



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년11월12일

(11) 등록번호 10-1327635

(24) 등록일자 2013년11월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07F 9/6561 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-7005807

(22) 출원일자(국제) 2006년08월11일

심사청구일자 2011년08월05일

(85) 번역문제출일자 2008년03월10일

(65) 공개번호 10-2008-0035687

(43) 공개일자 2008년04월23일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2006/004128

(87) 국제공개번호 WO 2007/096703

국제공개일자 2007년08월30일

(56) 선행기술조사문헌

US05854227 A

US05880111 A

US06333424 B1

WO2004096285 A2

전체 청구항 수 : 총 37 항

(73) 특허권자

타칸타 테라퓨틱스 인크.

캐나다 에이치4에스 2에이1 퀘벡주 세인트 로렌트
세컨드 플로어 프레드릭 밴딩 7170

(72) 발명자

로즈, 야니크, 스테판

캐나다 에이치4씨 0에이5 퀘벡주 몬트리올 뒤편
르제465-765

시블렛, 스테판

캐나다 에이치2와이 1와이1 퀘벡주 몬트리올 뒤편
생새크리멘 325-403

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 양영환

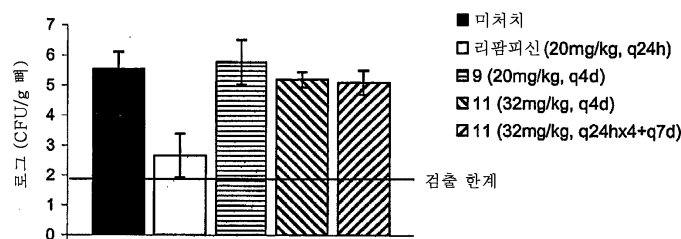
심사관 : 방성철

(54) 발명의 명칭 포스포산화 리파마이신, 및 그의 뼈 및 관절 감염의 저지 및 치료 용도

(57) 요약

본 발명은 포스포산화 리파마이신, 및 상기 화합물의 제조 방법 및 사용 방법에 관한 것이다. 이들 화합물은 뼈 및 관절 감염의 예방 및/또는 치료, 특히 골수염의 예방 및/또는 치료에서 항생제로서 유용하다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

강, 텅

캐나다 에이치9제이 2에스9 퀘백주 커클랜드 수톤
크레센트 23

라파이 파, 아텔

캐나다 에이치3알 2엑스8 퀘백주 빌 몽-로얄 케민
하노버2170

디트리치, 에블린

캐나다 에이치7엔 4더블유8 퀘백주 라발 뤼 드 오
를리 17

라퐁텐, 야니크

캐나다 에이치1엑스 1에이치1 퀘백주 몬트리올 뷰
바인리스트 3609

레디, 랑가

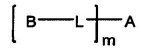
캐나다 에이치4엠 2엠1 퀘백주 생-로랑 마르셀 로
린블러버드 아파트 109

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.

<화학식 I>



식 중,

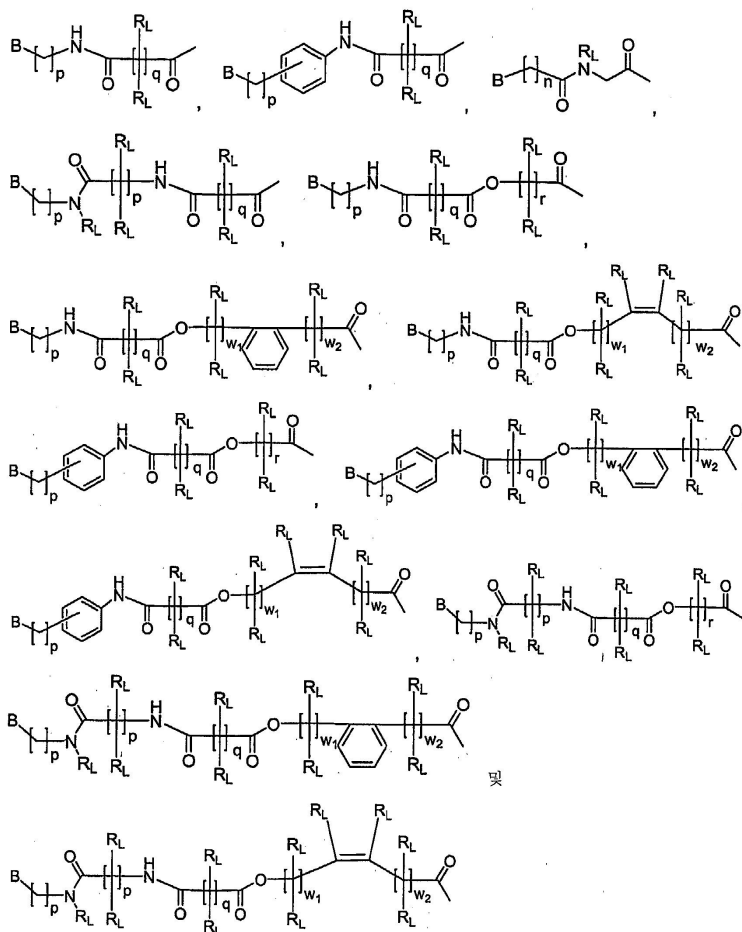
B는 포스포산화기이고;

L은 B를 A에 커플링하기 위한 절단가능한 연결기이고;

m은 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7이며;

A는 리파마이신이고,

여기서, 상기 B-L- 중 하나 이상은 상기 리파마이신 A 상의 히드록실 관능기에 커플링되고, 상기 히드록실 관능기에 커플링된 B-L-은 각각 하기 화학식으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다:



식 중,

B는 상기 포스포산화기를 나타내고;

각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수이고;

각각의 R_L은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

q는 2 또는 3이고;

n은 10 이하의 정수이고;

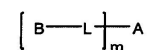
r은 1, 2, 3, 4 또는 5이며;

w_1 및 w_2 는 각각 ($w_1 + w_2$)의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이다.

청구항 2

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.

<화학식 I>



식 중,

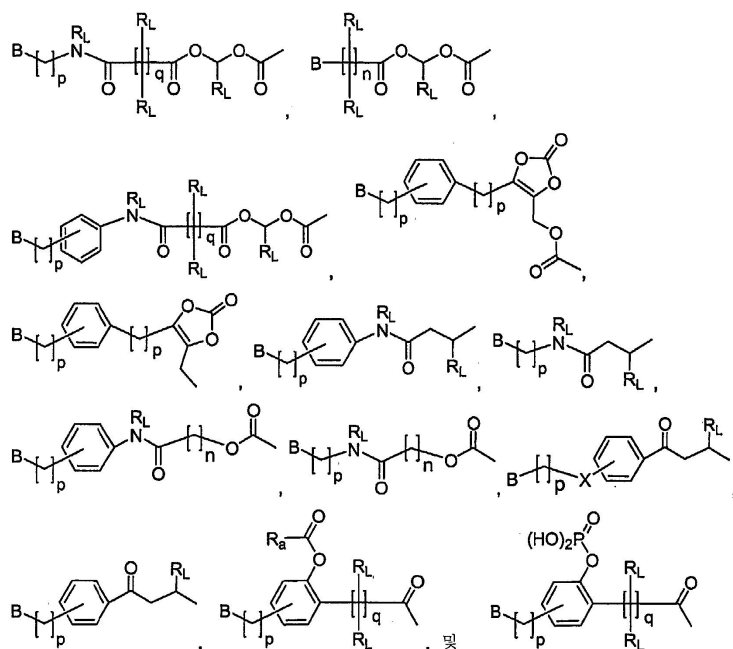
B는 포스폰산화기이고;

L은 B를 A에 커플링하기 위한 절단가능한 연결기이고;

m은 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7이며;

A는 리파마이신이고,

여기서, 상기 B-L- 중 하나 이상은 상기 리파마이신 A 상의 질소 원자에 커플링되고, 상기 질소 원자에 커플링된 B-L-은 각각 하기 화학식으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다:



식 중,

B는 상기 포스폰산화기를 나타내고;

n은 10 이하의 정수이고;

각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수이고;

각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

q는 2 또는 3이고;

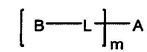
X는 0, $-\text{CONR}_L-$, $-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-$ 또는 $-\text{CO}-\text{O}-$ 이며;

R_a 는 C_xH_y 이고, 여기서 x는 0 내지 20의 정수이고, y는 1 내지 $2x+1$ 의 정수이다.

청구항 3

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.

<화학식 I>



식 중,

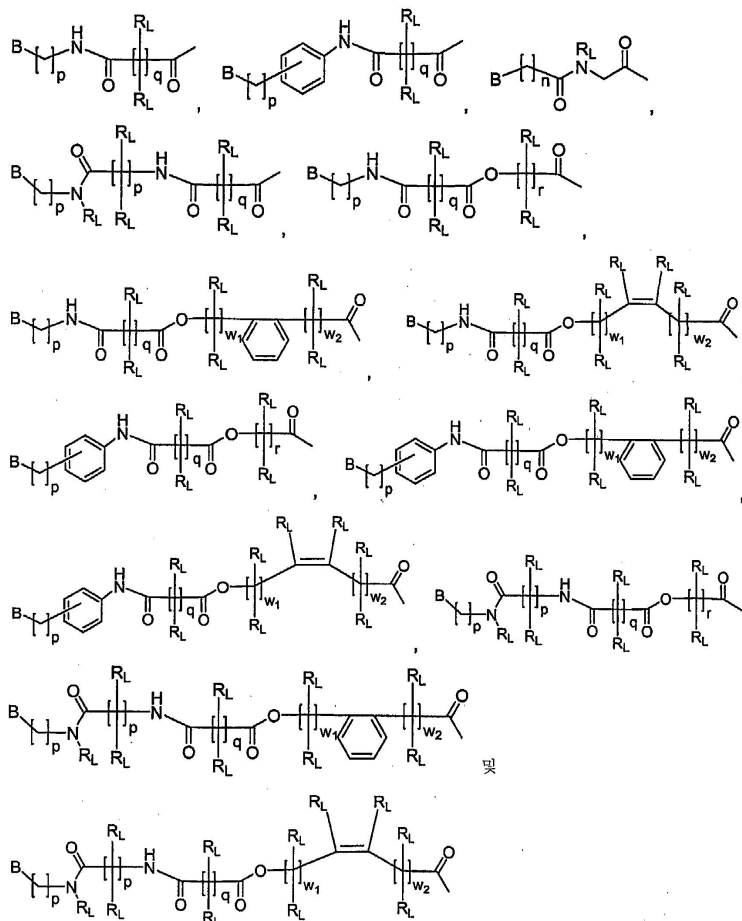
B는 포스포산화기이고;

L은 B를 A에 커플링하기 위한 절단가능한 연결기이고;

m은 2, 3, 4, 5, 6 또는 7이며;

A는 리파마이신이고,

여기서, 상기 B-L- 중 하나 이상은 상기 리파마이신 A 상의 히드록실 관능기에 커플링되고, 상기 B-L- 중 하나 이상은 상기 리파마이신 A 상의 질소 원자에 커플링되고, 상기 히드록실 관능기에 커플링된 B-L-은 각각



(식 중,

B는 상기 포스포산화기를 나타내고;

각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수이고;

각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

q 는 2 또는 3이고;

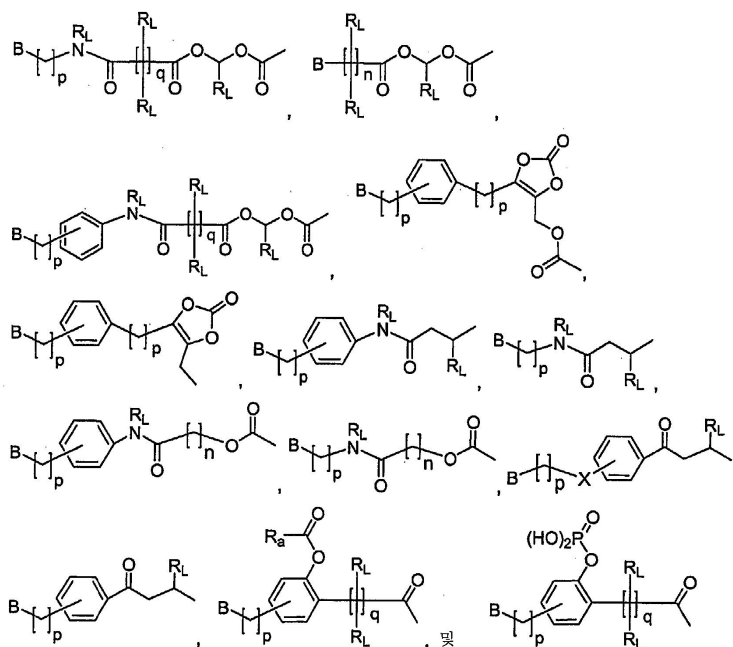
n 은 10 이하의 정수이고;

r 은 1, 2, 3, 4 또는 5이며;

w_1 및 w_2 는 각각 ($w_1 + w_2$)의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수임)

로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고,

상기 질소 원자에 커플링된 B-L-은 각각



(식 중,

B는 상기 포스폰산화기를 나타내고;

n 은 10 이하의 정수이고;

각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수이고;

각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

q 는 2 또는 3이고;

X는 O, $-\text{CONR}_L-$, $-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-$ 또는 $-\text{CO}-\text{O}-$ 이며;

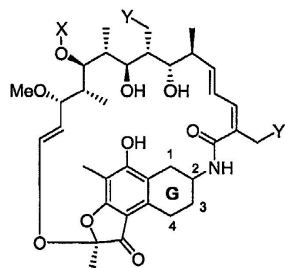
R_a 는 C_xH_y 이고, 여기서 x 는 0 내지 20의 정수이고, y 는 1 내지 $2x+1$ 의 정수임)

로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 하기 화학식 A1로 나타낸 구조를 갖는 화합물.

<화학식 A1>



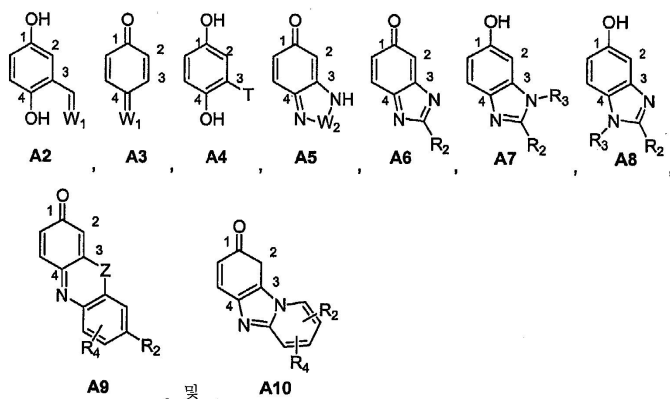
식 중,

X는 H- 또는 R_1CO- 이고, 여기서 R_1 은 1 내지 6개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쉐이고(여기서, 치환된 알킬 쉐의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

각각의 Y는 H- 및 $RO-$ 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R은 H-, R_1- 또는 R_1CO- 이고, R_1 은 상기에서 정의된 바와 같고;



는 하기 화학식 A2 내지 A10으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



식 중,

R_2 는 H-, 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쉐 또는 디알킬 아미노기이고(여기서, 치환된 알킬 쉐의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

R_3 은 H- 또는 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쉐이고(여기서, 치환된 알킬 쉐의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

R_4 는 히드록실기, 술포히드릴기 또는 1 내지 3개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쉐이고(여기서, 치환된 알킬 쉐의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

W_1 은 산소 또는 $-NR_2$ 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;



W₂는 (식 중, R₅ 및 R₆은 독립적으로 H- 또는 1 내지 5개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 이고, Z'는 산소 원자, 황 원자, 치환된 메틸렌, 카르보닐, -NR₁ 또는 -N(O)R₁이고, 여기서 R₁은 상기에서 정의 된 바와 같음)를 포함한 치환 또는 비치환된 메틸렌이고(여기서, 치환된 메틸렌 및 치환된 알킬 쇠의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C₁-C₆ 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C₁-C₆ 알킬로 구성된 군 으로부터 독립적으로 선택됨);

T는 할로겐 또는 R₂이고, 여기서 R₂는 상기에서 정의된 바와 같으며;

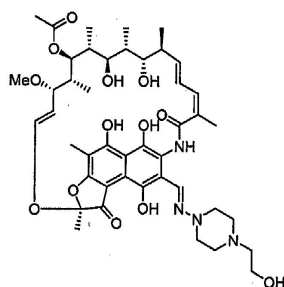
Z는 O, S 또는 NR₃이고, 여기서 R₃은 상기에서 정의된 바와 같다.

청구항 5

제4항에 있어서, R₂가 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 및 치환된 피페라진으로 이루어진 군으로부터 선택되는 디알킬 아미노기이고, 여기서, 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 및 치환된 피페라진의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C₁-C₆ 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C₁-C₆ 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 화합물.

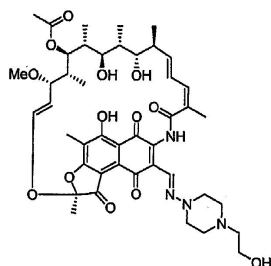
청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 하기 화학식으로 나타낸 구조 또는 그의 항균 유도체를 갖는 화합물.



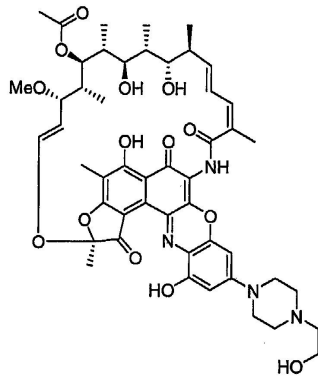
청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 하기 화학식으로 나타낸 구조 또는 그의 항균 유도체를 갖는 화합물.



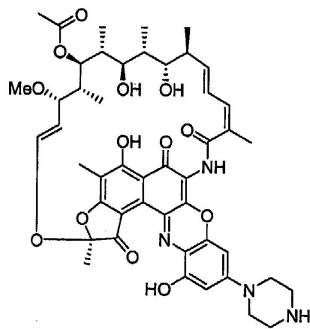
청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 하기 화학식으로 나타낸 구조 또는 그의 항균 유도체를 갖는 화합물.



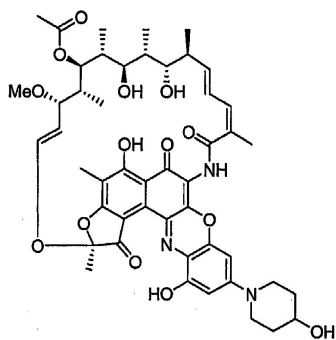
청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 하기 화학식으로 나타낸 구조 또는 그의 항균 유도체를 갖는 화합물.



청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 하기 화학식으로 나타낸 구조 또는 그의 항균 유도체를 갖는 화합물.



청구항 11

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 리팜피신 또는 그의 항균 유도체인 화합물.

청구항 12

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 리파펜틴 또는 그의 항균 유도체인 화합물.

청구항 13

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 리파부틴 또는 그의 항균 유도체인 화합물.

청구항 14

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 리팔라질 또는 그의 항균 유도체인 화합물.

청구항 15

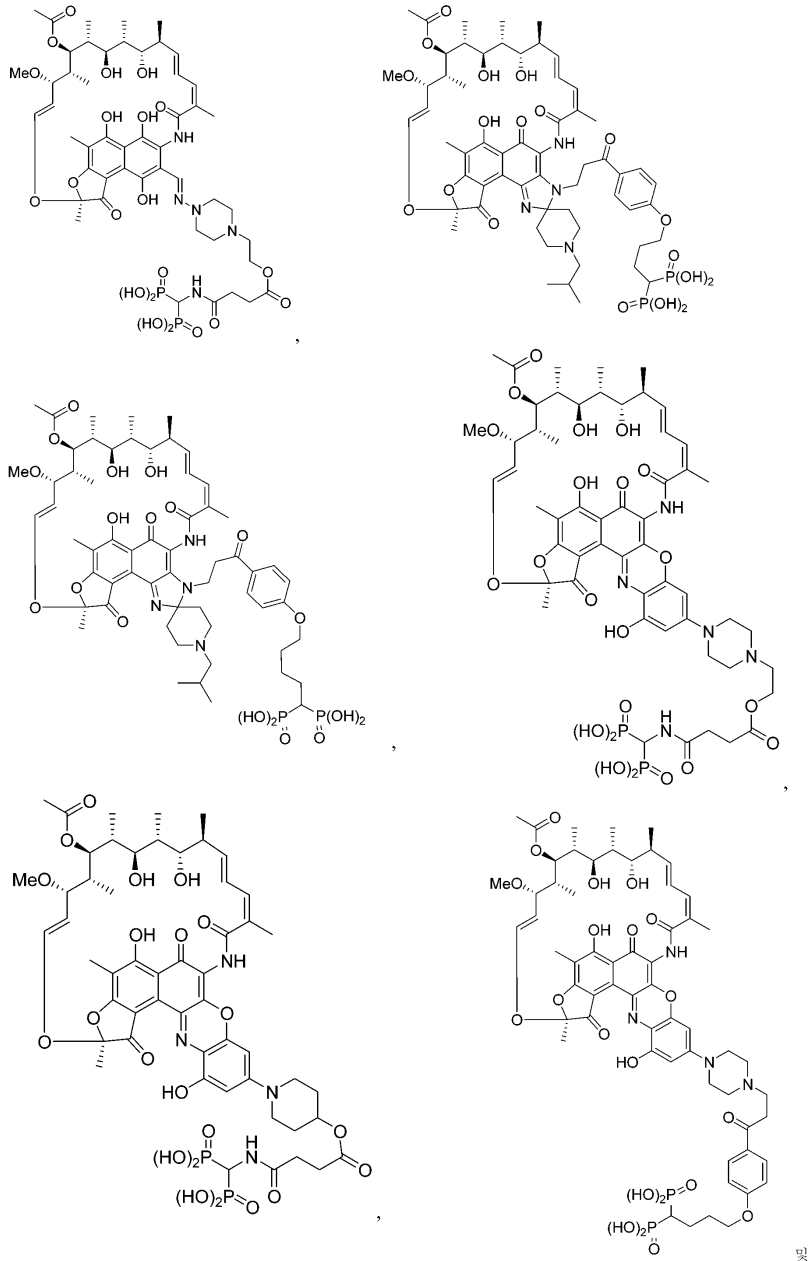
제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 리팍시민 또는 그의 항균 유도체인 화합물.

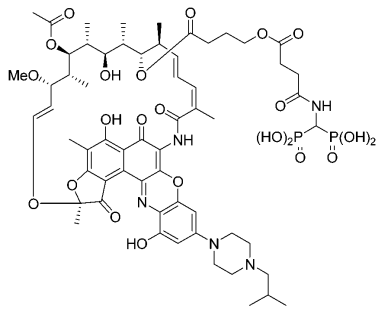
청구항 16

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리파마이신 A가 리판딘 또는 그의 항균 유도체인 화합물.

청구항 17

상기 화학식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화학식의 화합물.

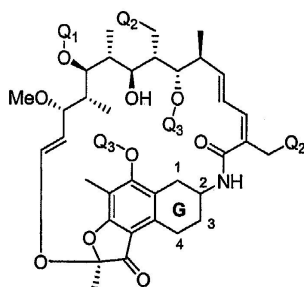




청구항 18

하기 화학식 II의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.

<화학식 II>



식 중,

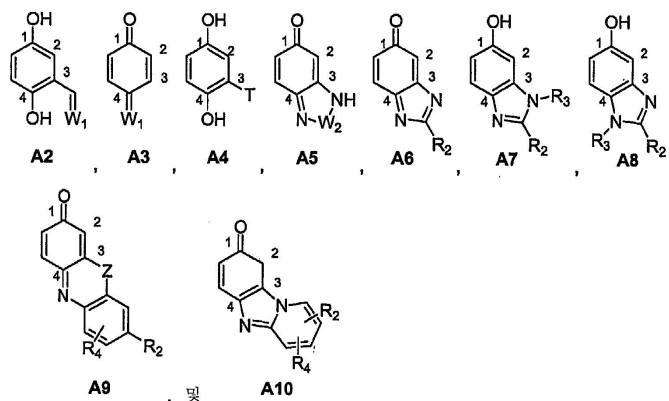
Q_1 은 $H-$, R_1CO- 또는 L_1- 이고, 여기서 R_1 은 1 내지 6개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고(여기서, 치환된 알킬 쇠의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

각각의 Q_2 는 $H-$, $RO-$ 및 L_2O- 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R 은 $H-$, R_1- 또는 R_1CO- 이고, R_1 은 상기에서 정의된 바와 같고;

각각의 Q_3 은 $H-$ 및 L_3- 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;



는 하기 화학식 A2 내지 A10으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



식 중,

R_2 는 H-, 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 디알킬 아미노기이고, 여기서 R_2 가 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환된 알킬 쇠인 경우, 치환기는 L_4O- , L_5S- 및 L_6NR_7- 로 이루어진 군으로부터 선택되는 한 구성원이고, 상기 R_7 은 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고(여기서, 치환된 알킬 쇠의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

R_3 은 H-, 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 L_7- 이고(여기서, 치환된 알킬 쇠의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

R_4 는 히드록실기, 술폰히드릴기, 1 내지 3개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠, L_8O- 또는 L_9S- 이고(여기서, 치환된 알킬 쇠의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

W_1 은 산소 또는 $-NR_2$ 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;



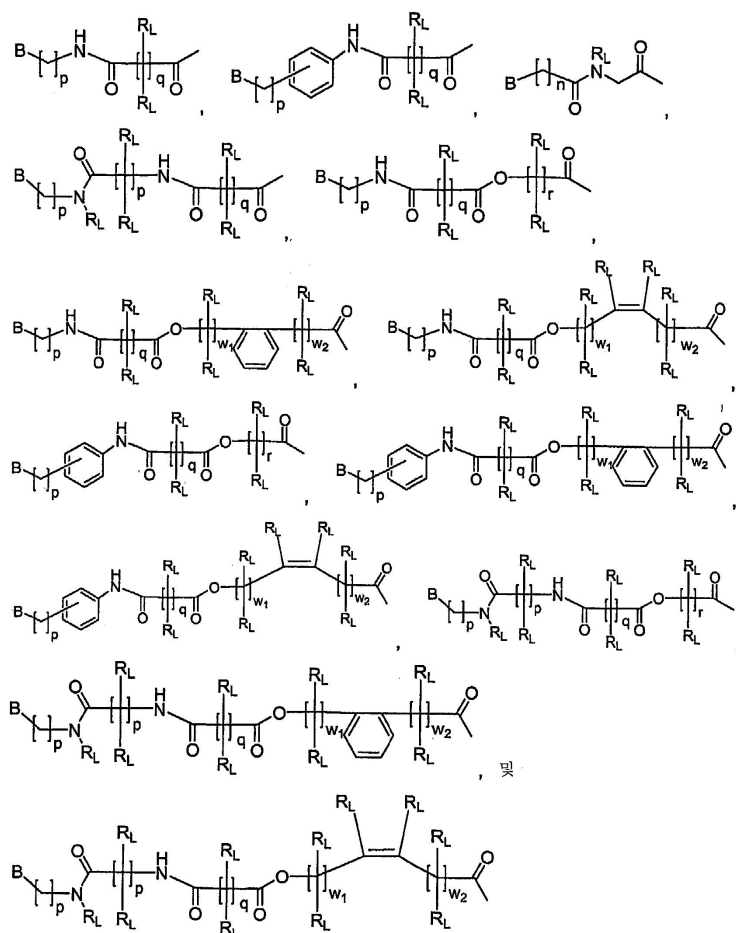
W_2 는 (식 중, R_5 및 R_6 은 독립적으로 H- 또는 1 내지 5개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고, Z' 는 산소 원자, 황 원자, 치환된 메틸렌, 카르보닐, $-NR_1$ 또는 $-N(O)R_1$ 이고, 여기서 R_1 은 상기에서 정의된 바와 같음)를 포함한 치환 또는 비치환된 메틸렌이고(여기서, 치환된 메틸렌 및 치환된 알킬 쇠의 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택됨);

T 는 할로젠 또는 R_2 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;

Z 는 O, S 또는 NR_3 이고, 여기서 R_3 은 상기에서 정의된 바와 같고;

여기서,

상기 각각의 $L_1, L_2, L_3, L_4, L_5, L_8$ 및 L_9 는



(식 중,

n 은 10 이하의 정수이고;

각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수이고;

q 는 2 또는 3이고;

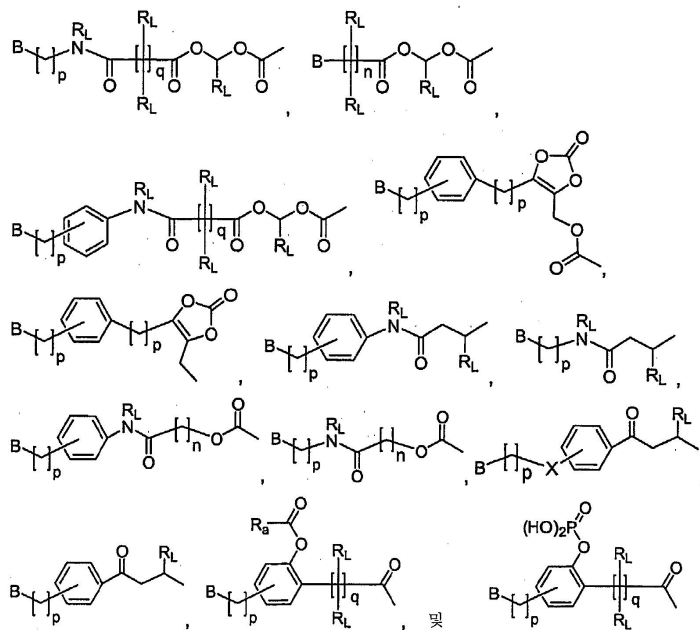
r 은 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

w_1 및 w_2 는 $(w_1 + w_2)$ 의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이고;

각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨)

로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 절단가능한 연결기이고,

상기 각각의 L_6 및 L_7 은



(식 중,

n 은 10 이하의 정수이고;

각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수이고;

q 는 2 또는 3이고;

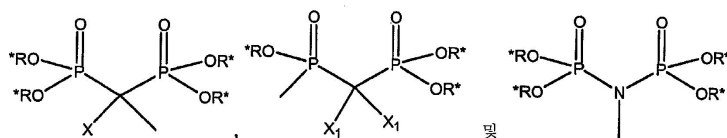
각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

R_a 는 C_xH_y 이고, 여기서 x 는 0 내지 20의 정수이고, y 는 1 내지 $2x+1$ 의 정수이며;

X 는 0, $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$ 또는 $-CO-O-$ 임)

로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 절단가능한 연결기이며,

여기서, B는 하기 화학식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 포스폰산화기이고



(식 중,

각각의 R^* 은 H, 저급 알킬, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 2개 이상의 R^* 가 H이고;

X 는 H, OH, NH_2 또는 할로기이고;

각각의 X_1 은 H, OH, NH_2 및 할로기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨);

단, L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_6 , L_7 , L_8 및 L_9 중 하나 이상이 존재한다.

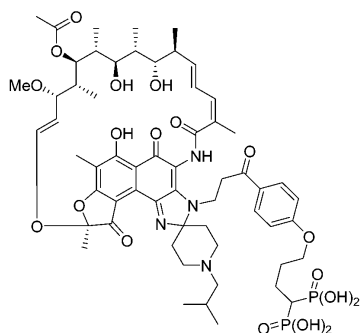
청구항 19

제18항에 있어서, R_2 가 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 및 치환된 피페라진으로 이루어진 군으로부터 선택되

는 디알킬 아미노기이고, 여기서 상기 치환기는 L_4O- , L_5S- 및 L_6NR_7- 로 이루어진 군으로부터 선택되는 한 구성 원이고, 상기 R_7 은 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쉐이고, R_7 이 치환된 알킬 쉐인 경우, 치환기는 카르복시, 히드록시, 아미노, C_1-C_6 알킬, 및 카르복시, 히드록시 또는 아미노로 치환된 C_1-C_6 알킬로 구성된 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 화합물.

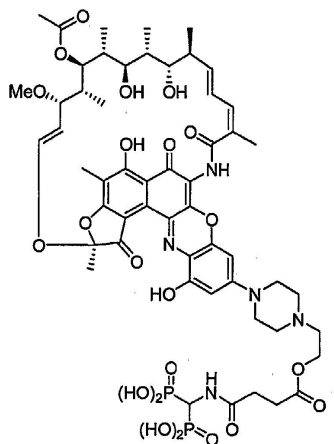
청구항 20

하기 화학식의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.



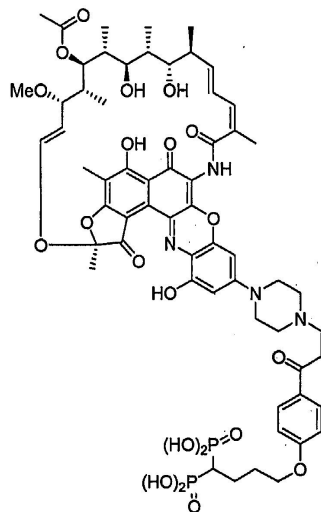
청구항 21

하기 화학식의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.



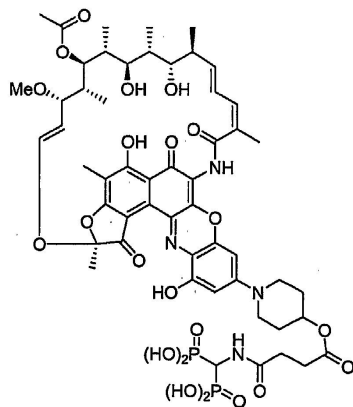
청구항 22

하기 화학식의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.



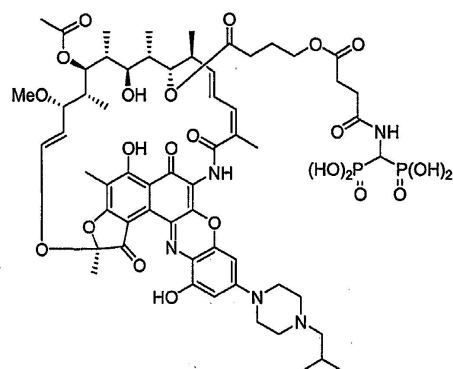
청구항 23

하기 화학식의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.



청구항 24

하기 화학식의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염.



청구항 25

대상체의 뼈 또는 관절에서 박테리아 감염을 치료하기 위해 사용되는,

제1항 내지 제3항 및 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항에서 정의된 화합물, 및 제약상 허용가능한 담체 또는

부형제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 26

대상체에서 박테리아 감염을 예방하기 위해 사용되는,

제1항 내지 제3항 및 제17항 내지 제24항 중 어느 한 항에서 정의된 화합물, 및 제약상 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 27

제26항에 있어서, 침습적 의학 치료 전에, 중에 또는 후에 상기 대상체에게 투여되는 제약 조성물.

청구항 28

제25항에 있어서, 상기 대상체가 인간인 제약 조성물.

청구항 29

제26항에 있어서, 상기 대상체가 인간인 제약 조성물.

청구항 30

제25항에 있어서, 항생제를 더 포함하는 제약 조성물.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 항생제가 테트라시클린, 테트라시클린 유도 항박테리아제, 글리실시클린, 글리실시클린 유도 항박테리아제, 미노시클린, 미노시클린 유도 항박테리아제, 옥사졸리디논 항박테리아제, 아미노글리코시드 항박테리아제, 퀴놀론 항박테리아제, 반코마이신, 반코마이신 유도 항박테리아제, 테이코플라닌, 테이코플라닌 유도 항박테리아제, 에레모마이신, 에레모마이신 유도 항박테리아제, 클로로에레모마이신, 클로로에레모마이신 유도 항박테리아제, 다프토마이신 및 다프토마이신 유도 항박테리아제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 32

제25항에 있어서, 대상체의 뼈 내에 리파마이신을 축적하기 위해 사용되는 제약 조성물.

청구항 33

제26항에 있어서, 대상체의 뼈 내에 리파마이신을 축적하기 위해 사용되는 제약 조성물.

청구항 34

제1항 또는 제2항에 있어서, m이 1, 2 또는 3인 화합물.

청구항 35

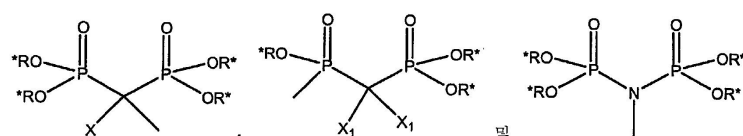
제3항에 있어서, m이 2 또는 3인 화합물.

청구항 36

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, B가 비스포스포네이트인 화합물.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 비스포스포네이트가 하기 화학식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.



식 중,

각각의 R^* 은 H, 저급 알킬, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 단 2 개 이상의 R^* 이 H이고;

X는 H, OH, NH_2 또는 할로기이며;

X_1 은 둘 다 H이거나, 또는 각각 H, OH, NH_2 및 할로기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

명세서

[0001] 관련 출원과의 상호 참조

[0002] 본 출원은 그의 전문이 본원에 포함된, 2005년 8월 11일에 출원된 미국 가출원 번호 제60/707,145호를 우선권 주장한다.

기술분야

[0003] 본 발명은 포스포산화 리파마이신에 관한 것이다. 이들 화합물은 뼈 및 관절 감염의 예방 및/또는 치료, 특히 골수염의 예방 및/또는 치료용 항생제로서 유용하다.

배경기술

[0004] 골수염은 각종 미생물, 주로 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)에 의해 유발되는 뼈의 염증이 다 (문헌 [Carek et al., American Family Physician (2001), Vol 12, 12:2413-2420]). 상기 통증성 및 쇠약 성 질환은 어린이들에게서 보다 일반적으로 발생한다. 성인 모집단 내에서는 당뇨병 및 신장 투석 환자가 또한 취약하다. 상기 질환의 급성형은 항생제로 치료할 수 있지만, 일일 요법이 장기간 요구된다. 그러나, 반복적인 입원 및 심각한 치료 요법이 요구되는 재발형 또는 만성형으로 전환될 수 있다.

[0005] 리파마이신은 반합성 항박테리아 안사마이신의 부류이며, 이들의 여러 구성원은 현재 임상적으로 사용되거나 또는 임상 평가 중이다 (문헌 [Burman et al, Clin. Pharmacokinet. (2001), 40:327-341]). 리파마이신은 동등한 진행 효소보다 2 내지 4 차수 높은 친화력으로 박테리아 DNA-의존성 RNA 중합효소를 표적으로 한다 (문헌 [Floss and Yu, Chem Rev. (2005), 105:621-632]). 리파마이신은 RNA 중합효소 완전효소(holoenzyme)의 β 서브유닛 상의 잘 정의된 지점에 결합함으로써 작용하여, 그 결과 RNA 합성의 초기 단계를 방해하고 억제한다. 이들 억제제의 일반적인 구조 골격은 실질적으로 이들의 결합 양식의 변경 없이 약동학적 및 약역학적 특성의 조정을 고려한 잘 정의된 포지션을 제공한다. 그 결과, 리팜피신 (US 3,342,810), 리파펜틴 (US 4,002,752), 리판딘 (US 4,353,826), 리파부틴 (US 4,219,478), 리팔라질 (US 4,983,602) 및 리팜시틴 (US 4,341,785)을 포함한 이 부류 내의 많은 잘 연구된 화합물이 제공되었다. 최근, 많은 25-테아세틸 유사체가 또한 매력적인 항박테리아제인 것으로 입증되었다 (미국 특허 출원 제2005/043298호). 리파마이신은 그람 양성 병원체에 대해 매우 효과적이며, 그람 음성 병원체에 대해서는 효과가 덜하고, 일반적으로 높은 투여량에서 또는 시트크롬 P3A 억제제의 존재하에서만 부작용을 나타낸다. 성장 없이 RNA 합성의 단기적인 발생이 필요하여 유발될 수 있는 정지 단계의 박테리아에 효과적인 이들의 독특한 능력 때문에 만성 감염에 대한 제1 후보 물질이며, 종종 비교적 높은 빈도의 내성을 피하기 위해 조합된다. 상기 측면에서, 일반적으로 다른 항박테리아제와 조합한 리팜피신은 뼈 및 관절 감염의 치료에서 매력적인 결과를 가져왔다 (문헌 [Darley and McGowan, J. Antimicrob. Chemother. (2004) 53, 928-935; Widmer et al, Clin. Infect. Dis. (1992) 14, 1251-1253]).

[0006] 비스포스포네이트는 매우 특성화된 골-탐색제이다. 이들 화합물은, 뼈조직을 형성하는 수산화인회석 무기질에서 발견되는 Ca^{2+} 이온을 결합하는 그의 능력 때문에 뼈에 대한 친화력이 높은 것으로 알려져 있다 (문헌 [Hirabayashi and Fujisaki, Clin. Pharmacokinet. (2003) 42(15):1319-1330]). 따라서, 많은 여러 가지 유형의 비스포스포네이트-접합 화합물이 단백질 (문헌 [Uludag et al., Biotechnol Prog. (2000) 16:1115-1118]), 비타민 (US 6,214,812, US 2003/0129194 및 WO 02/083150), 티로신 키나제 억제제 (WO 01/44258 및 WO 01/44259), 호르몬 (US 5,183,815 및 US 2004/0116673) 및 뼈 스캔제(bone scanning agent) (US 4,810,486)를

포함한, 뼈에 대해 선택적인 표적 약물용으로 제조되어 왔다. 이들 및 기타 비스포스포네이트 유도체는 골질환, 예컨대 관절염 (US 4,746,654), 골다공증 (US 5,428,181 및 US 6,420,384), 고칼슘혈증 (US 4,973,576) 및 골암 (US 6,548,042) 치료제로서 사용되어 왔다.

[0007] 항생제의 표적화된 전달을 위한 많은 전략이 또한 연구되어 왔다 (US 5,900,410, US 2002/0142994, US 2004/0033969, US 2005/026864). 항생제의 골-표적화 전달을 위해, 일부는 비스포스포산화-항생제의 사용을 제안해왔다. 그러나, 테트라시클린, β -락탐 및 플루오로퀴놀론을 포함한 소수의 화합물만이 실제로 합성되었다 (US 5,854,227; US 5,880,111; DE 195 32 235; 문헌 [Pieper and Keppler, Phosphorus, Sulfur and Silicon (2001) 170:5-14]; 및 [Herczegh et al. J. Med. Chem (2002) 45:2338-41]). 또한, 이들 화합물 중 어떤 것도 생체내 투여나, 임의의 골-표적 활성을 나타내지 않았다.

[0008] 지난 수년 동안 이루어진 진보에도 불구하고, 골-특이적 전달은 뼈의 독특한 해부학적 특징에 의해 여전히 제한적이었다. 비스포스포네이트 개질이 가능성 있는 방법이지만, 치료상 최적화된 비스포스포네이트 유도체는 화합물-대-화합물에 기초하여 고안되고 최적화되어야 한다는 것이 수십년 간의 진보로 증명되었기 때문에, 성공이 확실하지 않다 (문헌 [Hirabasashi and Fujisaki, Clin Pharmacokinet (2003), 42(15):1319-1330]).

[0009] 상기의 관점에서, 뼈 및 관절 감염의 저지 및 치료를 위한 보다 양호한 투여성 약물이 요구된다. 보다 특히, 뼈에 시간-제어된 (또는 지속된) 및 공간-제어된 (또는 표적화된) 약물 전달을 달성할 수 있는 고 활성 포스포산화 리파마이신 유도체가 요구된다.

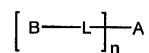
[0010] 본 발명은 상기 요구, 및 하기 명세서 정독시 당업자에게 명백해질 기타 요구 등을 충족시킨다.

[0011] 발명의 개요

[0012] 본 발명은 뼈 결합에 친화력이 있는 향균 화합물에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명은 포스포산화 리파마이신에 관한 것이다. 이들 화합물은 뼈 및 관절 감염의 예방 및/또는 치료, 특히 골수염의 예방 및/또는 치료용 항생제로서 유용하다.

[0013] 일 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 화학식 I, 또는 그의 제약상 허용가능한 염 또는 전구약물로 나타내어진다.

화학식 I



[0014]

식 중,

[0015]

B는 포스포산화기이고;

[0016]

L은 B를 A에 커플링하기 위한 절단가능한 연결기이고;

[0017]

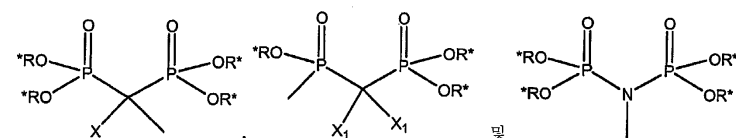
n은 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7, 바람직하게는 1, 2 또는 3이며;

[0018]

A는 리파마이신이다.

[0019]

[0020] 바람직한 실시양태에서, B는 골조직에 대해 친화력이 높은 포스포산화기이다. 바람직하게는, B는 비스포스포네이트이다. 보다 바람직하게는, B는 하기 화학식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 비스포스포네이트이다.



[0021]

식 중,

[0022]

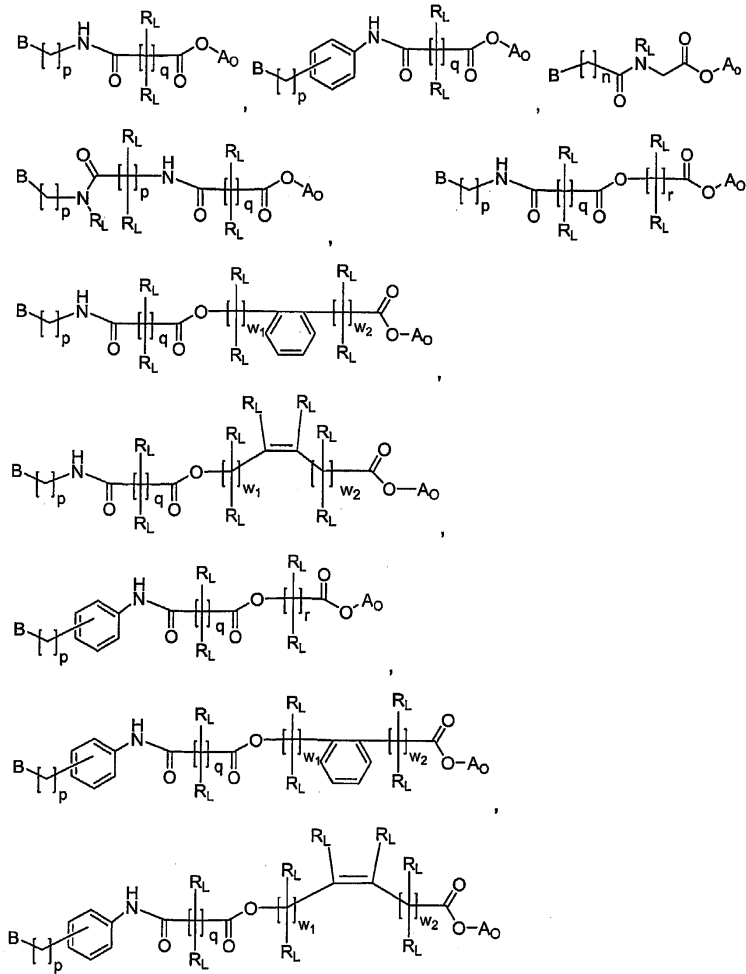
[0023] 각각의 R*은 H, 저급 알킬, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 단 2개 이상의 R*이 H이고;

[0024] X는 H, OH, NH₂ 또는 할로기이며;

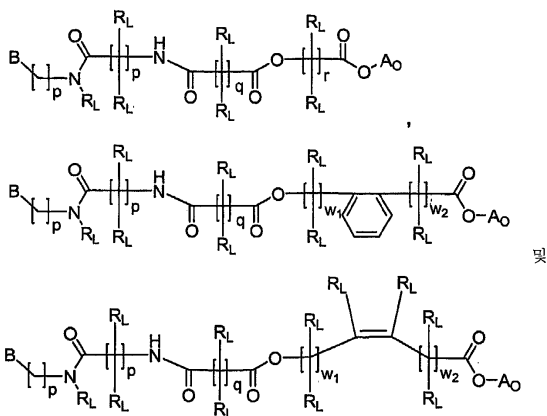
[0025] X_1 은 둘 다 H이거나, 또는 각각 H, OH, NH_2 및 할로기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0026] 또다른 바람직한 실시양태에서, L은 B를 A에 공유 결합 및 가역적으로 커플링하기 위한 절단가능한 연결기이다.

[0027] 바람직하게는, L은 A 상의 하나 이상의 히드록실기를 통해, A 상의 하나 이상의 질소 원자를 통해, 또는 A 상의 하나 이상의 히드록실기 및 하나 이상의 질소 원자를 통해 B를 A에 커플링한다. L이 A 상의 하나 이상의 히드록실기를 통해 B를 A에 커플링하는 경우, 바람직하게는 L은 하기 연결기 중 하나이다.



[0028]



[0029]

[0030] 식 중,

[0031] n은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0032] 각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1

이고;

[0033] q는 2 또는 3이고;

[0034] r은 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

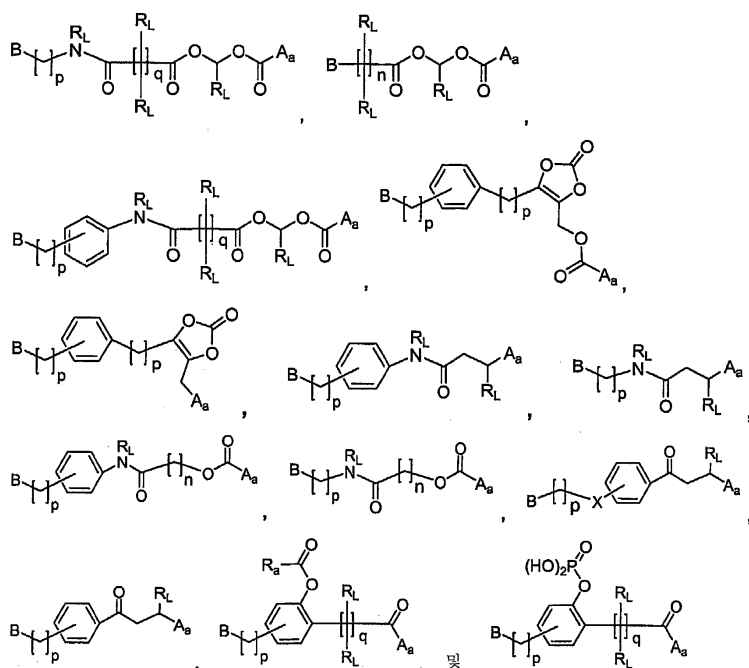
[0035] w_1 및 w_2 는 ($w_1 + w_2$)의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이고;

[0036] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

[0037] B는 포스폰산화기를 나타내며;

[0038] 연결기의 하위구조 A_0  는 A의 히드록실 잔기를 나타낸다.

[0039] L이 A 상의 질소 원자를 통해 B를 A에 커플링하는 경우, 바람직하게는 L은 하기 연결기 중 하나이다.



[0040]

[0041] 식 중,

[0042] n은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0043] 각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0044] q는 2 또는 3이고;

[0045] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

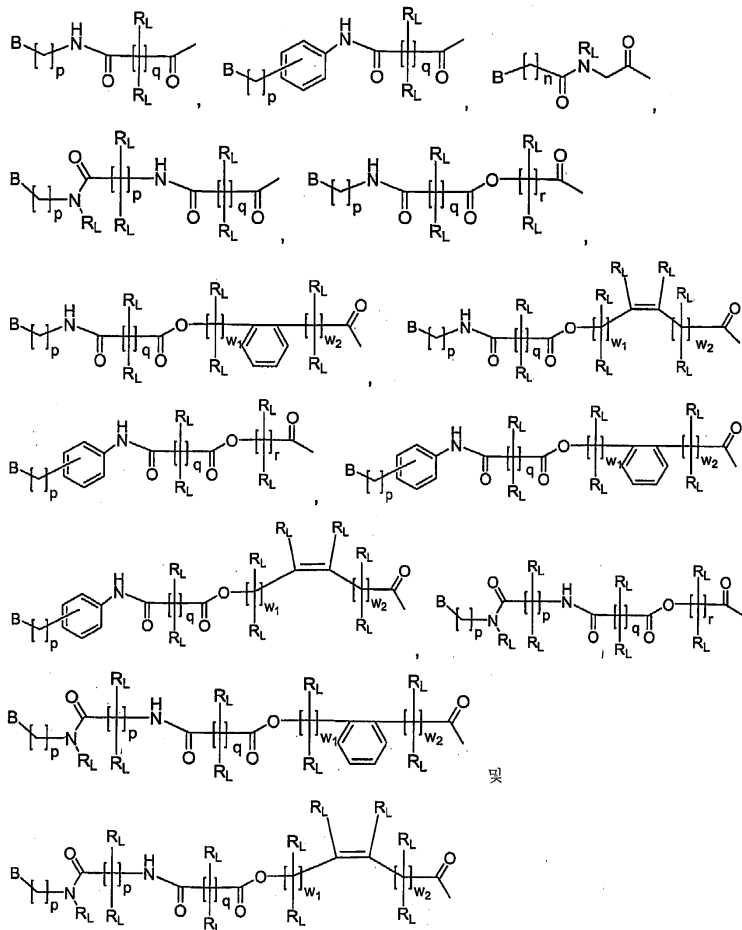
[0046] R_a 는 C_xH_y 이고, 여기서 x는 0 내지 20의 정수이고, y는 1 내지 $2x+1$ 의 정수이고;

[0047] X는 CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$ 또는 $-CO-O-$ 이고;

[0048] B는 포스폰산화기를 나타내며;

[0049] A_a 는 A 상의 질소 원자를 나타낸다.

[0050] 더 바람직한 실시양태에서, B-L- 중 하나 이상은 리파마이신 A 상의 히드록실 관능기에 커플링된다. 바람직하게는, B-L-이 히드록실 관능기와 커플링된 경우, B-L-은 하기 화학식 중 하나이다.



[0051]

[0052]

[0053]

[0054]

[0055]

[0056]

[0057]

[0058]

[0059]

[0060]

식 중,

B는 포스폰산화기를 나타내고;

각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

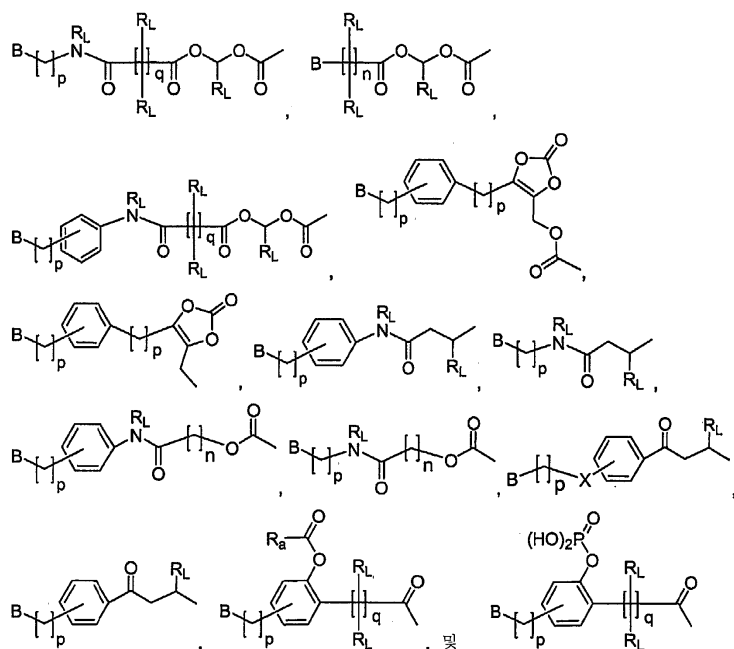
q 는 2 또는 3이고;

n 은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

r 은 1, 2, 3, 4 또는 5이며;

w_1 및 w_2 는 각각 ($w_1 + w_2$)의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이다.

더 바람직한 실시양태에서, B-L- 중 하나 이상은 리파마이신 A 상의 질소 원자에 커플링된다. 바람직하게는, B-L-이 질소 원자에 커플링된 경우, B-L-은 하기 화학식 중 하나이다.



[0061]

[0062]

[0063]

[0064]

[0065]

[0066]

[0067]

[0068]

[0069]

[0070]

식 중,

B는 상기 포스폰산화기를 나타내고;

n은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

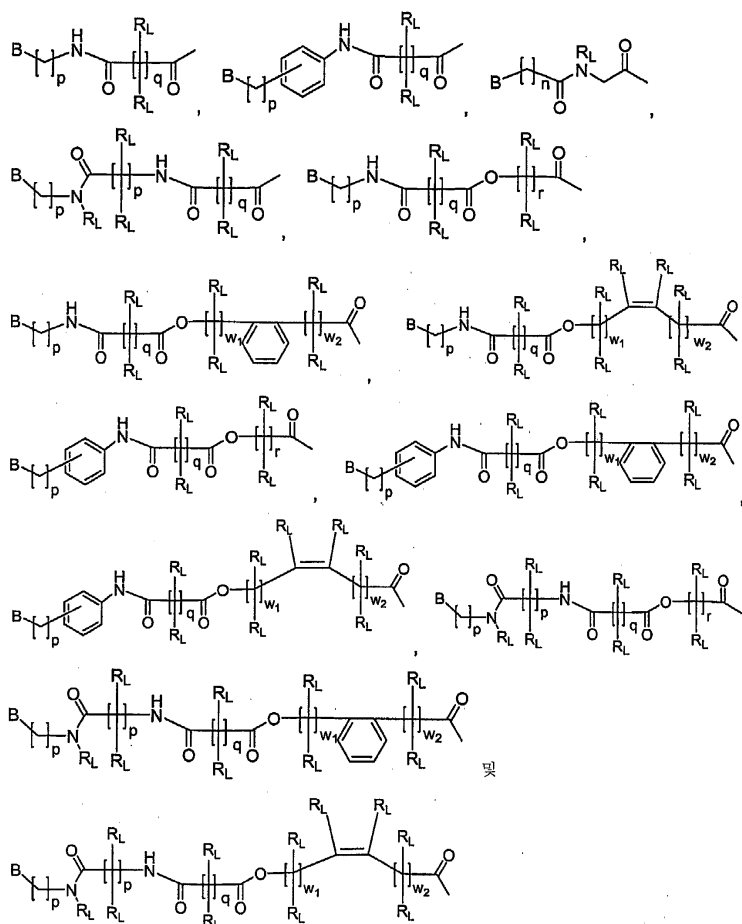
각각의 R_L은 H, 에틸 및 메틸, 바람직하게는 H로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

q는 2 또는 3이고;

X는 CH₂, -CONR_L-, -CO-O-CH₂- 또는 -CO-O-이며;

R_a는 C_xH_y이고, 여기서 x는 0 내지 20의 정수이고, y는 1 내지 2x+1의 정수이다.

추가로 바람직한 실시양태에서, n은 2 내지 7의 정수이고, B-L- 중 하나 이상은 리파마이신 A 상의 히드록실 관능기에 커플링되고, B-L- 중 하나 이상은 리파마이신 A 상의 질소 원자에 커플링된다. 바람직하게는, B-L-이 히드록실 관능기에 커플링된 경우, B-L-은 하기 화학식 중 하나이다.



[0071]

[0072]

식 중,

[0073]

B는 포스폰산화기를 나타내고;

[0074]

각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0075]

각각의 R_i은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

[0076]

q 는 2 또는 3이고;

[0077]

n 은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

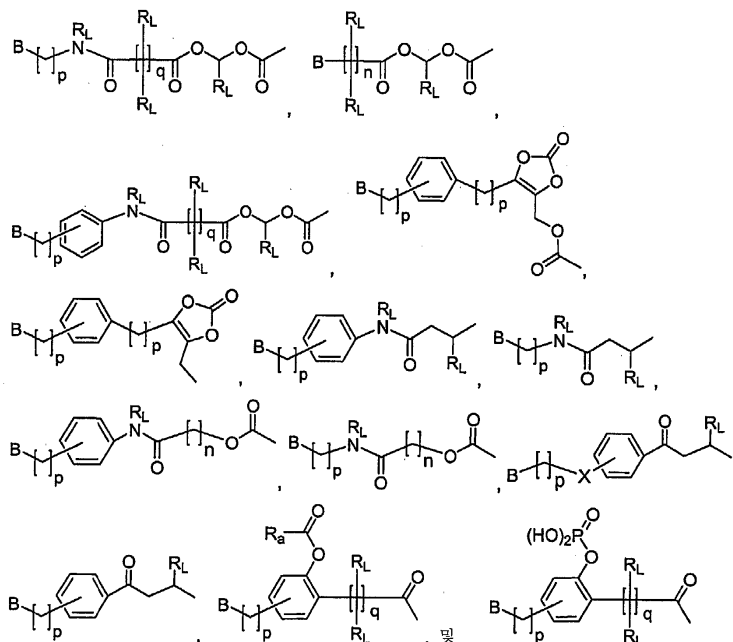
[0078]

r 은 1, 2, 3, 4 또는 5이며;

[0079]

w_1 및 w_2 는 각각 $(w_1 + w_2)$ 의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이다.

[0080] 바람직하게는, B-L-이 질소 원자에 커플링된 경우, B-L-은 하기 화학식 중 하나이다.



[0081]

[0082] 식 중,

[0083] B는 상기 포스폰산화기를 나타내고;

[0084] n은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0085] 각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0086] 각각의 R_L은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

[0087] q는 2 또는 3이고;

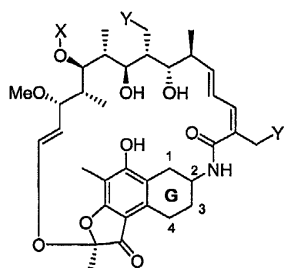
[0088] X는 CH₂, -CONR_L-, -CO-O-CH₂- 또는 -CO-O-이며;

[0089] R_a는 C_xH_y이고, 여기서 x는 0 내지 20의 정수이고, y는 1 내지 2x+1의 정수이다.

[0090] 더 바람직한 실시양태에서, n은 1, 2 또는 3이다.

[0091] 바람직하게는, 리파마이신 A는 하기 화학식 A1로 나타낸 구조를 갖는다.

화학식 A1



[0092]

[0093] 식 중,

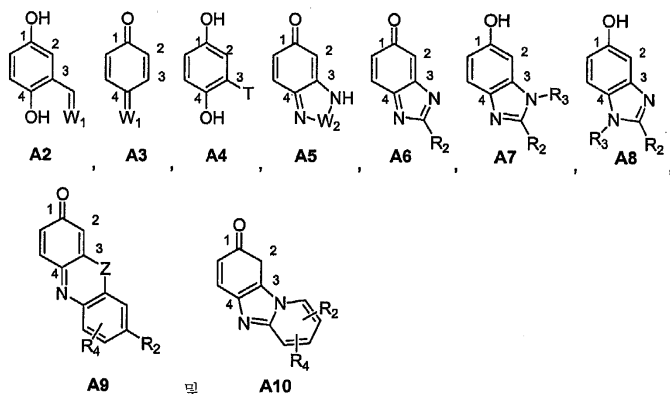
[0094] X는 H- 또는 R₁CO-이고, 여기서 R₁은 1 내지 6개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0095] 각각의 Y는 H- 및 RO-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R은 H-, R₁- 또는 R₁CO-이고, R₁은

상기에서 정의된 바와 같고;



[0096] 는 하기 화학식 A2 내지 A10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.



[0097]

[0098] 식 중,

[0099] R_2 는 H-, 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 디알킬 아미노기이고, 바람직하게는 상기 디알킬 아미노기는 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 또는 치환된 피페라진이고;

[0100] R_3 는 H- 또는 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0101] R_4 는 히드록실기, 술타히드릴기 또는 1 내지 3개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0102] W_1 은 산소 또는 $-NR_2$ 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;

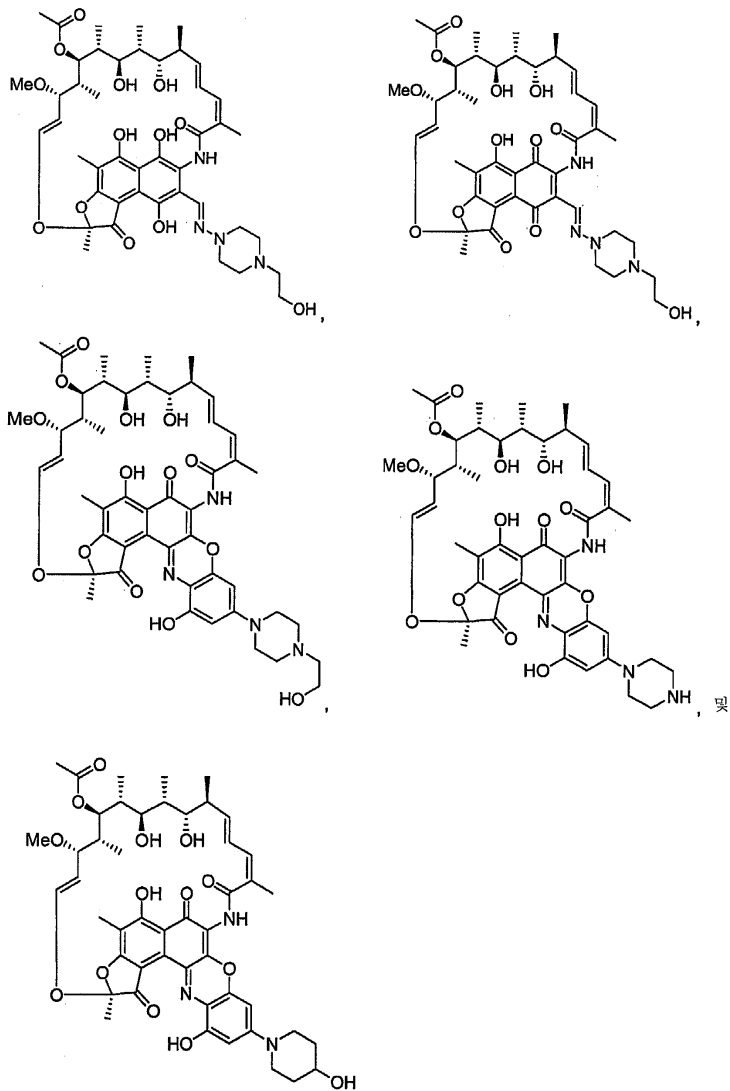


[0103] W_2 는 (식 중, R_5 및 R_6 은 독립적으로 H- 또는 1 내지 5개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고, Z' 는 산소 원자, 황 원자, 치환된 메틸렌, 카르보닐, $-NR_1$ 또는 $-N(O)R_1$ 이고, 여기서 R_1 은 상기에서 정의된 바와 같음)를 포함한 치환 또는 비치환된 메틸렌이고;

[0104] T는 할로겐 또는 R_2 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같으며;

[0105] Z는 O, S 또는 NR_3 이고, 여기서 R_3 은 상기에서 정의된 바와 같다.

[0106] 보다 바람직하게는, 리파마이신 A는 하기 화학식 중 하나로 나타낸 구조 또는 그의 항균 유도체를 갖는다.

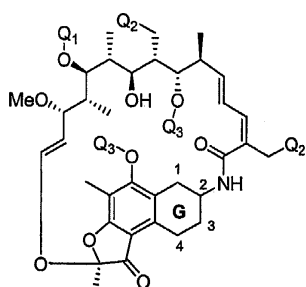


[0107]

[0108] 또한 바람직하게는, 리파마이신 A는 리팜피신, 리파펜틴, 리파부틴, 리팔라질, 리팜시민, 리판딘 또는 이들 화합물 중 하나의 항균 유도체이다.

[0109] 또다른 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 화학식 II, 또는 그의 제약상 허용가능한 염 또는 전구약물로 나타내어진다.

화학식 II



[0110]

[0111] 식 중,

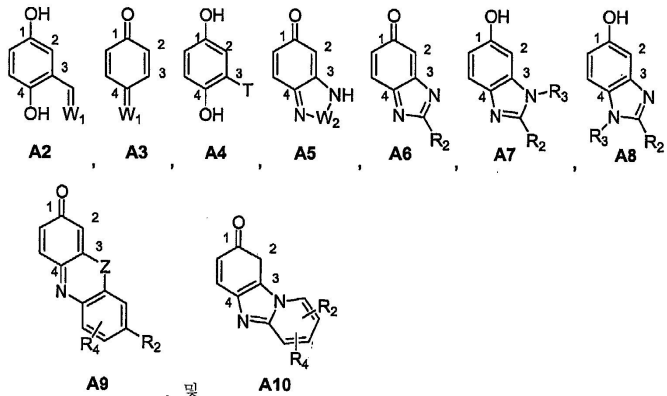
[0112] Q₁은 H-, R₁CO- 또는 L₁-이고, 여기서 R₁은 1 내지 6개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0113] 각각의 Q_2 는 H-, RO^- 및 L_2O^- 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R은 H-, R_1^- 또는 R_1CO^- 이고, R_1 은 상기에서 정의된 바와 같고;

[0114] 각각의 Q_3 은 H- 및 L_3^- 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;



[0115] 는 하기 화학식 A2 내지 A10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.



[0116]

[0117] 식 중,

[0118] R_2 는 H-, 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 디알킬 아미노기이고, 바람직하게는 상기 디알킬 아미노기는 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 또는 치환된 피페라진이고, 여기서 R_2 가 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환된 알킬 쇠, 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 또는 치환된 피페라진인 경우, 치환기는 L_4O^- , L_5S^- 및 $L_6NR_7^-$ 로 이루어진 군으로부터 선택되는 한 구성원이고, 여기서 R_7 은 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0119] R_3 은 H-, 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 L_7^- 이고;

[0120] R_4 는 히드록실기, 술폰히드릴기, 또는 1 내지 3개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠, L_8O^- 또는 L_9S^- 이고;

[0121] W_1 은 산소 또는 $-NR_2$ 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;



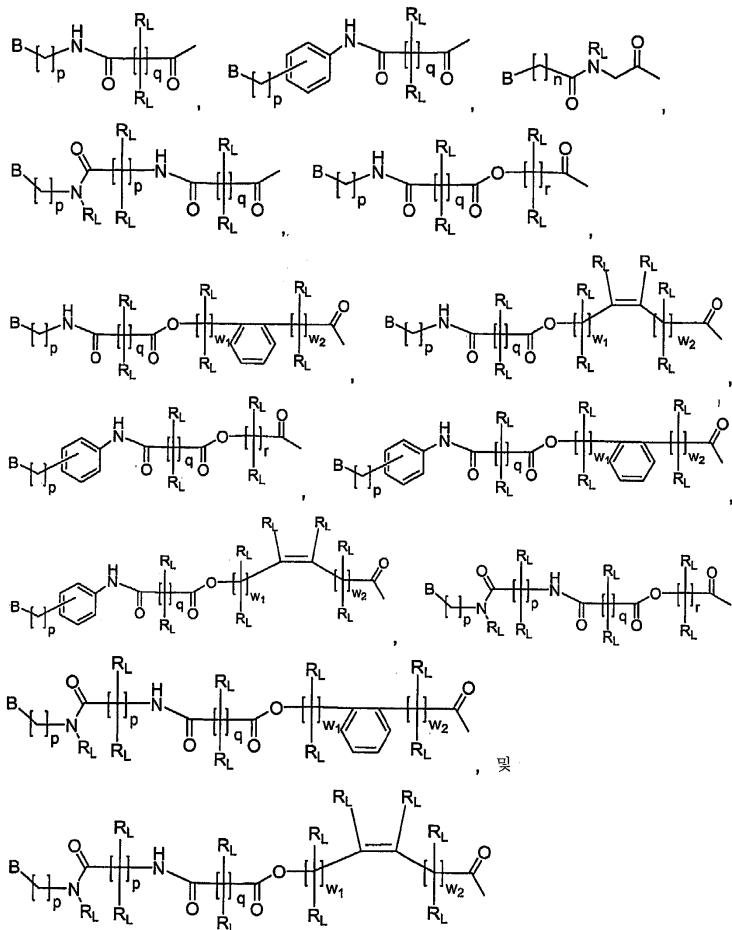
[0122] W_2 는 (식 중, R_5 및 R_6 은 독립적으로 H- 또는 1 내지 5개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고, Z' 는 산소 원자, 황 원자, 치환된 메틸렌, 카르보닐, $-NR_1$ 또는 $-N(O)R_1$ 이고, 여기서 R_1 은 상기에서 정의된 바와 같음)를 포함한 치환 또는 비치환된 메틸렌이고;

[0123] T는 할로젠 또는 R_2 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;

[0124] Z는 O, S 또는 NR_3 이고, 여기서 R_3 은 상기에서 정의된 바와 같고;

[0125] 여기서,

[0126] 상기 각각의 L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_8 및 L_9 는



[0127]

[0128] (식 중,

[0129] n 은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0130] 각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0131] q 는 2 또는 3이고;

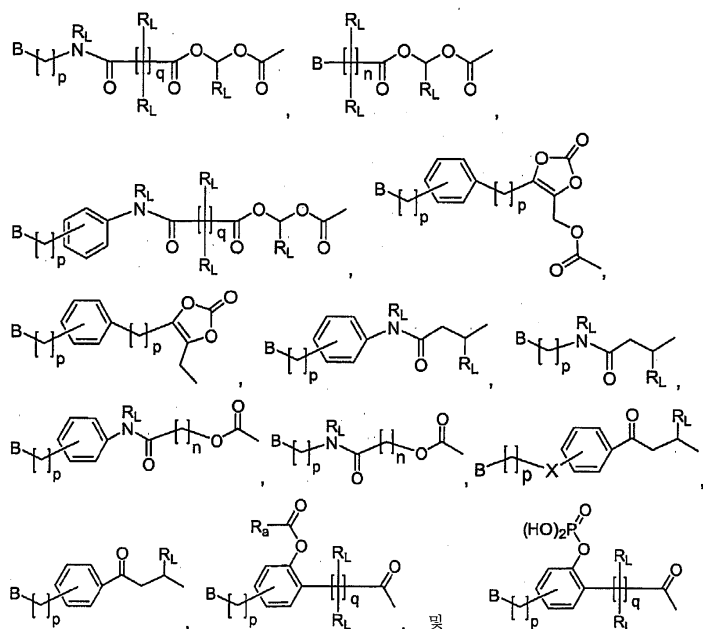
[0132] r 은 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

[0133] w_1 및 w_2 는 $(w_1 + w_2)$ 의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이고;

[0134] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H임)

[0135] 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 절단가능한 연결기이고,

[0136] 상기 각각의 L_6 및 L_7 은



[0137]

[0138] (식 중,

[0139] n 은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0140] 각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0141] q 는 2 또는 3이고;

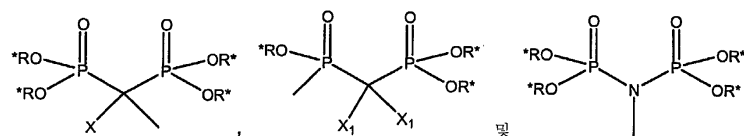
[0142] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

[0143] R_a 는 C_xH_y 이고, 여기서 x 는 0 내지 20의 정수이고, y 는 1 내지 $2x+1$ 의 정수이며;

[0144] X 는 CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$ 또는 $-CO-O-$ 임)

[0145] 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 절단가능한 연결기이며,

[0146] 여기서, B는 하기 화학식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 포스폰산화기이고



[0147]

[0148] (식 중,

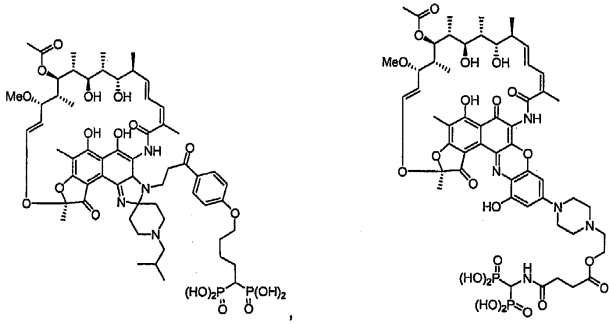
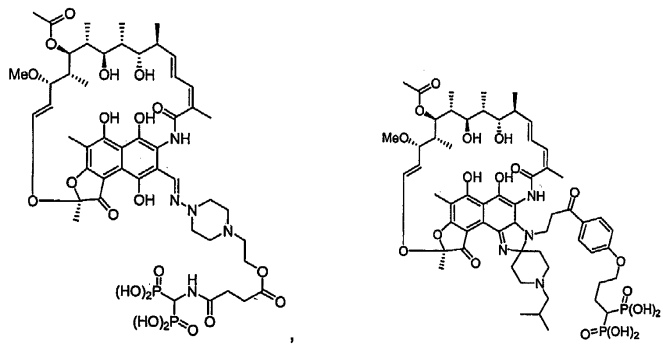
[0149] 각각의 R^* 은 H, 저급 알킬, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되되, 2개 이상의 R^* 가 H이고;

[0150] X 는 H, OH, NH_2 또는 할로기이고;

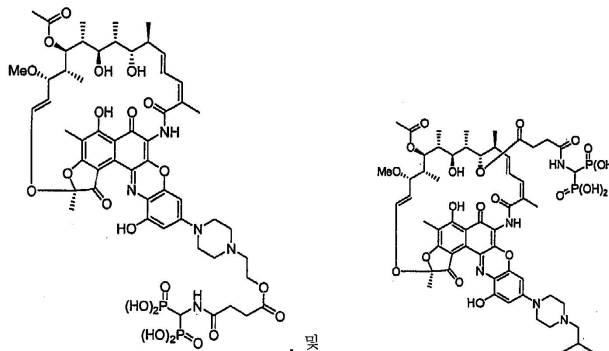
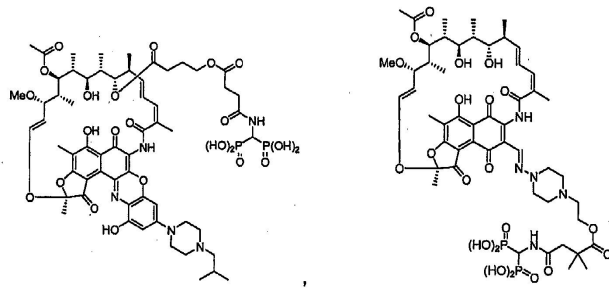
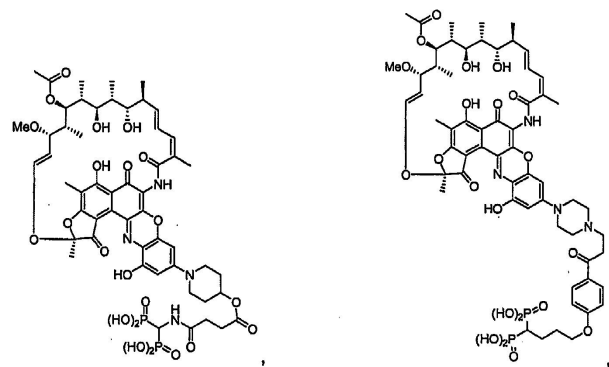
[0151] 각각의 X_1 은 H, OH, NH_2 및 할로기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨);

[0152] 단, L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_6 , L_7 , L_8 및 L_9 중 하나 이상이 존재한다.

[0153] 더 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기에 예시된 구조로부터 선택되는 구조 뿐만 아니라 그의 제약상 허용가능한 염 및 전구약물을 갖는다.



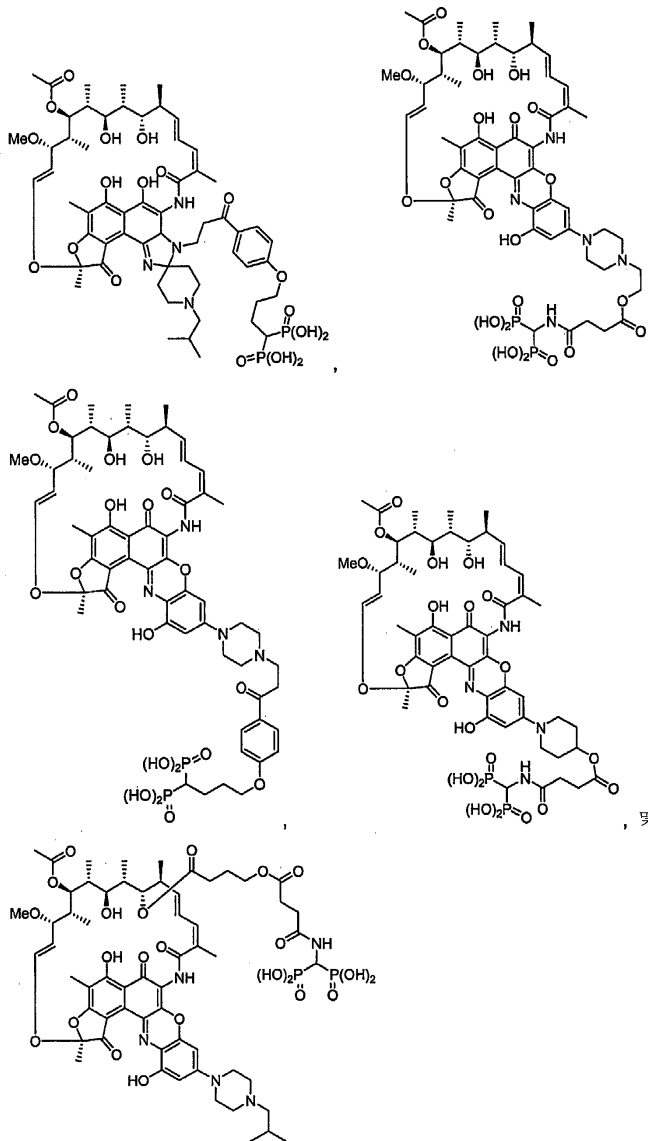
[0154]



[0155]

[0156]

본 발명의 특히 바람직한 화합물은 하기에 예시된 구조 중에서 선택된 구조 뿐만 아니라 그의 제약상 허용가능한 염 및 전구약물을 갖는다.



[0157]

[0158]

본 발명의 또다른 측면에서, 본원에서 정의된 1종 이상의 화합물 및 제약상 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물이 개시된다.

[0159]

본 발명은 또한, 제약상 유효량의 본원에서 정의된 1종 이상의 화합물 또는 본원에서 정의된 제약 조성물을 박테리아 감염 대상체 또는 다르게는 박테리아 감염 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 박테리아 감염을 치료하는 방법을 포함한다. 대상체는 동물체, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0160]

본 발명은 또한, 예방상 유효량의 본원에서 정의된 1종 이상의 화합물 또는 본원에서 정의된 제약 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 박테리아 감염을 예방하는 방법을 포함한다. 화합물 또는 제약 조성물의 예방상 유효량은 침습적 의학 치료 전에, 중에 또는 후에 대상체에게 투여될 수 있다. 대상체는 동물체, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0161]

본 발명은 또한, 제약상 유효량의 본원에서 정의된 1종 이상의 화합물 또는 본원에서 정의된 제약 조성물을 박테리아 감염 대상체 또는 다르게는 박테리아 감염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여함과 동시에 제2 치료제를 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 박테리아 감염을 치료하는 방법을 포함한다. 바람직하게는 제2 치료제는 항생제이다. 보다 바람직하게는, 제2 치료제는 테트라시클린, 테트라시클린 유도 항박테리아제, 글리실시클린, 글리실시클린 유도 항박테리아제, 미노시클린, 미노시클린 유도 항박테리아제, 옥사졸리디논 항박테리아제, 아미노글리코사이드 항박테리아제, 퀴놀론 항박테리아제, 반코마이신, 반코마이신 유도 항박테리아제, 테이코플라닌, 테이코플라닌 유도 항박테리아제, 에레모마이신, 에레모마이신 유도 항박테리아제,

클로로에레모마이신, 클로로에레모마이신 유도 항박테리아제, 다프토마이신 및 다프토마이신 유도 항박테리아제로 이루어진 군으로부터 선택되는 항생제이다.

[0162] 본 발명은 또한, 본원에서 정의된 1종 이상의 화합물 또는 본원에서 정의된 제약 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체의 뼈 내에 리파마이신을 축적하는 방법을 제공한다. 대상체의 뼈 내에 리파마이신을 축적하는 이러한 방법은 또한 대상체의 뼈 내에 리파마이신의 존재를 연장시키는 데 사용될 수 있다. 각 경우, 대상체는 동물체, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간일 수 있다.

[0163] 본 발명의 추가 측면에서, 포스포산화 리파마이신, 바람직하게는 본원에서 정의된 화학식 I 및/또는 화학식 II의 포스포산화 리파마이신의 제조 방법이 제공된다.

[0164] 본 발명은 이점은 뼈에 대한 결합 친화력이 증가된 항균 화합물을 제공한다는 것이다. 본 발명은 또한 미충족 의료 수요에 대해 뼈 및 관절 감염의 저지 및 치료 방법을 제공한다.

[0165] 본 발명의 추가 목적, 이점 및 특징은, 본 발명을 예시하고 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 판단되어서는 안 되는, 첨부된 도면을 참고하여 하기 바람직한 실시양태의 비제한적인 기재를 읽을 때 보다 명백해질 것이다.

발명의 상세한 설명

[0175] A) 본 발명의 일반적인 개요

[0176] 본 발명은 포스포산화 리파마이신, 특히, 상기에서 정의되고 후술할 화학식 I 및 II에서 정의된 이들의 포스포산화 화합물을 개시하고 있다. 이들 화합물은 다수의 인간 및 가축 병원체에 대해 효과적인 유용한 항균제이다. 포스포산화기는 절단가능한 연결기를 통해 리파마이신에 가역적으로 커플링되어 있다.

[0177] 포스포산화 리파마이신이 합성되었고, 골물질에 대해 증가된 친화력을 갖는 것으로 증명되었다. 생체내에서, 이들 포스포산화 화합물은 비-포스포산화 동등물의 양보다 많은 양이 뼈 내에 축적된다. 뼈 내 리파마이신의 존재는 본 발명에 따른 포스포산화 리파마이신을 투여하여 연장될 수 있다. 또한, 뼈 감염에 대한 현저한 생체 내 보호는 본 발명에 따른 포스포산화 리파마이신을 적어도 감염 3일 전에 주사한 동물체에서 증명되었다. 따라서, 본 발명의 화합물은 뼈 및 관절-관련 감염 및 뼈-관련 질환, 예컨대 골수염의 예방 및/또는 치료에 특히 유용하다.

[0178] B) 정의

[0179] 특정 용어에 대해 본원에서 주어진 범위를 포함하여, 본 발명을 보다 명확하고 일관되게 이해하기 위해서, 하기의 일반적인 정의를 제공한다.

[0180] 용어 "알킬"은 명시된 탄소 원자 수를 갖거나 또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개 (바람직하게는 1 내지 6개)의 탄소 원자를 갖는 직쇄, 분지쇄, 시클릭 및 이들의 조합을 포함한 포화 지방족 기를 지칭한다. 알킬기의 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, t-부틸, n-펜틸, 네오펜틸, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로부틸메틸, 시클로부틸에틸, 시클로펜틸메틸, 시클로펜틸에틸 및 아다만틸과 같은 기를 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 시클릭 알킬기 (예를 들어, 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬)는 예컨대 시클로헵틸기 (이에 제한되지는 않음)와 같이 하나의 고리, 또는 예컨대 아다만틸기 또는 노르보르닐기 (이에 제한되지는 않음)와 같은 여러 개의 융합 고리로 이루어질 수 있다.

[0181] 용어 "알킬아릴"은 1, 2 또는 3개의 아릴기에 부착된, 지정된 탄소 원자 수를 갖는 알킬기를 지칭한다.

[0182] 용어 "N-알킬아미노카르보닐"은 R이 알킬기인 -C(O)NHR기를 지칭한다.

[0183] 용어 "N,N-디알킬아미노카르보닐"은 R_a 및 R_b가 각각 독립적으로 알킬기인 -C(O)NR_aR_b기를 지칭한다.

[0184] 용어 "알킬티오"는 R이 알킬기인 -SR기를 지칭한다.

[0185] 본원에서 사용된 용어 "알콕시"는 산소 원자에 연결되고, 명시된 탄소 원자 수를 갖거나 또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개 (바람직하게는 1 내지 6개)의 탄소 원자를 갖는 알킬, 알케닐 또는 알킬닐을 지칭한다. 알콕시기의 예로는 메톡시, 에톡시, tert-부톡시 및 알틸옥시기와 같은 기를 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "알콕시카르보닐"은 R이 알킬기인 -C(O)OR기를 지칭한다. 용어 "알킬술포닐"은 R이 알킬기인 -SO₂R기를 지칭한다.

[0186] 용어 "알킬렌"은 명시된 탄소 원자 수를 갖거나 또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개 (바람직하게는 1 내

지 6개)의 탄소 원자를 갖는 직쇄, 분지쇄, 시클릭 기 및 이들의 조합을 포함한 포화 2가 지방족기, 예를 들어 메틸렌, 에틸렌, 2,2-디메틸에틸렌, 프로필렌, 2-메틸-프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 시클로펜틸메틸렌 등을 의미한다.

[0187] 용어 "치환된 알킬"은 할로젠, 알킬, 아릴, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 모노 또는 디알킬아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 페닐, 벤질, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 하나 이상의 치환기, 바람직하게는 1 내지 3개의 치환기, 또는 본 발명의 목적을 위해 필요한 경우 보호기로 적절히 블록킹될 수 있는 관능기로 치환된 상기에서 정의된 알킬기를 의미한다. 페닐기는 할로젠, 알킬, 아릴, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 모노 또는 디알킬아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 벤질, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 1 내지 3개의 치환기로 임의로 치환될 수 있다. 치환된 알킬기의 예로는 $-CF_3$, $-CF_2CF_3$, 히드록시메틸, 1- 또는 2-히드록시에틸, 메톡시메틸, 1- 또는 2-에톡시에틸, 카르복시메틸, 1- 또는 2-카르복시에틸, 메톡시카르보닐메틸, 1- 또는 2-메톡시카르보닐 에틸, 벤질, 피리디닐메틸, 티오펜틸메틸, 이미다졸리닐메틸, 디메틸아미노에틸 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0188] 용어 "치환된 알킬렌"은 할로젠, 알킬, 아릴, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 모노 또는 디알킬아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 페닐, 벤질, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 하나 이상의 치환기, 바람직하게는 1 내지 3개의 치환기, 또는 본 발명의 목적을 위해 필요한 경우 보호기로 적절히 블록킹될 수 있는 관능기로 치환된 상기에서 정의된 알킬렌기를 의미한다. 페닐기는 할로젠, 알킬, 아릴, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 모노 또는 디알킬아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 벤질, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 1 내지 3개의 치환기로 임의로 치환될 수 있다. 치환된 알킬렌기의 예로는 $-CF_2-$, $-CF_2CF_2-$, 히드록시메틸렌, 1- 또는 2-히드록시에틸렌, 메톡시메틸렌, 1- 또는 2-에톡시에틸렌, 카르복시메틸렌, 1- 또는 2-카르복시에틸렌 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0189] 용어 "알케닐"은 하나 이상의 이중 결합 ($-C=C-$)을 함유하는, 명시된 탄소 원자 수를 갖거나 또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개 (바람직하게는 1 내지 6개)의 탄소 원자를 갖는 직쇄, 분지쇄, 시클릭기 및 이들의 조합을 포함하는 불포화 지방족기를 지칭한다. 알케닐기의 예로는 알릴 비닐, $-CH_2-CH=CH-CH_3$, $-CH_2-CH_2-$ 시클로펜테닐 및 $-CH_2-CH_2-$ 시클로헥세닐 (에틸기가 임의의 이용가능한 탄소 원자가로 시클로펜테닐, 시클로헥세닐 잔기에 부착될 수 있음)을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0190] 용어 "알케닐렌"은 하나 이상의 이중 결합 ($-C=C-$)을 함유하는, 명시된 탄소 원자 수를 갖거나 또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개 (바람직하게는 1 내지 6개)의 탄소 원자를 갖는 직쇄, 분지쇄, 시클릭기 및 이들의 조합을 포함하는 불포화 2가 지방족기를 지칭한다. 알케닐렌기의 예로는 $-CH=CH-$, $-CH_2-CH=CH-CH_2-$, $-CH_2-CH$ (시클로펜테닐)- 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0191] 용어 "알키닐"은 하나 이상의 삼중 결합 ($-C\equiv C-$)을 함유하는, 명시된 탄소 원자 수를 갖거나 또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개 (바람직하게는 1 내지 6개)의 탄소 원자를 갖는 직쇄, 분지쇄, 시클릭기 및 이들의 조합을 포함하는 불포화 지방족기를 지칭한다. 알키닐기의 예로는 아세틸렌, 2-부티닐 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0192] 용어 "알키닐렌"은 하나 이상의 삼중 결합 ($-C\equiv C-$)을 함유하는, 명시된 탄소 원자 수를 갖거나 또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개 (바람직하게는 1 내지 6개)의 탄소 원자를 갖는 직쇄, 분지쇄, 시클릭기 및 이들의 조합을 포함하는 불포화 2가 지방족기를 지칭한다. 알키닐렌기의 예로는 $-C\equiv C-$, $-C\equiv C-CH_2-$ 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0193] 용어 "치환된 알케닐" 또는 "치환된 알키닐"은 할로젠, 알킬, 아릴, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 페닐, 벤질, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 하나 이상의 치환기, 또는 본 발명의 목적을 위해 필요한 경우 보호기로 적절히 블록킹될 수 있는 관능기로 치환된 상기에서 정의된 알케닐 및 알키닐기를 지칭한다. 치환된 알케닐 및 알키닐기의 예로는 $-CH=CF_2$, 메톡시에테닐, 메톡시프로페닐, 브로모프로페닐 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

- [0194] 용어 "치환된 알케닐렌" 또는 "치환된 알킬닐렌"은 할로젠, 알킬, 아릴, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 페닐, 벤질, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 하나 이상의 치환기, 또는 본 발명의 목적을 위해 필요한 경우 보호기로 적절히 블록킹될 수 있는 관능기로 치환된 상기에서 정의된 알케닐렌 및 알킬닐렌기를 지칭한다.
- [0195] 용어 "아릴" 또는 "Ar"은 단일 고리 (예컨대 페닐기를 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않음) 또는 다중 축합 고리 (예컨대 나프틸 또는 안트릴을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않음)를 갖는 6 내지 14개의 탄소 원자의 방향족 카르보시클릭기를 나타내고, 비치환된 및 치환된 아릴기를 모두 포함한다. 치환된 아릴은 알킬, 아릴, 알케닐, 알킬닐, 할로젠, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 모노 또는 디알킬아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 페닐, 아릴옥시, 벤질, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 하나 이상의 치환기, 바람직하게는 1 내지 3개의 치환기, 또는 본 발명의 목적을 위해 필요한 경우 보호기로 적절히 블록킹될 수 있는 관능기로 치환된 아릴기이다. 대표예로는 나프틸, 페닐, 클로로페닐, 요오도페닐, 메톡시페닐, 카르복시페닐 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "아릴옥시"는 고리 탄소 중 하나가 산소 원자와 연결된 아릴기를 지칭한다. 아릴옥시기의 예로는 페녹시, 2-, 3- 또는 4-메틸페녹시기 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "아릴티오기"는 R_c가 아릴기인 -SR_c기를 지칭한다. 용어 "헤테로아릴티오기"는 R_d가 헤테로아릴인 -SR_d기를 지칭한다.
- [0196] 용어 "아릴렌"은 상기에서 정의된 아릴 (치환된 아릴 포함)로부터 유도된 2가의 기를 지칭하고, 예로는 1,2-페닐렌, 1,3-페닐렌, 1,4-페닐렌, 1,2-나프틸렌 등이 있다.
- [0197] 용어 "아미노"는 -NH₂기를 지칭한다.
- [0198] 용어 "N-알킬아미노" 및 "N,N-디알킬아미노"는 각각 R 및 R'이 독립적으로 본원에서 정의된 알킬기를 나타내는 -NHR 및 -NRR'기를 의미한다. 대표예로는 N,N-디메틸아미노, N-에틸-N-메틸아미노, N,N-디(1-메틸에틸)아미노, N-시클로헥실-N-메틸아미노, N-시클로헥실-N-에틸아미노, N-시클로헥실-N-프로필아미노, N-시클로헥실메틸-N-메틸아미노, N-시클로헥실메틸-N-에틸아미노 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0199] 용어 "티오알콕시"는 R이 상기에서 정의된 알킬인 -SR기, 예를 들어 메틸티오, 에틸티오, 프로필티오, 부틸티오 등을 의미한다.
- [0200] 용어 "아실기"는 R이 수소, 할로젠, 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 알콕시, 아릴옥시, N-알킬아미노, N,N-디알킬아미노, N-아릴아미노, 티오알콕시, 티오아릴옥시 또는 치환된 알킬이고, 여기서 알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 치환된 알킬은 상기에서 정의된 바와 같은 -C(O)R기를 의미한다.
- [0201] 용어 "티오아실기"는 R이 수소, 할로젠, 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 알콕시, 아릴옥시, N-알킬아미노, N,N-디알킬아미노, N-아릴아미노, 티오알콕시, 티오아릴옥시 또는 치환된 알킬이고, 여기서 알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 치환된 알킬은 상기에서 정의된 바와 같은 -C(S)R기를 의미한다.
- [0202] 용어 "술포닐기"는 R이 수소, 할로젠, 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 알콕시, 아릴옥시, N-알킬아미노, N,N-디알킬아미노, N-아릴아미노, 티오알콕시, 티오아릴옥시 또는 치환된 알킬이고, 여기서 알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 치환된 알킬은 상기에서 정의된 바와 같은 -SO₂R기를 의미한다.
- [0203] 용어 "아실옥시"는 R이 수소, 또는 상기에서 정의된 바와 같은 알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 치환된 알킬인 -OC(=O)R기를 의미한다. 대표예로는 포르밀옥시, 아세틸옥시, 시클로헥실카르보닐옥시, 시클로헥실메틸카르보닐옥시, 벤조일옥시, 벤질카르보닐옥시 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0204] 용어 "헤테로알킬", "헤테로알케닐" 및 "헤테로알킬닐"은 기 중 주쇄, 분지쇄 또는 시클릭쇄의 일부로서 하나 이상의 헤테로원자, 바람직하게는 1 내지 3개의 헤테로원자를 함유하는, 명시된 탄소 원자 수 (또는 수가 명시되지 않은 경우 1 내지 12개의 탄소 원자, 바람직하게는 1 내지 6개의 탄소 원자를 가짐)를 함유하는 상기에서 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐 및 알킬닐기를 각각 지칭한다. 헤테로원자는 -NR-, -NRR-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -O-, -SR-, -S(O)R-, -S(O)₂R-, -OR-, -PR-, -PRR-, -P(O)R- 및 -P(O)RR (여기서, 각각의 R은 수소, 알킬 또는 아릴임)로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 바람직하게는 -NR (여기서, R은 수소 또는 알킬임) 및/또는 O이다. 헤테로알킬, 헤테로알케닐 및 헤테로알킬닐기는 헤테로 원자 (원자가가 이용가능한 경우) 또는 탄소 원자에서 분자의 나머지 부분에 부착될 수 있다. 헤테로알킬기의 예로는 -O-CH₃, -CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-O-

CH_3 , $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{S}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, 1-에틸-6-프로필피페리디노, 2-에틸티오펜, 피페라지노, 피롤리디노, 피페리디노, 모르폴리노 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 헤테로알케닐기의 예로는 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0205] 용어 "헤테로아릴" 또는 "HetAr"은 고리 내에 N, O, P 또는 S와 같은 헤테로원자를 비롯한 (이에 제한되지는 않음) 1, 2, 3, 4 또는 5개의 헤테로원자, 바람직하게는 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함하는, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18-원 고리 원자를 함유하는 방향족 1가 모노시클릭, 비시클릭 또는 트리시클릭 기를 지칭한다. 대표예로는 단일 고리, 예컨대 이미다졸릴, 피라졸릴, 피라지닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피롤릴, 피리딜, 티오펜 등, 또는 다중 축합 고리, 예컨대 인돌릴, 퀴놀린, 퀴나졸린, 벤즈이미다졸릴, 인돌리지닐, 벤조티에닐 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0206] 헤테로알킬, 헤테로알케닐, 헤테로알킬닐 및 헤테로아릴기는 알킬, 알케닐, 알킬닐, 벤질, 할로젠, 알콕시, 아실옥시, 아미노, 모노 또는 디알킬아미노, 히드록실, 메르캅토, 카르복시, 벤질옥시, 페닐, 아릴옥시, 시아노, 니트로, 티오알콕시, 카르복스알데히드, 카르보알콕시 및 카르복사미드로 이루어진 군으로부터 바람직하게 선택되는 하나 이상의 치환기, 바람직하게는 1 내지 3개의 치환기, 또는 본 발명의 목적을 위해 필요한 경우 보호기로 적절히 블록킹될 수 있는 관능기로 치환되거나 또는 비치환될 수 있다. 이러한 치환된 헤테로알킬기의 예로는, 질소 또는 탄소에서 페닐 또는 벤질기로 치환되고, 탄소 또는 질소 상의 임의의 이용가능한 원자가에 의해 분자의 나머지에 부착되는 피페라진, 피롤리딘, 모르폴린 또는 피페리딘, $-\text{NH}-\text{S}(=\text{O})_2$ -페닐, $-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})\text{O}$ -알킬, $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})\text{O}$ -알킬-아릴 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 기의 탄소 원자 뿐만 아니라 헤테로원자가 치환될 수 있다. 헤테로원자는 또한 산화된 형태일 수 있다.

[0207] 용어 "헤테로아릴렌"은 상기에서 정의된 바와 같은 헤테로아릴 (치환된 헤테로아릴 포함)로부터 유도된 2가의 기를 나타내고, 예로는 2,6-피리디닐렌, 2,4-피리디닐렌, 1,2-퀴놀리닐렌, 1,8-퀴놀리닐렌, 1,4-벤조푸라닐렌, 2,5-피리디닐렌, 2,5-인돌닐렌 등이 있다.

[0208] 용어 "헤테로알킬렌", "헤테로알케닐렌" 및 "헤테로알킬닐렌"은 상기에서 정의된 바와 같은 헤테로알킬, 헤테로알케닐 및 헤테로알킬닐 (치환된 헤테로알킬, 헤테로알케닐 및 헤테로알킬닐 포함)로부터 유도된 2가의 기를 지칭한다.

[0209] 용어 "카르복스알데히드"는 $-\text{CHO}$ 를 의미한다.

[0210] 용어 "카르보알콕시"는 R이 상기에서 정의된 알킬인 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$ 을 의미하고, 예컨대 메톡시카르보닐, 에톡시카르보닐기 등을 들 수 있다.

[0211] 용어 "카르복사미드"는 R 및 R'이 독립적으로 수소, 상기에서 정의된 바와 같은 아릴 또는 알킬인 $-\text{C}(=\text{O})\text{NHR}$ 또는 $-\text{C}(=\text{O})\text{NRR}'$ 을 의미한다. 대표예로는 아미노카르보닐, N-메틸아미노카르보닐, N,N-디메틸아미노카르보닐기 등을 들 수 있다.

[0212] 용어 "카르복시"는 $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 기를 지칭한다.

[0213] 용어 "카르바모일"은 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 기를 지칭한다.

[0214] 본원에서 사용된 용어 "할로젠" 또는 "할로"는 Cl, Br, F 또는 I 치환기, 바람직하게는 플루오로 또는 클로로를 지칭한다.

[0215] 용어 "히드록시"는 $-\text{OH}$ 기를 지칭한다.

[0216] "이성질체": 동일한 분자식 (또는 원소 조성)을 갖지만, 그의 원자 결합의 특성 또는 순서, 또는 공간 내 원자 배열이 상이한 화합물을 "이성질체"라 칭한다. 원자 간 연결성은 동일하지만 공간 내 원자 배열이 상이한 이성질체를 "입체이성질체"라 칭한다. 서로 간에 거울상이 아닌 입체이성질체를 "부분입체이성질체"라 칭하고, 서로 간에 포개어질 수 없는 거울상인 입체이성질체를 "거울상이성질체"라 칭한다. 화합물이 비대칭 중심을 갖는 경우, 예를 들어 4개의 상이한 기와 결합된 경우, 한 쌍의 거울상 이성질체가 가능하다. 거울상이성질체는 그의 비대칭 중심의 절대 배열로 특징지어질 수 있고, 칸, 인골드 및 프리로그(Cahn, Ingold and Prelog)의 R- 및 S-순서 규칙에 의해 기재되거나, 또는 분자가 편광면을 회전하는 방식에 의해 우선성 또는 좌선성 (즉, 각각 (+) 또는 (-)-이성질체)으로 나타내어진다. 키랄 화합물은 개별의 거울상이성질체로서 또는 그의 혼합물로서 존재할 수 있다. 동일 비의 거울상이성질체를 함유하는 혼합물을 "라세미 혼합물"이라 칭한다.

- [0217] 본 발명의 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 가질 수 있다. 따라서, 이러한 화합물은 개별의 (R)- 또는 (S)-입체이성질체, 또는 이들의 혼합물로서 생성될 수 있다. 예를 들어, 하기 실시예 단락에 기재된 화합물 9, 11 및 21에서 20, 22 및 24번 탄소는 각각 수소 원자, 메틸기 및 2개의 상이한 메틸렌 기에 연결되고, 이에 따라 상기 탄소는 비대칭 중심이다. 화합물 9, 11 및 21은 입체이성질체로서 존재할 수 있다. 달리 나타내지 않는 한, 본원 명세서 및 특허청구범위에서 특정 화합물의 기재 또는 명명은 개별의 거울상이성질체 및 이들의 혼합물, 라세미체 등을 모두 포함한다. 기재는 또한 모든 가능한 부분입체이성질체 및 이들의 혼합물을 포함한다. 입체 화학의 측정 및 입체이성질체의 분리 방법은 당업계에 공지되어 있다 (문헌 [discussion in Chapter 4 of "Advanced Organic Chemistry", 4th edition J. March, John Wiley and Sons, New York, 1992] 참조).
- [0218] "광학적으로 순수한": 당업자들이 일반적으로 알고 있는 바와 같이, 광학적으로 순수한 화합물은 거울상이성질체적으로 순수한 화합물이다. 본원에서 사용된 용어 "광학적으로 순수한"은 단일 거울상이성질체를 적어도 충분한 양 포함하여 목적하는 약리 활성을 갖는 화합물을 수득하는 화합물을 의미한다. 바람직하게는, "광학적으로 순수한"은 단일 이성질체를 90% (거울상이성질체 과잉율 80%) 이상, 바람직하게는 95% (거울상이성질체 과잉율 90%) 이상, 보다 바람직하게는 97.5% (거울상이성질체 과잉율 95%) 이상, 가장 바람직하게는 99% (거울상이성질체 과잉율 98%) 이상 포함하는 화합물을 의미한다. 바람직하게는 본 발명의 화합물은 광학적으로 순수하다.
- [0219] "보호기"는 1) 목적하는 관능기와 양호한 수율로 선택적으로 반응하여 보호가 요구되는 계획된 반응에 안정한 보호된 기질을 제공하고; 2) 상기 보호된 기질로부터 선택적으로 제거되어 목적하는 관능기를 얻을 수 있으며; 3) 이러한 보호 반응에서 존재하거나 생성된 다른 관능기와 상용성인 시약에 의해 양호한 수율로 제거될 수 있는 특성을 나타내는 화학기를 지칭한다. 적합한 보호기의 예는 문헌 [Greene et al. (1991) Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd Ed. (John Wiley & Sons, Inc., New York)]에서 찾을 수 있다. 바람직한 아미노 보호기로는 벤질옥시카르보닐 (CBz), t-부틸옥시카르보닐 (Boc), t-부틸디메틸실릴 (TBDMS), 9-플루오렌일메틸-옥시카르보닐 (Fmoc), 또는 적합한 광분해성 보호기, 예컨대 6-니트로베라트릴옥시 카르보닐 (Nvoc), 니트로피페로닐, 피레닐메톡시카르보닐, 니트로벤질, 디메틸 디메톡시벤질, 5-브로모-7-니트로인돌리닐 등을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 바람직한 히드록실 보호기로는 아세틸 (Ac), 벤조일 (Bz), 벤질 (Bn), 테트라히드로피라닐 (THP), TBDMS, 광분해성 보호기 (예컨대 니트로베라트릴 옥시메틸 에테르 (Nvom)), Mom (메톡시 메틸 에테르) 및 Mem (메톡시 에톡시 메틸 에테르)를 들 수 있다. 특히 바람직한 보호기로는 NPEOC (4-니트로페네틸옥시카르보닐) 및 NPEOM (4-니트로페네틸옥시-메틸옥시카르보닐)을 들 수 있다.
- [0220] "전구약물"은 처리되어 활성 약물 분자를 방출할 수 있는 화합물을 지칭한다. 본 발명에 따른 화학식 I 및 화학식 II의 화합물은 연결기 L을 절단하여 리파마이신을 방출할 수 있는 전구약물이다. 특히, 본 발명의 전구약물은 이러한 전구약물을 대상체에 투여시 생체내에서 활성 모약물 (즉, 본원에서 정의된 화학식 A1의 화합물)을 방출하는 화합물을 포함한다.
- [0221] "전구약물"은 또한 전구약물 프로세싱을 2회 이상 겪는 복잡한 전구약물 화합물을 포함한다. 상기 실시양태에 따라, 복잡한 전구약물은 프로세싱 후에 화학식 I 또는 화학식 II의 전구약물을 방출하고, 이는 차례로 절단되어 목적하는 리파마이신을 방출할 것이다.
- [0222] 본 발명에 따른 복잡한 전구약물 화합물은 포스폰산화 리파마이신에 존재하는 관능기, 예컨대 히드록시기 및 아미노기를 개질하여 제조할 수 있다. 복잡한 전구약물의 예로는 포스폰산화 리파마이신의 히드록시 관능기의 에스테르 (예를 들어, 아세테이트, 포르메이트 및 벤조에이트 유도체), 카르바메이트 (예를 들어, N,N-디메틸아미노카르보닐)를 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0223] "제약상 허용가능한 전구약물"은 대상체, 예컨대 포유동물, 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있는 제제 형태의 포스폰산화 리파마이신의 전구약물, 예컨대 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물의 전구약물을 의미한다. 예를 들어, 전구약물은 제약상 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 제제 형태일 수 있다.
- [0224] "제약상 허용가능한 활성 대사산물"은 본원에서 정의된 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물의 체내 대사를 통해 생성되는 약리 활성 생성물을 의미한다.
- [0225] "제약상 허용가능한 용매화물"은 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물의 생물학적 활성 성분의 생물학적 효과 및 특성을 유지하는 용매화물을 의미한다. 제약상 허용가능한 용매화물의 예로는 물, 이소프로판올, 에탄올, 메탄올, DMSO, 에틸 아세테이트, 아세트산 및 에탄올아민을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

- [0226] "제약상 허용가능한 담체 또는 부형제"는 대상체에게 투여할 수 있는 본 발명의 화합물의 제제에 사용될 수 있는 임의의 화합물, 용액, 물질 또는 재료를 의미한다. 특히, 본 발명의 담체 및 부형제는 일반적으로 안전하고, 비독성이며, 생물학적으로나 기타 바람직한 제약 조성물을 제조하는 데 유용한 담체 또는 부형제이고, 약리적으로 바람직한 프로파일을 나타낼 수 있고, 인간 제약용 뿐만 아니라 가축용으로 사용가능한 담체 및 부형제를 포함한다. 적합한 제약상 허용가능한 담체 및 부형제는 당업계에 공지되어 있고, 임상 상황이 정당화되는 경우 당업자가 결정할 수 있다. 희석액이 상기 용어 "담체 및 부형제"의 범위 내에 포함된다는 것을 당업자는 알 것이다. 적합한 담체 및 부형제의 예로는 염수, 완충 염수, 텍스트로오스, 물, 글리세롤, 에탄올, 보다 특히 (1) 인간 혈청 알부민 1 mg/ml 내지 25 mg/ml를 함유하는 pH 약 7.4의 돌베코 인산 완충 염수, (2) 0.9% 염수 (0.9% w/v NaCl), (3) 5% (w/v) 텍스트로오스 및 (4) 물을 들 수 있다.
- [0227] "제약상 허용가능한 염"은 대상체, 예컨대 포유동물, 바람직하게는 인간에게 투여할 수 있는 제제 형태의 포스폰산화 리파마이신의 염, 예컨대 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물의 염을 의미한다.
- [0228] "염": 본 발명의 포스폰산화 리파마이신은 염의 형태일 수 있다. 본 발명의 포스폰산화 리파마이신의 염은 본원에서 정의된 모 화합물의 유리산 및 유리염기의 생물학적 효과 및 특성을 유지 또는 개선시키거나, 분자 상고유의 하전된 관능성을 이용하고, 생물학적으로나 기타 바람직한 염을 의미한다. 이러한 염으로는 하기의 것들을 들 수 있다.
- [0229] (1) 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등; 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 프로피온산, 헥산산, 시클로헥탄프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 락트산, 말론산, 숙신산, 말산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 3-(4-히드록시벤조일)벤조산, 신남산, 만델산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 1,2-에탄-디술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 벤젠술폰산, 4-클로로벤젠술폰산, 2-나프탈렌술폰산, 4-톨루엔술폰산, 캄포르술폰산, 3-페닐 프로피온산, 트리메틸아세트산, 3차 부틸아세트산, 라우릴 황산, 글루콘산, 글루탐산, 히드록시나프토산, 살리실산, 스테아르산, 무콘산 등으로부터 형성된 산 부가염;
- [0230] (2) 모 화합물에 존재하는 산성 양성자가 금속 이온, 예를 들어 알칼리 금속 이온, 알칼리 토금속 이온 또는 알루미늄 이온으로 치환되거나, 또는 유기 염기, 예컨대 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민, N-메틸글루카민 등과 배위 결합할 때 형성되는 염;
- [0231] (3) 하전된 관능성이 분자 상에 존재하고, 적합한 반대 이온이 존재할 때, 예컨대 테트라알킬(아릴)암모늄 관능성 및 알칼리 금속 이온, 테트라알킬(아릴)포스포늄 관능성 및 알칼리 금속 이온, 이미다졸륨 관능성 및 알칼리 금속 이온 등이 존재할 때 형성되는 염.
- [0232] 본원에서 사용된 용어 "뼈", "뼈조직" 또는 "골조직"은 대다수 가축의 골격 대부분을 형성하는 조밀한 반 경질의 다공성 석회질 연결 조직을 지칭한다. 이는 또한 치아, 골-손발톱 조직, 및 죽상경화 혈관벽에서 종종 발견되는 석회화물을 포함한다.
- [0233] 본원에서 사용된 용어 "리파마이신"은 리파마이신 그 자체로 확인된 화합물 뿐만 아니라 리파마이신 화합물 부류 내에 포함된 것으로 당업자에 의해 이해된 항균 활성을 갖는 모든 유도체 화합물을 의미한다. 이들 유도체 화합물은 본원에서 "리파마이신 유도 항균 분자", "리파마이신 유도 분자", "리파마이신 유도 항박테리아제" 및 "리파마이신 유도체"로 다양하게 기재될 수 있다. 이러한 관련 용어는 동일한 의미를 가지며, 발명의 상세한 설명에 기재된 바와 같은 공지된 부류의 "리파마이신"의 일부인 항균제를 지칭한다. 이러한 유도체 화합물은 항균 (예를 들어, 항박테리아) 활성을 갖는 리파마이신의 화학 유사체이다. 이들 유도체는 리파마이신과 구조가 유사하지만, 또한 일반적으로 리파마이신으로 정의되지 않은 화학적 화합물을 포함한다는 것을 당업자는 알 것이다. 리파마이신 유도체로는 본 발명의 화학식 IA의 화합물을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다. 특정 예로는 리팜피신 (US 3,342,810), 리파펜틴 (US 4,002,752), 리판딘 (US 4,353,826), 리파부틴 (US 4,219,478), 리팔라질 (US 4,983,602) 및 리팍시딘 (US 4,341,785)을 들 수 있다.
- [0234] 용어 "포스폰산화기"는 3개 이상의 산소 원자에 결합된 1개 이상의 인 분자를 갖고, 후술할 골조직에 대해 측정 가능한 친화력을 갖는, 인간에게 비독성인 임의 화합물을 의미한다.
- [0235] 용어 "항박테리아"는 박테리아의 성장을 억제, 중지 또는 역전시키는 화합물, 박테리아 효소 또는 생화학적 경로의 활성을 억제, 중지 또는 역전시키는 화합물, 박테리아를 사멸 또는 손상시키는 화합물, 및 박테리아 감염의 진행을 막거나 느리게 하는 화합물을 포함한다.
- [0236] 용어 "치료하는" 및 "치료"는 포유동물, 예컨대 인간을 포함한 대상체에서 박테리아 감염과 관련된 질환 상태를

적어도 완화시키는 것을 의미하며, 이는 임의의 박테리아, 예컨대 그람 양성균 또는 그람 음성균의 성장, 복제 및/또는 증식의 감소로 질환을 완화시키고, 질환 상태의 전부 또는 일부를 치료, 치유, 억제, 경감, 개선 및/또는 완화시키는 것을 포함한다.

[0237] 용어 "예방"은 박테리아 감염과 관련된 질환 상태가 대상체, 예컨대 포유동물, 바람직하게는 인간에서 발생할 가능성을 적어도 감소시키는 것을 의미한다. 용어 "저지하는" 및 "저지"는 대상체, 예컨대 포유동물, 바람직하게는 인간에서 발생하는 박테리아 감염과 관련된 질환 상태를 막거나 중지시키는 것을 의미한다. 특히, 상기 용어들은 박테리아 감염, 예컨대 골 수복 또는 치환과 관련된 수술 중에 또는 후에 발생할 수 있는 박테리아 감염의 발생 가능성을 감소시키거나 ("예방") 저지하는 대상체의 치료와 관련된다. 상기 용어들은 또한 포유동물이 질환 상태에 걸리기 쉽지만, 아직 질환 상태에 걸린 것으로 진단되지는 않았을 때, 박테리아 감염의 가능성을 감소시키거나 ("예방") 저지하는 것을 포함한다. 예를 들어, 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 전구약물, 염, 활성 대사산물 또는 용매화물을 박테리아 감염 발생 전에 투여하여 대상체에서 박테리아 감염의 가능성을 감소시키거나 저지할 수 있다.

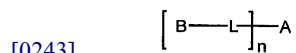
[0238] 용어 "대상체"는 동물체, 예컨대 조류 또는 인간을 포함한 포유동물, 및 수의학상 또는 농업상 중요한 동물체, 예컨대 개, 고양이, 말, 양, 염소 및 소를 의미한다.

[0239] C) 본 발명의 화합물

[0240] 하기 실시예 단락에서 후술할 바와 같이, 본 발명자는 골조직에 대한 결합 친화력이 높은 포스포산화 리파마이신을 제조하였다.

[0241] 일 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 화학식 I, 또는 그의 제약상 허용가능한 염 또는 전구약물로 나타내어진다.

[0242] <화학식 I>



[0244] 식 중,

[0245] B는 포스포산화기이고;

[0246] L은 B를 A에 커플링하기 위한 절단가능한 연결기이고;

[0247] n은 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7, 바람직하게는 1, 2 또는 3이며;

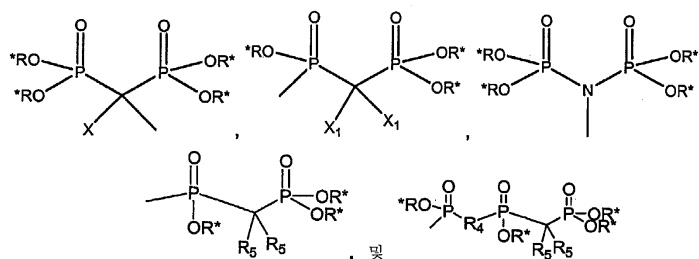
[0248] A는 리파마이신이다.

[0249] 상술한 바와 같이, 본 발명의 본질은, 절단가능한 연결기의 절단을 통한 리파마이신의 점진적인 방출 또는 빠르게 상기 화합물의 방출을 가능하게 하면서, 뼈에 대한 또는 뼈 내부에서 리파마이신의 친화력, 결합, 축적 및/또는 체류 시간을 증가시키기 위한, 절단가능한 연결기를 통해 리파마이신에 가역적으로 커플링된 포스포산화기의 존재에 있다.

[0250] 포스포네이트

[0251] 뼈조직을 형성하는 수산화인회석 무기질에서 발견되는 Ca^{2+} 이온을 결합하는 그의 능력 때문에 뼈에 대한 친화력이 높은 모든 비독성 포스포산화기가 본 발명에 따라 적합하다. 포스포산화기의 적합한 예는 WO 04/026315 (Ilex Oncology Research), US 6,214,812 (MBC Research), US 5,359,060 (Pfizer), US 5,854,227 및 US 6,333,424 (Elizano Pharm.), US 6,548,042 (Arstad and Skattelbol) 및 WO 2004/089925 (Semaphore Pharmaceuticals)에서 찾을 수 있다.

[0252] 본 발명에 적합한 비스포스포네이트 및 트리스포스포네이트 기의 예로는 하기 화학식의 화합물을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.



[0253]

[0254]

식 중,

[0255]

각각의 R^* 은 H, 저급 알킬, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 단, 2개 이상, 바람직하게는 3개의 R^* 은 H이고;

[0256]

R_4 는 CH_2 , O, S 또는 NH이고;

[0257]

각각의 R_5 는 H, R_6 , OR_6 , NR_6 및 SR_6 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R_6 은 H, 저급 알킬, 시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 NH_2 이고;

[0258]

X는 H, OH, NH_2 또는 할로기이며;

[0259]

X_1 은 둘 다 H이거나, 또는 각각 H, OH, NH_2 및 할로기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0260]

모노포스포네이트, 비스포스포네이트 및 트리스- 또는 테트라포스포네이트를 잠재적으로 사용할 수 있지만, 비스포스포네이트가 바람직하다. 보다 바람직하게는, 비스포스포네이트기는 비스포스포네이트 $-CH(P(O)(OH)_2)_2$ 이다. 하기 실시예 3에서 나타난 바와 같이, 이러한 비스포스포네이트기를 갖는 리파마이신은 골분에 대한 결합 친화력이 강하다. 물론, 당업자는 다른 유형의 포스포산화기를 선택하고 합성할 수 있다. 예를 들어, 포스포산화기는 에스테라아제-활성화된 비스포스포네이트기 (문헌 [Vepsaelaeninen J., Current Medicinal Chemistry, 9, 1201-1208, 2002]) 또는 그의 임의의 다른 적합한 전구약물일 수 있다. 이들 및 다른 적합한 포스포산화기가 본 발명에 포함된다.

[0261]

리파마이신

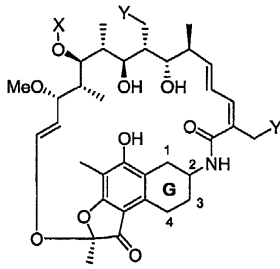
[0262]

리파마이신은 공지된 부류의 반합성 항균제이다. 리팜핀 (또한, 일반적으로 리팜피신으로 철자됨) (US 3,342,810), 리팜펜틴 (US 4,002,752), 리팜부틴 (US 4,219,478) 및 리팔라질 (US 4,983,602)이 이 부류에서 가장 많이 공지된 화합물이다. 이들 약물은 경제적으로 및 임상적으로 매우 성공적인 것으로 입증되었다. 본 발명은 특정 리파마이신에 제한되지 않지만, 리판딘 (US 4,353,826) 및 리팍시딘 (US 4,341,785), 뿐만 아니라 다른 리파마이신 유도체 및 혼성체, 예컨대 미국 특허 출원 제2003/0105086호, 동 제2005/0043298호, 동 제2005/0143374호, 동 제2005/0203076호, 동 제2005/0203085호, 동 제2005/0209210호, 동 제2005/0256096호, 동 제2005/0261262호, 동 제2005/0277633호, 동 제2006/0019985호 및 동 제2006/0019986호, 또는 국제 특허 출원 공보 W003/045319, W003/051299, W004/034961 및 W005/062882에 기재된 것들을 포함하는 (이에 제한되지는 않음) 적합한 항균 활성을 갖는 리파마이신 유도 항균 분자를 포함한다. 당업자는 본 발명에 따른 리파마이신 유도 항균 분자를 용이하게 제조할 수 있을 것이다. 필요한 경우, 상기에서 열거한 US 특허, PCT 특허 출원 및 과학 출판물을 포함한 당업계에 알려진 많은 문헌을 참고할 수 있으며, 이는 인용을 통해 본원에 포함된다.

[0263]

일 실시양태에 따라, 본 발명에 따라 사용되는 리파마이신은 하기에 예시된 화학식 A1에 포함되는 화합물로부터 선택된다.

[0264] <화학식 A1>



[0265]

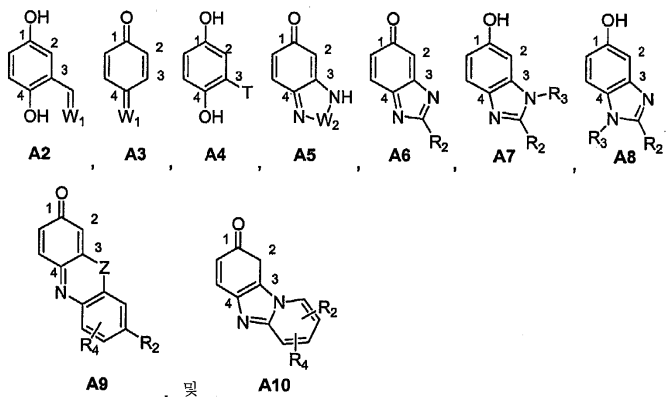
[0266] 식 중,

[0267] X는 H- 또는 R_1CO- 이고, 여기서 R_1 은 1 내지 6개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0268] 각각의 Y는 H- 및 RO-로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R은 H-, R_1- 또는 R_1CO- 이고, R_1 은 상기에서 정의된 바와 같고;



[0269] 는 하기 화학식 A2 내지 A10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.



[0270]

[0271] 식 중,

[0272] R_2 는 H-, 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 디알킬 아미노기이고, 바람직하게는 상기 디알킬 아미노기는 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 또는 치환된 피페라진이고;

[0273] R_3 는 H- 또는 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0274] R_4 는 히드록실기, 술폰히드릴기 또는 1 내지 3개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0275] W_1 은 산소 또는 $-NR_2$ 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;



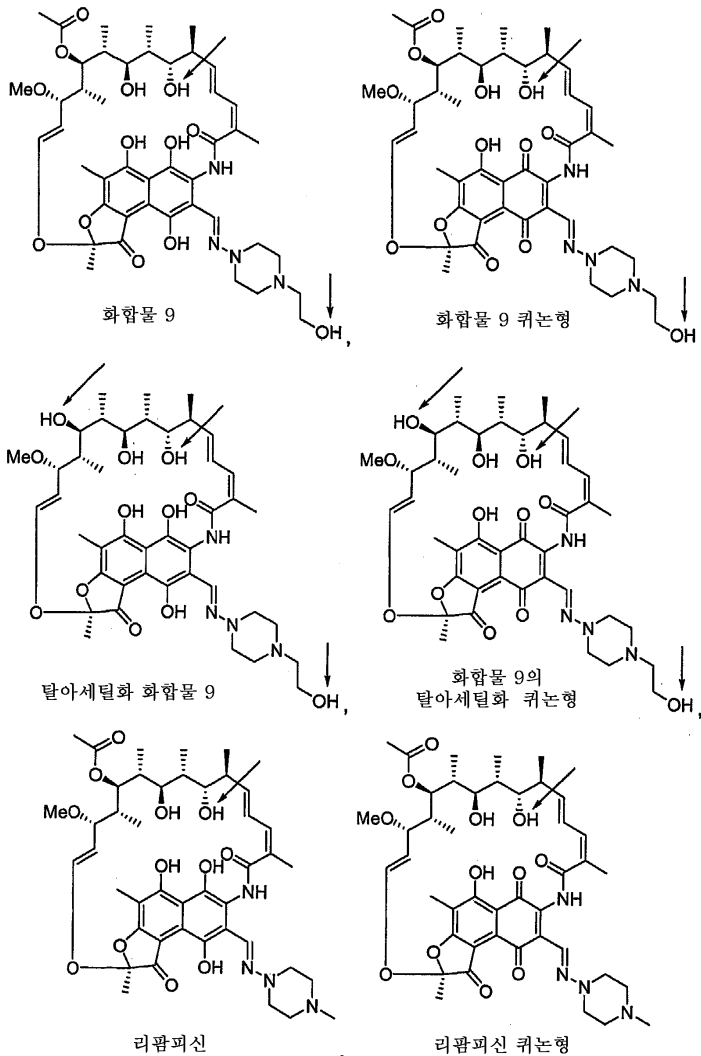
[0276] W_2 는 (식 중, R_5 및 R_6 은 독립적으로 H- 또는 1 내지 5개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 이고, Z' 는 산소 원자, 황 원자, 치환된 메틸렌, 카르보닐, $-NR_1$ 또는 $-N(O)R_1$ 이고, 여기서 R_1 은 상기에서 정의된 바와 같음)를 포함한 치환 또는 비치환된 메틸렌이고;

[0277] T는 할로젠 또는 R_2 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같으며;

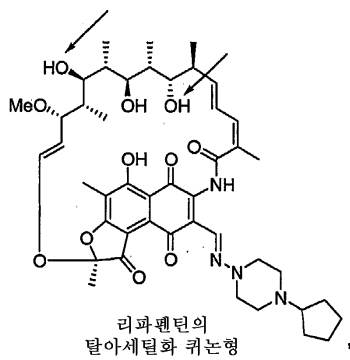
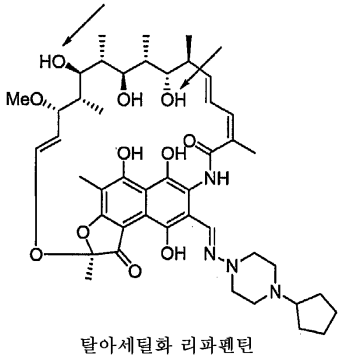
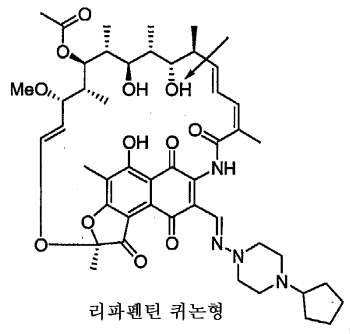
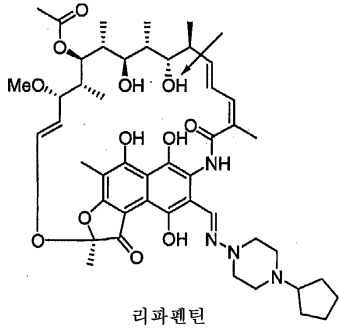
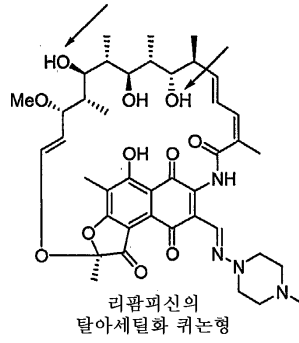
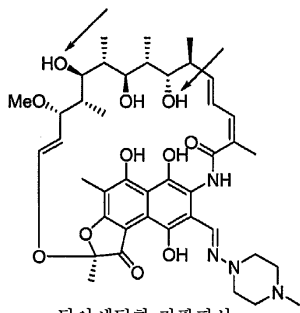
[0278] Z는 O, S 또는 NR_3 이고, 여기서 R_3 은 상기에서 정의된 바와 같다.

[0279] 한 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 리팜피신, 그의 퀴논형, 그의 탈아세틸화형 또는 그의 퀴논형의 탈아세

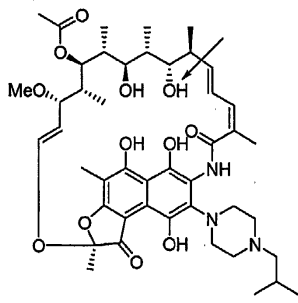
틸화형이다. 다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 1-아미노-4-(2-히드록시에틸)피페라진 및 3-포르밀 리파마이신 S의 히드라존 (실시에 1의 화합물 9), 그의 퀴논형, 그의 탈아세틸화형 또는 그의 퀴논형의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 리파부틴 또는 그의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 리파펜틴, 그의 퀴논형, 그의 탈아세틸화형 또는 그의 퀴논형의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 리팔라질 또는 그의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 리파믹신 또는 그의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 리판딘, 그의 퀴논형, 그의 탈아세틸화형 또는 그의 퀴논형의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 실시에 1의 화합물 56 또는 그의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 실시에 1의 화합물 63 또는 그의 탈아세틸화형이다. 또다른 특정 실시양태에 따라, 리파마이신은 실시에 1의 화합물 69 또는 그의 탈아세틸화형이다. 이들 분자의 화학 구조는 하기에서 예시된다. 화살표는 포스 포산화기의 바람직한 부착 지점을 나타낸다.



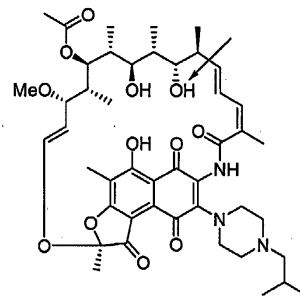
[0280]



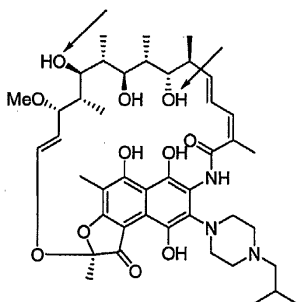
[0281]



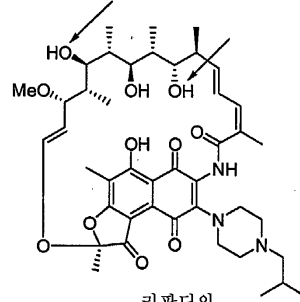
리판딘



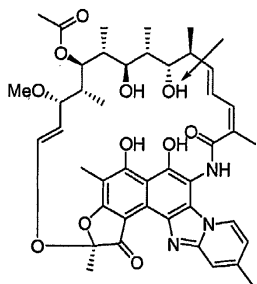
리판딘 퀴논형



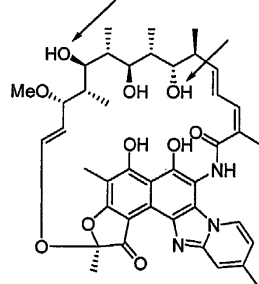
탈아세틸화 리판딘



리판딘의
탈아세틸화 퀴논형

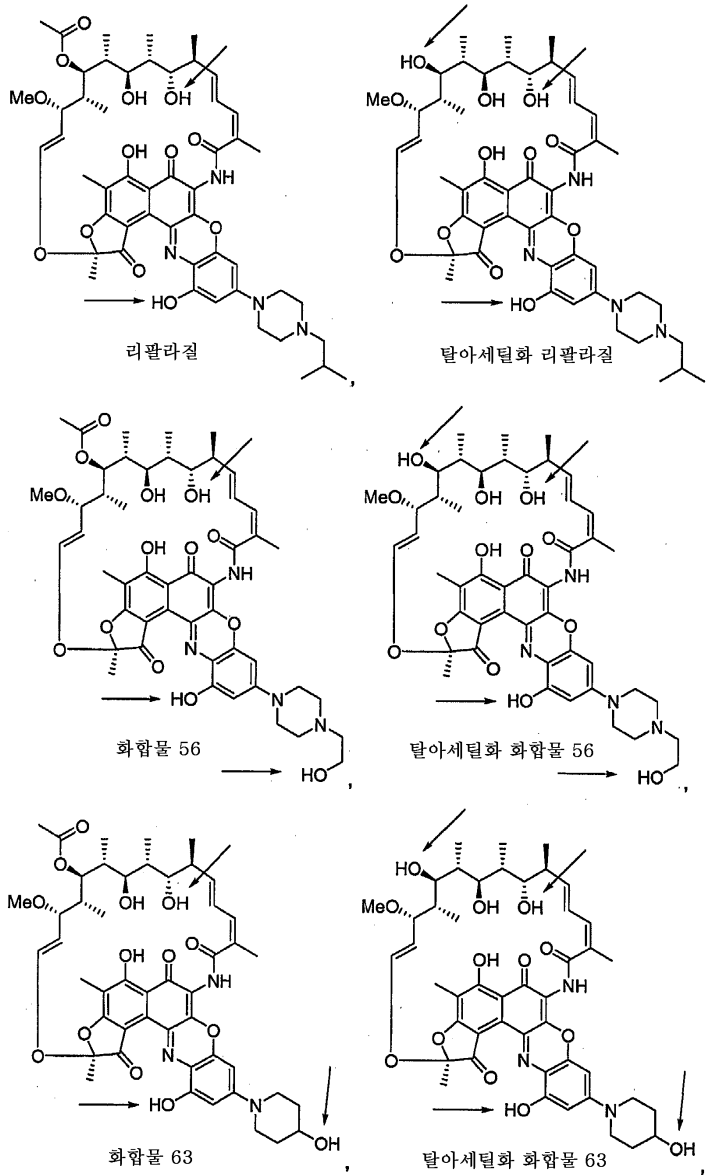


리파믹신

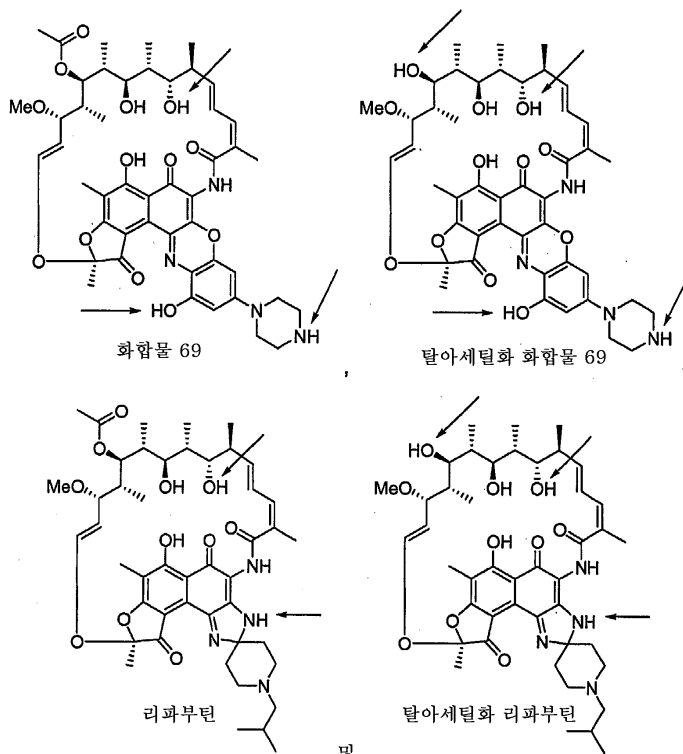


탈아세틸화 리파믹신

[0282]



[0283]



[0284]

[0285]

본 발명에 따른 포스폰산화 리파마이신의 구체적인 예를 하기 실시예 단락에 나타내었다. 본 발명은 또한 하나 이상의 포스폰산화기를 갖는 포스폰산화 리파마이신을 포함한다. 상술한 바와 같이, 상기에서 나타낸 부착 지점은 포스폰산화기를 결합하는 데 있어서만 바람직한 지점이며, 모든 다른 잠재적 부착 지점 (예를 들어, 리파마이신의 임의의 히드록실기 상)이 본 발명에 포함된다.

[0286]

연결기

[0287]

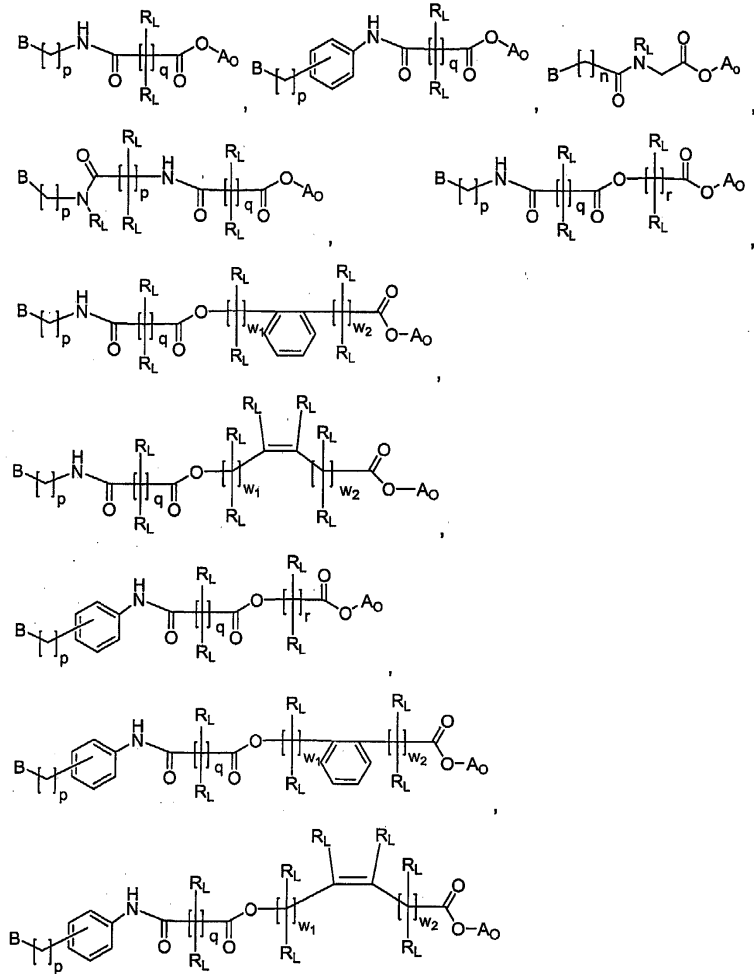
절단가능한 연결기 L은 포스폰산기 B를 리파마이신 A에 공유 결합 및 가역적으로 커플링한다. 본원에서 사용된 용어 "절단가능한"은 생리학적 조건하에 화학적으로 또는 생화학적으로 불안정한 기를 지칭한다. 화학적 불안정성은 바람직하게는 가역 화학 반응, 분자내 화학 반응 또는 분자간 화학 반응에 따르는 경우 가수분해 (즉, 하나 이상의 물 분자의 알짜 삽입으로 인한 2개 이상의 신규한 분자 또는 원자단으로의 분할)로 인한 자발적인 분해로부터 초래된다.

[0288]

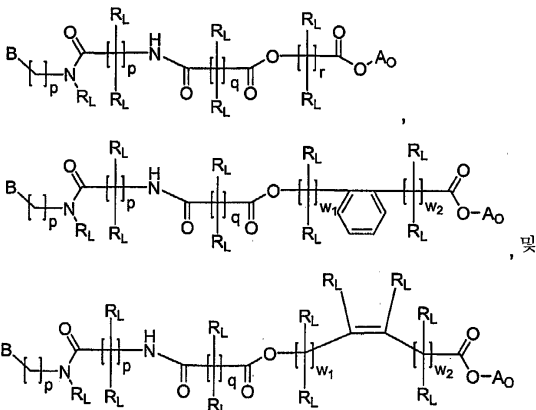
연결기의 절단은 매우 빠르거나 매우 느릴 수 있다. 예를 들어, 절단가능한 연결기의 반감기는 약 1분, 약 15분, 약 30분, 약 1시간, 약 5시간, 약 10시간, 약 15시간, 약 1일 또는 약 48시간일 수 있다. 절단가능한 연결기는 선택된 특정 효소 (예를 들어, 아미다아제, 에스테라아제, 메탈로프로테이나아제 등)로만 절단될 수 있는 효소-민감성 연결기일 수 있거나, 또는 다른 화학적 방법, 예컨대 산/염기 촉매화 또는 자가 절단 (이에 제한되지는 않음)에 의해 절단이 용이할 수 있다. 예를 들어, 빠-특이적 에스테라아제 [Goding et al. Biochim Biophys Acta (2003), 1638(1):1-19] 또는 빠-특이적 메탈로프로테이나아제 (MMP) [Kawabe et al., Clin Orthop. (1986) 211:244-51; Tuckermann et al., Differentiation (2001), 69(1):49-57; Sellers et al., Biochem J. (1978) 171 (2):493-6]에 의해서 또는 알칼리 포스포네이트의 작용에 의해서만 절단 가능하며, 이로써 목적하는 작용 부위에 리파마이신을 방출하는 에스테라아제-민감성 연결기를 사용할 수 있다. 이와 유사하게, 혈장 내에서 지나치게 용이하게 절단되지 않아, 절단되어 리파마이신을 방출하기 전에 포스폰산화 리파마이신의 충분한 양이 골조직 내에 도달하고 축적되게 하는 절단가능한 연결기를 사용할 수 있다. 예를 들어, 빠-결합된 항생제의 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60% 또는 70%만이 본 발명의 화합물을 투여한 지 1분, 15분, 30분, 1시간, 5시간, 10시간, 15시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 1주, 2주, 3주 후 또는 그 이상의 연장된 시간을 통해 방출되도록 연결기를 선택할 수 있다. 바람직하게는, 빠-결합된 리파마이신의 약 1% 내지 약 25%만이 매일 방출되도록 연결기를 선택한다. 연결기의 선택은, 예컨대 (i) 리파마이신에 대한 포스폰산화기의 부착 지점, (ii) 사용된 포스폰산화기의 유형, (iii) 사용된 리파마이신 유형, 및 (iv) 연결기 절단 및 이와 관련한 리파마이신 방출의 목적하는 용이성과 같은 요인에 따라 다양할 수 있다.

[0289] 바람직하게는, 연결기 L은 A 상의 하나 이상의 히드록실기를 통해, A 상의 하나 이상의 질소 원자를 통해, A 상의 하나 이상의 술포히드릴기를 통해, 또는 A 상의 하나 이상의 히드록실기, 하나 이상의 질소 원자 및/또는 하나 이상의 술포히드릴기의 조합을 통해 포스폰산화기 B를 A에 커플링한다. 1 내지 7개의 포스폰산화기를 연결기 L의 임의 조합을 통해 A에 커플링할 수 있다.

[0290] L이 A 상의 히드록실기를 통해 B를 A에 커플링한 경우, 바람직하게는 L은 하기 연결기 중 하나이다.



[0291]



[0292]

[0293] 식 중,

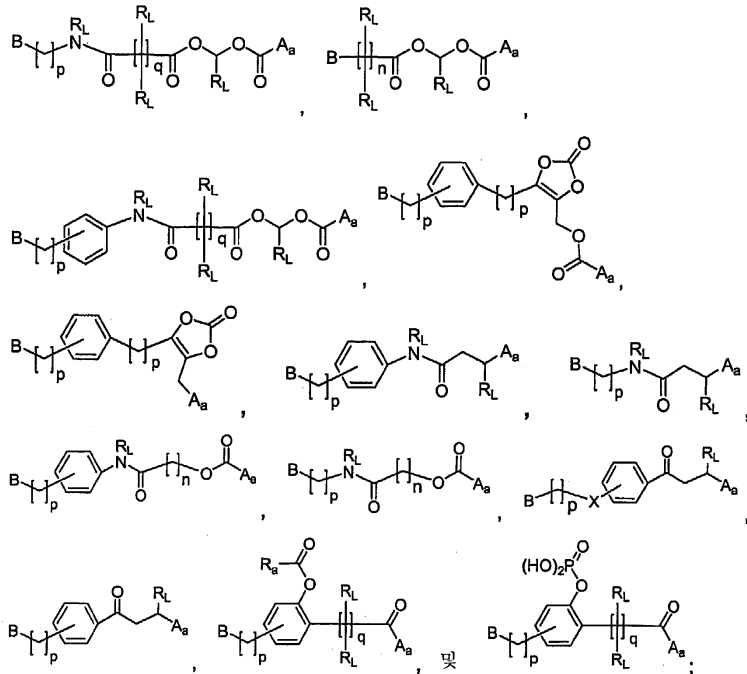
[0294] n은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0295] 각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

- [0296] q 는 2 또는 3이고;
- [0297] r 은 1, 2, 3, 4 또는 5이고;
- [0298] w_1 및 w_2 는 $(w_1 + w_2)$ 의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이고;
- [0299] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;
- [0300] B는 포스폰산화기를 나타내며;

[0301] 연결기의 하위구조 는 A의 히드록실 잔기를 나타낸다.

[0302] L이 A 상의 질소 원자를 통해 B를 A에 커플링한 경우, 바람직하게는 L은 하기 연결기 중 하나이다.



[0303]

[0304] 식 중,

[0305] n 은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0306] 각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0307] q 는 2 또는 3이고;

[0308] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

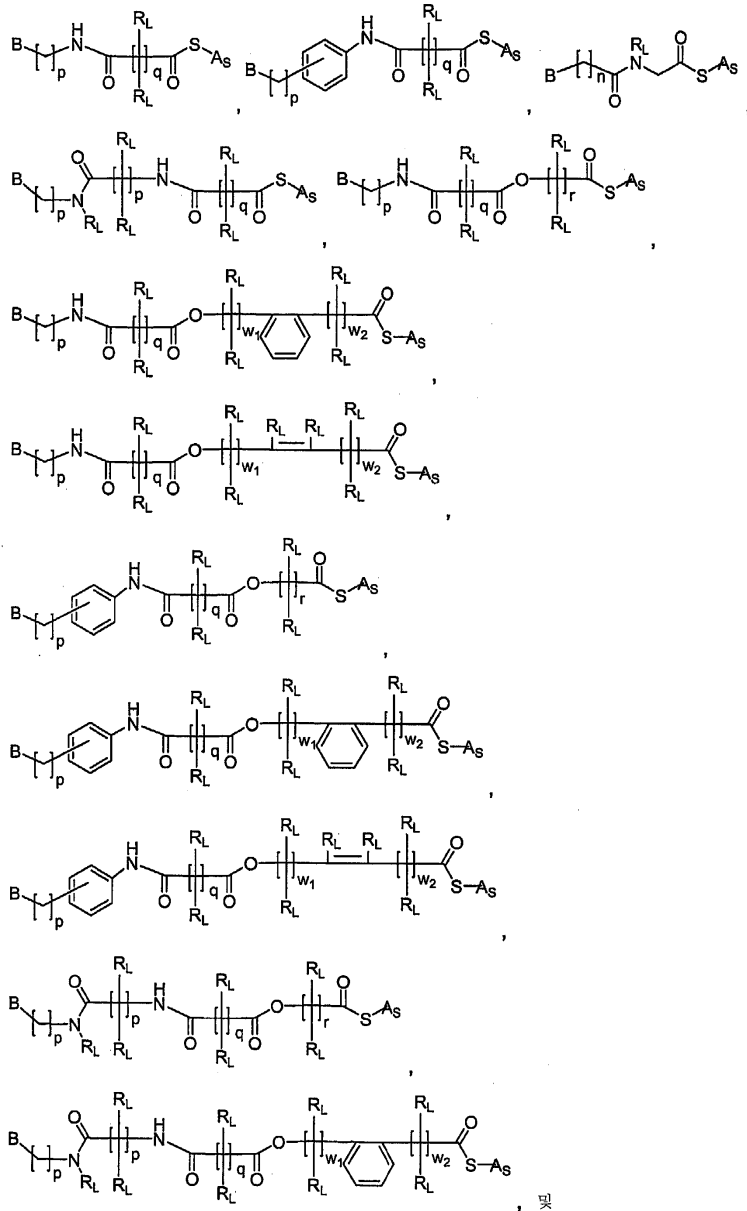
[0309] R_a 는 C_xH_y 이고, 여기서 x 는 0 내지 20의 정수이고, y 는 1 내지 $2x+1$ 의 정수이고;

[0310] X는 CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$ 또는 $-CO-O-$ 이고;

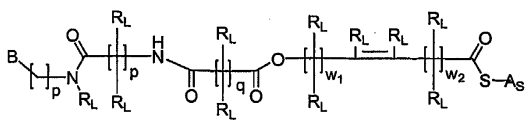
[0311] B는 포스폰산화기를 나타내며;

[0312] A_a 는 A 상의 질소 원자를 나타낸다.

[0313] L이 A 상의 술프하이드릴기를 통해 B를 A에 커플링한 경우, 바람직하게는 L은 하기 연결기 중 하나이다.



[0314]



[0315]

[0316] 식 중,

[0317] n은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0318] 각각의 p는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0319] q는 2 또는 3이고;

[0320] r은 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

[0321] w1 및 w2는 (w1 + w2)의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 정수이고;

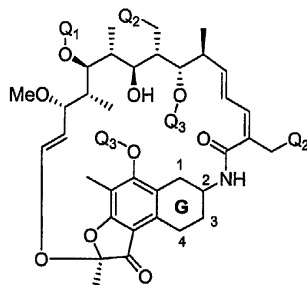
[0322] 각각의 RL은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H이고;

[0323] B는 포스폰산화기를 나타내며;

[0324] 연결기의 하위구조 A_s-S 는 A 상의 술프히드릴 잔기를 나타낸다.

[0325] 또다른 특정 실시양태에 따라, 본 발명의 화합물은 하기 화학식 II, 또는 그의 제약상 허용가능한 염 또는 전구 약물로 나타내어진다.

[0326] <화학식 II>



[0327]

[0328] 식 중,

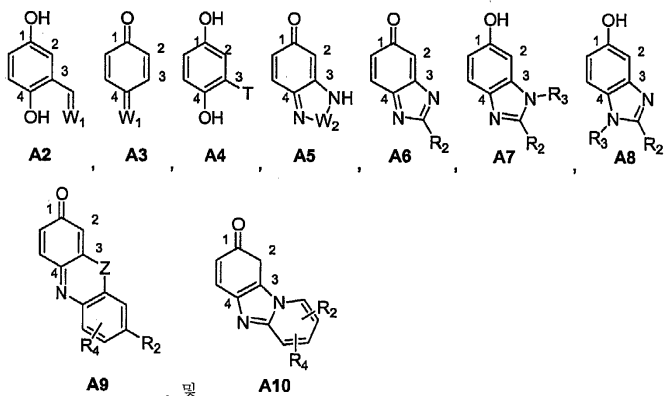
[0329] Q_1 은 H-, R_1CO - 또는 L_1 -이고, 여기서 R_1 은 1 내지 6개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0330] 각각의 Q_2 는 H-, RO - 및 L_2O -로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R은 H-, R_1 - 또는 R_1CO -이고, R_1 은 상기에서 정의된 바와 같고;

[0331] 각각의 Q_3 은 H- 및 L_3 -으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;



[0332] 는 하기 화학식 A2 내지 A10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.



[0333]

[0334] 식 중,

[0335] R_2 는 H-, 1 내지 10개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 디알킬 아미노기이고, 바람직하게는 상기 디알킬 아미노기는 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 또는 치환된 피페라진이고, 여기서 R_2 가 1 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 치환된 알킬 쇠, 치환된 피페리딘, 치환된 모르폴린 또는 치환된 피페라진인 경우, 치환기는 L_4O -, L_5S - 및 L_6NR_7 -로 이루어진 군으로부터 선택되는 한 구성원이고, 여기서 R_7 은 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠이고;

[0336] R_3 은 H-, 1 내지 7개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠 또는 L_7 -이고;

[0337] R_4 는 히드록실기, 술프히드릴기, 1 내지 3개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 쇠, L_8O - 또는 L_9S -이고;

[0338] W_1 은 산소 또는 $-NR_2$ 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;



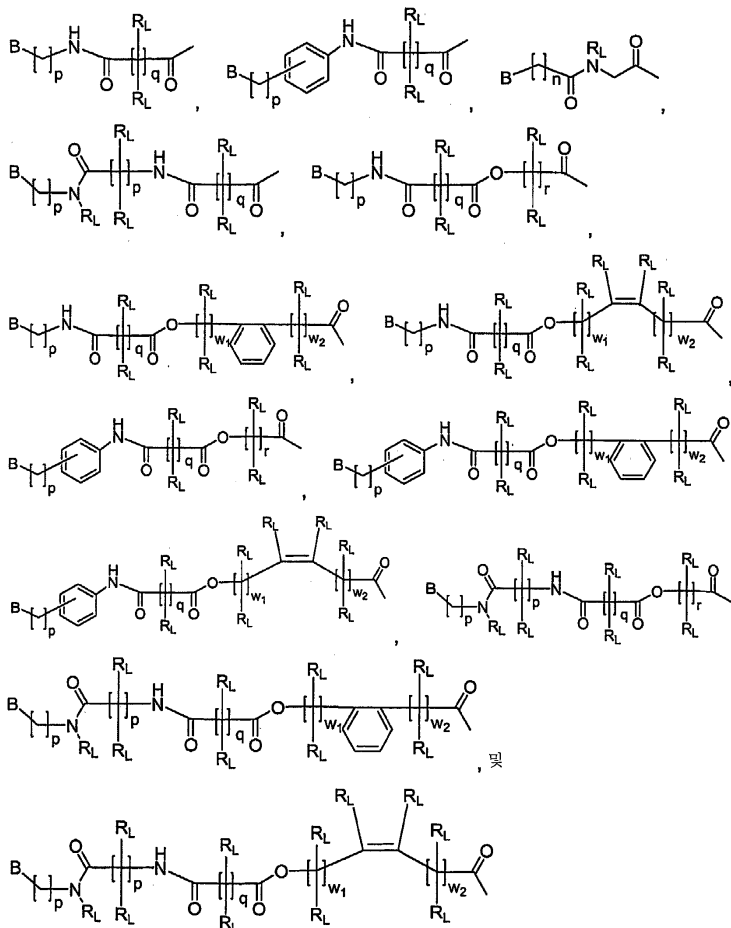
[0339] W_2 는 (식 중, R_5 및 R_6 은 독립적으로 H- 또는 1 내지 5개의 탄소를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬쇄이고, Z' 는 산소 원자, 황 원자, 치환된 메틸렌, 카르보닐, $-NR_1$ 또는 $-N(O)R_1$ 이고, 여기서 R_1 은 상기에서 정의된 바와 같음)를 포함한 치환 또는 비치환된 메틸렌이고;

[0340] T는 할로젠 또는 R_2 이고, 여기서 R_2 는 상기에서 정의된 바와 같고;

[0341] Z는 O, S 또는 NR_3 이고, 여기서 R_3 은 상기에서 정의된 바와 같고;

[0342] 여기서,

[0343] 상기 각각의 L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_8 및 L_9 는



[0344]

[0345] (식 중,

[0346] n 은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0347] 각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1이고;

[0348] q 는 2 또는 3이고;

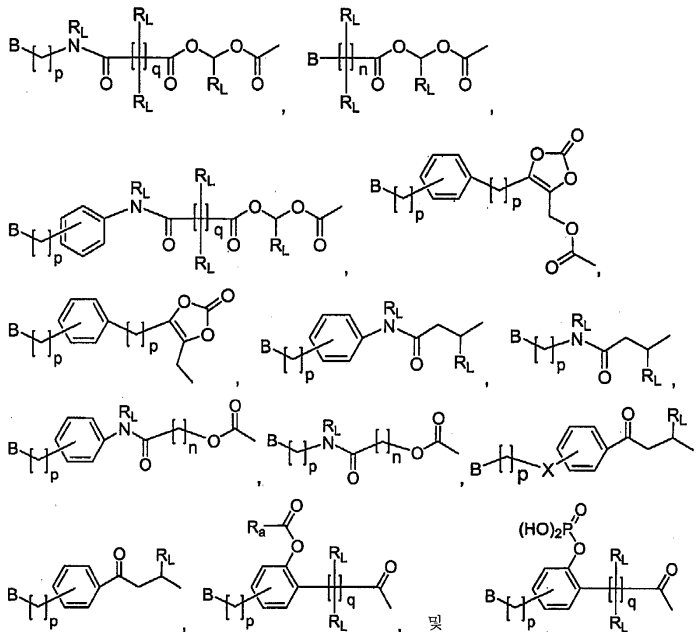
[0349] r 은 1, 2, 3, 4 또는 5이고;

[0350] w_1 및 w_2 는 $(w_1 + w_2)$ 의 합이 1, 2 또는 3이 되게 하는 0 이상의 정수이고;

[0351] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고, 바람직하게는 H임)

[0352] 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 절단가능한 연결기이고,

[0353] 상기 각각의 L_6 및 L_7 은



[0354]

[0355] (식 중,

[0356] n 은 10 이하의 정수, 바람직하게는 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 1 또는 2이고;

[0357] 각각의 p 는 독립적으로 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1 이고;

[0358] q 는 2 또는 3이고;

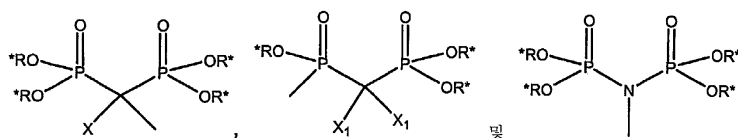
[0359] 각각의 R_L 은 H, 에틸 및 메틸, 바람직하게는 H로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0360] R_a 는 C_xH_y 이고, 여기서 x 는 0 내지 20의 정수이고, y 는 1 내지 $2x+1$ 의 정수이며;

[0361] X 는 CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$ 또는 $-CO-O-$ 임)

[0362] 로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 절단가능한 연결기이며,

[0363] 여기서, B는 하기 화학식으로 이루어진 군으로부터 선택되는 포스폰산화기이고



[0364]

[0365] (식 중,

[0366] 각각의 R^* 은 H, 저급 알킬, 시클로알킬, 아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 2개 이상의 R^* 가 H이고;

[0367] X 는 H, OH, NH_2 또는 할로기이고;

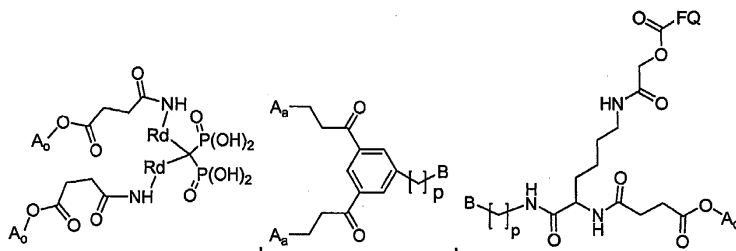
[0368] 각각의 X_1 은 H, OH, NH_2 및 할로기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택됨);

[0369] 단, L₁, L₂, L₃, L₄, L₅, L₆, L₇, L₈ 및 L₉ 중 하나 이상이 존재한다.

[0370] 본 발명은 또한 2개 이상의 항박테리아 분자에 커플링된 단일 포스폰산화기의 용도를 포함한다. 이와 관련하여, 항박테리아 분자는 동일하거나 (예를 들어, 리파마이신 분자 2개) 또는 상이할 수 있다 (예를 들어, 플루오로퀴놀론 항박테리아 시프로플록사신 (시프로(Cipro, 등록상표); US 4,670,444) 분자 1개 및 리파마이신 분자 1개). 포스폰산화기는 또한 유사한 기 (예를 들어, 히드록실기) 또는 상이한 기 (예를 들어, 플루오로퀴놀론 분자의 카복실기 및 리파마이신의 히드록실기)와 결합할 수 있다.

[0371] 본 발명의 화합물이 단일 포스폰산화기를 통해 커플링된 유용한 항생제의 비제한적인 열거로는 술폰아미드, 베타-락탐, 테트라시클린, 클로람페니콜, 아미노글리코사이드, 마크롤리드, 글리코펩티드, 스트렙토그라민, 퀴놀론, 플루오로퀴놀론, 옥사졸리디논 및 리포펩티드를 들 수 있다. 특히, 테트라시클린, 테트라시클린 유도 항박테리아제, 글리실시클린, 글리실시클린 유도 항박테리아제, 미노시클린, 미노시클린 유도 항박테리아제, 옥사졸리디논 항박테리아제, 아미노글리코사이드 항박테리아제, 퀴놀론 항박테리아제, 반코마이신, 반코마이신 유도 항박테리아제, 테이코플라닌, 테이코플라닌 유도 항박테리아제, 에레모마이신, 에레모마이신 유도 항박테리아제, 클로로에레모마이신, 클로로에레모마이신 유도 항박테리아제, 다프토마이신 및 다프토마이신 유도 항박테리아제가 바람직하다.

[0372] 본 발명에 따른 잠재적으로 유용한 절단가능한 다중-항박테리아 연결기의 예로는 하기 구조를 갖는 것을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.



[0373]

[0374] 식 중,

[0375] 각각의 R_d는 독립적으로 알킬 또는 아릴기이고;

[0376] p는 0 또는 10 이하의 정수, 바람직하게는 0, 1, 2, 3 또는 4, 보다 바람직하게는 0 또는 1이고;

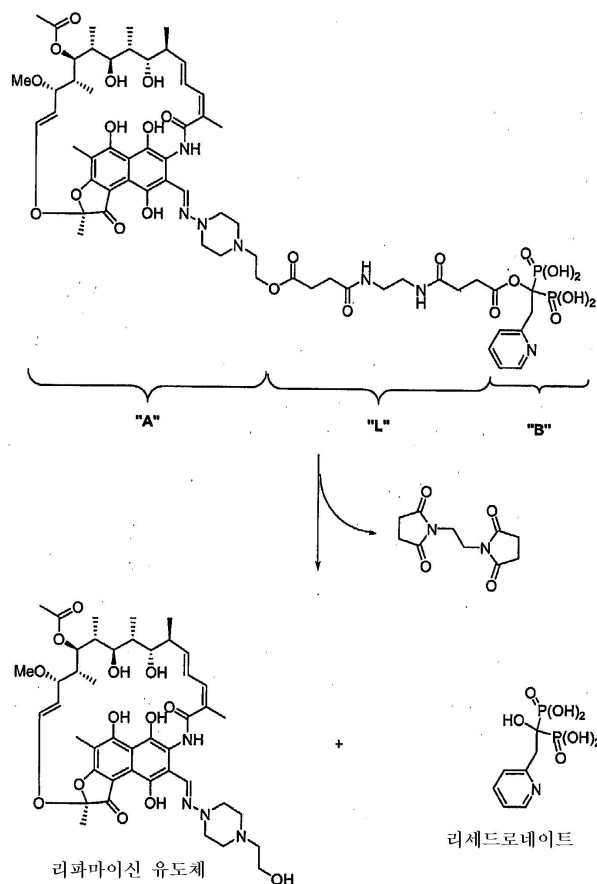
[0377] 연결기의 하위구조 Ar-O- 는 리파마이신 A의 히드록실 잔기를 나타내고;

[0378] A₂는 리파마이신 A의 아민기를 나타내고;

[0379] 연결기의 하위구조 FQ-CO-O- 는 플루오로퀴놀론 항균제의 카복실 잔기를 나타낸다.

[0380] 골조직에 대한 친화력이 높아 포스폰산화기 B는 연장된 시간 (수 년 이하) 동안 뼈에 대한 결합을 유지할 것이다. 따라서, 포스폰산화기는 독성이 낮거나, 바람직하게는 측정불가능해야 한다는 것이 매우 중요하다. 또다른 실시양태에 따라, 포스폰산화기 B 및 연결기 L은, 연결기가 생체내 (바람직하게는 주로 골조직 내)에서 가수분해되거나 절단되어 (i) 리파마이신 A 및 (ii) 증명된 뼈 치료 활성을 갖는 선택된 비독성 포스폰산화 분자를 방출하도록 선택된다. 따라서, 이러한 화합물은 1) 박테리아 뼈 감염을 저지 및/또는 치료하는 데 유용한 항생제를 연장된 시간 동안 및/또는 증가된 농도로 뼈에 국소적으로 제공하고, 2) 뼈 재생을 촉진하거나 뼈 재흡수를 억제하는 약물을 뼈에 제공하여, 감염 또는 기타 상해에 의해 유발된 손상으로부터 뼈 회복을 촉진하는 두 가지 유용성을 갖는다. 본 발명에 따라 유용한 뼈 치료 활성이 증명된 적합한 포스폰산화 분자로는 리세드로네이트 및 올파드로네이트, 기타 분자, 에컨대 파미드로네이트, 알렌드로네이트, 인카드로네이트, 에티드로네이트, 이반드로네이트, 졸렌드로네이트 또는 네리드로네이트를 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않고, 이들 분자는 골다공증 치료에 일반적으로 사용되는 공지된 비스포스포네이트 뼈 재흡수 억제제이다.

[0381] 하기 반응식은 상기 실시양태의 원리를 예시한다.



[0382]

[0383] 본 발명은 또한 미리 결정된 pH 범위에서만 절단되는 pH-민감성 연결기의 사용을 포함한다. 일 실시양태에서, pH-민감성 연결기는 약 7 내지 약 9의 염기성 pH 범위에서 절단되는 염기-민감성 연결기이다. 또다른 실시양태에 따라, 연결기는 약 7.5 내지 약 4, 바람직하게는 약 6.5 이하의 산성 pH 범위에서 절단되는 산-민감성 연결기이다. 감염 중에는 일반적으로 조직의 산성화가 발생한다는 것이 알려져 있으므로, 이러한 산-민감성 연결기는 주로 박테리아 감염 부위에서 리파마이신 A를 특이적으로 방출할 것으로 가정된다 (문헌 [O'Reilly et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1992), 36(12):2693-97]).

[0384]

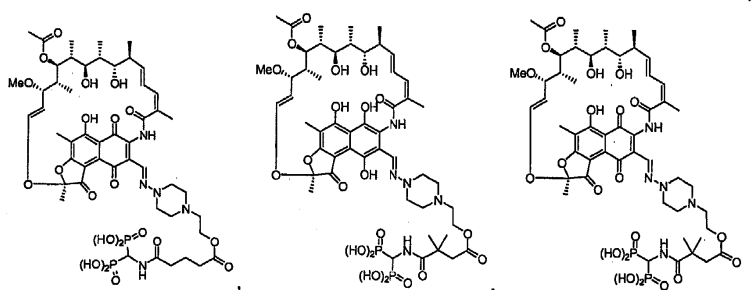
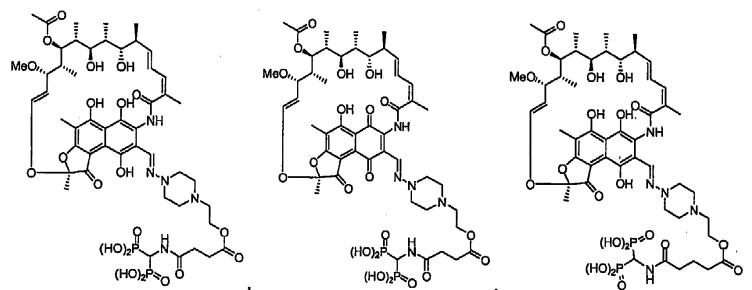
공유 결합 또는 비-절단가능한 연결기가 또한 포스폰산화기 B를 리파마이신 A에 공유 결합 커플링시킬 수 있다. 이러한 결합 또는 연결기는 절단되지 않거나 또는 감염의 활성 부위에 존재하는 박테리아에 의해 주로 절단되도록 선택된다. 이러한 화합물에 있어서, 포스폰산화기가 리파마이신 A에 연결된 채로 남고, 전체 화합물이 점차 뼈로부터 방출되어 박테리아에 의해 흡수됨으로써, 이에 따라 그의 항박테리아 효과가 발현되는 것으로 가정된다.

[0385]

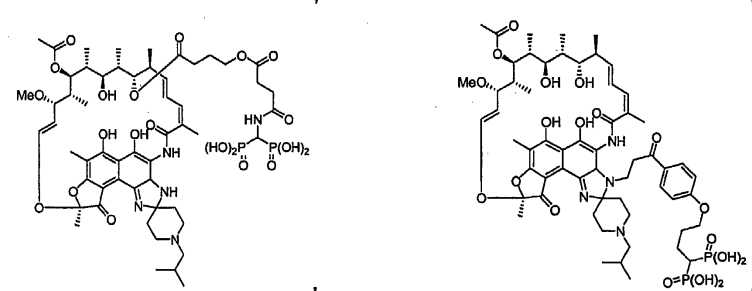
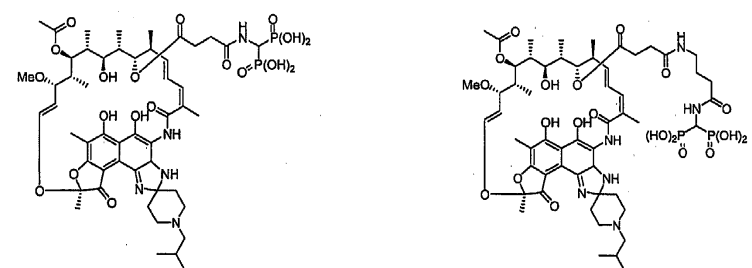
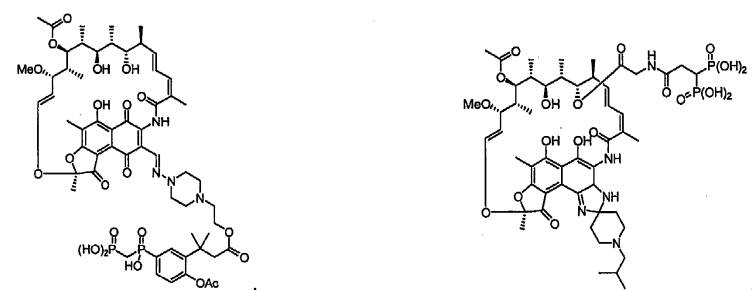
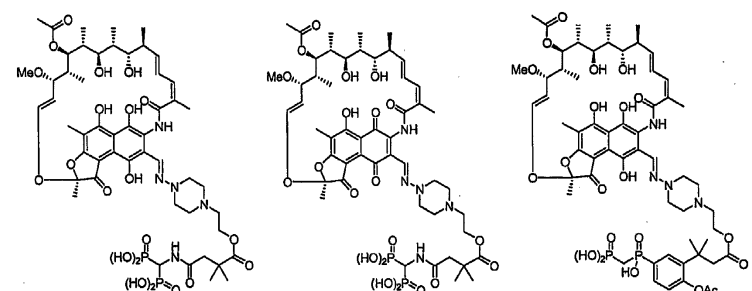
물론, 당업자는 다른 유형의 연결기를 선택하고 합성할 수 있다. 예를 들어, 연결기는 또한, 문헌 [Ilex Oncology Research in WO 04/026315]에 개시된 바와 같이 뼈에 대한 친화력을 갖는 생체내 가수분해성 포스폰산화기를 함유할 수 있다. 연결기는 또한 활성 기 (예를 들어, 뼈 형성을 촉진하거나 뼈 재흡수를 감소시키는 방출성 기)를 함유할 수 있다. 본 발명은 이들 및 기타 적합한 연결기를 포함한다.

[0386]

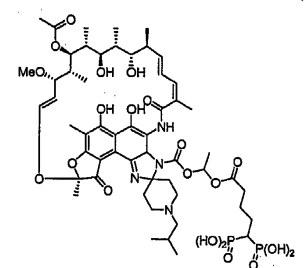
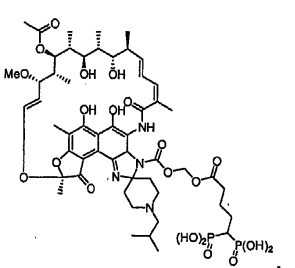
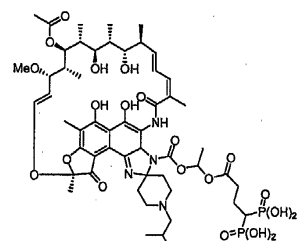
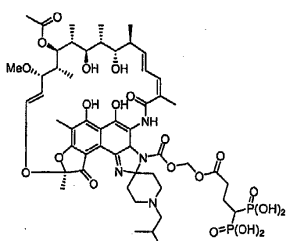
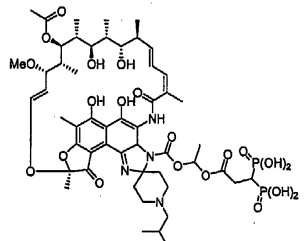
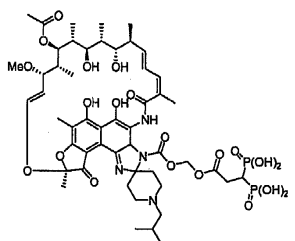
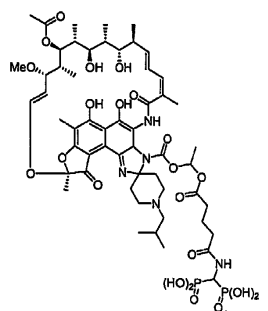
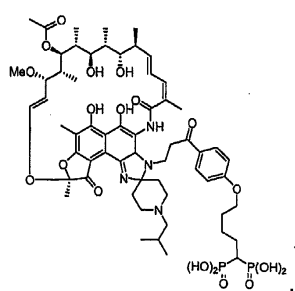
상기에서 및 하기 실시예 단락에 기재된 화합물 뿐만 아니라, 본 발명에 따른 화학식 I의 추가 화합물로는 하기 화학식을 갖는 것들을 들 수 있고, 이에 제한되지는 않는다.



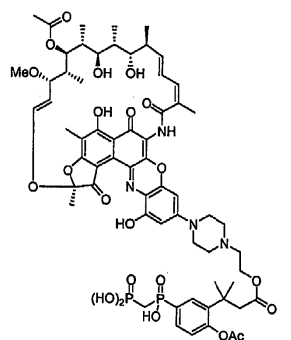
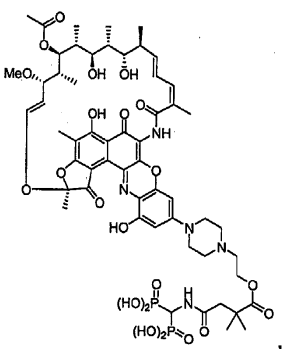
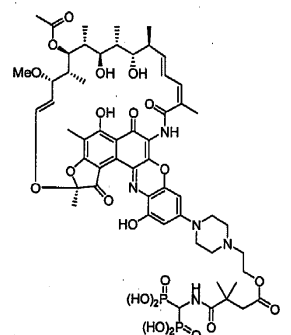
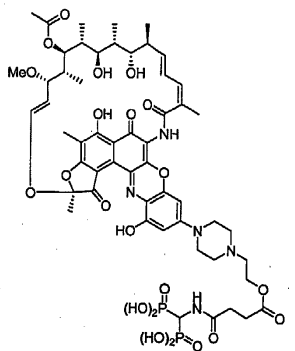
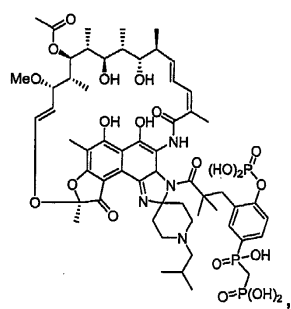
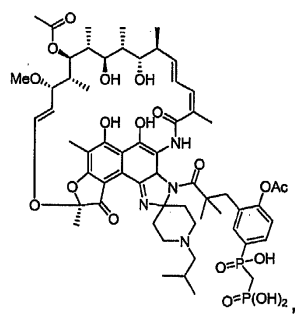
[0387]



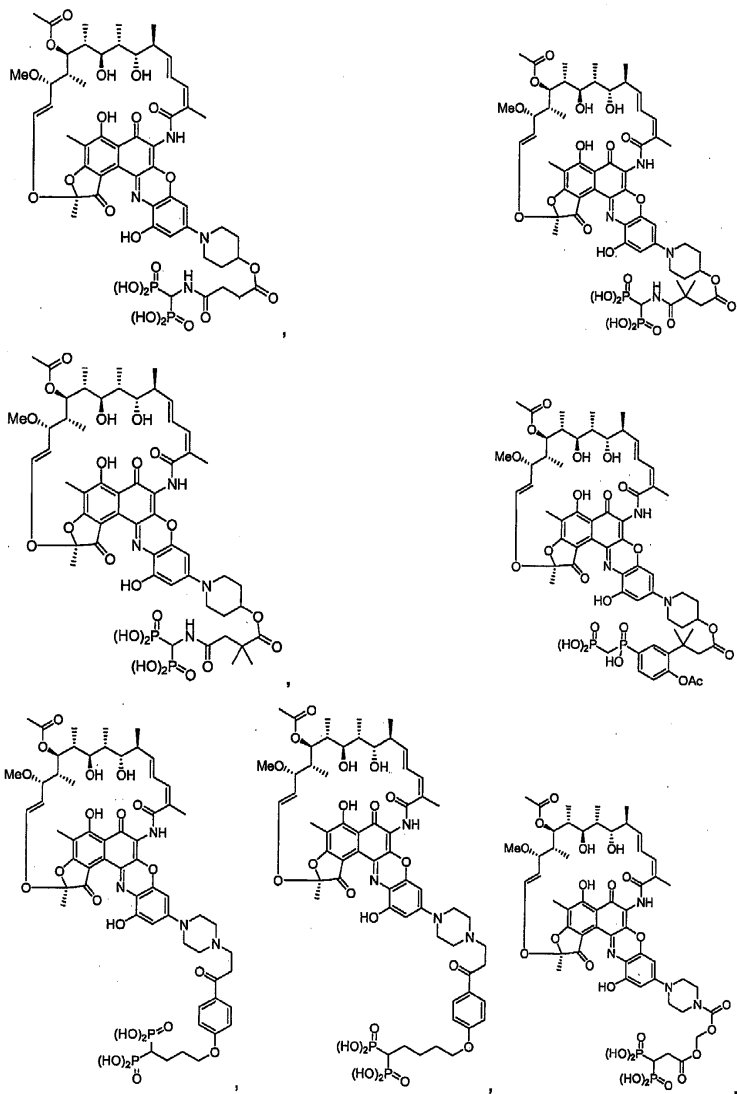
[0388]



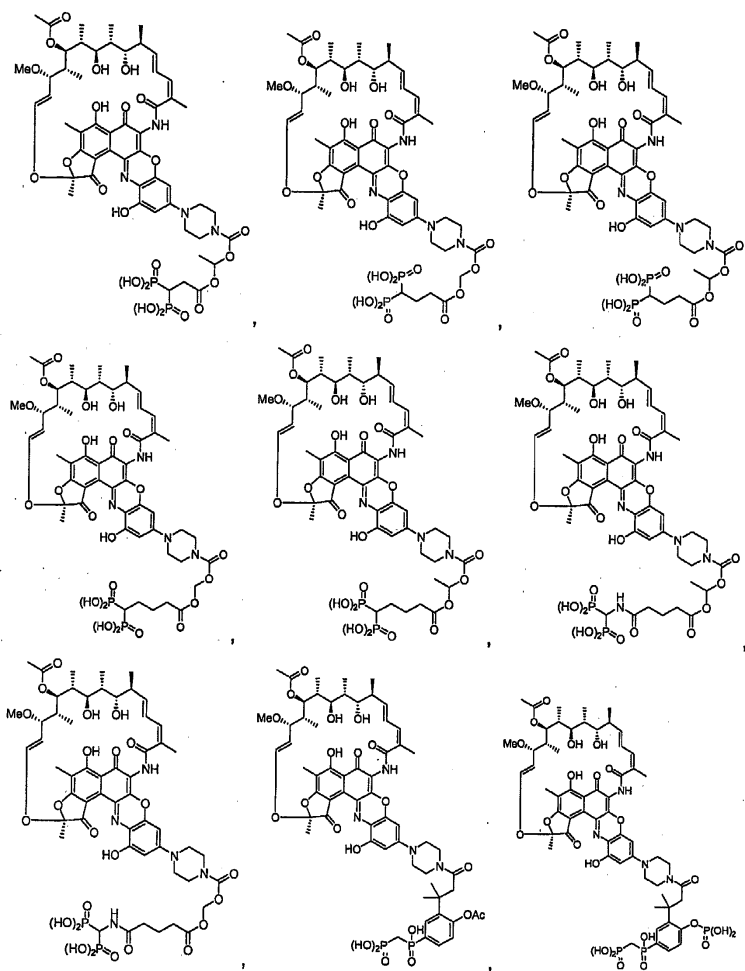
[0389]



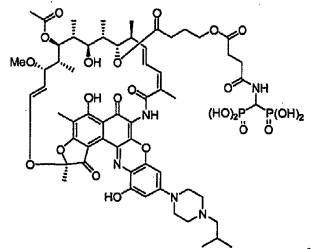
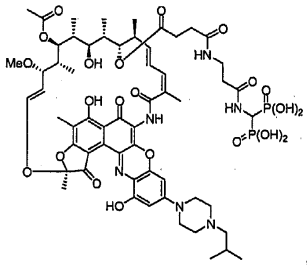
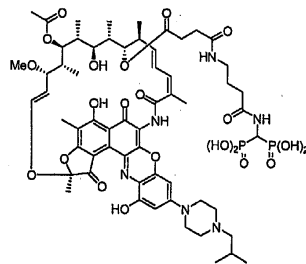
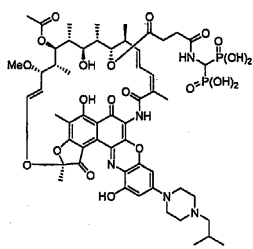
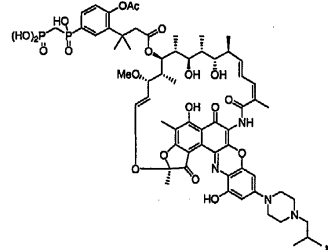
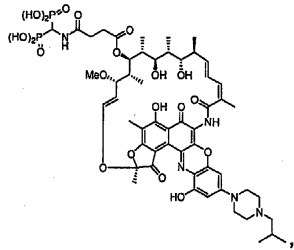
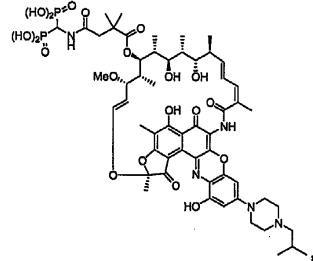
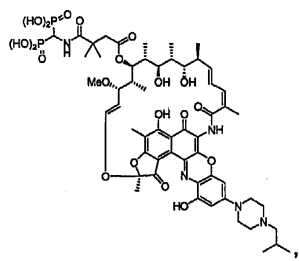
[0390]



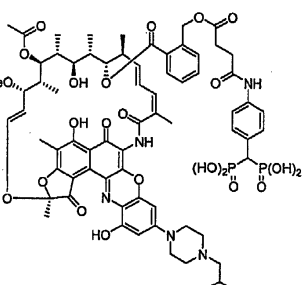
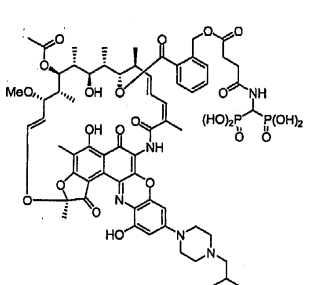
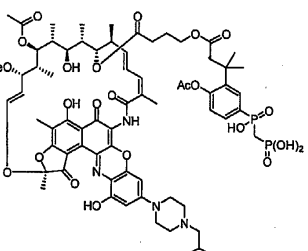
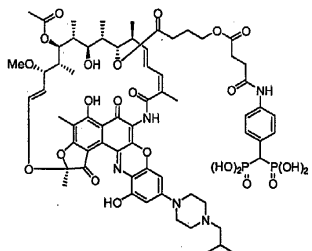
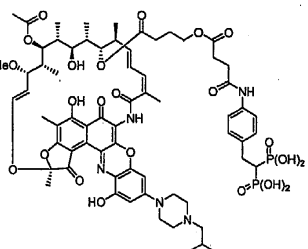
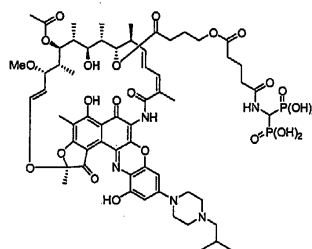
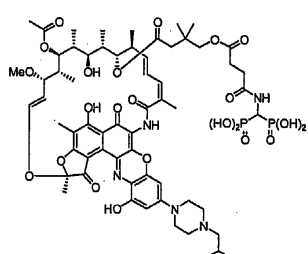
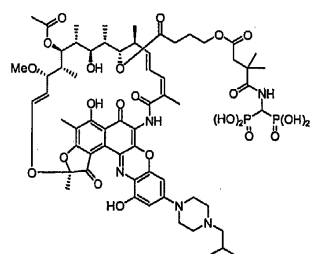
[0391]



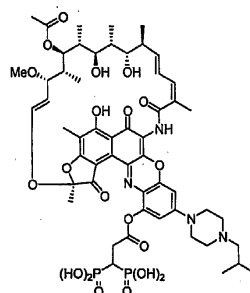
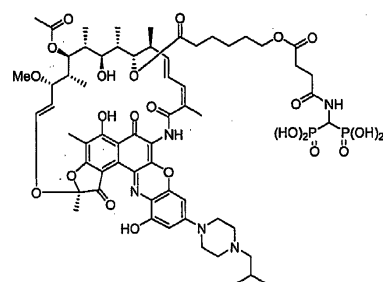
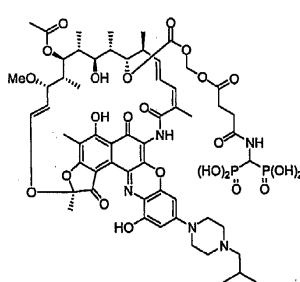
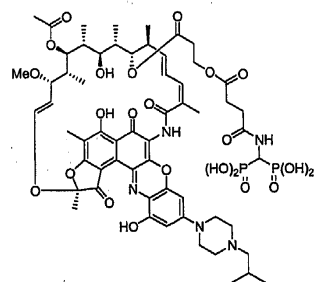
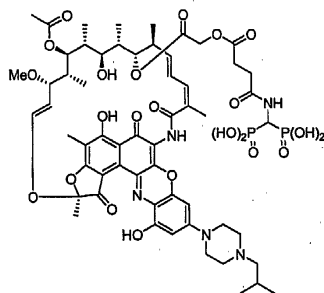
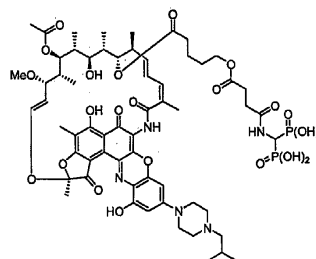
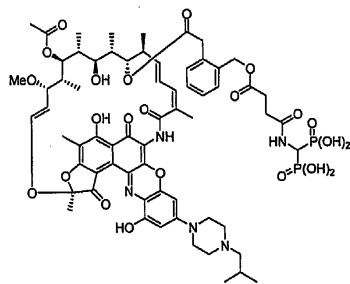
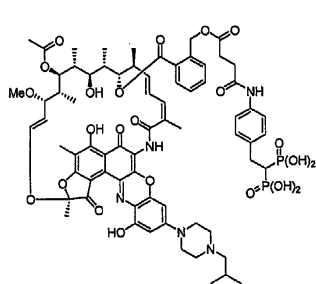
[0392]



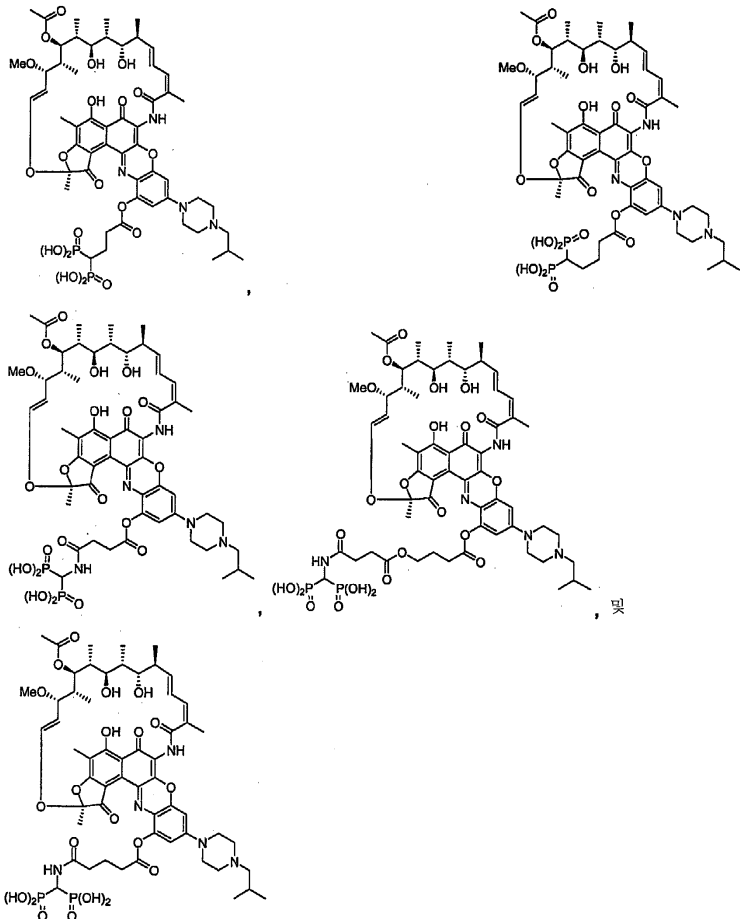
[0393]



[0394]



[0395]



[0396]

[0397]

또한, 본 발명은 화학식 I 및 화학식 II의 화합물, 및 그의 제약상 허용가능한 염, 대사산물, 용매화물 및 전구 약물을 포함한다. 제약상 허용가능한 염의 예로는 술페이트, 피로술페이트, 비술페이트, 술포이트, 비술포이트, 포스페이트, 모노히드로겐포스페이트, 디히드로겐포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포르메이트, 이소부티레이트, 카프로에이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 숙시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말레에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥신-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로벤조에이트, 히드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 술포네이트, 크실렌술포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, 감마-히드록시부티레이트, 글리콜레이트, 타르트레이트, 메탄술포네이트, 프로판술포네이트, 나프탈렌-1-술포네이트, 나프탈렌-2-술포네이트 및 만델레이트를 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0398]

본 발명의 화합물이 염기인 경우, 유리 염기를 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등, 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 말레산, 숙신산, 만델산, 푸마르산, 말론산, 피루브산, 옥살산, 글리콜산, 살리실산, 피라노시딘산, 예컨대 글루쿠론산 및 갈락투론산, 알파-히드록시산, 예컨대 시트르산 및 타르타르산, 아미노산, 예컨대 아스파르트산 및 글루탐산, 방향족 산, 예컨대 벤조산 및 신남산, 술폰산, 예컨대 p-톨루엔술폰산 또는 에탄술폰산 등으로 처리하는 것을 포함하는, 당업계에서 공지된 염의 적합한 방법으로 목적하는 염을 제조할 수 있다.

[0399]

본 발명의 화합물이 산인 경우, 유리 산을 무기 또는 유기 염기, 예컨대 아민 (1차, 2차 또는 3차), 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 수산화물 등으로 처리하는 것을 포함하는, 당업계에서 공지된 염의 적합한 방법으로 목적하는 염을 제조할 수 있다. 적합한 염의 예로는 아미노산, 예컨대 글리신 및 아르기닌, 암모니아, 1차, 2차 및 3차 아민, 및 시클릭 아민, 예컨대 피페리딘, 모르폴린 및 피페라진으로부터 유도된 유기 염, 및 나트륨, 칼슘, 칼륨, 마그네슘, 망간, 철, 구리, 아연, 알루미늄 및 리튬으로부터 유도된 무기 염을 들 수 있다.

[0400]

화합물, 염, 전구약물 또는 용매화물이 고체인 경우, 본 발명의 화합물, 염 및 용매화물은 여러 가지 결정형으로 존재할 수 있고, 이들 모두가 본 발명의 범주 내에 있음을 당업자는 안다.

- [0401] 본 발명의 화합물은 단일 입체이성질체, 라세미체, 및/또는 거울상이성질체 및/또는 부분입체이성질체의 혼합물로서 존재할 수 있다. 이러한 단일 입체이성질체, 라세미체 및 이들의 혼합물 모두가 본 발명의 범주 내에 있다. 바람직하게는, 본 발명의 화합물은 광학적으로 순수한 형태로 사용된다.
- [0402] 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물을 인간 또는 동물체 체내에서 화학 변화를 일으키는 전구약물의 형태로 투여하여 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물을 제공한다. 전구약물의 예로는 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물의 생체내 가수분해성 에스테르를 들 수 있다.
- [0403] 카르복시 또는 히드록시기를 함유하는 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물의 생체내 가수분해성 에스테르는, 예를 들어 인간 또는 동물체 체내에서 가수분해되어 모 산 또는 알코올을 생성하는 제약상 허용가능한 에스테르이다. 카르복시에 대한 적합한 제약상 허용가능한 에스테르로는 (1-6C)알콕시메틸 에스테르, 예컨대 메톡시메틸, (1-6C)알카노일옥시메틸 에스테르, 예컨대 피발로일옥시메틸, 프탈리딜 에스테르, (3-8C)시클로알콕시카르보닐옥시(1-6C)알킬 에스테르, 예컨대 1-시클로헥실카르보닐옥시에틸; 1,3-디옥솔렌-2-오닐메틸 에스테르, 예컨대 5-메틸-1,3-디옥솔렌-2-오닐메틸; 및 (1-6C)알콕시카르보닐옥시에틸 에스테르, 예컨대 1-메톡시카르보닐옥시에틸을 들 수 있고, 본 발명의 화합물 내 임의의 카르복시기에서 형성될 수 있다.
- [0404] 히드록시기를 함유하는 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물의 생체내 가수분해성 에스테르로는, 에스테르의 생체내 가수분해 결과 화학 변화를 일으켜 모 히드록시기를 제공하는 무기 에스테르, 예컨대 포스페이트 에스테르 및 알파-아실옥시알킬 에테르 및 관련 화합물을 들 수 있다. 알파-아실옥시알킬 에테르의 예로는 아세톡시메톡시 및 2,2-디메틸프로피오닐옥시메톡시를 들 수 있다. 히드록시에 대한 생체내 가수분해성 에스테르 형성 기로는 알카노일, 벤조일, 페닐아세틸 및 치환된 벤조일 및 페닐아세틸, 알콕시카르보닐 (알킬 카보네이트 에스테르를 제공), 디알킬카르바모일 및 N-(디알킬아미노에틸)-N-알킬카르바모일 (카르바메이트를 제공), 디알킬아미노아세틸 및 카르복시아세틸이 선택된다.
- [0405] **D) 제조 방법**
- [0406] 본 발명의 화합물, 및 그의 염, 용매화물, 결정형, 활성 대사산물 및 전구약물은 용이하게 이용가능한 출발 물질을 사용하여 당업계에서 이용가능한 기술을 이용하여 제조할 수 있다. 본 발명의 화합물을 제조하는 특정한 신규 방법 및 예시적인 방법이 하기 실시예 단락에 기재되어 있다. 이러한 방법은 본 발명의 범주 내에 속한다.
- [0407] **E) 항균 조성물 및 치료 방법**
- [0408] 본 발명의 관련 측면은 치료, 예방 또는 저지 목적을 위해 치료 또는 항-박테리아 제약 조성물 내 활성 성분으로서 본 발명의 화합물의 사용과 관련된다.
- [0409] 제약 조성물
- [0410] 본 발명의 화합물은 제약상 허용가능한 조성물로 제제화될 수 있다.
- [0411] 본 발명은 제약상 허용가능한 담체 또는 부형제와 함께 본 발명의 화합물 (예를 들어, 화학식 I 및 II의 화합물)을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 바람직하게는, 제약 조성물 내 본 발명의 화합물은 화합물의 치료 유효량이다. 담체로는 염수, 완충 염수, 텍스트로오스, 물, 글리세롤, 에탄올 및 이들의 조합을 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0412] 본 발명에 따른 제약 조성물의 적합한 제약형을 제조하는 허용가능한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 제약 제제는, 적합하게 성분들을 혼합, 분쇄 및 정제형이 필요한 경우 압축, 또는 혼합, 충전 및 용해하는 단계를 포함하는 제약 화학자의 통상적인 기술에 따라 제조되어, 다양한 투여 경로를 위한 목적 생성물을 제공할 수 있다.
- [0413] 본 발명의 화합물 및 조성물은 항생 내성 균주를 포함한, 그람-양성 박테리아 (예를 들어, 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스태필로코쿠스 에피데르미스(*Staphylococcus epidermis*), 스트렙토코쿠스 피오제네스(*Streptococcus pyogenes*), 엔테로코쿠스 파에칼리스(*Enterococcus faecalis*) 및 그람-음성 박테리아 (예를 들어, 이. 콜라이(*E. coli*), 클라미디아 뉴모니아(*Chlamydia pneumoniae*), 엔테로박터 속(*Enterobacter sp.*), 에이치. 인플루엔자(*H. influenza*), 케이. 뉴모니아(*K. pneumoniae*), 레지오넬라 뉴모니아(*Legionella pneumoniae*), 피. 에루지노사(*P. aeruginosa*))에 대한 광범위한 활성 스펙트럼을 갖는 것으로 생각된다.
- [0414] 제약 조성물 및 제2 치료제

- [0415] 광범위한 제2 치료제, 예컨대 항생제를 본 발명의 화합물, 제약 조성물 및 방법과 함께 사용할 수 있다. 제2 치료제로서 사용되는 항생제는 세포 벽 합성, 원형질 막 보존, 핵산 합성, 리보솜 기능, 플라스미드 합성 등을 방해함으로써 작용을 할 수 있다. 제2 치료제는 본 발명의 포스포산화 리파마이신 화합물을 포함하는 제약 조성물에 포함될 수 있거나, 또는 본 발명의 포스포산화 리파마이신 화합물을 포함하는 제약 조성물과 함께 투여될 수 있다.
- [0416] 본 발명의 화합물 및 조성물과 조합되거나 또는 함께 투여될 수 있는 유용한 항생제의 비제한적인 예로는 술폰아마이드, 베타-락탐, 테트라시클린, 클로람페니콜, 아미노글리코사이드, 마크롤리드, 글리코펩티드, 스트렙토그라민, 퀴놀론, 플루오로퀴놀론, 옥사졸리디논 및 리포펩티드를 들 수 있다. 특히, 테트라시클린, 테트라시클린 유도 항박테리아제, 글리실시클린, 글리실시클린 유도 항박테리아제, 미노시클린, 미노시클린 유도 항박테리아제, 옥사졸리디논 항박테리아제, 아미노글리코사이드 항박테리아제, 퀴놀론 항박테리아제, 반코마이신, 반코마이신 유도 항박테리아제, 테이코플라닌, 테이코플라닌 유도 항박테리아제, 에레모마이신, 에레모마이신 유도 항박테리아제, 클로로에레모마이신, 클로로에레모마이신 유도 항박테리아제, 다프토마이신 및 다프토마이신 유도 항박테리아제가 바람직하다.
- [0417] 박테리아 성장 억제 방법
- [0418] 관련 측면에 따라, 본 발명은 박테리아 성장을 억제하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 이러한 억제를 목적으로 박테리아를 본 발명에 따른 포스포산화 리파마이신 화합물 또는 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 제약 조성물 (또는 그의 제약상 허용가능한 전구약물, 염, 활성 대사산물 또는 용매화물)의 유효량과 접촉시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 박테리아를 본 발명의 화합물에 접촉시켜 박테리아 RNA 중합효소, 박테리아 RNA 중합효소 의존성 DNA 전사 및/또는 박테리아 번역을 억제할 수 있다.
- [0419] 상기 접촉은 시험관내 (예를 들어, 실험실 조직 배양, 생화학 및/또는 세포 분석), 비-인간 동물의 생체내, 인간을 포함한 포유동물의 생체내 및/또는 생체외 (예를 들어, 멸균 목적)에서 수행될 수 있다.
- [0420] DNA 전사 및/또는 번역 억제제로서 본 발명의 화합물의 활성은 생체내 및 시험관내 분석을 포함하여 당업자가 이용할 수 있는 임의의 방법으로 측정될 수 있다. 박테리아 RNA 중합 효소 분석의 일부 예가 미국 특허 제 5,635,349호 및 문헌 [Sawadogo and coworkers (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1985), 82:4394-4398)], [Doan and coworkers (FEMS Microbiol. Lett. (2001), 196:135-139) 및 [Wu and coworkers (Anal. Biochem. (1997), 245:226-230)]에 기재되어 있다.
- [0421] 치료 방법
- [0422] 본 발명의 관련 측면은 치료 목적을 위해 제약, 치료 또는 항박테리아 조성물에서 활성 성분으로서 본 발명의 화합물의 사용에 관한 것이다. 상기에서 정의된 바와 같이, 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 포유동물, 예컨대 인간을 포함한 대상체에서 박테리아 감염과 관련된 질환 상태를 적어도 완화시키는 것을 의미하며, 이는 임의의 박테리아, 예컨대 그람 양성균 또는 그람 음성균의 성장, 복제 및/또는 증식의 감소로 질환을 완화시키고, 질환 상태의 전부 또는 일부를 치료, 치유, 억제, 경감, 개선 및/또는 완화시키는 것을 포함한다.
- [0423] 제약 조성물은, 예를 들어, 국소, 비경구, 경구, 향문, 질내, 정맥내, 복막내, 근육내, 안내, 피하, 비내, 기관지내 또는 진피내 경로에 의한 투여를 포함한 임의의 효과적이고 통상적인 방식으로 투여될 수 있다.
- [0424] 특히, 치료에서 또는 예방에서 (하기에 추가 기재됨), 본 발명의 화합물 및 제약 조성물 및/또는 그의 제약상 허용가능한 전구약물, 염, 활성 대사산물 및 용매화물을 주사가 가능한 조성물, 예를 들어 멸균 수분산액, 바람직하게는 등장액으로 개개인에게 투여할 수 있다. 다르게는, 화합물 및 조성물은 국소 도포용으로, 예를 들어 연고, 크림, 로션, 안연고, 점안액, 점이액, 양치제, 함침된 드레싱 및 붕합제 및 에어로졸의 형태로 제제화될 수 있고, 예를 들어 보존제, 약물 침투를 돕는 용매제, 및 연고 및 크림 형태의 완화제를 포함한 적합한 통상적인 첨가제를 함유할 수 있다. 이러한 국소 제제는 또한 상용성의 통상적인 담체, 예를 들어 크림 또는 연고 베이스, 및 로션용 에탄올 또는 올레일 알코올을 함유할 수 있다. 이러한 담체는 제제의 약 1 중량% 내지 약 98 중량%를 구성할 수 있고, 보다 일반적으로 제제의 약 80 중량% 이하를 구성할 것이다.
- [0425] 전신 투여를 위한 다른 방법으로는 담즙산염 또는 푸시딘산 또는 다른 계면활성제와 같은 침투제를 사용하는 경 점막 및 경피 투여를 들 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물 또는 제약 조성물을 장 제제 또는 캡슐화제로 제제화할 수 있는 경우, 경구 투여 또한 가능할 수 있다. 이들 화합물 및 조성물의 투여는 또한 연고(salve), 페이스트, 젤 등의 형태로 국소적 및/또는 국부적일 수 있다.

- [0426] 치료제는 상술한 방법을 통해 전신 방식으로 투여될 수 있지만, 또한 국소적 방식으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 치료제를 뼈에 직접, 예컨대 뼈로 주사하여 투여할 수 있다. 치료제는 또한 다른 국소 방식, 예컨대 국소 조성물을 상처에 도포하거나 상처의 피하 또는 다른 형태에 직접 도포하여 투여될 수 있다.
- [0427] 활성 화합물, 제약 조성물 및 그의 제약상 허용가능한 전구약물, 염, 대사산물 및 용매화물은 또한 골 대체물 또는 골-수복 화합물, 예컨대 골 시멘트 또는 충전제 (예를 들어 스켈라이트(Skelite, 상표명) (밀레니엄 바이올로지스(Millennium Biologies), 캐나다 온타리오주 킹스턴 소재) 및 칼슘 또는 수산화인회석 비드의 일부로 개개인에게 투여될 수 있다.
- [0428] 화합물 또는 제약 조성물의 투여량은 적어도 제약- 또는 치료-유효량의 활성 화합물 (즉, 화학식 I의 화합물, 화학식 II의 화합물 및/또는 이들의 제약상 허용가능한 전구약물, 염, 활성 대사산물 또는 용매화물)을 함유하고, 바람직하게는 하나 이상의 제약 투여 단위로 이루어진다. 선택된 투여량은 치료를 필요로 하는 대상체, 예를 들어 인간 환자에게 투여될 수 있다. "치료 유효량"은 치료 대상체에게 치료 효과를 줄 수 있는 화학식 I 및/또는 화학식 II의 화합물 (및/또는 이들의 제약상 허용가능한 전구약물, 염, 활성 대사산물 또는 용매화물)의 양을 의미한다. 치료 효과는 객관적 (즉, 일부 시험 또는 마커로 측정가능함 (예를 들어, 보다 적은 박테리아 수)) 또는 주관적 (즉, 대상체가 효과의 징후를 나타내거나 느낌)일 수 있다.
- [0429] "치료 유효량"에 해당하는 양은 특정 화합물, 투여 경로, 부형제 사용, 질환 상태 및 그의 중증도, 이를 필요로 하는 대상체의 종류 및 질환 치료용 기타 제제와의 공용 가능성과 같은 요인들에 따라 달라질 것이다. 그럼에도 불구하고, 치료 유효량은 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 대상체, 예컨대 포유동물, 특히 인간 투여용으로 활성 화합물의 일일 투여 수준은 0.1 mg/kg 내지 200 mg/kg, 전형적으로 약 1 내지 5 mg/kg일 것으로 예상된다. 어떤 경우에서든 내과 의사는 개개인에게 가장 적합하고, 나이, 체중 및 특정 개개인의 반응에 따라 다른 실제 투여량을 결정할 것이다. 상기 투여량은 평균적인 경우의 예이다. 물론, 보다 높거나 낮은 투여 범위가 마땅한 각 경우가 있을 수 있고, 이는 본 발명의 범주에 속한다.
- [0430] 본 발명이 바람직하게는 뼈-관련 감염의 예방 및/또는 치료에 관한 것이지만, 본 발명은 중이염, 결막염, 폐렴, 세균혈증, 부비동염, 흉막 기종 및 심내막염, 죽상경화 혈관의 석회화물 주변의 저급 감염 및 수막염을 포함한 (이에 제한되지는 않음) 박테리아 감염에 의해 유발되거나 이와 관련된 기타 질환을 치료 및 예방하는 방법을 포함한다. 이 방법에서, 상기에서 정의된 화합물 및/또는 제약 조성물의 치료 유효량 또는 예방 유효량을, 치료 효과를 제공하여 대상체의 감염을 저지하거나 치료하는 데 충분한 양으로 대상체 (바람직하게는 인간)에게 투여한다. 정확한 양은 당업자에 의해 일반적으로 결정될 수 있고, 관련된 특정 박테리아 균주 및 사용된 특정 항박테리아 화합물과 같은 여러 요인에 따라 달라질 것이다.
- [0431] 예방 및 저지
- [0432] 본 발명의 화합물에 대해 특히 고려되는 추가 용도는 예방 및 저지 목적을 위한 것이다. 사실상, 많은 정형외과 의사들은, 보철 관절을 가진 인간은 균혈증을 유발할 수 있는 치료 전에 항생제 예방을 고려해야 한다고 생각한다. 심한 감염은 종종 보철 관절의 손실을 초래하는 심각한 합병증이고, 현저한 사망률과 사망자수를 수반한다. 따라서, 본 발명의 화합물 및 제약 조성물이 이러한 상황에서 예방 항생제에 대한 대체물로 사용될 수 있다. 예를 들어, 상기 화합물 및/또는 제약 조성물을 침습적 의학 치료, 예컨대 수술 또는 내재 장치 (예를 들어, 관절 대체물 (둔부, 무릎, 어깨 등))의 삽입, 뼈 이식, 골절 복구, 치과 수술 또는 임플란트 직전에 주사로 투여하여 관련 박테리아에 대항한 전신 및/또는 국소 효과를 달성할 수 있다. 치료는 침습적 의학 치료 후, 예컨대 수술 후 또는 장치의 체내 시간 동안 계속될 수 있다.
- [0433] 또한, 화합물 및/또는 제약 조성물을 침습적 의학 치료 전에 투여하여 화합물이 치료 전에 뼈조직에 축적되게 할 수도 있다.
- [0434] 각 경우, 화합물을 타당하게 전신 또는 국소 존재시키고/거나, 뼈 내, 바람직하게는 수술 과정 동안 박테리아 오염에 잠재적으로 노출되는 부위에 축적시키기 위해 본 발명의 화합물 및/또는 제약 조성물을 수술하기 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일 또는 그 이상 내지 10시간, 9시간, 8시간, 7시간, 6시간, 5시간, 4시간, 3시간, 2시간 또는 1시간 전 또는 그 미만의 시간 전에 1회, 2회, 3회 또는 그 이상 투여할 수 있다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 포스포산화 화합물 및/또는 제약 조성물을, 비개질된 모 리파마이신, 즉, 비-포스포산화 동등물의 투여 중에 일반적으로 달성되는 농도보다 약 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 75배, 100배, 500배 또는 1,000배 더 높은 국소 농도에 도달할 수 있도록, 투여할 수 있다. 화합물은 침습적 의학 치료 후, 예컨대 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 또는 6일, 1주, 2주, 3주 또는 그 이상, 또는 장치가 체내에 존재하는 전체 시간 동안 투여

될 수 있다.

[0435] 따라서, 본 발명은 골조직에 대한 친화력이 높은 포스포산화 리파마이신을 대상체에 투여하는, 대상체, 예컨대 포유동물의 뼈 내에 리파마이신의 축적을 유도하는 방법을 제공한다. 포스포산화 리파마이신은 골조직과 결합하고, 리파마이신의 비-포스포산화 동등물의 양보다 많은 양으로 대상체의 뼈 내에 축적된다. 바람직하게는, 포스포산화기는 절단가능한 연결기를 통해 리파마이신에 커플링된다.

[0436] 본 발명은 또한 골조직에 대한 친화력이 높은 포스포산화 리파마이신을 대상체에 투여하는, 대상체, 예컨대 포유동물의 뼈 내에 리파마이신의 존재를 연장시키는 방법을 제공한다. 포스포산화기는 절단가능한 연결기를 통해 리파마이신에 커플링된다. 포스포산화 리파마이신은 골조직을 결합하고, 대상체의 뼈 내에 축적되며, 연결기는 뼈 내부에서 서서히 절단되어 리파마이신을 방출시키고, 뼈 내 리파마이신의 존재를 연장시킨다.

[0437] F) 포스포산화 리파마이신으로 코팅된 내재 장치 및 생성물

[0438] 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 및 제약 조성물로 코팅된 내재 장치를 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "내재 장치"는 외과용 임플란트, 정형외과용 장치, 보철 장치 및 카테터, 즉, 개개인의 체내에 투입되고 연장된 시간 동안 위치를 유지하는 장치를 지칭한다. 이러한 장치로는 인공 관절 및 임플란트, 심판막, 심장박동기, 혈관 이식, 혈관 카테터, 뇌척수액 단락, 요로 카테터, 지속외래복막투석 (CAPD) 카테터를 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0439] 일 실시양태에 따라, 내재 장치를 체내에 삽입하기 전에 약 1 mg/ml 내지 약 10 mg/ml의 농도의 본 발명의 화합물 및/또는 제약 조성물에 침지시키거나 분무시킬 수 있다.

[0440] 또다른 실시양태에 따라, 내재 장치는 골-유사 형태의 물질 (예를 들어, 인산칼슘, Ca-이온 및 수산화인회석 [Yoshinari et al., Biomaterials (2001), 22(7):709-715])로 이루어지거나, 이들로 미리 코팅될 수 있다. 이러한 물질은 본 발명의 화합물 또는 제약 조성물로 장치를 코팅하는 중에 및/또는 그의 국소 또는 전신 투여 후에 본 발명의 화합물 및 제약 조성물과 내재 장치의 결합을 유리하게 개선시키는 것 같다. 내재 장치는 또한, 본 발명에 따른 결합된 뼈-표적 화합물이 미리 적재되거나 이를 함유하는 골물질로 코팅될 수 있다. 상술한 실시양태에서, 수산화인회석이 골물질로서 바람직하다. 수산화인회석-코팅된 인공 보철의 코팅 방법, 용도 및 이점에 대한 보다 상세한 설명은 인용을 통해 본원에 포함된 문헌 [The Journal of Bone & Joint Surgery (2004) 86A:2526-40 by Dumbleton and Manly]의 개관에서 찾을 수 있다.

[0441] G) 제조 방법

[0442] 본 발명의 화합물, 및 그의 염, 용매화물, 결정형, 활성 대사산물 및 전구약물은, 용이하게 이용가능한 출발 물질을 사용하여 당업계에서 이용가능한 기술을 이용하여 제조할 수 있다. 본 발명의 화합물을 제조하는 특정한 신규 방법 및 예시 방법이 하기 실시예 단락에 기재되어 있다. 이러한 방법은 본 발명의 범주 내에 있다.

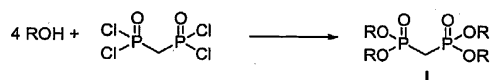
실시예

[0443] 본원에서 진술된 실시예는 본 발명의 대표적인 화합물의 합성을 예시한다. 또한, 본 발명의 화합물을 뼈-결합 능력에 대해 분석하기 위한 예시 방법, 미생물에 대한 본 발명의 화합물의 최소 억제 농도 (MIC)를 측정하기 위한 분석, 및 생체내 활성 및 세포독성을 시험하는 방법을 제공한다.

[0444] 실시예 1: 포스포산화 리파마이신의 합성

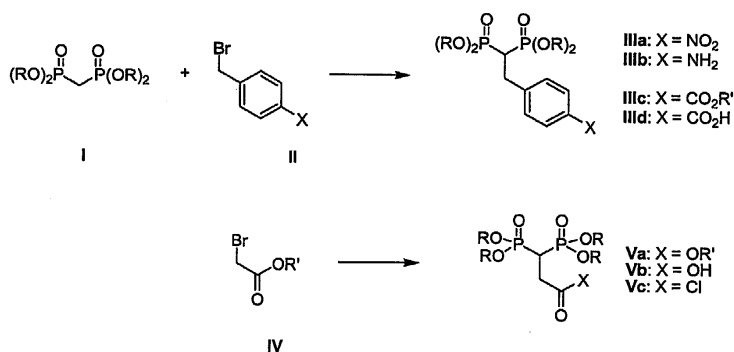
[0445] A) 일반적인 실험 절차

[0446] A 1) 비스포스포네이트 구성 단위의 제조



[0447]

[0448] 문헌 [Synth. Commun. (2002), 32; 211-218]에 기재된 바와 같이, 메틸렌비스포스포산 (I)의 테트라에스테르를 모 테트라클로라이드 및 알코올로부터 제조할 수 있다.



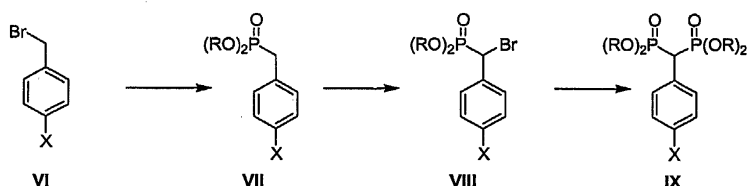
[0449]

[0450]

문헌 [Bioorg. Med. Chem. (1999), 7:901-919]에 기재된 프로토콜에 따라, 화학식 I의 음이온을 4-치환된 벤질 브로마이드 II 또는 브로모아세테이트 IV로 알킬화하여 일반 구조식 III 및 V의 벤질 치환된 비스포스포네이트의 구성 단위를 얻을 수 있다. 수소화 조건하에 촉매, 예컨대 PtO₂를 사용하여 니트로기를 환원시켜 니트로 화합물 IIIa를 아닐린 IIIb로 전환시킬 수 있다. IIIc 및 Va와 같은 에스테르를 에스테르 절단을 통해 상응하는 산 IIId 또는 Vb로 전환시킬 수 있다. 예를 들어, 에스테르 IIIc (식 중, R' = t-Bu)를 TFA로 처리하여 상응하는 산 IIId를 수득할 수 있다. 유사한 조건하에 에스테르 Va (식 중, X = Ot-Bu)를 상응하는 산 Vb로 전환시킬 수 있다.

[0451]

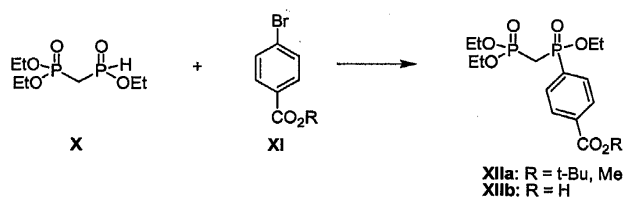
[0452]



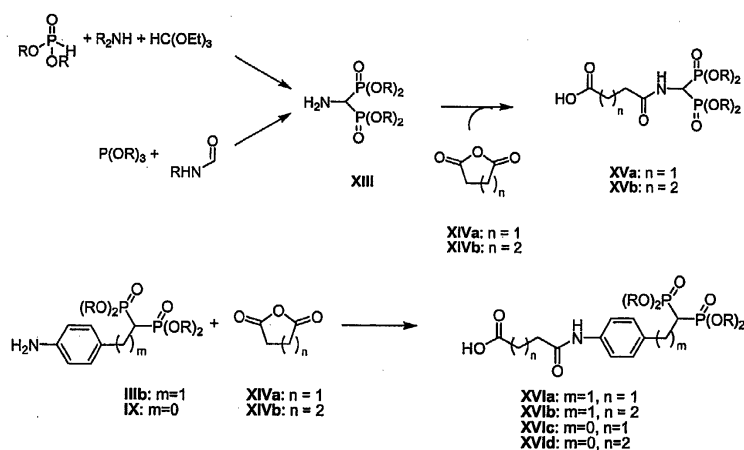
일반 화학식 IX의 아릴 치환된 메틸렌 비스포스포네이트를 모 벤질 할라이드 VI로부터 2회 아르부조프(Arbuzov) 반응 및 그 사이의 벤질 할로젠화의 순서로 얻을 수 있다.

[0453]

[0454]



문헌 [Synth. Comm. (2002), 32:2951-2957] 및 특허 US 5,952,478 (1999)에 기재된 방법을 이용하여 디에틸 (에톡시포스포닐)메틸포스포네이트 X를 제조할 수 있다. 이를 4-치환된 브로모벤젠 (XI)과 커플링하고, 에스테르 중간체 XIIa를 절단한 후 산 XIIb를 수득할 수 있다.

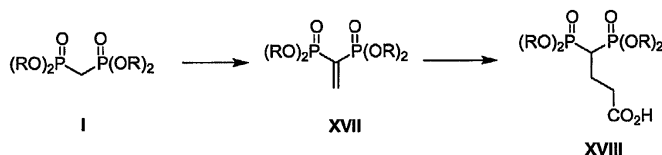


[0455]

[0456]

문헌 [Synth. Commun. (1996), 26; 2037-2043]에 기재된 프로토콜에 따라 디벤질아민 또는 디알릴아민, 디알킬

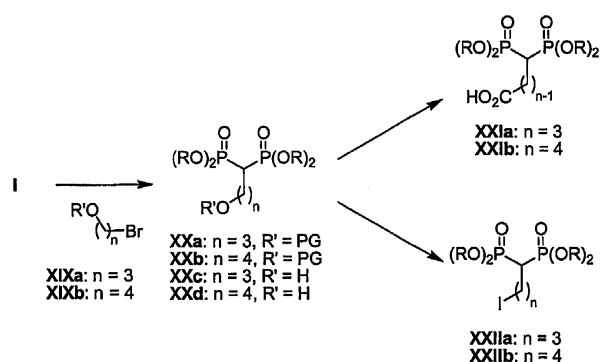
포스파이트 및 트리에틸 오르토포스포메이트로부터, 또는 문헌 [Phosphorus, Sulfur and Silicon (2003), 178, 38-46]과 같이 트리알킬 포스파이트 및 적절히 치환된 포름아미드 (예컨대, 알릴 포름아미드)로부터 아민 XIII을 제조할 수 있다. 숙신산 무수물 XIVa 또는 글루타르산 무수물 XIVb를 사용하여 XIII을 아실화하여 각각 산 XVa 및 XVb를 제공할 수 있다 (문헌 [J. Drug Targeting (1997), 5; 129-138]). 유사한 방식으로, 상기에 기재된 IIIb 또는 IX를 XIV(a-b)로 처리하여 숙신남산 및 글루타람산 XVI(a-d)을 수득한다.



[0457]

[0458]

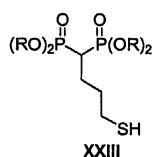
문헌 [J. Org. Chem. (1986), 51; 3488-3490]에 기재된 프로토콜에 따라 화학식 I로부터 올레핀 XVII을 제조할 수 있다. 이를 문헌 [J. Org. Chem. (2001), 66;3704-3708]에 기재된 바와 같이 모 비스포스포노부티르산 XVIII로 전환할 수 있다.



[0459]

[0460]

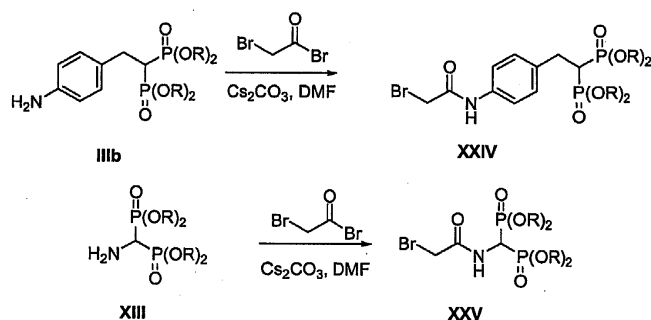
문헌 [Phosphorus, Sulfur and Silicon (1998), 132:219-229]에 기재된 바와 같이, 화학식 I의 음이온을 다양한 쇠 길이를 갖는 보호된 ω-히드록시 브로마이드 XIX(a-b)로 알킬화하여 일반 구조식 XX(c-d)의 알코올 및 일반 구조식 XXII의 요오다이드를 제조할 수 있다. 탈보호 후, 알코올을 동일계 내 발생된 트리페닐포스핀:요오다이드 복합체로 처리하여 상응하는 요오다이드로 전환시킬 수 있다. 이들 알코올 XX(c-d)를 통상적인 산화 방법, 예컨대 피리디늄 디클로메이트로 처리하여 일반 구조식 XX의 산으로 추가 전환할 수 있다.



[0461]

[0462]

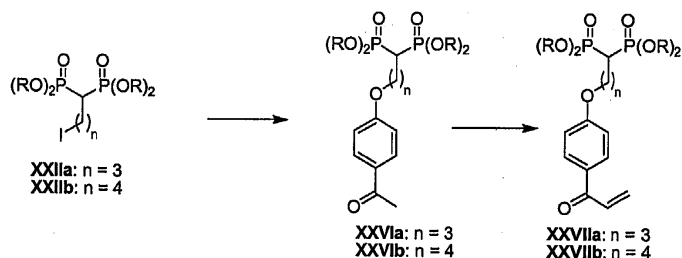
문헌 [Bioorg. Med. Chem. (1999), 7; 901-919]에 기재된 프로토콜에 따라 화학식 I의 음이온을 보호된 3-요오도프로판-1-티올로 알킬화하여 티올 XXIII을 제조할 수 있다.



[0463]

[0464]

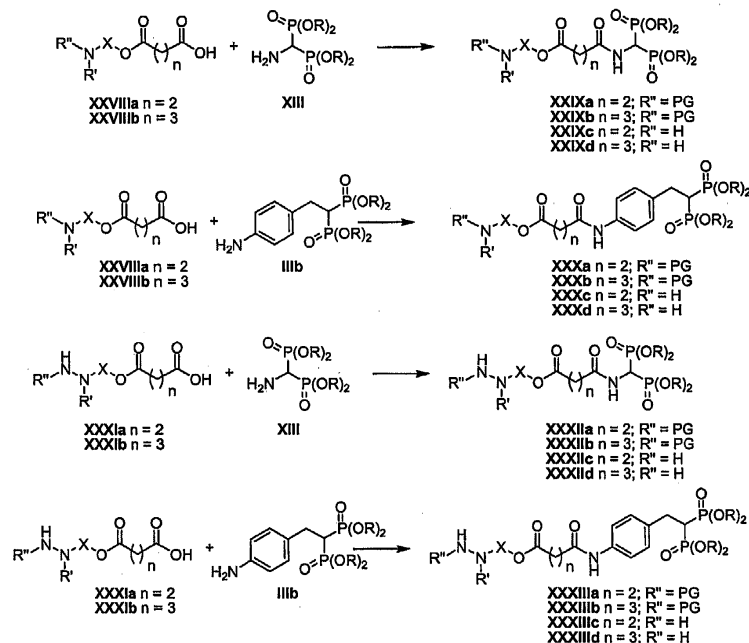
문헌 [J. Drug Targeting (1995), 3, 273-282]에 기재된 방법의 개질에 따라 모 아민 IIIb 및 XIII으로부터 브로모아세트아미드 XXIV 및 XXV를 제조할 수 있다.



[0465]

[0466]

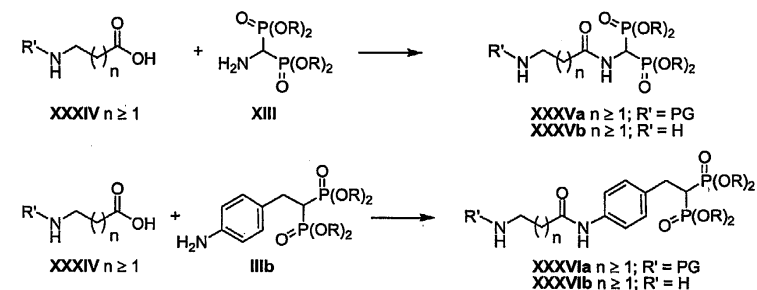
문헌 [Org. Syn. (1983); 60; 88-91]에 기재된 바와 같이 모 요오다이드 XXII(a-b)를 p-히드록시아세토펜으로 처리한 후 메틸렌 이동 반응을 통해 비스포스포산화 비닐 아릴 케톤, 예컨대 XXVII(a-b)를 제조할 수 있다.



[0467]

[0468]

3차 아민 및 표준 아미드 커플링제 (DCC, EDCI, HBTU, HATU, PyBOP, BOP-Cl)의 존재하에 IIIb 또는 XIII으로 적절히 보호된 아민 XXVIII(a-b) 및 히드라진 XXXI(a-b)에 의해 비스포스포산화 아민 XXIX(a-d) 및 XXX(a-d) 및 히드라진 XXXII(a-d) 및 XXXIII(a-d)를 생성한다. 이들 모든 경우에서, X는 산소 및 질소 원자를 분리하는 원자의 조합이고, R'은 X 내 원자들과 결합할 수 있는 원자의 또다른 조합이다.



[0469]

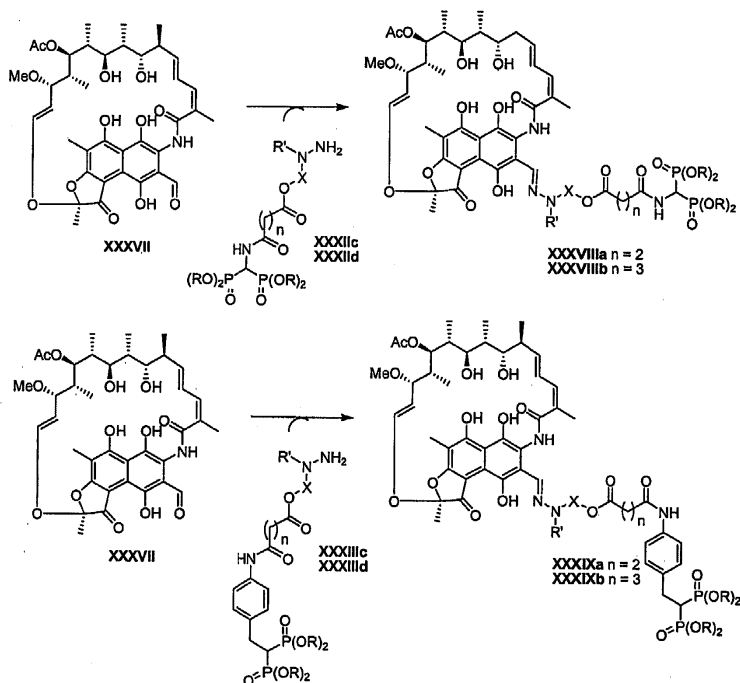
[0470]

표준 아미드 커플링 조건 (3차 아민 및 표준 아미드 커플링제, 예컨대 DCC, EDCI, HBTU, HATU, PyBOP, BOP-Cl) 하에 아민 XIII 및 IIIb를 각각 보호된 아미노산 XXXIV로 아실화하여 비스포스포산화 아민 XXXVa-b 및 XXXVIa-b를 용이하게 생성한다.

[0471]

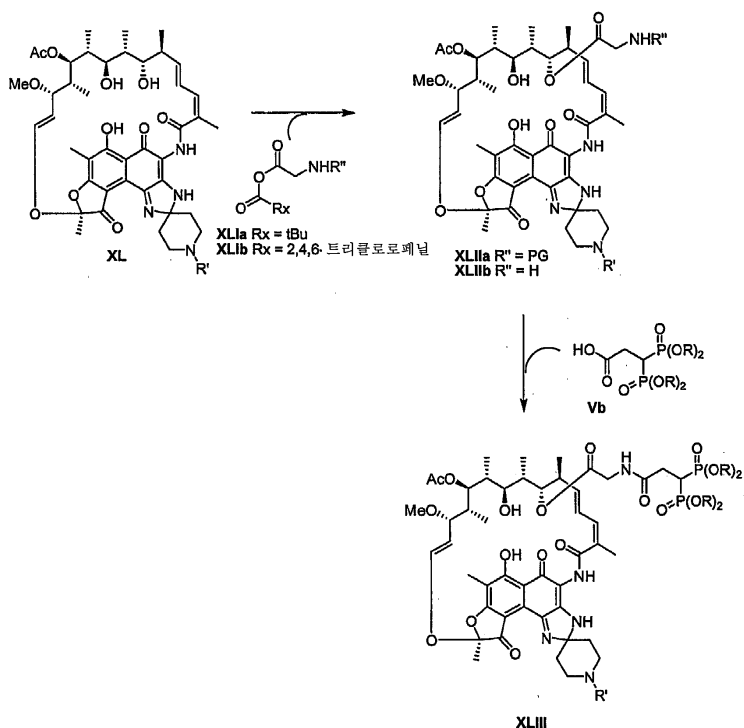
이 단락에 기재된 비스포스포네이트 구성 단위는 R이 Me, Et, i-Pr 또는 Bn인 그의 포스포산 에스테르 또는 자유 비스포스포산의 형태이다.

[0472] A 2) 리파마이신-비스포스포네이트 접합체의 합성



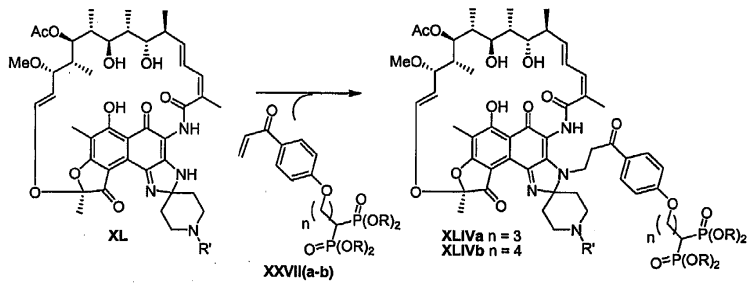
[0473]

[0474] 문헌 [Farmaco, Ed. Sci. (1975), 30, 605-619]에 기재된 바와 유사한 방식으로 3-포르밀 리파마이신 S XXXVII 과 히드라진 XXXII(c-d) 및 XXXIII(c-d)를 축합하여 비스포스포산화 전구약물 XXXVIII(a-b) 및 XXXIX(a-b)를 제조한다.



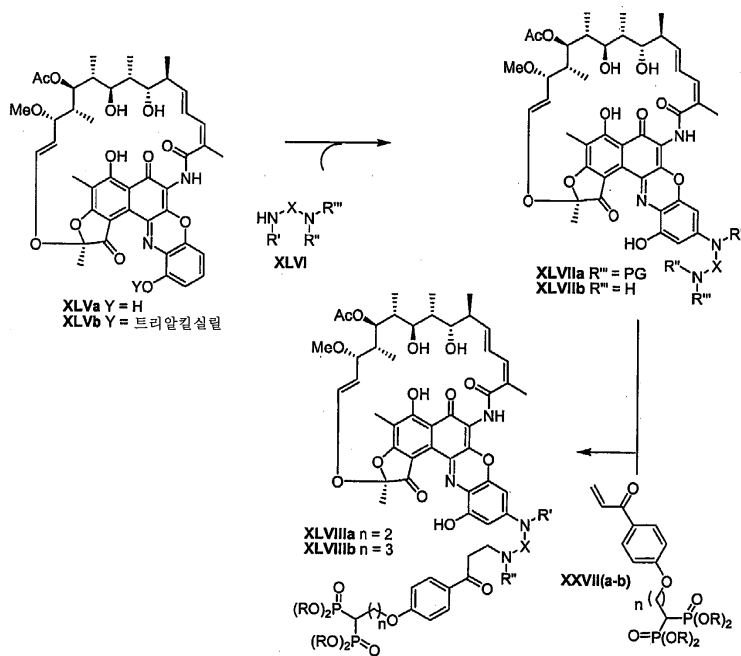
[0475]

[0476] 리파마이신 유도 화합물 XL과 보호된 글리신으로부터 제조된 혼합 무수물과의 반응은 문헌 [J. Mol. Struct. (2001), 563-564, 61-78]에서 기타 무수물에 대해 기재된 바와 유사한 방식으로 에스테르 생성물 XLIIa를 선택적으로 생성한다. 글리시닐 잔기의 탈보호 후, 유리 아미노기를 산 Vb와 반응시켜 목적 비스포스포산화 리파마이신 유도체 XLIII을 생성한다.



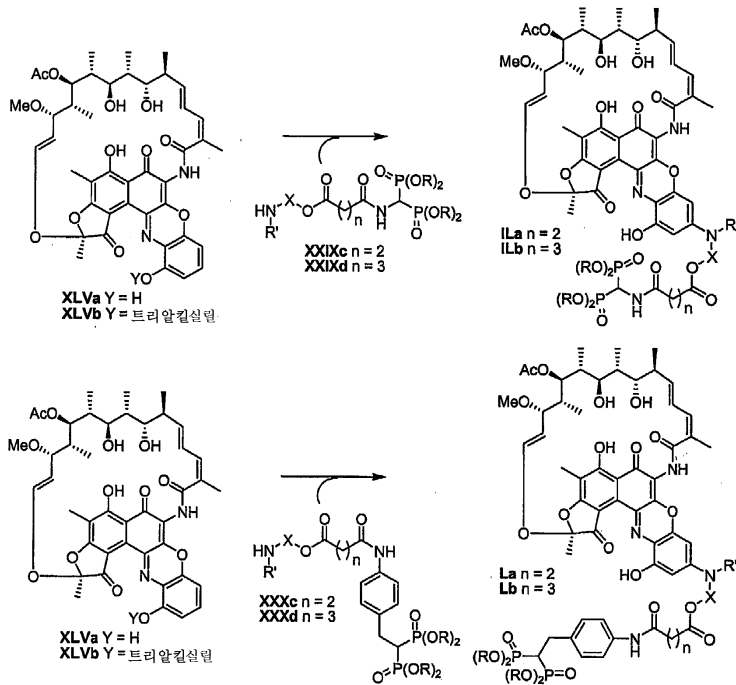
[0477]

[0478] 문헌 [Ind. J. Pharm. Sci. (1999); 61, 223-226]에서 시프로플록사신의 비-비스포스포산화 전구약물에 대해 기재한 바와 유사한 방식으로 비닐 케톤 XXVII(a-b)에 XL을 첨가하여 비스포스포산화 리파마이신 유도 전구약물 XLIV(a-b)를 제공한다.

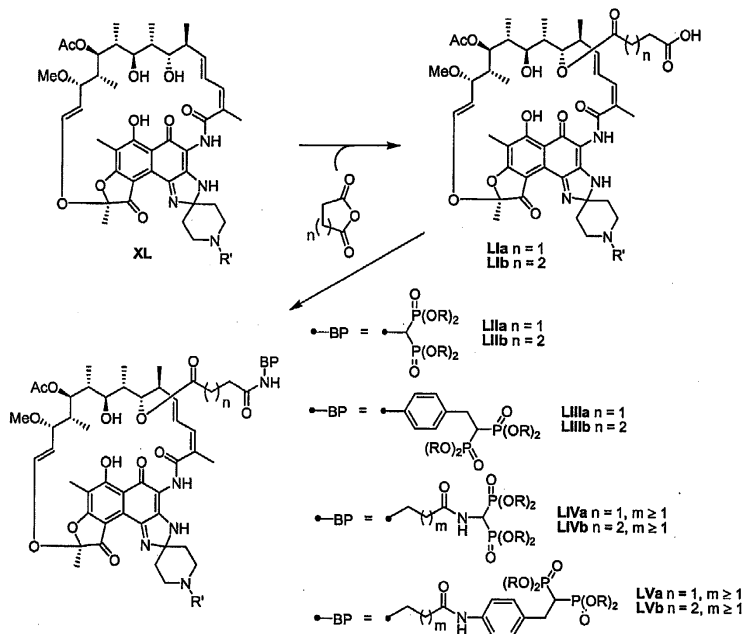


[0479]

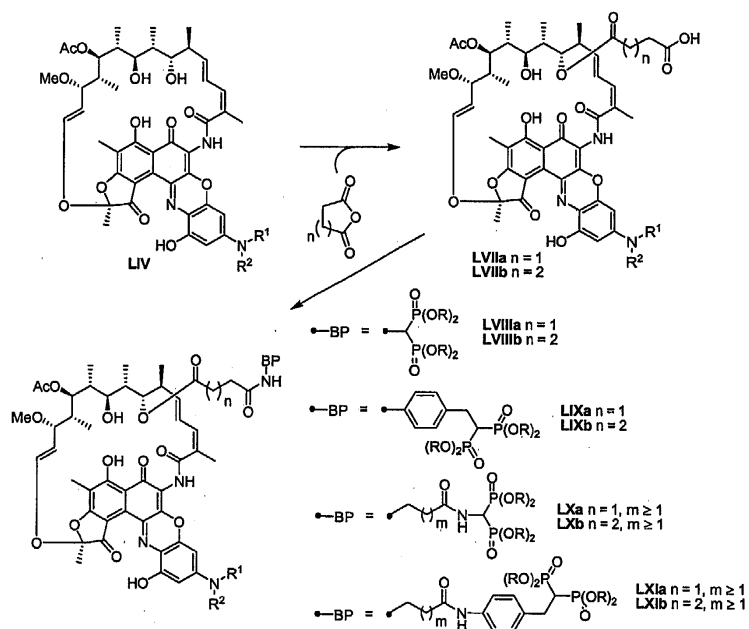
[0480] 유사하게, US 4,690,919, US 4,983,602 및 문헌 [Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155]에 기재된 바와 같이, 약한(mild) 산화제, 예컨대 이산화망간의 존재하에 벤조사지노리파마이신 XLV(a-b)와 디아민 XLVI과의 축합으로 얻어진 화합물 XLVIIb를 비닐 케톤 XXVII(a-b)와 반응시켜 비스포스포산화 전구약물 XLVIII(a-b)를 수득할 수 있다.



US 4,690,919, US 4,983,602 및 문헌 [Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155]에 기재된 바와 같이, 약한 산 화제, 예컨대 이산화망간의 존재하에 비스포스폰산화 아민 XXIX(c-d) 및 XXX(c-d)와 벤족사지노리파마이신 유도 체 XLV(a-b)와의 축합을 통해 비스포스폰산화 벤족사지노리파마이신 유도체 IL(a-b) 및 L(a-b)를 제조한다.



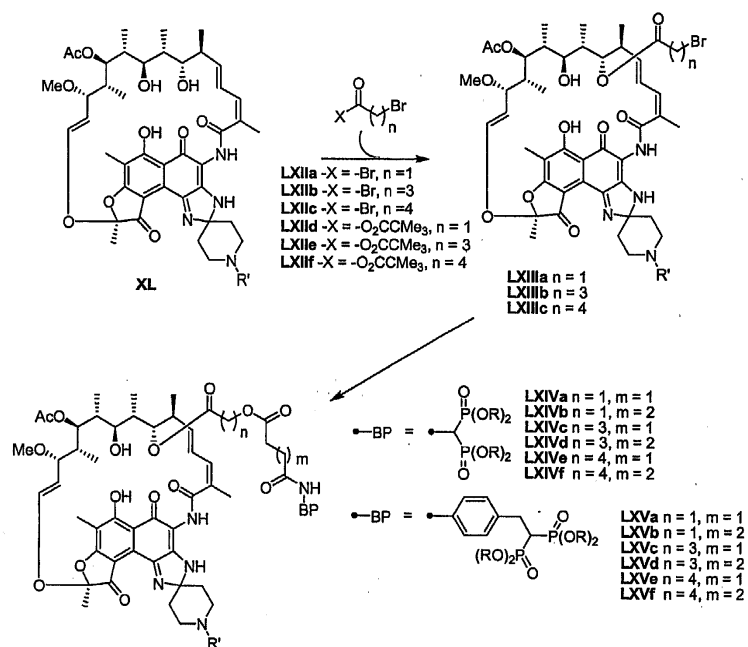
리파마이신 XL과 숙신산 및 글루타르산 무수물과의 축합은 각각 산 LIIa 및 LIIb를 제공한다. 이들 산을 표준 아 미드 커플링 조건 (3차 아민 및 표준 아미드 커플링제, 예컨대 DCC, EDC1, HBTU, HATU, PyBOP, BOP-C1) 하에 아민 XIII과 커플링하여 비스포스포네이트 전구약물 LII(a-b)를 제공하고, 아민 IIIb와 커플링하여 비스포스폰 산화 전구약물 LIII(a-b)를 제공하고, 아민 XXXVb와 커플링하여 비스포스폰산화 전구약물 LIV(a-b)를 제공하며, 아민 XXXVIb와 커플링하여 비스포스폰산화 전구약물 LV(a-b)를 제공할 수 있다.



[0485]

[0486]

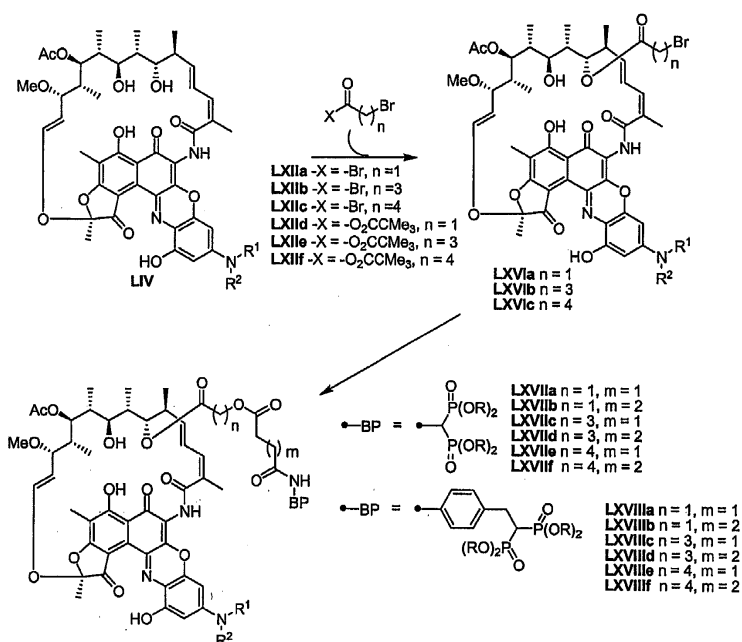
유사하게, 벤족사지노리파마이신 LIV와 숙신산 및 글루타르산 무수물과의 축합은 산 LIa 및 LIb를 제공하고, 이들을 아민 XIII, IIIb, XXXVb 및 XXXVIb와 커플링하여 각각 비스포스포산화 전구약물 LVII(a-b), LVIII(a-b), LIX(a-b) 및 LX(a-b)를 제공할 수 있다.



[0487]

[0488]

비 친핵성 염기의 존재하에 리파마이신 XL을 브로모아실 브로마이드 LXII(a-c) 또는 혼합 무수물 LXII(d-f)로 처리하여 브로모아실 에스테르 LXIII(a-c)를 제공한다. 이들을 염기의 존재하에 숙신남산 XVa 및 XVIa 및 글루타람산 XVb 및 XVIb와 반응시켜 비스포스포산화 전구약물 LXIV(a-f) 및 LXV(a-f)를 제공할 수 있다.



[0489]

[0490]

유사하게, 벤족사지노리파마이신 LIV를 염기의 존재하에 LXII(a-f)로 처리하여 브로모아실 에스테르 LXVI(a-c)를 제공하고, 이를 산 XV(a-b) 및 XVI(a-b)와 반응시켜 비스포스포산화 전구약물 LXVII(a-f) 및 LXVIII(a-f)를 제공할 수 있다.

[0491]

이 단락에 기재된 비스포스포네이트 구성 단위는 R이 Me, Et, i-Pr, 알릴 또는 Bn인 그의 포스포산 에스테르 또는 자유 비스포스포산 및/또는 자유 비스포스포네이트 염의 형태이다. 비스포스포산 에스테르를 통상적인 방법, 예컨대 염기의 존재 또는 부재하에 트리메틸실릴 브로마이드 또는 요오다이드로 처리, 비스포스포네이트 에스테르가 벤질 비스포스포네이트인 경우 수소화, 비스포스포네이트 에스테르가 알릴 비스포스포네이트인 경우 팔라듐 촉매 및 친핵체로 처리하여 자유 산 및 산 염으로 전환할 수 있다.

[0492]

문헌에 기재된 통상적인 방법, 예를 들어 문헌 ["Protective Groups in Organic Synthesis", Greene, T.W. and Wuts, P.M.G., Wiley-Interscience, New York, 1999]에서 검토된 방법을 이용하여 사용된 다른 보호기를 배치 및 제거할 수 있다.

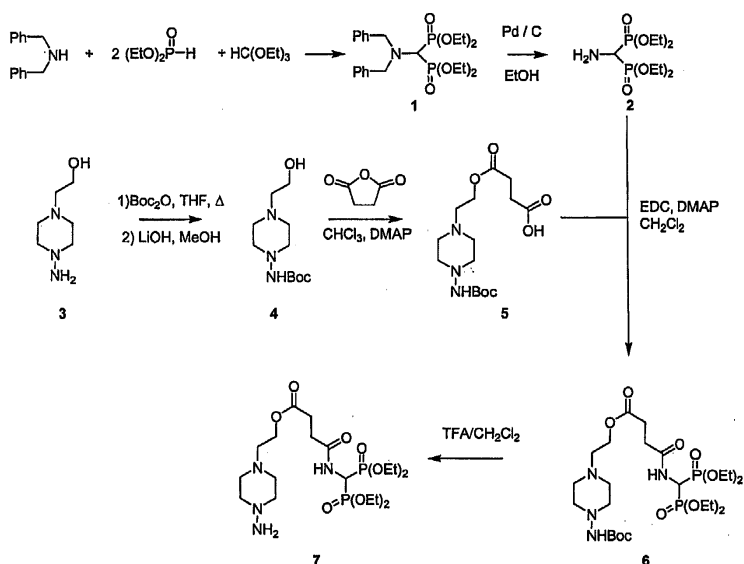
[0493]

B) 상세한 실험 절차

반응식 1

[0494]

테트라에틸 (4-(2-(1-아미노-피페라진-4-일)에톡시)-4-옥소-부타노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (7)의 합성



[0495]

[0496]

테트라에틸 N,N-디벤질-1-아미노메틸렌비스포스포네이트 (1): 화합물 1을 문헌 [Synth. Comm. (1996), 26: 2037-2043]으로부터 유래된 개질된 프로토콜에 따라 제조하였다. 트리에틸 오르토포스포네이트 (8.89 g, 60 mmol), 디에틸 포스파이트 (16.57 g, 120 mmol) 및 디벤질 아민 (11.80 g, 60 mmol)을 증류 헤드가 장착된 100 mL 둥근 바닥 플라스크에서 합하였다. 상기 반응물을 Ar하에 1시간 동안 180 내지 195 °C로 가열하였다. EtOH 발생이 완료되었을 때, 상기 반응 혼합물을 실온으로 냉각하고, CHCl₃ (300 mL)으로 희석하고, 수성 NaOH (2 M, 3 x 60 mL) 및 염수 (2 x 75 mL)로 세척하고, 이어서 MgSO₄로 건조하였다. 증발 후, 25.2 g (87%)의 조수율을 얻었다. 조질의 오일 4.95 g의 분량을 크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산:메탄올 14:4:1)로 정제하여 순수한 1 (2.36 g, 41%)을 수득하였다.

[0497]

[0498]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.32 (dt, J=2.0, 7.0, 12H), 3.55 (t, J=25.0, 1H), 3.95-4.25 (m, 12H), 7.20-7.45 (m, 10H).

테트라에틸 1-아미노메틸렌비스포스포네이트 (2): 화합물 1 (2.00 g, 4.14 mmol)을 EtOH (40 mL)에 용해하였다. 상기 용액에 탄소 상 팔라듐 (10%, 1.5 g) 및 시클로헥센 (2.5 mL, 24.7 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 아르곤하 15시간 동안 환류하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 증발시켜 다소 불순한 담황색 오일로서 2 (1.50 g, 119%)를 수득하고, 이를 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 바로 사용하였다.

[0499]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.35 (t, J=7.0, 12H), 3.58 (t, J=20.3, 1H), 3.65-3.90 (br s, 2H), 4.20-4.28 (m, 8H).

[0500]

1-(t-부틸옥시카르보닐아미노)-4-(2-히드록시에틸)피페라진 (4): 1-아미노-4-(2-히드록시에틸)-피페라진 3 (1.18 g, 8.1 mmol) 및 Boc 무수물 (4.4 g, 20.3 mmol)을 THF 100 mL에 첨가하고, 60 °C에서 1.5시간 동안 가열하였다. 용매를 진공하에 증발시키고, 잔류물을 MeOH (50 mL)에 용해하고, LiOH (970 mg, 40.4 mmol)의 수용액 (50 mL)을 첨가하였다. 얻어진 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 이어서, 상기 혼합물을 물 (50 mL)로 희석하고, CH₂Cl₂ (3 x 75 mL)로 추출하고, 염수 (75 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 농축하여 무색 겔을 수득하였다. 조질의 잔류물을 Et₂O로 처리하고, 0 °C로 냉각하고, 여과하여 백색 고체 (1.21 g, 61%)를 수득하였다.

[0501]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.45 (s, 9H), 2.55 (명백한 t, J=5.4 Hz, 2H), 2.64 (m, 4H), 2.83 (m, 4H), 3.60 (명백한 t, J=5.4 Hz, 2H) 5.40 (br s, 1H).

[0502]

1-(t-부틸옥시카르보닐아미노)-4-(2-(4-히드록시-4-옥소-부타노일옥시)에틸)피페라진 (5): 화합물 4 (250 mg, 1.0 mmol), 숙신산 무수물 (105 mg, 1.05 mmol) 및 4-DMAP (촉매량)를 CHCl₃ (600 μL)에 용해하고, 12시간 동안 교반하였다. 상기 용액을 진공에서 농축하고, 더이상 정제하지 않고 사용하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ
1.43 (s, 9H), 2.60 (s, 4H), 2.76 (m, 6H), 2.86 (m, 4H), 4.23 (t, J=5.5 Hz, 2H), 5.71 (br s, 1H), 10.82 (br s, 1H)

[0503]

[0504]

테트라에틸 (4-(2-(1-(t-부틸옥시카르보닐아미노)-피페라진-4-일)에톡시)-4-옥소-부타노일-아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (6): CH₂Cl₂ (10 mL) 중 화합물 2 (303 mg, 1.0 mmol) 및 5 (345 mg, 1.0 mmol)의 용액에 EDC (230 mg, 1.2 mmol) 및 4-DMAP (촉매량)를 첨가하였다. 얻어진 용액을 Ar하에 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 CH₂Cl₂에 희석하고, 물, 염수로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하였다. 증발 후, 잔류물을 SiO₂ 상에서 플래시 크로마토그래피 (농도구배 4% 내지 10% MeOH/CH₂Cl₂)로 정제하여 무색 검 (410 mg, 65%)을 수득하였다.

[0505]

[0506]

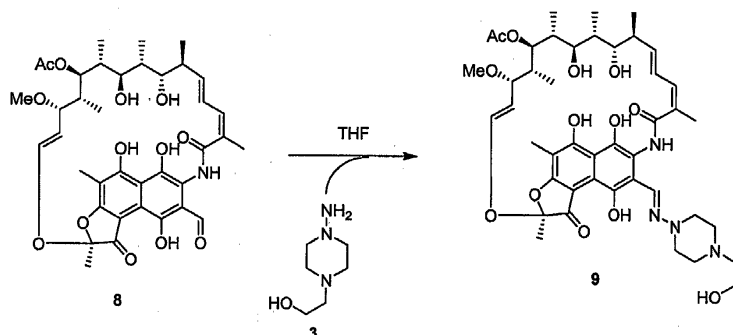
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.33 (t, J=7.1 Hz, 12H), 1.45 (s, 9H), 2.56-2.69 (m, 10H), 2.81 (br s, 4H), 4.12-4.26 (m, 10H), 5.00 (dt, J=10.1, 21.7 Hz, 1H), 5.51 (br s, 1H), 6.50 (br d, J=8.2Hz, 1H).

테트라에틸 (4-(2-(1-아미노-피페라진-4-일)에톡시)-4-옥소-부타노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (7): 화합물 6 (490 mg, 0.78 mmol)을 10% TFA/CH₂Cl₂ (8 mL)의 용액에 용해하였다. 출발 물질이 남지 않을 때까지 (TLC 모니터링) 상기 용액을 실온에서 교반하였다. 휘발 물질을 진공하에 증발시키고, 잔류물을 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

반응식 2

[0507]

3-(((4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐)이미노)메틸)리파마이신 (9)의 합성



[0508]

[0509]

3-(((4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐)이미노)메틸)리파마이신 (9): 3-포르밀 리파마이신 S (8, 724 mg, 1 mmol)를 THF 3 mL에 현탁하였다. 고형 1-아미노-4-(2-히드록시에틸)-피페라진 (3, 145 mg, 1 mmol)을 한 번에 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 이어서, CH₂Cl₂ 50 mL와, 포화 염수 10 mL와 물 30 mL 중 아스코르브산나트륨 2 g의 용액과의 혼합물 사이에 분배하였다. 유기물을 수집하고, 수성층을 또다른 CH₂Cl₂ 50 mL로 추출하였다. 합한 유기물을 Na₂SO₄로 건조하고, 진공에서 농축하여 9 830 mg (0.97 mmol, 97%)을 어두운 색 고체로서 제공하였다.

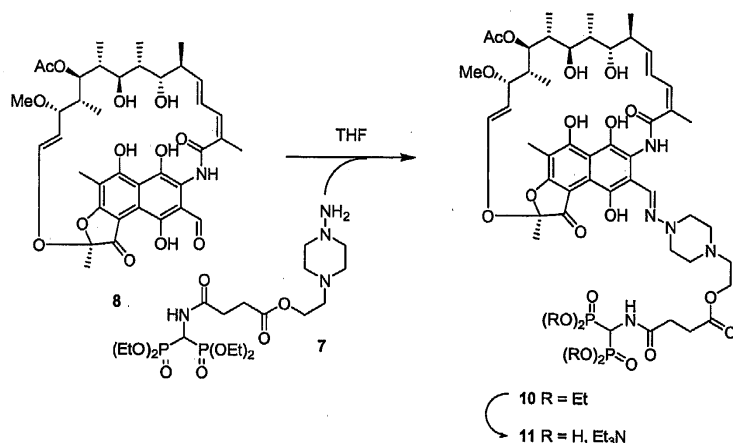
[0510]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -
0.32 (d, J=6.9, 3H), 0.58 (d, J = 6.9, 3H), 0.86 (d, J = 7.0, 3H), 1.00 (d, J = 7.0, 3H), 1.34 (m, 1H), 1.52 (m, 1H), 1.69 (m, 1H), 1.80 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.38 (m, 1H), 2.91 (br t, J = 4.6, 2H), 3.04 (중첩한 3.04(m, 6H) 및 3.03(s, 3H)), 3.33-3.48 (m, 6H), 3.54 (br s, 1H), 3.74 (m, 2H), 3.86 (br t, J = 4.8, 2H), 4.93 (d, J = 10.6, 1H), 5.09 (dd, J = 6.6, 12.6, 1H), 5.36 (br s, 1H), 5.92 (dd, J = 5.0, 15.4, 1H), 6.18 (d, J = 12.7, 1H), 6.38 (d, J = 11.1, 1H), 6.56 (dd, J = 11.6, 15.5, 1H), 8.35 (s, 1H), 12.07 (s, 1H).

반응식 3

[0511]

3-(((4-(2-(3-((비스포스포노메틸)카르바모일)프로파노일옥시)에틸)-1-피페라지닐)이미노)메틸)리파마이신 (1)의 합성



3-(((4-(2-(3-((비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)프로파노일옥시)에틸)-1-피페라지닐)이미노)메틸)리파마 이신 (10): 화합물 7 (490 mg, 0.78 mmol)을 THF에서 희석하고, 이어서 TEA (560 μ l, 4.0 mmol)를 첨가하였다. 이어서, 고형 3-포르릴 리파마이신 S 8 (537 mg, 0.74 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 15시간 동 안 교반하였다. 이어서, CH₂Cl₂ 50 mL와, 포화 염수 10 mL와 10% 아스코르브산나트륨 수용액 (30 mL)과의 혼 합물 사이에 분배하였다. 유기물을 수집하고, 수성층을 CH₂Cl₂ (2 x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 Na₂SO₄로 건조하고, 진공에서 농축하여 조질의 10을 짙은 적색 고체로서 제공하였다.

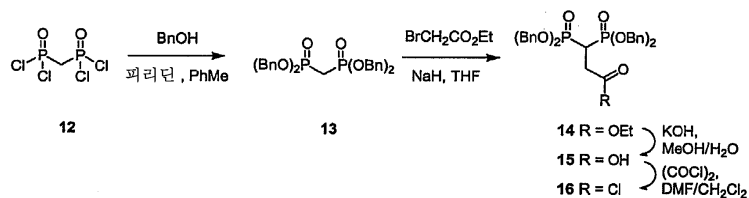
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.33 (d, J =6.9 Hz, 3H), 0.58 (d, J =6.9 Hz, 3H), 0.85 (d, J =7.0 Hz, 3H), 1.00 (d, J =7.00 Hz, 3H), 1.33 and 1.34 (t, J =7.0 Hz, 12H), 1.53 (m, 1H), 1.71 (m, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.90 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.38 (m, 1H), 2.56-2.72 (m, 12H), 3.04 (s, 3H), 3.00-3.10 (m, 4H), 3.12-3.19 (m, 2H), 3.47 (m, 1H), 3.64 (bd, J =4.8 Hz, 1H), 3.70-3.80 (m, 2H), 4.14-4.25 (m, 12H), 4.95 (d, J =10.5 Hz, 1H), 5.00 (dt, J =10.1, 21.6 Hz, 1H), 5.10 (dd, J =6.8, 12.7 Hz, 1H), 5.94 (dd, J =4.9, 15.5 Hz, 1H), 6.21 (dd, J =0.8, 12.7 Hz, 1H), 6.53-6.63 (m, 1H), 8.27 (s, 1H), 12.01 (s, 1H)

3-(((4-(2-(3-((비스포스포노메틸)카르바모일)프로파노일옥시)에틸)-1-피페라지닐)이미노)메틸)리파마이신 (11): -78 $^{\circ}$ C에서 CH₂Cl₂ (30 mL) 중 10 (1.18 g, 0.96 mmol) 및 2,6-루티딘 (5.6 mL, 48 mmol)의 용액에 TMSBr (3.17 mL, 24 mmol)을 아르곤하에 적가하였다. 냉각조를 제거하고, 상기 혼합물을 24시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공하 건조 제거하였다. 잔류물을 pH 5.1로 조정된 NH₄OAc/AcOH의 50 mmol 수용액에 용 해하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서, 상기 용액을 동결 건조하였다. 조질의 잔류물을 pH 5.1에서 역상 플래시 크로마토그래피 (NH₄OAc/AcOH의 50 mmol 수용액 중 10% 내지 40% 아세토니트릴 선형 농도구배)로 정제 하여 11을 오렌지색 고체로서 수득하였다 (680 mg, 54%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ -0.26 (d, J =6.6 Hz, 3H), 0.43 (d, J =6.5 Hz, 3H), 0.82 (d, J =7.6 Hz, 3H), 0.85 (d, J =6.7 Hz, 3H), 1.04 (m, 1H), 1.30 (m, 1H), 1.54 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.87 (s, 3H), 1.89 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 2.13 (m, 1H), 2.44 (br s, 4H), 2.48 (m, 10H), 2.52-2.64 (m, 6H), 2.81 (br d, J =9.6 Hz, 1H), 2.87 (s, 3H), 3.20 (br d, J =8.2 Hz, 1H), 3.70 (br d, J =8.3 Hz, 1H), 4.10 (m, 2H), 4.18 (dt, J =9.8, 19.1 Hz, 1H), 4.90 (dd, J =8.3, 12.7 Hz, 1H), 5.05 (d, J =10.7, 1H), 5.83 (dd, J =6.5, 15.8 Hz, 1H), 6.20 (m, 1H), 6.94 (dd, J =11.2, 15.6 Hz, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 12.44 (s, 1H).

반응식 4

[0517] 테트라벤질 1-클로로-1-옥소-프로필렌-3,3-비스포스포네이트 (16)의 합성



[0518]

[0519] 상기 반응 순서를 문헌 [J. Org. Chem. (2001), 66; 3704-3708]에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0520]

테트라벤질 메틸렌비스포스포네이트 (13): 건조 벤질 알코올 (8.66 mL, 83.0 mmol)과 건조 피리딘 (6.15 mL, 76.1 mmol)의 혼합물을 80분에 걸쳐 주사기 펌프를 통해 0 °C에서 건조 톨루엔 (10 mL) 중 메틸렌 비스(포스포닉 디클로라이드) (5.00 g, 20.0 mmol)의 격렬히 교반된 현탁액에 첨가하였다. 첨가가 완료된 후, 상기 반응물을 방치하여 실온이 되게 하고, 3시간 더 교반하였다. 고체를 여과 제거하고, 톨루엔 (2 x 20 mL)으로 2회 세척하였다. 여액을 2 M NaOH (2 x 15 mL) 및 물 (15 mL)로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 벤질 알코올 불순물을 증류 제거하여 13을 무색 오일로서 제공하였다 (8.1 g, 75%). 스펙트럼 데이터는 상술한 문헌에 기재된 바와 같다.

[0521]

테트라벤질 1-에톡시-1-옥소-프로필렌-3,3-비스포스포네이트 (14): THF (10 mL) 중 13 (1.00 g, 1.87 mmol)의 용액을 THF (20 mL) 중 NaH (0.047 g, 1.96 mmol)의 현탁액에 0 °C에서 5분에 걸쳐 첨가하였다. 상기 용액을 실온으로 가온하고, 30분 더 교반하였다. 이어서, 에틸 브로모아세테이트 (1.98 mmol) 220 μ L를 첨가하였다. 밤새 교반한 후, 상기 혼합물을 NH₄Cl의 포화 용액에 붓고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 MgSO₄로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 SiO₂ 크로마토그래피 (70% EtOAc/헥산)하여 14를 무색 오일로서 수득하였다 (0.7 g, 60%). 스펙트럼 데이터는 상술한 문헌에 기재된 바와 같다.

[0522]

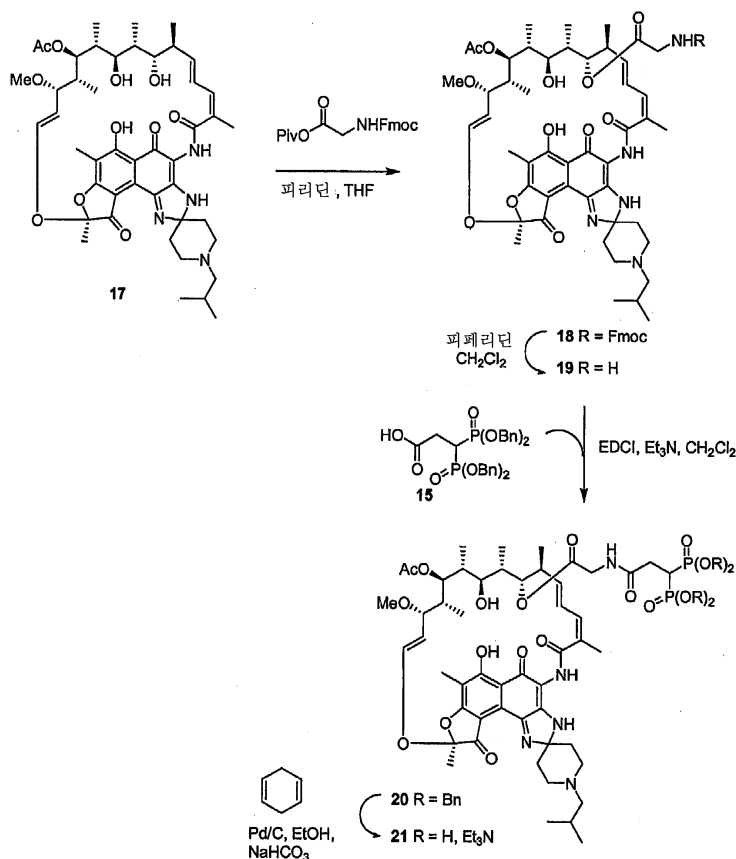
테트라벤질 1-카르복시에틸렌-2,2-비스포스포네이트 (15): 메탄올 (6 mL) 중 14 (1.27 g, 2.04 mmol)의 용액을 물 (6 mL) 및 메탄올 (6 mL) 중 KOH (0.127 g, 2.26 mmol)의 용액에 0 °C에서 첨가하였다. 상기 반응물을 1시간 동안 방치하여 실온으로 가온하고, 이 온도에서 밤새 교반하였다. 메탄올을 진공에서 제거하고, 남은 용액을 디에틸 에테르 (20 mL)로 세척하였다. 수성 HCl을 사용하여 수성층을 pH 2로 산성화하고, CH₂Cl₂ (3 x 20 mL) 및 EtOAc (1 x 20 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 MgSO₄로 건조하고, 진공에서 농축하여 15를 무색 오일로서 수득하였다 (0.95 g, 78%). 스펙트럼 데이터는 상술한 문헌에 기재된 바와 같다.

[0523]

테트라벤질 1-클로로-1-옥소-프로필렌-3,3-비스포스포네이트 (16): 건조 CH₂Cl₂ 3 mL 중 15 (68 mg, 1.14 x 10⁻⁴ mol)의 용액에 옥살릴 클로라이드 22 μ L (2.6 x 10⁻⁴ mol) 및 이어서 DMF 1 방울을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하고, 이어서 진공에서 농축하여 조질의 16을 제공하고, 이를 더이상 정제하지 않고 사용하였다.

반응식 5

[0524] 리파부틴-비스포스포네이트 접합체 21의 합성



[0525]

[0526] 21-O-(N-((9H-플루오렌-9-일)메틸옥시카르보닐)-글리시노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (18): 염화피발로일 (145 μ l, 1.18 mmol)을 THF (3 mL) 중 N-Fmoc-글리신 (351 mg, 1.18 mmol) 및 피리딘 (95 μ l, 1.18 mmol)의 용액에 적가하고, 얻어진 용액을 1시간 동안 교반한 후, THF (2 mL) 중 리파부틴 (100 mg, 0.118 mmol) 및 피리딘 (38 μ l, 0.47 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 결과물을 Ar하에 3일 동안 교반한 후, Et₂O (10 mL) 및 H₂O (10 mL)에서 회석하였다. 분리 후, 수성층을 Et₂O (2 x 10 mL)로 2회 추출하였다. 합한 유기층을 NaCl (10 mL) 포화 용액으로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 조 생성물을 수성 완충액 (Et₃N/CO₂, pH=7)/CH₃CN (10% 내지 100% 선형 농도구배)으로 용리하면서 역상 크로마토그래피로 정제하여 18 114 mg (0.102 mmol, 86%)을 암자색 고체로서 수득하였다.

[0527]

[0528] 21-O-글리시노일-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (19): 피페리딘 (100 μ l, 1.02 mmol)을 CH₂Cl₂ (5 mL) 중 N-Fmoc-리파부틴 유도체 18 (114 mg, 0.102 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 실온에서 24시간 동안 교반한 후, 상기 혼합물을 진공에서 농축하였다. 조 생성물을 수성 완충액 (Et₃N/CO₂, pH=7)/CH₃CN (10% 내지 100% 선형 농도구배)으로 용리하면서 역상 크로마토그래피로 정제하여 19 77 mg (0.085 mmol, 84%)을 암자색 고체로서 수득하였다.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.32 (br s, 1H), 7.94 (s, 1H), 6.41 (t, J=11.1 Hz, 1H), 6.12-6.05 (m, 2H), 5.90 (dd, J=15.8, 7.4 Hz, 1H), 5.12 (d, J=10.3 Hz, 1H), 5.04 (dd, J=15.8, 1.5 Hz, 1H), 3.59 (br s, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.20 (d, J=9.5 Hz, 2H), 3.05 (s, 3H), 3.04-2.91 (m, 3H), 2.86 (dd, J=10.1, 3.0 Hz, 1H), 2.72-2.63 (m, 2H), 2.58-2.47 (m, 2H), 2.31 (d, J=7.0 Hz, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.19-2.09 (m, 2H), 2.06-1.97 (m, 8H), 1.93-1.84 (m, 2H), 1.84-1.78 (m, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.24 (m, 1H), 1.28 (d, J=7.1 Hz, 3H), 0.92 (m, 9H), 0.97 (d, J=6.9 Hz, 3H), 0.40 (d, J=7.1 Hz, 3H).

[0529]

21-0-(N-(3,3-비스(디벤질포스포노)프로파노일)-글리시노일)-1',4-디데히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마인신 XIV (20): CH_2Cl_2 (2 mL) 중 아민 19 (77 mg, 0.085 mmol) 및 산 15 (51 mg, 0.085 mmol)의 교반 용액에 Et_3N (24 μL , 0.170 mmol) 및 EDCI (18 mg, 0.094 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 24시간 동안 교반한 후, 상기 혼합물을 진공에서 농축하였다. 조 생성물을 수성 완충액 ($\text{Et}_3\text{N}/\text{CO}_2$, pH=7)/ CH_3CN (10% 내지 100% 선형 농도구배)으로 용리하면서 역상 크로마토그래피로 정제하여 20.96 mg (0.065 mmol, 76%)을 암자색 고체로서 수득하였다.

[0530]

21-O-(N-(3,3-비스포스포노프로파노일)-글리시노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (21): EtOH (5 mL) 중 테트라벤질디포스포네이트 20 (96 mg, 0.065 mmol) 및 NaHCO₃ (22 mg, 0.26 mmol)의 교반 용액을 Ar을 사용하여 10분 동안 탈기하였다. 상기 혼합물에 시클로헥사디엔 (303 μ L, 3.24 mmol) 및 10% Pd/C (70 mg, 0.065 mmol)를 첨가하였다. 결과물을 Ar하에 6시간 동안 교반한 후, 셀라이트 패드 (EtOH)를 통해 여과하였다. 용매를 진공에서 제거한 후, 조 생성물을 수성 완충액 (Et₃N/CO₂, pH=7)/CH₃CN (10% 내지 50% 선형 농도구배)으로 용리하면서 역상 크로마토그래피로 정제하여 21 34 mg (0.065 mmol, 48%)을 암자색 고체로서 수득하였다.

[0531]

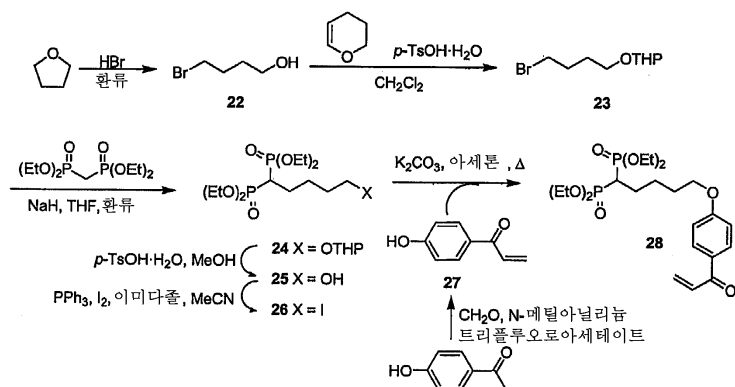
LC/MS 순도: 99.2% (254nm), 94.9% (220nm), 99.4% (320nm). MS (MH⁺) 1117.9.

[0532]

반응식 6

1-(4-(5,5-비스(디에틸포스포노)펜틸옥시)페닐)프로프-2-엔-1-온의 합성

[0533]



[0534]

4-브로모-1-부탄올 (22): 환류 테트라히드로푸란 67.5 mL (832.2 mmol)에 48% 브롬화수소산 31 mL (274 mmol)를 적가하고, 황색 용액을 또다른 2시간 동안 환류하였다. 실온으로 냉각한 후, 상기 반응물을 중탄산나트륨 포화 수용액으로 조심스럽게 중화하였다. 얻어진 혼합물을 디에틸 에테르 (3x)로 추출하고, 무수 황산나트륨으로 건조하였다. 용매를 제거하여 색성물 19를 황색 오일로서 수득하였다 (10.7 g, 26%).

[0535]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.69-1.76 (m, 2H), 2.01-1.94 (m, 2H), 3.46 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.70 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H).

[0536]

2-(4-브로모부톡시)-테트라히드로-2H-피란 (23): 3,4-디히드로-2H-피란 (8.5 mL, 90.96 mmol)을 22 (10.7 g, 69.93 mmol) 및 p-톨루엔술폰산 일수화물 (26.5 mg, 0.1372 mmol)의 디클로로메탄 (20 mL) 용액에 적가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 용리액으로서 5:1 헥산/에틸 아세테이트를 사용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 생성물 23을 무색 오일로서 수득하였다 (15.3 g, 92%).

[0537]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.48-1.62 (m, 4H), 1.68-1.85 (m, 4H), 1.94-2.02 (m, 2H), 3.40-3.53 (m, 4H), 3.74-3.88 (m, 2H), 4.57-4.59 (m, 1H).

[0538]

[0539] 테트라에틸 5-(2-테트라히드로-2H-피라닐옥시)펜틸렌-1,1-비스포스포네이트 (24): THF 40 mL 중 수소화나트륨 (60%, 840.5 mg, 21.01 mmol)의 현탁액에 테트라에틸 메틸렌비스포스포네이트 (6.16 g, 20.95 mmol)를 조심스럽게 첨가하고, 얻어진 담황색 투명 용액을 실온에서 45분 동안 교반하였다. 이어서, 브로마이드 23 (4.97 g, 20.96 mmol)을 THF 세정액 5 mL와 함께 투입하였다. 상기 반응물을 밤새 환류하고, 실온으로 냉각한 후 염화암모늄 포화 수용액으로 켄칭하였다. 또다른 소량의 물을 사용하여 고체를 용해하였다. 상기 혼합물을 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하고, 무수 황산나트륨으로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 용리액으로서 20:1 (v/v) 디클로로메탄/메탄올을 사용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 불순한 생성물 24 7.3 g을 담황색 오일로서 수득하였다. 상기 물질을 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 바로 사용하였다.

선택된 ¹H NMR 시그널 (400 MHz, CDCl₃): δ 2.28 (tt, J=6.1, 24.3 Hz, 1H), 3.37-3.51 (m, 2H), 3.71-3.89 (m, 2H), 4.56-4.58 (m, 1H).

[0540]

[0541] 테트라에틸 5-히드록시펜틸렌-1,1-비스포스포네이트 (25): 조질의 화합물 24를 메탄올 20 mL에 용해하고, p-톨루엔술폰산 일수화물 74.6 mg (0.3863 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, 상기 혼합물을 농축하고, 15:1 에틸 아세테이트/메탄올에서 8:1, 이어서 6:1의 농도구배 용리를 이용하여 플래시 크로마토그래피하여 25를 무색 오일로서 수득하였다 (3.1 g, 2 단계에 걸쳐 41%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.24-1.36 (m, 12H), 1.55-1.72 (m, 4H), 1.89-2.03 (m, 2H), 2.16 (bs, 1H), 2.29 (tt, J=6.1, 24.3 Hz, 1H), 3.66 (bs, 2H), 4.11-4.22 (m, 8H).

[0542]

[0543] 테트라에틸 5-요오도펜틸렌-1,1-비스포스포네이트 (26): 알코올 25 (1.419 g, 3.938 mmol), 트리페닐포스핀 (1.25 g, 4.718 mmol) 및 이미다졸 (325.6 mg, 4.735 mmol)을 건조 아세트ونی트릴 15 mL에 용해하고, I₂ 1.196 g (4.703 mmol)을 여러 번 나누어서 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, 용매를 진공에서 제거하고, 잔류물을 에틸 아세테이트 및 Na₂S₂O₃ 포화 수용액에 용해하였다. 유기층이 담황색이 될 때까지 상기 혼합물을 교반하고, 2상을 분리하였다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조하고, 농축하였다. 용리액으로서 15:1 에틸 아세테이트/메탄올을 사용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 생성물 26을 황색 오일로서 수득하였다 (1.26 g, 68%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.36 (t, J=7.0 Hz, 12H), 1.66-1.72 (m, 2H), 1.81-1.99 (m, 4H), 2.35 (tt, J=5.9, 24.1 Hz, 1H), 3.20 (t, J=6.9 Hz, 2H), 4.17-4.23 (m, 8H).

[0544]

[0545] 1-(4-히드록시페닐)프로프-2-엔-1-온 (27): 무수 THF 20 mL 중 4-히드록시아세트페논 (2.719 g, 20 mmol), 파라포름알데히드 (2.702 g, 90 mmol) 및 N-메틸아닐리늄 트리플루오로아세테이트 (6.603 g, 30 mmol)의 혼합물을 3.5시간 동안 환류하고, 실온으로 냉각하였다. 적색 용액에 디에틸 에테르 60 mL를 첨가하고, 상기 혼합물을 15분 동안 격렬히 교반하였다. 얻어진 황색 용액을 경사분리하고, 남은 적갈색의 끈적한 진흙이 황색 고체가 될 때까지 이를 디에틸 에테르 50 mL의 분량으로 반복적으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 중탄산나트륨 50 % 포화 용액 (2x)으로 세척하고, 수성 세척액을 에테르 (2x)로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조한 후, 농축하였다. 용리액으로서 5:1 헥산/에틸 아세테이트를 사용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 생성물 27 (1.21 g, 41%)을 담황색 고체로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5.89 (dd, J=1.8, 10.6 Hz, 1H), 5.91 (s, 1H), 6.43 (dd, J=1.6, 16.9 Hz, 1H), 6.92 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.17 (dd, J=10.6, 17.2 Hz, 1H), 7.93 (d, J=8.4 Hz, 2H).

[0546]

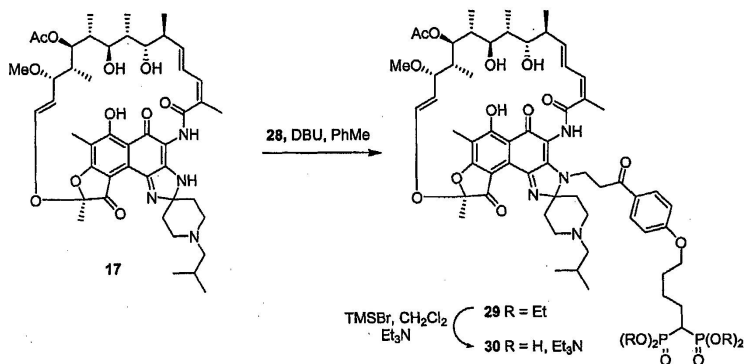
[0547] 1-(4-(5,5-비스(디에틸포스포노)펜틸옥시)페닐)프로프-2-엔-1-온 (28): 아세톤 10 mL 중 요오다이드 26 (1.066 g, 2.267 mmol), 에논 27 (373 mg, 2.514 mmol) 및 탄산칼륨 (369 mg, 2.673 mmol)의 혼합물을, ¹H NMR로 모니터링한 결과 요오다이드 26이 소모될 때까지 환류하였다. 일반적으로, 6 내지 8시간이 소요되었다. 용매를 진공에서 제거한 후, 잔류물을 디클로로메탄에 용해하고, 불용성 물질을 여과 제거하였다. 여액을 포화 중탄산나트륨 (2x)으로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조하였다. 진공에서 농축하여 황색 오일을 정량적 수율 (1.14

g)로 수득하고, 이를 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 바로 사용하였다.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1.31-1.37 (m, 12H), 1.70-1.86 (m, 4H), 1.92-2.08 (m, 2H), 2.31 (tt, $J = 6.2, 24.2$ Hz, 1H), 4.04 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 4.14-4.22 (m, 8H), 5.87 (dd, $J = 1.8, 10.6$ Hz, 1H), 6.42 (dd, $J = 1.8, 17.2$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.17 (dd, $J = 10.6, 16.9$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H).

반응식 7

리파부틴 비스포스포네이트 접합체 30의 제조



리파부틴-비스포스포네이트 접합체 29: 톨루엔 7 mL 중 리파부틴 (573.8 mg, 0.6774 mmol), 비스포스포네이트 28 (351.7 mg, 0.7171 mmol) 및 DBU (0.22 mL, 1.471 mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해하고, 포화 염화암모늄 (2x)으로 세척한 후, 무수 황산나트륨으로 건조하였다. 용리액으로서 30:1 디클로로메탄/메탄올, 이어서 25:1 디클로로메탄/메탄올을 사용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 리파부틴-비스포스포네이트 접합체 29를 적색 고체 (400 mg, 44%)로서 수득하고, 또한 미량의 연결기-유사 불순물로 오염된 비반응 리파부틴 (275 mg, 48%)을 회수하였다.

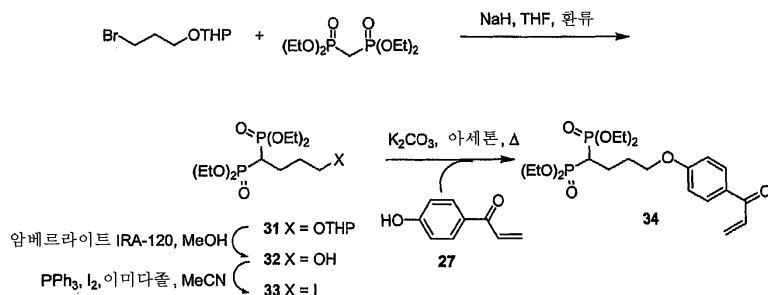
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.19 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.60 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.73 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.92 (d, $J = 5.9$ Hz, 6H), 0.99 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.32 (t, $J = 7.0$ Hz, 12H), 1.56-1.85 (m, 13H), 1.91-2.05 (m, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.16-2.45 (m, 9H), 2.64-2.74 (m, 2H), 2.80-2.88 (m, 1H), 2.92-3.04 (m, 3H), 3.07-3.18 (m, 4H), 3.24-3.32 (m, 2H), 3.54-3.58 (m, 2H), 3.79 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 3.97 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.03 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.13-4.22 (m, 8H), 5.15 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 5.25 (dd, $J = 4.8, 12.5$ Hz, 1H), 6.02 (dd, $J = 6.6, 16.1$ Hz, 1H), 6.20-6.25 (m, 2H), 6.90 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.04 (dd, $J = 10.6, 15.8$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 8.19 (s, 1H).

리파부틴-비스포스포네이트 접합체 30: 무수 디클로로메탄 5 mL 중 화합물 29 (397.6 mg, 0.2973 mmol) 및 트리에틸아민 (2.10 mL, 15.05 mmol)의 혼합물에 브로모트리메틸실란 0.98 mL (7.425 mmol)를 첨가하였다. 어두운 색의 혼합물을 실온에서 20시간에 걸쳐 교반하였다. 진공에서 농축한 후, 잔류물을 실온에서 2.5시간 동안 0.1 N 염산 15 mL와 아세트니트릴 15 mL의 혼합물에서 교반한 후, 트리에틸아민 0.38 mL (2.723 mmol)로 중화하였다. 상기 혼합물을 동결 건조하고, 물에서 10:1 물/아세트니트릴, 이어서 8:1, 6:1 및 5:1의 농도구배 용리를 이용하여 10 g (35cc) 워터스(Waters) C18 셉-팩(Sep-Pak) 카트리지를 수행하였다. 황색 분획물을 농축하고, 동결 건조하여 화합물 30을 황색 내지 오렌지색 고체로서 수득하였다 (50 mg, 14%).

선택된 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 0.01 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 0.49 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.72 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 0.85 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H), 1.09 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 1.16 (tt, $J = 1.8, 7.3$ Hz, 2H), 1.20-1.28 (m, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 3.40 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 3.53-3.54 (m, 1H), 5.07 (dd, $J = 6.2, 12.8$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.92 (d, $J = 7.3, 15.4$ Hz, 1H), 6.20-6.23 (m, 2H), 6.82 (dd, $J = 11.0, 15.8$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.74 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.74 (s, 1H). ^{31}P (162 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 20.53.

반응식 8

[0555] 1-(4-(5,5-비스(디에틸포스포노)펜틸옥시)페닐)프로프-2-엔-1-온의 합성



[0556]

[0557] 테트라에틸 4-(2-테트라히드로-2H-피라닐옥시)부틸렌-1,1-비스포스포네이트 (31): 건조 THF (20 mL) 중 NaH (광유 중 60% 현탁액, 900 mg, 22.0 mmol)의 현탁액에 테트라에틸 메틸렌비스포스포네이트 (6.46 g, 22.4 mmol)를 적가하였다. 얻어진 투명 용액을 실온에서 15분 동안 교반한 후, 2-(3-브로모프로폭시)테트라히드로-2H-피란 (5.05 g, 22.6 mmol)을 적가하였다. 상기 반응 혼합물을 환류 온도로 6시간 동안 가열하고, CH₂Cl₂ (75 mL)로 희석하고, 염수 (2 x 50 mL)로 세척하고, 건조하고 (MgSO₄), 증발시켰다. 이를 다음 단계에서 사용하였다.

[0558] 테트라에틸 4-히드록시부틸렌-1,1-비스포스포네이트 (32): MeOH (40 mL) 중 조 생성물 31 (최대 22.4 mmol)의 교반 용액에 암베라이트(Amberlite) IR-120 (0.6 g)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 4시간 동안 50 °C로 가열하고, 여과하고, 증발시켰다. 조 생성물을 5 내지 10% 메탄올/에틸 아세테이트 농도구배 용리를 이용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 순수한 32 (2.67 g, 테트라에틸 메틸렌비스포스포네이트로부터 34%)를 수득하였다.

[0559] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.30-1.36 (m, 12H), 1.75-1.85 (m, 2H), 1.97-2.13 (m, 2H), 2.30-2.64 (m, 2H), 3.66 (t, J=5.8, 2H), 4.12-4.23 (m, 8H).

[0560] 테트라에틸 4-요오도부틸렌-1,1-비스포스포네이트 (33): CH₂Cl₂ (50 mL) 중 32 (1.52 g, 4.39 mmol)의 용액에 트리페닐포스핀 (1.32 g, 5.033 mmol) 및 이미다졸 (0.45 g, 6.61 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 0 °C로 냉각한 후, 요오드 (1.22 g, 4.81 mmol)를 첨가하였다. 이어서, 상기 혼합물을 냉각조로부터 제거하고, 2시간 동안 교반하고, 헥산 (100 mL)으로 희석하고, 추가의 헥산 (2 x 30 mL)으로 침전물을 여과 세척하였다. 여액을 증발시키고, 0 내지 10% 메탄올/에틸 아세테이트의 농도구배 용리를 이용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 순수한 33 (1.6 g, 80%)을 수득하였다.

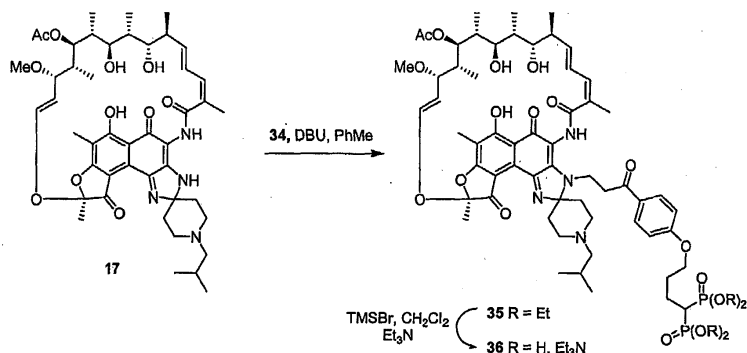
[0561] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.32-1.38 (m, 12H), 1.95-2.15 (m, 4H), 2.28 (tt, J=24.1, 6.1, 1H), 3.18 (t, J=6.6, 2H), 4.12-4.24 (m, 8H).

[0562] 1-(4-(4,4-비스(디에틸포스포노)부톡시)페닐)프로프-2-엔-1-온 (34): 아세톤 (75 mL) 중 요오다이드 33 (3.1 g, 6.8 mmol), 페놀 27 (1.21 g, 8.17 mmol) 및 K₂CO₃ (1.033 g, 7.47 mmol)의 혼합물을 6.5시간 동안 환류하였다. 상기 혼합물을 냉각하고, 여과하고, 증발시켰다. 잔류물을 CH₂Cl₂ (170 mL)에 재용해하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 증발시켜 조질의 34 (3.2 g, 99%)를 수득하고, 이를 다음 단계에서 바로 사용하였다.

[0563] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.28-1.39 (m, 12H), 1.89-2.25 (m, 4H), 2.26-2.48 (m, 1H), 4.05 (t, J=5.7, 2H), 4.12-4.26 (m, 8H), 5.87 (dd, J=10.6, 1.8, 1H), 6.42 (dd, J=16.9, 1.8, 1H), 6.93 (d, J=8.8, 2H), 7.17 (dd, J=17.0, 10.4, 1H), 7.95 (d, J=8.8, 2H).

반응식 9

[0564] 리파부틴 비스포스포네이트 접합체 36의 제조



[0565]

[0566] 리파부틴-비스포스포네이트 접합체 35: 톨루엔 70 mL 중 리파부틴 6 g (7.088 mmol), 화합물 34 (3.656 g, 7.431 mmol) 및 DBU (2.20 mL, 14.71 mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 상기 반응물을 염화암모늄 포화 수용액으로 세척하고 (2회), 무수 황산나트륨으로 건조하였다. 40:1, 이어서 30:1, 20:1, 15:1 및 10:1 (v/v) 디클로로메탄/메탄올의 농도구배 용리를 이용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하였다. 생성물 35를 적갈색 고체로서 수득하였다 (4.4 g, 47%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0.20 (d, $J = 7.0$, 3H), 0.60 (d, $J = 6.6$, 3H), 0.72 (d, $J = 6.6$, 3H), 0.91 (d, $J = 6.6$, 3H), 0.92 (d, $J = 6.6$, 3H), 0.99 (d, $J = 7.0$, 3H), 1.34 (dt, $J = 7.0$, 1.1, 12H), 1.56-1.85 (m, 10H), 2.00-2.46 (m, 20H), 2.64-2.74 (m, 2H), 2.80-2.88 (m, 1H), 2.92-3.02 (m, 3H), 3.11 (s, 3H), 3.12-3.18 (m, 1H), 3.25-3.32 (m, 1H), 3.55-3.57 (m, 1H), 3.79 (d, $J = 9.5$, 1H), 3.95 (d, $J = 5.1$, 1H), 4.02-4.06 (m, 2H), 4.14-4.23 (m, 8H), 5.14 (d, $J = 10.2$, 1H), 5.24 (dd, $J = 12.6$, 5.1, 1H), 6.02 (dd, $J = 16.1$, 6.6, 1H), 6.19-6.24 (m, 2H), 6.90 (d, $J = 9.2$, 2H), 7.06 (dd, $J = 16.1$, 11.0, 1H), 7.88 (d, $J = 8.8$, 2H), 8.17 (s, 1H); $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 24.58.

[0567]

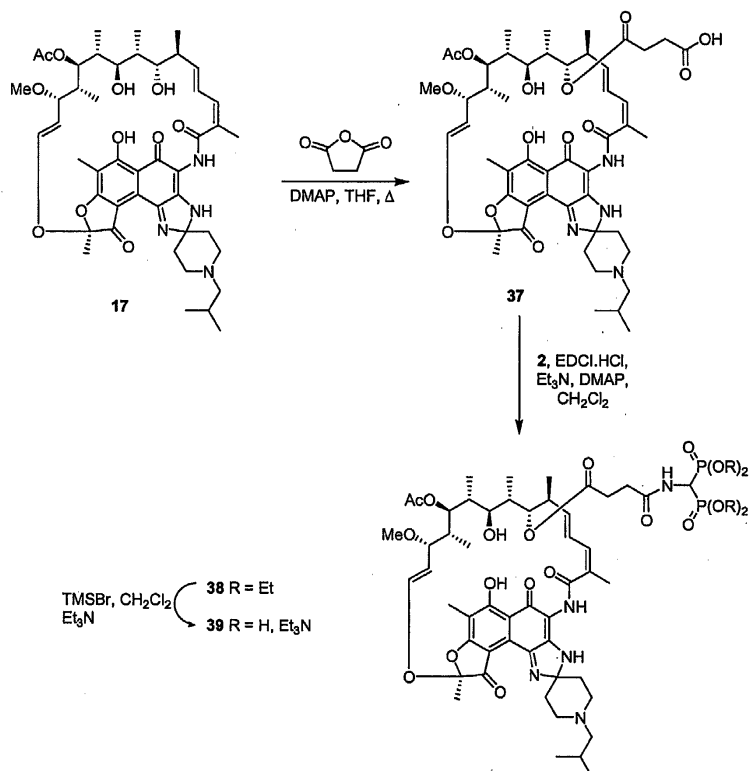
[0568] 리파부틴-비스포스포네이트 접합체 36: 화합물 35 (4.4 g, 3.325 mmol)를 무수 디클로로메탄 50 mL에 용해하였다. 상기 용액에 트리에틸아민 23 mL (164.1 mmol) 및 이어서 브모트리에틸실란 11 mL (83.34 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 20시간에 걸쳐 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 0.1 N 염산 200 mL와 아세토니트릴 75 mL의 혼합물에 용해하고, 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 상기 처리가 종료된 후, 트리에틸아민 4.7 mL를 첨가하고, 불용성 물질을 여과하였다. 유기 용매를 제거하고, 잔류물을 동결 건조하였다. 얻어진 물질을 30 mM 트리에틸아민/이산화탄소 수용액 (pH 6.8) 중 20% 아세토니트릴 내지 순수한 아세토니트릴의 선형 농도구배 용리를 이용하여 C18 역상 플래시 크로마토그래피하였다. 생성물 함유 분획에 대해, 아세토니트릴을 진공에서 제거하고, 얻어진 수용액을 동결 건조하여 화합물 36을 오렌지-갈색 고체 비스-트리에틸암모늄 염 형태로서 수득하였다 (1.137 g, 24%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O) δ 0.01 (d, $J = 6.6$, 3H), 0.63 (d, $J = 6.6$, 3H), 0.81 (d, $J = 7.0$, 3H), 0.95 (d, $J = 7.0$, 3H), 1.01 (d, $J = 6.2$, 6H), 1.26 (t, $J = 7.3$, 18H), 1.60 (s, 3H), 1.54-1.62 (m, 1H), 1.68-2.16 (m, 11H), 2.03 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.30-2.37 (m, 2H), 2.42-2.50 (m, 2H), 2.66-2.75 (m, 2H), 3.00-3.28 (m, 3H), 3.07 (s, 3H), 3.18 (q, $J = 7.3$, 12H), 3.53-3.59 (m, 4H), 3.76 (d, $J = 8.8$, 1H), 4.13-4.16 (m, 3H), 5.10 (d, $J = 11$, 1H), 5.35 (dd, $J = 12.5$, 7.0, 1H), 6.04 (dd, $J = 15.8$, 1H), 6.26 (d, $J = 12.5$, 1H), 6.38 (d, $J = 11.4$, 1H), 6.74 (dd, $J = 16.1$, 11.4, 1H), 6.99 (d, $J = 8.8$, 2H), 7.71 (d, $J = 8.8$, 2H); $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, D_2O) δ 21.00.

[0569]

반응식 10

[0570] 리파부틴-비스포스포네이트 접합체 39의 제조



[0571]

[0572] 21-O-(3-카르복시프로파노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (37): 리파부틴 17 (153.8 mg, 0.1816 mmol)을 무수 THF 3 mL 중 숙신산 무수물 44.3 mg (0.4427 mmol) 및 DMAP 6.4 mg (0.05239 mmol)와 함께 밤새 환류하였다. 농축한 후, 얻어진 물질을 디클로로메탄/메탄올 (30:1 (v/v), 이어서 20:1, 이어서 10:1)로 용리하는 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 생성물 37 (136.4 mg, 80%)을 암자색 고체로서 수득하였다.

¹HNMR (400

MHz, CDCl₃): δ -0.15 (d, J = 7.0, 3H), 0.50 (d, J = 6.6, 3H), 0.88-1.00 (m, 9H), 1.07 (d, J = 7.0, 3H), 1.20-1.26 (m, 2H), 1.57 (s, 1H), 1.79 (s, 3H), 1.80-1.98 (m, 4H), 2.02 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.30-2.66 (m, 9H), 2.86-3.21 (m, 5H), 3.08 (s, 3H), 3.47 (br s, 1H), 3.66 (s, 1H), 4.98-5.06 (m, 2H), 5.76-5.86 (m, 1H), 6.02 (d, J = 12.5, 1H), 6.15 (d, J = 11.0, 1H), 6.30-6.37 (m, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.35 (br s, 1H).

[0573]

[0574] 21-O-(3-((비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)프로파노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (38): 산 37 (136 mg, 0.1436 mmol) 및 아민 2 (44 mg, 0.1446 mmol)를 무수 디클로로메탄 2 mL에 용해하고, 트리에틸아민 40 μL (0.2854 mmol), 및 이어서 EDCI·HCl (64 mg, 0.3338 mmol) 및 DMAP (3.5 mg, 0.02865 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, 상기 혼합물을 농축하고, 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하였다. 비반응 리파부틴의 암자색 밴드가 나타날 때까지 칼럼을 먼저 10:1 (v/v) 에틸 아세테이트/아세트산으로 용리하였다. 이어서, 용리액 디클로로메탄/메탄올 (20:1 (v/v) 이어서 10:1)을 가하여 생성물 38 (58.9 mg, 33%)을 암자색 고체로서 수득하였다.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ -0.18 (d, J = 7.3,

3H), 0.47 (d, J = 7.0, 3H), 0.92 (d, J = 6.6, 3H), 0.95-1.03 (m, 9H), 1.12-1.32 (m, 2H), 1.35 (t, J = 7.0, 12H), 1.79 (s, 3H), 1.80-1.98 (m, 4H), 2.02 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.00-2.10 (m, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.32-2.76 (m, 8H), 2.80-3.10 (m, 5H), 3.07 (s, 3H), 3.49 (br s, 1H), 4.14-4.28 (m, 8H), 4.95 (d, J = 10.7, 1H), 4.98-5.12 (m, 2H), 5.86 (dd, J = 15.4, 7.7, 1H), 6.08-6.15 (m, 1H), 6.40 (dd, J = 15.4, 11.4, 1H), 6.65 (d, J = 10.3, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.28 (br s, 1H).

[0575]

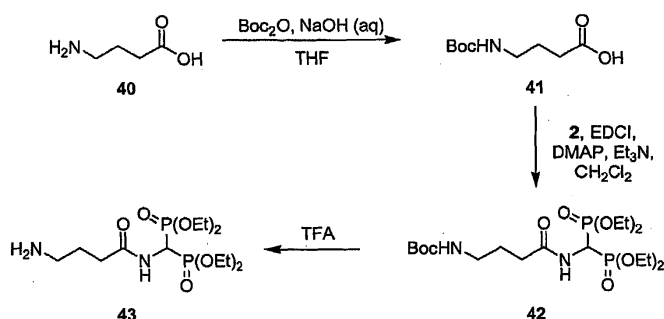
[0576] 21-O-(3-((비스포스포노메틸)카르바모일)프로파노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로

필)-1-옥소리파마인신 XIV (39): 화합물 38 (57.4 mg, 0.04658 mmol)을 무수 디클로로메탄 0.5 mL에 용해하고, 트리에틸아민 0.33 mL (2.355 mmol) 및 TMSBr 0.16 mL (1.212 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 농축하였다. 30분 이상 진공에서 건조한 후, 상기 물질을 0.1 N HCl (수용액) 2.8 mL와 아세트니트릴 2.8 mL의 혼합물에 용해하였다. 1.5시간 동안 교반한 후, 상기 용액을 트리에틸아민 0.07 mL로 염기화하고, 유기 용매를 조심스럽게 제거하였다. 잔류물을 여과하고, 동결 건조하였다. 동결 건조 후 고체 물질을, 30 mM 트리에틸암모늄 비카르보네이트 완충액 (pH = 6.8) 중 10% 아세트니트릴에서 60%, 및 이어서 순수한 아세트니트릴 세척액의 선형 농도구배 용리를 이용한 자동화된 바이오타지(Biotage, 등록상표) 분리 기기 상의 C18 칼럼에 적용하여 암자색 고체 39를 비스-트리에틸아민 염으로서 수득하였다 (20.5 mg, 33%).

¹HNMR (400 MHz, D₂O): δ 0.16 (bs, 3H), 0.40 (d, J = 5.5, 3H), 0.74 (br s, 1H), 0.88 (d, J = 6.6, 3H), 1.00 (d, J = 6.6, 3H), 1.06 (d, J = 6.6, 6H), 1.27 (t, J = 7.3, 18H), 1.55 (br s, 1H), 1.78 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.20-2.26 (m, 1H), 2.39 (br s, 1H), 2.65 (br s, 5H), 2.97-3.00 (m, 1H), 3.02 (s, 3H), 3.10-3.24 (m, 5H), 3.19 (q, J = 7.3, 12H), 3.29-3.32 (m, 2H), 3.65 (br s, 5H), 4.28 (t, J = 19.0, 1H), 5.01-5.04 (m, 1H), 5.32 (bs, 1H), 5.99 (dd, J = 15.4, 9.2, 1H), 6.19 (d, J = 12.5, 1H), 6.43 (d, J = 11.0, 1H), 6.80 (br s, 1H). ³¹PNMR (162 MHz, D₂O): δ 14.15. MS (M-H): 1118.2.

반응식 11

테트라에틸 (4-아미노부타노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트의 제조



4-(t-부톡시카르보닐아미노)부탄산 (41): 아미노산 40 (956.2 mg, 9.273 mmol)을 Boc₂O (2.037 g, 9.333 mmol) 및 THF 5 mL 중 1 N NaOH (수용액) 23 mL와 함께 실온에서 밤새 교반하였다. 상기 용액을, pH가 약 2에 도달하여 탁한 혼합물이 얻어질 때까지 묽은 염산으로 산성화하였다. 상기 반응물을 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하고, 무수 황산나트륨으로 건조한 후, 용매를 제거하여 무색 오일 41 (1.759 g, 93%)을 수득하였다.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.44 (s, 9H), 1.83 (quint, J = 7.0, 2H), 2.41 (t, J = 7.0, 2H), 3.12-3.24 (m, 2H), 4.66 (br s, 1H).

테트라에틸 (4-(t-부톡시카르보닐아미노)부타노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (42): 산 41 (314.6 mg, 1.547 mmol) 및 아민 2 (466.8 mg, 1.539 mmol)를 건조 디클로로메탄 15 mL에 용해하였다. 트리에틸아민 (0.44 mL, 3.14 mmol), 및 이어서 DMAP (37.6 mg, 0.3078 mmol) 및 EDCI·HCl (592.4 mg, 3.09 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후, 농축하였다. 15:1 (v/v) 에틸 아세테이트/메탄올로 용리하면서 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 화합물 42 469.3 mg (62%)을 담황색 오일로서 수득하였다.

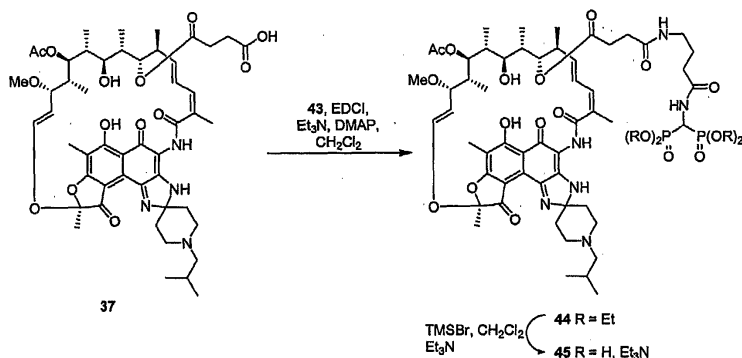
¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.34 (t, J = 7.0, 12H), 1.44 (s, 9H), 1.83 (오중항 J = 7.0, 2H), 2.31 (t, J = 7.0, 2H), 3.16-3.24 (m, 2H), 4.16-4.26 (m, 8H), 4.78 (br s, 1H), 5.06 (dt, J = 21.6, 9.9, 1H), 6.61 (br d, J = 10.3, 1H).

테트라에틸 (4-아미노부타노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (43): 화합물 42 (469 mg, 0.9602 mmol)를 소량의 TFA에 용해하고, 용액을 농축하였다. 잔류물을 1 N NaOH 수용액에 용해하고, 에틸 아세테이트 (5x)로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨으로 건조하고, 진공에서 농축 건조하여 화합물 43을 무색 오일로서 수득하였다 (82 mg, 22%).

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.34 (dt, J=7.0, 2.6, 12H), 1.79 (오중항 J=7.0, 2H), 2.38 (t, J=7.0, 2H), 2.79 (t, J=7.0, 2H), 4.14-4.26 (m, 8H), 5.05 (dt, J=21.3, 8.5, 1H), 7.08 (br d, J=8.0, 1H).

반응식 12

리파부틴-비스포스포네이트 접합체 45의 제조



21-O-(3-(3-((비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)프로필카르바모일)프로파노일)-1',4-디데히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (44): 디클로로메탄 5 mL 중 산 37 (432.5 mg, 0.4567 mmol), 아민 43 (176.3 mg, 0.4540 mmol), EDCI·HCl (180.1 mg, 0.9394 mmol), DMAP (11.9 mg, 0.09741 mmol) 및 트리에틸아민 (0.13 mL, 0.9277 mmol)의 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 농축 건조한 후, 잔류물을, 칼럼 부피 15배 초과 디클로로메탄 중 2 내지 10% 메탄올의 농도구배 용리를 이용하여 바이오타지 (등록상표) 자동화된 플래시 정제 시스템 상에서 SiO₂ 크로마토그래피로 정제하여 44를 암자색 고체로서 제공하였다 (404.8 mg, 68%).

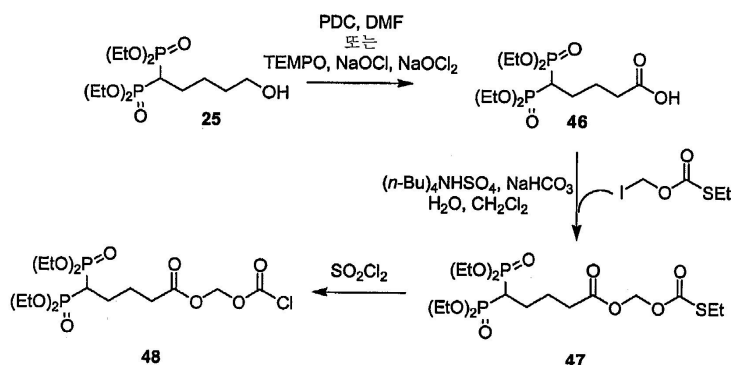
¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ -0.21 (d, J=7.0, 3H), 0.47 (d, J=7.0, 3H), 0.91 (d, J=7.0, 3H), 0.98 (br s, 3H), 1.03 (d, J=7.0, 6H), 1.41 (t, J=7.3, 12H), 1.79 (s, 3H), 1.72-2.00 (m, 11H), 2.01 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.28-2.54 (m, 10H), 2.84-2.92 (m, 2H), 3.05 (s, 3H), 3.18-3.23 (m, 2H), 3.32-3.37 (m, 2H), 3.45-3.49 (m, 2H), 4.11-4.28 (m, 8H), 4.96 (d, J=11.0, 1H), 5.00-5.14 (m, 2H), 5.92 (dd, J=15.4, 7.0, 1H), 6.07 (d, J=13.2, 1H), 6.17 (d, J=11.4, 1H), 6.39 (dd, J=15.4, 11.4, 1H), 6.68 (br s, 1H), 6.79 (br s, 1H), 8.00 (br s, 1H), 8.18 (br s, 1H).

21-O-(3-(3-((비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)프로필카르바모일)프로파노일)-1',4-디데히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (45): 화합물 44 (396.5 mg, 0.3010 mmol)를 디클로로메탄 3 mL에 용해하고, 트리에틸아민 2.1 mL (14.99 mmol) 및 이어서 TMSBr 1 mL (7.577 mmol)를 첨가하였다. 적색 혼합물을 실온에서 20시간 이상 교반하고, 농축 건조하였다. 고 진공하 30분 이상 건조한 후, 고체 물질을 0.1 N HCl 18 mL와 아세토니트릴 10 mL의 혼합물에 용해하고, 실온에서 1시간 동안 교반하여 투명한 용액을 수득하였다. 트리에틸아민 0.43 mL를 첨가하여 염기화한 후 (최종 pH = 9.6), 유기 용매를 조심스럽게 제거하고, 불용성 물질을 여과 제거하였다. 여액을 동결 건조하고, 잔류물을 칼럼 부피 15배 초과 30 mM 트리에틸암모늄 비카르보네이트 완충액 (pH = 6.5) 중 10 내지 60% MeCN의 농도구배 용리를 이용하여 바이오타지(등록상표) 자동화된 플래시 크로마토그래피 시스템 상의 C18 칼럼에 적용하여 45를 암자색 고체로서 비스트리에틸암모늄 염으로 수득하였다 (194 mg, 46%).

¹HNMR (400 MHz, D₂O): δ -0.04 (d, J=6.6, 3H), 0.39 (d, J=6.2, 3H), 0.76 (br s, 1H), 0.88 (d, J=7.0, 3H), 0.95 (d, J=6.6, 3H), 1.08 (d, J=6.6, 6H), 1.26 (t, J=7.3, 18H), 1.53 (br s, 1H), 1.80-2.32 (m, 8H), 1.81 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.32-2.72 (m, 10H), 2.96-3.02 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 3.18 (q, J=7.3, 12H), 3.35 (d, J=7.3, 1H), 3.60-3.84 (m, 4H), 4.33 (t, J=19.1, 1H), 4.95 (d, J=10.3, 1H), 5.04-5.06 (m, 1H), 5.21 (dd, J=12.4, 5.1, 1H), 5.97 (dd, J=15.0, 7.7, 1H), 6.10 (d, J=12.5, 1H), 6.39 (d, J=10.6, 1H), 6.63 (dd, J=15.1, 11.4, 1H); ³¹PNMR (162 MHz, D₂O): δ 13.99; 질량 (M-H): 1203.

반응식 13

[0592] (카르보노클로리도일옥시)메틸 5,5-비스(디에틸포스포노)펜타노에이트의 제조



[0593]

[0594] 테트라에틸 5-카르복시펜틸렌-1,1-비스포스포네이트 (46): 알코올 25 (1.3942 g, 3.869 mmol)를 무수 DMF 40 mL에 용해하고, 피리딘류 디크로메이트 5.098 g (13.55 mmol)을 첨가하였다. 어두운 색 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 상기 반응물을 원래 부피의 절반으로 농축하고, 물로 희석하였다. 상기 혼합물을 에틸 아세테이트 (3x)로 추출하고, 합한 추출물을 황산나트륨으로 건조하고, 농축 건조하였다. 15:1 (v/v) 디클로로메탄/메탄올로 용리하면서 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 산 46 (606 mg, 42%)을 무색 오일로서 수득하였다. 별법으로, 35 °C로 가열된 알코올 25 (475 mg, 1.318 mmol), TEMPO (15 mg, 0.095 mmol), MeCN (6 mL) 및 인산나트륨 완충액 (6 mL, 0.67 M, pH = 6.7)의 혼합물에 아염소산나트륨 용액 (물 2 mL 중 300 mg) 및 희석 표백제 (물 19 mL 중 상업용 표백제 1 mL 용액 0.75 mL)를 분리 주사기로부터 동시에 적가하였다. 상기 혼합물이 황색에서 적색으로 변화하였다. 5시간 후, TLC 및 ¹H NMR에 의해 반응이 완료된 것으로 나타났고, 이를 실온으로 냉각하였다. 물 30 mL를 첨가하고, 1 N NaOH 3 mL를 첨가하여 pH를 약 9로 조정하였다. 상기 반응물을 냉각된 Na₂SO₃ 용액 (물 10 mL 500 mg)에 부어 켄칭하고, 20 °C 미만으로 유지하였다. 상기 온도에서 30분 동안 교반한 후, 디에틸 에테르 30 mL를 사용하여 상기 혼합물을 추출하고, 유기상을 폐기하였다. 1 N HCl 5 mL를 첨가하여 수성상의 pH를 3 내지 4로 재조정하고, 상기 혼합물을 디클로로메탄 (3x)으로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨으로 건조하고, 농축하여 산 46을 정량적으로 수득하고, 이를 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 사용할 수 있었다.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.34 (t, J = 7.0, 12H), 1.86-2.06 (m, 4H), 2.33 (tt, J = 24.2, 5.9, 1H), 2.36 (t, J = 7.3, 2H), 4.14-4.22 (8H).

[0595]

[0596] S-에틸 O-(5,5-비스(디에틸포스포노)펜타노일옥시)메틸 카르보노티오에이트 (47): 산 46 (606 mg, 1.619 mmol), 테트라부틸암모늄 황산수소 (552 mg, 1.626 mmol) 및 중탄산나트륨 (274.2 mg, 3.264 mmol)을 물 4 mL와 디클로로메탄 4 mL의 혼합물에 첨가하였다. 기체 발생이 멈춘 후, 디클로로메탄 1 mL 중 S-에틸 O-요오도메틸 카르보노티오에이트 (문헌 [Folkman, M.; Lund, F.J. Synthesis, 1990, 1159-1166]에 따라 합성) 310.8 mg (1.263 mmol)을 첨가하고, 상기 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 유기상을 분리하고, 물 (1x)로 세척하고, 황산나트륨으로 건조하였다. 여과 및 농축 후, 잔류물을 에테르에서 10분 동안 교반하였다. 고체를 제거하고, 여액을 농축하고, 20:1 (v/v) 디클로로메탄/메탄올로 용리하는 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 화합물 47 (519.2 mg, 83%)을 무색 오일로서 수득하였다.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.33 (t, J = 7.3, 3H), 1.35 (t, J = 7.7, 12H), 1.86-2.04 (m, 4H), 2.28 (tt, J = 23.8, 6.2, 1H), 2.40 (t, J = 7.3, 2H), 2.90 (q, J = 7.3, 2H), 4.14-4.22 (m, 8H), 5.80 (s, 2H).

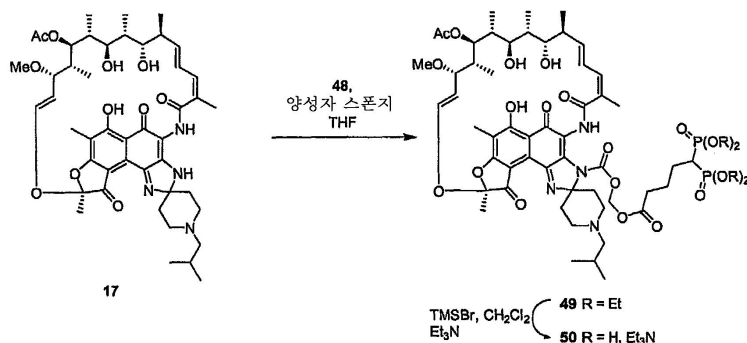
[0597]

[0598] (카르보노클로리도일옥시)메틸 5,5-비스(디에틸포스포노)펜타노에이트 (48): 순수한 화합물 47 (519.2 mg, 1.054 mmol)을 빙/수조에서 냉각하고, 술폰릴 클로라이드 (128 μl, 1.579 mmol)를 조심스럽게 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온으로 가온하고, 밤새 교반하였다. 과량의 술폰릴 클로라이드를 진공에서 제거한 후, 조질의 산 클로라이드 48을 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 바로 사용하였다.

¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.35 (t, J = 7.0, 12H), 1.86-2.06 (m, 4H), 2.28 (tt, J = 23.8, 6.2, 1H), 2.45 (t, J = 7.0, 2H), 2.90 (q, J = 7.3, 2H), 4.14-4.24 (m, 8H), 5.82 (s, 2H).

반응식 14

리파부틴-비스포스포네이트 접합체 50의 제조



리파부틴-비스포스포네이트 접합체 49: 리파부틴 17 (899 mg, 1.061 mmol)을 THF 10 mL에 용해하고, 양성자 스펀지 (453.5 mg, 2.116 mmol) 및 조질의 산 클로라이드 48 (1.054 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 에틸 아세테이트로 희석하였다. 상기 용액을 물 (2x)로 세척하고, 황산나트륨으로 건조하고, 농축 건조하였다. 암자색 리파부틴 밴드를 19:1 (v/v) 에틸 아세테이트/메탄올로 용리하고, 디클로로메탄/메탄올 (30:1 (v/v)에서 20:1, 이어서 10:1)의 농도구배 용리로 전환하면서 잔류물을 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 화합물 49 (504.3 mg, 37%)를 암적색-오렌지색 고체로서 수득하였다.

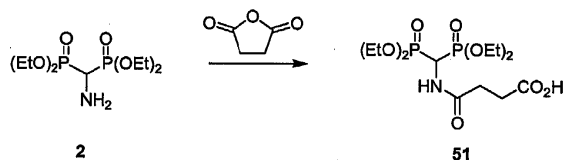
¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ -0.07 (br d, J = 7.0, 3H), 0.59 (d, J = 6.6, 3H), 0.85 (d, J = 7.0, 3H), 0.96 (d, J = 6.6, 6H), 1.02 (d, J = 7.0, 3H), 1.31-1.36 (m, 12H), 1.50-2.02 (m, 10H), 1.76 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.09 (br s, 3H), 2.20-2.40 (m, 6H), 2.32 (s, 3H), 2.84-3.04 (m, 6H), 3.09 (s, 3H), 3.38-3.44 (m, 2H), 3.74-3.82 (m, 2H), 4.12-4.22 (m, 8H), 4.98 (br d, J = 9.5, 1H), 5.15 (br s, 1H), 5.75-5.92 (m, 2H), 6.00-6.28 (m, 3H), 6.79 (br s, 1H), 8.03 (br s, 1H).

리파부틴 비스포스포네이트 접합체 50: 화합물 49 (499.1 mg, 0.3907 mmol)를 디클로로메탄 4 mL에 용해하고, 트리에틸아민 2.7 mL (19.27 mmol) 및 TMSBr 1.3 mL (9.850 mmol)를 연속적으로 첨가하였다. 밝은 적색-오렌지색 혼합물을 실온에서 20시간 이상 교반한 후, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 묽은 HCl 수용액 (20 mL, pH = 4.5)과 MeCN 15 mL의 혼합물에 용해하고, 실온에서 1시간 동안 교반하여 투명한 암자색 용액을 수득하였다. 트리에틸아민 (0.22 mL, 4 eq)을 첨가하여 최종 pH를 9.4로 조정하였다. 유기 용매를 조심스럽게 제거하고, 불용성 물질을 여과 제거하였다. 얻어진 수성 혼합물을 동결 건조하여 물을 제거하였다. 고체 물질을, 칼럼 부피 12배 초과 30 mM 트리에틸암모늄 비카르보네이트 완충액 (pH = 6.5) 중 10 내지 60% MeCN의 농도구배 용리를 이용하여 바이오타지 (등록상표) 자동화된 플래시 크로마토그래피 시스템 상의 C18 칼럼에 적용하여 50의 비스트리에틸암모늄 염을 암적색 고체로서 제공하였다 (166 mg, 31%).

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ -0.08 (br d, J = 5.9, 3H), 0.61 (d, J = 6.3, 3H), 0.89 (d, J = 5.9, 3H), 0.96 (d, J = 7.0, 6H), 1.08 (d, J = 6.6, 3H), 1.09 (d, J = 6.6, 3H), 1.26 (t, J = 7.3, 18H), 1.58-2.14 (m, 24H), 2.20-2.30 (m, 2H), 2.41 (br s, 3H), 3.06 (s, 3H), 3.10-3.22 (m, 2H), 3.18 (q, J = 7.3, 12H), 3.55 (br s, 2H), 3.72-3.88 (m, 4H), 3.99 (br s, 1H), 4.28 (br s, 1H), 4.98 (br s, 1H), 5.25 (br s, 1H), 5.83 (br s, 2H), 5.96-6.16 (m, 2H), 6.43 (br s, 1H), 7.35 (br s, 1H); ³¹PNMR (162 MHz, D₂O): δ 20.81; 질량 (M-H): 1163.

반응식 15

[0606] 3-[(테트라에틸비스포스포노메틸)카르바모일]프로판산의 제조



[0607]

[0608] 3-[(테트라에틸비스포스포노메틸)카르바모일]프로판산 (51): 화합물 51을 문헌 [J. Drug Targeting, 1997, 5, 129-138]에 기재된 바와 같이 제조하였다. 2로부터 조수율 57%의 오일로서 수득하였고, 이는 서서히 고체화되었다. 조 생성물을 크로마토그래피 (10% AcOH/EtOAc)로 정제하여 백색 고체를 수득할 수 있었다.

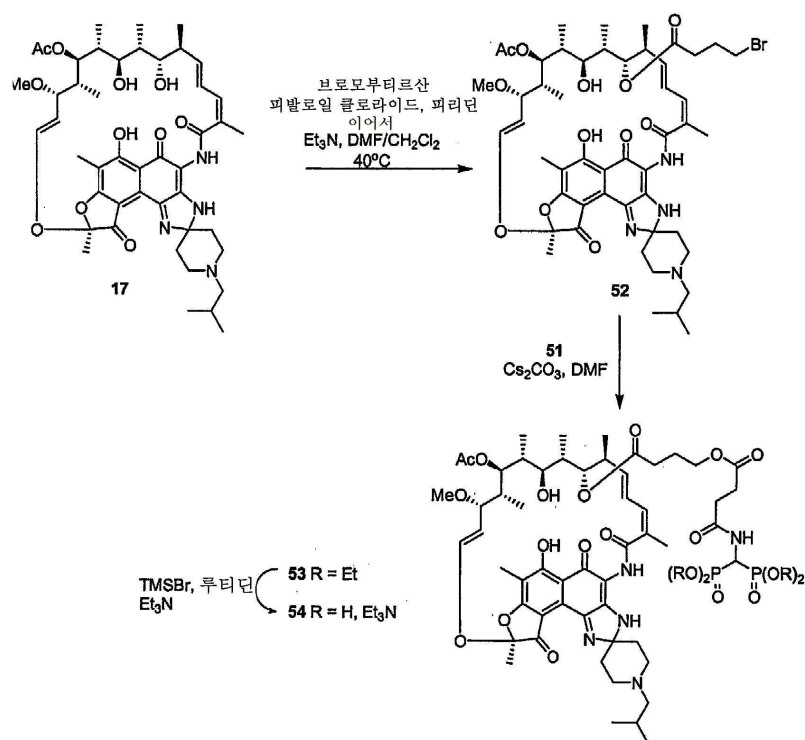
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ

1.31 (t, J=7.0, 6H), 1.33 (t, J=7.1, 6H), 2.61-2.73 (m, 4H), 4.05-4.28 (m, 8H), 5.07 (td, J=21.6, J=9.8, 1H), 7.90 (d, J=9.4, 1H).

[0609]

반응식 16

[0610] 리파부틴-비스포스포네이트 접합체 54의 제조



[0611]

[0612] 21-O-(4-브로모부타노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 (52): 피발로일 클로라이드 (1.2 mL, 10 mmol)를 CH₂Cl₂ (3 mL) 중 4-브로모부티르산 (1.7 g, 10 mmol) 및 피리딘 (810 μL, 10 mmol)의 용액에 적가하고, 얻어진 용액을 0.5시간 동안 교반한 후, 여과하고, THF (5 mL) 중 리파부틴 (1.2 g, 2.0 mmol) 및 피리딘 (320 μL, 4 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 얻어진 물질을 Ar하 40 °C에서 11일 동안 교반한 후, CH₂Cl₂ (50 mL) 및 H₂O (30 mL)에 회석하였다. 유기상을 수집하고, 수성층을 CH₂Cl₂ (2 x 10 mL)로 2회 이상 추출하였다. 합한 유기층을 NaCl (20 mL) 포화 용액으로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 조 생성물을 CH₂Cl₂ 중 1% 내지 5% MeOH (선형 농도구배)로 용리하는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 52 1.2 g (1.1 mmol, 56%)을 암자색 고체로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.18 (d, J=7, 3H), 0.48 (d, J=7, 3H), 0.92 (d, J=7, 3H), 0.94 (m, 6H), 1.04 (d, J=7, 3H), 1.22 (m, 2H), 1.79 (s, 3H), 1.84-2.15 (m, 9H), 2.01 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.25-2.37 (m, 4H), 2.29 (s, 3H), 2.50 (m, 1H), 2.67 (m, 2H), 2.87 (m, 1H), 2.93-3.11 (m, 2H), 3.05 (s, 3H), 3.35-3.40 (m, 2H), 3.44 (m, 1H), 3.57-3.77 (m, 1H) 4.97 (d, J=10, 1H), 5.03 (dd, J=12, 5, 1H), 5.11 (d, J=10, 1H), 5.92 (dd, J=16, 7, 1H), 6.08 (d, J=12, 1H), 6.12 (d, J=11, 1H), 6.42 (dd, J=16, 11, 1H), 7.72 (bs, 1H), 8.35 (bs, 1H)

[0613]

[0614]

21-O-(4-((3-(비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)프로파노일옥시)부타노일)-1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (53): DMF (1 mL) 중 51 (260 mg, 0.65 mmol), 52 (643 mg, 0.65 mmol) 및 Cs₂CO₃ (212 mg, 0.65 mmol)의 용액을 Ar하 실온에서 밤새 교반하였다. 상기 혼합물을 CH₂Cl₂ (20 mL)로 희석하고, 물 (10 mL) 및 이어서 염수 (10 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 조 생성물을 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

[0615]

21-O-(4-((3-(비스포스포노메틸)카르바모일)프로파노일옥시)부타노일)-1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-5'-(2-메틸프로필)-1-옥소리파마이신 XIV (54): 화합물 53 (최대 857 mg, 0.65 mmol)을 -78 °C에서 무수 디클로로메탄 20 mL에 용해하였다. 상기 용액에 2,6-루티딘 (3.8 mL, 32.5 mmol) 및 이어서 브로모트리메틸실란 (2.2 mL, 16.3 mmol)을 첨가하였다. 냉각조를 제거하고, 상기 혼합물을 실온에서 20시간에 걸쳐 교반하였다. 휘발 물질의 제거가 완료한 후, 잔류물을 0.1 N 염산 50 mL와 아세트니트릴 10 mL의 혼합물에 용해하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 처리 말엽에 트리에틸아민을 첨가하여 상기 용액의 pH가 7이 되게 하였다. 유기성 휘발 물질을 진공에서 제거하고, 잔류물을 동결 건조하였다. 얻어진 물질을, 30 mM 트리에틸아민/이산화탄소 수용액 (pH 6.8) 중 5% 아세트니트릴에서 순수한 아세트니트릴의 선형 농도구배 용리를 이용하여 C18 역상 플래시 크로마토그래피하였다. 생성물 함유 분획에 대해, 아세트니트릴을 진공에서 제거하고, 얻어진 수용액을 동결 건조하여 화합물 54를 비스-트리메틸암모늄 염 형태의 자색 고체로서 수득하였다 (8.6 mg).

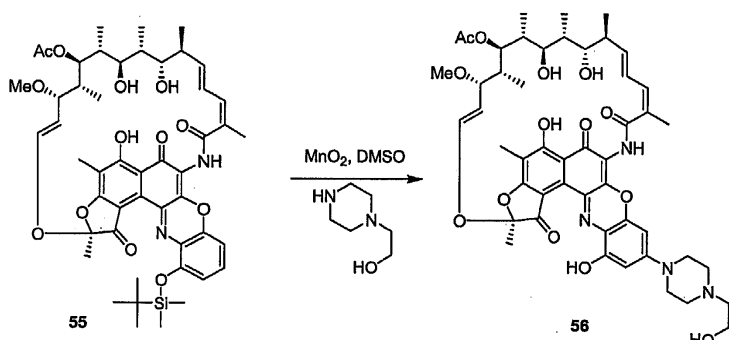
[0616]

LC/MS 순도 : 97.0% (254nm), 96.4% (220nm), 97.6% (320nm). MS (M+H) 1206.4.

반응식 17

[0617]

3'-히드록시벤족사지노리파마이신 유도체 56의 제조



[0618]

[0619]

1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-3'-tert-부틸디메틸실릴옥시-1-옥소리파마이신 VIII (화합물 37)의 제조는 문헌 [Yamane et al (Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155)]에 기재되어 있다.

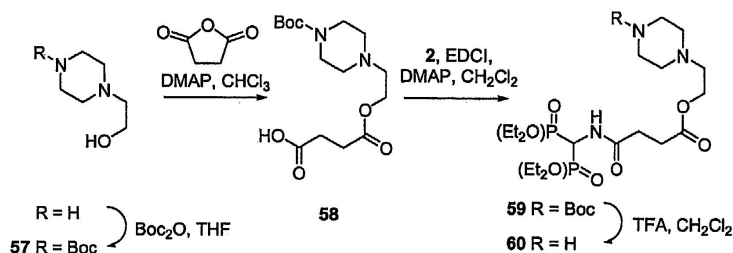
[0620]

1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (56): DMSO 60 mL 중 1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-3'-tert-부틸디메틸실릴옥시-1-옥소리파마이신 VIII (화합물 55) (2.236 g, 2.44 mmol)의 용액에 1-(2-히드록시에틸)피페라진 (635 mg, 4.88 mmol) 및 이산화망간 (2.227 g, 25.62 mmol)을 첨가하였다. 30분 이내에 상기 혼합물이 적색에서 청색으로 변하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, 상기 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 원래 부피의 절반으로 진공하에 증발시켰다. 얻어진 혼합물을 물에 붓고, CH₂Cl₂로 추출하였다. 유기 추출물을 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조하였다. 증발 후, 잔류물을 SiO₂ (0% 내지 10% MeOH/CH₂Cl₂ 농도구배) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 56을 청색 고체로서 수득하였다 (975 mg, 43%).

LCMS 98.0% (254 nm), 97.1% (220 nm), 96.3% (320 nm); $C_{49}H_{60}N_4O_{14}$ 에 대한
질량 계산치 929, 실측치 929.2

반응식 18

테트라에틸 (4-(2-(피페라진-4-일)에톡시)-4-옥소-부타노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트의 제조



tert-부틸 4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-카르복실레이트 (57): THF 중 1-(2-히드록시에틸)피페라진 (3.0 g, 23.0 mmol)에 디-tert-부틸 디카르보네이트 (5.5 g, 25.3 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 용매를 원래 부피의 절반으로 진공하에 증발시키고, 상기 혼합물을 물에 붓고, CH_2Cl_2 로 추출하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조하고, 농축하여 담황색 오일 (5.3 g, 정량)을 수득하였다.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.46 (s, 9H), 2.44-2.46 (m, 4H), 2.54-2.57 (m, 2H), 2.66 (m, $J=5.3$, 1H), 3.42-3.45 (m, 4H), 3.62 (q, $J=5.3$, 2H).

1-(t-부틸옥시카르보닐)-4-(2-(4-히드록시-4-옥소-부타노일옥시)에틸)피페라진 (58): 화합물 57 (5.3 g, 23.0 mmol), 숙신산 무수물 (2.30 g, 23.0 mmol) 및 4-디메틸아미노피리딘 (281 mg, 2.30 mmol)을 $CHCl_3$ (14 mL)에 용해하고, 18시간 동안 교반하였다. 상기 용액을 진공에서 농축하고, 더이상 정제하지 않고 사용하였다.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.42 (s, 9H), 2.54-2.60 (m, 8H), 2.72 (t, $J=5.6$, 2H), 3.43-3.46 (m, 4H), 4.23 (t, $J=5.5$, 2H).

테트라에틸 (4-(2-(1-(t-부틸옥시카르보닐)-피페라진-4-일)에톡시)-4-옥소-부타노일-아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (59): CH_2Cl_2 (50 mL) 중 화합물 2 (3.0 g, 9.9 mmol) 및 58 (3.3 g, 9.9 mmol)의 혼합물에 EDC (2.08 g, 10.9 mmol) 및 4-디메틸아미노피리딘 (121 mg, 0.99 mmol)을 첨가하였다. 얻어진 용액을 Ar하 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 포화 $NaHCO_3$ 에 붓고, 층들을 분리하고, 수성층을 CH_2Cl_2 로 2회 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조하고, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 SiO_2 (0% 내지 10% MeOH/ CH_2Cl_2 농도구배) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 담황색 오일을 수득하였고, 이는 시간이 지남에 따라 고체화되었다 (4.5 g, 74%).

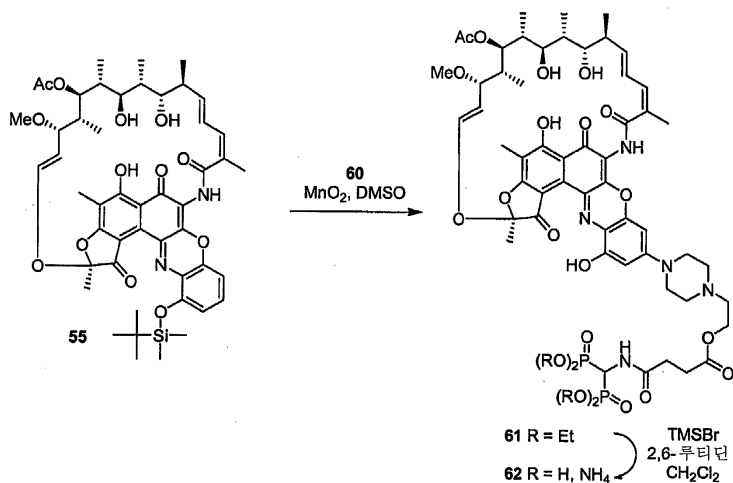
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.33 (t, $J=7.1$, 12H), 1.45 (s, 9H), 2.42-2.44 (m, 4H), 2.55-2.60 (m, 6H), 3.41-3.43 (m, 4H), 4.14-4.25 (m, 10H), 5.00 (dt, $J=21.7$, 10.1, 1H), 6.18 (d, $J=9.9$, 1H).

테트라에틸 (4-(2-(피페라진-4-일)에톡시)-4-옥소-부타노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (60): 화합물 59 (1.0 g, 1.62 mmol)를 20% TFA/ CH_2Cl_2 (8 mL)의 용액에 용해하였다. 출발 물질이 남지 않을 때까지 (TLC 모니터링), 상기 용액을 실온에서 교반하였다. 휘발 물질을 진공하 제거하였다. TFA 염을 MeOH에 용해하고, 포화 $NaHCO_3$ (3x), 물 (3x) 및 MeOH (3x)로 미리 세척한 도웁스(Dowex) 1X2 Cl^- 형 수지 13 cc로 처리하였다. 상기 수지를 여과하고, 여액을 농축하여 무색 고체 (0.85 g, 정량)를 수득하고, 이를 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ
1.29 (t, J=7.1, 6H), 1.35 (t, J=7.1, 6H), 2.65-2.74 (m, 4H), 3.22-3.24 (m, 2H), 3.44-3.46 (m, 4H), 3.56-3.59 (m, 4H), 4.06-4.23 (m, 8H), 4.38-4.41 (m, 2H), 5.06 (dt, J=21.6, 10.0, 1H), 7.93 (d, J=10.1, 1H).

반응식 19

3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 62의 제조



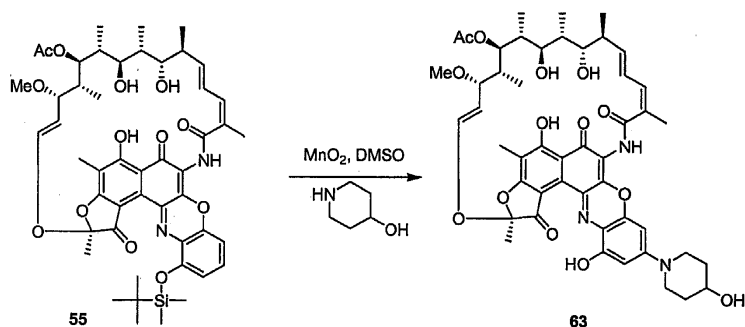
3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 61: 화합물 60 (2.37 g, 4.59 mmol)을 건조 DMSO (16 mL) 중 55 (2.8 g, 3.06 mmol)의 용액에 첨가하였다. NaHCO₃ (2.57 g, 30.6 mmol) 및 MnO₂ (2.66 g, 30.6 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 Ar 하 40 °C에서 9일 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, 대부분의 고체를 셀라이트를 통해 여과 제거하였다. 고체를 CH₂Cl₂로 세척하고, 합한 유기층을 반-포화 염수로 세척하였다. 유기층을 분리하고, 페이퍼를 통해 여과하여 잔류하는 미세 흑색 고체를 제거하였다. 여액을 물, 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조하였다. 증발 후, 잔류물을 SiO₂ (0% 내지 10% MeOH/CH₂Cl₂ 농도구배) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 61을 청색 고체로서 수득하였다 (1.3 g, 33%). LCMS 순도: 96.3% (254 nm), 95.9% (220 nm), 94.2% (320 nm); C₆₂H₈₅N₅O₂₂P₂에 대한 질량 계산치 1313, 실측치 1312.0 (M-H)⁻. 탈실릴화된 37을 또한 암적색 고체로서 회수하였다 (1.1 g, 45%).

3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 62: -78 °C에서 CH₂Cl₂ (5 mL) 중 61 (168 mg, 0.13 mmol) 및 2,6-루티딘 (594 μL, 5.11 mmol)의 용액에 TMSBr (337 μL, 2.55 mmol)을 아르곤하 적가하였다. 냉각조를 제거하고, 상기 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 건조될 때까지 용매를 진공하에 제거하였다. 잔류물을 수성 50 mM NH₄OAc/AcOH 완충액 (pH 5)에 용해하고, 실온에서 18시간 동안 교반하고, 샘플을 동결 건조하였다. 조질의 잔류물을 pH 5에서 역상 플래시 크로마토그래피 (수성 50 mM NH₄OAc/AcOH 완충액 중 5% 내지 100% 아세토니트릴 선형 농도구배)로 정제하였다. 합한 순수한 분획을 농축하고, 동결 건조하여 62를 암청색 비스-암모늄 염으로서 수득하였다 (120 mg, 76%).

LCMS 순도 : 96.2% (254 nm), 96.6% (220 nm), 96.3% (320 nm);
C₆₄H₈₉N₅O₂₂P₂에 대한 질량 계산치 1201, 실측치 1200.3 (M-H)⁻.

반응식 20

[0637] 3'-히드록시벤족사지노리파마이신 유도체 63의 제조



[0638]

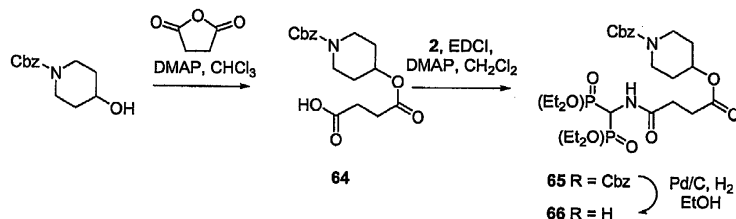
[0639] 1',4-디테히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-히드록시-1-피페리딘]-1-옥소리파마이신 VIII (63): 건조 DMSO (10 mL) 중 55 (0.60 g, 0.65 mmol)의 교반 용액에 4-히드록시피페리딘 (0.132 g, 1.31 mmol) 및 MnO₂ (0.57 g, 6.56 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 (100 mL)로 희석하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트 (100 mL)로 세척하였다. 합한 여액을 물 (2 x 75 mL), 염수 (2 x 75 mL)로 연속적으로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 농축하였다. 잔류물을 SiO₂ (8% MeOH/CH₂Cl₂) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 63을 청색 고체로 수득하였다 (197 mg, 33%).

LCMS 순도: 97.8% (254 nm), 95.1% (220 nm), 97.1% (320 nm); C₄₈H₅₇N₃O₁₄에 대한 질량 계산치: 899, 실측치: 898 (M-H).

[0640]

반응식 21

[0641] 테트라에틸 (4-(2-(1-(벤질옥시카르보닐)-피페리딘-4-일)에톡시)-4-옥소-부타노일-아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트의 제조



[0642]

[0643] 3-((1-((벤질옥시)카르보닐)피페리딘-4-일옥시)카르보닐)프로판산 (64): 벤질 4-히드록시-1-피페리딘카복실레이트 (1.0 g, 4.25 mmol), 숙신산 무수물 (0.425 g, 4.25 mmol) 및 4-DMAP (52 mg, 0.425 mmol)를 CHCl₃ (10 mL)에 용해하고, 24시간 동안 교반하였다. 휘발 물질을 진공에서 제거하였다. 수성 NaHCO₃ (100 mL)을 첨가하고, 상기 혼합물을 Et₂O (2 x 50 mL)로 세척하였다. 수성층을 2 N HCl을 사용하여 pH 6 내지 7로 산성화하고, CH₂Cl₂ (2 x 60 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수 (60 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 진공에서 농축하여 화합물 64 (768 mg, 54%)를 수득하고, 이를 더이상 정제하지 않고 사용하였다.

¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ 1.62 (m, 2H), 1.85 (m, 2H), 2.60-2.70 (m, 4H), 3.38 (m, 2H), 3.74 (m, 2H), 4.97 (m, 1H), 5.12 (s, 2H), 7.35 (m, 5H).

[0644]

[0645] 테트라에틸 (4-(1-(벤질옥시카르보닐)-피페리딘-4-일옥시)-4-옥소-부타노일-아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (65): CH₂Cl₂ (10 mL) 중 화합물 64 (0.76 g, 2.26 mmol) 및 2 (0.687 g, 2.26 mmol)의 교반 용액에 EDC (0.52 g, 2.72 mmol) 및 4-DMAP (55 mg, 0.45 mmol)를 첨가하였다. 얻어진 용액을 질소하 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, 수성 NaHCO₃ (2 x 50 mL), 염수 (50 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하였다. 증발 후, 잔류물을 5% MeOH/CH₂Cl₂를 이용하여 SiO₂ 상에서 플래시 크로마토그래피로 정

제하여 생성물 65 (1.20 g, 85%)를 수득하였다.

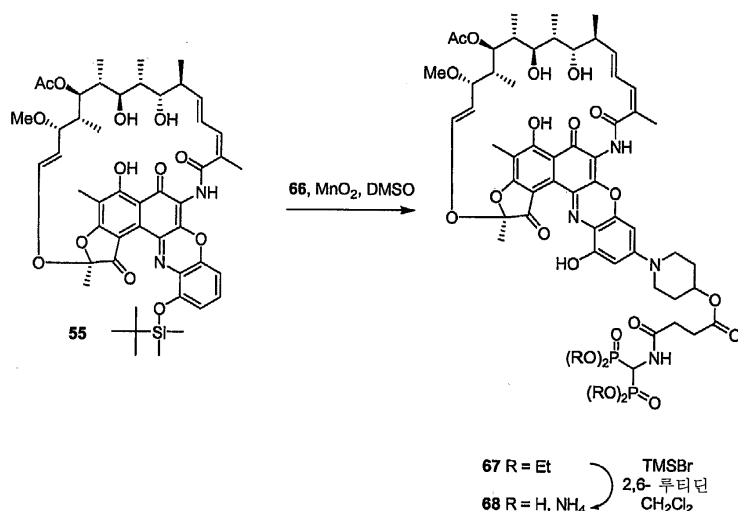
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.33 (t, $J=7.1$ Hz, 12H), 1.62 (m, 2H), 1.85 (m, 2H), 2.57-2.62 (m, 4H), 3.35 (m, 2H), 3.76 (m, 2H), 4.16 (m, 8H), 4.90-5.08 (m, 2H), 5.12 (s, 2H), 6.33 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 7.35 (m, 5H).

테트라에틸 (4-(피페리딘-4-일)-4-옥소-부타노일-아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (66): EtOH (20 mL) 중 화합물 65 (1.20 g, 1.93 mmol)의 용액에 10% Pd/C (200 mg)를 첨가하고, 상기 혼합물을 수소 분위기하 3.5시간 동안 교반하였다. 촉매를 셀라이트를 통해 여과하고, 에탄올로 세척하고, 여액을 농축 건조하여 66 (1.0 g)을 제공하고, 이를 더이상 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.33 (t, $J=7.1$ Hz, 12H), 1.82 (m, 2H), 2.08 (m, 2H), 2.64 (s, 4H), 3.02 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 4.16 (m, 8H), 4.90-5.08 (m, 2H), 6.88 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H).

반응식 22

3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 68의 제조



3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 67: MnO_2 (1.45 g, 16.66 mmol)를 건조 DMSO (20 mL) 중 55 (1.52 g, 1.66 mmol) 및 화합물 66 (0.81 g, 1.66 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 상기 혼합물을 아르곤하 실온에서 4일 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (50 mL)로 희석하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 추가의 CH_2Cl_2 (100 mL)로 세척하고, 합한 여액을 물 (3 x 100 mL) 및 염수 (2 x 100 mL)로 연속적으로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조하고, 농축하였다. 잔류물을 SiO_2 (0% 내지 5% MeOH/ CH_2Cl_2 농도구배) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 67을 청색 고체로서 수득하였다 (0.42 g, 19.7%).

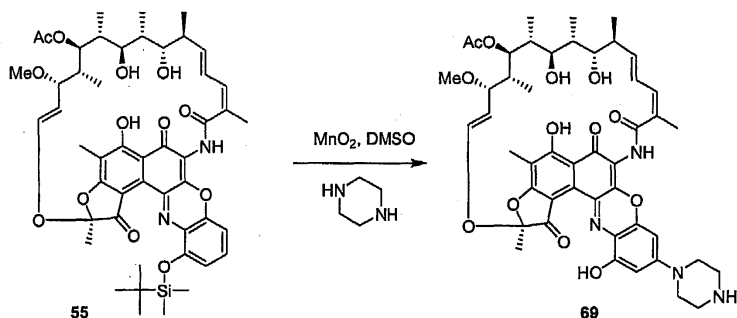
LCMS $\text{C}_{61}\text{H}_{82}\text{N}_4\text{O}_{22}\text{P}_2$ 에 대한 질량 계산치: 1284, 실측치: 1285 (M+H).

3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 68: -78°C 에서 무수 디클로로메탄 10 mL 중 67 (0.42 g, 0.32 mmol)의 용액에 2,6-루티딘 (1.52 mL, 13.08 mmol) 및 이어서 브로모트리메틸실란 (0.86 mL, 6.54 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 50 mM $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$ 완충액 (pH 5) 8 mL에 용해하고, 실온에서 20시간 동안 교반하고, 동결 건조하였다. 잔류물을 물에 용해하고, 여과하여 불용성 물질을 제거하였다. 얻어진 용액을 50 mM $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$ 완충액 (pH 5) 중 5% 아세토니트릴에서 순수한 아세토니트릴의 선형 농도구배 용리를 이용하여 C18 역상 플래시 크로마토그래피하였다. 생성물만을 함유한 분획에 대해, 아세토니트릴을 진공에서 제거하고, 얻어진 수용액을 동결 건조하여 화합물 68을 암청색 고체로서 수득하였다 (0.31 g, 81%).

LCMS 97.9% (254 nm), 97.7% (220 nm), 96.4% (320 nm); $\text{C}_{63}\text{H}_{69}\text{N}_4\text{O}_{22}\text{P}_2$ 에 대한 질량 계산치: 1172, 실측치: 1171 (M-H).

반응식 23

[0655] 3'-히드록시벤족사지노리파마이신 유도체 69의 제조



[0656]

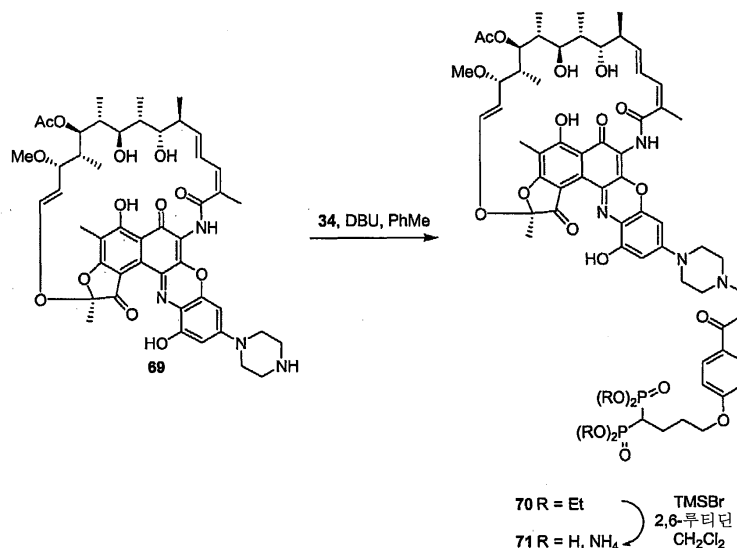
[0657] 1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (69): 건조 DMSO (60 mL) 중 55 (3.0 g, 3.28 mmol)의 교반 용액에 피페라진 (1.13 g, 13.12 mmol) 및 MnO_2 (2.85 g, 32.82 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 48시간 동안 교반하고, CH_2Cl_2 (200 mL)로 희석하고, 셀라이트를 통해 여과하고, 추가의 CH_2Cl_2 (200 mL)로 세척하였다. 합한 여액을 물 (2 x 300 mL) 및 염수 (2 x 200 mL)로 연속적으로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조하고, 농축하였다. 잔류물을 SiO_2 (10% 내지 20% MeOH/ CH_2Cl_2 농도구배) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 69를 청색 고체로서 수득하였다 (2.28 g, 78%).

[0658]

LCMS 99.2% (254 nm), 99.3% (220 nm), 99.2% (320 nm); $C_{47}H_{56}N_4O_{13}$ 에 대한 질량 계산치: 884, 실측치: 883 (M-H).

반응식 24

[0659] 3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 71의 제조



[0660]

[0661] 3'-히드록시벤족사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 70: 톨루엔 25 mL 중 화합물 69 (1.92 g, 2.17 mmol), 화합물 34 (1.03 g, 2.17 mmol) 및 DBU (0.714 mL, 4.77 mmol)의 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 휘발성 물질을 감압하 제거하였다. 잔류물을 CH_2Cl_2 (200 mL)에 용해하고, 염화암모늄 포화 수용액 (2 x 80 mL), 염수 (1 x 80 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조하고, 감압하 농축하였다. 0 내지 6% 메탄올/디클로로메탄을 사용한 농도구배 용리를 이용하여 실리카 겔 상에서 플래시 크로마토그래피하여 생성물 70 (1.92 g, 65%)을 수득하였다.

[0662]

LCMS: $C_{88}H_{90}N_4O_{21}P_2$ 에 대한 질량 계산치: 1360, 실측치: 1361 (M+H).

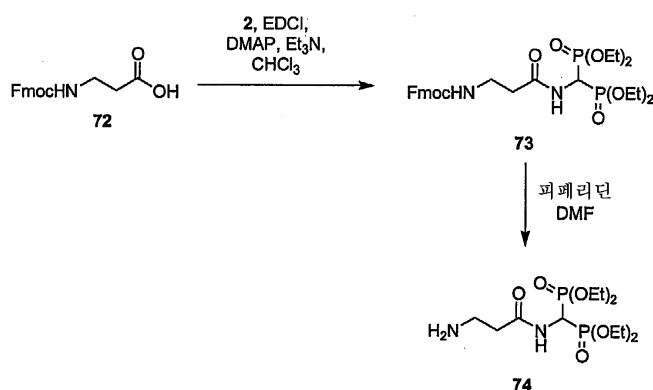
[0663] 3'-히드록시벤조사지노리파마이신 비스포스포네이트 접합체 71: 화합물 70 (1.92 g, 1.41 mmol)을 무수 디클로로메탄 25 mL에 용해하였다. 상기 용액에 트리에틸아민 (9.83 mL, 70.58 mmol) 및 이어서 브로모트리메틸실란 (4.65 mL, 35.29 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 23시간 동안 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 0.1 N 염산 70 mL와 아세토니트릴 70 mL의 혼합물에 용해하고, 실온에서 3시간 동안 교반하고, 이어서 트리에틸아민으로 중화하였다. 유기 용매를 진공에서 제거하고, 잔류물을 동결 건조하였다. 잔류물을 물에 용해하고, 여과하여 불용성 물질을 제거하였다. 얻어진 여액을 30 mM 트리에틸아민/이산화탄소 수용액 (pH 6.8) 중 0 내지 40% 아세토니트릴에서 순수한 아세토니트릴의 선형 농도구배 용리를 이용하여 C18 역상 플래시 크로마토그래피하였다. 생성물 함유 분획에 대해, 아세토니트릴을 진공에서 제거하고, 얻어진 수용액을 동결 건조하여 화합물 71을 암청색 고체로서 수득하였다 (0.82 g, 46%).

LCMS 순도 : 96.0% (254 nm),
92.1% (220 nm), 95.5% (320 nm); $C_{60}H_{74}N_4O_{21}P_2$ 에 대한 질량 계산치: 1248, 실측치: 1247 (M-H).

[0664]

반응식 25

[0665] 테트라에틸 (3-아미노프로파노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트의 제조



[0666]

[0667] 테트라에틸 (3-(((9h-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐아미노)프로파노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (73): 무수 및 에탄올-무함유 $CHCl_3$ (5 mL) 중 화합물 72 (200 mg, 0.642 mmol) 및 2 (195 mg, 0.642 mmol)의 용액에 EDCI (147 mg, 0.77 mmol) 및 DIPEA (0.14 mL, 0.77 mmol)를 첨가하였다. 얻어진 용액을 Ar하 실온에서 밤새 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 농축 건조하고, 잔류물을 SiO_2 (5% 내지 15% MeOH/ CH_2Cl_2 농도구배) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 무색 검 (240 mg, 65%)을 수득하였다.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.30-1.34 (m, 12H), 2.50-2.24 (m, 2H), 3.51-3.54 (m, 2H), 4.14-4.24 (m, 8H), 4.36 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 5.03 (dt, $J=22.0, 9.9$ Hz, 1H), 5.66 (br s, 1H), 6.21 (br s, 1H), 7.30 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.39 (t, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.75 (d, $J=7.3$ Hz, 2H); ^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ 17.46.

[0668]

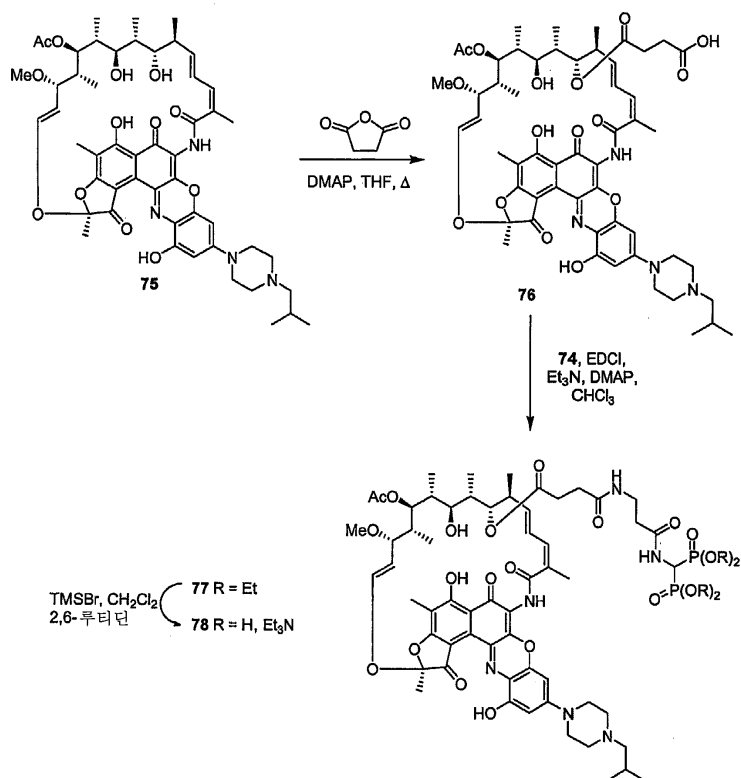
[0669] 테트라에틸 (3-아미노프로파노일아미노)메틸렌-1,1-비스포스포네이트 (74): 피페리딘 (1.5 mL, 15.15 mmol)을 DMF (3.5 mL) 중 화합물 73 (240 mg, 0.402 mmol)의 용액에 첨가하였다. 얻어진 용액을 Ar하 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 농축 건조하고, 잔류물을 SiO_2 (5% 내지 15% MeOH/ CH_2Cl_2 농도구배) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 무색 검 (78 mg, 64%)을 수득하였다.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.27-1.31 (m, 12H), 2.38-2.40 (m, 3H), 3.00 (m, 2H), 4.11-4.21 (m, 8H), 5.04 (t, $J=22.0$ Hz, 1H), 8.20 (bs, 1H); ^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ 17.82.

[0670]

반응식 26

[0671] 리팔라질 비스포스포네이트 접합체 78의 제조



[0672]

[0673] 1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (화합물 75)의 제조는 문헌 [Yamane et al (Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155)]에 기재되어 있다.

[0674] 21-O-(3-카르복시프로파노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (76): 무수 THF (50 mL) 중 화합물 75 (400 mg, 0.425 mmol)의 용액에 숙신산 무수물 (376 mg, 3.74 mmol) 및 DMAP (60 mg, 0.49 mmol)를 첨가하였다. 얻어진 용액을 밤새 환류 온도에서 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 농축 건조하고, 잔류물을 SiO₂ (50/45/5 헥산/EtOAc/MeOH) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 짙은 청색 고체 (323 mg, 73%)를 수득하였다.

[0675]

[0676] 21-O-(3-(2-((비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)에틸카르바모일)프로파노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (77): 무수 및 에탄올-무함유 CHCl₃ (10 mL) 중 화합물 76 (268 mg, 0.257 mmol) 및 74 (78 mg, 0.257 mmol)의 용액에 EDCI (100 mg, 0.514 mmol) 및 DMAP (63 mg, 0.514 mmol)를 첨가하였다. 얻어진 용액을 Ar하 실온에서 밤새 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 농축 건조하고, 잔류물을 SiO₂ (용리액 CH₂Cl₂/AcOEt/MeOH, 50/40/10) 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 청색 고체 (52 mg, 15%)를 수득하였다.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ -0.37 (d, J = 7.0 Hz, 3H), -0.03 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 0.90-0.99 (m, 15H), 1.33 (m, 12H), 1.52-1.75 (m, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 2.09-2.79 (m, 26H), 2.97 (s, 3H), 3.32-3.69 (m, 10H), 4.19 (m, 8H), 4.75 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 4.99-5.14 (m, 3H), 5.97 (dd, J = 16.1, 7.3 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 22.0, 11.0 Hz, 2H), 6.31 (s, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.88-6.92 (m, 3H), 7.03 (m, 1H), 7.68 (s, 1H), 10.11 (s, 1H). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ 18.21; mass C₆₇H₉₄N₆O₂₂P₂에 대한 질량 계산치 1396, 실측치 1398.2 (M+2H)⁺.

[0677]

[0678]

21-O-(3-(2-((비스포스포노메틸)카르바모일)에틸카르바모일)프로파노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (78): 화합물 77 (50 mg, 0.0358 mmol)을 디클로로메탄 10 mL에 용해하고, 2,6-루티딘 0.21 mL (1.789 mmol) 및 이어서 TMSBr 116 μL (0.8945 mmol)를 첨가하였다. 적색 혼합물을 실온에서 48시간 이상 교반하고, 농축 건조하였다. 고 진공하에 120분 이상 건조한 후, 고체 물질을 0.1 N HCl 2.15 mL와 아세토니트릴 2.5 mL의 혼합물에 용해하고, 실온에서 2시간 동안 교반하여 투명한 용액을 수득하였다. 트리에틸아민 0.05 mL를 첨가하여 염기화한 후 (최종 pH 7.0), 유기성 휘발 물질을 진공하에 조심스럽게 제거하고, 불용성 물질을 여과 제거하였다. 여액을 동결 건조하고, 잔류물을, 칼럼 부피 15배 초과 30 mM 트리에틸암모늄 비카르보네이트 완충액 (pH 6.5) 중 10 내지 60% MeCN의 농도구배 용리를 이용하여 바이오타지(등록상표) 자동화된 플래시 크로마토그래피 시스템 상의 C18 칼럼에 적용하여 78을 암청색 고체로서 비스트리에틸암모늄 염으로 수득하였다 (15 mg, 30%).

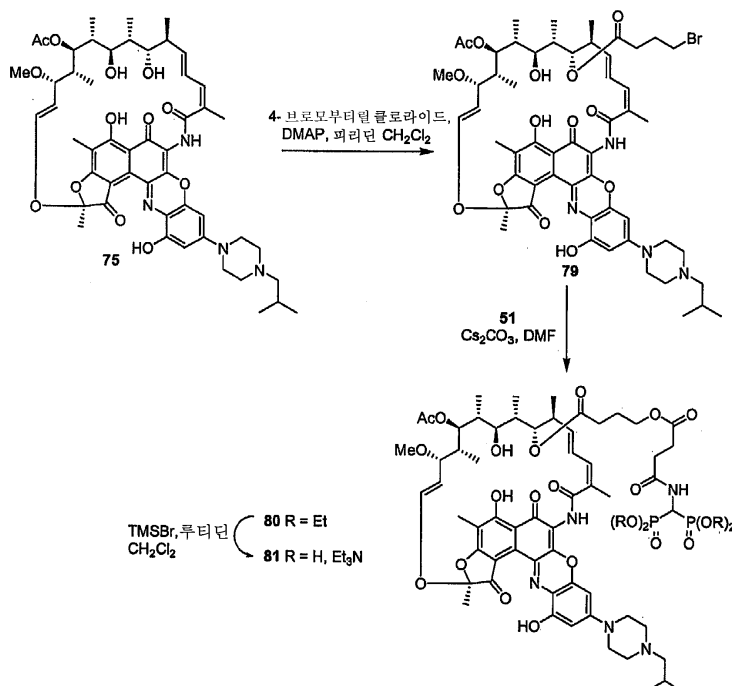
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 주요 시그널 δ -0.57 (bs, 3H), -0.38 (bs, 3H), 0.88 (s, 6H), 1.16 (t, 18H), 3.05 (q, 12H), 4.20 (t, 1H); ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ 14.02; LCMS 순도 : 99.0% (254 nm), 98.5% (220 nm), 99.1% (320 nm); C₅₉H₇₈N₆O₂₂P₂에 대한 질량 계산치 1284, 실측치 1283.2 (M-H)⁺.

[0679]

반응식 27

[0680]

리팔라질 비스포스포네이트 접합체 81의 제조



[0681]

[0682]

21-O-(4-브로모부타노일)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (79): 4-브로모부틸 클로라이드 (2.18 mL, 18.82 mmol)를 디클로로메탄 (150 mL) 중 리팔라질 (11.80 g, 12.55 mmol), 피리딘 (3.04 mL, 37.65 mmol) 및 DMAP (153 mg, 1.25 mmol)의 냉각된 (0 °C) 용액에 적가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반한 후, 상기 반응 혼합물을 디클로로메탄 (800 mL)으로 희석하고, 물 (2 x 500 mL) 및 염수 (2 x 500 mL)로 연속적으로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고, 농

축 건조하였다. 잔류물을 60 내지 100% 에틸 아세테이트/헥산 및 이어서 1 내지 5% MeOH/CH₂Cl₂를 이용한 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 79 (12.40 g, 수율 90%)를 수득하였다.

[0683]

C₅₅H₆₉BrN₄O₁₄에 대한 질량 계산치: 1090, 실측치: 1091 (M+H).

[0684]

21-O-(4-((3-(비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)프로파노일옥시)부타노일)-1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (80): 건조 DMF (150 mL) 중 79 (12.40 g, 11.37 mmol), 51 (4.58 g, 11.37 mmol) 및 Cs₂CO₃ (3.70 g, 11.37 mmol)의 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 물로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2 x 700 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 염수 (2 x 700 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 농축 건조하였다. 잔류물을 5% MeOH/CH₂Cl₂를 이용한 SiO₂ 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 생성물 80 (9.20 g, 수율 57%)을 수득하였다.

[0685]

LCMS: C₆₈H₉₅N₅O₂₃P₂에 대한 질량 계산치: 1411, 실측치: 1412 (M+H).

[0686]

21-O-(4-((3-(비스포스포노메틸)카르바모일)프로파노일옥시)부타노일)-1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (81): -78 °C에서 CH₂Cl₂ (180 mL) 중 80 (9.20 g, 6.52 mmol) 및 2,6-루티딘 (30.37 mL, 260.80 mmol)의 용액에 아르곤하 브로모트리메틸실란 (17.21 mL, 130.40 mmol)을 적가하였다. 냉각조를 제거하고, 상기 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 휘발 물질을 건조될 때까지 진공하에 제거하였다. 잔류물을 수성 50 mM NH₄OAc/AcOH 완충액 (pH 5) 240 mL에 용해하고, 실온에서 18시간 동안 교반하고, 샘플을 동결 건조하였다. 얻어진 물질을 50 mM NH₄OAc/AcOH 완충액 (pH 5) 중 0 내지 100% 아세토니트릴의 선형 농도구배 용리를 이용하여 C18 역상 플래시 크로마토그래피하였다. 생성물 함유 분획을 혼합하고, 아세토니트릴을 진공에서 제거하고, 얻어진 수용액을 동결 건조하여 화합물 81을 암청색 고체로서 수득하였다 (5.30 g, 수율 62%).

[0687]

LCMS: 94.2% (254 nm), 94.2% (220 nm), 94.2% (320 nm);

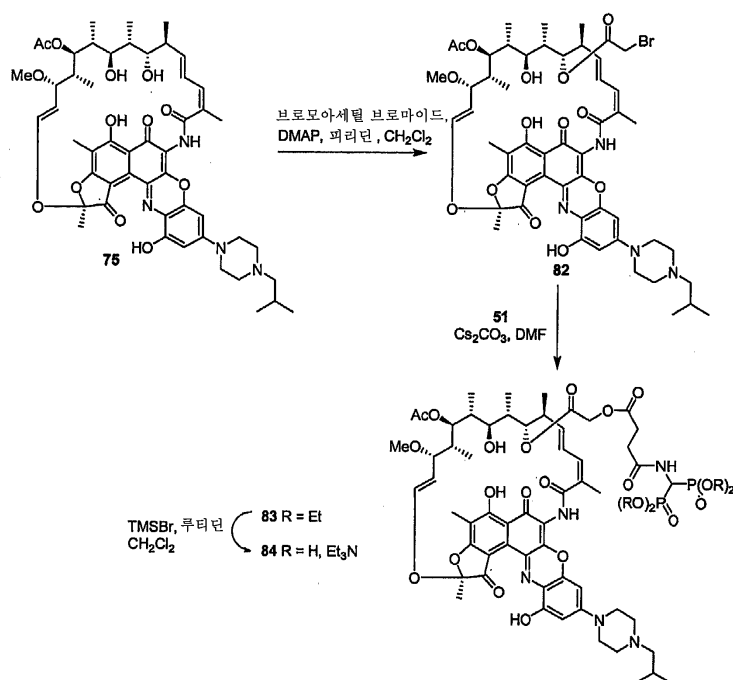
[0688]

C₆₀H₇₉N₅O₂₃P₂에 대한 질량 계산치: 1299, 실측치: 1298 (M-H).

반응식 28

[0689]

리팔라질 비스포스포네이트 접합체 84의 제조



[0690]

[0691]

21-O-(2-브로모아세틸)-1',4-디테히드로-1-테옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지

닐]-1-옥소리파마이신 VIII (82): 브로모아세틸 브로마이드 (37 μ l, 0.42 mmol)를 빙조에서 냉각된 디클로로메탄 (10 mL) 중 리팔라질 (200 mg, 0.21 mmol), DMAP (31 mg, 0.25 mmol)의 용액에 적가하였다. 상온에서 16시간 동안 교반한 후, 상기 반응 혼합물을 디클로로메탄 (800 mL)으로 희석하고, 물 (2 x 500 mL) 및 염수 (2 x 500 mL)로 연속해서 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 농축 건조하였다. 잔류물을, 60 내지 100% 에틸 아세테이트/헥산 및 이어서 2 내지 6% MeOH/CH₂Cl₂를 사용하여 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 79 (200 mg, 수율 88%)를 수득하였다.

[0692]

C₅₅H₆₉BrN₄O₁₄에 대한 질량 계산치: 1062, 실측치 1063 (M+H).

[0693]

21-O-(2-((3-(비스(디에틸포스포노)메틸)카르바모일)프로파노일옥시)아세틸)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (83): 건조 DMF (8 mL) 중 82 (200 mg, 0.18 mmol), 51 (76 mg, 1.88 mmol) 및 Cs₂CO₃ (61.4 mg, 1.88 mmol)의 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 디클로로메탄 (80 mL)으로 희석하고, 물 (2 x 50 mL) 및 염수 (60 mL)로 세척하고, Na₂SO₄로 건조하고, 농축 건조하였다. 잔류물을, 2 내지 6% MeOH/CH₂Cl₂를 사용하여 SiO₂ 상에서 플래시 크로마토그래피로 정제하여 생성물 83 (140 mg, 수율 54%)을 수득하였다.

[0694]

LCMS: C₆₆H₉₁N₅O₂₃P₂에 대한 질량 계산치 : 1383, 실측치: 1384 (M+H).

[0695]

21-O-(2-((3-(비스포스포노메틸)카르바모일)프로파노일옥시)아세틸)-1',4-디데히드로-1-데옥시-1,4-디히드로-3'-히드록시-5'-[4-(2-메틸프로필)-1-피페라지닐]-1-옥소리파마이신 VIII (84): -78 °C에서 CH₂Cl₂ (10 mL) 중 83 (140 mg, 0.10 mmol) 및 2,6-루티딘 (0.47 mL, 4.0 mmol)의 용액에 아르곤하 브로모트리메틸실란 (0.26 mL, 20.0 mmol)을 적가하였다. 냉각조를 제거하고, 상기 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 휘발성 물질을 건조될 때까지 진공하에 제거하였다. 잔류물을 수성 50 mM NH₄OAc/AcOH 완충액 (pH 5) 10 mL에 용해하고, 실온에서 16시간 동안 교반하고, 샘플을 동결 건조하였다. 얻어진 물질을 50 mM NH₄OAc/AcOH 완충액 (pH 5) 중 0 내지 100% 아세토니트릴의 선형 농도구배 용리를 이용하여 C18 역상 플래시 크로마토그래피하였다. 생성물 함유 분획을 혼합하고, 아세토니트릴을 진공에서 제거하고, 얻어진 수용액을 동결 건조하여 화합물 84를 암청색 고체로서 수득하였다 (50 mg, 수율 39%).

[0696]

LCMS: 95.8% (254 nm), 96.0% (220 nm), 96.3% (320 nm);

[0697]

C₅₈H₇₆N₆O₂₃P₂에 대한 질량 계산치 : 1271, 실측치: 1270 (M-H).

[0698]

실시예 2: 시험관내 항박테리아 활성 및 세포독성 측정

[0699]

시험관내 항박테리아 활성

[0700]

공지된 항생제 및 합성 화합물에 대한 에스. 아우레우스 균주의 감수성을 NCCLS (M26 A)에 의해 정립된 지침에 따라 측정하였다. 화합물을 DMSO에서 연속적으로 2배 희석하고, 양이온-조정된 뮐러 힌튼(Mueller Hinton) 배양액 (CAMHB; 벡톤 디킨슨(Becton Dickinson))에 옮겼다. CAMHB에 희석된 화합물 50 μ l를 96-웰 미량역가 플레이트에서 CAMHB에 희석된 박테리아 100 μ l와 혼합하였다. 상기 분석에서 미생물의 최종 농도는 mL 당 5 x 10⁵ c.f.u.였고, 상기 분석에서 DMSO의 최종 농도는 1.25%였다. 분석은 2회로 설정되었고, 37 °C에서 18시간 동안 인큐베이션하였다. 가시적 성장을 억제하는 화합물의 가장 낮은 농도를 최소 억제 농도 (MIC)로 기록하였다.

[0701]

감수성 시험 실험을 또한 혈청의 존재하에 수행하였다. 하기 변형과 함께 상기 감수성 시험과 유사하게 이들 실험을 수행하였다. CAMHB에 희석된 화합물 75 μ l를 임의의 주어진 공급원 (시판되는 혼합 마우스 혈청 (MS) 및 인간 혈청 (HS), 이퀴테크-바이오 인크.(Equitech-Bio Inc.))으로부터의 100% 혈청에 또는 8% 정제된 인간 혈청 알부민 (HSA) (칼바이오켄(Calbiochem))에 희석된 박테리아 75 μ l와 혼합하였다. 상기 분석에서 동물체 혈청의 최종 농도는 50%였고, 상기 분석에서 정제된 인간 혈청 알부민의 최종 농도는 4%였고, 모든 기타 성분들의 농도는 상기 감수성 시험에 기재된 바와 동일하였다. 결과를 하기 표 1에 요약하였다.

표 1

선택된 화합물에 대한 박테리아의 항박테리아 감수성
(최소 억제 농도 $\mu\text{g/mL}$)

화합물	종 및 균주								
	에스. 아우레우스								이. 콜라이 LB8925 ^d
	RN4220	BK85 ^a	ATCC 43300 ^b	ATCC 13709	ATCC 13709 ^c	ATCC 13709 + 50% 마우스 혈청	ATCC 13709 + 50% 인간 혈청	ATCC 13709 + 50% 랫 혈청	
리팜피신	0.008	0.008	0.008	0.008	>128	0.125	0.062	0.125	8
리파부틴 (17)	0.016	0.031	0.016	0.031	-	0.062	0.031	0.031	4
리팔라질 (75)	0.00048	0.001	0.001	0.001	16	0.032	0.032	0.0078	16
9	0.016	0.016	0.016	0.016	-	0.062	0.062	0.062	16
11	0.25	0.25	0.25	0.125	-	0.25	0.25	0.25	32
21	32	16	16	16	-	-	-	-	>128
30	1	0.5	0.5	1	-	1	1	0.25	1
36	1	1	1	1	>128	2	2	1	128
39	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	64	128
45	64	64	64	32	>128	128	64	-	>128
50	0.25	0.25	0.25	0.25	>128	0.125	0.125	0.032	16
54	64	64	64	64	>128	>128	>128	>128	>128
56	0.00025	-	0.00025	0.00025	-	0.002	0.001	0.002	8
62	0.0078	0.0078	0.0078	0.0039	>128	0.032	0.032	0.0156	>128
63	0.00048	0.00048	0.00048	0.00048	2	0.0156	0.0078	0.032	8
68	0.25	0.25	0.0625	0.0625	>128	1	1	2	64
69	-	0.00024	-	0.00048	-	0.0019	0.0019	0.0019	4
71	0.0039	0.0019	0.0019	0.0019	128	0.032	0.032	0.032	>128
78	16	16	8	8	>128	>128	>128	>128	>128
81	0.001	0.001	0.001	0.001	>128	0.0625	0.125	0.03125	>128
84	1	1	1	1	>128	16	16	1	>128

a: 플루오로퀴놀론 내성 MRSA. b: 플루오로퀴놀론 민감성 MRSA.
c: 노보비오신 및 리팜피신 내성 변이체. d: tolC 돌연변이체

비스포스포산화 전구약물 11, 21, 30, 36, 39, 45, 50, 54, 68, 78 및 84는 적어도 모약물보다는 약한 차수의 항박테리아 활성을 갖는 것으로 대체로 추론될 수 있다. 사실, 39, 45, 54 및 78의 경우에서 활성의 거의 완전한 손실은 비스포산화 잔기의 도입이 분자의 항박테리아 특성에 불리하다는 것을 제시한다. 다른 전구약물 62, 71 및 81은 매우 낮은 MIC를 얻었는데, 이는 실험 과정 동안 비스포스포산화 잔기의 절단 및 활성 모 항박테리아제의 방출의 결과이다. 에스. 아우레우스 ATCC13709의 리팜피신 내성 변이체에 대한 전구약물 36, 39, 45, 50, 54, 62, 68, 71, 78, 81 및 84의 완전한 활성 기여는 이들 화합물이 다른 작용 기작을 통해 항박테리아 활성을 가질 수 없음을 확인시켜 준다. 표 1은 또한 모 항균 분자 9, 56, 63, 69, 리팜피신, 리파부틴 및 리팔라질이 또다른 동일 범위 내에서 항박테리아 활성을 나타낸다는 것을 증명한다.

MIC 값에 대한 혈청의 효과는 모약물과 전구약물 사이에 서로 관련되어 있었다. 리팜피신, 특히 벤족사지노리파마이신 유도체 (리팔라질 및 화합물 56, 63 및 69)의 경우, MIC가 50% 마우스 또는 래트 혈청의 존재하에 현저히 ($> 4x$) 증가하였다. 벤족사지노리파마이신 전구약물 (62, 68, 71, 78, 81 및 84)에 대해서도 이와 동일한 현상이 발생하였다. 또한, 화합물 11, 30, 36, 39, 45, 50, 및 54의 MIC에 대해 혈청의 효과가 없었다는 것은 혈청 가수분해 효소의 참여가 용액 내 이들 전구약물의 절단에 거의 요구되지 않거나 책임이 없다는 것을 제시한다.

실시예 3: 시험관내 골분에 대한 화합물의 결합 및 모약물의 후속 재생

골분 결합

골분과 결합하는 실시예 1의 분자의 능력을 검출용 미생물 분석을 이용하여 정립하였다. 각각의 화합물을 PBS에 용해하고, PBS 10 mg/ml 중 분쇄 골분 슬러리 (나우 푸즈(Now Foods), 미국 일리노이주 블루밍데일 소재) 1 mg/ml의 농도로 재현탁하였다. 분쇄 골분 중 약물/전구약물의 현탁액을 37 °C에서 1시간 동안 인큐베이션하여 결합시키고, 13,000 rpm에서 2분 동안 원심분리한 후, 상등액을 회수하였다. 이어서, 분쇄 골분 펠렛을 PBS + 2% DMSO 1 mL로 3회 세척하였다. 하기하는 바와 같은 미생물 분석 측정으로 전구약물의 양에 대해 상등액을

평가하였다. 지시 균주 (스타필로코쿠스 아우레우스 K1758)의 단리된 콜로니를 0.85% 염수에 OD₆₀₀ = 0.1로 재현탁하고, 양이온-조정된 필터 힌튼 아가 (CAMHA) 플레이트 상에 스트리킹하였다. 아는 부피의 상등액을 디스크에 도포하고, 건조하였다. 이어서, 상기 디스크를 시드된 CAMHA 플레이트에 두었다. 상기 플레이트를 37 °C에서 18시간 동안 인큐베이션한 후, 디스크에 의해 발생한 억제 영역의 지름을 측정하였다. 각 실험에 참조로 사용된 공지된 양의 표준 곡선으로부터 전구약물의 양을 추산하였다.

- [0708] 상기 실험은, 만족스러운 검출 한계를 고려하여 MIC가 낮은 전구약물을 필요로 하였다. 따라서, 21 및 39의 결합은 이 방법을 이용하여 측정될 수 없었다.
- [0709] 화합물 11, 30, 36, 45, 50, 62, 68, 71, 78, 81 및 84에 적용하는 경우, 시험관내 결합 실험은 하기 표 2에 나타난 바와 같이, 각 화합물의 90% 초과, 일반적으로 95% 초과가 분쇄 골분에 결합하는 것으로 나타났다.
- [0710] 이는, 비스포스폰산화 전구약물이 골물질에 의한 용액으로부터 매우 효과적으로 제거됨을 확인시켜 준다. 상기 결과는 또한 골 전달에 대한 매개체로서 비스포스포네이트를 사용하는 것을 명백히 신뢰하게 하였다. 이 방법으로 검출된 결합되지 않은 물질의 일부는 비스포스폰산화 전구약물이 아닌 오염되거나 재생된 모약물로 보는 것이 합당하다. 그럼에도 불구하고, 또한 골물질에 결합하는 정도는 골 흡수/흡착의 동력학을 반영하는 것일 수 있다.
- [0711] 골분 결합된 전구약물로부터 약물의 재생
- [0712] 생체내에서 사용되기 위해서는 감염 부위에서 활성 물질을 방출하는 전구약물의 능력이 가장 중요하다. 이는 시험관내에서 골물질에 결합된 전구약물로부터 약물 방출을 측정하여 미리 측정할 수 있다.
- [0713] 포스폰산화 전구약물로부터 "재생된" 모약물의 양을 다음과 같이 측정하였다. 상기 실험으로부터 세척된 골분-결합된 전구약물을 PBS + 2% DMSO 400 μ l 또는 50% (PBS + 2% DMSO 중 v/v) 인간 또는 래트 혈청 400 μ l에 재현탁하였다. 상기 현탁액을 밤새 37 °C에서 인큐베이션하고, 13,000 rpm에서 2분 동안 원심분리하고, 상등액을 회수하였다. 현탁액 내 재생된 모약물의 양을 전구약물 그 자체에 대해 미리 기재된 미생물 분석을 이용한 측정으로 결정하였다. 각 실험에서 참조로 사용된 공지된 양의 모약물의 표준 곡선으로부터 전구약물의 양을 추산하였다. 이 생물학적 분석으로 평가된 재생된 약물의 양은 MIC 측정으로 보강되었다. 밤새 인큐베이션한 후 PBS 또는 혈청에서 재생된 약물의 백분율 (표 2)은 결합된 전구약물의 양과 재생된 약물의 양 간의 차이로 추산되었다 (나타내지 않음).

표 2

비스포스폰산화 리파마이신 전구약물의 뼈 결합 및 뼈 결합 후 모약물로의 전환
(24시간 인큐베이션 후 전환된 모약물 %로 나타냄)

화합물	모약물	뼈 결합%	배지	전환%
11	9	95	PBS	0.97
			50% 인간 혈청	1.01
			50% 래트 혈청	1.01
21	리파부틴	??	PBS	< lod
			50% 인간 혈청	nd
			50% 래트 혈청	0.02
30	리파부틴	90	PBS	0.07
			50% 인간 혈청	0.05
			50% 래트 혈청	0.07
36	리파부틴	99.4	PBS	0.38
			50% 인간 혈청	0.25
			50% 래트 혈청	0.38
39	리파부틴	??	PBS	??
			50% 인간 혈청	??
			50% 래트 혈청	??
45	리파부틴	99.8	PBS	< lod
			50% 인간 혈청	-
			50% 래트 혈청	0.002
50	리파부틴	96.8	PBS	2.65
			50% 인간 혈청	nd
			50% 래트 혈청	2.68
54	리파부틴	??	PBS	??
			50% 인간 혈청	nd
			50% 래트 혈청	??
62	56	99.8	PBS	0.21
			50% 인간 혈청	0.86
			50% 래트 혈청	0.91
68	63	99.9	PBS	0.02
			50% 인간 혈청	nd
			50% 래트 혈청	0.24
71	69	99.9	PBS	0.1
			50% 인간 혈청	0.46
			50% 래트 혈청	0.38

[0714]

화합물	모약물	뼈 결합%	배지	전환%
78	리팔라질	99.9	PBS	< lod
			50% 인간 혈청	nd
			50% 래트 혈청	0.01
81	리팔라질	94.8	PBS	1.98
			50% 인간 혈청	nd
			50% 래트 혈청	2.50
84	리팔라질	99.8	PBS	< lod
			50% 인간 혈청	nd
			50% 래트 혈청	0.12

< lod: 검출 한계 미만, nd: 검출되지 않음, ??: 현재 기술로는 측정 불가

[0715]

[0716]

상기 데이터는, 화합물 21, 39, 45, 78 및 84가 뼈에 결합된 후 이들 각각의 모약물을 재생할 수 없다는 것을 나타내고, 이에 따라 이들은 생체 내에서 현저한 활성을 전혀 나타내지 않음이 예측된다. 다른 전구약물은 이들 조건하에 상당량의 모 리파마이신 항박테리아제를 방출하였다. 전구약물 11 및 62 (상당한 재생 속도를 가짐), 68 (경미하게 재생됨) 및 39 (명백히 재생되지 않음)의 재생 속도를 비교하는 것은 연결기 부착 지점의 중요성을 증명한다. 이들 전구약물은 시간이 지남에 따라 모 숙신이미드로 고리화하는 연결기로서 특정 숙신나메이트 에스테르를 사용하고, 힌더드(hindered) 에스테르를 포함하는 경우 고리화는 보다 느려진다. 절단 부위로부터 비스포스폰산화 잔기를 분리하는 간격이 또한 중요하다. 따라서, 뼈 결합된 전구약물 30의 절단 속도와

다른 한편 36 및 71의 절단 속도의 비교는 30에서 비스포스포네이트가 되게 하는 보다 긴 쇠 길이가 절단 속도에 유해한 영향을 미친다는 것을 나타낸다.

[0717] 또한, 전구약물 11, 21, 30, 36, 45, 50 및 81로부터 모약물의 재생 속도는 배지에 의해 현저한 영향을 받지 않았으며, 이는 화학적 절단이 모 리파마이신의 방출에 충분하고, 효소 도움 절차가 필요하지 않거나 상기 분석의 혈청 조건에서 나타나지 않는다는 것을 제시한다 (테이타를 나타내지 않음). 한편, PBS와 비교하여 혈청의 존재하에 62, 68, 71, 78 및 84의 모약물로의 전환이 현저히 가속화되었다. 여기에는 생체축매작용의 관여가 반드시 포함되는 것은 아니며, 잠재적인 다른 변화 요인이 존재한다. 다시 말하면, 62 및 68과 한편 9의 비교는 혈청이 동일한 연결기를 함유하는 전구약물의 절단 속도에 상이한 영향을 미친다는 것을 나타낸다. 36과 71의 비교에 의해서도 유사한 결론을 도출할 수 있다. 이는 각각의 약물-연결기 조합의 독특한 특성이 절단 방법의 특성 (혈청 에스테라제 요구, 속도)을 결정한다는 점을 더욱 강조한다.

[0718] **실시예 4: 뼈 감염 래트 모델에서 리파마이신 항박테리아제 및 그의 비스포스포산화 전구약물의 예방 효과의 비교**

[0719] 비-비스포스포산화 모약물과 비교하여 리파마이신 유도 항박테리아제의 비스포스포산화 전구약물의 생체내 활성을 측정하기 위해서, 화합물 11 및 그의 모약물 9, 화합물 21, 30, 36, 50 및 그의 모약물 리파부틴, 화합물 62 및 그의 모약물 56, 화합물 68 및 그의 모약물 63, 화합물 71 및 그의 모약물 63, 및 화합물 81 및 그의 모약물 리팔라질을 동물체 감염 모델에서 예방 치료제로서 사용하였다. 구체적으로, 에스. 아우레우스 ATCC 13709 (만성 골수염 단리체)의 자발적인 노보비오신 내성 돌연변이체 균주를 뇌 심장 침출 배양액 (BHIB) 내 37 °C에서 밤새 성장시켰다. 16시간 동안 성장시킨 후, 세포를 신선한 BHIB에서 2차 배양하고, 37 °C에서 4 내지 5시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 포스페이트-완충된 염수 (PBS)로 2회 세척하고, 약 10^{10} 콜로니 형성 단위 (CFU)/ml (탁도측정법을 기준으로 함)의 밀도로 10% (vol./vol.) 소태아 혈청이 보충된 BHIB에 재현탁하였다. 상기 현탁액을 분취하고, 일부를 CFU 계수를 확인하는 데 사용하였다. 배양물을 동결 저장하고 (-80 °C), 2차 배양하지 않고 사용하였다. 접종원으로 사용하기 위해, 배양물을 녹이고, PBS에 희석하고, 사용시까지 병조에 유지시켰다.

[0720] 동물체를 문헌 [Antimicrobial Agents and Chemotherapy (1992), 36(12): 2693-97 by O'Reilly et al.]에 기재된 바와 같이 감염시켜 골 감염을 발생시켰다. 암컷 CD 래트 (연령 57 내지 70일; n = 5/군; 캐나다 세인트-콘스탄트 찰스 리버 소재)를 수술 전 및 수술 중에 이소플루오란으로 마취시켰다. 완전한 마취 유도 후, 래트를 복부면이 위로 향하도록 두고, 수술 부위의 털을 면도하였다. 다리 위쪽 피부를 제거하고, 소독하였다 (프로비오딘-에탄올 70%). 무릎 관절 아래의 세로 절개가 시상면에서 수행되었다. "무릎 관절" (경골 헤드 또는 돌기) 아래 뼈 상에서 절개가 수행되지만, 발목까지 완전히 이르지 않는었다. 2 mm 벌브 비트가 장착된 고속 드릴을 사용하여 경골의 골수강에 구멍을 뚫었다. 5% 나트륨 모르후에이트 (경화제) 0.05 mL 및 이어서 에스. 아우레우스 현탁액 (약 5×10^5 CFU/래트) 0.05 mL로 래트 내부 경골을 감염시켰다. 유체를 즉시 흡수하고 상기 부위에 접착하는 소량의 건조 치과용 시멘트를 도포하여 구멍을 밀봉하였다. 3개의 금속 스킨 클립을 이용하여 상처를 밀폐하였다. 목시플록사신 (양성 대조군)은 염수 내에서 감염 1시간 후 10 mg/kg으로 정맥내 1회 주사된 반면, 리파마이신 유도 전구약물 (0.9% 염수에서 제조)은 감염 전 다양한 시점에 단일 정맥내 볼루스로 하기 표 3에 제시된 바와 같이 주사되었다.

[0721] 감염된 래트를 감염 24시간 후 CO₂ 질식으로 희생시켜, 박테리아 CFU 계수를 모니터링하였다. 감염된 경골을 제거하고, 연조직을 피해 절개하고, 칭량하였다. 뼈를 분쇄하고, 0.9% NaCl 5 mL에 재현탁하고, 연속적으로 희석하고, 정량 배양을 위해 처리하였다. 화합물 50, 68 및 81의 경우, 0.9% NaCl 용액 1 mL를 솟 50 mg에 첨가한 후, 연속 희석하였다. 치료 효과를 로그 생존 박테리아 (뼈 g 당 로그 CFU)를 이용하여 측정하였다. 각 군의 래트에 대해 얻어진 결과를 평균 로그 CFU 및 표준 편차를 계산하여 평가하였다. 검출 한계는 2 로그 CFU였다. 상이한 처치 및 미처치 군의 생존 박테리아 계수의 통계학적 비교는 듀넛 다중 비교 시험(Dunnett's multiple-comparison test)으로 수행하였다. 처치된 감염 동물체와 미처치된 감염 동물체의 비교시 P값이 0.05 미만인 경우 차이가 유의한 것으로 고려되었다. 이용된 투여량, 감염 시간으로부터 처치를 끝낸 시간 및 처치 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

에스. 아우레우스 뼈 감염의 래트 모델에서 예방 처치 후 회수된 박테리아 역가

화합물 번호	투여량 (모약물 등가량 mg/kg)	투여 시간 (감염 ~ 일 전)	측정된 박테리아 역가 (로그 CFU/g 뼈)			
			미처치	양성 대조군	모약물	시험 화합물
모약물: 9						
11	11	3	5.49±1.22	2.36±0.21	6.38±0.90	3.01±0.47
모약물: 리파부틴						
21	12	1	6.32±1.34	2.53±0.39	nd	6.59±0.90
30	23	2	5.53±0.79	2.59±0.56	2.15±0.07	2.49±0.35
36	23	5	6.14±0.73	2.46±0.52	5.75±0.55	2.73±0.86
50	20	3	6.24±0.83	2.56±0.64	4.72±1.84	6.31±0.82
모약물: 56						
62	20	2	4.89±1.04	2.20±0.33	3.61±1.57	1.98±0.06
모약물: 63						
68	20	3	6.14±0.95	2.32±0.33	2.84±0.93	4.86±0.66
모약물: 69						
71	20	3	5.28±0.73	2.06±0.04	4.08±1.53 ^a	2.77±1.00
모약물: 리팔라질						
81	10	3	6.14±0.95	2.32±0.33	2.21±0.34	2.05±0.06

nd: 검출되지 않음

^a: 69 대신 리팔라질 사용

nd: 검출되지 않음

^a: 69 대신 리팔라질 사용

[0722]

[0723]

상기 결과는, 동일한 실험 조건하에서 사용된 모약물의 효능 결여와는 대조적으로 비스포스포산화 리파마이신 유도 전구약물 11, 30, 36, 62, 71 및 81의 통계학상 유의한 (t-시험; $p < 0.05$) 예방 효과를 명확히 나타내었다. 리파부틴은 감염 2일 전에 사용시 효과적인 예방을 제공할 수 있지만 감염 5일 전에는 그렇지 않다는 점이 예외였다. 이들 결과 및 시험관내 재생 데이터는, 이들 비스포스포산화 전구약물이 생체내 골물질을 표적으로 하고 항박테리아 활성을 위해 필요한 농도를 초과하는 농도로 그의 생활성 잔기를 방출할 수 있다는 견해를 강하게 지지한다.

[0724]

절단과 항박테리아 활성 간의 관계는 전구약물 21에 의해 명확히 나타났다. 상기 화합물은 시험관내에서 그의 모약물 리파부틴을 현저히 방출할 수 없고, 생체내 분석 조건하 효능이 결여되었다 (표 3). 전구약물의 화학적 또는 생화학적 불안정성과 예방 활성 간의 명확한 관계는 전구약물의 재생 속도를 변경하여 본 발명의 포스포산화 화합물의 생체내 효과를 조절하는 능력을 증명한다. 이는 또한 생체내 모델에서 목적하는 처치 결과를 제공하기 위해 비-절단 비스포스포산화 접합체에 비해 절단가능한 비스포스포산화 전구약물의 중요성을 지지하는 추가 증거를 제공한다.

[0725]

이들 실험은 골 감염의 저지에서 본 발명의 명확한 이점을 입증한다

[0726]

실시예 5: 에스. 아우레우스에 의해 유발된 만성 골수염의 래트 모델에서 리파마이신 유도체 9, 56, 69, 리파부틴 및 리팔라질과 이들 각각의 비스포스포산화 전구약물 11, 62, 71, 36 및 81의 비교 사용

[0727]

만성 골 감염 치료에서 리파마이신 유도체의 비스포스포산화 전구약물의 능력을 평가하기 위해서, 항균 치료 4 주 동안 만성 (14일 내지 26일) 감염된 래트를 치료하는 데 사용시 모 화합물 9, 56, 69, 리파부틴 및 리팔라질 (이들 모두는 비-비스포스포산화 리파마이신 유도체임)과 그의 상응하는 비스포스포산화 전구약물, 각각 11, 62, 71, 36 및 81을 비교하였다.

[0728]

이 실험에서, 래트를 상기 실시예 4에 기재된 바와 같이 감염시키고, 특정 리파마이신 유도 항박테리아제를 체중 1 kg 당 20 mg 이하 투여로 또는 박테리아 주입 후 제시된 스케줄에 따라 그의 비스포스포산화 전구약물의 몰당량 투여량을 정맥내 투여로 처치하였다. 미처치 및 매일 리팜피신 20 mg/kg의 피하 처치를 포함한 표준 대조군을 또한 포함하였다. 래트를 실험 말렵에 인도적으로 희생시키고, 감염된 경골에서 박테리아 역가를 측정하였다.

[0729]

이 실험은 각각 박테리아 주입 20일, 24일, 28일, 32일, 36일, 40일, 44일 및 47일 후 (q4days) 체중 1 kg 당 피하 투여된 리파마이신 유도체 9 20 mg 또는 정맥내 투여된 그의 전구약물 11 32 mg/kg (9의 20 mg/kg에 상응함)으로 수행되었다. 다르게는, 11을 박테리아 주입 20일, 21일, 22일, 23일, 30일, 37일, 44일 및 47일 후 (q24hx4 + q7d) 동일한 경로 및 동일한 투여량으로 투여하였다. 동일한 대조군 (미처치 또는 매일 리팜피신 20 mg/kg 피하 투여)을 사용하였다. 래트를 감염 개시 48일 후 인도적으로 희생시키고, 감염된 경골에서 박테리아 역가를 측정하였다. 결과를 도 1에 나타내었다.

- [0730] 상기 실험을 또한, 유사하게 감염된 래트를 각각 박테리아 주입 28일, 32일, 36일, 40일, 44일, 48일 및 52일 (q4days) 후 체중 1 kg 당 피하 투여된 리파부틴 20 mg 또는 정맥내 투여된 그의 전구약물 36 33.4 mg/kg (리파부틴의 20 mg/kg에 상응함)으로 처치하여 수행하였다. 동일한 대조군 (미처치 또는 매일 리팜피신 20 mg/kg 피하 투여)을 사용하였다. 래트를 감염 개시 55일 후 인도적으로 희생시키고, 감염된 경골에서 박테리아 역가를 측정하였다. 결과를 도 2에 나타내었다.
- [0731] 상기 실험을 또한, 유사하게 감염된 래트를 각각 박테리아 주입 27일, 28일, 29일, 30일, 34일, 38일, 42일, 46일 및 50일 (q24hx4 + q4days) 후 체중 1 kg 당 피하 투여된 리파마이신 유도 항박테리아제 56 20 mg 또는 정맥내 투여된 그의 전구약물 62 26 mg/kg (56의 20 mg/kg에 상응함)으로 처치하여 수행하였다. 동일한 대조군 (미처치 또는 매일 리팜피신 20 mg/kg 피하 투여)을 사용하였다. 래트를 감염 개시 51일 후 인도적으로 희생시키고, 감염된 경골에서 박테리아 역가를 측정하였다. 결과를 도 3에 나타내었다.
- [0732] 상기 실험을 또한, 유사하게 감염된 래트를 각각 박테리아 주입 18일, 19일, 20일, 21일, 25일, 29일, 33일, 37일, 41일 및 45일 (q24hx4 + q4days) 후 체중 1 kg 당 피하 투여된 리파마이신 유도 항박테리아제 69 20 mg 또는 정맥내 투여된 그의 전구약물 71 28 mg/kg (69의 20 mg/kg에 상응함)으로 처치하여 수행하였다. 동일한 대조군 (미처치 또는 매일 리팜피신 20 mg/kg 피하 투여)을 사용하였다. 래트를 감염 개시 46일 후 인도적으로 희생시키고, 감염된 경골에서 박테리아 역가를 측정하였다. 결과를 도 4에 나타내었다.
- [0733] 상기 실험을 또한, 유사하게 감염된 래트를 각각 박테리아 주입 22일, 23일, 24일, 25일, 29일, 33일, 37일, 41일 및 45일 (q24hx4 + q4days) 후 체중 1 kg 당 피하 투여된 리팔라질 20 mg 또는 정맥내 투여된 그의 전구약물 81 28 mg/kg (리팔라질의 20 mg/kg에 상응함)으로 처치하여 수행하였다. 동일한 대조군 (미처치 또는 매일 리팜피신 20 mg/kg 피하 투여)을 사용하였다. 래트를 감염 개시 46일 후 인도적으로 희생시키고, 감염된 경골에서 박테리아 역가를 측정하였다. 결과를 도 5에 나타내었다.
- [0734] 또한, 감염 후 15일에서 28일까지 체중 1 kg 당 리팜피신, 리파부틴 또는 화합물 9 20 mg을 1일 1회 피하 투여하여 개별 실험을 수행하였다. 래트를 29일째에 인도적으로 희생시키고, 감염된 경골에서 박테리아 역가를 측정하였다. 결과를 도 6에 나타내었다.
- [0735] 리팜피신 또는 리파부틴으로 매일 처치한 결과 박테리아 역가에서 큰 통계학적 유의한 감소 ($p < 0.0001$)가 얻어진 반면, 리파마이신 유도제 9로 매일 처치한 결과는 뼈 내 박테리아 역가에서 이보다 작지만 여전히 통계학적 유의한 감소 (도 6, p -값 0.0022)를 나타내었다. 유도제 9는 4일 마다 사용시 효과가 전혀 없었다 (도 1, p -값 0.7272). 비스포스포산화 전구약물 11은 시험된 2회 투여 요법에 박테리아 역가에서 작은 감소를 입증한 반면 (도 1), 상기 감소는 통계학적 유의하지 않았다 (각각 q4d 및 q24hx4 + q7d 요법에 대한 p -값 0.4107 및 0.2082). 전구약물 36의 경우, 11보다 시험관내 재생 속도는 불량하지만 박테리아 역가에서 1 로그 차수의 감소는 통계학적 유의하였다 (도 2, p -값 0.0036). 한편, 모약물 리파부틴은 4일 간격의 투여에서도 여전히 박테리아 역가에서 우수한 감소를 나타내었다 (3 로그 차수 초과, 도 2). 36의 긍정적인 결과는 그의 뼈에 대한 표적화 뿐만 아니라 리파마이신 유도제 9에 비해 리파부틴의 뼈로부터의 감소된 제거율의 결과임을 추측할 수 있다. 전구약물 62, 71 및 81의 사용과 관련된 박테리아 역가에서 약 1 로그 차수의 감소는 시험된 투여 요법에 효과적이지 않은 미처치 군 뿐만 아니라 모 리파마이신 항박테리아제에 비해 모두 통계학적 유의하였다 (각각 도 3, 4 및 5; p -값 ≤ 0.001).
- [0736] 이는 바람직한 치료 결과를 산출하는 데 있어서 비스포스포네이트 연결기의 역할을 강조하고, 뼈 감염 치료에서 본 발명의 유용성을 입증한다.
- [0737] **실시예 6: 뼈 감염의 예방제 또는 치료제로서 사용시 래트 경골에서 화합물 11 또는 화합물 9의 사용으로부터 얻어지는 화합물 9의 수준 측정**
- [0738] 상기에 기재된 처치 및 감염된 래트의 실험상 얻어진 그대로의 비감염된 (대축성) 경골을 분말로 분쇄하고, PBS + 2% DMSO에 현탁하였다. 상기 혼합물을 13,000 rpm에서 2분 동안 원심분리하였다. 상등액에 방출된 화합물 9의 양을 상술한 바와 같이 미생물 분석으로 측정하였다 (실시예 3).
- [0739] 감염 3일 전 체중 1 kg 당 10 mg을 사용할 때, 화합물 9로 처치된 동물체의 비감염된 경골 내 화합물 9의 양은 정량 한계 미만이었다 ($0.17 \mu\text{g/g}$). 한편, 감염 3일전 체중 1 kg 당 화합물 11 15.5 mg (9의 10 mg/kg에 상응함)으로 처치한 동물체에 대해 뼈 g 당 $0.88 \pm 0.11 \mu\text{g}$ 의 농도가 측정되었다.
- [0740] 감염 후 4주 동안 1주일에 1회 체중 1 kg 당 화합물 11 32 mg을 사용하는 경우, 화합물 9의 수준은 뼈 g 당

1.28 ± 0.18 µg로 측정되었다.

[0741] 상기 데이터는 높은 농도, 즉 상기 생체내 감염을 정립하는 데 사용된 박테리아 균주에 대한 최소 억제 농도 (MIC) 보다 거의 2 차수 높게 측정된 농도의 모약물 9가 화합물 11로 처리된 동물체의 경골에 마지막 처리 1주 후에도 뼈에 존재한다는 것을 나타낸다. 이는 3일조차도 뼈에서 상당한 농도를 지속할 수 없는 9의 직접 사용과 현저한 대조를 이룬다. 이는 비스포스포산화 전구약물을 사용하여 골물질에서 항박테리아제의 투여를 집중시키고, 연장된 기간에 걸쳐 이를 방출시킨다는 개념을 신뢰하게 한다.

[0742] 실시예 7: 뼈 감염의 예방제 또는 치료제로서 사용시 다양한 조직에서 화합물 30 및 36의 사용으로부터 얻어지는 리파부틴의 수준 측정

[0743] 분쇄된 뼈 샘플 및 조직 균질현탁액을 PBS에 현탁하고, 볼텍싱하고, 13,000 rpm에서 2분 동안 원심분리하였다. 상등액을 수집하고, 미생물 분석에 적용하여 상술한 바와 같이 방출된 리파부틴의 수준을 측정하였다 (실시예 3). 하기 표 4에 나타난 수준은 감염 2일 전 체중 1 kg 당 30 33.8 mg의 사용, 감염 5일 전 사용된 36 및 감염 14일 후 4주 동안 사용된 36에 대해 검출된 수준이다.

표 4

다양한 조직에서 리파부틴 또는 전구약물 30 또는 36의 사용 결과 검출된 리파부틴의 수준
(조직 µg/g 또는 혈장의 경우 µg/mL)

조직	리파부틴의 측정 수준 (조직 µg/g 또는 혈장 µg/mL)				
	30 (33.8 mg/kg) 처리 A	리파부틴 (20mg/kg) 처리 B	36 (33.4 mg/kg) 처리 B	리파부틴 (20mg/kg) 처리 C	36 (32 mg/kg) 처리 C
경골	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	0.69 ± 0.14
간	1.23 ± 0.12	<LoD	0.33 ± 0.05	0.08 ± 0.02	0.87 ± 0.23
신장	3.27 ± 1.19	<LoD	0.31 ± 0.18	<LoD	0.42 ± 0.10
비장	<LoD	<LoD	<LoD	1.40 ± 0.40	1.21 ± 0.08
혈장	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD

처리 A: 감염 2일 전 단일 투여; 감염 1일 후 희생. 처리 B: 감염 5일 전 단일 투여; 감염 1일 후 희생.
처리 C: 감염 28일 전에 시작하여 4일 마다 1회 투여 및 52일 전에 종결; 55일 전에 희생.
<LoD: 검출 한계 미만.

[0744]

[0745] 놀랍게도, 경골 내 수준이 매우 낮거나 검출 한계 미만이었지만, 재생된 리파부틴의 상당량이 간 및 신장에서 발견되었다. 이는 혈액 내 칼슘 이온의 존재로 인한 침전물의 발생 결과이다. 침전물은 사구체 여과의 결과로서 신장에서 또는 간에서 축적될 것이다. 이들 기관에서 전구약물의 절단 속도가 높아, 보다 높은 측정가능한 역가를 얻을 수 있다.

[0746] 실시예 8: 투여 후 뼈 내 전구약물 11, 36 및 62의 수준 측정

[0747] 경골, 대퇴골 및 하악골 내 전구약물 11의 수준 측정

[0748] 화합물 11로 처리된 래트의 뼈 내에서 발견되는 전구약물 11의 수준을 측정하기 위해서, 분석 대상물 측정용 질량 분석기와 결합된 액체 크로마토그래피 (LC/MS)를 사용하여 분석 방법을 수행하였다. 전체 실험으로 얻어진 뼈 (경골, 대퇴골 또는 하악골)를 분쇄하고, 재생된 9를 포스페이트 완충액 (25 mM, pH 7; 분쇄된 뼈 50 mg에 대해 1 mL)으로 추출하였다. 상기 혼합물을 10분 동안 볼텍싱하고, 10,000 g에서 10분 동안 원심분리하였다. 얻어진 펠렛을 건조하고, 칭량하고, 화합물 11의 검출을 위해 유지하였다.

[0749] 뼈 내 비스포스포산화 전구약물 11의 수준을 측정하기 위해, 표준물, 대조물 및 공시험물(blank)을 다음과 같이 제조하였다 (2벌). 건조된 블랭크 골분 칭량물 (약 20 mg)에 아세토니트릴에서 제조된 11의 스팅킹 용액 (10 µL) 및 완충액 (0.1 M 트리스-HCl, pH 7, 0.15 M NaCl) 990 µL를 첨가하였다. 상기 혼합물을 30분 동안 (실온) 볼텍싱하고, 15분 동안 10,000 g에서 (실온) 원심분리하고, 상등액을 폐기하고, 절단 절차를 위해 펠렛을 유지하였다. 표준물의 범위 (6 수준)는 0.1 내지 20 µM (0.1 내지 20 nmol)이고, 대조물 수준은 0.25 및 8.5 µM (0.25 및 8.5 nmol)이었다.

[0750] 각각의 표준물, 대조물, 공시험물 및 실험 샘플 (상기에서 얻어진 펠렛으로부터 약 20 mg)에 pH 9로 조정된 아스코르브산 (1 mg/mL)을 함유하는 100 mM 포스페이트 완충액 500 µL를 첨가하였다. 50 °C에서 4시간 동안 인큐베이션하여 전구약물 11을 약물 9로 절단하였다. 이 기간의 말림에, 10% 포름산 (20 µL) 용액을 이용하여 상기 용액의 pH를 중성이 되게 하고, 내부 표준물 (리파시민)을 첨가하였다. 10,000 g (실온)에서 10분 동안 원

심분리한 후, 상등액 20 μ l를 상기 LC/MS에 주입하였다.

- [0751] 상기 처리로부터 얻어진 화합물 9의 양을 아질런트(Agilent) 1100 (상표명) 시리즈 LC/MSD 트랩 상에서 동일한 방법으로 분석하였다. (A) 물 중 0.01% 포름산 및 (B) 아세트니트릴:메탄올 (50:50) 중 0.01% 포름산을 사용하여, 5분에 걸쳐 (A) 중 55 내지 100% (B) 이어서 1분 동안 100% (B)를 유지하는 농도구배로 0.4 mL/분의 유속에서 상등액을 이너트실(Inertsil) ODS-3 (상표명) 칼럼 (4.6 x 50 mm, 3 μ)에 주입하였다. MS를 다음과 같이 설정하였다: ESI 프로브, 양극성, 네블라이저 45 psi, 건조 기체 온도 350 $^{\circ}$ C, 건조 기체 유속 10 L/분, 모세관 출구 120V (2.5 내지 6분) 또는 140V (6 내지 12분) 및 스키머 30V. 수행 시간은 최초 2.5분간 폐기 설정된 방향전환 밸브를 사용하여 12분이었다. 화합물 9는 SRM 방식에서 m/z 853.3 $\rightarrow$ 821.1로 분석되었고, 내부 표준물 (리파시민)은 m/z 786.2 $\rightarrow$ 754.2로 분석되었다.
- [0752] 체중 1 kg 당 11 32 mg을 단일 정맥내 볼루스 투여한 후 이들 측정 결과를 도 7에 나타내었다.
- [0753] 경골 내 전구약물 36의 수준 측정
- [0754] 화합물 36으로 처리된 래트의 경골에서 발견되는 전구약물 36의 수준을 측정하기 위해서, 분석 대상물 측정용 질량 분석기와 결합된 액체 크로마토그래피 (LC/MS)를 사용하여 분석 방법을 수행하였다. 전체 실험용 얻어진 경골을 분쇄하고, 재생된 리파부틴을 아세트니트릴 1 mL와 함께 분말 50 mg으로부터 추출하였다. 상기 혼합물을 15분 동안 볼텍싱하고, 10,000 g (실온)에서 10분 동안 원심분리하였다.
- [0755] 실험용 뼈의 펠렛을 건조하고, 칭량하고, 전구약물의 측정을 위해 유지하였다. 뼈 내 전구약물의 투여를 위해, 표준물, Qc 및 공시험물을 다음과 같이 제조하였다 (2벌). 건조된 블랭크 골분 칭량물 (약 20 mg)에 물에서 제조된 전구약물의 스파이킹 용액 (10 μ l) 및 완충액 (0.1 M 트리스-HCl, pH 7, 0.15 M NaCl) 990 μ l를 첨가하였다. 상기 혼합물을 30분 동안 (실온) 볼텍싱하고, 10분 동안 10,000 g에서 (실온) 원심분리하고, 상등액을 폐기하고, 절단 절차를 위해 펠렛을 유지하였다. 표준물의 범위 (6 수준)는 0.05 내지 10 μ M (0.05 내지 10 nmol)이고, Qc 수준은 0.075, 0.75 및 7.5 μ M (0.075, 0.75 및 7.5 nmol)이었다.
- [0756] 각각의 표준물, Qc, 공시험물 및 실험 샘플 (실험상 얻어진 건조 뼈로부터 약 20 mg) 뼈 펠렛에 pH 9로 조정된 인산나트륨 완충액 100 mM 500 μ l를 첨가하였다. 70 $^{\circ}$ C에서 1시간씩 인큐베이션을 5회 수행하여 전구약물을 약물 (리파부틴)로 절단하였다. 각 1시간의 말림에, 10% 포름산 (15 μ l)의 용액을 이용하여 상등액의 pH가 중성이 되게 하고, 상기 혼합물을 볼텍싱하고, 원심분리하였다 (10,000 g에서 10분, 실온). 상등액을 4 $^{\circ}$ C에서 유지하고, 펠렛을 포스페이트 완충액 (500 μ l)에 재현탁하고, 추가의 1시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 순서의 말림에, 내부 표준물 (화합물 56)을 상기 혼합된 상등액에 첨가하고, 용리액으로서 아세트니트릴을 사용하여 약물 (리파부틴) 및 내부 표준물을 스트라타(Strata)-X (30 mg/1 ml) 상에서 SPE로 추출하였다. 용리액을 증발 건조시키고, 건조된 잔여물을 이동상에서 재구성하였다 (500 μ l). 20분 동안 볼텍싱한 후, 상등액 (10 μ l)을 상기 LC/MS에 주입하였다.
- [0757] 상기 처리로부터 얻어진 리파부틴의 양을 아질런트 1100 시리즈 LC/MSD 트랩 상에서 측정하였다. (A) 물 중 0.01% 포름산 및 (B) 아세트니트릴:메탄올 (50:50) 중 0.01% 포름산을 사용하여, 5분에 걸쳐 (A) 중 45 내지 65% (B) 및 이어서 1분에 걸쳐 65 내지 95% (B) 및 추가의 분 동안 95% (B)를 유지하는 농도구배로 0.4 mL/분의 유속에서 상등액을 이너트실 ODS-3 칼럼 (4.6 x 50 mm, 3 μ)에 주입하였다.
- [0758] MS를 다음과 같이 설정하였다: ESI 프로브, 양극성, 네블라이저 45 psi, 건조 기체 온도 350 $^{\circ}$ C, 건조 기체 유속 10 L/분, 모세관 출구 110V 및 스키머 34.5V. 수행 시간은 최초 3분간 폐기 설정된 방향전환 밸브를 사용하여 13분이었다. 리파부틴은 SRM 방식에서 m/z 847.3 $\rightarrow$ 815.4로 분석되었고, 내부 표준물 (화합물 56)은 m/z 929.3.3 $\rightarrow$ 987.4로 분석되었다.
- [0759] 체중 1 kg 당 36 15.5 mg을 단일 정맥내 볼루스 투여한 후 이들 측정 결과를 도 8에 나타내었다.
- [0760] 경골 내 전구약물 62의 수준의 측정
- [0761] 화합물 62로 처리된 래트의 경골에서 발견되는 전구약물 62의 수준을 측정하기 위해서, 분석 대상물 측정용 질량 분석기와 결합된 액체 크로마토그래피 (LC/MS)를 사용하여 분석 방법을 수행하였다. 전체 실험용 뼈를 분말로 분쇄하고, 재생된 56을 메탄올 1 mL에 상기 분말 50 mg을 현탁하여 추출하였다. 상기 혼합물을 15분 동안 볼텍싱하고, 10,000 g에서 10분 동안 원심분리하였다. 얻어진 펠렛을 건조하고, 칭량하고 전구약물의 측정을 위해 사용하였다.
- [0762] 투여를 위해, 표준물, Qc 및 공시험물을 다음과 같이 제조하였다 (2벌). 건조된 블랭크 골분 칭량물 (약 20

mg)에 물:메탄올 (50:50)에서 제조된 62의 스파이킹 용액 (10 μl) 및 완충액 (0.1 M 트리스-HCl, pH 7, 0.15 M NaCl) 990 μl 를 첨가하였다. 상기 혼합물을 10분 동안 (실온) 볼텍싱하고, 15분 동안 10,000 g에서 (실온) 원심분리하고, 상등액을 폐기하고, 절단 절차를 위해 펠렛을 유지하였다. 표준물의 범위 (6 수준)는 0.05 내지 10 μM (0.05 내지 10 nmol)이고, Qc 수준은 0.075, 0.75 및 7.5 μM (0.075, 0.75 및 7.5 nmol)이었다.

[0763] 각각의 표준물, Qc, 공시험물 및 실험 샘플 (건조 펠렛으로부터 칭량된 약 20 mg) 뼈 펠렛에 pH 10으로 조정된 인산나트륨 완충액 100 mM 500 μl 를 첨가하였다. 70 °C에서 1시간씩 인큐베이션을 10회 수행하여 전구약물을 약물 (56)로 절단하였다. 각 1시간의 말렵에, 10% 포름산 (20 μl)의 용액을 이용하여 상등액의 pH가 중성이 되게 하고, 상기 혼합물을 볼텍싱하고, 원심분리하였다 (10,000 g에서 10분, 실온). 상등액을 4 °C에서 유지하고, 펠렛을 포스페이트 완충액 (500 μl)에 재현탁하고, 추가의 1시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 순서의 말렵에, 내부 표준물 (리파부틴)을 상기 혼합된 상등액에 첨가하고, 추출을 위해 적합한 스트라타X (상표명) 카트리지 (30 mg/1 mL) 상에 적재하였다 (SPE). 물 (1 mL) 중 1% 포름산 및 100% 물 (1 mL)로 세척한 후, 화합물 56 및 내부 표준물을 아세토니트릴 1 mL로 용리하였다. 용리액을 증발 건조시키고, 건조된 잔여물을 이동상에서 재구성하였다 (500 μl). 15분 동안 볼텍싱한 후, 상등액 (20 μl)을 상기 LC/MS에 주입하였다.

[0764] 상기 처리로부터 얻어진 화합물 56의 양을 아질런트 1100 시리즈 LC/MSD 트랩 상에서 분석하였다. (A) 물 중 0.01% 포름산 및 (B) 아세토니트릴:메탄올 (50:50) 중 0.01% 포름산을 사용하여, 5분에 걸쳐 (A) 중 45 내지 65% (B) 및 이어서 1분에 걸쳐 65 내지 95% (B) 및 추가의 분 동안 95% (B)를 유지하는 농도구배로 0.4 mL/분의 유속에서 샘플 용액을 이너트실 ODS-3 칼럼 (4.6 x 50 mm, 3 μm)에 주입하였다.

[0765] MS를 다음과 같이 설정하였다: ESI 프로브, 양극성, 네블라이저 45 psi, 건조 기체 온도 350 °C, 건조 기체 유속 10 L/분, 모세관 출구 110V 및 스키머 34.5V. 수행 시간은 최초 3분간 폐기 설정된 방향전환 밸브를 사용하여 13분이었다. 화합물 56은 SRM 방식에서 m/z 929.3 → 897.2로 분석되었고, 내부 표준물 (리파부틴)은 m/z 847.3 → 815.3으로 분석되었다.

[0766] 체중 1 kg 당 62 26 mg을 단일 정맥내 볼루스 투여한 후 이들 측정 결과를 도 9에 나타내었다.

[0767] 이들 측정은, 비스포스포산화 리파마이신이 뼈에 농축될 수 있고, 감염의 잠재적 위치에서 그의 모약물을 방출하는 여러 날 동안 존재할 수 있다는 생체내 추가 증거를 제공한다. 이는 이러한 리파마이신 제제를 뼈에 전달하는 비스포스포네이트 연결기의 역할을 확인시켜주며, 추가로 뼈 감염의 저지 및 치료에 대한 본 발명의 사용을 지지한다.

[0768] 본원에 기재된 실시예 및 실시양태는 설명만을 목적으로 하며, 이러한 관점에서 다양한 변형 또는 변경이 당업자에게 제안될 것이며, 이는 본원의 취지와 범위 및 하기에 첨부된 특허청구범위의 범주에 포함된다는 것을 알아야 한다.

[0769] 서적, 저널 기사, 편집, 특허 출원, 공보 및 특허를 포함한, 본원에서 언급된 모든 문헌, 문서 및 공개된 자료는 인용을 통해 명백히 본원에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0166] 도 1은 감염 후 4주 동안 4일 마다, 또는 4일 연속 및 이어서 매주 사용할 때 뼈 감염에서 박테리아 역가에 대한 리파마이신 유도체 9 20 mg/kg 및 그의 모 비스포스포산화 전구약물 11 32 mg/kg의 적지만 통계학상 유의하지 않은 효과 (미처치군과 비교)의 시험을 나타내는 막대 그래프이다.

[0167] 도 2는 감염 후 4주 동안 4일 마다 사용할 때 뼈 감염에서 박테리아 역가에 대한 리파부틴 20 mg/kg 및 그의 모 비스포스포산화 전구약물 36 33.4 mg/kg의 적지만 통계학상 유의한 효과 (미처치군과 비교)의 시험을 나타내는 막대 그래프이다.

[0168] 도 3은 감염 후 4주 동안 4일 연속 및 이어서 4일 마다 사용할 때 뼈 감염에서 박테리아 역가에 대한 벤족사지노리파마이신 56 20 mg/kg 및 그의 모 비스포스포산화 전구약물 62 26 mg/kg의 적지만 통계학상 유의한 효과 (미처치군 및 벤족사지노리파마이신 56 모두와 비교)의 시험을 나타내는 막대 그래프이다.

[0169] 도 4는 감염 후 4주 동안 4일 연속 및 이어서 4일 마다 사용할 때 뼈 감염에서 박테리아 역가에 대한 벤족사지노리파마이신 69 20 mg/kg 및 그의 모 비스포스포산화 전구약물 71 28 mg/kg의 적지만 통계학상 유의한 효과 (미처치군 및 벤족사지노리파마이신 69 모두와 비교)의 시험을 나타내는 막대 그래프이다.

[0170] 도 5는 감염 후 4주 동안 4일 연속 및 이어서 4일 마다 사용할 때 뼈 감염에서 박테리아 역가에 대한 리팔라질

20 mg/kg 및 그의 모 비스포스포산화 전구약물 81 27.6 mg/kg의 적지만 통계학상 유의한 효과 (미처치군 및 리팔라질 모두와 비교)의 시험을 나타내는 막대 그래프이다.

[0171] 도 6은 감염 후 4주 동안 매일 사용할 때 뼈 감염에서 박테리아 역가에 대한 리팜피신, 리파부틴 및 리파마이신 유도체 9 20 mg/kg의 효과를 나타내는 막대 그래프이다.

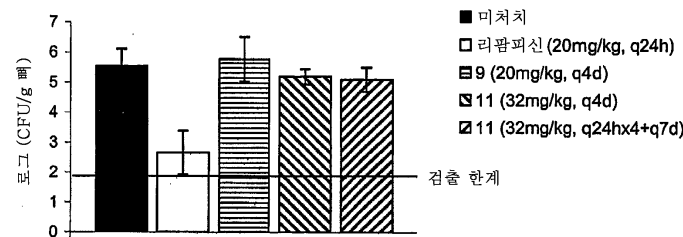
[0172] 도 7은 32 mg/Kg의 IV 볼루스 주사 1시간 내지 14일 후, 래트 경골, 대퇴골 및 하악골 내 화합물 11의 농도를 나타내는 선 그래프이다.

[0173] 도 8은 15.5 mg/Kg의 IV 볼루스 주사 30분 내지 14일 후, 래트 경골 내 화합물 36의 농도를 나타내는 선 그래프이다.

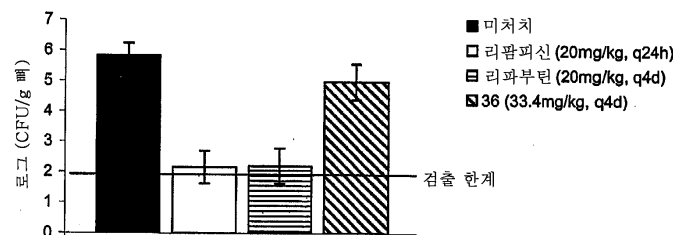
[0174] 도 9는 26 mg/Kg의 IV 볼루스 주사 1일 내지 7일 후, 래트 경골 내 화합물 62의 농도를 나타내는 선 그래프이다.

도면

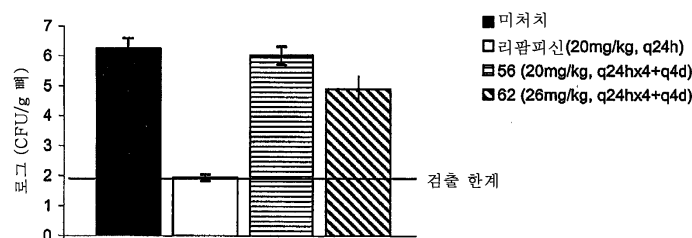
도면1



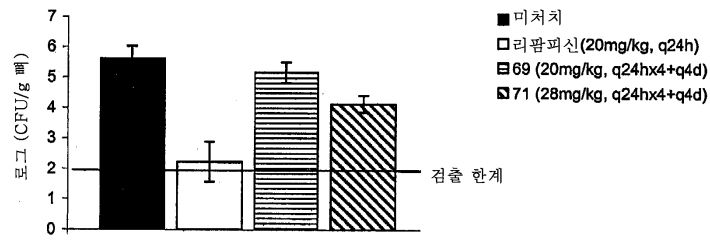
도면2



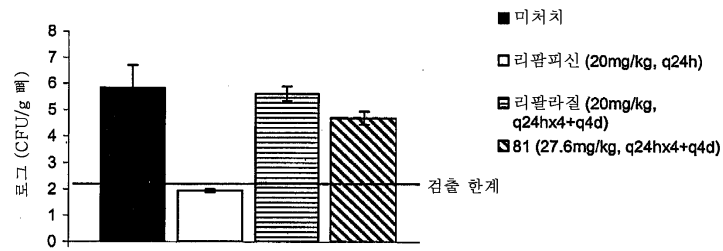
도면3



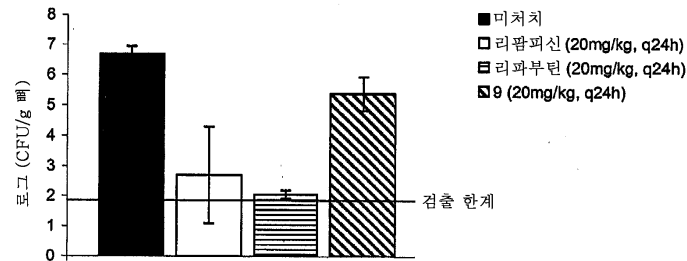
도면4



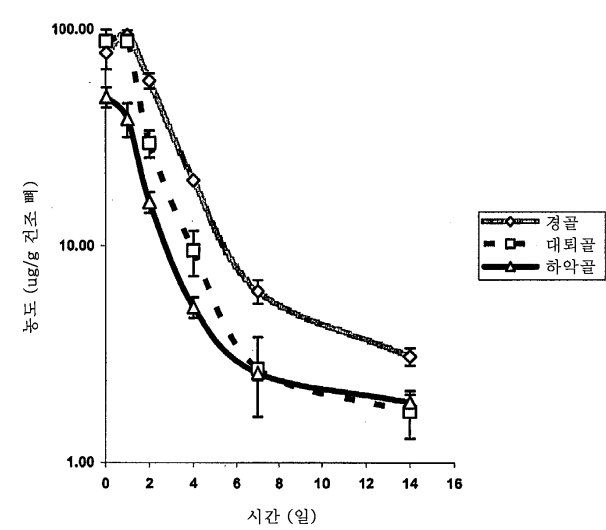
도면5



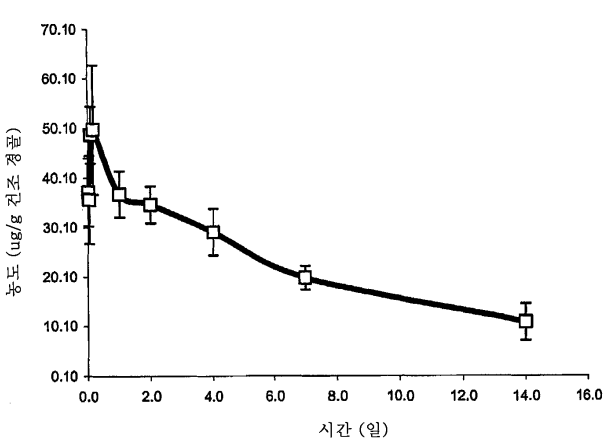
도면6



도면7



도면8



도면9

