세스 석시니시루미니스(*Actinomyces succiniciruminis*), 액티노플레인스(*Actinoplanes* sp.), 에어로모나스 파지(*Aeromonas* phage), 에어로모나스 바이러스(*Aeromonas* virus), 아그로박테리움 파지(*Agrobacterium* phage), 아커만시아 무시니필라(*Akkermansia muciniphila*), 알리시클리필루스 데니트리피칸스(*Alicyclophilus denitrificans*), 알칼리필루스 메탈리레디겐스(*Alkaliphilus metalliredigens*), 알파프로테오박테리아 파지(*Alphaproteobacteria* phage), 아나바에나(*Anabaena* sp.), 아나바에놉시스 서클라리스(*Anabaenopsis circularis*), 아파노캡사 펠드만니(*Aphanocapsa feldmannii*), 아르세노포누스 나소니에(*Arsenophonus nasoniae*), 아르트로박터 파지(*Arthrobacter* phage), 오레이모나스(*Aureimonas* sp.), 바실러스 아밀로리퀘파시엔스 파지(*Bacillus amyloliquefaciens* phage), 바실러스

안트라시스(*Bacillus anthracis*), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 바실러스
 코아굴란스(*Bacillus coagulans*), 바실러스 사이토크시쿠스(*Bacillus cytotoxicus*),
 바실러스 미코이데스(*Bacillus mycoides*), 바실러스 파지(*Bacillus phage*),
 바실러스 수도미코이데스(*Bacillus pseudomycoides*), 바실러스
 셀레나타세나티스(*Bacillus selenatarsenatis*), 바실러스(*Bacillus sp.*), 바실러스
 투린제인시스(*Bacillus thuringiensis*), 바실러스 토요넨시스(*Bacillus toyonensis*),
 바실러스 바이러스(*Bacillus virus*), 박테로이데테스 박테리움(*Bacteroidetes
 bacterium*), 브델로비브리오 박테리오보러스(*Bdellovibrio bacteriovorus*),
 부텐베르시아 카버나에(*Beutenbergia cavernae*), 비피도박테리움 비피둠(*Bifidobacterium
 bifidum*), 비피도박테리움 칼리미코니스(*Bifidobacterium
 callimiconis*), 비피도박테리움 프리마티움(*Bifidobacterium primatium*),
 보르데텔라 파지(*Bordetella phage*), 브라키스피라 인터미디아(*Brachyspira
 intermedia*), 브라키스피라 필로시콜리(*Brachyspira pilosicoli*), 브레비박테리움
 파지(*Brevibacterium phage*), 브레분디모나스(*Brevundimonas sp.*), 브루셀라
 파지(*Brucella phage*), 부르크홀데리아 암비파리아(*Burkholderia ambifaria*),
 부르크홀데리아 세노세파시아(*Burkholderia cenocepacia*), 부르크홀데리아
 파지(*Burkholderia phage*), 부르크홀데리아 플란타리(*Burkholderia plantarii*),
 부르크홀데리아(*Burkholderia sp.*), 부르크홀데리아 바이러스(*Burkholderia virus*),
 칼로트릭스(*Calothrix sp.*), 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 캄필로박터
 파지(*Campylobacter phage*), 칸디다투스 아큐물리박터 포스파티스(*Candidatus
 Accumulibacter phosphatis*), 칸디다투스 에르위니아 다시콜라(*Candidatus Erwinia
 dacicola*), 칸디다투스 해밀토넬라 데펜사(*Candidatus Hamiltonella defensa*),
 칸디다투스 모란박테리아 박테리움(*Candidatus Moranbacteria bacterium*),
 칸디다투스 노무라박테리아 박테리움(*Candidatus Nomurabacteria bacterium*),
 칸디다투스 사카리박테리아 박테리움(*Candidatus Saccharibacteria bacterium*),
 카르노박테리움 말타로마티쿰(*Carnobacterium maltaromaticum*),
 카우도바이랄레스(*Caudovirales sp.*), 카울로박터 파지(*Caulobacter phage*),
 카울로박터(*Caulobacter sp.*), 카울로박터 바이러스(*Caulobacter virus*), 세데세아
 네테리(*Cedecea neteri*), 셀룰로모나스 카르보니스(*Cellulomonas carbonis*),
 셀룰로모나스 피미(*Cellulomonas fimi*), 셀룰로모나스 플라비제나(*Cellulomonas
 flavigena*), 셀룰로모나스 길부스(*Cellulomonas gilvus*), 셀룰로모나스 솔리(*Cellulomonas
 soli*), 셀룰로파가 알기콜라(*Cellulophaga algicola*), 셀룰로파가
 리티카(*Cellulophaga lytica*), 셀룰로실리티쿰 렌토셀룸(*Cellulosilyticum
 lentocellum*), 셀룰로시마이크로비움(*Cellulosimicrobium sp.*), 취마에리박터
 아루피(*Chimaeribacter arupi*), 취마에리박터 칼리포니쿠스(*Chimaeribacter
 californicus*), 취마에리박터 콜로라덴시스(*Chimaeribacter coloradensis*),
 크로모박테리움(*Chromobacterium sp.*), 크리세오박테리움 온코힌치(*Chryseobacterium
 oncorhynchi*), 시트로박터 아말로나티쿠스(*Citrobacter*

amalonaticus), 시트로박터 브라키(*Citrobacter braakii*), 시트로박터 파메리(*Citrobacter farmeri*), 시트로박터 프룬디(*Citrobacter freundii*), 시트로박터 파지(*Citrobacter phage*), 시트로박터(*Citrobacter sp.*), 시트로박터 바이러스(*Citrobacter virus*), 클라비박터 파지(*Clavibacter phage*), 클로스트리디아세아 박테리움(*Clostridiaceae bacterium*), 클로스트리디알레스 박테리움(*Clostridiales bacterium*), 클로스트리디오이데스 디피실레(*Clostridioides difficile*), 클로스트리디오이데스 파지(*Clostridioides phage*), 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 클로스트리디움 카르복시디보란스(*Clostridium carboxidivorans*), 클로스트리디움 파지(*Clostridium phage*), 클로스트리디움 스카톨로젠스(*Clostridium scatologenes*), 클로스트리디움(*Clostridium sp.*), 클로스트리디움 바이러스(*Clostridium virus*), 콜리모나스 아레나에(*Collimonas arenae*), 콜리모나스 펀지보란스(*Collimonas fungivorans*), 크로노박터 말로나티쿠스(*Cronobacter malonaticus*), 크로노박터 파지(*Cronobacter phage*), 크로노박터 사카자키(*Cronobacter sakazakii*), 크로노박터 바이러스(*Cronobacter virus*), 큐피리아비두스(*Cupriavidus sp.*), 쿠르비박터 파지(*Curvibacter phage*), 시아노박테리아 박테리움(*Cyanobacteria bacterium*), 시아노박테리움 아포니눔(*Cyanobacterium aponinum*), 시아노비움(*Cyanobium sp.*), 시아노테세(*Cyanothece sp.*), 데이노코커스 마르모리스(*Deinococcus marmoris*), 델프트리아 추루한텐시스(*Delftia tsuruhatensis*), 델타프로테오박테리아 박테리움(*Deltaproteobacteria bacterium*), 데니트로비브리오 아세티필루스(*Denitrovibrio acetiphilus*), 데선포비브리오 불가리스(*Desulfovibrio vulgaris*), 디케야 아쿠아티카(*Dickeya aquatica*), 디케야 크리잔테미(*Dickeya chrysanthemi*), 디케야 파지(*Dickeya phage*), 돌리코스퍼멈 플랑크토니쿰(*Dolichospermum planctonicum*), 도레아 롱지카테나(*Dorea longicatena*), 디엘라 지앙니젠시스(*Dyella jiangningensis*), 에드워드시엘라 파지(*Edwardsiella phage*), 엔테로박터 아스부리아에(*Enterobacter asburiae*), 엔테로박터 칸세로제누스(*Enterobacter cancerogenus*), 엔테로박터 클로아사에(*Enterobacter cloacae*), 엔테로박터 호르마에케이(*Enterobacter hormaechei*), 엔테로박터 코베이(*Enterobacter kobei*), 엔테로박터 파지(*Enterobacter phage*), 엔테로박터 로젠캄피(*Enterobacter roggkampii*), 엔테로박터 시추아넨시스(*Enterobacter sichuanensis*), 엔테로박터(*Enterobacter sp.*), 엔테로박테랄레스 박테리움(*Enterobacterales bacterium*), 엔테로박테리아 파지(*Enterobacteria phage*), 엔테로박테리아세아 박테리움(*Enterobacteriaceae bacterium*), 엔테로박테리아세아 파지(*Enterobacteriaceae phage*), 엔테로박테리알 파지(*Enterobacterial phage*), 엔테로코커스 아비움(*Enterococcus avium*), 엔테로코커스 카셀리플라부스(*Enterococcus casseliflavus*), 엔테로코커스 데브리예세이(*Enterococcus devriesei*), 엔테로코커스 두란스(*Enterococcus durans*), 엔테로코커스 파에칼리스(*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 파에시움(*Enterococcus faecium*), 엔테로코커스 플로럼(*Enterococcus florum*), 엔테로코커스

갈리나룸(*Enterococcus gallinarum*), 엔테로코커스 히라에(*Enterococcus hirae*),
 엔테로코커스 파지(*Enterococcus phage*), 엔테로코커스 플란타룸(*Enterococcus plantarum*), 엔테로코커스 사칼로리티쿠스(*Enterococcus saccharolyticus*),
 엔테로코커스(*Enterococcus sp.*), 엔테로비브리오 노르베지쿠스(*Enterovibrio norvegicus*), 에르위니아 파지(*Erwinia phage*), 에르위니아(*Erwinia sp.*),
 에르위니아 트라케이필라(*Erwinia tracheiphila*), 에르위니아 티포그라피(*Erwinia typographi*), 에리시 펠로트리카세아 박테리움(*Erysipelotrichaceae bacterium*),
 에리트로박테라세아 박테리움(*Erythrobacteraceae bacterium*), 이스케리카
 파지(*Escherichia phage*), 이스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 이스케리키아
 파지(*Escherichia phage*), 이스케리키아(*Escherichia sp.*), 이스케리키아
 바이러스(*Escherichia virus*), 유박테리움 칼란데리(*Eubacterium callanderi*),
 유박테리움 엘리젠스(*Eubacterium eligens*), 유박테리움(*Eubacterium sp.*),
 엑시구오박테리움(*Exiguobacterium sp.*), 파에칼리박테리움 파지(*Faecalibacterium phage*), 파에칼리박테리움(*Faecalibacterium sp.*), 퍼미쿠테스 박테리움(*Firmicutes bacterium*),
 피스케렐라(*Fischerella sp.*), 피스케렐라 테르말리스(*Fischerella thermalis*), 플라보박테리움 아퀴두렌스(*Flavobacterium aquidurens*),
 푸소박테리알레스 박테리움(*Fusobacteriales bacterium*), 푸소박테리움 화수키(*Fusobacterium hwasookii*), 푸소박테리움 네크로포럼(*Fusobacterium necrophorum*),
 푸소박테리움 누클레아툼(*Fusobacterium nucleatum*), 푸소박테리움
 페리오돈티쿰(*Fusobacterium periodonticum*), 감마프로테오박테리아
 박테리움(*Gammaproteobacteria bacterium*), 젼마티로사 칼라마주네시스(*Gemmatirosa kalamazoonensis*), 젼미저(*Gemmiger sp.*), 제오바실러스
 바이러스(*Geobacillus virus*), 글레이미아 유로파에(*Gleimia europaea*),
 글로에오테세 시트리포르미스(*Gloeotheca citriformis*), 글로에오테세 베루코사(*Gloeotheca verrucosa*), 고르도니아 브론키알리스(*Gordonia bronchialis*),
 고르도니아 파지(*Gordonia phage*), 그라실리바실루스 보라시톨레란스(*Gracilibacillus boracitolerans*), 그라실리바실러스 할로필러스(*Gracilibacillus halophilus*),
 헤모필루스 파지(*Haemophilus phage*), 하프니아 파랄베이(*Hafnia paralvei*), 할리스코메노박터 히드로시스(*Haliscomenobacter hydrossis*),
 인트라스포란지움 칼븀(*Intrasporangium calvum*), 잔티노박테리움 리비둠(*Janthinobacterium lividum*), 제오텔갈리바실러스 솔리(*Jeotgalibacillus soli*),
 칸지엘라 제오제도넨시스(*Kangiella geojedonensis*), 칸지엘라 세디미니토리스(*Kangiella sediminitoris*), 클레브시엘라 아에로젠스(*Klebsiella aerogenes*),
 클레브시엘라 미시가넨시스(*Klebsiella michiganensis*), 클레브시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*), 클레브시엘라 파지(*Klebsiella phage*), 클레브시엘라
 뉴모니아에(*Klebsiella pneumoniae*), 클레브시엘라 콰시뉴모니아에(*Klebsiella quasipneumoniae*), 클레브시엘라(*Klebsiella sp.*), 클레브시엘라
 바이러스(*Klebsiella virus*), 라크노스피라세아 박테리움(*Lachnospiraceae*

bacterium), 락토바실러스 아시디피스시스(*Lactobacillus acidipiscis*), 락토바실러스 아길리스(*Lactobacillus agilis*), 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 키아이엔시스(*Lactobacillus chiayiensis*), 락토바실러스 쿠르바투스(*Lactobacillus curvatus*), 락토바실러스 멜리벤텐트리스(*Lactobacillus melliventris*), 락토바실러스 무리누스(*Lactobacillus murinus*), 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*), 락토바실러스 파라플란타룸(*Lactobacillus paraplantarum*), 락토바실러스 펜토수스(*Lactobacillus pentosus*), 락토바실러스 파지(*Lactobacillus phage*), 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*), 락토바실러스 살리톨레란스(*Lactobacillus salitolerans*), 락토바실러스 살리바리우스(*Lactobacillus salivarius*), 락토바실러스 셀랑고렌시스(*Lactobacillus selangorensis*), 락토바실러스(*Lactobacillus sp.*), 락토바실러스 수시콜라(*Lactobacillus sucicola*), 락토코커스 가르비에아(*Lactococcus garvieae*), 락토코커스 락티스 파지(*Lactococcus lactis phage*), 락토코커스 파지(*Lactococcus phage*), 락토코커스 바이러스(*Lactococcus virus*), 레클레르시아 파지(*Leclercia phage*), 렌티박터 바이러스(*Lentibacter virus*), 렘토링비아(*Leptolyngbya*), 렘토네마(*Leptonema*), 리모실락토바실러스 퍼멘텀(*Limosilactobacillus fermentum*), 리스테리아 모노사이토젠스 세로타입(*Listeria monocytogenes serotype*), 리스테리아 파지(*Listeria phage*), 리스테리아 바이러스(*Listeria virus*), 리시니바실러스 파지(*Lysinibacillus phage*), 리시니바실러스 자일라닐리티쿠스(*Lysinibacillus xylanilyticus*), 리소박터(*Lysobacter sp.*), 만네이미아 파지(*Mannheimia phage*), 마리노박터 파지(*Marinobacter phage*), 마리노박터(*Marinobacter sp.*), 마실리아 아우레아(*Massilia aurea*), 마실리아(*Massilia sp.*), 메타게놈(Metagenome), 마이크로박테리움 에스테라노마티쿰(*Microbacterium esteraromaticum*), 마이크로박테리움 호미니스(*Microbacterium hominis*), 마이크로박테리움 옥시단스(*Microbacterium oxydans*), 마이크로박테리움 파지(*Microbacterium phage*), 마이크로박테리움(*Microbacterium sp.*), 마이크로비스포라(*Microbispora sp.*), 마이크로비리다에(*Microviridae sp.*), 모락셀라(*Moraxella*), 모르가넬라 파지(*Morganella phage*), 미코박테리움 파지(*Mycobacterium phage*), 미코박테리움(*Mycobacterium sp.*), 미코박테로이데스(*Mycobacteroides sp.*), 미콜리시박테리움 아이키엔스(*Mycolicibacterium aichiense*), 미콜리시박테리움 브리스바넨스(*Mycolicibacterium brisbanense*), 미콜리시박테리움 카나리아센스(*Mycolicibacterium canariasense*), 미콜리시박테리움 치타에(*Mycolicibacterium chitae*), 미콜리시박테리움 세네갈렌스(*Mycolicibacterium senegalense*), 미콜리시박테리움 스메그마티스(*Mycolicibacterium smegmatis*), 미오비리다에(*Myoviridae sp.*), 네이세리아(*Neisseria sp.*), 니사박터(*Nissabacter sp.*), 노카르디아(*Nocardia sp.*), 노카르디아 테르페니카(*Nocardia terpenica*), 노카르디오데스(*Nocardioides sp.*), 노둘라리아 파지(*Nodularia phage*),

노스톡(*Nostoc* sp.), 노보스핑고비움 니트로제니피겐스(*Novosphingobium nitrogenifigens*), 오세아노스피릴라세아 박테리움(*Oceanospirillaceae* bacterium), 오크로박트룸 파지(*Ochrobactrum* phage), 오크로박트룸 솔리(*Ochrobactrum soli*), 오실리박터(*Oscillibacter* sp.), 파에니바실루스(*Paenibacillus* sp.), 판테오아 파지(*Panteoa* phage), 판토에아 코페이필라(*Pantoea coffeiphila*), 판토에아(*Pantoea* sp.), 파라부르콜데리아 그라미니스(*Paraburkholderia graminis*), 파라코커스 파지(*Paracoccus* phage), 파르쿠박테리아 그룹 박테리움(*Parcubacteria* group bacterium), 파스테렐라 파지(*Pasteurella* phage), 파스테렐라 바이러스(*Pasteurella* virus), 부날리케바이러스(*Pbunali-likevirus*), 펙티노박테리움 파지(*Pectinobacterium* phage), 펙토박테리움 파지(*Pectobacterium* phage), 페디오코커스 담노수스(*Pediococcus damnosus*), 파에오닥틸박터 시아메넨시스(*Phaeodactylibacter xiamenensis*), 피시스파에라에 박테리움(*Phycisphaerae* bacterium), 플레시오모나스 파지(*Plesiomonas* phage), 플루랄리박터 게르고비아(*Pluralibacter gergoviae*), 뉴모코커스 파지(*Pneumococcus* phage), 포도비리다에(*Podoviridae* sp.), 포르티코카세아 박테리움(*Porticoccaceae* bacterium), 프로클로로코커스(*Prochlorococcus* sp.), 프로피오니박테리아세아 박테리움(*Propionibacteriaceae* bacterium), 프로피오니박테리움 파지(*Propionibacterium* phage), 프로테우스 파지(*Proteus* phage), 프로비덴시아 파지(*Providencia* phage), 슈다나바에나(*Pseudanabaena* sp.), 슈도알테로모나스(*Pseudoalteromonas*), 슈도굴벤키아니아(*Pseudogulbenkiania* sp.), 슈도모나드 파지(*Pseudomonad* phage), 슈도모나스 바투미시(*Pseudomonas batumici*), 슈도모나스 클로로라피스(*Pseudomonas chlororaphis*), 슈도모나스 프레데릭스베르겐시스(*Pseudomonas frederiksbergensis*), 슈도모나스 오리엔탈리스(*Pseudomonas orientalis*), 슈도모나스 파지(*Pseudomonas* phage), 슈도모나스(*Pseudomonas* sp.), 슈도모나스 신잔타(*Pseudomonas synxantha*), 슈도모나스 바이러스(*Pseudomonas* virus), 사이크로바실러스 파지(*Psychrobacillus* phage), 사이크로박터 니비마리스(*Psychrobacter nivimaris*), 사이크로박터 파지(*Psychrobacter* phage), 사이크로박터(*Psychrobacter* sp.), 사이크로모나스(*Psychromonas* sp.), 라넬라(*Rahnella* sp.), 랄스토니아 파지(*Ralstonia* phage), 랄스토니아(*Ralstonia* sp.), 라오울텔라 파지(*Raoultella* phage), 리조비움 파지(*Rhizobium* phage), 로도박터 파지(*Rhodobacter* phage), 로도박테라세아 박테리움(*Rhodobacteraceae* bacterium), 로도코커스 에테리보란스(*Rhodococcus aetherivorans*), 로도코커스 엔클렌시스(*Rhodococcus enclensis*), 로도코커스(*Rhodococcus* sp.), 로도피렐룰라(*Rhodopirellula* sp.), 로즈부리아 파지(*Roseburia* phage), 로세오박터 파지(*Roseobacter* phage), 룩시엘라 실바에(*Rouxiiella silvae*), 루미노코카세아 박테리움(*Ruminococcaceae* bacterium), 루미노코커스 비시르쿨란스(*Ruminococcus bicirculans*), 루미노코커스 그나부스(*Ruminococcus gnavus*), 루미노코커스(*Ruminococcus* sp.),

루테니박테리움 락타티포르만스(*Ruthenibacterium lactatiformans*), 살모넬라 아고나(*Salmonella agona*), 살모넬라 아나툼(*Salmonella anatum*), 살모넬라 베르타(*Salmonella berta*), 살모넬라 본고리(*Salmonella bongori*), 살모넬라 콜레라에수이스(*Salmonella choleraesuis*), 살모넬라 데르비(*Salmonella derby*), 살모넬라 디아리조나(*Salmonella diarizonae*), 살모넬라 더블린(*Salmonella dublin*), 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*), 살모넬라 엔테리카 서브종(*Salmonella enterica* subsp.), 살모넬라 엔테리티디스(*Salmonella enteritidis*), 살모넬라 하다르(*Salmonella hadar*), 살모넬라 호우테나(*Salmonella houtenae*), 살모넬라 인판티스(*Salmonella infantis*), 살모넬라 몬테비데오(*Salmonella montevideo*), 살모넬라 무엔첸(*Salmonella muenchen*), 살모넬라 무엔스터(*Salmonella muenster*), 살모넬라 뉴포트(*Salmonella newport*), 살모넬라 오라니엔베르그(*Salmonella oranienberg*), 살모넬라 오르도네즈(*Salmonella ordonez*), 살모넬라 파라티피 A(*Salmonella paratyphi* A), 살모넬라 파지(*Salmonella phage*), 살모넬라 포츠담(*Salmonella potsdam*), 살모넬라(*Salmonella* sp.), 살모넬라 톰슨(*Salmonella thompson*), 살모넬라 타이피(*Salmonella typhi*), 살모넬라 타이피무리움(*Salmonella typhimurium*), 살모넬라 바이러스(*Salmonella virus*), 쉬알리아 투리센시스(*Schaalia turicensis*), 사이토네마(*Scytonema* sp.), 세라티아 폰티콜라(*Serratia fonticola*), 게라티아 마르세센스(*Serratia marcescens*), 세라티아 파지(*Serratia phage*), 세라티아 프로테아마쿨란스(*Serratia proteamaculans*), 세라티아(*Serratia* sp.), 쉬바넬라 발티카(*Shewanella baltica*), 쉬바넬라 할리파젠시스(*Shewanella halifaxensis*), 쉬바넬라 파지(*Shewanella phage*), 쉬바넬라(*Shewanella* sp.), 쉬겔라 보이디(*Shigella boydii*), 쉬겔라 디센테리아(*Shigella dysenteriae*), 쉬겔라 파지(*Shigella phage*), 쉬겔라 손네이(*Shigella sonnei*), 쉬겔라(*Shigella* sp.), 쉬겔라 바이러스(*Shigella virus*), 시노리조비움 파지(*Sinorhizobium phage*), 시포비리다에(*Siphoviridae* sp.), 스노드그라셀라 알비(*Snodgrassella alvi*), 스파에로스퍼몹시스(*Sphaerospermopsis*), 스파에로틸루스 파지(*Sphaerotilus phage*), 스펅고모나스(*Sphingomonas* sp.), 스펅고픽시스(*Sphingopyxis* sp.), 스피로케아테스 박테리움(*Spirochaetes bacterium*), 스포로사르시나 파지(*Sporosarcina phage*), 스타니에리아(*Stanieria* sp.), 스타필로코커스 파지(*Staphylococcus phage*), 스타필로코커스 바이러스(*Staphylococcus virus*), 스테노트로포모나스 말토틸리아(*Stenotrophomonas maltophilia*), 스테노트로포모나스 파지(*Stenotrophomonas phage*), 스트렙토코커스 카니스(*Streptococcus canis*), 스트렙토코커스 디스갈락티아 서브종(*Streptococcus dysgalactiae* subsp.), 스트렙토코커스 페루스(*Streptococcus ferus*), 스트렙토코커스 갈로리티쿠스(*Streptococcus gallolyticus*), 스트렙토코커스 미티스(*Streptococcus mitis*), 스트렙토코커스 오랄리스(*Streptococcus oralis*), 스트렙토코커스 파지(*Streptococcus phage*), 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코커스 수도포르시누스(*Streptococcus pseudoporcinus*),

스트렙토코커스 살리바리우스(*Streptococcus salivarius*),
 스트렙토코커스(*Streptococcus* sp.), 스트렙토코커스 수이스(*Streptococcus suis*),
 스트렙토코커스 써모필루스(*Streptococcus thermophilus*), 스트렙토코커스
 트로글로디타에(*Streptococcus troglodytae*), 스트렙토코커스 베스티불라리스(*Streptococcus vestibularis*), 스트렙토모노스포라 알바(*Streptomonospora alba*),
 스트렙토마이세스 알불루스(*Streptomyces albulus*), 스트렙토마이세스
 편지시디쿠스(*Streptomyces fungicidicus*), 스트렙토마이세스 길보스포레우스(*Streptomyces gilvosporeus*), 스트렙토마이세스 그리세오푸스쿠스(*Streptomyces griseofuscus*), 스트렙토마이세스 히그로스코피쿠스(*Streptomyces hygrosopicus*),
 스트렙토마이세스 이라넨시스(*Streptomyces iranensis*), 스트렙토마이세스
 라벤둘라(*Streptomyces lavendulae*), 스트렙토마이세스 노우르세이(*Streptomyces noursei*), 스트렙토마이세스 파지(*Streptomyces* phage),
 스트렙토마이세스(*Streptomyces* sp.), 스트렙토마이세스 바이러스(*Streptomyces*
 virus), Stx 컨버팅 파지(Stx converting phage), Stx1 컨버팅 파지(Stx1 converting
 phage), Stx2 컨버팅 파지(Stx2 converting phage),
 서브돌리그라눌룸(*Subdoligranulum* sp.), 설피토박터 파지(*Sulfitobacter* phage),
 시네코코칼레스 박테리움(*Synechococcales* bacterium), 시네코코커스
 파지(*Synechococcus* phage), 시네코코커스(*Synechococcus* sp.), 신티로파세티쿠스
 쉰키(*Syntrophaceticus schinkii*), 신티로포박테라세아
 박테리움(*Syntrophobacteraceae* bacterium), 써모비피다 할로톨레란스(*Thermobifida halotolerans*), 써모비스포라 비스포라(*Thermobispora bispora*),
 써모스 파지(*Thermus* phage), 써모스 바이러스(*Thermus* virus),
 톨리포트릭스(*Tolypothrix* sp.), 트레포네마 브레나보렌스(*Treponema*
brennaborensis), 트레포네마 칼다리움(*Treponema caldarium*), 트레포네마
 사카로필룸(*Treponema saccharophilum*), 트레포네마 석시니파시엔스(*Treponema*
succinifaciens), 바리바쿨럼 캄브리엔스(*Varibaculum cambriense*), 비브리오
 파지(*Vibrio* phage), 비브리오(*Vibrio* sp.), 비브리오 바이러스(*Vibrio* virus),
 위크셀라 비로사(*Weeksella virosa*), 와이셀라 콘푸사(*Weissella confusa*), 와이셀라
 코런시스(*Weissella koreensis*), 와이셀라 문티아시(*Weissella muntiaci*),
 잔토모나스 오리자에(*Xanthomonas oryzae*), 잔토모나스 파지(*Xanthomonas*
 phage), 잔토모나스 바이러스(*Xanthomonas* virus), 제노랍두스 보비에니(*Xenorhabdus bovienii*), 자일렐라 파스티디오사(*Xylella fastidiosa*), 자일렐라
 파지(*Xylella* phage), 자일렐라 타이와넨시스(*Xylella taiwanensis*), 예르시니아
 베르코비에리(*Yersinia bercovieri*), 예르시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia*
enterocolitica), 예르시니아 엔토모파가(*Yersinia entomophaga*), 예르시니아
 프레데릭세니(*Yersinia frederiksenii*), 예르시니아 인터미디아(*Yersinia intermedia*),
 예르시니아 크리스텐세니(*Yersinia kristensenii*), 예르시니아 마실리엔시스(*Yersinia*
massiliensis), 예르시니아 몰라레티(*Yersinia mollaretii*), 예르시니아

페카네니(*Yersinia pekkanenii*), 예르시니아 파지(*Yersinia phage*), 예르시니아 룩케리(*Yersinia ruckeri*), 예르시니아 바이러스(*Yersinia virus*), 예르시니아 와우테르시(*Yersinia wautersii*).

[70] 상기 숙주에서 특별한 제한이 없는 한 알려진 파지를 모두 포함하고, 상기 숙주로부터 유래된 엔도라이신의 구체적인 서열은 NCBI 단백질 데이터베이스 또는 UniProt 단백질 데이터베이스로부터 확인할 수 있다.

[71] 본 발명의 일 양태에서, 엔도라이신으로는 가드넬라 spp.로부터 유래한 엔도라이신(PCT/GB2020/051137), 재조합 엔도라이신(PCT/EP2020/062645), 스태필로코커스 특이적 엔도라이신 폴리펩티드(US 10829749), 스태필로코커스 호미니스(*Staphylococcus hominis*) 파지로부터 유래한 엔도라이신(PCT/EP2020/059346), 내열성 엔도라이신(US 2020-0318090, KR 10-1200333), 중양성 박테리아 특이적 엔도라이신(US 2020-0291373), 클로스트리디움 포프린젠스(*Clostridium perfringens*) 특이적 엔도라이신(PCT/GB2020/050237, US 10544406, KR 10-2035283), *Paenibacillus larvae* 특이적 엔도라이신(PCT/IB2019/055164), 이중효소 키메라 엔도라이신(US 2020-0140837), 황색포도상구균 특이적 엔도라이신(KR 10-2097127, KR 10-2097128, US 2019-0359962), 구형 그람-음성 엔도라이신(KR 10-2020-0012844), *P. 아크네* 파지 유래 엔도라이신(PCT/EP2019/063765), 바실루스 박테리오파지 엔도라이신(PCT/US2019/032669), 살모넬라 박테리아 특이적 엔도라이신(US 2019-0125897)이 사용될 수 있다.

[72] 본 발명의 일 양태에서, 엔도라이신으로는 기타 항균성 엔도라이신(PCT/EP2019/064097, PCT/EP2019/064100, US 10485854, US 10487140, US 2019-0337997, US 2019-0330609, PCT/IR2018/050005, US 10377992, US 2019-0218538, US 2019-0209663, US 2019-0194637, EP 3488860, US 10184120, US 10167462, US 2018-0147264, KR 10-2018-0015925, KR 10-2018-0004584, US 9809808, KR 10-1796279, KR 10-1785487, US 9752136, US 9609876, US 9567575, US 9545431, US 9518252, PCT/US2016/015520, US 9394534, US 9388400, US 2016-0097044, US 2016-0045578, US 2016-0040148, US 2016-0010071, US 9206411, US 2015-0344859, US 2015-0335719, KR 10-1571835, US 2015-0165013, US 901815, US 8980614, US 2014-0302004, US 2014-0302216, US 8790639, US 2014-0017224, US 8568714, US 8361772, KR 10-1177358, US 2012-0128652, US 2011-0243916, US 7982003, US 2011-0159594, PCT/PT2010/000050, PCT/IB2006/004168) 등이 사용될 수 있다.

[73] 본 발명의 일 양태에서, 상기 엔도라이신은 슈도모나스(*Pseudomonas*) 작용 엔도라이신으로부터 유래된 것을 사용할 수 있다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 엔도라이신은 슈도모나스 작용 엔도라이신의 2종 이상으로부터 조합된 키메라 엔도라이신을 사용할 수 있다. 더 상세하게는 상기 엔도라이신은 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 작용 엔도라이신으로부터

유래된 것을 사용할 수 있다.

[74] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 펩티도글리칸(peptidoglycan) 결합 도메인을 포함한다.

[75] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 엔도라이신 변이체이고, 서열번호 1로 표현되는 키메라 엔도라이신 변이체일 수 있다.

[76] 서열번호 1:

[77] MGSSHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGLSLIKSFEGRLRLQAYQDSVGVWT
IGYGATRGVKAGMKISKEQAERMLLNDVQRFEPVQRLITAPLSQNQWDALM
SFTYNLGAANLESSTLLKKLNAGDYIGAADQFLVWNKGRVDGKLVVIKGLAN
RRAKERKQFIGE

[78] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 엔도라이신 변이체이고, 엔도라이신 변이체는 상기 엔도라이신 변이체 또는 이의 분절과 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 보다 더 상세하게는 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 보다 더 상세하게는 99% 또는 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 서열이다.

[79] 본 발명에서, 엔도라이신 변이체는 서열번호 1로 표현되는 엔도라이신 변이체와 80% 이상의 서열 상동성을 가지면서, 펩티도글리칸에 결합하여 세포벽을 분해하는 특성을 가진다. 본 발명에서, 엔도라이신 변이체는 아미노산 1 내지 178의 영역에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 또는 40 개의 아미노산의 부가, 결실, 치환, 및/또는 변형을 갖는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 구체적으로, 엔도라이신 변이체는 아미노산 1 내지 10의 영역 또는 165 내지 178의 영역에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 개의 아미노산의 부가, 결실, 치환, 및/또는 변형을 갖는 폴리펩티드를 포함한다.

[80]

[81] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 엔도라이신 변이체이고, 하기 서열번호 2 내지 서열번호 21로 구성된 군으로부터 선택되는 1종의 키메라 엔도라이신 변이체일 수 있다.

[82]

서열번호	아미노산 서열
서열번호 2	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGLSLIKSFEGRLRLOA YQDSVGVWVTIGYGATRGVKAGMKISKEQAERMMLNDVQRFE PEVQRLITAPLSQNNQWDALMSFTYNLGAANLESSTLLKKNAG DYIGAADQFLVWNKGRVDGKLVVVKGLANRRAKERKQFIGEG GGGGGGCVIM
서열번호 3	GSHHMRTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVGVWVTIGYGTTTRGV TRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPMDKLVKVLNQNQWDA LMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWVNAG GKRLEGLVKRRAAERALEPLSGGGGGGGCVIM
서열번호 4	GSHHMRTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVGVWVTIGYGTTTRGV TRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPMDKLVKVLNQNQWDA LMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWVNAG GKRLEGLVKRRAAERALEPLSGGGGGGGCVIM
서열번호 5	MGSSHHHHHHGGPRRPRRPGRRAPVRTSQRGIDLIKSFEGLRL SAYQDSVGVWVTIGYGTTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRF EPELDRLAKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLN KGDYQGAADQFPRWVNAGGKRDLGLVKRRAAERALEPLS GGGGGGGGCVIM
서열번호 6	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMKMTKGGFDILRAELFKSFE SQVEALNFLVSKCEEAGLTYPETAYALATVYHETGVVKGGKLV TMLPVEEQGSDKYLSKYDTGKLATALGNTQALDGDGQKYKGR GYVQLTGTRNYALFTRLLKVDLINKPELAMDPVAAKIMTYGM LNGSFTGVGFRRKRPVSKYNKAQYIAARNIINGSDRANDIAGY AMIFERALRSYGGGGGGGGCVIM
서열번호 7	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMKMTKGGFDILRAELFKSFE SQVEALNFLVSKCEEAGLTYPETAYALATVYHETGVVKGGKLV TMLPVEEQGSDKYLSKYDTGKLATALGNTQALDGDGQKYKGR GYVQLTGTRNYALFTRLLKVDLINKPELAMDPVAAKIMTYGM LNGSFTGVGFRRKRPVSKYNKAQYIAARNIINGSDRANDIAGY AMIFERALRSYGGGGGGGGCVIM

[83]

서열번호	아미노산 서열
서열번호 8	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMILTKDGFSIIRNELFKGKLD QVQVDSINFIVEKATEYGLTYPEAAAYLLATYHETGLPNGYRTM RPIKEAGSDSYLRSKKYYPIGYGYVQLTWEENYGRIGKLIGIDL VKNPEKALEPLIAIQIAIKGMLNGWFTGLGFRRKRPVSKYNKQ QYVAARNIINGKDKAELIAKYAIIIFERALRSLGGGGGGGCVIM
서열번호 9	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMKIEQYLLDLIKRVGGYVNN PVDRGGATKYGITEAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQY WIEPRFDQVNTLSSAVAEELDTGVNCGINFAKPLLQRALNLL NNQGKAGYADLKVDGVYGSNTLGALKTYLAKRGKEGEKVLVR VLNIMQGQRYEICERNKSQEQFFYGWIANRIGGGGGGGGCVI M
서열번호 10	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMPPSGGFLHLKETEMNIEQY LDELIKREGGYVNNPADRGGETKYGITEAVARTNGFKGNMKD LPLDVAKAIYKKQYWTDPFRDQVNVISLVAEELDTGVNCGT GFAKPLLQRALNLLNNQGKAGWPDLTVDGIYGPATLNALKTY LAKRGKDGEKVLVRVLNIMQGQRYEICERNPSQEQFFYGWIA NRVVGSGGGGGGGGCVIM
서열번호 11	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMGGGLKKLGKKLEGAGKRVF NAAEKALPVVAGAKALRKGGGSGGGSGGGSGGGSRTSQRGID LIKSFEGRLRSAYQDSVGWVTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAER MLSNDIQRFEPEMDKLVKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAAN LASSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAA ERALFLEPLSGGGGGGGGCVIM
서열번호 12	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHMTLRLDDVGLDVLHLQKRLN ELGANPRLLPDGQFGEVTER AVRAFQQRAG LVVDGVAGPK TMAALSGHST SRLLGQRDLQRAADRLGVPL ASVMALNAVE SRGEGFAANG RPVILFERHV MHERLQVNLSEAEADALAA R HPGLVSRRPGGYVGDTAEH QRLANARLLH DTALESASWG LFQVMGYHW QALGYDTTQDFTERMARHEA EHLEAFVRFI E ADPALHKALKGRKWAEFAR RYNGPAYARNLYDVKLARAF E QFSDALQAAAGGGGGGGGCVIM

[84]

서열번호 13	MGSSHHHHHSSGLVPRGSHHMLKEAKEKAIEELKKAGITSD YYFDLINKAKTVEGVNALKDEILKARTSQRGIDLIKSFEGRLRSAY QDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPE MDKLVKVPLNQNW DALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKG DYQGAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALEPLSGG GGGGGCVIM
서열번호 14	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKTVEGVN ALKDEILKAMRTSQRGIDLIKSFEGRLRSAYQDSVGVWTIGYGT TRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPEMDKLVKVPLNQNW DALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKG DYQGAADQFPRWV NAGGKRLEGLVKRRAAERALEPLSGGGGGGGGCVIM
서열번호 15	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKTVEGVN ALKDEILKAMTLRLDDVGLDVLHLQKRLNELGANPRLLPDGQF GEVTERAVRAQQRAGLVVDGVAGPKTQAALKGFDTSRYLKR KDLQQAANRLGVPLASVMAVNQVESKGEGFAANGRPVILFER HVMHERLQANGFSEAEADALAVAVPAVVNRTPGGYLGGTAE NQLAAARMVHEESALESASWGLFQIMGYHWQRLGYQDVQ HFADTMALSEAAQLDAFVSFIEADPALHKALKARNWKQFARIY NGPNYAKNLYDVKLARAYAQFAGEQEKAAGGGGGGGGCVIM
서열번호 16	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKTVEGVN ALKDEILKAMTQLLSNGSRGLAVRNLQAALRLDGYAIAVDGDF GDETEAVLRAYQRKVGLVDDGVAGPKTQAALKGFDTSRYLKR KDLQQAANRLGVPLASVMAVNQVESKGEGFAANGRPVILFER HVMHERLQANGFSEAEADALAVAVPAVVNRTPGGYLGGTAE NQLAAARMVHEESALESASWGLFQIMGYHWQRLGYQDVQ HFADTMALSEAAQLDAFVSFIEADPALHKALKARNWKQFARIY NGPNYAKNLYDVKLARAYAQFAGEQEKAAGGGGGGGGCVIM

[85]

서열번호 17	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGIDLIKSFEGLRLSA YQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPE MDKLVKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKG DYQGAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFLEPLSLKE AKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKTVEGVNALKDEILKAGGG GGGGCVIM
서열번호 18	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGIDLIKSFEGLRLSA YQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPE MDKLVKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKG DYQGAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFLEPLSLKE AKEKAIEELKKAGITSDYSFDLINKAKTVEGVNALKDEILKAGGG GGGGCVIM
서열번호 19	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGIDLIKSFEGLRLSA YQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPE MDKLVKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKG DYQGAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFLEPLSLKE AKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKAVEGVNALKDEILKAGGG GGGGCVIM
서열번호 20	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMLKEAKEKAIEELKKAGITSD YYFDLINKAKTVEGVNALKDEILKARTSQRGIDLIKSFEGLRLSAY QDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPE MDKLVKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKG DYQGAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFLEPLSCGG GGGGCVIM
서열번호 21	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAKTVEGVN ALKDEILKAMRTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVGVWTIGYT TRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPEMDKLVKVPLNQNQ WDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWV NAGGKRLEGLVKRRAAERALFLEPLSGGGGGGGGLPETGGG

[86] 본 발명의 일 양태에서, 상기 엔도라이신 변이체는 상기 서열번호 2 내지 21로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 구성된 군으로부터 선택되는 키메라 엔도라이신 변이체이다.

[87] 본 발명의 일 양태에서, 상기 엔도라이신 변이체는 상기 서열번호 2 내지 21로 표시되는 아미노산 서열; 또는 이에 대해 적어도 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상,

98% 이상, 99% 이상의 상동성을 갖는 아미노산 서열로 구성된 군으로부터 선택되는 키메라 엔도라이신 변이체이다.

[88] 본 발명의 일 양태에서, 상기 엔도라이신 변이체는 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나를 더 포함할 수 있다.

[89] 본 발명에서, 상기 엔도라이신 변이체는 N-말단 또는 C-말단에서 활성, 안정성, 화학적 모이어티 또는 아미노산을 더 포함할 수 있다.

[90] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는 아미노산 모티프를 더 포함한다. 즉, E의 C-말단은 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의하여 인식될 수 있는 아미노산 모티프에 결합될 수 있다.

[91] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 E와 아미노산 모티프 사이에 아미노산, 올리고펩타이드 또는 폴리펩타이드로 구성된 스페이서 유닛(spacer unit)을 더 포함할 수 있다.

[92] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 아미노산 모티프와 바로 공유결합되거나 스페이서 유닛과 공유결합되어 아미노산 모티프와 연결될 수 있다.

[93] 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 스페이서 유닛은 1 내지 20개의 아미노산으로 구성된다.

[94]

[95] 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 모티프는 CXX, CXC, XCXC, XXCC 및 CYYX로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나의 서열이고, 여기에서 C가 시스테인이고, Y가 각각 독립적으로 지방족 아미노산이며, X가 글루타민, 글루탐이트, 세린, 시스테인, 메티오닌, 알라닌 및 류신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.

[96] 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 모티프는 CYYX 서열일 수 있다.

[97] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 서열 CYYX에서 Y는 알라닌, 이소류신, 류신, 메티오닌 및 발린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.

[98] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 서열 CYYX는 CVIM 또는 CVLL 서열이다.

[99] 본 발명의 일 양태에서, 상기 CYYX 서열에 선행하는 1 내지 20개의 아미노산으로 된 스페이스 유닛을 더 포함하며, 이들 중 적어도 하나가 글리신, 프롤린, 아스파르트 산, 아르기닌 및 세린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.

[100] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 CYYX 서열에 선행하는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산이 각각 글리신이다. 구체적으로, CYYX 서열에 선행하는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산이 각각 글리신이다.

[101] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 C-말단에 아미노산 서열 GGGGGGGCVIM을

더 포함한다.

- [102] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 솔티아제에 의하여 인식될 수 있는 아미노산 모티프를 더 포함한다. 즉, E의 C-말단은 솔티아제에 의하여 인식될 수 있는 아미노산 모티프에 결합될 수 있다.
- [103] 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 모티프는 LPXTY이고, 여기에서, X는 임의의 아미노산이고, Y는 알라닌 또는 글리신이다.
- [104] 본 발명의 일 양태에서, 상기 LPXTY 서열은 선행하는 1 내지 10개의 아미노산 및 후행하는 1 내지 10개의 아미노산으로 된 스페이스 유닛을 더 포함하며, 이들 중 적어도 하나가 글리신, 프롤린, 아스파르트 산, 히스티딘, 글루탐산, 아르기닌 및 세린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이다.
- [105] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 아미노산 모티프는 LPETG이다.
- [106] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 LPETG 서열에 선행하는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산이 각각 글리신이다. 또한, 상기 LPETG 서열에 선행하는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산이 각각 글리신, 류신, 글루탐산 또는 히스티딘이다.
- [107] 본 발명의 일 양태에서, 상기 E는 C-말단에 아미노산 서열 GGGGGGGLPETGGG을 더 포함한다.
- [108]
- [109] 본 발명에 기재된 링커(Linker)는 절단성, 비절단성, 친수성 또는 소수성 링커일 수 있다.
- [110] 본 발명에서, 상기 링커와 E는 티올-말레이미드 결합을 통해 연결될 수 있다. 또한, 본 발명에서 상기 링커는 E의 시스테인(Cys)의 티올기와 반응하여 결합할 수 있다. 또한, 본 발명에서, 상기 링커와 E는 아민-NHS 에스터 결합을 통해 연결될 수 있다. 또한, 본 발명에서 상기 링커는 E의 리신(Lys)의 아민기와 반응하여 결합할 수 있다.
- [111] 또한, 본 발명에서, 상기 링커와 E는 알킬닐기 및 아자이드 사이의 반응; 또는 알데하이드 또는 케톤기 및 하이드라진 또는 알콕시아민 사이의 반응을 통해 결합할 수 있다. 본 발명에서, 상기 링커와 E는 클릭(Click) 결합 반응, 옥심(Oxime) 결합 반응, 또는 하이드라존(hydrazone) 결합 반응을 통해 연결될 수 있다. 또한, 본 발명에서 상기 링커 또는 E는 프레닐화 반응(prenylation)을 선행하고, 클릭 결합 반응, 옥심 결합 반응 또는 하이드라존 결합 반응을 통해 연결될 수 있다.
- [112] 또한, 본 발명에서, 상기 링커와 E는 솔테이즈(sortase)를 이용하여 결합할 수 있다. 솔테이즈를 통해 링커 또는 E의 펩티드 결합 일부를 부위 특이적으로 절단 후 새 결합을 형성할 수 있다. 또한, 본 발명에서, 상기 링커 또는 E는 C-말단 또는 N-말단에 특정 아미노산 서열을 도입을 선행하고, 솔테이즈 결합(sortase conjugation)을 통해 연결될 수 있다. 여기에서, 솔테이즈 효소는 솔테이즈 A, 솔테이즈 B를 포함하고, 결합은 아미드 결합, 티오에스테르 결합을 포함하나,

이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 술테이즈 효소는 술테이즈 A이다.

- [113] 본 발명에서, 비절단성 링커는 말레이미도카프로일을 포함한다. 말레이미도카프로일 링커는 N-말레이미도메틸사이클로헥산-1-카복실레이트를 포함할 수 있다. 말레이미도카프로일 링커는 숙신이미드 그룹을 함유할 수 있다. 말레이미도카프로일 링커는 펜타플루오로페닐 그룹을 함유할 수 있다. 링커는 말레이미드 그룹과 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자의 조합일 수 있다. 링커는 말레이미도카프로일 그룹과 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자의 조합일 수 있다. 링커는 말레이미드-PEG4 링커일 수 있다. 링커는 숙신이미드 그룹을 함유하는 말레이미도카프로일 링커 및 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자의 조합일 수 있다. 링커는 펜타플루오로페닐 그룹 및 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자를 함유하는 말레이미도카프로일 링커의 조합일 수 있다. 링커는 폴리에틸렌 글리콜 분자에 연결된 말레이미드를 함유할 수 있으며, 여기서 폴리에틸렌 글리콜은 더 많은 링커 가요성을 허용하거나 링커를 길게 사용할 수 있다.
- [114] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D - Linker는 하기 일반식 II으로 표현된다.
- [115] [일반식 II]
- [116] D - (L1 - L3 - L4 - L2)
- [117] 상기 식에서,
- [118] D는 폴리믹신(Polymyxin) 또는 이의 유도체이고;
- [119] L1 및 L2는 각각 독립적으로 제1 유닛이고,
- [120] L3 및 L4는 각각 독립적으로 제2 유닛이며,
- [121] 제1 유닛은 아민, 카르복실, 카르보닐 또는 티올기와 공유 결합을 형성하는 반응성 기이고,
- [122] 제2 유닛은 폴리에틸렌 글리콜, 알킬 또는 아미노산을 포함하는 스페이서이다.
- [123]
- [124] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L1 및 L2는 각각 독립적으로 제1 유닛이고, L3 및 L4는 각각 독립적으로 제2 유닛이며,
- [125] 제1 유닛은 수소, 아미노산, -NH₂, -NH-NH₂, -O-NH₂, -COOH, -CHO, -OH, -SH, -N₃, -(CH₂)_z-COR_x, -(CH₂)_z-O-NH₂, -(C(CH₂)₂)_z-O-NH₂, -(CH₂)_z-NH-NH₂, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알킬닐, C₆₋₂₀ 사이클로알킬닐, C₆₋₂₀ 헤테로사이클로알킬닐, C₆₋₂₀ 아릴디설파이드, C₅₋₂₀ 헤테로아릴디설파이드기, 할로아세틸기, N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS), 및 말레이미드기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나이고,
- [126] 여기에서, z는 0 내지 10의 정수이며, R_x는 수소, C₁₋₅ 알킬, C₁₋₅ 알케닐 또는 C₆₋₂₀ 헤테로사이클로알킬닐이고,
- [127] 제2 유닛은 직접 결합, -(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_q-, -((CH₂)_pV)_q-, -(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_qY-, -((CH₂)_pV)_q(CH₂)_r-, -Y((CH₂)_pV)_q- 및 -(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_qYCH₂-로 이루어진

군으로부터 선택되는 어느 하나이며,

[128] 여기서, r 은 0 내지 10의 정수이고, p 는 0 내지 10의 정수이며, q 는 0 내지 20의 정수이고,

[129] V 및 Y 는 각각 독립적으로 직접 결합, $-O-$, $-S-$, $-C(O)-$, $-NR_{21}-$, $-C(O)NR_{22}-$, $-NR_{23}C(O)-$, $-NR_{24}SO_2-$, 또는 $-SO_2NR_{25}-$ 이고,

[130] R_{21} 내지 R_{25} 는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알킬- C_{6-20} 아릴 및 C_{1-6} 알킬- C_{3-20} 헤테로아릴로부터 선택되는 어느 하나이다.

[131]

[132] 본 발명에서, 상기 Linker는 D 또는 E와 결합하여 화학 구조의 일부가 변형, 또는 탈락할 수 있다. 또한, 상기 링커에서 제1 유닛 또는 제2 유닛은 각 유닛이 결합을 나타내는 과정에서 화학 구조의 일부가 변형, 또는 탈락할 수 있다. 예를 들어, 말레이미드기는 질소에 부착된 수소 원자를 제거하여 얻어진 1가 부분을 나타낼 수 있고, 말레이미드기에서 헤테로고리 내의 탄소-탄소 이중 결합이 결합함에 따라 탄소-탄소 단일 결합으로 될 수 있다.

[133]

[134] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제1 유닛은 수소, 아미노산, $-NH_2$, $-O-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-(CH_2)_z-COR_x$, $-(CH_2)_z-O-NH_2$, $-(C(CH_2)_2)_z-O-NH_2$, C_{6-20} 아릴디설파이드, C_{5-20} 헤테로아릴디설파이드기, N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS) 및 말레이미드기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나이며,

[135] 여기서, z 는 0 내지 10의 정수이고, R_x 는 수소, C_{1-5} 알킬, 또는 C_{1-5} 알케닐이다.

[136] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 제1 유닛은 아미노산, $-O-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-(C(CH_2)_2)_z-O-NH_2$, N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS), 및 말레이미드기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나이다.

[137] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 제1 유닛은 아미노산, $-CH_2COOH$, $-COOH$, $-COH$, $-OCOH$ 또는 $-CONH_2$ 이다.

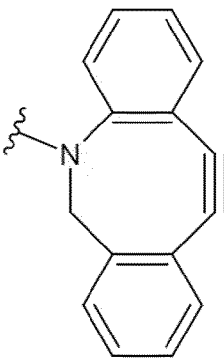
[138] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제1 유닛의 아미노산은 1 내지 10의 아미노산을 포함한다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 제1 유닛의 아미노산은 1 내지 5개의 아미노산을 포함한다.

[139]

[140] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L1은 D의 아민, 카르복실, 카르보닐 또는 티올기와 공유 결합을 형성하는 반응성 기이다.

[141] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L1은 아미노산, N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS) 또는 말레이미드기이다.

[142] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 L1은 아미노부틸산, 디아미노부틸산, 오르니틴, 아미노카프론산, 알라닌, 글리신, 리신 및 트레오닌으로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 아미노산이다.

- [143] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L1은 N-하이드록시숙신이미딜기(NHS)이다. 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 L1은 디아미노부틸산이다. 구체적으로, 상기 L1은 D와 결합하여 구조가 탈락, 변형될 수 있다. 또한, 상기 L1은 보호기에 의해 보호된 상태로 D와 결합하고, 결합하여 보호기 및 구조 일부가 탈락, 변형될 수 있다.
- [144] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 티오에테르 결합이 가능한 작용기이다.
- [145] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 말레이미드기이다.
- [146] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 말레이미드기이고, L2는 E와 티올-말레이미드 결합을 통해 연결될 수 있다. 구체적으로, L2는 E의 시스테인(Cys)의 티올기와 반응하여 연결될 수 있다.
- [147] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 옥심(oxime) 결합 반응, 클릭(click) 결합 반응 또는 하이드라존(hydrazine) 결합 반응이 가능한 작용기이다.
- [148] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}-\text{NH}_2$, $-\text{O}-\text{NH}_2$, $-\text{CHO}$, $-\text{N}_3$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{COR}_x$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{O}-\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{NH}-\text{NH}_2$, C_{2-4} 알킬닐, C_{6-20} 사이클로알킬닐 또는 C_{6-20} 헤테로사이클로알킬닐이고, 여기에서, z 는 0 내지 10의 정수이고, R_x 는 수소, C_{1-3} 알킬, C_{1-3} 알케닐 또는 C_{6-20} 헤테로사이클로알킬닐이다.
- [149] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 $-\text{O}-\text{NH}_2$, $-\text{CHO}$, $-\text{N}_3$, 또는 C_{2-4} 알킬닐이다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 $-\text{O}-\text{NH}_2$ 이다.
- [150] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 를 포함한다.

- [151] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 $-(\text{C}(\text{CH}_2)_2)-\text{O}-\text{NH}_2$ 이다.
- [152] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 $-(\text{C}(\text{CH}_2)_2)-\text{O}-\text{NH}_2$ 이고, L2는 E와 옥심 결합을 통해 연결될 수 있다. 구체적으로, L2는 프레닐화 E와 옥심결합하여 연결될 수 있다.
- [153] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 1 내지 10개의 아미노산이고, 여기에서 아미노산은 각각 독립적으로 아스파라긴, 알라닌, 글리신, 프롤린, 리신, 류신, 아스파르트산, 아르기닌, 글루타메이트, 글루타민, 세린 및 트레오닌으로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [154] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 1 내지 10개의 아미노산이고, 여기에서 아미노산은 각각 독립적으로 알라닌 또는 글리신이다.
- [155] 또한, 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 L2는 1 내지 10개의 글리신이다. 또한, 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 구체적으로 상기 L2는 1 내지 10개의

알라닌이다.

[156]

[157] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제2 유닛은 직접 결합, 1 내지 10개의 아미노산, $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_{q-}$, $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_{q-}$, $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{Y}-$, $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_q(\text{CH}_2)_r-$, 또는 $-\text{Y}((\text{CH}_2)_p\text{V})_{q-}$ 이며, 여기에서, r 은 0 내지 10의 정수이고, p 는 0 내지 10의 정수이며, q 는 0 내지 20의 정수이고, V 및 Y 는 각각 독립적으로 직접 결합, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}_{21}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{22}-$ 또는 $-\text{NR}_{23}\text{C}(\text{O})-$ 이고, R_{21} 내지 R_{25} 는 각각 독립적으로 수소, 또는 C_{1-6} 알킬이다.

[158]

본 발명의 일 양태에서, 상기 제2 유닛은 직접 결합, 1 내지 10개의 아미노산, $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_{q-}$, $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_{q-}$ 또는 $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{Y}-$ 이고, 여기에서, r 은 0 내지 10의 정수이며, p 는 0 내지 10의 정수이고, q 는 0 내지 20의 정수이며, V 및 Y 는 각각 독립적으로 직접 결합, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ 또는 $-\text{C}(\text{O})-$ 이다.

[159]

본 발명의 일 양태에서, 상기 L3 는 $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_{q-}$ 이고, V 는 직접 결합이며, p 는 1 내지 10의 정수이며, q 는 1 내지 10의 정수이다.

[160]

본 발명의 일 양태에서, 상기 L3 는 $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{Y}-$ 이고, V 는 직접 결합이며, Y 는 $-\text{C}(\text{O})-$ 이고, r 은 1 내지 10의 정수이며, p 는 1 내지 10의 정수이고, q 는 1 내지 10의 정수이다.

[161]

본 발명의 일 양태에서, 상기 L3 는 $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{Y}-$ 이고, V 는 $-\text{O}-$ 이며, Y 는 $-\text{C}(\text{O})-$ 이고, p 는 1 내지 5의 정수이며, q 는 1 내지 10의 정수이고, r 은 1 내지 5의 정수이다.

[162]

본 발명의 일 양태에서, 상기 V 는 $-\text{O}-$ 이다.

[163]

본 발명의 일 양태에서, 상기 p 는 1 내지 5의 정수이다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 p 는 2이다.

[164]

본 발명의 일 양태에서, 상기 q 는 1 내지 10의 정수이다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 q 는 3이다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 q 는 4이다.

[165]

본 발명의 일 양태에서, 상기 r 은 1 내지 10의 정수이다.

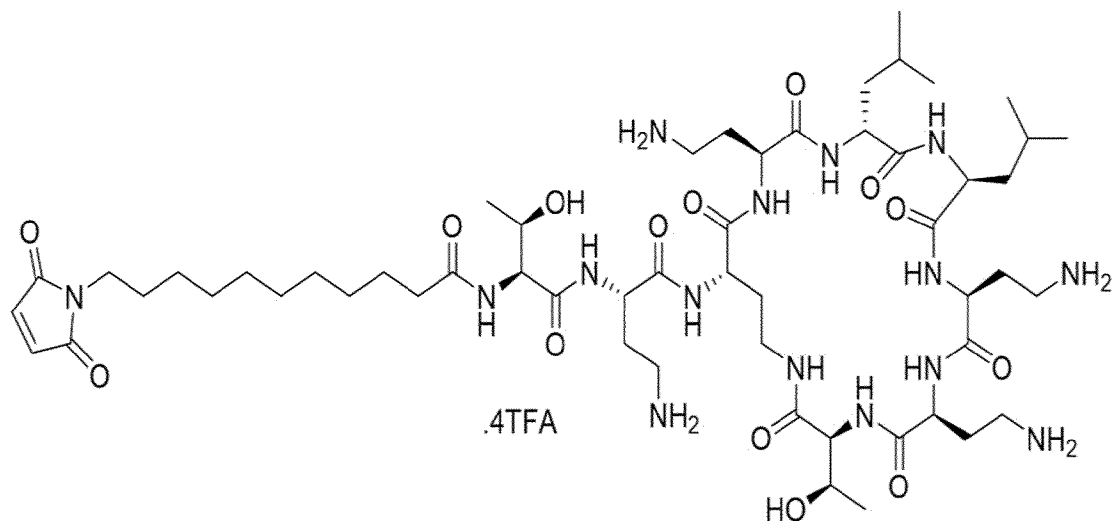
[166]

본 발명의 일 양태에서, 상기 L4 는 직접 결합이다.

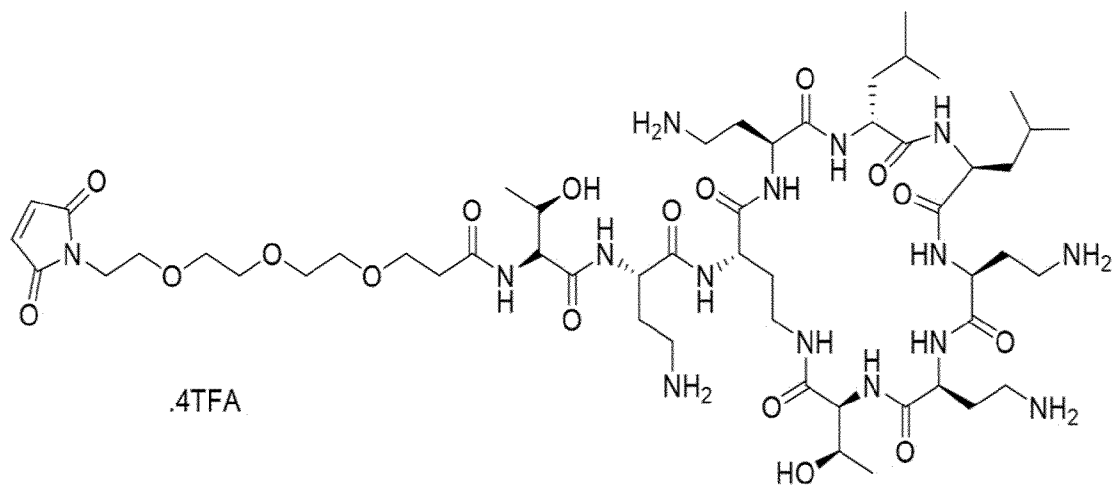
[167]

[168] 본 발명의 일 양태에서, 상기 D-Linker 는 하기 화합물로 구성된 군으로부터 선택된다.

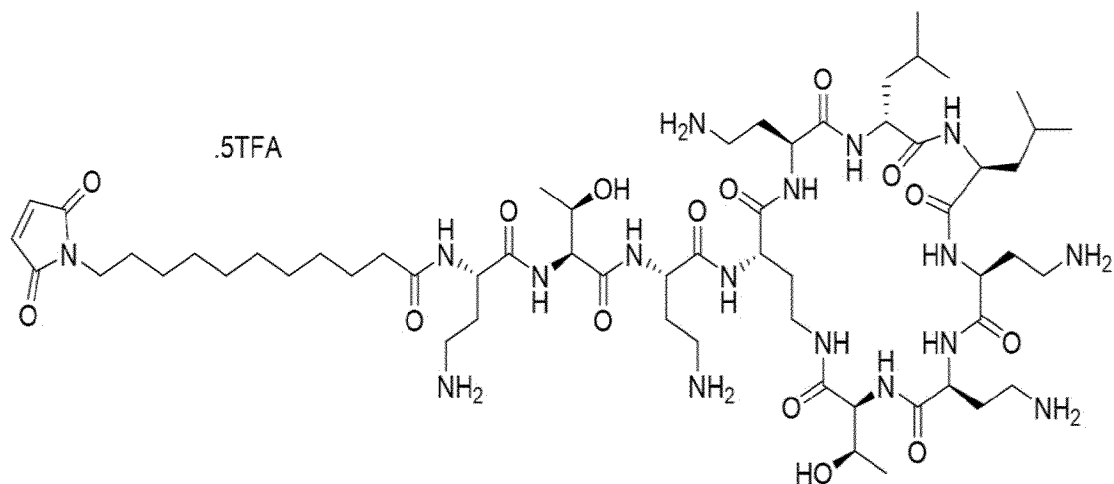
[169]



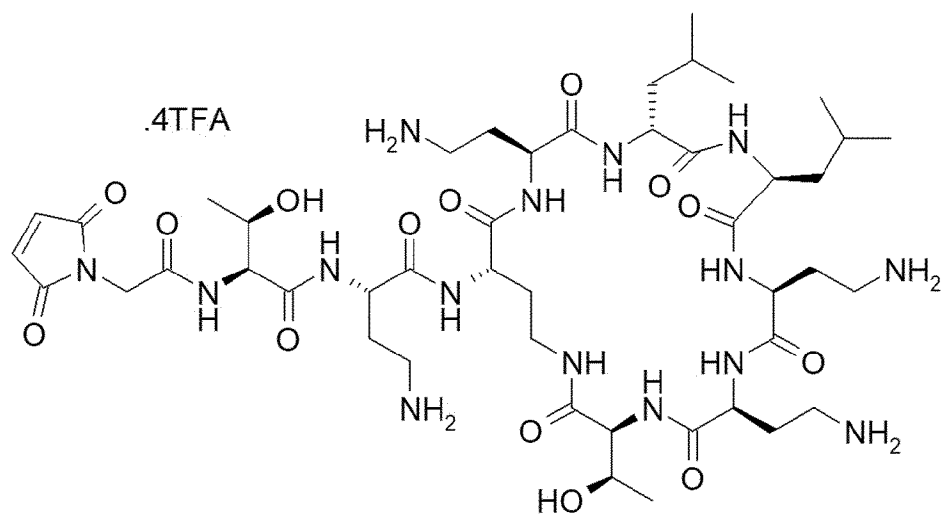
[170]



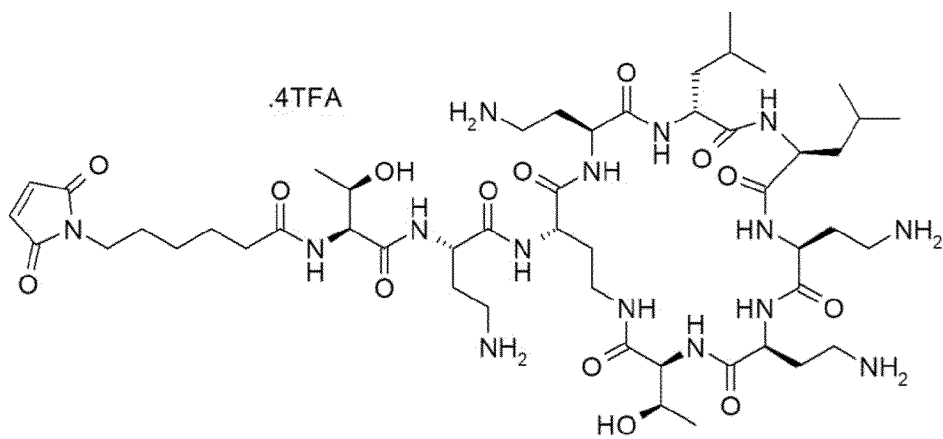
[171]



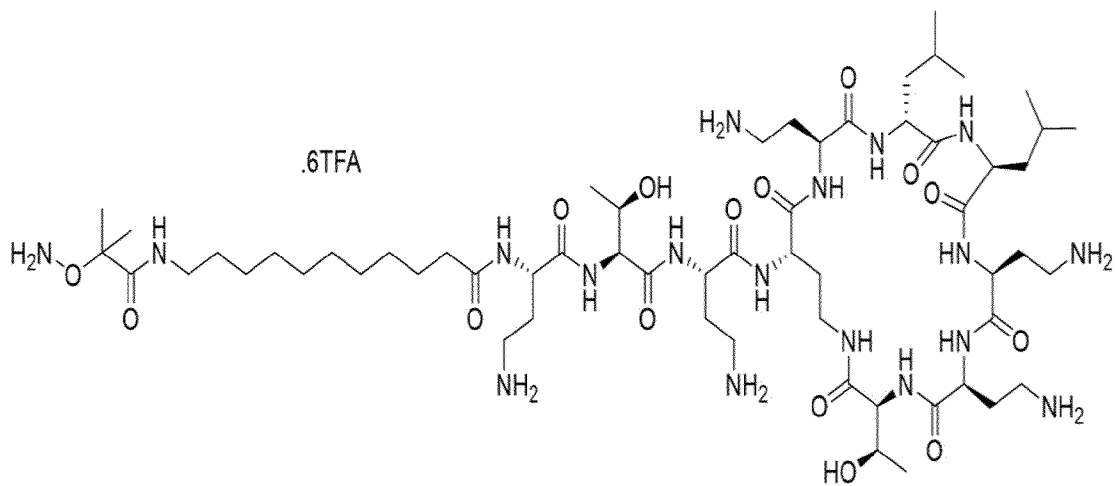
[172]



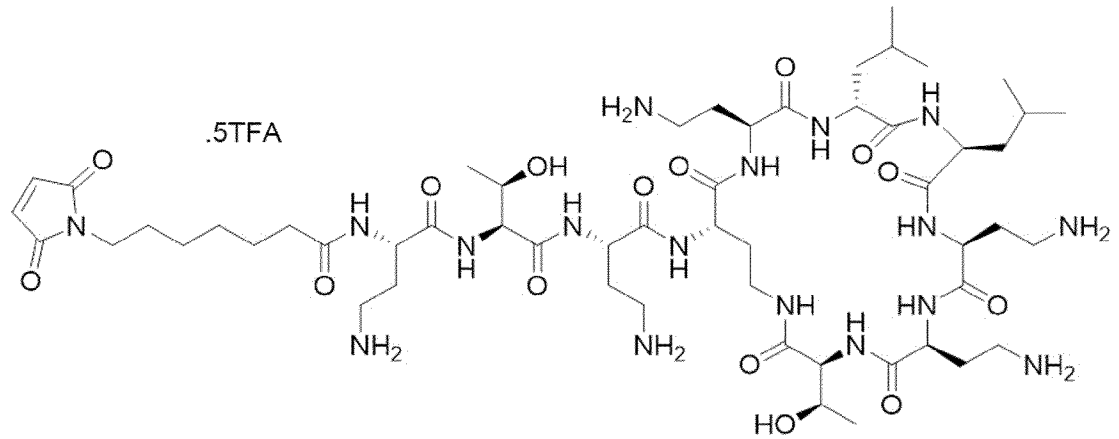
[173]



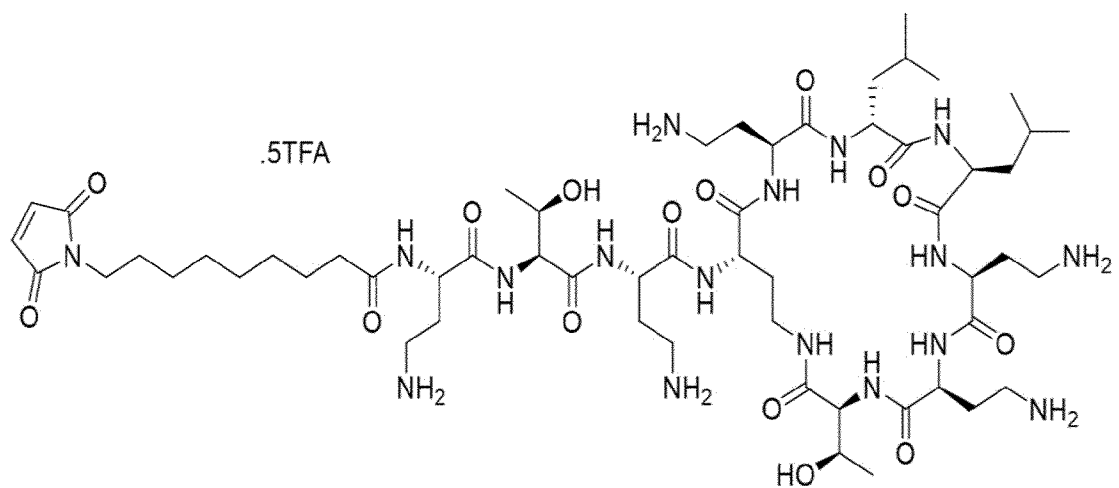
[174]



[175]

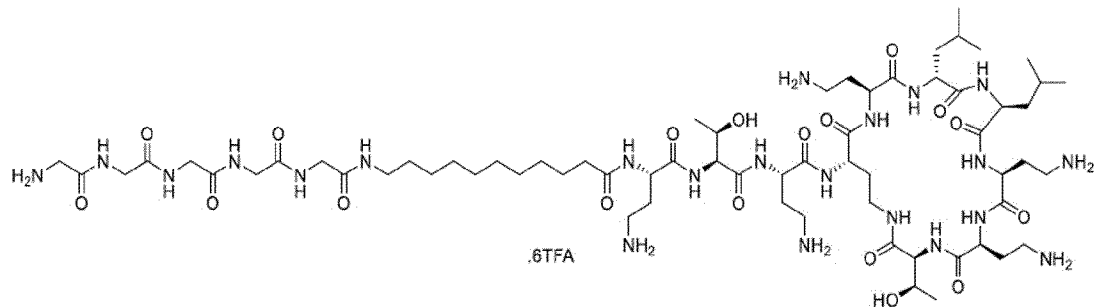


[176]



[177] 및

[178]



[179]

[180] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 상기 D - Linker는 하기 일반식 III로 표현된다.

[181] [일반식 III]

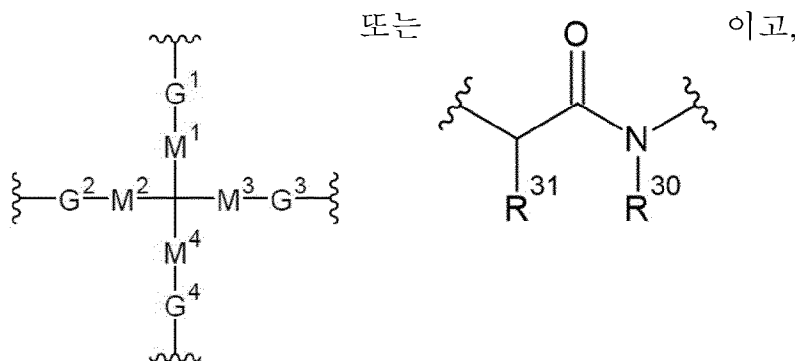
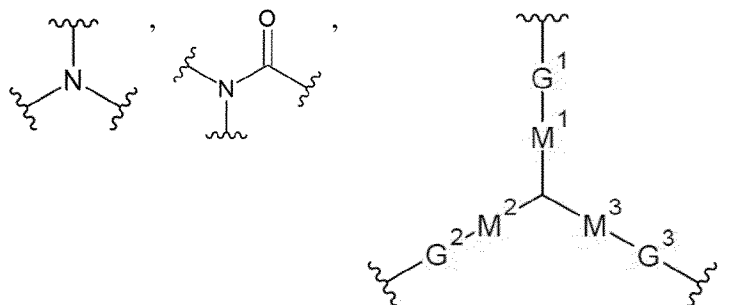
[182] $D - ((L1)_{a1} - (L3)_{a2} - (L4)_{a3} - (L3')_{a4} - (L2)_{a5})$

[183] 상기 식에서,

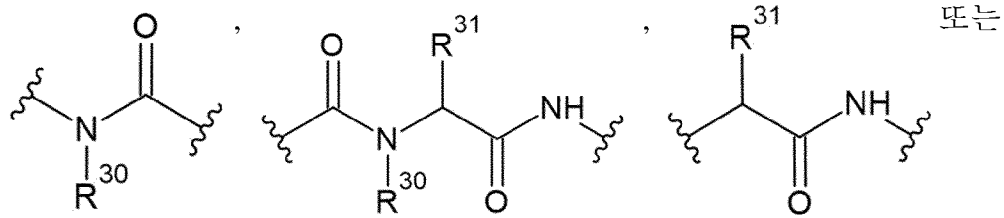
[184] D는 폴리믹신(Polymyxin) 또는 이의 유도체이고;

[185] L1 및 L2는 각각 독립적으로 제1 유닛이고, 여기에서 a1 내지 a5는 각각 독립적으로 1 내지 3 중에서 선택되는 정수이며,

- [186] L3, L3' 및 L4는 각각 독립적으로 제2 유닛 또는 제3 유닛이며,
 [187] 제1 유닛은 수소, 아미노산, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}-\text{NH}_2$, $-\text{O}-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{CHO}$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{N}_3$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{COR}_x$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{O}-\text{NH}_2$, $-(\text{C}(\text{CH}_2)_2)_z-\text{O}-\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{NH}-\text{NH}_2$, C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알킬닐, C_{6-20} 사이클로알킬닐, C_{6-20} 헤테로사이클로알킬닐, C_{6-20} 아릴디설파이드, C_{5-20} 헤테로아릴디설파이드기, 할로아세틸기, N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS), 및 말레이미드기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나이고,
 [188] 여기에서, z 는 0 내지 10의 정수이며, R_x 는 수소, C_{1-5} 알킬, C_{1-5} 알케닐 또는 C_{6-20} 헤테로사이클로알킬닐이고,
 [189] 제2 유닛은 직접 결합, $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_{q-}$, $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_{q-}$, $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{Y}-$, $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_q(\text{CH}_2)_r-$, $-\text{Y}((\text{CH}_2)_p\text{V})_q-$ 및 $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{YCH}_2-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이며,
 [190] 여기에서, r 은 0 내지 10의 정수이고, p 는 0 내지 10의 정수이며, q 는 0 내지 20의 정수이고,
 [191] V 및 Y는 각각 독립적으로 직접 결합, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}_{21}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{22}-$, $-\text{NR}_{23}\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}_{24}\text{SO}_2-$, 또는 $-\text{SO}_2\text{NR}_{25}-$ 이고,
 [192] R_{21} 내지 R_{25} 는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알킬- C_{6-20} 아릴 및 C_{1-6} 알킬- C_{3-20} 헤테로아릴로부터 선택되는 어느 하나이며,
 [193] 제3 유닛은 단일 결합,



- [194] 여기에서, M^1 , M^2 , M^3 및 M^4 는 각각 독립적으로 직접 결합 또는 $-\text{C}_s\text{H}_{2s}-$ 이며, 상기 s 는 1 내지 30의 정수이고,
 [195]

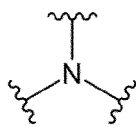


이며, 상기 R^{30} 및 R^{31} 은 각각 독립적으로 수소, C_{1-30} 알킬 또는 C_{1-30}

헤테로알킬이다.

[196]

[197] 본 발명에서, 하나 이상의 제3 유닛을 포함하여 둘 이상의 결합가능한 부분을 포함하는 경우, 각 결합가능한 부분에 제1 유닛, 제2 유닛 또는 제3 유닛이 결합될 수 있고, 제1 유닛, 제2 유닛 및 제3 유닛은 둘 이상이 포함될 수 있다. 예를 들어 L4가



포함하는 경우, L3 또는 L3'가 상기 결합가능한 부분에 결합하여 제2 유닛이 둘 이상 포함될 수 있다.

[198] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제1 유닛은 D 또는 E와 결합하고, 상기 제3 유닛은 제1 유닛 또는 제2 유닛과 결합하는 것일 수 있다.

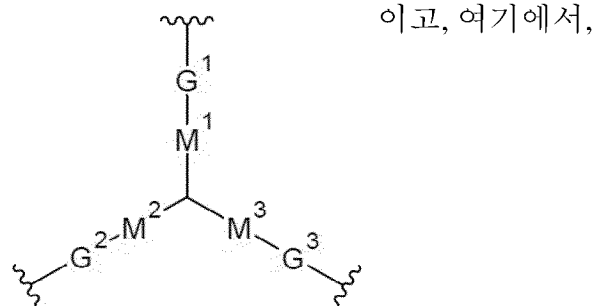
[199] 본 발명에서, 링커는 최소 하나 이상의 제3 유닛을 포함할 수 있다.

[200] 본 발명에서, 링커가 제3 유닛을 포함하는 경우, a1 내지 a5 중 적어도 하나 이상이 2이다.

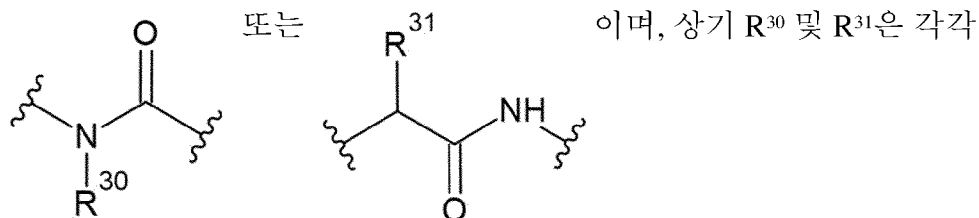
[201] 본 발명의 일 양태에서, L4는 제3 유닛이고, a3는 1이다.

[202] 본 발명의 일 양태에서, L4는 제3 유닛이고, a3는 1이다.

[203] 본 발명의 일 양태에서, 상기 L4는



M^1 , M^2 , M^3 및 M^4 는 각각 독립적으로 단일 결합 또는 $-C_sH_{2s}-$ 이며, 상기 s는 1 내지



독립적으로 수소, 또는 C_{1-10} 알킬이다.

[204] 구체적일 본 발명의 일 양태에서, 상기 M^1 , M^2 , M^3 및 M^4 는 각각 독립적으로 단일 결합 또는 $-CH_2-$ 이다.

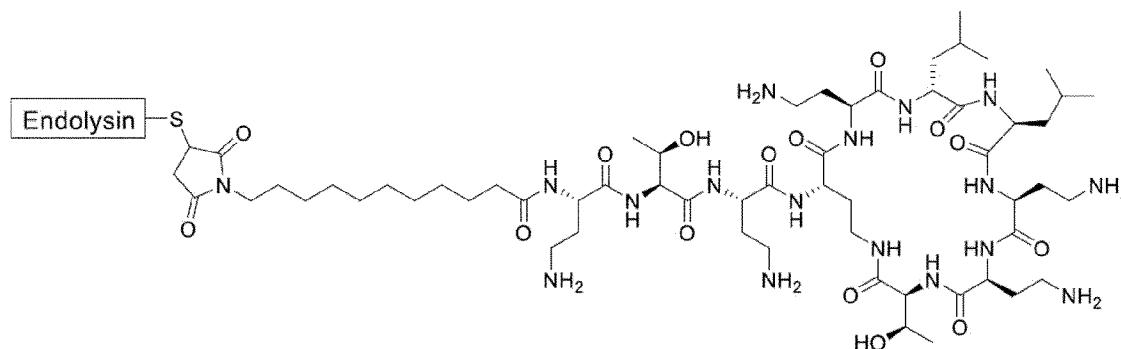
[205] 구체적일 본 발명의 일 양태에서, 상기 R^{30} 및 R^{31} 은 수소이다.

[206] 본 발명의 일 양태에서, 상기 $L1$, $L2$, 및 $L3$ 는 상기 일반식 II에서 정의한 바와 같고, $L3'$ 는 $L3$ 와 같다.

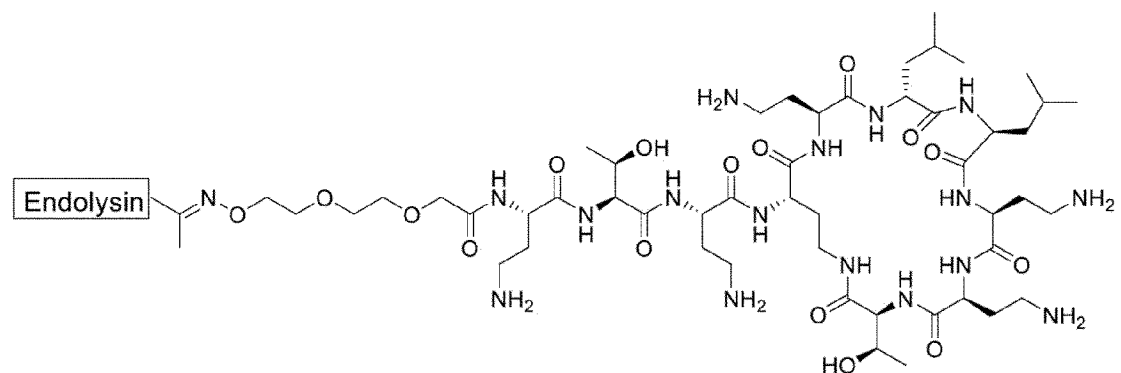
[207]

[208] 본 발명의 일 양태에서, 상기 항생제는 하기와 같은 형태의 구조를 가질 수 있다.

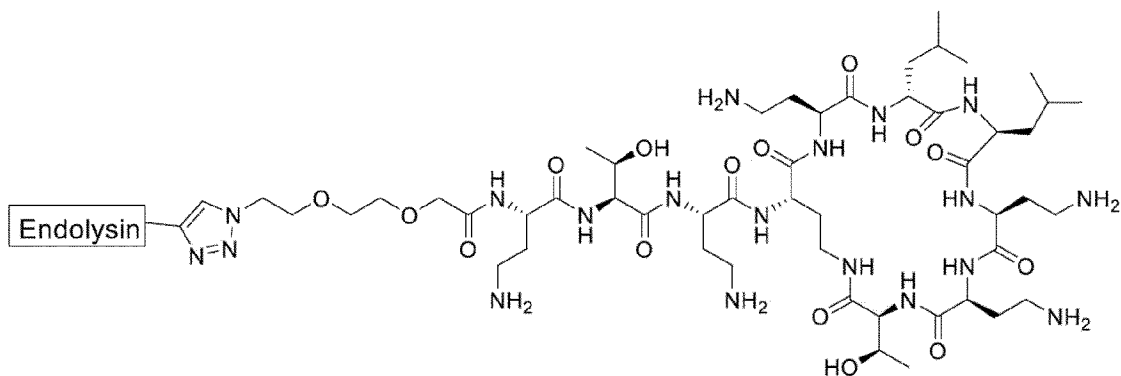
[209]



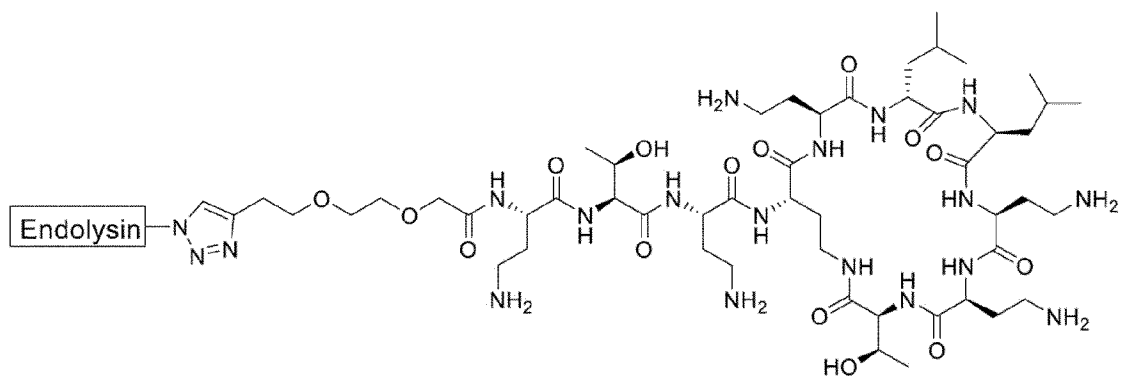
[210]



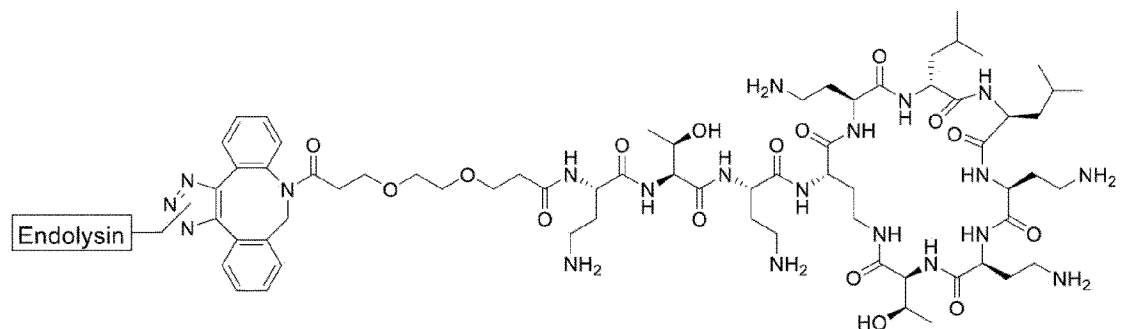
[211]



[212]

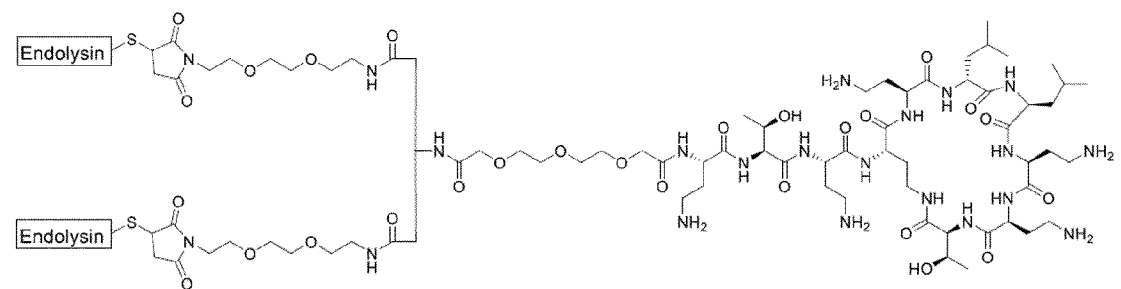


[213]



[214] 또는

[215]



[216] 여기서, 상기

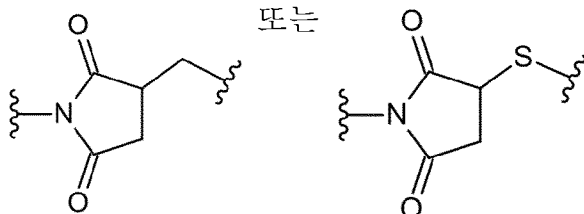
Endolysin

는 엔도라이신 또는 엔도라이신 변이체이다.

구체적으로, 상기 **Endolysin**는 서열번호 2 내지 21로 구성된 군으로부터 선택되는 1종의 키메라 엔도라이신 변이체일 수 있다.

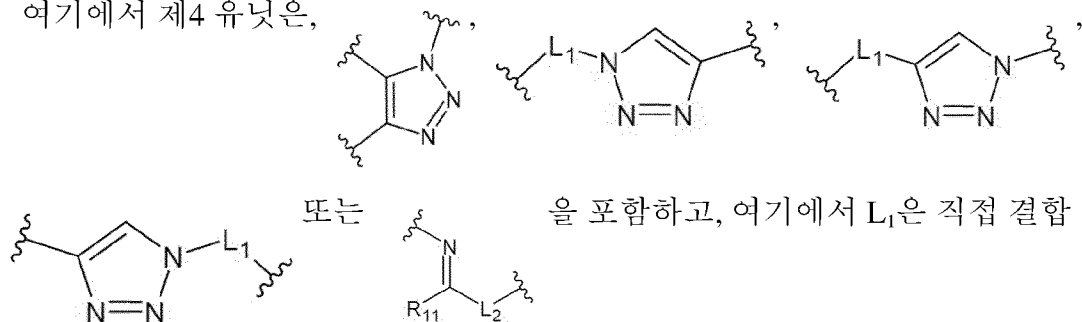
[217]

[218] 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커 또는 E는 티올-말레이미드 결합을 통해 연결될 수 있다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커는 티오에테르(thioether) 결합을 포함하여, E와 결합한 형태로 제4 유닛을 포함할 수 있다. 여기에서, 제4 유닛은



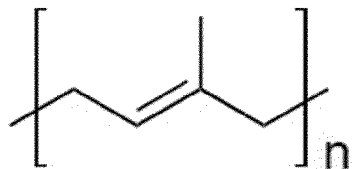
[219] 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커 또는 E는 프레닐화 반응(prenylation)을 선행하고, 클릭 결합 반응, 옥심 결합 반응 또는 하이드라존 결합 반응을 통해 각각 연결될 수 있다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커는 옥심 결합 또는 클릭 결합을 포함하여, E와 결합한 형태로 제4 유닛을 포함할 수 있다.

[220] 여기에서 제4 유닛은,



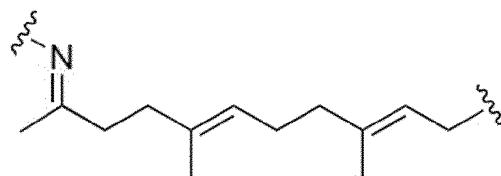
또는 C_{1-30} 알킬렌이고, R_{11} 은 수소 또는 C_{1-10} 알킬이며, 구체적으로 메틸이고, L_2 는 C_{1-30} 알킬렌이다.

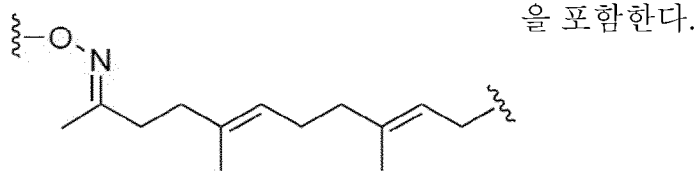
[221] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 링커는 E와 결합한 형태로
의 구조를 갖는 최소 하나 이상의 제4 유닛을 포함할



수 있으며, 여기에서 n 은 2 이상이다.

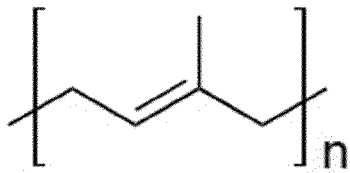
[222] 본 발명의 일 양태에서, 상기 제4 유닛은





- [223] 본 발명의 일 양태에서, 링커의 이소프레닐 유닛은 티오에테르 결합에 의해 엔도라이신 변이체와 공유결합하며, 티오에테르 결합은 엔도라이신 변이체의 시스테인의 황원자를 포함한다.
- [224] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 이소프레닐 유닛은 링커에 포함된 옥심을 엔도라이신 변이체에 공유 결합시킬 수 있다.
- [225] 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커의 이소프레닐 유닛은 하기 구조를 포함할 수 있다.

[226]



- [227] 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커 또는 E는 솔테이즈 특이적 아미노산 서열 도입을 선행하고, 솔테이즈 효소에 의한 부위 특이적 결합 반응을 통해 각각 연결될 수 있다. 본 발명의 일 양태에서, 상기 링커는 E와 결합한 형태로 펩타이드 결합을 포함할 수 있다.

[228]

- [229] 본 발명은, 상기 항생제를 유효성분으로 포함하는 세균 감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

- [230] 또한, 본 발명은, 상기 항생제는 항균활성이 요구되는 다양한 목적 및 용도로 사용될 수 있다. 예를 들어, 식품, 건강식품, 의약품, 사료 조성물, 화장품, 화장품 보존제, 식품방부제, 식품첨가제, 사료첨가제, 피부 세정제 등에 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [231] 본 발명의 일 양태에서, 상기 세균 감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 추가적으로 약학적으로 허용되는 부형제를 포함한다.

- [232] 본 발명의 일 양태에서, 상기 세균 감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 추가적으로 1종 이상의 치료적 공동-작용제(therapeutic co-agent)를 포함한다.

- [233] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 세균은 아시네토박터(*Acinetobacter*), 아에로모나스(*Aeromonas*), 아그레가티박터(*Aggregatibacter*), 아조스피릴럼(*Azospirillum*), 박테로이드(*Bacteroides*), 버크홀데리아(*Burkholderia*), 캄필로박터(*Campylobacter*), 칸디다투스(*Candidatus*), 카울로박터(*Caulobacter*), 클라비박터(*Clavibacter*), 크로노박터(*Cronobacter*), 시트로박터(*Citrobacter*), 델프트리아(*Delftia*), 엔테로박터(*Enterobacter*), 에르위니아(*Erwinia*), 이스케리키아(*Escherichia*), 플라보박테리움(*Flavobacterium*), 헤모필루스(*Haemophilus*), 아이오도박테리아(*Iodobacter*),

Iodobacteria), 클렙시엘라(*Klebsiella*), 클루이베라(*Kluyvera*), 맨하이미아(*Mannheimia*), 모르가넬라(*Morganella*), 나이세리아(*Neisseria*), 판토에아(*Pantoea*), 파르퇴렐라(*Pasteurella*), 플랑크토티릭스(*Planktothrix*), 슈도알테로모나스(*Pseudoalteromonas*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 랄스토니아(*Ralstonia*), 살모넬라(*Salmonella*), 쉬겔라(*Shigella*), 시노리조비움(*Sinorhizobium*), 소달리스(*Sodalis*), 시네코코커스(*Synechococcus*), 탈라소모나스(*Thalassomonas*), 테르무스(*Thermus*), 비브리오(*Vibrio*), 산토모나스(*Xanthomonas*), 시렐라(*Xylella*), 및 예르시니아(*Yersinia*)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상이다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 세균은 아시네토박터(*Acinetobacter*), 이스케리키아(*Escherichia*), 클렙시엘라(*Klebsiella*) 또는 슈도모나스(*Pseudomonas*)이다.

[234] 본 발명에서, 상기 세균의 외부막은 그람 음성균의 외부막이다.

[235] 본 발명의 일 양태에서, 상기 그람 음성균은 에스케리키아 콜리(*Escherichia coli*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 또는 아시네토박터 바우마니(*Acinetobacter baumannii*)이다.

[236] 본 발명의 일 양태에서, 상기 약학적 조성물은 세균의 감염 또는 세균에 의하여 유발되는 질환의 예방 또는 치료에 이용될 수 있고, 세균의 감염 또는 세균에 의해 유발되는 질환은 장염, 크론병, 궤양성 대장염, 세균성이질, 요로감염증, 피부감염, 균혈증, 패혈증, 폐렴, 위염, 림프관염, 수막염, 외이도염, 각막염, 골수염, 식중독, 심내막염, 복막염 등을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 보다 상세하게는 상기 약학적 조성물은 그람 음성균의 감염성 질환의 예방 또는 치료에 이용된다.

[237] 본 발명의 일 양태에서, 상기 약학적 조성물은 정맥주사 또는 피하주사로 투여될 수 있다. 구체적으로, 상기 약학적 조성물은 정맥주사로 투여될 수 있다.

[238] 또한, 본 발명은 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하여 개체에서 세균 감염을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[239] 본 발명의 일 양태에서, 상기 개체는 포유 동물이다. 구체적으로, 상기 개체는 상기 개체는 설치류(rodents), 토끼(lagomorphs), 고양이(felines), 개(canines), 돼지(porcines), 양(ovines), 소(bovines), 말(equines) 및 영장류(primates)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[240]

[241]

[242] [정의]

[243] 본 명세서에서 하기 정의가 적용된다.

[244] 본 발명에서, "단백질"은 연속적인 아미노산으로 구성된 일련의 자연 발생 분자 또는 합성 분자로, 아미노산 중합체, 임의의 펩티드, 올리고펩티드, 폴리펩티드를 포함한다. 또한, 특별히 정의하지 않는한, 연속적인 아미노산의 개수 및 종류는 제한되지 않으며, 아미노산의 일부가 변형된 형태를 포함한다.

- [245] 본 발명에서, “분절”은 원 아미노산 서열로부터 N-말단 및/또는 C-말단의 1 이상의 아미노산 또는 특정 구조가 절단된 아미노산 서열을 의미한다.
- [246] 본 발명에서, “유도체”는 특정 화합물을 구성하는 임의의 원자 중 하나 이상이 치환가능한 임의의 구조, 예를 들면, 작용기, 보호기 등에 의하여 치환되거나 통상적인 반응(예를 들면, 산화, 환원, 수화 등)에 의하여 치환된 구조를 포함하는 화합물로, 원 화합물의 구조를 크게 변화시키지 않는 한도 내에서 변화된 화합물을 의미한다.
- [247] 본 발명에서, “변이체”는 원 아미노산 서열로부터 1 이상의 아미노산이 부가, 치환, 결실, 및/또는 변형된 형태를 의미한다. 또한, 아미노산 이외 부분의 변형을 부가, 치환, 결실, 및/또는 변형을 포함하며, 예를 들어, 자연 발생 또는 합성에 의해 실질적으로 불리하게 영향을 미치거나 이를 파괴하지 않는 아미노산 이외의 하나 이상의 화학적 모이어티(moiety)가 부가, 치환, 삭제 또는 변형된 형태를 포함한다.
- [248] 본 발명에서, “서열 동일성” 또는 “서열 상동성”은 2 이상의 아미노산(또는 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질) 서열을 비교함에 따라 나타나는 서열 관련성 정도를 의미한다. “서열 동일성” 또는 “서열 상동성”은 당해 기술분야에서 알려진 방법, 예를 들어 blastp 알고리즘 버전 2.2.2(Altschul, Stephen F., Thomas L Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), BLASTP, version blastp 2.2.5 (November 16, 2002; cf. Altschul, S. F. et al. (1997) Nucl. Acids Res. 25, 3389-3402) 등에 의해 계산될 수 있다. “상동성”은 당해 기술분야에서 알려진 일반적인 의미로, 보존적 치환 및 동일한 아미노산을 포함한다.
- [249] 본 발명에서, “보존적 치환”은 원 아미노산 서열과 유사한 특성을 가지는 다른 아미노산 잔기로의 치환을 의미한다. 예를 들어, 아스파테이트 잔기에 의한 글루타메이트 잔기의 교환, 리신 잔기에 의한 히스티딘 잔기의 교환 등을 포함한다. 본 발명에서, “비보존적 치환”은 원 아미노산 서열과 구조, 크기, 성질 등의 특성이 유사하지 않은 특성을 가지는 다른 아미노산 잔기로의 치환을 의미한다.
- [250] 본 명세서에서 “링커”, “-”는 2 이상의 화합물을 공유결합시키는 화합물을 말한다.
- [251] 본 발명에서 “비치환되거나 치환된”은 비치환될 수 있거나 또는 치환될 수 있는 모기(parent group)를, “치환된”은 1 이상의 치환기를 갖는 모기(parent group)를, 치환기는 모기(parent group)에 공유결합되거나 모기(parent group)에 융합된 화학적 부분을 의미한다.
- [252] 본 발명에서 “할로”는 플루오린, 클로라인, 브로마인, 요오드 등을 말한다.
- [253] 본 발명에서 “알킬”은 지방족 또는 지환족, 포화 또는 불포화(불포화, 완전 불포화) 탄화수소 화합물의 탄소 원자로부터 수소 원자를 제거하여 얻어진 1가 부분으로서, 포화 알킬의 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸 등을,

포화 직쇄형 알킬의 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, n-부틸, n-펜틸(아밀), n-헥실, n-헵틸 등, 포화 분지쇄형 알킬의 예로는 이소프로필, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, 이소펜틸, 네오펀틸 등을 들 수 있다.

[254] 본 발명에서 “알콕시”는 -OR[여기서, R은 알킬기]을 의미하며, 예로는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, sec-부톡시, 이소부톡시, tert-부톡시 등을 들 수 있다.

[255] 본 발명에서 “아릴”은 고리 원자를 갖는 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거하여 얻어진 1가 부분을 의미한다.

[256] 본 발명에서 “알케닐”은 1 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 알킬로서, 불포화 알케닐기의 예로는 에테닐(비닐, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 1-프로페닐($-\text{CH}=\text{CHCH}_3$), 2-프로페닐, 이소프로페닐, 부테닐, 펜테닐, 헥세닐 등을 들 수 있다.

[257] 본 발명에서 “알키닐”은 1 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 알킬기로서, 불포화 알키닐기의 예는 에티닐 및 2-프로피닐 등을 들 수 있다.

[258] 본 발명에서 “아릴”은 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거하여 얻어진 1가 모이어티에 관한 것이다. 예를 들어 “ C_{5-7} 아릴”은 모이어티가 5 내지 7 개의 고리 원자를 갖는 것으로서, 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 획득되는 1가 모이어티를 의미하고, “ C_{5-10} 아릴”은 모이어티가 5 내지 10 개의 고리 원자를 갖는 것으로서, 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 획득되는 1가 모이어티를 의미한다. 여기에서 접두사(C_{5-7} , C_{5-10} 등)는 탄소 원자 또는 헤테로 원자인지 여부와 상관없이 고리원자의 수 또는 고리 원자의 수의 범위를 지칭한다. 예를 들어 “ C_{5-6} 아릴”은 5 또는 6개의 고리 원자를 갖는 아릴기에 관한 것이다. 여기에서, 고리 원자는 “카르보아릴기”에서와 같이 모두 탄소 원자일 수 있다. 카르보아릴기의 예는 벤젠, 나프탈렌, 아줄렌, 안트라센, 페난트렌, 나프타센 및 피렌으로부터 유도된 것들을 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 적어도 하나가 방향족 고리인 융합 고리를 포함하는 아릴기의 예는 인덴, 인덴, 이소인덴, 테트라린, 아세나프텐, 플루오렌, 페날렌, 아세페난트렌 및 아세안트렌으로부터 유도된 기를 포함하나, 이로 제한되지 않는다. 또는, 고리 원자는 “헤테로아릴기”에서와 같이 하나 이상의 헤테로 원자를 포함할 수 있다.

[259] 본 발명에서 “헤테로아릴”은 1 이상의 헤테로 원자를 포함하는 아릴로서, 예로는 피리딘, 피리미딘, 벤조티오펜, 푸릴, 디옥살라닐, 피롤릴, 옥사졸릴, 피리딜, 피리다지닐, 피리미디닐 등, 보다 구체적으로 벤조푸란, 이소벤조푸란, 인돌, 이소인돌, 인돌리진, 인돌린, 이소인돌린, 푸린(아데닌 또는 구아닌), 벤즈이미다졸, 인다졸, 벤즈옥사졸, 벤즈이속사졸, 벤조디옥솔, 벤조푸란, 벤조트리아졸, 벤조티오펜, 벤조티아졸, 벤조티아디아졸로부터 유도된 2개의 융합고리를 갖는 C_6 , 크로멘, 이소크로멘, 크로만, 이소크로만, 벤조디옥산, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 퀴놀리진, 벤족사진, 벤조디아진, 피리도피리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 신놀린, 프탈라진, 나프티리딘, 프테리딘으로부터 유도된 2개의

융합고리를 갖는 C_{10} , 벤조디아제핀으로부터 유도된 2개의 융합고리를 갖는 C_{11} , 카르바졸, 디벤조푸란, 디벤조티오펜, 카르볼린, 페리미딘, 피리도인돌로부터 유도된 3개의 융합고리를 갖는 C_{13} , 아크리딘, 크산텐, 티오크산텐, 옥산트렌, 페녹사티인, 페나진, 페녹사진, 페노티아진, 티안트렌, 페난트리딘, 페난트롤린, 페나진으로부터 유도된 3개의 융합고리를 갖는 C_{14} 를 들 수 있다.

[260] 본 발명에서 “사이클로알킬”은 하나 이상의 환을 포함하는 포화 고리기로서, 예로는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실을 들 수 있다.

[261] 본 발명에서 “사이클로알케닐”은 1 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 사이클로알킬이고, “사이클로알킬닐”은 1 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 사이클로알킬기를 의미한다.

[262]

[263] 본 명세서에서 “개체”는 인간 및 비-인간 동물, 특히 포유동물을 포함하는 것으로 의도된다. 개체의 예로는 인간 개체를 들 수 있으며, 예컨대 본 명세서에 기재된 장애, 보다 구체적으로는 항생제 치료가 필요한 인간 환자 또는 정상 개체를 포함하는 개념이다. “비-인간 동물”은 모든 척추동물, 예를 들어, 비-포유동물(예를 들어, 닭, 양서류, 파충류) 및 포유동물, 예를 들어, 비-인간 영장류, 가축 및/또는 농업에 유용한 동물(예를 들어, 양, 개, 고양이, 소, 돼지 등) 및 설치류(예를 들어, 마우스, 랫트, 햄스터, 기니피그 등)를 포함한다. 특정 구현예에서, 개체는 인간 환자이다.

[264] 본 명세서에서 “치료” 또는 “치료한다”는 치료적 처치 및 예방학적 또는 예방적 조치 둘 모두를 지칭한다. 치료를 필요로 하는 개체는 이미 질병을 갖는 개체, 및 질병을 갖기 쉬운 개체 또는 질병이 예방되어야 할 개체를 포함한다. 따라서, 질병 또는 치료를 필요로 하는 개체에 관하여 사용되는 경우, 상기 용어는 미처리 개체에 비하여, 질병 진행의 저지 또는 둔화, 증상의 예방, 질병 및/또는 증상 중증도의 감소 또는 질병 기간의 감소를 포함하나 이로 한정되지 않는다.

[265] 본 명세서에서, “투여” 또는 “투여하는”은 요망되는 효과를 달성하기 위하여 임의의 적절한 경로에 의해 화합물 또는 화합물들을 제공하고/거나 접촉시키고/거나 전달하는 것을 지칭한다. 투여는 경구, 설하, 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 피내, 근육내, 관절내, 동맥내, 활막내, 흉골내, 척수강내, 병변내 또는 두개내 주사), 경피, 국소, 협측, 직장, 질, 비강, 안과적, 흡입 및 이식물을 통한 투여를 포함할 수 있지만, 이로 제한되지 않는다.

[266] 본 명세서에서 “약학적으로 허용되는 염”으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의하여 형성된 산부가염을 사용할 수 있고, 상기 유리산으로는 유기산 또는 무기산을 사용할 수 있다.

[267] 상기 유기산은 이로 제한되는 것은 아니나, 구연산, 초산, 젖산, 주석산, 말레인산, 푸마르산, 포름산, 프로피온산, 옥살산, 트리플로오로아세트산, 벤조산, 글루콘산, 메타술폰산, 글리콜산, 숙신산, 4-톨루엔술폰산, 글루타메이트

및 아스파르트산을 포함한다. 또한 상기 무기산은 이로 제한되는 것은 아니나, 염산, 브롬산, 황산 및 인산을 포함한다.

- [268] 예컨대, 화합물이 음이온이거나 또는 음이온일 수 있는 작용기를 갖는 경우(예컨대 $-\text{COOH}$ 는 $-\text{COO}^-$ 일 수 있음), 적절한 양이온으로 염을 형성할 수 있다. 적절한 무기 양이온의 예는 알칼리 금속 이온, 예컨대 Na^+ 및 K^+ , 알칼리 토금속 양이온, 예컨대 Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 및 다른 양이온, 예컨대 Al^{3+} 을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 적절한 유기 양이온의 예는 암모늄 이온(즉, NH_4^+) 및 치환된 암모늄 이온(예컨대 NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [269] 일부 적절한 치환된 암모늄 이온의 예는 하기로부터 유도된 것들이다: 에틸아민, 디에틸아민, 디사이클로헥실아민, 트리에틸아민, 부틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진, 벤질아민, 페닐벤질아민, 콜린, 메글루민 및 트로메타민 뿐 아니라, 아미노산, 예컨대 리신 및 아르기닌. 통상적인 4급 암모늄 이온의 예는 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 이다.
- [270] 화합물이 양이온이거나 또는 양이온일 수 있는 작용기를 갖는 경우(예컨대 $-\text{NH}_2$ 는 $-\text{NH}_3^+$ 일 수 있음), 적절한 음이온으로 염을 형성할 수 있다. 적절한 무기 음이온의 예는 하기 무기 산으로부터 유도된 것들을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다: 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 황산, 아황산, 질산, 아질산, 인산 및 아인산 등을 예로 들 수 있다.
- [271] 적절한 유기 음이온의 예는 하기 유기산으로부터 유도된 것들을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다: 2-아세트옥시벤조산, 아세트산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤조산, 캄퍼설폰산, 신남산, 시트르산, 에데트산, 에탄디설폰산, 에탄설폰산, 푸마르산, 글루챗톤산, 글루콘산, 글루타메이트, 글리콜산, 히드록시말레산, 히드록시나프탈렌 카르복실산, 이세티온산, 락트산, 락토비온산, 라우르산, 말레산, 말산, 메탄설폰산, 점액산, 올레산, 옥살산, 팔미트산, 팜산, 판토텐산, 페닐아세트산, 페닐설폰산, 프로피온산, 피루브산, 살리실산, 스테아르산, 숙신산, 설파닐산, 타르타르산, 톨루엔설폰산 및 발레르산 등을 예로 들 수 있다. 적절한 중합체 유기 음이온의 예는 하기 중합체 산으로부터 유도된 것들을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다: 타닌산, 카르복시메틸 셀룰로오스 등을 예로 들 수 있다.
- [272] 본 명세서에서 "용매화물(solvate)"은 본 발명에 따른 화합물과 용매 분자(solvent molecules) 사이의 분자 복합체(molecular complex)를 말하며, 용매화물의 예는 물, 이소프로판올, 에탄올, 메탄올, 디메틸설폭사이드(dimethylsulfoxide), 에틸 아세테이트, 아세트산, 에탄올아민 또는 이의 혼합용매와 결합한 본 발명40에 따른 화합물을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [273] 활성 화합물의 상당하는 용매화물을 제조, 정제 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 또는 바람직할 수 있다. 용어 "용매화물"은 본 명세서에서

용질(예컨대 활성 화합물, 활성 화합물의 염) 및 용매의 착체를 지칭하기 위해 통상적인 의미로 사용된다. 용매가 물인 경우, 용매화물을 편리하게 수화물, 예컨대 일수화물, 이수화물, 삼수화물 등으로 지칭할 수 있다.

- [274] 활성 화합물의 상당하는 용매화물을 제조, 정제 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 또는 바람직할 수 있다. 용어 "용매화물"은 본 명세서에서 용질(예컨대 활성 화합물, 활성 화합물의 염) 및 용매의 착체를 지칭하기 위해 통상적인 의미로 사용된다. 용매가 물인 경우, 용매화물을 편리하게 수화물, 예컨대 일수화물, 이수화물, 삼수화물 등으로 지칭할 수 있다.
- [275] 상기 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 통상적으로 서서히 대사되는 거대분자, 예를 들어 단백질, 다당류, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 중합체성 아미노산, 아미노산 공중합체, 지질 응집물 등을 포함할 수 있으며, 이러한 약학적으로 허용 가능한 담체는 당업자가 적절히 선택하여 사용할 수 있다.
- [276] 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 상기 조성물은 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형일 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다.
- [277] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.
- [278] 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [279] 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [280] 상기 약학적 조성물은 주사제, 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나의 제형을 가질 수 있다.
- [281] 정맥내, 피부 또는 피하 주사 등을 위해, 활성 성분은 무발열성(pyrogen-free)이고 적절한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구 투여용의, 허용가능한 수용액의 형태일 수 있다. 당업자는 예를 들어 염화나트륨 수용액, 링거액, 락테이트 링거액 등과 같은 등장성 비히클을 사용하여 적절한

용액을 제조할 수 있으며, 보존제, 안정화제, 완충제, 산화 방지제 또는 기타 다른 첨가제로 필요한 경우 포함될 수 있다. 주사에 적합한 고체 형태는 또한 에멀전으로서 또는 리포솜에 캡슐화된 폴리펩티드의 형태로 제조될 수 있다.

- [282] 본 명세서에 사용된 어구 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 목적 치료 결과를 달성하는데 (투여량 및 투여 기간 및 수단에 대해) 필요한 양을 지칭한다. 유효량은 적어도 대상체에게 치료 이익을 부여하는데 필요한 활성제의 최소량이며, 독성량 미만이다. 예를 들어 투여량은 환자 당 약 100 ng 내지 약 100 mg/kg 범위로, 보다 전형적으로 약 1 µg/kg 내지 약 10 mg/kg의 범위로 투여할 수 있다. 활성 화합물이 염, 에스테르, 아마이드, 전구체 약물(prodrug) 등인 경우에 투여량은 모 화합물을 기준으로 계산되므로, 사용되는 실제 중량은 비례하여 증가된다. 본 발명에 따른 항생제는 단위 제형(dosage form)당 활성 성분 0.1 mg 내지 3000 mg, 1 mg 내지 2000 mg, 10 mg 내지 1000 mg을 포함하도록 제형화될 수 있으나 이로 한정되지 않는다. 활성 성분은 약 0.05 µM 내지 100 µM, 1 µM 내지 50 µM, 5 µM 내지 30 µM의 활성 화합물의 피크 플라즈마 농도를 얻도록 투여될 수 있다. 예를 들어 임의로 식염수내에서 활성 성분 0.1 w/v% 내지 5 w/v% 용액의 정맥 주사에 의해 투여될 수 있다.

- [283] 약학 조성물에서 활성 화합물의 농도는 약물의 흡수, 불활성화 및 배출을 및 당 기술분야의 숙련자에게 알려진 다른 인자에 의해 결정될 수 있다. 투여량은 증상/질환의 심각도에 따라 달라질 수 있다. 또한 어떤 특정 환자에 대한 투여량 및 투여요법은 환자의 증상/질환의 정도, 필요성, 나이, 약물에 대한 반응성 등을 종합적으로 고려하여 투여 감독자의 직업적 판단에 따라 조정될 수 있으며, 본 발명에서 제시된 농도 범위는 단지 일예이며 청구된 조성물의 실시양태를 이로 한정하는 것을 의도하지 않는다. 또한 활성 성분은 1회 투여될 수 있거나, 보다 적은 투여량을 수 회 나누어 투여할 수도 있다.

[284]

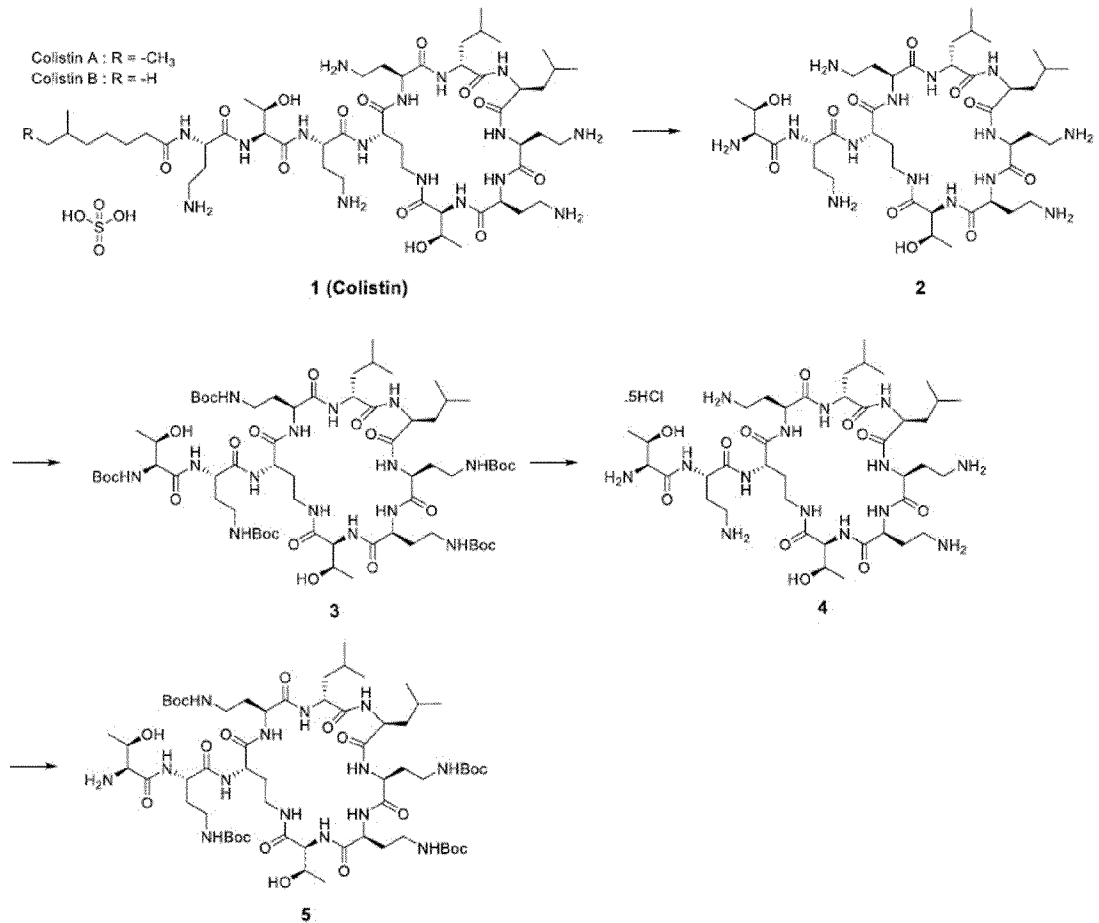
- [285] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

- [286] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[287]

- [288] <실시예 1> 화합물 5의 제조

[289]

[290] 화합물 2의 제조

[291] 콜리스틴 황산염 1 (1 g, 0.79 mmol)을 0.1 M PBS 버퍼 (PH 7.0)에 녹인 후 피신 (ficin, 200 unit, 131 mg)과 2-머캅토에탄올 (0.05 mL)을 첨가하였다. 반응 용액을 37 °C에서 3 일 동안 배양하였다. 반응 용액을 100 °C, 15 분 동안 끓인 후 감압 농축하여 화합물 2 (crude)를 수득하였다. EI-MS m/z : [M+H]⁺ 929.39, [M+Na]⁺ 951.50.

[292]

[293] 화합물 3의 제조

[294] 화합물 2 (crude)를 증류수 (20 mL)와 메탄올 (20 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소 대기 하에서 트라이에틸아민 (1.6 mL, 11.8 mmol)과 다이-*t*-부틸 다이카보네이트 (1.9 mL, 8.3 mmol)을 차례로 첨가한 후 20 시간 동안 상온 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 증류수 (20 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트 (20 mL x 2)로 추출하였다. 모인 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 3 (580 mg, 51%, 2 steps)을 수득하였다. EI-MS m/z : [M+H]⁺ 1430.54, [M+Na]⁺ 1452.64.

[295]

[296] 화합물 4의 제조

[297] 화합물 3 (580 mg, 0.40 mmol)을 다이클로로메테인 (6 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소

대기 하에서 염산 (4 M 1,4-다이옥세인 용액, 2.5 mL, 10.0 mmol)을 첨가한 후 4 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축하여 화합물 4 (450 mg, quant.)를 흰색 고체로 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 929.39 $[M+Na]^+$ 951.56.

[298]

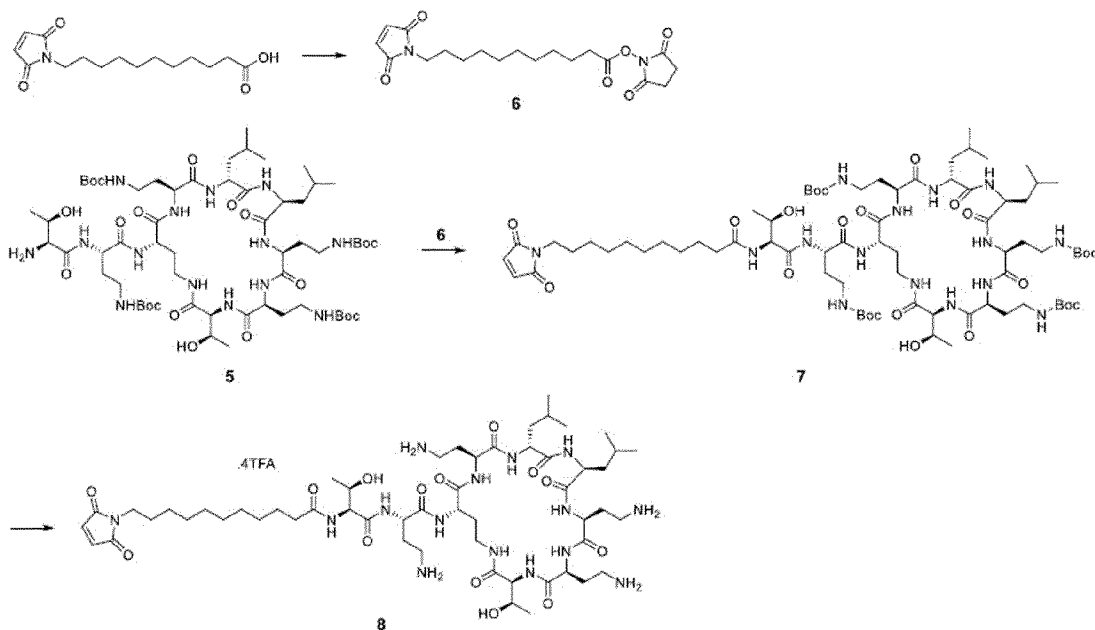
[299] 화합물 5의 제조

[300] 화합물 4 (450 mg, 0.40 mmol)를 물 (7 mL)과 메탄올 (14 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소 대기 하에서 트라이에틸아민 (0.5 mL, 4.0 mmol)과 2-(박-옥시이미노)-2-페닐아세트나이트릴 (Boc-ON, 380 mg, 1.5 mmol)을 차례로 첨가한 후 20 시간동안 상온에서 교반하였다. 반응 용매를 감압 농축하고, 다이클로로메테인 (30 mL)으로 묽힌 후 포화 탄산수소 나트륨 수용액 (10 mL)으로 씻어주었다. 모인 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 5 (260 mg, 44%)를 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1329.76, $[M+Na]^+$ 1351.79.

[301]

[302] <실시예 2> 화합물 8의 제조

[303]

[304] 화합물 6의 제조

[305] 11-말레이미도운데카노익 애시드 (70 mg, 0.25 mmol)를 다이메틸폼아마이드 (3 mL)에 녹인 후, 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드 (62 mg, 0.32 mmol)와 *N*-하이드록시석신이마이드 (38 mg, 0.32 mmol)를 첨가하고 16 시간동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 다음 반응에 바로 사용하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 379.49 $[M+Na]^+$ 401.43.

[306]

[307] 화합물 7의 제조

[308] 위에서 얻은 화합물 6 (0.25 mmol, crude) 용액에 화합물 5 (200 mg, 0.15 mmol)를

0 °C 질소 대기 하에서 첨가하였다. 상온으로 온도를 서서히 올리며 6 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (5 mL)로 묽힌 뒤 0.1 N 염산 수용액 (5 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하여 화합물 7 (crude)을 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1594.60, $[M+Na]^+$ 1616.42.

[309]

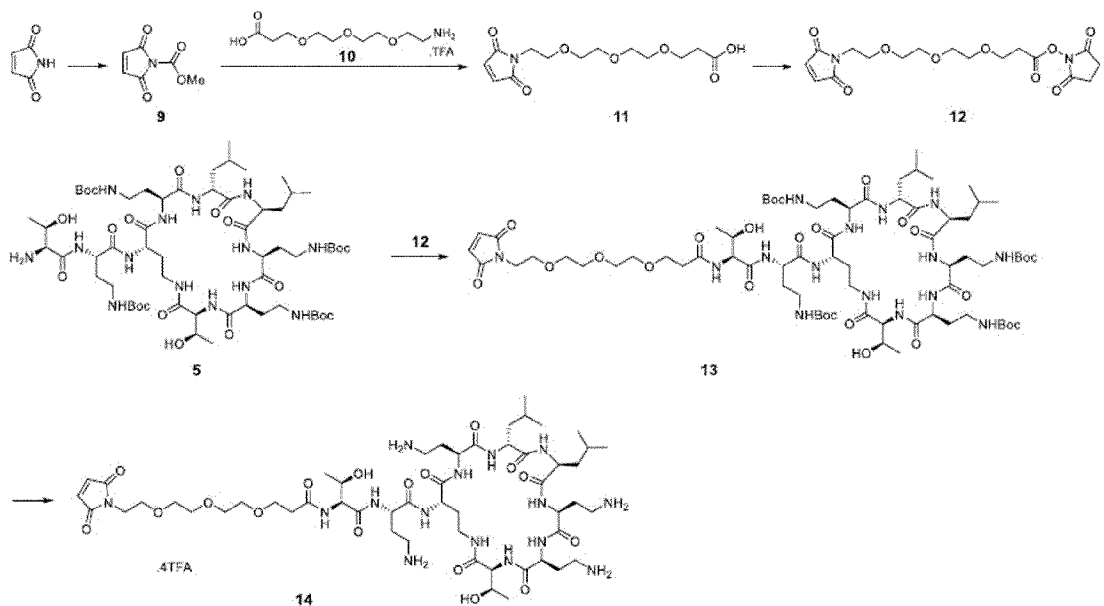
[310] **화합물 8의 제조**

[311] 화합물 7 (crude)을 다이클로로메테인 (7 mL)으로 묽힌 후 트라이플루오로아세트산 (2 mL)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 8을 흰색의 고체 (54.8 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1193.47, $[M+Na]^+$ 1215.28.

[312]

[313] **<실시예 3> 화합물 14의 제조**

[314]

[315] **화합물 9의 제조**

[316] 말레이마이드 (500 mg, 5.1 mmol)를 에틸 아세테이트 (21 mL)에 녹인 후 0 °C, 질소 대기 하에서 에틸 아세테이트 (3 mL)에 녹인 *N*-메틸몰폴린 (0.57 mL, 5.15 mmol)을 서서히 첨가하였다. 10 분간 상온 교반 후, 에틸 아세테이트 (2 mL)에 녹인 메틸 클로로폼에이트 (0.38 mL, 5.0 mmol)를 0 °C, 질소 대기 하에서 서서히 첨가한 후 3 시간 동안 상온에서 교반 하였다. 생성된 고체를 여과한 후 여과액을 감압 농축하여 화합물 9 (850 mg, quant.)를 수득하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.84 (s, 2H), 3.98 (s, 3H).

[317]

[318] **화합물 11의 제조**

[319] 화합물 10 (190 mg, 0.56 mmol, 화합물 10은 특허 US2015/246136에 기술된 방법으로 제조하였다)을 포화 염화 암모늄 수용액 (2.6 mL)에 녹인 후 0 °C에서 화합물 9 (88 mg, 0.56 mmol)를 첨가하였다. 반응 온도를 상온까지 서서히 올리면서 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 0 °C에서 2 N 황산 수용액으로 pH ~3으로 맞춘 후 에틸 아세테이트 (4 mL)로 추출하였다. 추출한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하여 화합물 11 (180 mg, quant.)을 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.72 (s, 2H), 3.82-3.60 (m, 14H), 2.66-2.63 (t, 2H).

[320]

[321] 화합물 12의 제조

[322] 화합물 11 (75 mg, 0.25 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (1 mL)에 녹인 후, 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드 (57 mg, 0.29 mmol)와 *N*-하이드록시석신이마이드 (34 mg, 0.29 mmol)를 첨가하고 16 시간 동안 상온에서 교반하여 화합물 12 (crude)를 수득하였다. 반응 용액을 다음 반응에 바로 사용하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 421.34, [M+Na]⁺ 444.46.

[323]

[324] 화합물 13의 제조

[325] 화합물 5 (200 mg, 0.15 mmol)를 다이메틸폼아마이드 (0.5 mL)에 녹인 후 위에서 제조한 화합물 12 용액 (0.18 mL, 0.045 mmol, crude)을 0 °C 질소 대기 하에서 첨가하였다. 상온으로 온도를 서서히 올리며 8 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (10 mL)로 묽힌 뒤 0.1 N 염산 수용액 (10 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하여 화합물 13 (crude)을 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 1613.74, [M+Na]⁺ 1635.86.

[326]

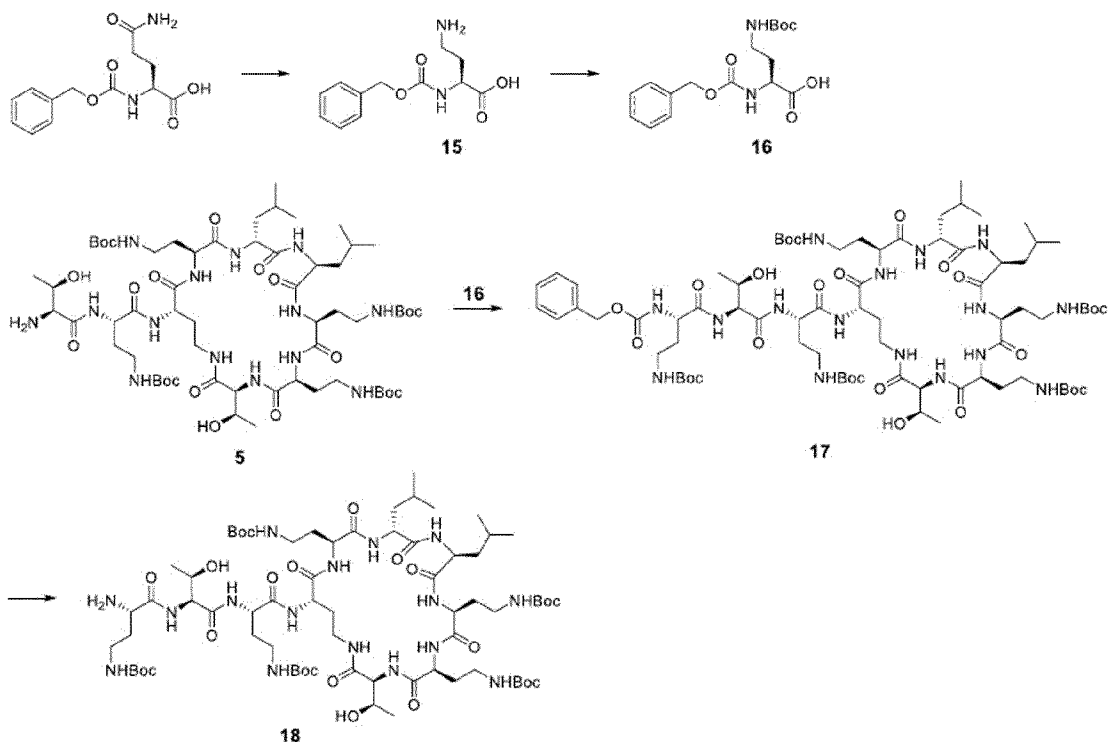
[327] 화합물 14의 제조

[328] 화합물 13 (crude)을 다이클로로메테인 (3 mL)으로 묽힌 후 트라이플루오로아세트산 (1 mL)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 14를 흰색의 고체 (11.8 mg)로 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 1212.97, [M+Na]⁺ 1235.03.

[329]

[330] <실시예 4> 화합물 18의 제조

[331]

[332] 화합물 15의 제조

[333] ((벤질옥시)카보닐)-L-글루타민 (1.4 g, 5.0 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (12 mL)과 증류수 (3 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소 대기 하에서 (디아아세톡시아이오도)벤젠 (1.9 g, 6.0 mmol)을 첨가하고 0 °C 에서 7 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후, 증류수 (10 mL)을 첨가하고 에틸 아세테이트 (20 mL x 3)로 세척하였다. 수용액 층을 감압 농축하여 화합물 15 (900 mg, 71%)를 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.38-7.30 (m, 5H), 6.61 (s, 1H), 3.63 (s, 1H), 2.93-2.88 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 1H), 1.75-1.70 (m, 1H).

[334]

[335] 화합물 16의 제조

[336] 화합물 15 (900 mg, 3.6 mmol)를 테트라하이드로퓨란 (10 mL)과 증류수 (10 mL)에 녹인 후 다이-*t*-부틸 다이카보네이트 (934 mg, 4.3 mmol)를 테트라하이드로퓨란 (10 mL)에 물려 10 분간 서서히 첨가한 후 2 시간 동안 상온에서 교반하였다. 유기 용매를 감압 농축한 후, 남은 수용액층을 1 M 염산 수용액을 첨가하여 PH ~2로 맞춘 후 에틸 아세테이트 (15 mL x 2)로 추출하였다. 모인 유기층을 증류수 (15 mL)와 소금물 (15 mL)로 닦아 주고 무수 황산 나트륨으로 건조하고 여과한 후 감압 농축하여 화합물 16 (1.2 g, 95%)을 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.57-7.55 (d, 1H), 7.36-7.31 (m, 5H), 6.82 (s, 1H), 5.02 (s, 2H), 3.98-3.95 (m, 1H), 2.98 (br s, 2H), 1.90-1.83 (m, 1H), 1.66-1.64 (m, 1H).

[337]

[338] 화합물 17의 제조

[339] 화합물 16 (29 mg, 0.083 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (1.5 mL)에 녹인 후, 화합물 5 (100 mg, 0.075 mmol)와 *N,N,N',N'*-테트라메틸-*O*-(1*H*-벤조트리아졸-1-일)우로늄 헥사플루오로포스페이트 (HBTU, 37 mg, 0.098 mmol), 그리고 *N,N'*-다이아이소프로필에틸아민 (0.02 mL, 0.11 mmol)을 차례로 첨가하고 상온에서 16 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (10 mL)로 희석한 후 0.1 N 염산 수용액 (10 mL)과 포화 탄산수소 나트륨 수용액 (10 mL)으로 세척하였다. 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조하고 여과 및 감압 농축한 후 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 17 (86 mg, 69%)을 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 1664.66, [M+Na]⁺ 1686.74.

[340]

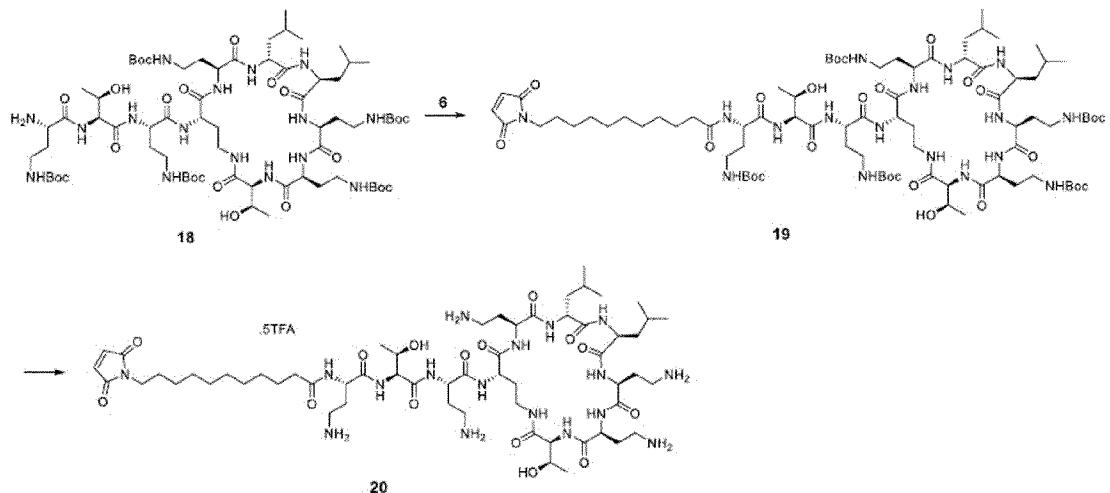
[341] **화합물 18의 제조**

[342] 화합물 17 (86 mg, 0.052 mmol)을 메탄올 (4 mL)에 녹인 후 팔라듐/차콜 (20 % w/w, 17 mg)을 첨가하였다. 반응 용액을 상온, 수소 대기 하에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 셀라이트로 여과한 후 농축하여 화합물 18 (79 mg, quant.)을 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 1530.54, [M+Na]⁺ 1553.44.

[343]

[344] **<실시예 5> 화합물 20의 제조**

[345]



[346] **화합물 19의 제조**

[347] 다이메틸폼아마이드 (1 mL)에 녹아있는 화합물 6 (0.062 mmol, crude) 용액에 화합물 18 (79 mg, 0.052 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (1 mL)에 녹여 0 °C질소 대기 하에서 첨가하였다. 상온으로 온도를 서서히 올리며 6 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (5 mL)로 묽힌 뒤 0.1 N 염산 수용액 (5 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하여 화합물 19 (crude)를 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 1794.82, [M+Na]⁺ 1815.77.

[348]

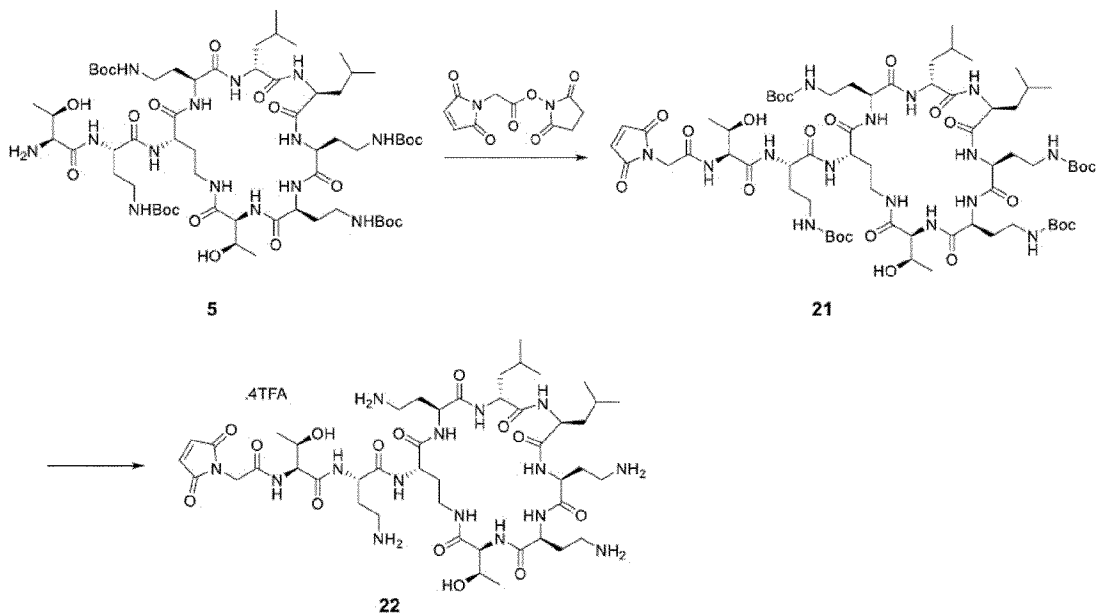
[349] **화합물 20의 제조**

[350] 위에서 제조한 화합물 19 (crude)를 다이클로로메테인 (3 mL)으로 묽힌 후 트라이플루오로아세트산 (1 mL)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 20을 흰색의 고체 (15.5 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+Na]^+$ 1315.46, $1/2[M+H]^+$ 647.54.

[351]

[352] <실시예 6> 화합물 22의 제조

[353]



[354] 화합물 21의 제조

[355] 화합물 5 (30 mg, 0.023 mmol)와 *N*-석신이미딜말레이미도아세테이트 (8.6 mg, 0.034 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (1 mL)에 녹인 후 24 시간 동안 상온 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (10 mL)로 묽힌 뒤 소금물 (10 mL)로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하여 화합물 21 (crude)을 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1467.75, $[M+Na]^+$ 1488.62.

[356]

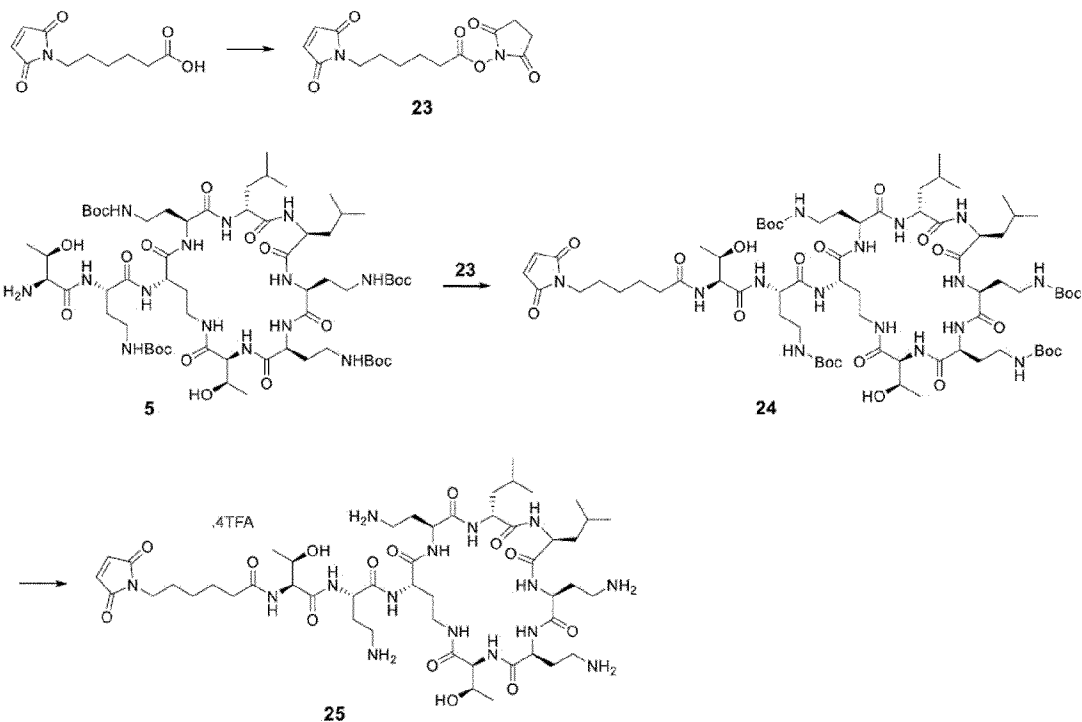
[357] 화합물 22의 제조

[358] 화합물 21 (crude)을 다이클로로메테인 (5 mL)으로 묽힌 후 트라이플루오로아세트산 (1 mL)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 Prep. HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 22를 흰색의 고체 (9.0 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1066.55, $1/2[M+H]^+$ 534.06.

[359]

[360] <실시예 7> 화합물 25의 제조

[361]

[362] 화합물 23의 제조

[363] 6-말레이미도헥사노익 애시드 (10 mg, 0.049 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (0.5 mL)에 녹인 후, 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이어미드 (10 mg, 0.057 mmol)와 *N*-하이드록시석신이미드 (6.0 mg, 0.057 mmol)를 첨가하고 16 시간 동안 상온 교반하였다. 생성된 화합물 23은 정제없이 다음 반응에 바로 사용하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+309.33$, $[M+Na]^+331.23$.

[364]

[365] 화합물 24의 제조

[366] 화합물 5 (40 mg, 0.038 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (0.5 mL)에 녹인 후 화합물 23 (0.049 mmol, crude)을 상온, 질소 대기 하에서 첨가한 후 4 시간 동안 상온 교반하였다. *N,N'*-다이아이소프로필에틸아민 (0.007 mL, 0.038 mmol)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 3 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (10 mL)로 묽힌 뒤 0.1 N 염산 수용액 (10 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하여 화합물 24 (crude)를 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+1522.58$, $[M+Na]^+1545.69$.

[367]

[368] 화합물 25의 제조

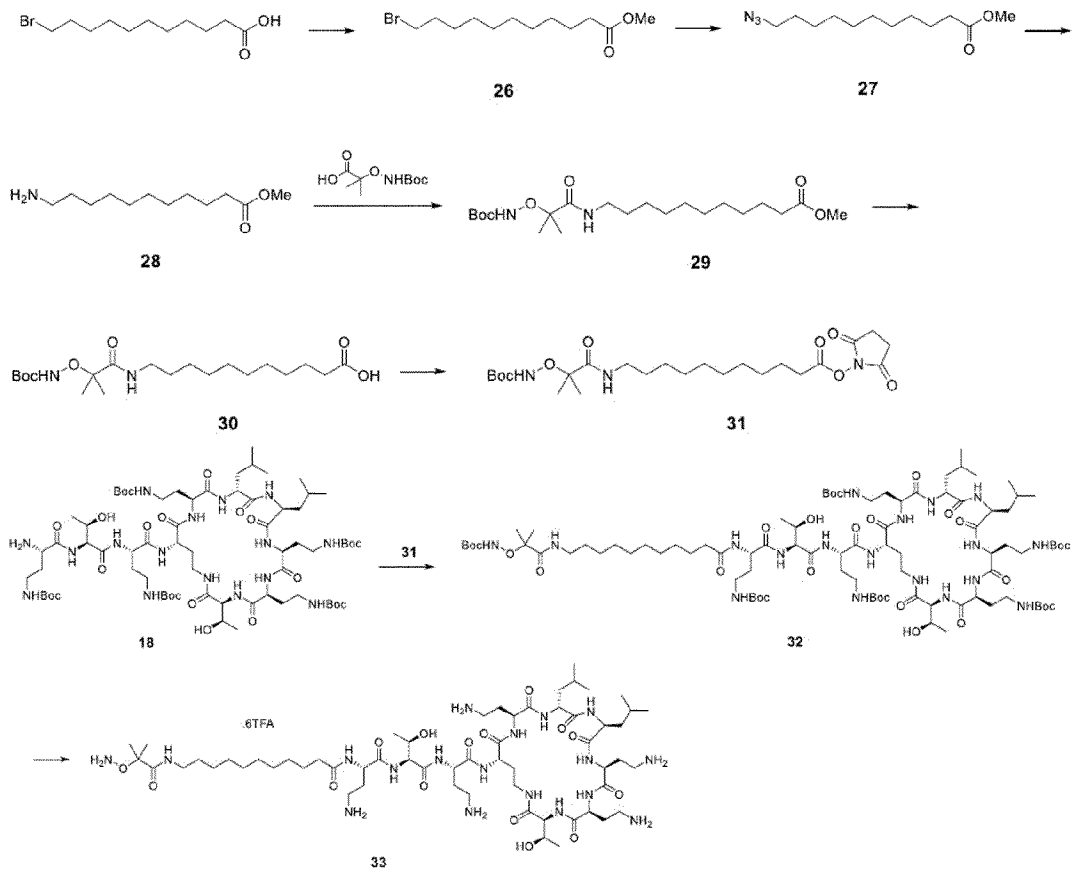
[369] 화합물 24 (crude)를 다이클로로메테인 (3 mL)으로 묽힌 후 트라이플루오로아세트산 (1 mL)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 25를 흰색의 고체 (8.7 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : $[M+H]^+1122.77$, $1/2[M+H]^+562.18$.

[370]

[371]

[372]

<실시예 8> 화합물 33의 제조



[373]

화합물 26의 제조

[374]

11-브로모운데카노익 애시드 (1.0 g, 3.8 mmol)를 메탄올 (19 mL)로 묶힌 후 0 °C, 질소 대기 하에서 염화티오닐 (0.4 mL, 5.6 mmol)을 첨가한 후 2 시간 동안 가열 환류하였다. 0 °C 에서 반응 용액을 20% 탄산 칼륨 수용액으로 pH 10으로 맞춘 후 메탄올을 감압 농축하였다. 수용액층을 다이클로로메테인 (20 mL X 2)으로 추출한 후 무수 황산 나트륨으로 건조하고 여과 및 농축하여 화합물 26 (1.0 g, 97%)을 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.67 (s, 3H), 3.42-3.39 (t, 2H), 2.32-2.28 (t, 2H), 1.87-1.83 (m, 2H), 1.63-1.59 (m, 2H), 1.28 (brs, 10H).

[375]

[376]

화합물 27의 제조

[377]

화합물 26 (1.0 g, 3.6 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (18 mL)로 묶힌 후 아지드화 나트륨 (356 mg, 5.5 mmol)을 첨가한 후 3 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 다이에틸 이써 (200 mL)로 묶힌 뒤 증류수 (100 mL) 그리고 소금물 (100 mL)로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하여 화합물 27 (885 mg, crude)을 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.67 (s, 3H), 3.27-3.24 (t, 2H), 2.32-2.28 (t, 2H), 1.63-1.58 (m, 4H), 1.29 (brs, 10H).

[378]

[379] 화합물 28의 제조

[380] 화합물 27 (885 mg, 3.6 mmol)을 메탄올 (10 mL)로 묽힌 후 팔라듐/차콜 (10 % w/w, 90 mg)을 첨가하였다. 반응 용액을 상온, 수소 대기 하에서 3 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 셀라이트로 여과 및 농축한 후 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 28 (280 mg, crude)을 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, MeOD₄) δ 3.64 (s, 3H), 2.63-2.59 (t, 2H), 2.32-2.28 (t, 2H), 1.61-1.57 (m, 2H), 1.47-1.44 (m, 2H), 1.31 (brs, 10H).

[381]

[382] 화합물 29의 제조

[383] 화합물 28 (280 mg, crude)과 2-(((tert-부톡시카보닐)아미노)옥시)-2-메틸프로파노익 애시드 (313 mg, 1.43 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (6.5 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소 대기 하에서 3-[비스(디메틸아미노)메틸리실]-3*H*-벤조트리아졸-1-옥사이드헥사플루오로포스페이트 (592 mg, 1.56 mmol)와 *N,N*-다이아이소프로필에틸아민 (0.35 mL, 1.95 mmol)을 차례로 첨가하고 상온에서 20 시간 동안 교반하였다. 반응 용액에 에틸 아세테이트 (50 mL)를 첨가 후 포화 탄산 수소 나트륨 수용액 (50 mL)으로 닦아주었다. 모인 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조하고 여과한 후 농축하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 29 (336 mg, 22%, 2 steps)를 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.82 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.22-3.19 (m, 2H), 2.32-2.26 (t, 2H), 1.64-1.58 (m, 2H), 1.50-1.48 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.44 (s, 6H), 1.27 (brs, 10H).

[384]

[385] 화합물 30의 제조

[386] 화합물 29 (336 mg, 0.80 mmol)를 테트라하이드로퓨란 (2 mL)과 메탄올 (1 mL)에 녹인 후, 질소 대기 하에서 수산화나트륨 (97 mg, 2.42 mmol)을 증류수 (2 mL)에 녹인 용액을 첨가하여 5 시간 동안 교반하였다. 유기 용매를 감압 농축한 후 에틸 아세테이트 (50 mL)와 증류수 (50 mL)로 희석하여 0.5 N 염산 수용액으로 pH ~3 정도로 맞춘 후 추출하였다. 모인 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조하고 여과한 후 농축하여 화합물 30 (330 mg, crude)을 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.86 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 3.22-3.19 (m, 2H), 2.36-2.32 (t, 2H), 1.64-1.58 (m, 2H), 1.50-1.48 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.45 (s, 6H), 1.27 (brs, 10H).

[387]

[388] 화합물 31의 제조

[389] 화합물 30 (170 mg, 0.42 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (3 mL)에 녹인 후, 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이미드 (97 mg, 0.51 mmol)와 *N*-하이드록시석신이미드 (58 mg, 0.51 mmol)를 첨가하고 7 시간 동안 상온에서

교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 묶힌 뒤 수용액 (10 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하여 화합물 31 (220 mg, crude)을 수득하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.84 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 3.24-3.19 (m, 2H), 2.83 (brs, 4H), 2.62-2.58 (t, 2H), 1.78-1.70 (m, 2H), 1.52-1.36 (m, 4H), 1.48 (s, 9H), 1.45 (s, 6H), 1.27 (brs, 10H).

[390]

[391] 화합물 32의 제조

[392] 화합물 18 (50 mg, 0.033 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (2 mL)에 녹인 후 화합물 31 (19 mg, 0.039 mmol)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가한 후 18 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 묶힌 뒤 소금물 (10 mL)로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 농축하여 화합물 32 (crude)를 수득하였다. EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1915.73, $1/2[\text{M}+\text{H}]^+$ 958.35.

[393]

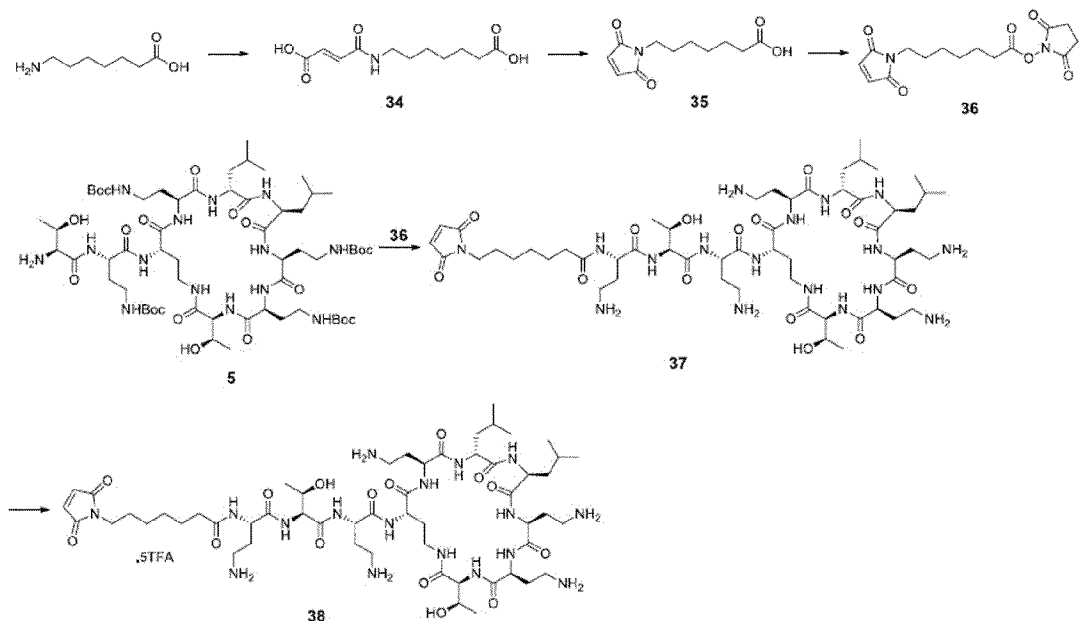
[394] 화합물 33의 제조

[395] 화합물 32 (crude)를 다이클로로메테인 (3 mL)으로 묶힌 후 트라이플루오로아세트산 (1 mL)를 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 33을 흰색의 고체 (7.1 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1314.31, $1/2[\text{M}+\text{H}]^+$ 657.71.

[396]

[397] <실시예 9> 화합물 38의 제조

[398]

[399] 화합물 34의 제조

[400] 7-아미노헵타노익 애시드 (1.0 g, 6.88 mmol)를 아세트산 (6 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소 대기 하에서 말레인 산 (674 mg, 6.88 mmol)을 첨가한 후 11 시간 동안 상온에서 교반하였다. 생성된 고체를 여과하고 건조하여 화합물 34 (1.35 g, 80%)를 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.15 (br s, 1H), 6.54-6.37 (m, 1H), 6.33-6.21 (m, 1H), 3.15 (s, 2H), 2.21 (s, 2H), 1.49 (s, 4H), 1.33 (s, 4H). EI-MS m/z : [M+H]⁺ 244.26.

[401]

[402] 화합물 35의 제조

[403] 화합물 34 (500 mg, 2.06 mmol)를 무수 아세트산 (5 mL)으로 묽힌 후 소듐 아세테이트 (169 mg, 2.06 mmol)를 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고, 80 °C 온도를 올려 3 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 묽힌 뒤 증류수 (20 mL)로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하여 화합물 35 (400 mg, 86%)를 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11.95 (s, 1H), 6.99 (s, 2H), 3.37 (s, 2H), 2.17 (s, 2H), 1.46 (s, 4H), 1.23 (s, 4H). EI-MS m/z : [M+H]⁺ 226.24.

[404]

[405] 화합물 36의 제조

[406] 화합물 35 (100 mg, 0.44 mmol)를 다이메틸폼아마이드 (3 mL)로 묽힌 후 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드 (84 mg, 0.52 mmol)와 *N*-하이드록시석신이마이드 (61 mg, 0.52 mmol)를 첨가하고 16 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 묽힌 뒤 증류수 (20 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하여 화합물 36 (92 mg, 64%)를 수득하였다. EI-MS m/z : [M+H]⁺ 323.48

[407]

[408] 화합물 37의 제조

[409] 화합물 36 (21 mg, 0.07 mmol)과 화합물 5 (85 mg, 0.06 mmol)를 다이메틸폼아마이드 (3 mL)로 묽힌 후, 0 °C 질소 대기 하에서 *N,N*-다이아이소프로필에틸아민 (10 uL, 0.06 mmol) 첨가하였다. 상온으로 온도를 서서히 올리며 13 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 37을 흰색의 고체 (54 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : [M+H]⁺ 1738.48

[410]

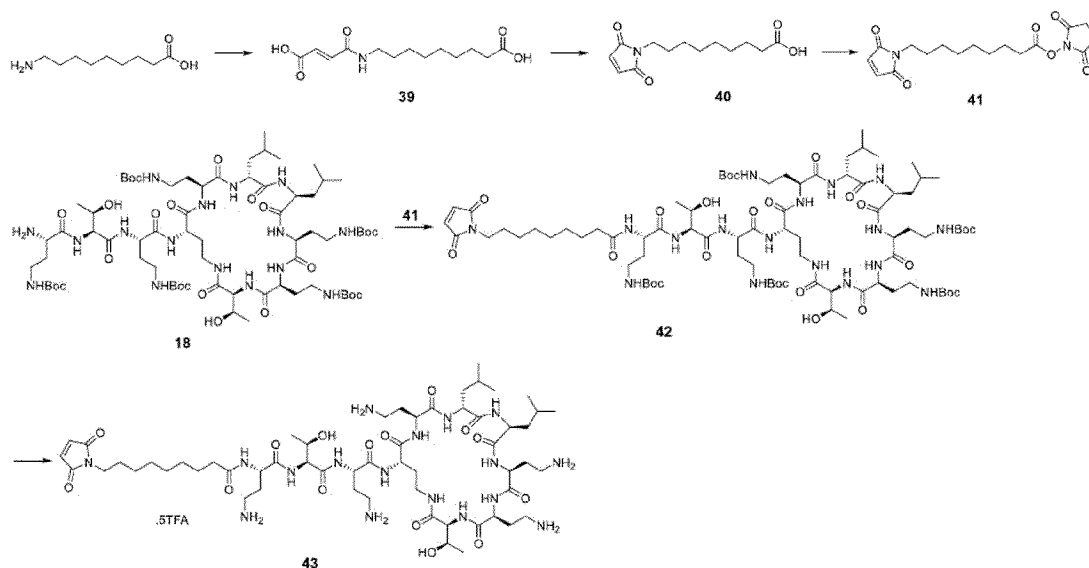
[411] 화합물 38의 제조

[412] 화합물 37 (45 mg, 0.02 mmol)을 다이클로로메테인 (3 mL)으로 묽힌 후, 트라이플루오로아세트산 (1 mL)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 38을 흰색의 고체 (6.5 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : [M+Na]⁺ 1237.46

[413]

[414] <실시예 10> 화합물 43의 제조

[415]



[416] 화합물 39의 제조

[417] 9-아미노노나노익 애시드 (890 mg, 5.14 mmol)을 아세트산 (5 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소 대기 하에서 말레인 산 (504 mg, 5.14 mmol)을 첨가한 후 13 시간 동안 상온에서 교반하였다. 생성된 고체를 여과하고 건조하여 화합물 39 (630 mg, 45%)를 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ9.10 (br s, 1H), 6.41 (d, *J*=12.8 Hz, 1H), 6.24 (d, *J*=12.4 Hz, 1H), 3.18-3.15 (m, 2H), 2.21-2.15 (m, 2H), 1.49-1.42 (m, 2H), 1.26 (s, 4H). EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 272.31.

[418]

[419] 화합물 40의 제조

[420] 화합물 39 (200 mg, 0.74 mmol)를 무수 아세트산 (4 mL)으로 푼 후, 소듐 아세테이트 (60 mg, 0.74 mmol)를 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고, 80 °C 온도를 올려 5 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 푼 뒤 증류수 (20 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하여 화합물 40 (150 mg, 80%)을 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, *d*-DMSO) δ7.06 (s, 2H), 2.73-2.65 (m, 2H), 2.42 (s, 2H), 1.69-1.62 (m, 2H), 1.58-1.51 (m, 2H), 1.46-1.39 (m, 2H), 1.35-1.27 (m, 2H).

[421] EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 254.29

[422]

[423] 화합물 41의 제조

[424] 화합물 40 (150 mg, 0.59 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (3 mL)로 푼 후 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드 (136 mg, 0.71 mmol)와 *N*-하이드록시석신이마이드 (81 mg, 0.71 mmol)를 첨가하고 16 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 푼 뒤 증류수 (20 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및

감압 농축하여 화합물 41 (83 mg, 40%)을 수득하였다. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.05 (s, 2H), 2.86 (m, 2H), 2.73-2.66 (m, 2H), 1.71-1.65 (m, 2H), 1.58-1.50 (m, 2H), 1.43-1.322 (m, 8H). EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 351.37

[425]

[426] 화합물 42의 제조

[427] 화합물 41 (11 mg, 0.03 mmol)과 화합물 18 (40 mg, 0.03 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (3 mL)로 묶힌 후, 0°C 질소 대기 하에서 N,N -다이아이소프로필에틸아민 (5 μL , 0.03 mmol)을 첨가하였다. 반응 용액을 상온으로 서서히 올리며 13 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 42을 흰색의 고체 (25 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1766.10

[428]

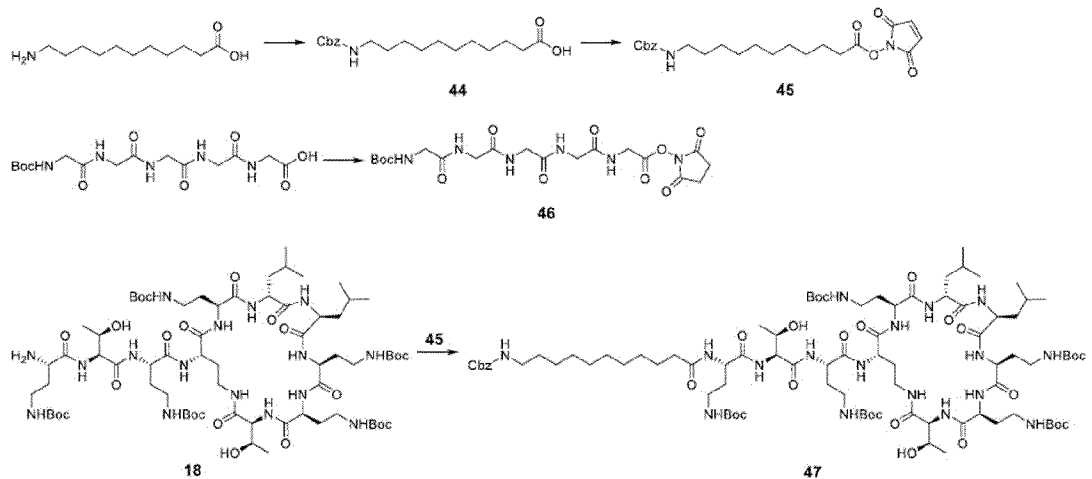
[429] 화합물 43의 제조

[430] 화합물 42 (25 mg, 0.01 mmol)를 다이클로로메테인 (3 mL)으로 묶힌 후, 트라이플루오로아세트산 (1 mL)을 0°C , 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 43을 흰색의 고체 (7.2 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1265.52

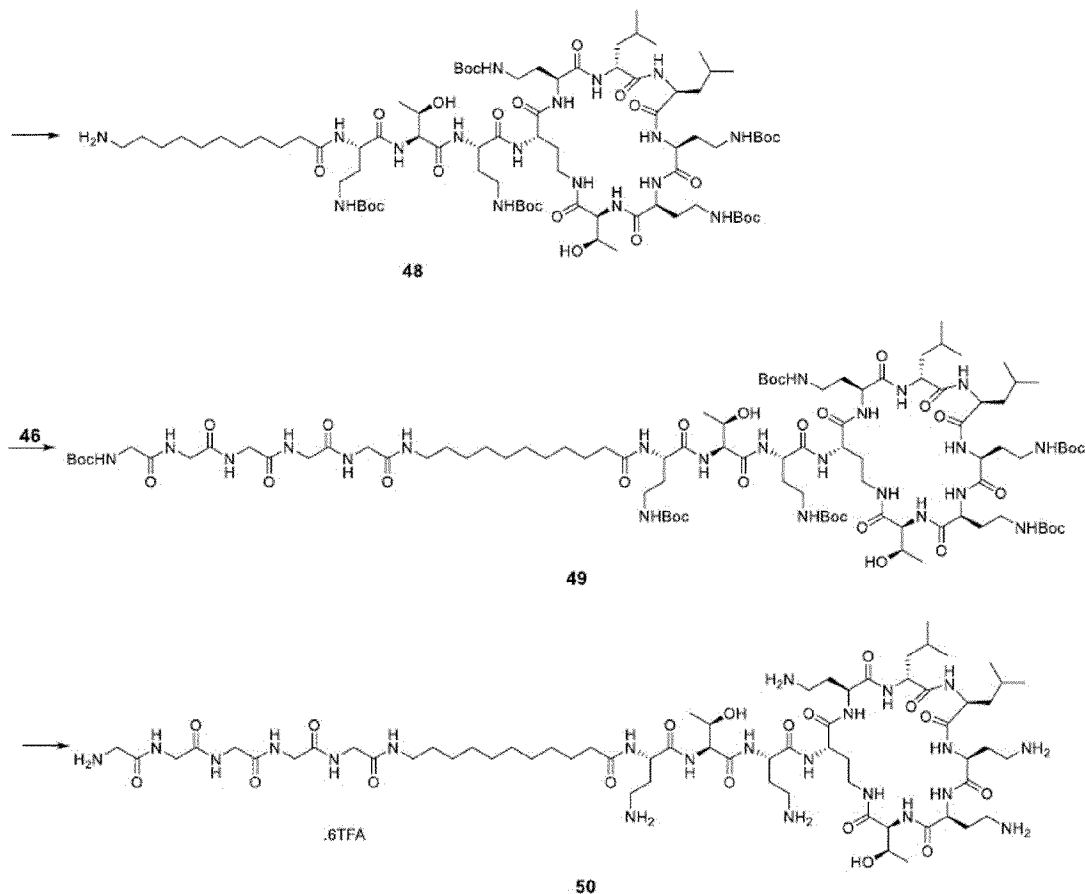
[431]

[432] <실시예 11> 화합물 50의 제조

[433]



[434]

[435] **화합물 44의 제조**

[436] 11-아미노운데카노익 애시드 (500 mg, 2.48 mmol)를 증류수 (5 mL)와 1,4-다이옥세인 (5 mL)에 녹인 후, 0 °C, 질소 대기 하에서 탄산 칼슘 (1.0 g, 7.44 mmol)과 벤질클로로포르메이트 (465 mg, 2.73 mmol)을 순차적으로 첨가한 후 7 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 증류수 (20 mL)로 희석하고 에틸 아세테이트 (20 mL x 2)로 추출하였다. 모인 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 44 (610 mg, 73%)를 수득하였다. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.35-7.27 (m, 5H), 5.05 (s, 2H), 3.30 (s, 4H), 3.11-3.05 (m, 2H), 2.18-2.11 (m, 2H), 1.62-1.55 (m, 2H), 1.47 (s, 2H), 1.30 (m, 8H). EI-MS m/z : [M+H]⁺ 336.44.

[437]

[438] **화합물 45의 제조**

[439] 위에서 제조한 화합물 44 (100 mg, 0.29 mmol)를 다이메틸폼아마이드 (3 mL)로 묶힌 후 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이아이드 (68 mg, 0.36 mmol)와 N-하이드록시석신이마이드 (41 mg, 0.36 mmol)를 첨가하고 13 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 묶힌 뒤 증류수 (20 mL)으로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하여 화합물 45 (110 mg, 86%)를 수득하였다. EI-MS m/z :

[M+H]⁺ 431.49

[440]

[441] 화합물 46의 제조

[442] 2,2-다이메틸-4,7,10,13,16-펜타옥소-3-옥사-5,8,11,14,17-펜타아자노나데칸-19-오익 애시드 (20 mg, 0.05 mmol)를 다이메틸폼아마이드 (3 mL)로 묽힌 후 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카보다이이미드 (11.2 mg, 0.06 mmol)와 *N*-하이드록시석신이마이드 (6.8 mg, 0.06 mmol)를 첨가하고 15 시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 (20 mL)로 묽힌 뒤 증류수 (20 mL)로 세척하였다. 세척한 유기층을 무수 황산 나트륨으로 건조한 후 여과 및 감압 농축하여 화합물 46 (24 mg, 97%)을 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 501.46

[443]

[444] 화합물 47의 제조

[445] 화합물 45 (21 mg, 0.05 mmol)와 화합물 18 (75 mg, 0.05 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (3 mL)으로 묽힌 후, 0 °C 질소 대기 하에서 *N,N*-다이아이소프로필에틸아민 (8.5 uL, 0.05 mmol) 첨가하였다. 상온으로 온도를 서서히 올리며 13 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 47을 흰색의 고체 (45 mg)로 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 1848.24

[446]

[447] 화합물 48의 제조

[448] 화합물 47 (45 mg, 0.02 mmol)을 메탄올 (4 mL)에 녹인 후 팔라듐/차콜 (20 % w/w, 7 mg)을 첨가하였다. 반응 용액을 상온, 수소 대기 하에서 3 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 셀라이트로 여과한 후 농축하여 화합물 48 (38 mg, quant.)을 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 1714.11

[449]

[450] 화합물 49의 제조

[451] 화합물 48 (38 mg, 0.02 mmol)과 화합물 46 (11 mg, 0.02 mmol)을 다이메틸폼아마이드 (3 mL)으로 묽힌 후, 0 °C 질소 대기 하에서 *N,N*-다이아이소프로필에틸아민 (3.8 uL, 0.02 mmol)을 첨가하였다. 반응 용액을 상온으로 서서히 올리며 13 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결 건조하여 화합물 49를 흰색의 고체 (20 mg)로 수득하였다. EI-MS *m/z* : [M+H]⁺ 2099.48

[452]

[453] 화합물 50의 제조

[454] 위에서 제조한 화합물 49 (25 mg, 0.01 mmol)를 다이클로로메테인 (3 mL)으로 묽힌 후, 트라이플루오로아세트산 (1 mL)을 0 °C, 질소 대기 하에서 첨가하고 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축한 후 HPLC로 정제하고 동결

건조하여 화합물 50을 흰색의 고체 (10.1 mg)로 수득하였다. EI-MS m/z : [M+Na]⁺ 1498.78

[455]

[456]

[457] <실시예 12> 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체의 제조.

[458] 상기 구조식 8, 14, 20, 22, 25, 38, 43을 갖는 화합물을 포함하는 하기 표 2의 콜리스틴 유도체와 하기 표 1의 엔도라이신 또는 이의 유도체(S24-CaaX, PA145-CaaX, CHT1-CaaX, CHT2-CaaX, CHT3-CaaX, LZM2-CaaX, LZM3-CaaX, cpA-PA145-CaaX, GN425-CaaX, GN486-CaaX, ABD-PA145-CaaX, ABD-PA145-CaaX (without thrombin cleavage site), ABD-GN425chimera-CaaX, ABD-A0A078-CaaX, PA145-ABD-CaaX, PA145-ABD(Y22S)-CaaX, PA145-ABD(T31A)-CaaX, ABD-PA145-C-CaaX, G7LPETGGG)를 pH 6.5~7.5의 조건에서 반응시켜 표 4에 명시된 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체(PDC1, PDC2, PDC3, PDC4, PDC5, PDC6, PDC7, PDC8, PDC9, PDC10, PDC11, PDC12, PDC14, PDC15, PDC16, PDC17, PDC18, PDC19, PDC20, PDC21, PDC22, PDC23, PDC24, PDC25, PDC26, PDC27, PDC28, PDC29, PDC30, PDC32)를 수득하였다:

[459] 구체적으로, 화합물은 10 mM 농도로 물에 녹여 제조하여 사용하였다. 20 mM 인산 나트륨 pH 6.5 완충용액 90.42 μ L와 화합물 10 mM 용액 11.1 μ L, 10 mM 트리스(2-클로로 에틸) 포스페이트 (TCEP) 용액 2.22 μ L, 82.7 μ M 엔도라이신 스타크 용액 268.48 μ L를 각각 혼합한 반응액 (최종 농도는 화합물 300 μ M, TCEP 60 μ M, Endolysin 60 μ M)을 제조하였다. 상기 반응액은 30 °C 온도에서 600 rpm으로 진탕교반기에서 2시간 동안 반응을 개시하였다. 물질에서 반응하지 않고 남은 화합물을 제거하기 위하여, 분자량 차단도(molecular weight cutoff, MWCO) 3.5 kDa 투석용 튜브에 반응액을 넣어 밀봉하고 20 mM 인산 나트륨 pH 6.5 완충용액 200 mL에 넣어 4 °C 온도에서 2시간씩 2번 투석을 진행하였다. 투석이 완료된 시료는 HPLC 분석을 통해 순도를 확인하였다.

[460] PDC13의 경우 두 단계를 거쳐 제조되었으며, LCB14-0606은 대한민국 공개특허 제10-2014-0035393호에 기재된 방법으로 제조하였다. 프레닐레이션된 엔도라이신 PA145-CaaX-PR은 반응 혼합물을 제조하여 30°C에서 16시간 반응하여 제작하였다. 반응혼합물은 24 μ M PA145-CaaX, 200 nM FTase (Calbiochem #344145)와 0.144 mM LCB14-0606(in house, US2012/0308584)을 포함하는 완충용액 (50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 5 mM MgCl₂, 10 μ M ZnCl₂, 0.144 mM DTT)으로 구성하였다. 반응 종료 후 프레닐레이션된 엔도라이신은 분자량 차단도(molecular weight cutoff, MWCO) 3.5 kDa 투석용 튜브에 반응액을 넣어 밀봉하고 20 mM 인산 나트륨 pH 6.5 완충용액 200 mL에 넣어 4 °C 온도에서 2시간씩 2번 투석을 진행하여 제염시켰다. 프레닐레이션된 엔도라이신(PA145-CaaX-PR)과 링커-콜리스틴(화합물 33)간의 옥심본드 생성 반응 혼합물은 100 mM Na-아세테이트 완충용액 pH 5.2, 20 μ M 프레닐레이션된

엔도라이신, 100 μ M 링커-약물(in house, 실시예 화합물 33), 900 mM m-페닐렌디아민(m-phenylenediamine)을 섞어 제조하였으며 30°C에서 600 rpm으로 교반하였다. 24시간 반응 후에 분자량 차단도(molecular weight cutoff, MWCO) 3.5 kDa 투석용 튜브에 반응액을 넣어 밀봉하고 20 mM 인산 나트륨 pH 6.5 완충용액 200 mL에 넣어 4°C 온도에서 2시간씩 2번 투석을 진행하여 과량의 저분자 화합물을 제거하였다.

- [461] PDC31는 30 μ M 엔도라이신(ABD-PA145 G7LPETGGG) 스탁 용액 145.6 μ L와 2.5 mM의 화합물 50 용액 8.7 μ L, 37.4 μ M 솔테이즈 A(Sortase A, 엘피스바이오테크) 용액 58.7 μ L, 125 mM 헤페스 (HPEPS) 완충 용액 (50 mM HEPES, 750 mM NaCl, 25 mM CaCl_2 , pH 8.0) 174 μ L, 멸균증류수 483 μ L를 각각 혼합한 반응액 (최종 농도는 화합물 25 μ M, 솔테이즈 A 2.5 μ M, 엔도라이신 5 μ M)을 제조하였다. 상기 반응액은 실온에서 600 rpm으로 진탕교반기에서 2시간 동안 반응을 개시하였다. 물질에서 반응하지 않고 남은 화합물을 제거하기 위하여, 분자량 차단도(molecular weight cutoff, MWCO) 3.5 kDa 투석용 튜브에 반응액을 넣어 밀봉하고 20 mM 인산 나트륨 pH 7.5 완충용액 200 mL에 넣어 4°C 온도에서 2시간씩 2번 투석을 진행하였다. 투석이 완료된 시료는 HPLC 분석을 통해 순도를 확인하였다.

[462]

[463] [표1]

사용한 엔도라이신의 목록

서열번호	엔도라이신	아미노산 서열
서열번호 1	-	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGLSLIK SFEGRLRLQAYQDSVGVWTIGYGATRGVKAGM KISKEQAERMMLLNDVQRFEPEVQRLITAPLSQN QWDALMSFTYNLGAANLESSTLLKKLNAGDYI GAADQFLVWNKGRVDGKLVVIKGLANRRAKE RKQFIGE
서열번호 2	S24-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGLSLIK SFEGRLRLQAYQDSVGVWTIGYGATRGVKAGM KISKEQAERMMLLNDVQRFEPEVQRLITAPLSQN QWDALMSFTYNLGAANLESSTLLKKLNAGDYI GAADQFLVWNKGRVDGKLVVIKGLANRRAKE RKQFIGEGGGGGGGCVIM
서열번호 3	PA145-CaaX	GSHHMRTSQRGIDLIKSFEGRLRLSAYQDSVGVW TIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFE EMDKLVKVPLNQNWALMSFVYNLGAANLA SSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWVNAGGKRLE GLVKRRAAERALEPLSGGGGGGGCVIM
서열번호 4	PA145-CaaX- PR	GSHHMRTSQRGIDLIKSFEGRLRLSAYQDSVGVW TIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFE EMDKLVKVPLNQNWALMSFVYNLGAANLA SSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWVNAGGKRLE GLVKRRAAERALEPLSGGGGGGGCVIM
서열번호 5	GN486-CaaX	MGSSHHHHHHGGPRRPRRPGRRAPVRTSQRGID LIKSFEGRLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRY MTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDRLAKVPLNQ NQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGD YQGAADQFPRWVNAGGKRDLGLVKRRAAERA LFLEPLSGGGGGGGCVIM
서열번호 6	CHT1-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMKMTKGGFAIL RDSLGRRLTESQVSEINFIVDAMDKDKSISYSQGA YVLATTWWETAKTMLPISEYGKKGKGRPYGTW YKNSKGQLYTFKDGSKNSVYLFDEFSHLYYGR GYVQLTWQSNEYKASKKLGHDFLSNPDDVMK

		KEYAIQILLTGMKEGWFTGKKLSDYIYQSKKDY VSARRIINGSDKAQKIAEISLIFERALRSLGGGGG GGCVIM
서열번호 7	CHT2-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMKLTGKGFIL RAELFKSFTESEQVEALNFLVSKCEEAGLTYPETA YALATVYHETGVVKGKGLVRTMLPVEEQGSDK YLSKYDTGKLATALGNTQALDGDGQKYKGRG YVQLTGTRNYALFTRLLKVDLINKPELAMDP EVAAKIMTYGMLNGSFTGVGFRRKRPVSKYNKAQ YIAARNIINGSDRANDIAGYAMIFERALRSYGGG GGGGCVIM
서열번호 8	CHT3-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMILTKDGF SIIRNELFKGKLDQVQVDSINFIVEKATEYGLTYPEA AYLLATYHETGLPNGYRTMRPIKEAGSDSYLR SKKYYPYIGYGYVQLTWEENYGRIGKLIGIDL VKNPEKALEPLIAIQIAIKGMLNGWFTGLGFRRKR PVS KYNKQQYVAARNIINGKDKAELIAKYAIIFE RALRSLGGGGGGGGCVIM
서열번호 9	LZM2-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMKIEQYLDDLIK RVGGYVNNPVDRGGATKYGITEAVARENGYK GNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNTLS SAVAEELLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQ GKAGYADLKVDGVYGSNTLGALKTYLAKRGK EGEKVLVRVLNIMQGGQRYIEICERNKSQEQFFY GWIANRIGGGGGGGGGCVIM
서열번호 10	LZM3-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMPPSGGFLHLK ETEMNIEQYLDELIKREGGYVNNPADRGGETKY GITEAVARTNGFKGNMKDLPLDVAKAIYKKQY WTDPRFDQVNVISLVAEELLDTGVNCGTGFAK PLLQRALNLLNNQGKAGWPDLTVDGIYGPATL NALKTYLAKRGKDGEKVLVRVLNIMQGGQRYIEI CERNPSQEQFFYGWIANRVVIGGGGGGGGGCVIM
서열번호 11	cpA-PA145-C aaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMGGGLKKLGKK LEGAGKRVFNAAEKALPVVAGAKALRKGGGG SGGGGSGGGGSRTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQD SVGVTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSN

		DIQRFEPMDKLVKVPLNQNW DALMSFVYNL GAANLASSTLLKLLNKG DYQGAADQFPRWVN AGGKRLEGLVKRRAAER ALFLEPLSGGGGGGG CVIM
서열번호 12	GN425-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHMTLRLDDVGLDV LHLQKRLN ELGANPRLLPDGQFGEVTER AVR AFQQRAG LVVDGVAGPK TMAALSGHST SRL LGQRDLQRAADRLGVPL ASVMALNAVE SRG EGFAANG RPYLIFERHV MHERLQVNGLSEAE ADALAA RHPGLVSRRPGGYVGD TAEH QRLA NARLLH DTAALASWGLFQVMGYHW QAL GYDTTQDFTERMARHEA EHLEAFVRFI EADP ALHKALKGRKWA EFAR RYNGPAYARNLYDV KLARAF EQFSDALQAAAGGGGGGGGCVIM
서열번호 13	ABD-PA145- CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMLKEAKEKAIE ELKKAGITS DYYFDLINKAKTVEGVNALKDEIL KARTSQRGIDLIK SFEGRLSAYQDSVGVWTIG YGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEP MDKLVKVPLNQNW DALMSFVYNLGAANLASS TLLKLLNKG DYQGAADQFPRWVNAGGKRLEG LVKRRRAER ALFLEPLSGGGGGGGGCVIM
서열번호 14	ABD-PA145- CaaX (Without thrombin cleavage site)	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITS DYYFDLI NKAKTVEGVNALKDEILKAMRTSQRGIDLIKSF EGLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTIT VEQAERMLSNDIQRFEPMDKLVKVPLNQNW DALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKG DYQGA ADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAER ALFLEP LSGGGGGGGGGCVIM
서열번호 15	ABD-GN425c himera-CaaX	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITS DYYFDLI NKAKTVEGVNALKDEILKAMTLRLDDVGLDVL HLQKRLNELGANPRLLPDGQFGEVTERAVRAF QQRAGLVVDGVAGPKTQAALKGFDTSRYLK RK DLQQAANRLGVPLASVMAVNQVESKGEGFAA NGRPVILFERHVMHERLQANGFSEAEADALAV AVPAVVNRTPGGYLGGTAENQRLAAARMVHE ESALESASWGLFQIMGYHWQRLGYQDVQHFAD TMALSEAAQLDAFVSFIEADPALHKALKARNW

		KQFARIYNGPNYAKNLYDVKLARAYAQFAGEQ EKAAGGGGGGGGCVIM
서열번호 16	ABD-A0A078 -CaaX	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLI NKAKTVEGVNALKDEILKAMTQLLSNGSRGLA VRNLQAALRLDGYAIAVDGDFGDETEAVLRAY QRKVGLVDDGVAGPKTQAALKGFDTSTRYLKRK DLQQAANRLGVPLASVMAVNQVESKGEGFAA NGRPVILFERHVMHERLQANGFSEAEADALAV AVPAVVNRTPGGYLGGTAENQRLAAARMVHE ESALESASWGLFQIMGYHWQRLGYQDVQHFAD TMALSEAAQLDAFVSFIEADPALHKALKARNW KQFARIYNGPNYAKNLYDVKLARAYAQFAGEQ EKAAGGGGGGGGCVIM
서열번호 17	PA145-ABD- CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGIDLIK SFEGRLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTI TVEQAERMLSNDIQRFEPEMDKLVKVPLNQNQ WDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQ GAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFL EPLSLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAK TVEGVNALKDEILKAGGGGGGGGCVIM
서열번호 18	PA145-ABD(Y22S)-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGIDLIK SFEGRLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTI TVEQAERMLSNDIQRFEPEMDKLVKVPLNQNQ WDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQ GAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFL EPLSLKEAKEKAIEELKKAGITSDYSFDLINKAK TVEGVNALKDEILKAGGGGGGGGCVIM
서열번호 19	PA145-ABD(T31A)-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMRTSQRGIDLIK SFEGRLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTI TVEQAERMLSNDIQRFEPEMDKLVKVPLNQNQ WDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQ GAADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFL EPLSLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLINKAK AVEGVNALKDEILKAGGGGGGGGCVIM
서열번호 20	ABD-PA145- C-CaaX	MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHHMLKEAKEKAIE ELKKAGITSDYYFDLINKAKTVEGVNALKDEIL

		KARTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVGVWTIG YGTTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPEM DKLVKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASS TLLKLLNKGDYQGAADQFPRWVNAGGKRLEG LVKRRAAERALFLEPLSCGGGGGGGGCVIM
서열번호 21	ABD-PA145 G7LPETGGG	MHHHHHHLKEAKEKAIEELKKAGITSDYYFDLI NKAKTVEGVNALKDEILKAMRTSQRGIDLIKSF EGLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTTRGVTRYMTIT VEQAERMLSNDIQRFEPEMDKLVKVPLNQNQW DALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQGA ADQFPRWVNAGGKRLEGLVKRRAAERALFLEP LSGGGGGGGLPETGGG

[464]

[465] [표2]

합성한 콜리스틴 유도체의 목록

콜리스틴 유도체	분자량 (Da)	특징
화합물 8	1192.47	Maleimide-C11-Colistin nonapeptide
화합물 14	1212.42	Maleimide-PEG4-Colistin nonapeptide
화합물 20	1292.59	Maleimide-C11-Dab-Colistin nonapeptide
화합물 22	1066.23	Maleimide-C2-Colistin nonapeptide
화합물 25	1122.34	Maleimide-C6-Colistin nonapeptide
화합물 33	1313.66	ONH ₂ -Dimethyl-Gly-C11-Dab-Colistin nonapeptide
화합물 38	1236.49	Maleimide-C7-Dab-Colistin nonapeptide
화합물 43	1264.54	Maleimide-C9-Dab-Colistin nonapeptide
화합물 50	1497.81	GGGGG-C11-Dab-Colistin nonapeptide

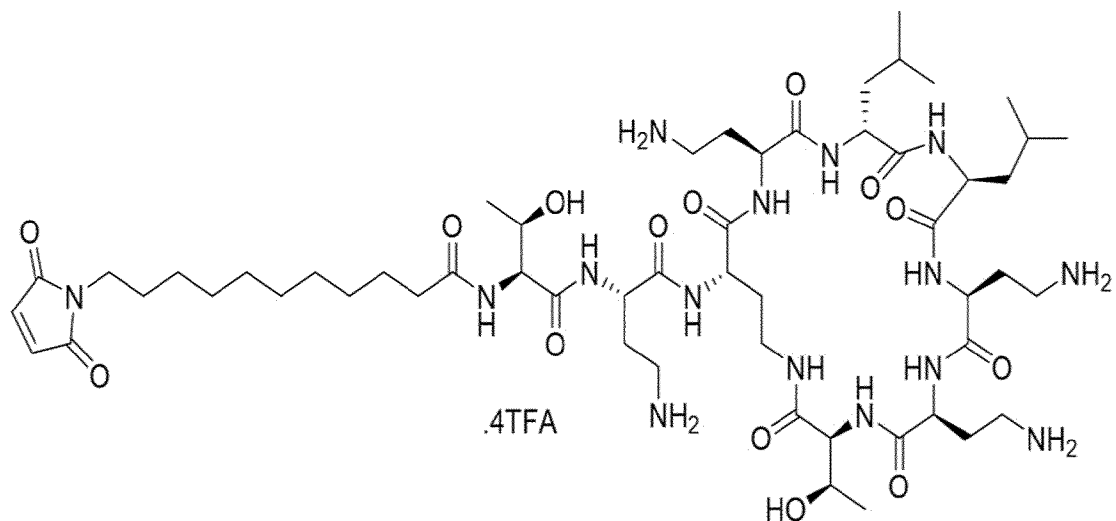
[466]

[467] [표 3]

[468] 합성한 콜리스틴 유도체 구조

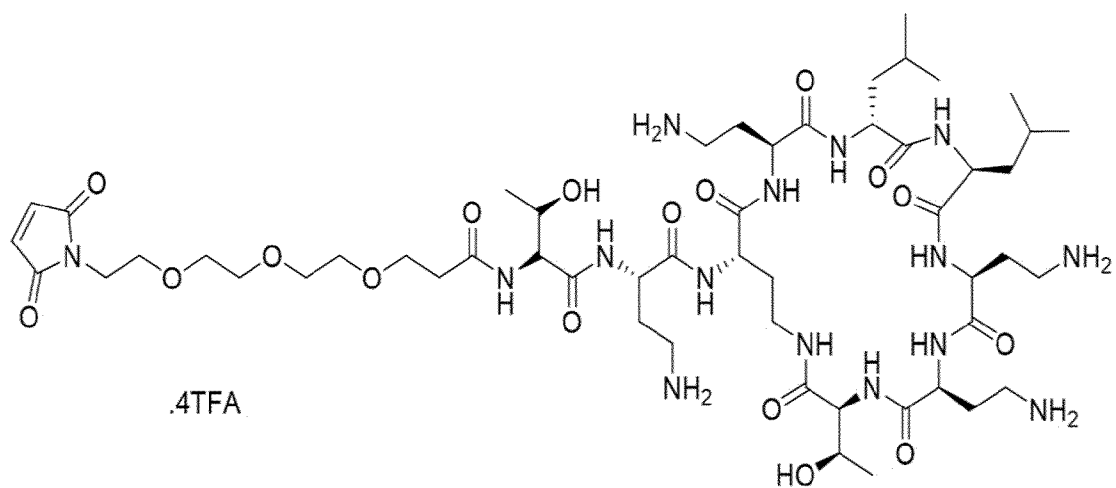
[469] 화합물 8:

[470]



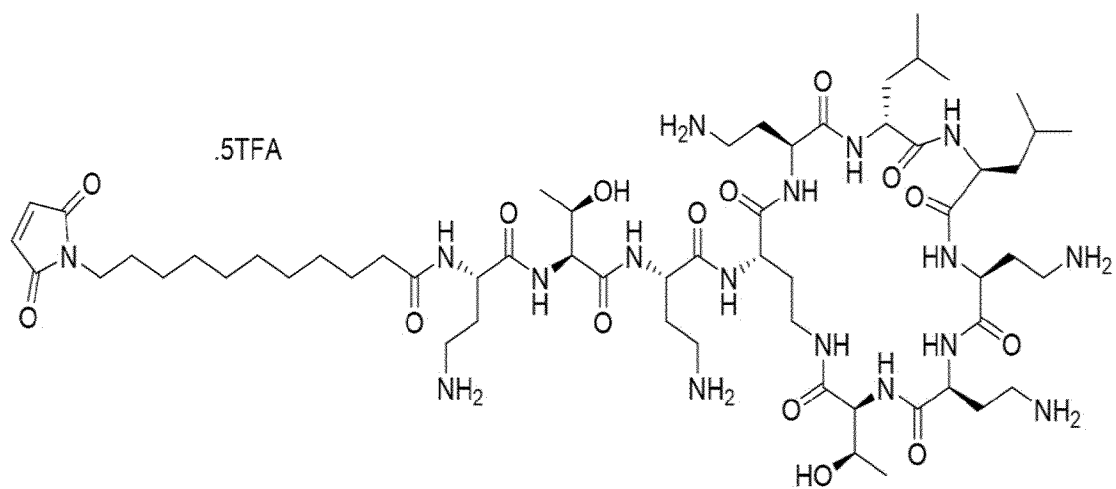
[471] 화합물 14:

[472]



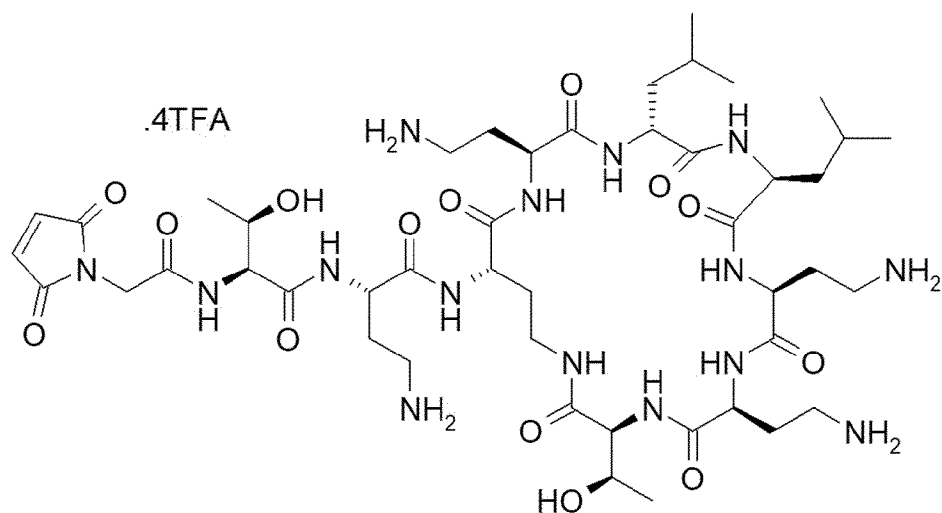
[473] 화합물 20:

[474]



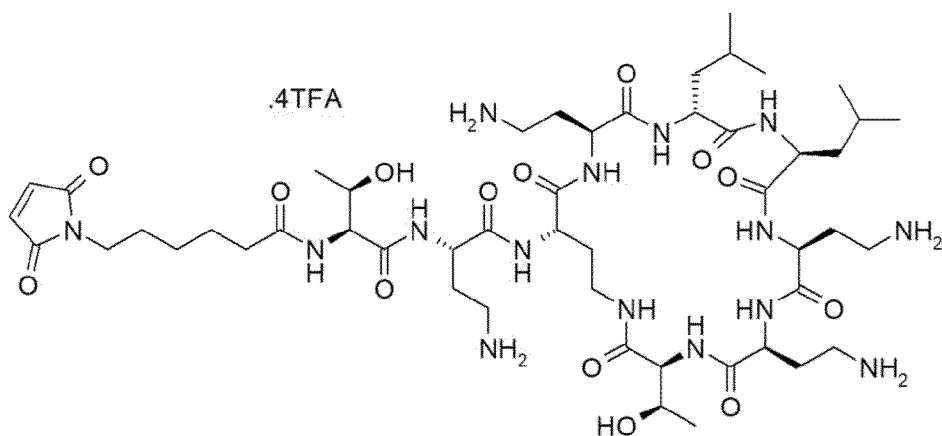
[475] 화합물 22:

[476]



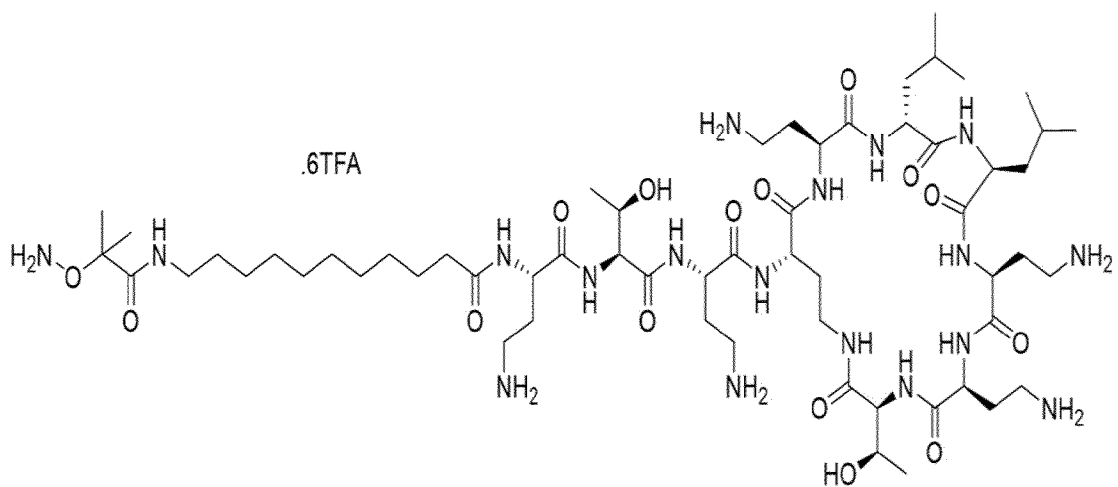
[477] 화합물 25:

[478]



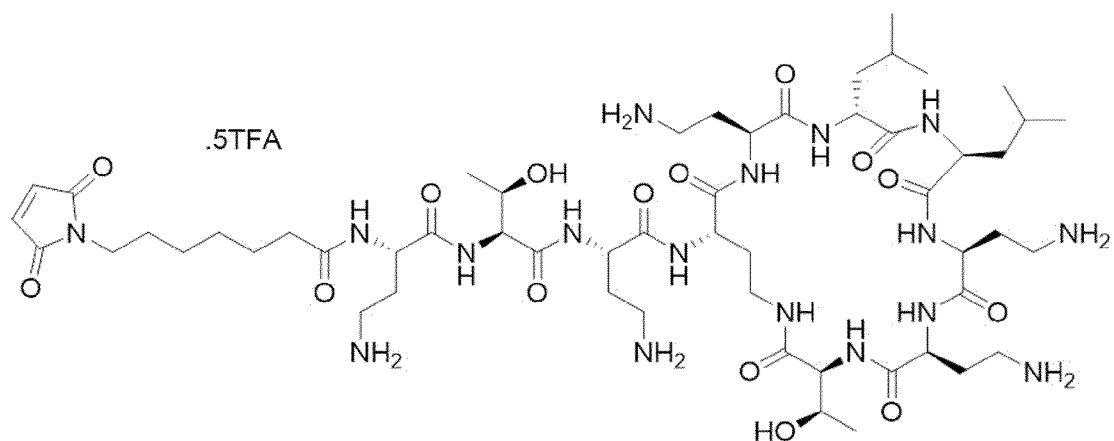
[479] 화합물 33:

[480]



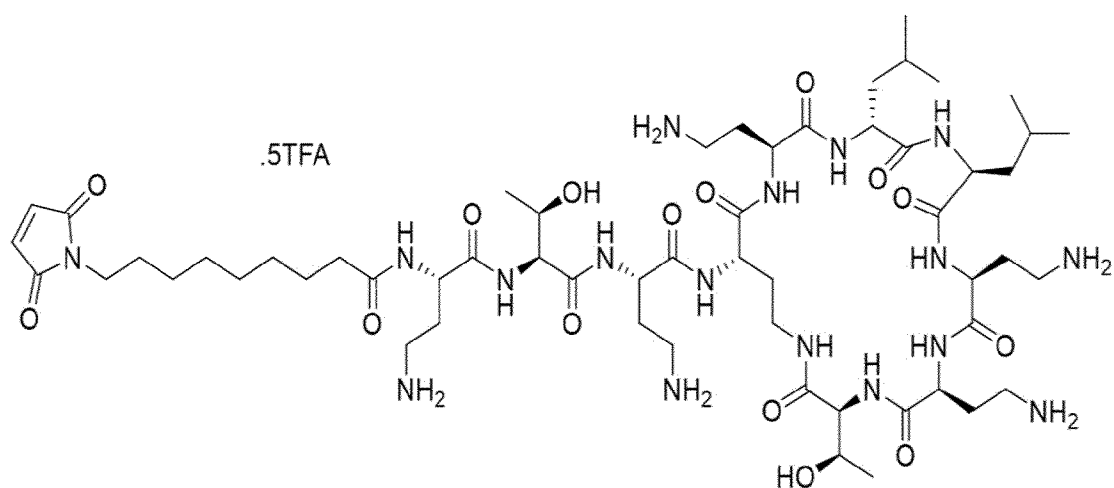
[481] 화합물 38:

[482]



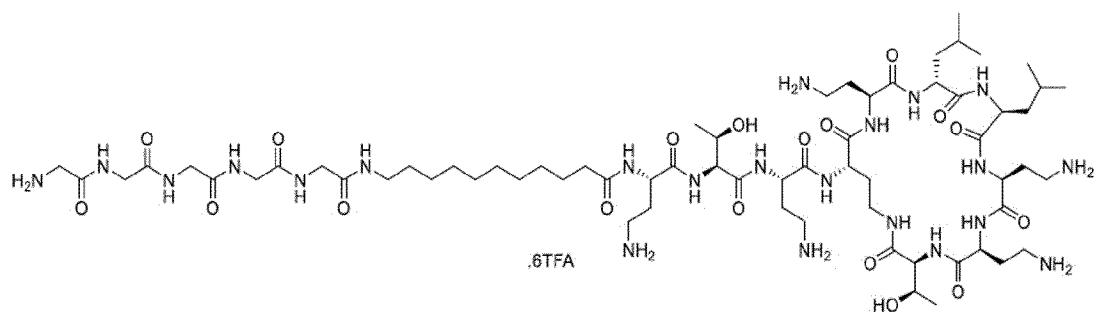
[483] 화합물 43:

[484]



[485] 화합물 50:

[486]



[487]

[488] [표4]

콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체 제조목록

접합체	엔도라이신	콜리스틴 유도체
PDC1	S24-CaaX	화합물 8
PDC2	S24-CaaX	화합물 15
PDC3	S24-CaaX	화합물 16
PDC4	S24-CaaX	화합물 38
PDC5	S24-CaaX	화합물 43
PDC6	S24-CaaX	화합물 22
PDC7	S24-CaaX	화합물 25
PDC8	PA145-CaaX	화합물 22
PDC9	PA145-CaaX	화합물 25
PDC10	PA145-CaaX	화합물 8
PDC11	PA145-CaaX	화합물 14
PDC12	PA145-CaaX	화합물 20
PDC13	PA145-CaaX-PR	화합물 33
PDC14	GN486-CaaX	화합물 8
PDC15	GN486-CaaX	화합물 14
PDC16	GN486-CaaX	화합물 20
PDC17	CHT1-CaaX	화합물 20
PDC18	CHT2-CaaX	화합물 20
PDC19	CHT3-CaaX	화합물 20
PDC20	LZM2-CaaX	화합물 20
PDC21	LZM3-CaaX	화합물 20
PDC22	cpA-PA145-CaaX	화합물 20
PDC23	GN425-CaaX	화합물 20
PDC24	ABD-PA145-CaaX	화합물 20
PDC25	ABD-PA145-CaaX((Without thrombin cleavage site))	화합물 20
PDC26	ABD-GN425chimera-CaaX	화합물 20
PDC27	ABD-A0A078-CaaX	화합물 20

PDC28	PA145-ABD-CaaX	화합물 20
PDC29	PA145-ABD(Y22S)-CaaX	화합물 20
PDC30	PA145-ABD(T31A)-CaaX	화합물 20
PDC31	ABD-PA145 G7LPETGGG	화합물 50
PDC32	ABD-PA145-C-CaaX	화합물 20

[489]

[490] <실험예 1> 최소 억제 농도 (MIC)

[491] 박테리오파지 유래 엔도리신은 그람음성균의 외막을 투과하지 못해 항균활성을 보기 어렵다. 본 발명자들은 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체의 치료학적 가능성을 확인하기 위해, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 표준시험법(2018, M07 11th edition)의 액체배지 미량희석법 (micro broth dilution) 방법을 약간 변형하여 최소 억제 농도 (Minimum inhibitory concentration, MIC)를 확인하였다.

[492] 본 실험에서는 물리힌튼 배지 대신 CAA 배지 (카사미노산 5 g/L, 인산수소이칼륨 5.2 mM, 황산마그네슘 1 mM)을 사용하여 최소 억제 농도(MIC)를 확인하였다.

[493] 콜리스틴 유도체 화합물 22, 화합물25, 화합물8는 최적의 스페이서 길이를 찾기 위해 제작하였으며, C11 정도의 길이를 가질 때 가장 활성이 좋은 것을 확인하였다. 콜리스틴 유도체 화합물 14는 화합물 8와 비슷한 길이를 가지지만 스페이서를 알킬 대신 PEG6로 변경했을 때의 영향을 알고자 제작하였으나, *K. pneumoniae*와 *A. baumannii*에서 활성이 감소하는 결과를 보였다. 콜리스틴 유도체 화합물 20, 화합물 38, 화합물 43은 디아미노부틸산을 추가한 상태로 최적의 스페이서 길이를 알고자 제작하였으며, 그 중에서 화합물 20의 활성이 가장 우수하였다. 콜리스틴 유도체 화합물 33과 화합물 50은 말레이미드-티올 결합이 아닌, 옥심 결합 및 술포아제 A(Sortase A)를 이용한 결합을 알고자 제작하였다. 화합물 20 대비 화합물 33은 2배에서 4배 정도의 활성이 우수하였으며, 화합물 50은 2배 이내의 활성 차이를 나타내었다.

[494] 엔도라이신을 단독 처리하였을 때에는 1.7 μ M에서도 균 성장 억제를 확인할 수 없었으나, 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체는 화합물 22을 사용한 PDC6과 PDC8의 경우를 제외하고는 모두 1 μ M 이하의 농도에서 항균활성을 나타내어 콜리스틴 유도체에 의한 항균 활성이 증가하는 것을 알 수 있다. 콜리스틴 유도체에 따른 활성 개선효과를 좀 더 자세히 살펴보면, 하기 표 4에 나타난 바와 같이, 화합물 25을 사용한 접합체(PDC7, PDC9)는 콜리스틴 유도체 대비 최소 4배에서 최대 150배 이상으로 항균활성이 증진되었다. 엔도라이신 대비 접합체의 활성은 최소 4배에서 최대 34배 정도의 항균활성이 증진되어, 접합체가 콜리스틴 유도체 또는 엔도라이신 대비 활성이 우수한 것을 확인할 수

있다. 화합물 8 및 화합물 14를 사용한 접합체(PDC1, PDC10, PDC14 및 PDC2, PDC11, PDC15)는 콜리스틴 유도체 대비 최소 4배에서 최대 8배 정도의 항균활성이 증진되었고, 엔도라이신 대비 최소 2배에서 최대 8배의 활성이 증진되었다. 화합물 20을 사용한 접합체(PDC3, PDC12, PDC16, PDC17, PDC18, PDC19, PDC20, PDC21, PDC22, PDC23, PDC24, PDC25, PDC26, PDC27, PDC28, PDC29, PDC30, PDC32)는 화합물 20 대비 적게는 1배(PDC3의 경우)에서 많게는 106배 (PDC24의 경우)의 활성이 증가하였고, 엔도라이신 대비 접합체의 활성은 최소 4배에서 최대 64배의 활성이 증가하였다. 화합물 33을 사용한 접합체(PDC13)는 화합물 대비 항균활성이 약 2배 이내로 증가하거나 감소하는 수준의 미미한 차이를 보여 큰 개선효과는 확인할 수 없었지만, 프레닐레이션된 엔도라이신(PA145-CaaX-PR)와 비교하면 최소 4배에서 최대 8배의 항균활성이 증진되어 콜리스틴 유도체 도입에 의한 엔도라이신의 항균 활성이 증가하는 것을 확인하였다. 화합물 38 및 화합물 43를 사용한 접합체(PDC4, PDC5)는 화합물 대비 각각 최소 67 배에서 최대 536 배의 활성 증가 및 최소 33 배에서 최대 536배의 활성 증가를 나타냈고, 엔도라이신 대비 최소 34배에서 최대 138배 또는 최소 34배에서 최대 69배의 활성 증가를 나타냈다. 화합물 50을 사용한 접합체 (PDC31)는 화합물 대비 8배의 활성이 증가하였고, 엔도라이신 대비 17 배 활성이 증가하였다. 따라서 화합물 22를 사용한 경우를 제외한 나머지 접합체는 접합체 제조에 사용된 콜리스틴 유도체 및 엔도라이신 보다 높은 항균활성을 나타내어 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체가 각 구성물질을 단독으로 처리하는 것보다 뛰어난 항균활성을 갖는 것을 확인하였다.

[495] [표5]

콜리스틴 유도체, 엔도라이신 및 접합체의 항균활성

접합체	엔도라이신	Linker-Dr ug	MIC (μ M)			
			<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
			ATCC 25922	ATCC 700603	PAO1	ATCC 19606
		화합물 8	3.35	6.71	3.35	6.71
		화합물 14	3.30	13.20	3.30	26.39
		화합물 20	0.77	3.09	1.55	1.55
		화합물 22	3.75	60.02	1.88	>60.02
		화합물 25	57.02	>57.02	3.56	>57.02
		화합물 33	0.38	0.76	0.38	0.76
		화합물 38	25.88	25.88	3.23	51.76
		화합물 43	25.31	12.65	6.33	25.31
		화합물 50	1.34	1.34	0.67	1.34
	S24-CaaX		>6.57	>6.57	>6.57	>6.57
PDC1	S24-CaaX	화합물 8	0.77	0.77	0.77	0.77
PDC2	S24-CaaX	화합물 14	0.77	0.77	0.39	0.77
PDC3	S24-CaaX	화합물 20	0.77	0.77	0.39	0.39
PDC4	S24-CaaX	화합물 38	0.05	0.10	0.05	0.19

PDC5	S24-CaaX	화합물 43	0.10	0.10	0.10	0.19
PDC6	S24-CaaX	화합물 22	>3.13	>3.13	>3.13	>3.13
PDC7	S24-CaaX	화합물 25	0.39	0.19	0.19	0.19
	PA145-Ca aX		>3.66	>3.66	>3.66	>3.66
PDC8	PA145-Ca aX	화합물 22	NT	NT	>1.72	NT
PDC9	PA145-Ca aX	화합물 25	NT	NT	0.86	NT
PDC10	PA145-Ca aX	화합물 8	NT	NT	0.86	NT
PDC11	PA145-Ca aX	화합물 14	NT	NT	0.86	NT
PDC12	PA145-Ca aX	화합물 20	0.11	0.11	0.11	0.11
PA145-Ca aX-PR	PA145-Ca aX	LCB14-06 06	>3.62	>3.62	>3.62	>3.62
PDC13	PA145-Ca aX-PR	화합물 33	0.42	0.42	0.84	0.42
	GN486-Ca aX		>3.25	>3.25	>3.25	>3.25
PDC14	GN486-Ca aX	화합물 8	NT	NT	0.38	0.77
PDC15	GN486-Ca aX	화합물 14	NT	NT	0.77	0.77
PDC16	GN486-Ca aX	화합물 20	0.38	0.10	0.19	0.38
	CHT1-Caa X		NT	NT	>2.43	>2.43
PDC17	CHT1-Caa X	화합물 20	NT	NT	0.14	0.14

	CHT2-Caa X		NT	NT	>2.49	>2.49
PDC18	CHT2-Caa X	화합물 20	NT	NT	0.15	0.07
	CHT3-Caa X		NT	NT	>2.63	>2.63
PDC19	CHT3-Caa X	화합물 20	NT	NT	0.08	0.08
	LZM2-Ca aX		NT	NT	>2.74	>2.74
PDC20	LZM2-Ca aX	화합물 20	NT	NT	0.04	0.08
	LZM3-Ca aX		NT	NT	>2.56	>2.56
PDC21	LZM3-Ca aX	화합물 20	NT	NT	0.15	0.30
	cpA-PA14 5-CaaX		NT	NT	1.33	0.33
PDC22	cpA-PA14 5-CaaX	화합물 20	NT	NT	0.08	0.08
	GN425-Ca aX		>1.94	>1.94	>1.94	>1.94
PDC23	GN425-Ca aX	화합물 20	0.12	0.03	0.03	0.23
	ABD-PA1 45-CaaX		>2.62	>2.62	>2.62	>2.62
PDC24	ABD-PA1 45-CaaX	화합물 20	0.04	0.08	0.08	0.08
	ABD-PA1 45-CaaX (Without thrombin cleavage site)		>2.78	>2.78	>2.78	>2.78

PDC25	ABD-PA1 45-CaaX (Without thrombin cleavage site)	화합물 20	0.33	0.33	0.16	0.16
	ABD-GN4 25chimera -CaaX		>1.75	>1.75	>1.75	>1.75
PDC26	ABD-GN4 25chimera -CaaX	화합물 20	0.21	0.42	0.11	0.21
	ABD-A0A 078-CaaX		>1.76	>1.76	>1.76	>1.76
PDC27	ABD-A0A 078-CaaX	화합물 20	0.11	0.42	0.11	0.21
	PA145-A BD-CaaX		>2.62	>2.62	>2.62	>2.62
PDC28	PA145-A BD-CaaX	화합물 20	0.16	0.16	0.31	0.16
	PA145-A BD(Y22S) -CaaX		0.66	0.66	1.32	0.66
PDC29	PA145-A BD(Y22S) -CaaX	화합물 20	0.08	0.16	0.31	0.16
	PA145-A BD(T31A) -CaaX		>2.63	>2.63	>2.63	>2.63
PDC30	PA145-A BD(T31A) -CaaX	화합물 20	0.08	0.16	0.31	0.16
	ABD-PA1 45 G7LPETG		>2.75	>2.75	>2.75	>2.75

	GG					
PDC31	ABD-PA1 45 G7LPETG GG	화합물 50	0.16	0.16	0.16	0.16
	ABD-PA1 45-C-Caa X		>2.61	>2.61	>2.61	>2.61
PDC32	ABD-PA1 45-C-Caa X	화합물 20 2개	0.07	0.07	0.07	0.30

[496]

[497] <실험예 2> 콜리스틴 유도체와 엔도라이신의 접합에 따른 그람 음성균 사멸능 상승 효과

[498] 그람음성균의 외막에 작용하는 기전을 갖는 콜리스틴은 외막 투과성이 낮은 엔도라이신의 투과성을 높여 균주 사멸능을 상승시킬 수 있다. 본 실시예에서는 콜리스틴의 유도체와 엔도라이신을 병용처리한 것과 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체의 시간별 균주 사멸능을 비교하였다.

[499] 구체적으로, CAA media에서 배양한 *P. aeruginosa* PAO1의 생균수를 최종 1.0×10^6 CFU/mL의 조건에서, 최종 $0.5 \mu\text{M}$ 의 콜리스틴 유도체, 엔도라이신, 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체를 처리하고, 처리 직후부터 1, 2, 4, 6, 24시간 지난 시점마다 $10 \mu\text{L}$ 의 균액을 물러 힌튼 한천 플레이트에 도말하였다.

[500] 콜리스틴 유도체와 엔도라이신을 병용처리하는 실험군은 두 물질을 모두 $0.5 \mu\text{M}$ 의 농도로 1:1 물 비율로 처리하였다. 시간별로 균액을 도말한 한천 플레이트는 35°C 인큐베이터에 16시간 배양하고 콜로니를 측정하여 시간별 생균수를 확인하였다. 도 2 내지 4에서 보이는 것처럼 엔도라이신 단독 처리군은 균 성장 억제를 하지 못한 반면, 콜리스틴 유도체 단독, 콜리스틴 유도체와 엔도라이신 병용처리, 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체는 균 성장을 억제하는 것을 확인하였다. 특히 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체는 2시간 안에 검출 한계 (2 Log_{10}) 이하 수준으로 균을 사멸시켰으며, 물질 처리 후 24시간이 지난 시점에도 생균이 검출되지 않았다. 콜리스틴 유도체와 엔도라이신을 병용처리한 실험군이 물질 처리 후 6시간이 지난 시점에서 균 증식을 억제하지 못하는 것과 대비해 접합체가 더 뛰어난 균주 성장 억제능력을 갖고 있음을 보여준다.

[501]

[502] <실험예 3> 그람 음성균의 외막(Outer membrane) 투과성 확인

[503] 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체의 그람 음성균 투과성을 확인하기 위해 사이토스-그린 형광 측정을 수행하였다. 사이토스-그린은 지질막을 통과하지 못하는 DNA 염색시약으로, 그람 음성균의 외막에 손상이 생기면 지질막 내부로 들어와 세균의 DNA와 결합하여 형광을 나타나게 하는 시약이다. 따라서 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체를 처리하여 형광을 측정하면 그람 음성균 외막의 투과성을 확인할 수 있다. 본 실험은 *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 및 *P. aeruginosa* PAO1 균주를 CAA media에서 OD600=1.0까지 배양하고 10 Mm 텍스트로스가 포함된 Hank's Balanced Salt Solution (HBSS)에 OD600=0.12이 되도록 희석하여 균액을 준비하였다. 균액 50 μ L와 8 μ M의 사이토스-그린 25 μ L, 8 μ M의 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체 용액 또는 콜리스틴 용액 25 μ L을 혼합하고 37 °C에서 80분 동안 5분마다 형광(Envision 2104 Multilabel Reader, Ex 485 nm, Em 535 nm)을 측정하였다. 음성대조군 (NC)은 항생물질 대신 버퍼를 추가하여 진행하였다. 도 5 및 6에서 보이는 것 처럼 엔도라이신 단독(S24-CaaX) 처리군은 형광이 증가하지 않는 반면, 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체 3 종 (PDC 1, PDC2, PDC 3)은 형광이 증가하였다. 이를 통해 콜리스틴 유도체 도입을 통해 그람 음성균 외막 투과성이 없는 엔도라이신이 외막 투과성을 획득한 것을 확인하였다. 또한 콜리스틴 유도체-엔도라이신 접합체의 형광이 양성 대조군 콜리스틴을 동일 농도로 처리한 결과보다 높아 접합체의 그람 음성균 외막 투과성이 뛰어난 것을 확인하였다.

[504]

산업상 이용가능성

[505] 본 발명은 신규 항생제 및 이의 용도에 관한 것으로, 세균 감염 치료 등으로 의학 분야에서 유용하게 이용될 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 하기 일반식 I로 표시되는 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:
 [일반식 I]
 $(D - \text{Linker})_a - (E)_n$
 상기 식에서,
 D는 폴리믹신(Polymyxin) 또는 이의 유도체이고;
 Linker는 링커이며;
 E는 엔도라이신(Endolysin) 또는 이의 변이체이며,
 a는 1 내지 5의 정수이며, n은 1 내지 3의 정수이고,
 여기에서 a 또는 n이 2 이상의 정수인 경우, D, Linker 및 E는 각각 서로 상이한 것일 수 있다.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
 상기 D는 세균의 외부막(outer membrane)을 표적으로 하거나; 또는 세균의 외부막을 투과하는 것을 특징으로 하는, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
 상기 a는 1 내지 3의 정수인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
 상기 D는 폴리믹신 B(Polymyxin B), 디아실콜리스틴(Deacylcolistin), 콜리스틴(Colistin), 폴리믹신 B 헵타펩티드(Polymyxin B heptapeptide), 폴리믹신 B 옥타펩티드(Polymyxin B octapeptide), 폴리믹신 B 노나펩티드(Polymyxin B nonapeptide), 폴리믹신 B 데카펩티드(Polymyxin B decapeptide), 콜리스틴 헵타펩티드(Colistin heptapeptide), 콜리스틴 옥타펩티드(Colistin octapeptide), 콜리스틴 노나펩티드(Colistin nonapeptide), 콜리스틴 데카펩티드(Colistin decapeptide) 및 이의 유도체로 구성된 군으로부터 선택된 1종인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
 상기 D는 콜리스틴 헵타펩티드, 콜리스틴 옥타펩티드, 콜리스틴 노나펩티드 또는 콜리스틴 데카펩티드인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
 상기 Linker는 절단성, 비절단성, 친수성 또는 소수성 링커인 것을 특징으로 하는, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 7] 제1항에 있어서,

상기 D - Linker는 하기 일반식 II으로 표현되는 것인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

[일반식 II]

D - (L1 - L3 - L4 - L2)

상기 식에서,

L1 및 L2는 각각 독립적으로 제1 유닛이고,

L3 및 L4는 각각 독립적으로 제2 유닛이고,

제1 유닛은 아민, 카르복실, 카르보닐 또는 티올기와 공유 결합을 형성하는 반응성 기이고,

제2 유닛은 폴리에틸렌 글리콜, 알킬 또는 아미노산을 포함하는 스페이서이다.

[청구항 8]

제7항에 있어서,

상기 L1 및 L2는 각각 독립적으로 제1 유닛이고,

L3 및 L4는 각각 독립적으로 제2 유닛이며,

제1 유닛은 수소, 아미노산, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}-\text{NH}_2$, $-\text{O}-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{CHO}$, $-\text{OH}$,

$-\text{SH}$, $-\text{N}_3$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{COR}_x$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{O}-\text{NH}_2$, $-(\text{C}(\text{CH}_2)_2)_z-\text{O}-\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{NH}-\text{NH}_2$,

C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알킬닐, C_{6-20} 사이클로알킬닐, C_{6-20}

헤테로사이클로알킬닐, C_{6-20} 아릴디설파이드, C_{5-20}

헤테로아릴디설파이드기, 할로아세틸기,

N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS), 및 말레이미드기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나이고,

여기에서, z는 0 내지 10의 정수이며, R_x 는 수소, C_{1-5} 알킬, C_{1-5} 알케닐 또는 C_{6-20} 헤테로사이클로알킬닐이고,

제2 유닛은 직접 결합, 아미노산, $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q-$, $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_q-$, $-(\text{CH}_2)_r$

$(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{Y}-$, $-((\text{CH}_2)_p\text{V})_q(\text{CH}_2)_r-$, $-\text{Y}((\text{CH}_2)_p\text{V})_q-$ 및 $-(\text{CH}_2)_r(\text{V}(\text{CH}_2)_p)_q\text{YCH}_2$

-로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나이며,

여기에서, r은 0 내지 10의 정수이고, p는 0 내지 10의 정수이며, q는 0 내지 20의 정수이고,

V 및 Y는 각각 독립적으로 직접 결합, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}_{21}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{22}-$,

$-\text{NR}_{23}\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}_{24}\text{SO}_2-$, 또는 $-\text{SO}_2\text{NR}_{25}-$ 이고,

R_{21} 내지 R_{25} 는 각각 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알킬- C_{6-20} 아릴 및 C_{1-6}

알킬- C_{3-20} 헤테로아릴로부터 선택되는 어느 하나이다.

[청구항 9]

제7항에 있어서,

상기 제1 유닛은 수소, 아미노산, $-\text{NH}_2$, $-\text{O}-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-(\text{CH}_2)_z$

$-\text{COR}_x$, $-(\text{CH}_2)_z-\text{O}-\text{NH}_2$, $-(\text{C}(\text{CH}_2)_2)_z-\text{O}-\text{NH}_2$, C_{6-20} 아릴디설파이드, C_{5-20}

헤테로아릴디설파이드기, N-하이드록시설포숙신이미딜기,

N-하이드록시숙신이미딜기(NHS), 및 말레이미드기로 이루어진

그룹으로부터 선택되는 하나이며,

여기에서, z 는 0 내지 10의 정수이고, R_x 는 수소, C_{1-5} 알킬, 또는 C_{1-5} 알케닐인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

[청구항 10] 제7항에 있어서,
상기 제1 유닛은 아미노산, $-O-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-(C(CH_2)_2)-O-NH_2$, N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS), 및 말레이미드기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

[청구항 11] 제7항에 있어서,
상기 제1 유닛은 아미노산, $-(C(CH_2)_2)-O-NH_2$, N-하이드록시설포숙신이미딜기, N-하이드록시숙신이미딜기(NHS), 및 말레이미드기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 하나인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

[청구항 12] 제7항에 있어서,
상기 제2 유닛은 직접 결합, 1 내지 10개의 아미노산, $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_{q-}$, $-((CH_2)_pV)_{q-}$, $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$, $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$, 또는 $-Y((CH_2)_pV)_q-$ 이며,
여기에서, r 는 0 내지 10의 정수이고, p 는 0 내지 10의 정수이며, q 는 0 내지 20의 정수이고,
 V 및 Y 는 각각 독립적으로 직접 결합, $-O-$, $-S-$, $-C(O)-$, $-NR_{21}-$, $-C(O)NR_{22}-$ 또는 $-NR_{23}C(O)-$ 이고,
 R_{21} 내지 R_{25} 는 각각 독립적으로 수소, 또는 C_{1-6} 알킬인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

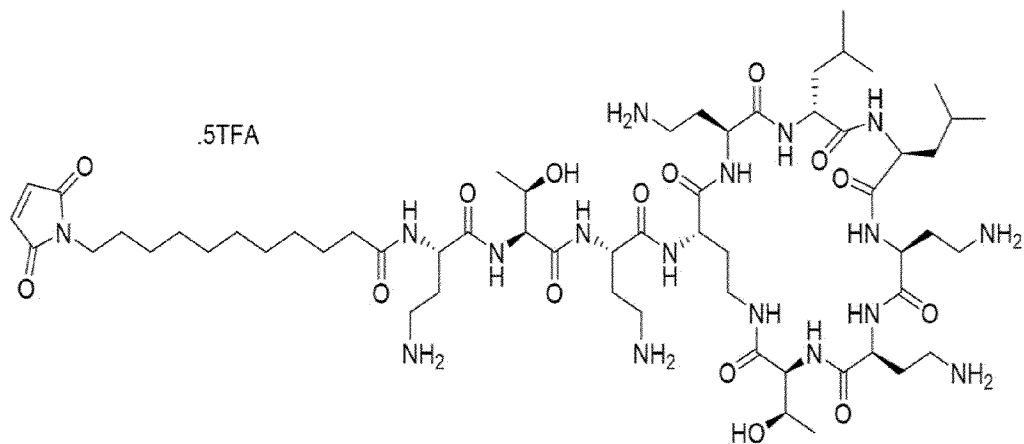
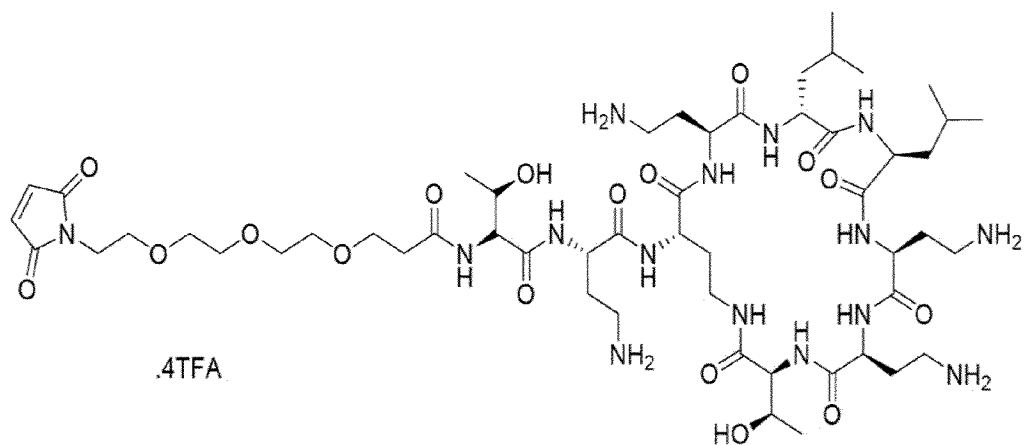
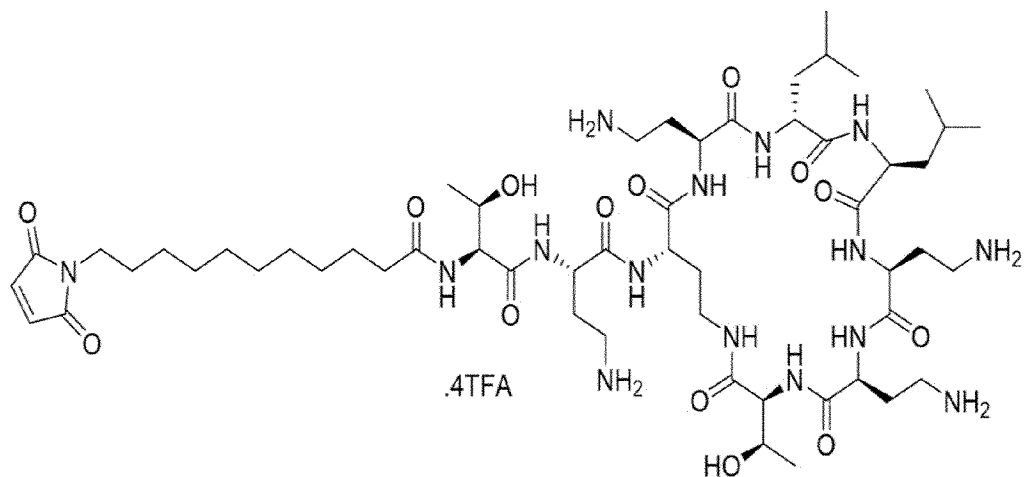
[청구항 13] 제7항에 있어서,
상기 제2 유닛은 직접 결합, 1 내지 10개의 아미노산, $-((CH_2)_pV)_{q-}$, $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_{q-}$ 또는 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 이고,
여기에서, r 는 0 내지 10의 정수이며, p 는 0 내지 10의 정수이고, q 는 0 내지 20의 정수이며,
 V 및 Y 는 각각 독립적으로 직접 결합, $-O-$, $-S-$ 또는 $-C(O)-$ 인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

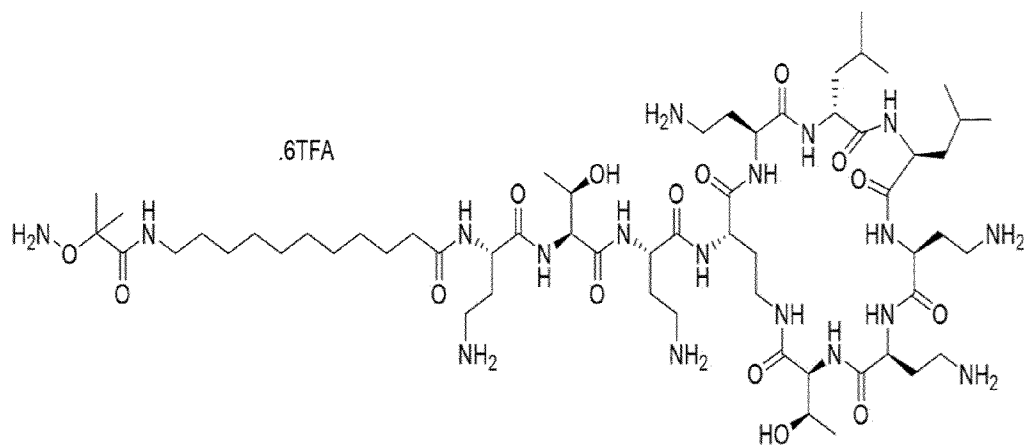
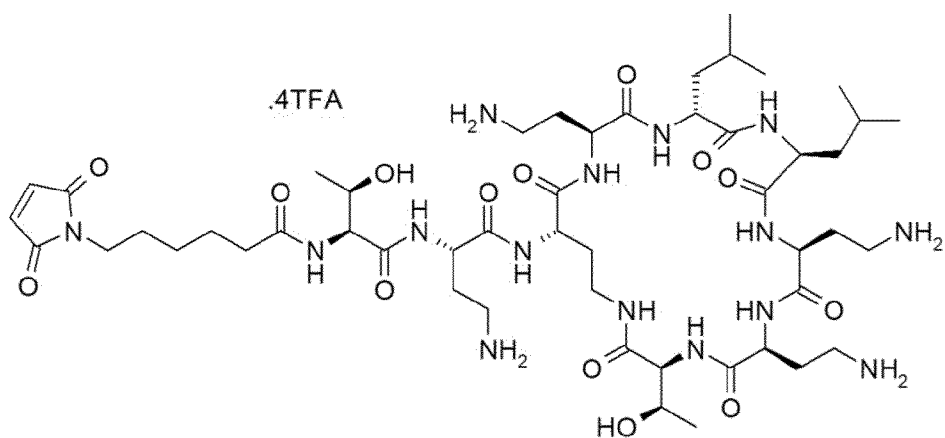
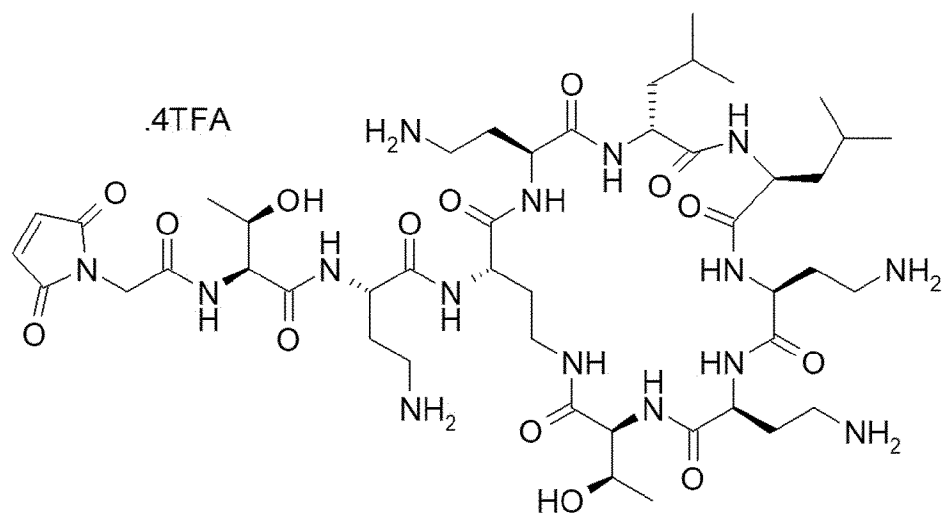
[청구항 14] 제7항에 있어서,
상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

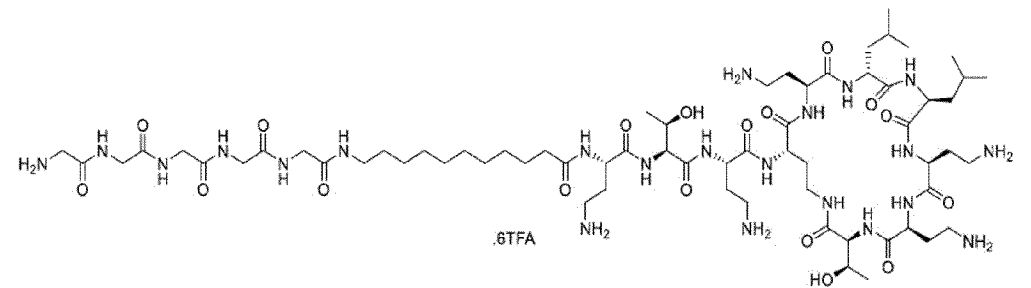
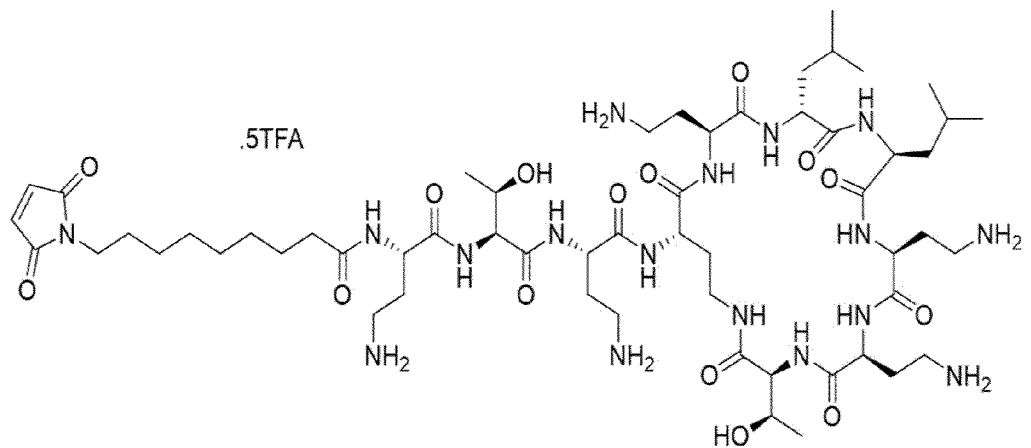
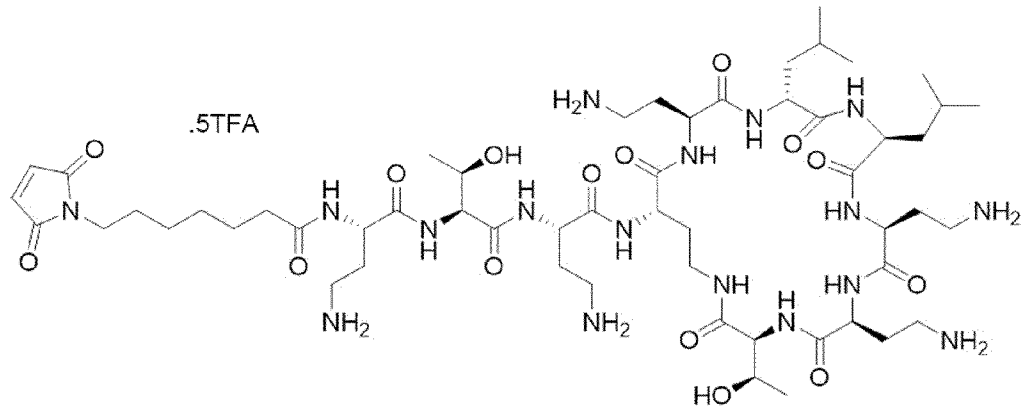
[청구항 15] 제7항에 있어서,
상기 아미노산은 아미노부틸산, 디아미노부틸산, 오르니틴, 아스파라긴, 아미노카프론산, 알라닌, 글리신, 리신, 류신, 아스파탐산, 글루타메이트, 글루타민, 세린 및 트레오닌으로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

[청구항 16] 제1항에 있어서,

상기 D - Linker는 하기 화합물로 구성된 군으로부터 선택되는 것인,
항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:







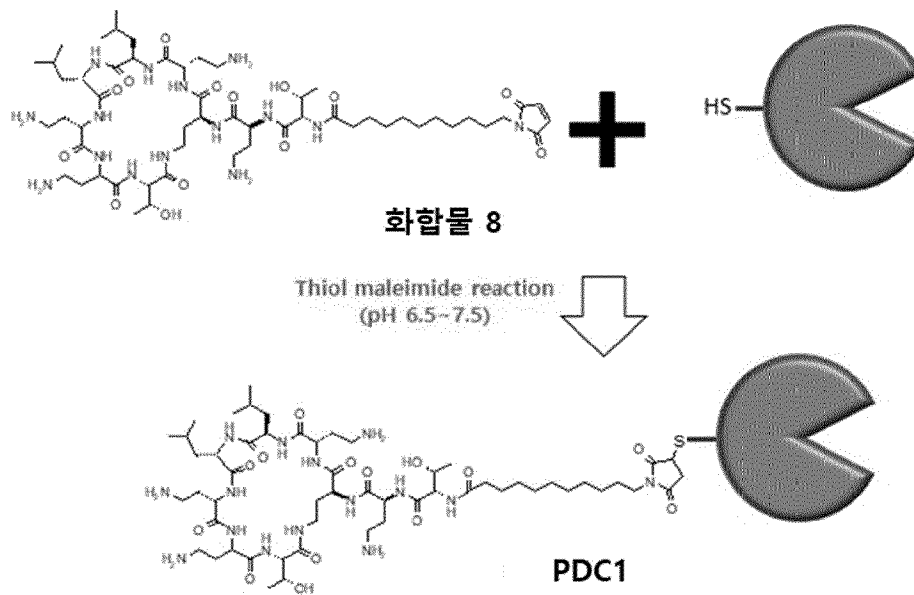
- [청구항 17] 제1항에 있어서,
상기 E는 이소프레노이드 트랜스퍼라제에 의해 인식되는 아미노산
모티프를 더 포함하는 것인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는
용매화물.
- [청구항 18] 제1항에 있어서,
상기 E의 C-말단과 상기 아미노산 모티프 사이에 1 내지 20개의
아미노산으로 구성된 스페이서 유닛을 더 포함하는 것인, 항생제, 이의
약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 19] 제1항에 있어서,

상기 E는 Linker와 티올-숙신이미드 결합을 통해 연결된 엔도라이신 또는
이의 변이체인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.

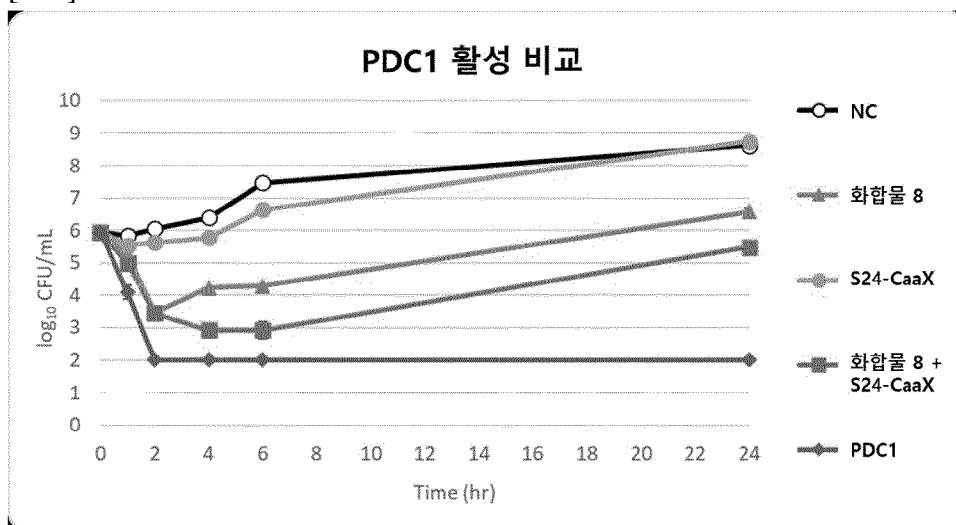
- [청구항 20] 제1항에 있어서,
상기 E는 엔도라이신 변이체이고, 엔도라이신은 서열번호 1 내지 21로
표현되는 키메라 엔도라이신 변이체인, 항생제, 이의 약학적으로
허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 21] 제1항에 있어서,
상기 E는 엔도라이신 변이체이고, 엔도라이신은 서열번호 2 내지 21로
표현되는 키메라 엔도라이신 변이체인, 항생제, 이의 약학적으로
허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 22] 제1항에 있어서,
상기 E는 엔도라이신 변이체이고, 엔도라이신은 서열번호 2 내지 21로
표현되는 키메라 엔도라이신 변이체와 80% 이상의 서열상동성 가지는
것인, 항생제, 이의 약학적으로 허용되는 염 또는 용매화물.
- [청구항 23] 제1항에 따른 항생제를 유효성분으로 포함하는, 그람 음성균에 의한 세균
감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 24] 제23항에 있어서,
상기 세균은 아시네토박터(*Acinetobacter*), 아에로모나스(*Aeromonas*),
아그레가티박터(*Aggregatibacter*), 아조스피릴룸(*Azospirillum*),
박테로이드(*Bacteroides*), 버크홀데리아(*Burkholderia*), 캄필로박터(*Campylobacter*), 칸디다투스(*Candidatus*), 카울로박터(*Caulobacter*),
클라비박터(*Clavibacter*), 크로노박터(*Cronobacter*), 시트로박터(*Citrobacter*), 델프트아(*Delftia*), 엔테로박터(*Enterobacter*), 에르위니아(*Erwinia*), 이스케리키아(*Escherichia*), 플라보박테리움(*Flavobacterium*),
헤모필루스(*Haemophilus*), 아이오도박테리아(*Iodobacteria*), 클렙시엘라(*Klebsiella*), 클루이베라(*Kluyvera*), 맨하이미아(*Mannheimia*), 모르가넬라(*Morganella*), 나이세리아(*Neisseria*), 판토에아(*Pantoea*), 파르퇴렐라(*Pasteurella*), 플랑크토티릭스(*Planktothrix*), 슈도알테로모나스(*Pseudoalteromonas*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 랄스토니아(*Ralstonia*),
살모넬라(*Salmonella*), 쉬겔라(*Shigella*), 시노리조비움(*Sinorhizobium*),
소달리스(*Sodalis*), 시네코코커스(*Synechococcus*), 탈라소모나스(*Thalassomonas*), 테르무스(*Thermus*), 비브리오(*Vibrio*), 산토모나스(*Xanthomonas*), 시렐라(*Xylella*), 및 예르시니아(*Yersinia*)로 이루어진
그룹으로부터 선택된 1종 이상인, 세균 감염의 예방 또는 치료용 약학적
조성물.
- [청구항 25] 제23항에 있어서,
상기 세균은 아시네토박터(*Acinetobacter*), 이스케리키아(*Escherichia*),
클렙시엘라(*Klebsiella*) 또는 슈도모나스(*Pseudomonas*)인, 세균 감염의

- 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 26] 제23항에 있어서,
상기 세균은 에스케리키아 콜리(*Escherichia coli*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 또는 아시네토박터 바우마니(*Acinetobacter baumannii*)인, 세균 감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 27] 제23항에 있어서,
약학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함하는, 세균 감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 28] 제23항에 있어서,
1종 이상의 치료적 공동-작용제(therapeutic co-agent)를 추가로 포함하는, 세균 감염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 29] 제23항에 따른 약학적 조성물을 개체에 투여하여 개체에서 세균 감염을 치료하는 방법.
- [청구항 30] 제29항에 있어서,
상기 개체는 포유 동물인 치료 방법.

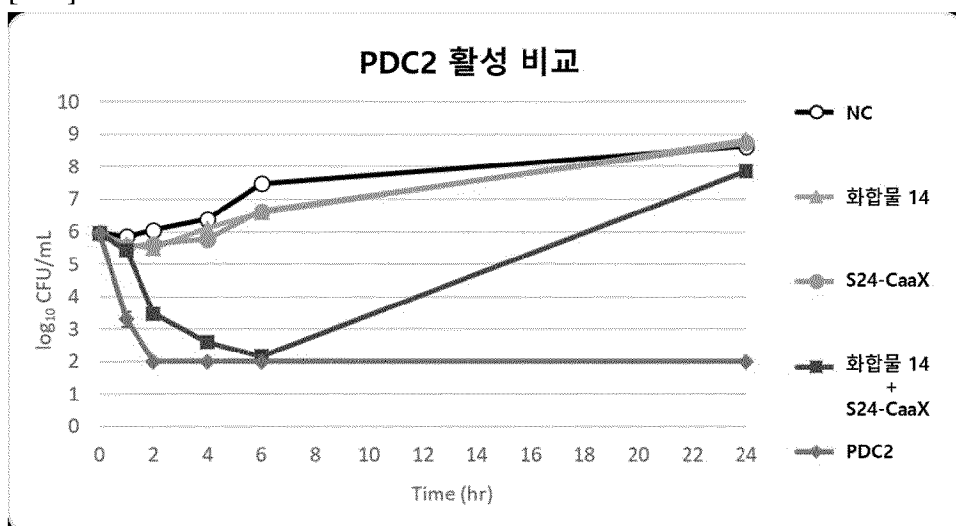
[도1]



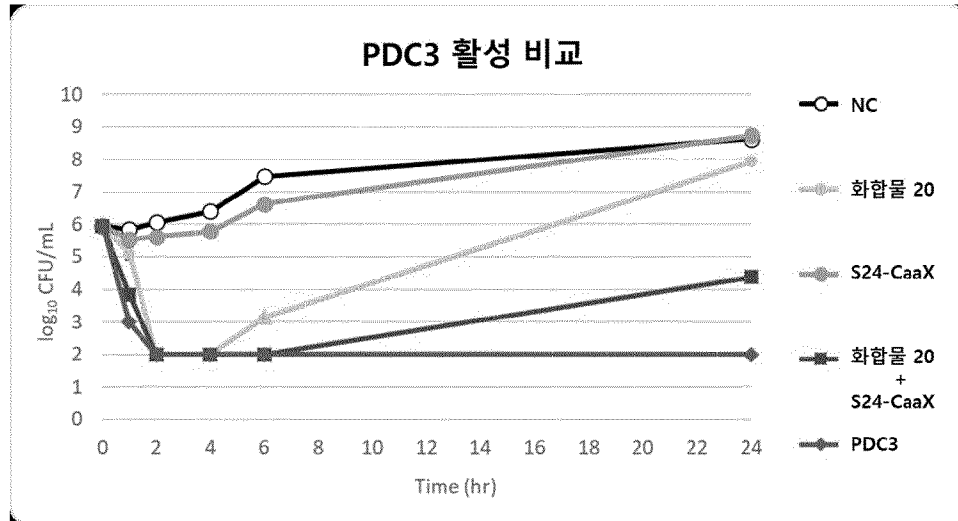
[도2]



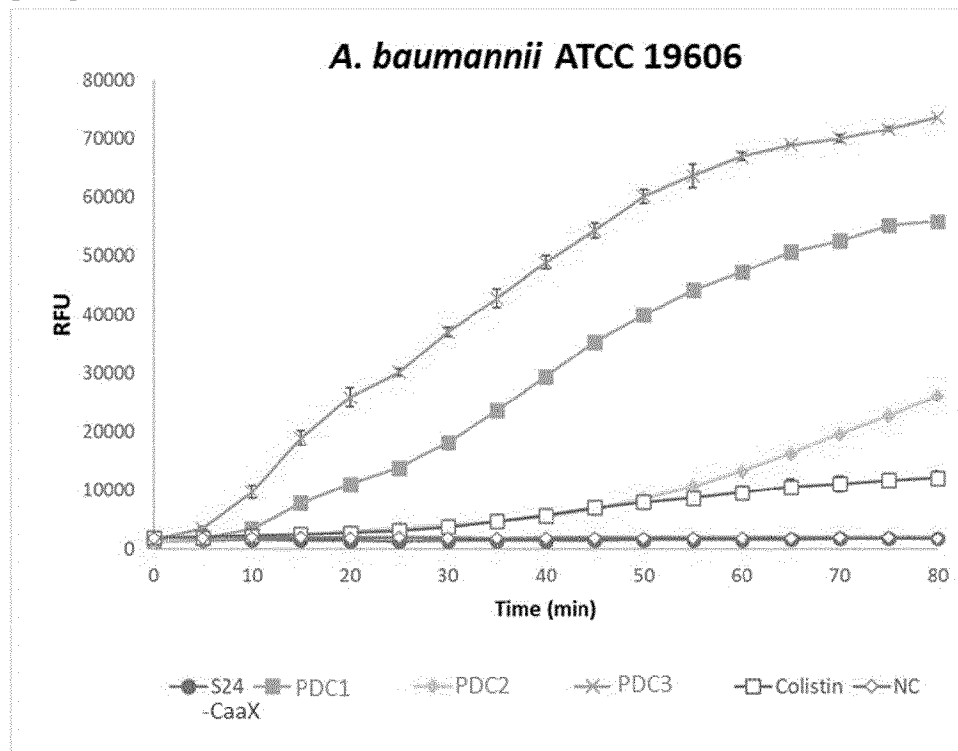
[도3]



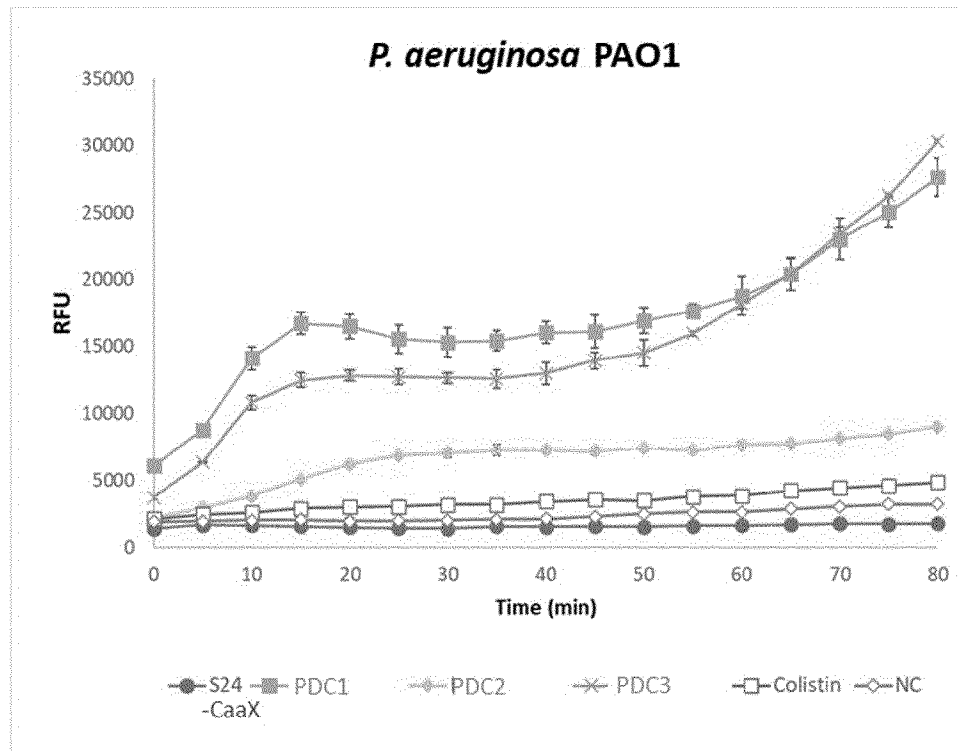
[도4]



[도5]



[도6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/011886

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 47/64(2017.01)i; A61K 47/65(2017.01)i; A61K 38/47(2006.01)i; A61P 31/04(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 47/64(2017.01); A61K 31/70(2006.01); A61K 38/12(2006.01); A61K 38/47(2006.01); A61K 47/48(2006.01); C07K 14/005(2006.01); C12N 9/36(2006.01); G01N 33/569(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), Google & keywords: 폴리믹신 (polymyxin), 링커 (linker), 엔도라이신 (endolysin), 항생제 (antibiotic)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TEGGE, W. et al. Selective bacterial targeting and infection-triggered release of antibiotic colistin conjugates. Angewandte chemie international edition. 07 June 2021, vol. 60, no. 33, pp. 17989-17997. See abstract; and figures 1 and 2.	1-28
A	US 10744189 B2 (CONTRAFECT CORPORATION) 18 August 2020 (2020-08-18) See abstract; and SEQ ID NO: 3.	1-28
A	KR 10-2020-0012844 A (SASINAPAS CO., LTD.) 05 February 2020 (2020-02-05) See entire document.	1-28
A	KR 10-2014-0035393 A (LEGOCHEM BIOSCIENCES, INC.) 21 March 2014 (2014-03-21) See entire document.	1-28
A	KR 10-2021-0045879 A (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 27 April 2021 (2021-04-27) See entire document.	1-28



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

01 December 2022

Date of mailing of the international search report

02 December 2022

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/011886

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/011886

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

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

1. ☒ Claims Nos.: **29, 30**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 29 and 30 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv)).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/011886

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	10744189	B2	18 August 2020	AU	2016-324298	A1	23 March 2017
				AU	2016-324298	B2	01 September 2022
				AU	2016-324307	A1	22 March 2018
				AU	2016-324307	B2	21 October 2021
				BR	112018005316	A2	11 December 2018
				BR	112018005318	A2	11 December 2018
				CA	2998484	A1	23 March 2017
				CA	2998507	A1	23 March 2017
				CN	108135971	A	08 June 2018
				CN	108348574	A	31 July 2018
				EP	3349780	A2	25 July 2018
				EP	3349781	A2	25 July 2018
				HK	1256628	A1	27 September 2019
				IL	258122	A	31 May 2018
				IL	258122	B	31 August 2020
				IL	258123	A	31 May 2018
				IL	258123	B	25 March 2021
				JP	2018-527378	A	20 September 2018
				JP	2018-534247	A	22 November 2018
				JP	2022-065075	A	26 April 2022
				JP	7029805	B2	04 March 2022
				KR	10-2018-0052754	A	18 May 2018
				KR	10-2018-0064417	A	14 June 2018
				MX	2018003100	A	15 April 2019
				MX	2018003101	A	17 December 2018
				RU	2018107245	A	18 October 2019
				RU	2018107245	A3	18 October 2019
				RU	2018107249	A	17 October 2019
				RU	2018107249	A3	10 January 2020
				RU	2724545	C2	23 June 2020
				RU	2728682	C2	31 July 2020
				US	11357833	B2	14 June 2022
				US	2019-0070269	A1	07 March 2019
				US	2019-0290672	A1	26 September 2019
				US	2020-0376096	A1	03 December 2020
				WO	2017-049233	A2	23 March 2017
				WO	2017-049233	A3	01 June 2017
				WO	2017-049242	A2	23 March 2017
				WO	2017-049242	A3	01 June 2017
				ZA	201801315	B	28 November 2018
				ZA	201801316	B	28 November 2018
KR	10-2020-0012844	A	05 February 2020	AU	2018-248060	A1	03 October 2019
				CA	3059019	A1	11 October 2018
				CN	110651044	A	03 January 2020
				EP	3607062	A1	12 February 2020
				JP	2020-515295	A	28 May 2020
				MX	2019011808	A	09 January 2020
				SG	11201908657	A	30 October 2019
				US	11208643	B2	28 December 2021
				US	2021-0108185	A1	15 April 2021

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/011886

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				US	2022-0064616	A1	03 March 2022
				WO	2018-185634	A1	11 October 2018
KR	10-2014-0035393	A	21 March 2014	BR	112013028907	A2	31 January 2017
				CA	2835576	A1	15 November 2012
				CA	2835576	C	05 January 2021
				CN	103648530	A	19 March 2014
				CN	103648530	B	08 February 2017
				DK	2707031	T3	07 October 2019
				EP	2707031	A2	19 March 2014
				EP	2707031	B1	26 June 2019
				EP	3610889	A1	19 February 2020
				ES	2744226	T3	24 February 2020
				HR	P20191586	T1	13 December 2019
				HU	E045348	T2	30 December 2019
				IL	229364	A	30 January 2014
				IL	229364	B	31 August 2021
				JP	2014-519492	A	14 August 2014
				JP	2017-206515	A	24 November 2017
				JP	6196613	B2	13 September 2017
				JP	6385525	B2	05 September 2018
				LT	2707031	T	10 October 2019
				MX	2013013069	A	31 January 2014
				MX	2019001253	A	04 July 2019
				MX	364707	B	06 May 2019
				PL	2707031	T3	31 January 2020
				PT	2707031	T	05 September 2019
				RS	59253	B1	31 October 2019
				RU	2013154264	A	20 June 2015
				RU	2613906	C2	21 March 2017
				SG	194875	A1	30 December 2013
				SI	2707031	T1	30 October 2019
				US	10583197	B2	10 March 2020
				US	2012-0308584	A1	06 December 2012
				US	2014-0161829	A1	12 June 2014
				US	2014-0187756	A1	03 July 2014
				US	2015-0105541	A1	16 April 2015
				US	2016-0213786	A1	28 July 2016
				US	2018-021451	A1	25 January 2018
				US	2020-289662	A1	17 September 2020
				US	9669107	B2	06 June 2017
				WO	2012-153193	A2	15 November 2012
				WO	2012-153193	A3	11 April 2013
KR	10-2021-0045879	A	27 April 2021	KR	10-2022-0020307	A	18 February 2022

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 47/64(2017.01)i; A61K 47/65(2017.01)i; A61K 38/47(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i																				
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 47/64(2017.01); A61K 31/70(2006.01); A61K 38/12(2006.01); A61K 38/47(2006.01); A61K 47/48(2006.01); C07K 14/005(2006.01); C12N 9/36(2006.01); G01N 33/569(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 내부검색 시스템), STN (Registry, Caplus), Google & 키워드: 폴리믹신 (polymyxin), 링커 (linker), 엔 도라이신 (endolysin), 항생제 (antibiotic)																				
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>TEGGE, W. 등, "Selective bacterial targeting and infection-triggered release of antibiotic colistin conjugates", Angewandte chemie international edition, 2021.06.07, 60권, 33호, 페이지 17989-17997 초록; 도면 1, 2</td> <td>1-28</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 10744189 B2 (CONTRAFECT CORPORATION) 2020.08.18 요약; 서열번호 3</td> <td>1-28</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2020-0012844 A (사시나파스 컴퍼니 리미티드) 2020.02.05 전문</td> <td>1-28</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2014-0035393 A (주식회사 레고캡 바이오사이언스) 2014.03.21 전문</td> <td>1-28</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2021-0045879 A (한국과학기술원) 2021.04.27 전문</td> <td>1-28</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	A	TEGGE, W. 등, "Selective bacterial targeting and infection-triggered release of antibiotic colistin conjugates", Angewandte chemie international edition, 2021.06.07, 60권, 33호, 페이지 17989-17997 초록; 도면 1, 2	1-28	A	US 10744189 B2 (CONTRAFECT CORPORATION) 2020.08.18 요약; 서열번호 3	1-28	A	KR 10-2020-0012844 A (사시나파스 컴퍼니 리미티드) 2020.02.05 전문	1-28	A	KR 10-2014-0035393 A (주식회사 레고캡 바이오사이언스) 2014.03.21 전문	1-28	A	KR 10-2021-0045879 A (한국과학기술원) 2021.04.27 전문	1-28
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항																		
A	TEGGE, W. 등, "Selective bacterial targeting and infection-triggered release of antibiotic colistin conjugates", Angewandte chemie international edition, 2021.06.07, 60권, 33호, 페이지 17989-17997 초록; 도면 1, 2	1-28																		
A	US 10744189 B2 (CONTRAFECT CORPORATION) 2020.08.18 요약; 서열번호 3	1-28																		
A	KR 10-2020-0012844 A (사시나파스 컴퍼니 리미티드) 2020.02.05 전문	1-28																		
A	KR 10-2014-0035393 A (주식회사 레고캡 바이오사이언스) 2014.03.21 전문	1-28																		
A	KR 10-2021-0045879 A (한국과학기술원) 2021.04.27 전문	1-28																		
☐ 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 2022년12월01일(01.12.2022)		국제조사보고서 발송일 2022년12월02일(02.12.2022)																		
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																		

제1기제란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.
 - a. ☒ 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
 - b. ☐ 국제조사를 목적으로 국제출원일 이후에 제출된 서열목록(규칙 13의3.1(a))

☐ 서열목록이 출원시 국제출원의 개시 범위를 넘지 않는다는 취지의 진술서를 첨부
2. ☐ 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열에 대해, 본 보고서는 WIPO 표준 ST.26을 준수하는 서열목록이 없이 유효한 조사를 할 수 있는 범위에서 작성되었습니다
3. 추가 의견:

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

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

1. ☒ 청구항: **29, 30**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 29, 30은 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료방법에 관한 것입니다 (PCT 제 17조(2)(a)(i) 및
조약규칙 39.1(iv)).
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관
련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 10744189 B2	2020/08/18	AU 2016-324298 A1	2017/03/23
		AU 2016-324298 B2	2022/09/01
		AU 2016-324307 A1	2018/03/22
		AU 2016-324307 B2	2021/10/21
		BR 112018005316 A2	2018/12/11
		BR 112018005318 A2	2018/12/11
		CA 2998484 A1	2017/03/23
		CA 2998507 A1	2017/03/23
		CN 108135971 A	2018/06/08
		CN 108348574 A	2018/07/31
		EP 3349780 A2	2018/07/25
		EP 3349781 A2	2018/07/25
		HK 1256628 A1	2019/09/27
		IL 258122 A	2018/05/31
		IL 258122 B	2020/08/31
		IL 258123 A	2018/05/31
		IL 258123 B	2021/03/25
		JP 2018-527378 A	2018/09/20
		JP 2018-534247 A	2018/11/22
		JP 2022-065075 A	2022/04/26
		JP 7029805 B2	2022/03/04
		KR 10-2018-0052754 A	2018/05/18
		KR 10-2018-0064417 A	2018/06/14
		MX 2018003100 A	2019/04/15
		MX 2018003101 A	2018/12/17
		RU 2018107245 A	2019/10/18
		RU 2018107245 A3	2019/10/18
		RU 2018107249 A	2019/10/17
		RU 2018107249 A3	2020/01/10
		RU 2724545 C2	2020/06/23
		RU 2728682 C2	2020/07/31
		US 11357833 B2	2022/06/14
		US 2019-0070269 A1	2019/03/07
		US 2019-0290672 A1	2019/09/26
		US 2020-0376096 A1	2020/12/03
		WO 2017-049233 A2	2017/03/23
		WO 2017-049233 A3	2017/06/01
		WO 2017-049242 A2	2017/03/23
		WO 2017-049242 A3	2017/06/01
		ZA 201801315 B	2018/11/28
		ZA 201801316 B	2018/11/28
KR 10-2020-0012844 A	2020/02/05	AU 2018-248060 A1	2019/10/03
		CA 3059019 A1	2018/10/11
		CN 110651044 A	2020/01/03
		EP 3607062 A1	2020/02/12
		JP 2020-515295 A	2020/05/28
		MX 2019011808 A	2020/01/09
		SG 11201908657 A	2019/10/30
		US 11208643 B2	2021/12/28
		US 2021-0108185 A1	2021/04/15

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 2022-0064616 A1	2022/03/03
		WO 2018-185634 A1	2018/10/11
KR 10-2014-0035393 A	2014/03/21	BR 112013028907 A2	2017/01/31
		CA 2835576 A1	2012/11/15
		CA 2835576 C	2021/01/05
		CN 103648530 A	2014/03/19
		CN 103648530 B	2017/02/08
		DK 2707031 T3	2019/10/07
		EP 2707031 A2	2014/03/19
		EP 2707031 B1	2019/06/26
		EP 3610889 A1	2020/02/19
		ES 2744226 T3	2020/02/24
		HR P20191586 T1	2019/12/13
		HU E045348 T2	2019/12/30
		IL 229364 A	2014/01/30
		IL 229364 B	2021/08/31
		JP 2014-519492 A	2014/08/14
		JP 2017-206515 A	2017/11/24
		JP 6196613 B2	2017/09/13
		JP 6385525 B2	2018/09/05
		LT 2707031 T	2019/10/10
		MX 2013013069 A	2014/01/31
		MX 2019001253 A	2019/07/04
		MX 364707 B	2019/05/06
		PL 2707031 T3	2020/01/31
		PT 2707031 T	2019/09/05
		RS 59253 B1	2019/10/31
		RU 2013154264 A	2015/06/20
		RU 2613906 C2	2017/03/21
		SG 194875 A1	2013/12/30
		SI 2707031 T1	2019/10/30
		US 10583197 B2	2020/03/10
		US 2012-0308584 A1	2012/12/06
		US 2014-0161829 A1	2014/06/12
		US 2014-0187756 A1	2014/07/03
		US 2015-0105541 A1	2015/04/16
		US 2016-0213786 A1	2016/07/28
		US 2018-021451 A1	2018/01/25
		US 2020-289662 A1	2020/09/17
		US 9669107 B2	2017/06/06
		WO 2012-153193 A2	2012/11/15
		WO 2012-153193 A3	2013/04/11
KR 10-2021-0045879 A	2021/04/27	KR 10-2022-0020307 A	2022/02/18