

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2018년 5월 3일 (03.05.2018)



(10) 국제공개번호
WO 2018/080072 A2

(51) 국제특허분류:
C07H 17/08 (2006.01) *C12N 1/20* (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2017/011396

(22) 국제출원일: 2017년 10월 16일 (16.10.2017)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2016-0140898 2016년 10월 27일 (27.10.2016) KR
10-2017-0128509 2017년 10월 2일 (02.10.2017) KR

(71) 출원인: 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR).

(72) 발명자: 안종석 (AHN, Jong Seog); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 장재혁 (JANG, Jae-Hyuk);

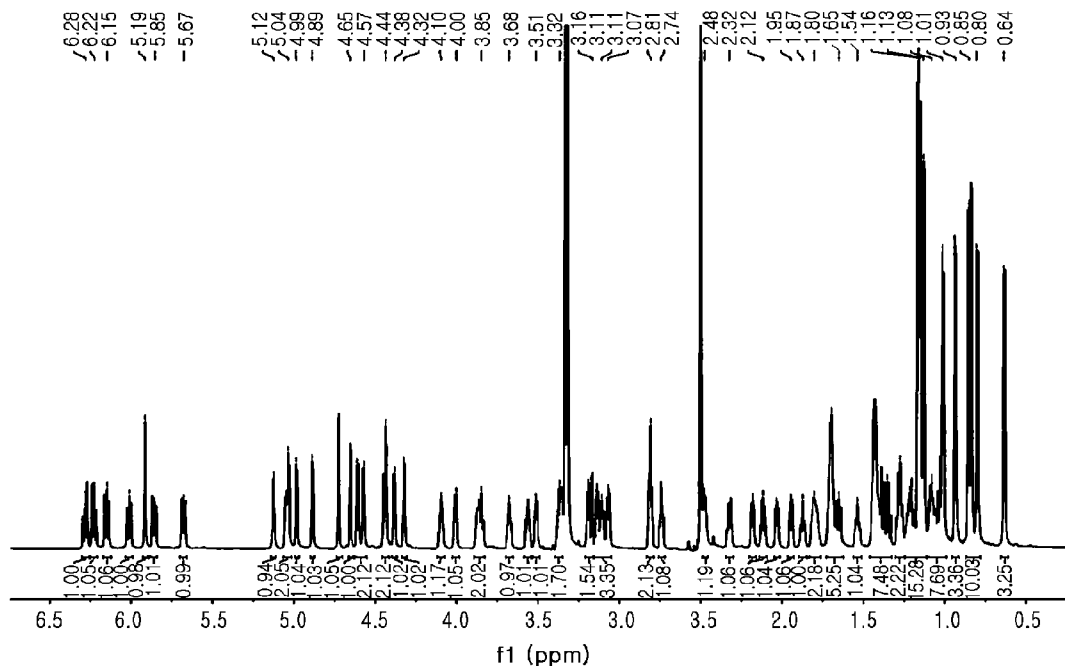
34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 고성균 (KO, Sung-Kyun); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 류인자 (RYOO, In Ja); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 손상근 (SON, Sang Keun); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 김보연 (KIM, Bo Yeon); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 성낙균 (SOUNG, Nak Kyun); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 이경호 (LEE, Kyung Ho); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 홍영수 (HONG, Young-Soo); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR).

(74) 대리인: 안소영 (AHN, So Young); 06632 서울시 서초구 서초대로 344, 4층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ,

(54) Title: NOVEL MACROLIDE-BASED COMPOUND, METHOD FOR PRODUCING SAME, AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING MALARIA AND CONTAINING SAME AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭: 신규한 매크로라이드계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a novel macrolide-based compound, a method for producing the same, and a pharmaceutical composition, which is for preventing or treating malaria and contains the novel macrolide-based compound as an active ingredient. The macrolide-based compound represented by chemical formula 1 according to the present invention effectively exhibits an antiprotozoal activity against *Plasmodium sp.* protozoan, and thus can be usefully used to prevent or treat malaria.

[다음 쪽 계속]

LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도로 공개함 (규칙 48.2(g))
- 명세서와 별도로 규칙 13의2에 의하여 제출한 기탁된 생물학적 물질에 관한 표시와 함께 (규칙 13의2.4(d)(i) 및 48.2(a)(viii))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(57) 요약서: 본 발명은 신규한 매크로라이드계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물은 플라스모듐 속(*Plasmodium sp.*) 원충에 대하여 항원충 활성을 효과적으로 나타내어 말라리아의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.

명세서

발명의 명칭: 신규한 매크로라이드계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 신규한 매크로라이드계 화합물, 이의 제조방법 및, 이를 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 말라리아는 열대나 아열대 지방에 집중적으로 발생하는 심각한 감염 질환으로서 암컷 얼룩날개모기류가 옮기는 말라리아 원충에 의해 발생한다. 전 세계적으로 연간 1백만 명 이상이 말라리아에 의해 사망하는 것으로 추정되며 최근에는 특정 지역에 국한되지 않고 말라리아 환자가 증가하는 추세를 보이고 있다.
- [3] 사람의 말라리아는 네 종의 원충, 즉, 열대열 원충(*Plasmodium falciparum*), 3일열 원충(*Plasmodium vivax*), 난형열 원충(*Plasmodium ovale*), 4일열 원충(*Plasmodium malariae*)에 의해 발생하는데 열대열 원충과 3일열 원충이 대부분의 말라리아 감염을 일으키며, 그 중 열대열 원충이 가장 심각한 말라리아 감염증상을 나타낸다.
- [4] 말라리아 원충은 모기의 중간숙주를 통해 사람에게 병을 일으키며 암컷 모기의 장내에서 포자소체로 발생한 말라리아 병원충은 인간이 모기에 물릴때, 혈류를 통해 간으로 침입하여 간세포 내에서 분열생식을 통해 무성적으로 증식한다. 분열체의 성숙에 따라 간세포가 파열될 시, 분열소체는 혈류에 진입하여 반복적으로 새로운 적혈구를 파열시키는데 이에 따라 체내의 발열, 발한, 빈혈, 오한과 같은 감염증상을 일으켜 심각할 경우 사망에 이르게 한다. 말라리아를 치료하기 위하여 현재까지 다양한 화학물질을 지닌 의약품이 개발되었으며 대표적으로 약용식물로부터 분리된 퀴닌과 아르테미신 계열 화합물이 존재한다. 또한, 특허문헌 1에서는 항말라리아제로서 유용한 1,2,4-트리옥산 유사체에 대하여 개시하고 있다.
- [5] 전 세계적으로 아르테미시닌 기반 병합치료(Artemisinin-based combination therapies, ACTs)가 주로 이용되고 있으나 20세기 중반의 항말라리아제 남용에 따라 아르테미시닌 및 병합약물에 대한 저항성을 지닌 환자가 지속적으로 증가하면서 기존 약물과는 다른 새로운 치료제의 개발이 시급한 상황이다.
- [6] 천연물, 특히 미생물 유래 이차대사산물은 구조적 다양성을 바탕으로 다양한 질병의 치료제 개발에 있어 중요한 자원으로 이용되어 왔다. 더욱이 미생물이 생산 가능한 물질군의 다양성이 실제 발굴된 것에 비해 매우 크다는 것이 최근에

[18] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물,

이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항원충용 약학적 조성물 및 이를 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 원충 감염증의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[19] 본 발명의 다른 목적은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 이를 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 말라리아의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

[20] 본 발명의 또 다른 목적은 원충 감염증 또는 말라리아의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공하는 것이다.

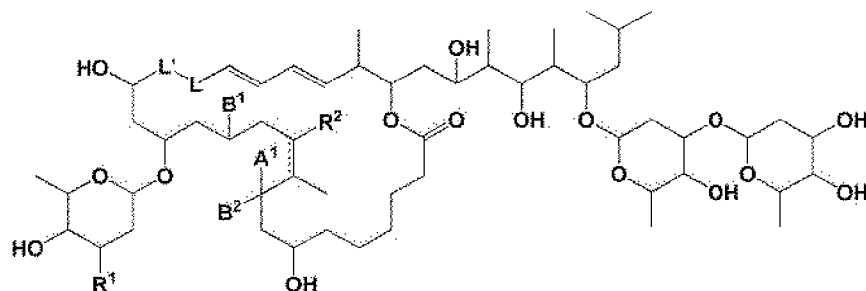
[21] 본 발명의 또 다른 목적은 수탁번호 KCTC13074BP로 기탁된, 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물을 생산하는 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주를 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

[22] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[23] [화학식 1]

[24]



[25] (상기 화학식 1에서,

[26] ----- 는 단일결합 또는 이중결합이고;

[27] R^1 및 R^2 는 독립적으로 -H, -OH, 할로젠, -CN, -NO₂, C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 또는 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시이고;

[28] A^1 은 부재 또는 -OH이되,

[29] A^1 이 부재일 경우, B^1 은 -OH, B^2 는 =O이고,

[30] A^1 이 -OH일 경우, B^1 및 B^2 는 서로 연결되어 ----- 를 형성하고; 및



[31] 또한, 본 발명은 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주를

- 배양하여 균주 배양물을 얻는 단계(단계 1); 및
- [32] 상기 단계 1에서 얻어진 균주 배양물에서 매크로라이드계 화합물을 분리하는 단계(단계 2);를 포함하는, 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물의 제조방법을 제공한다.
- [33] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항원충용 약학적 조성물을 제공한다.
- [34] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 원충 감염증의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [35] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [36] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 말라리아의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [37] 또한, 본 발명은 원충 감염증 또는 말라리아의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.
- [38] 나아가, 본 발명은 수탁번호 KCTC13074BP로 기탁된, 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물을 생산하는 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주를 제공한다.

발명의 효과

- [39] 본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물은 플라스모듐 속(*Plasmodium* sp.) 원충에 대하여 항원충 활성을 효과적으로 나타내어 말라리아의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [40] 도 1은 본 발명에서 분리한 실시예 1의 ^1H NMR 스펙트럼(900 MHz, DMSO- d_6)을 나타내는 이미지이다.
- [41] 도 2는 본 발명에서 분리한 실시예 1의 ^{13}C NMR 스펙트럼(225 MHz, DMSO- d_6)을 나타내는 이미지이다.
- [42] 도 3은 본 발명에서 분리한 실시예 2의 ^1H NMR 스펙트럼(900 MHz, DMSO- d_6)을 나타내는 이미지이다.
- [43] 도 4는 본 발명에서 분리한 실시예 2의 ^{13}C NMR 스펙트럼(225 MHz, DMSO- d_6)을 나타내는 이미지이다.
- [44] 도 5는 본 발명에서 분리한 실시예 3의 ^1H NMR 스펙트럼(800 MHz, DMSO- d_6)을 나타내는 이미지이다.

[45] 도 6는 본 발명에서 분리한 실시예 3의 ^{13}C NMR 스펙트럼(200 MHz, DMSO-d_6)을 나타내는 이미지이다.

[46] 도 7은 본 발명에서 분리한 실시예 4의 ^1H NMR 스펙트럼(900 MHz, DMSO-d_6)을 나타내는 이미지이다.

[47] 도 8는 본 발명에서 분리한 실시예 4의 ^{13}C NMR 스펙트럼(225 MHz, DMSO-d_6)을 나타내는 이미지이다.

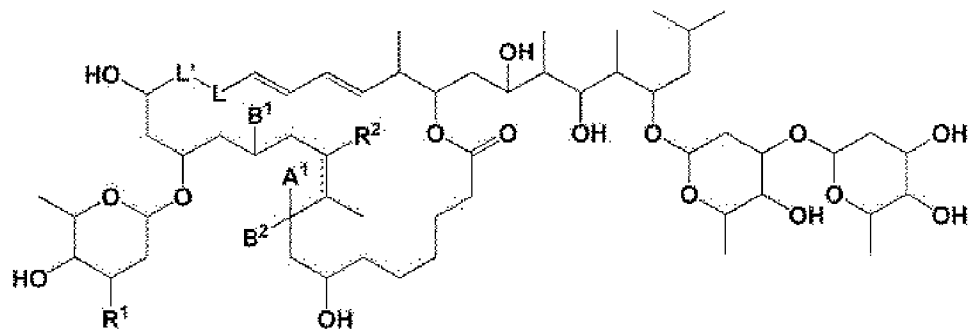
발명의 실시를 위한 형태

[48] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[49] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[50] [화학식 1]

[51]



[52] (상기 화학식 1에서,

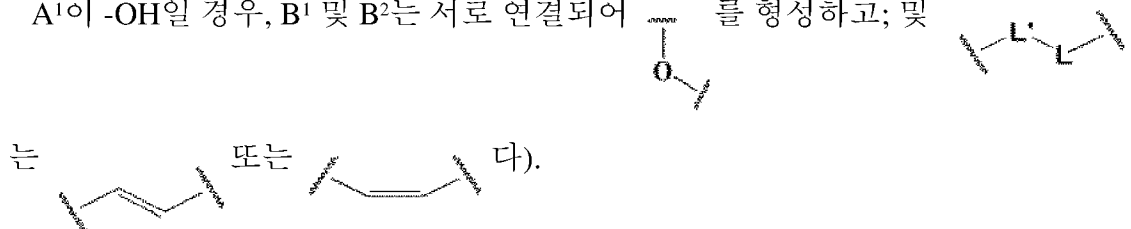
[53] ----- 는 단일결합 또는 이중결합이고;

[54] R^1 및 R^2 는 독립적으로 -H, -OH, 할로젠, -CN, -NO₂, C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 또는 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시이고;

[55] A^1 은 부재 또는 -OH이되,

[56] A^1 이 부재일 경우, B^1 은 -OH, B^2 는 =O이고,

[57] A^1 이 -OH일 경우, B^1 및 B^2 는 서로 연결되어 $\text{O}^{\text{---}}$ 를 형성하고; 및



[58] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 있어서 바람직하게는,

[59] ----- 는 단일결합 또는 이중결합이고;

[60] R^1 및 R^2 는 독립적으로 -H, -OH, 할로젠, C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 또는 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시이고;

[61] A^1 은 부재 또는 -OH이되,

[62] A^1 이 부재일 경우, B^1 은 -OH, B^2 는 =O이고,

[63]

를 형성하고; 및 ---L'---L'--- 는 ---CH=CH--- 또는 $\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---}$ 다).

[64] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 있어서 더욱 바람직하게는,

[65] --- 는 단일결합 또는 이중결합이고;

[66] R^1 은 -OH 또는 -OMe이고;

[67] R^2 은 -H 또는 -OH이고;

[68] A^1 은 부재 또는 -OH이되,

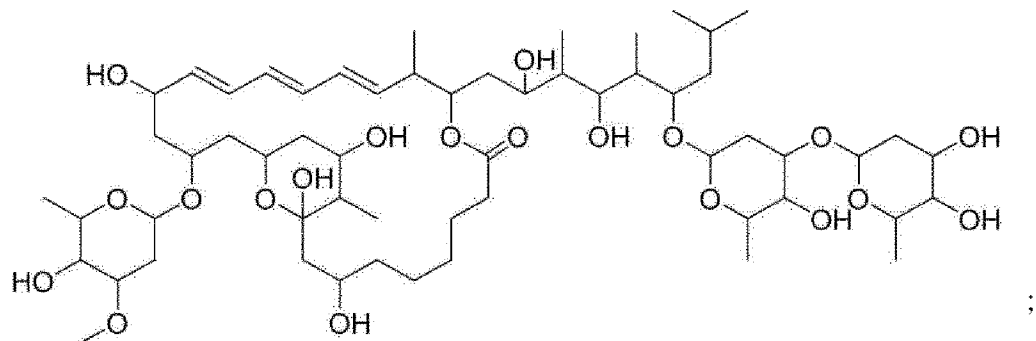
[69] A^1 이 부재일 경우, B^1 은 -OH, B^2 은 =O이고,

[70] A^1 이 -OH일 경우, B^1 및 B^2 는 서로 연결되어 ---O--- 를 형성하고; 및 ---L'---L'--- 는

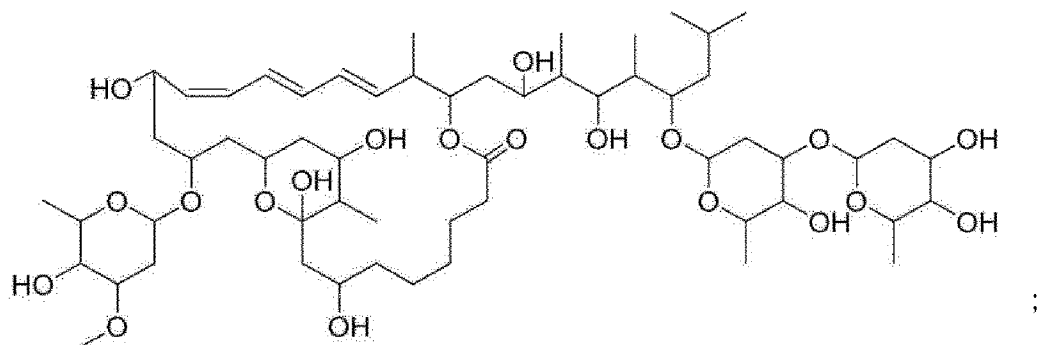
---CH=CH--- 또는 $\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---}$ 이다.

[71] 가장 바람직하게, 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물은 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

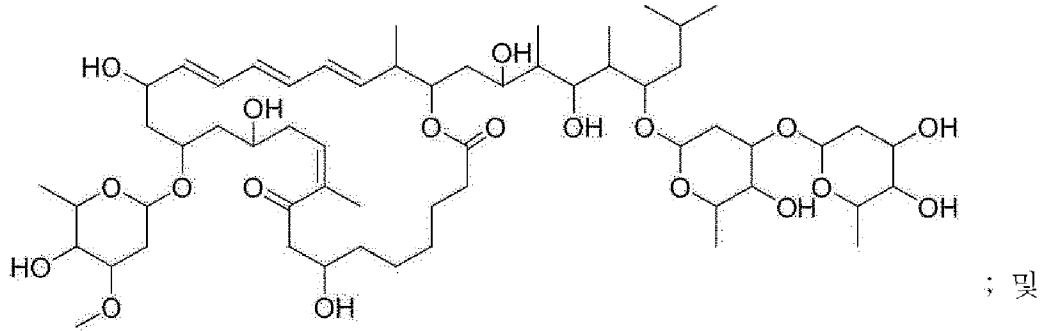
[72]



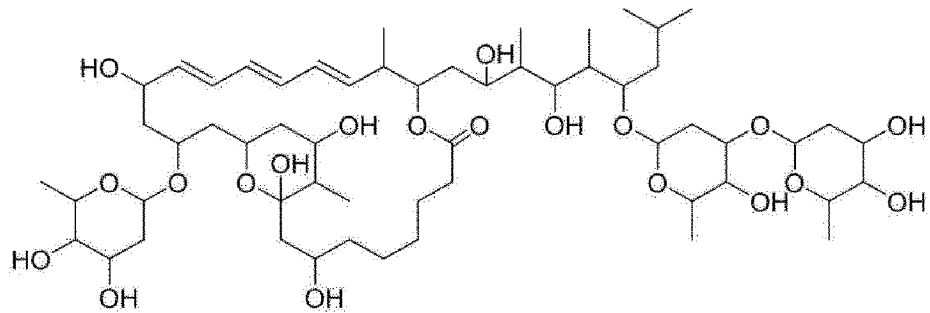
[73]



[74]



[75]



[76] 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류 등과 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로젠 포스페이트, 다이하이드로젠 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부탄-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β -하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트,

나프탈렌-2-설포네이트, 만텔레이트 등을 포함한다.

- [77] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 유도체를 메탄올, 에탄올, 아세톤, 디클로로메탄, 아세토니트릴 등과 같은 유기용매에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조시켜 제조하거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조시켜 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.
- [78] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물 염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.
- [79] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 용매화물, 입체 이성질체, 수화물 등을 모두 포함한다.
- [80] 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물은 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주로부터 분리된 것이 바람직하지만 이에 제한되지는 않는다.
- [81] 나아가, 본 발명은 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주를 배양하여 균주 배양물을 얻는 단계(단계 1); 및
- [82] 상기 단계 1에서 얻어진 균주 배양물에서 매크로라이드계 화합물을 분리하는 단계(단계 2);를 포함하는, 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물의 제조방법을 제공한다.
- [83] 이하, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물의 제조방법을 단계별로 상세히 설명한다.
- [84] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 1은 방선균인 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주를 배양하여 균주 배양물을 얻는 단계이다.
- [85] 이때, 균주 배양은 통상의 미생물이 사용할 수 있는 영양원을 함유하는 배지에서 배양한다. 영양원으로는 종래 방선균의 배양에 이용되고 있는 공지의 영양원을 사용한다. 예를 들어, 탄소원으로는 글루코오스, 물엿, 덱스트린, 전분, 당밀, 동물유, 식물유 등을 사용할 수 있으며, 질소원으로는 밀기울, 대두박, 소맥, 맥아, 면실박, 어박, 콘스톱리커, 육즙, 효모 추출물, 황산암모늄, 질산소다, 요소 등을 사용할 수 있다. 필요에 따라, 식염, 칼륨, 마그네슘, 코발트, 염소, 인산, 황산 및 기타 이온생성을 촉진하는 무기염류를 첨가하면 매우 효과적이다. 배양방법으로는 호기적 조건에서는 진탕 배양 혹은 정치배양이 가능하다.
- [86] 배양온도는 상기의 각 조건들에서 배양할 경우 조건에 따라 약간씩 상이하기는 하나, 보통 20 내지 37°C에서 배양하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 25

내지 30°C에서 배양한다.

- [87] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물의 제조방법에 있어서, 상기 단계 2는 상기 단계 1에서 얻어진 균주 배양물에서 매크로라이드계 화합물을 분리하는 단계이다.
- [88] 보다 구체적으로 상기 단계 2는, 상기 단계 1에서 얻어진 균주 배양물을 에틸아세테이트로 추출하는 단계이며, 매크로라이드계 화합물들은 균주의 배양액뿐만 아니라 균체 부분에도 존재한다. 따라서, 균주의 배양액 및 균체에 에틸아세테이트 등의 유기 용매를 가하여 배양액 및 균체로부터 유효성분을 추출한 후 수득된 추출액을 감압증발 방법으로 농축할 수 있다.
- [89] 상기 추출하는 단계를 수행한 후, 화합물을 분리하는 단계가 요구되는데, 구체적으로 상기 단계 2에서 얻은 에틸아세테이트 농축액을 메탄올:물 혼합용매를 이용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피를 실시한 후, 고속액체크로마토그래피로 정제하여 매크로라이드계 화합물을 분리할 수 있다.
- [90] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항원충용 약학적 조성물을 제공한다.
- [91] 이때, 상기 항원충용 약학적 조성물은 플라스모듐 속(*Plasmodium* sp.) 원충을 억제하는 것이 바람직하고, 그중에서도 특히 열대말라리아열원충(*Plasmodium falciparum*)을 억제하는 것이 가장 바람직하지만 이에 제한되는 것은 아니다.
- [92] 나아가, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [93] 이때, 상기 말라리아는 플라스모듐 속(*Plasmodium* sp.) 원충에 의한 것일 수 있고, 바람직하게는 열대말라리아열원충(*Plasmodium falciparum*)에 의한 것일 수 있다.
- [94] 본 발명에 따른 약학적 조성물에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조될 수 있다.
- [95] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제, 트로키제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨염 등과 같은 붕해제

- 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.
- [96] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효 성분으로 하는 약학적 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사를 주입하는 방법에 의한다.
- [97] 이때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알 단위 투여형으로 제조할 수 있다. 상기 조성물은 멸균되고/되거나 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다.
- [98] 나아가, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 인체에 대한 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.1-1000 mg/일이며, 바람직하게는 1-500 mg/일이며, 또한 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.
- [99] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 원충 감염증 또는 말라리아의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [100] 본 발명의 원충 감염증 또는 말라리아의 예방 또는 치료 방법에서, 투여되는 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 적합한 총 1일 사용량은 올바른 의학적 판단범위 내에서 처치의에 의해 결정될 수 있으며, 일반적으로 0.1-1000 mg/일의 양, 바람직하게는 1-500 mg/일의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.
- [101] 또한, 본 발명은 원충 감염증 또는 말라리아의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.
- [102] 또한, 본 발명은 수탁번호 KCTC13074BP로 기탁된, 상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물을 생산하는 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주를 제공한다.
- [103] 본 발명에 따른 매크로라이드계 화합물(실시예 1-4)의 항말라리아 활성을

평가하기 위하여 실험을 수행한 결과, 본 발명에 따른 매크로라이드계 화합물은 모두 열대말라리아 열원충(*Plasmodium falciparum* 3D7)에 대한 억제활성이 우수한 것으로 나타났다(실험예 1의 표 6 참조).

[104] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명의 구체적으로 예시하는 것일뿐, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[105] <실시예 1> 매크로라이드계 화합물의 제조 1

[106] 단계 1: 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주의 분리

[107] 본 균주는 2013년 8월 울릉도 토양 시료로부터 분리하였다. 채집한 토양시료는 채집 즉시 멸균된 플라스틱 튜브에 넣어 보관하였으며 사용 전, 상온에서 48 시간 동안 자연 건조를 수행하였다. 토양 시료는 멸균된 증류수를 이용하여 100배 및 1000배 희석하였다. 희석액 0.5ml를 휴믹산 한천(Humic acid agar) 배지에 도말하여 28°C에서 50일간 배양하여 나타난 집락을 순수분리 하였다.

[108] 단계 2: 균주의 동정 및 명명

[109] 본 균주의 rRNA 서열 분석을 통하여 얻어진 염기서열의 GenBank 검색 결과, *Catenulispora yoronensis*에 98.8%의 상동성을 보였다. 이에 본 균주를 카테누리스포라 속으로 동정하였고 이를 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217(수탁번호: KCTC13074BP)로 명명하였다. 서열 분석 결과는 서열목록 프리텍스트에 나타내었다.

[110] 단계 3: 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주의 배양

[111] 본 방선균 균주를 배양하기 위하여, 통상적으로 미생물이 이용하는 영양원을 함유하는 배지를 준비하였다. 방선균의 조배지 및 생산 배지로서 2.0% (w/v) 글리세롤, 1.0% (w/v) 락토스, 0.5% (w/v) 맥아추출물, 0.5% (w/v) 효모추출물, 0.1% (w/v) 칼슘카보네이트가 함유된 GLY 배지를 사용하였다.

[112] 상기 중 배지 200ml이 담긴 1,000ml 용량의 삼각플라스크를 121°C에서 15분간 멸균한 후, 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주의 한천배양 아가 플러그를 각각 3개씩 접종하여 28°C에서 15일간 진탕 배양을 실시하였다.

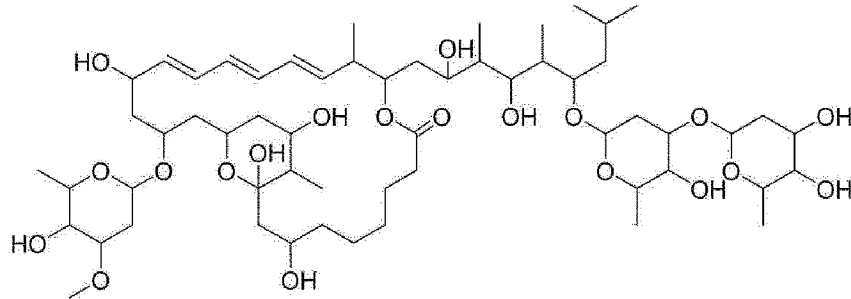
[113] 단계 4: 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주로부터 매크로라이드계 화합물의 분리 및 정제

[114] 상기 단계 3에서 배양한 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주의 배양물을 에틸아세테이트(20L)로 추출하고, 수득된 추출액을 감압건조기를 이용하여 감압증발 방법으로 농축하였다. 이 농축액을 오디에스 알피 18에 흡착시켜 오디에스 알피 18 플래쉬 컬럼크로마토그래피(ODS RP-18 flash column chromatography)를 실시하였으며, 이때 메탄올/물(8:2-10/0, v/v)을 혼합용매로 하여 단계적으로 메탄올 농도를 증가시키면서 용출하였다.

[115] 이때 매크로라이드계 화합물을 함유한 분획은 80% 메탄올에서 용출하였다. 이 분획을 감압 농축한 후, 고속액체크로마토그래피(칼럼: Cosmosil C18, 길이 250mm, 직경 10mm)를 이용하여 용매로 아세트나이트릴과 물을 26:74 55:45

농도 구배로 용출 유속 3ml/min 조건으로 용출하여 274nm의 UV 흡수 피크를 보이는 화합물을 분리하였다. 첫 번째로 분리된 화합물의 구조를 아래에 나타내었다.

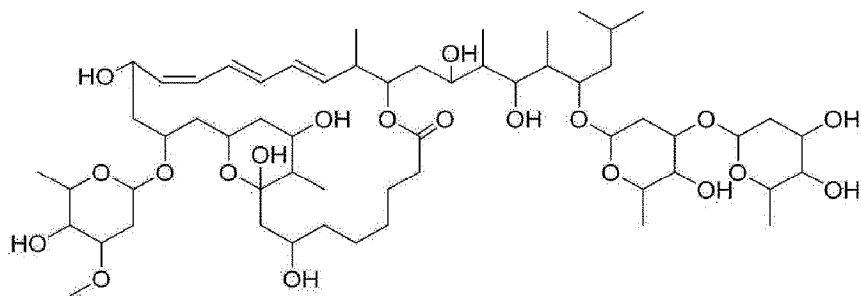
[116]



[117] <실시예 2> 매크로라이드계 화합물의 제조 2

[118] 상기 <실시예 1>과 동일한 과정을 수행하되, 두 번째로 분리된 화합물의 구조를 아래에 나타내었다.

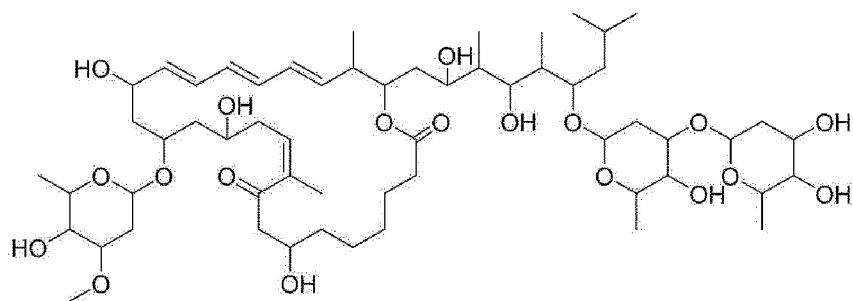
[119]



[120] <실시예 3> 매크로라이드계 화합물의 제조 3

[121] 상기 <실시예 1>과 동일한 과정을 수행하되, 세 번째로 분리된 화합물의 구조를 아래에 나타내었다.

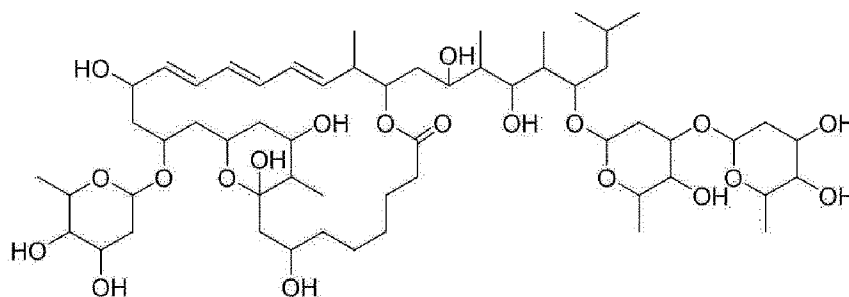
[122]



[123] <실시예 4> 매크로라이드계 화합물의 제조 4

[124] 상기 <실시예 1>과 동일한 과정을 수행하되, 네 번째로 분리된 화합물의 구조를 아래에 나타내었다.

[125]



[126] <실시예 5> 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주로부터 분리한 매크로라이드계 화합물의 구조 분석

[127] 상기 방선균 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217의 배양액으로부터 분리한 실시예 1-4의 화합물은 ESIMS 질량분석기(Electrospray Ionization mass spectrometer)를 사용하여 분자량 및 분자식을 측정하였다.

[128] 또한, 핵자기공명(NMR) 분석(Bruker Biospin Advance II 900 NMR spectrometer 및 Bruker AVANCE HD 800 NMR spectrometer)을 통하여 ^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY(Correlation Spectroscopy), HMQC(^1H -Detected heteronuclear Multiple-Quantum Coherence), HMBC(Heteronuclear Multiple-Bond Coherence), DEPT(Distortionless Enhancement by Polarization), NOESY(Nuclear Overhauser effect spectroscopy) 스펙트럼을 얻고, 화합물의 분자구조를 결정하였다.

[129] 측정 결과는 하기와 같으며, 상기 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주의 배양액으로부터 분리한 물질은, 상기 화학식을 갖는 신규한 매크로라이드계 화합물로 동정하였으며, 실시예 1-4의 화합물을 각각 카테누리스포로라이드(Catenulisorolide) A-D로 명명하였다. 실시예 1-4의 화합물은 트리엔(triene) 및 당 유닛을 포함하는 신규한 매크로라이드계 화합물인 것으로 나타났으며 주 물질인 실시예 1과 비교시 실시예 2-4는 각각 이중결합의 기하구조(double bond geometry), 테트라하이드로피란 고리(tetrahydropyran ring), 당의 메톡시기에 있어 구조적인 차이를 보이는 것으로 확인하였다.

[130] Catenulisorolide A (실시예 1): 흰색 분말; $[\alpha]_{\text{D}} -21.7$ (c 0.05, MeOH); UV(MeOH) λ_{max} (log ϵ) 272 (4.5), 279 (4.4), 282 (4.5) nm; ^1H , ^{13}C NMR 데이터는 하기 표 1에 나타내었음; HRESIMS m/z 1139.6694 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{58}\text{H}_{100}\text{O}_{20}\text{Na}$, 1139.6706).

[131] Catenulisorolide B (실시예 2): 흰색 분말; $[\alpha]_{\text{D}} -15.6$ (c 0.05, MeOH); UV(MeOH) λ_{max} (log ϵ) 270 (4.5), 277 (4.5), 282 (4.5) nm; ^1H , ^{13}C NMR 데이터는 하기 표 2에 나타내었음; HRESIMS m/z 1139.6698 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{58}\text{H}_{100}\text{O}_{20}\text{Na}$, 1139.6706).

[132] Catenulisorolide C (실시예 3): 흰색 분말; $[\alpha]_{\text{D}} -22.0$ (c 0.05, MeOH); UV(MeOH) λ_{max} (log ϵ) 269 (4.6), 277 (4.4), 281 (4.4) nm; ^1H , ^{13}C NMR 데이터는 하기 표 3에 나타내었음; HRESIMS m/z 1121.6592 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{58}\text{H}_{98}\text{O}_{19}\text{Na}$, 1121.6600).

[133] Catenulisorolide D (실시예 4): 흰색 분말; $[\alpha]_{\text{D}} -20.2$ (c 0.05, MeOH); UV(MeOH) λ_{max} (log ϵ) 269 (4.6), 277 (4.4), 281 (4.4) nm; ^1H , ^{13}C NMR 데이터는 하기 표 4에

나타내었음; HRESIMS m/z 1103.6691 [M+H]⁺ (calcd for C₅₇H₉₆O₁₉Na, 1103.6706).

[134] [표 1] 실시예 1의 NMR Data

[135]

	δ^a , type	δ^b , mult (J in Hz)		δ^a , type	δ^b , mult (J in Hz)
1	172.2, C		30	38.2, CH	1.79, ovf ^c
2	34.9, CH ₂	2.32, m; 2.12, dt (14.9, 7.4)	31	74.5, CH	4.01, brd (9.9)
3	25.2, CH ₂	1.42, ovf ^c	32	36.9, CH ₂	1.21, ovf ^c ; 1.02, ovf ^c
4	29.5, CH ₂	1.22, ovf ^c ; 1.15, ovf ^c	33	23.3, CH	1.79, ovf ^c
5	25.5, CH ₂	1.15, ovf ^c ; 1.07, ovf ^c	34	24.2, CH ₃	0.85, d (6.8)
6	38.5, CH ₂	1.41, ovf ^c ; 1.28, ovf ^c	35	12.0, CH ₃	0.94, d (6.5)
7	67.9, CH	3.87, ovf ^c	36	16.6, CH ₃	1.01, d (6.9)
7-OH		5.12, d (2.5)	37	6.2, CH ₃	0.80, d (6.8)
8	42.7, CH ₂	1.66, m; 1.39, ovf ^c	38	9.6, CH ₃	0.63, d (6.8)
9	99.2, C		39	21.5, CH ₃	0.84, d (6.5)
9-OH		5.91, s	40	99.8, CH	4.38, brd (9.8)
10	46.8, CH	1.09, ovf ^c	41	36.5, CH ₂	2.18, dd (11.4, 4.9); 1.16, ovf ^c
11	67.5, CH	3.37, ovf ^c	42	80.0, CH	3.11, ddd (11.7, 8.8, 5.1)
11-OH		4.44, ovf ^c	43	75.0, CH	2.81, ovf ^c
12	42.1, CH ₂	1.70, ovf ^c ; 1.05, ovf ^c	43-OH		5.05, ovf ^c
13	63.5, CH	3.85, ovf ^c	44	71.5, CH	3.07, dq (12.4, 6.2)
14	41.3, CH ₂	1.87, t (10.8); 1.44, ovf ^c	45	18.1, CH ₃	1.13, d (6.1)
15	74.7, CH	3.68, m	46	56.4, CH ₃	3.33, s
16	41.1, CH ₂	1.71, ovf ^c ; 1.54, m	47	96.2, CH	4.44, ovf ^c
17	68.6, CH	4.09, m	48	37.5, CH ₂	2.03, dd (11.2, 4.9); 1.29, ovf ^c
17-OH		4.65, d (4.3)	49	78.7, CH	3.56, ddd (11.9, 8.8, 5.2)
18	137.5, CH	5.68, dd (15.1, 7.6)	50	74.5, CH	2.81, ovf ^c
19	130.1, CH	6.15, dd (15.0, 10.5)	50-OH		4.72, d (2.4)
20	131.3, CH	6.28, dd (14.9, 10.6)	51	71.1, CH	3.14, dt (15.4, 6.3)
21	131.7, CH	6.23, dd (14.9, 10.3)	52	18.1, CH ₃	1.16, ovf ^c
22	130.3, CH	6.01, dd (15.1, 10.3)	53	97.4, CH	4.61, brd (9.7)
23	133.8, CH	5.86, dd (15.4, 5.9)	54	39.8, CH ₂	1.94, dd (11.1, 4.9); 1.35, ovf ^c
24	40.0, CH	2.48, m	55	70.2, CH	3.36, ovf ^c
25	73.7, CH	5.05, m	55-OH		4.89, d (4.3)
26	38.2, CH ₂	1.70, ovf ^c	56	76.6, CH	2.74, td (8.8, 4.8)
27	71.5, CH	3.51, m	56-OH		4.98, d (4.6)
27-OH		4.57, d (4.2)	57	71.8, CH	3.19, dq (12.5, 6.2)
28	39.0, CH	1.43, ovf ^c	58	17.9, CH ₃	1.17, d (6.2)
29	74.7, CH	3.33, ovf ^c			
29-OH		4.32, d (5.2)			

[136] 상기 표 1에서,

[137] ^a900MHz에서 측정; ^b225MHz에서 측정; ^c겹친 신호.

[138] [표 2] 실시예 2의 NMR Data

[139]

δ_c^a , type	δ_c^b , mult (J in Hz)	δ_c^a , type	δ_c^b , mult (J in Hz)
1 172.5, C		30 38.3, CH	1.79, ovl ^c
2 33.6, CH ₂	2.20, ovl ^c ; 2.12, m	31 74.5, CH	4.00, brd (9.7)
3 24.8, CH ₂	1.47, ovl ^c ; 1.34, ovl ^c	32 36.8, CH ₂	1.20, m; 1.00, ovl ^c
4 28.2, CH ₂	1.14, ovl ^c	33 23.3, CH	1.79, ovl ^c
5 25.3, CH ₂	1.14, ovl ^c	34 24.1, CH ₃	0.85, d (6.8)
6 37.6, CH ₂	1.42, ovl ^c ; 1.27, ovl ^c	35 12.1, CH ₃	0.93, d (6.5)
7 66.9, CH	3.92, m	36 17.9, CH ₃	0.99, d (6.7)
7-OH	4.81, d (5.1)	37 6.2, CH ₃	0.78, d (6.9)
8 43.2, CH ₂	1.64, dd (13.9, 9.4); 1.35, ovl ^c	38 9.6, CH ₃	0.62, d (6.9)
9 98.8, C		39 21.0, CH ₃	0.83, d (6.5)
9-OH	5.63, s	40 100.8, CH	4.26, brd (10.5)
10 47.0, CH	1.07, td (13.0, 6.4)	41 36.8, CH ₂	2.27, dd (11.3, 4.9); 1.26, ovl ^c
11 67.6, CH	3.36, ovl ^c	42 80.5, CH	3.01, ddd (11.7, 8.6, 5.1)
11-OH	4.40, d (6.1)	43 75.1, CH	2.84, ovl ^c
12 42.0, CH ₂	1.71, brd (6.2); 0.99, ovl ^c	43-OH	5.06, d (5.0)
13 63.5, CH	3.68, t (11.1)	44 71.6, CH	2.97, dq (8.8, 6.1)
14 41.8, CH ₂	2.02, ovl ^c ; 1.35, ovl ^c	45 18.0, CH ₃	1.12, d (6.1)
15 75.8, CH	3.60, t (9.6)	46 57.0, CH ₃	3.41, s
16 42.4, CH ₂	1.59, m; 1.48, ovl ^c	47 96.2, CH	4.44, brd (10.7)
17 63.2, CH	4.52, ovl ^c	48 37.5, CH ₂	2.03, ovl ^c ; 1.27, ovl ^c
17-OH	4.62, d (4.6)	49 78.7, CH	3.56, ddd (11.7, 8.7, 5.2)
18 134.9, CH	5.19, t (10.1)	50 74.5, CH	2.81, ovl ^c
19 128.9, CH	6.13, ovl ^c	50-OH	4.72, d (2.9)
20 126.5, CH	6.37, dd (14.2, 11.8)	51 71.1, CH	3.14, dq (8.9, 6.1)
21 133.4, CH	6.13, ovl ^c	52 18.1, CH ₃	1.16, d (6.1)
22 130.5, CH	6.06, dd (14.8, 10.9)	53 97.4, CH	4.61, dd (9.8, 1.5)
23 137.6, CH	5.44, dd (14.8, 9.8)	54 39.8, CH ₂	1.94, m; 1.35, ovl ^c
24 43.9, CH	2.20, ovl ^c	55 70.2, CH	3.35, m
25 73.2, CH	4.87, ovl ^c	55-OH	4.87, ovl ^c
26 37.5, CH ₂	1.76, ovl ^c ; 1.43, ovl ^c	56 76.6, CH	2.74, td (8.8, 4.7)
27 71.3, CH	3.50, m	56-OH	4.97, d (4.9)
27-OH	4.52, ovl ^c	57 71.8, CH	3.19, dq (9.1, 6.2)
28 39.0, CH	1.42, ovl ^c	58 17.9, CH ₃	1.16, d (6.2)
29 74.5, CH	3.33, ovl ^c		
29-OH	4.29, d (5.5)		

[140] 상기 표 2에서,

[141] ^a900MHz에서 측정; ^b225MHz에서 측정; ^c겹친 신호.

[142] [표 3] 실시예 3의 NMR Data

[143]

δ^a , type	δ^b , mult (J in Hz)	δ^a , type	δ^b , mult (J in Hz)
1 172.4, C		30 38.3, CH	1.80, ovl ^c
2 33.9, CH ₂	2.28, ovl ^c ; 2.12, ovl ^c	31 74.5, CH	4.00, ovl ^c
3 24.7, CH ₂	1.47, ovl ^c ; 1.40, ovl ^c	32 36.8, CH ₂	1.20, ovl ^c ; 1.01, m
4 29.2, CH ₂	1.21, ovl ^c ; 1.08, m	33 23.3, CH	1.80, ovl ^c
5 25.4, CH ₂	1.38, ovl ^c ; 1.16, ovl ^c	34 24.2, CH ₃	0.86, d (6.7)
6 37.3, CH ₂	1.34, ovl ^c ; 1.26, ovl ^c	35 11.4, CH ₃	1.68, s
7 67.4, CH	3.86, m	36 17.6, CH ₃	0.97, d (6.6)
7-OH	4.49, ovl ^c	37 6.4, CH ₃	0.79, d (6.7)
8 45.3, CH ₂	2.86, dd (15.2, 8.1); 2.58, dd (15.2, 4.0)	38 9.6, CH ₃	0.63, d (6.7)
9 200.2, C		39 21.1, CH ₃	0.84, d (6.3)
10 137.9, C		40 97.2, CH	4.48, ovl ^c
11 139.6, CH	6.76, t (7.0)	41 36.4, CH ₂	2.12, ovl ^c ; 1.13, ovl ^c
12 35.5, CH ₂	2.46, m; 2.35, m	42 80.0, CH	3.11, ovl ^c
13 66.4, CH	3.87, ovl ^c	43 75.1, CH	2.81, ovl ^c
13-OH	4.58, d (3.8)	43-OH	5.04, brs
14 41.7, CH ₂	1.61, m; 1.57, ovl ^c	44 71.6, CH	3.12, ovl ^c
15 72.8, CH	3.75, m	45 18.0, CH ₃	1.16, ovl ^c
16 42.6, CH ₂	1.72, ovl ^c ; 1.52, ovl ^c	46 56.4, CH ₃	3.31, s
17 68.5, CH	4.00, ovl ^c	47 96.2, CH	4.44, brd (9.7)
17-OH	4.75, brd (2.3)	48 37.5, CH ₂	2.03, dd (11.4, 4.5); 1.28, ovl ^c
18 136.7, CH	5.66, d (13.7, 6.2)	49 78.7, CH	3.56, m
19 129.5, CH	6.11, ovl ^c	50 74.5, CH	2.81, ovl ^c
20 130.4, CH	6.11, ovl ^c	50-OH	4.73, brs
21 132.5, CH	6.11, ovl ^c	51 71.1, CH	3.14, ovl ^c
22 130.4, CH	6.04, dd (14.7, 7.5)	52 18.1, CH ₃	1.16, ovl ^c
23 136.3, CH	5.50, dd (14.9, 8.8)	53 97.4, CH	4.61, brd (9.7)
24 42.3, CH	2.29, ovl ^c	54 39.8, CH ₂	1.94, dd (11.9, 4.6); 1.35, ovl ^c
25 73.7, CH	4.90, ovl ^c	55 70.2, CH	3.34, ovl ^c
26 37.9, CH ₂	1.71, ovl ^c ; 1.55, ovl ^c	55-OH	4.90, ovl ^c
27 71.1, CH	3.49, m	56 76.6, CH	2.74, brt (7.6)
27-OH	4.51, brs	56-OH	5.00, brs
28 39.2, CH	1.41, ovl ^c	57 71.8, CH	3.19, m
29 74.4, CH	3.31, ovl ^c	58 17.9, CH ₃	1.16, ovl ^c
29-OH	4.29, d (4.1)		

[144] 상기 표 3에서,

[145] ^a800Hz에서 측정; ^b200MHz에서 측정; ^c겹친 신호.

[146] [표 4] 실시예 4의 NMR Data

[147]

	δ_c^a , type	δ_c^b , mult (J in Hz)		δ_c^a , type	δ_c^b , mult (J in Hz)
1	172.2, C		30	38.2, CH	1.80, ovl ^c
2	34.9, CH ₂	2.33, m; 2.12, dt (14.9, 7.5)	31	74.5, CH	4.00, brd (10.0)
3	25.2, CH ₂	1.43, ovl ^c	32	36.8, CH ₂	1.20, ovl ^c ; 1.02, ovl ^c
4	29.5, CH ₂	1.21, m; 1.16, ovl ^c	33	23.3, CH	1.79, ovl ^c
5	25.5, CH ₂	1.16, ovl ^c ; 1.07, ovl ^c	34	24.1, CH ₃	0.85, d (6.7)
6	37.5, CH ₂	1.27, ovl ^c	35	12.0, CH ₃	0.93, d (6.5)
7	67.9, CH	3.86, ovl ^c	36	16.7, CH ₃	1.01, d (6.9)
7-OH		5.13, d (4.3)	37	6.2, CH ₃	0.80, d (6.9)
8	42.6, CH ₂	1.65, dd (13.6, 11.0); 1.38, ovl ^c	38	9.6, CH ₃	0.64, d (6.8)
9	99.2, C		39	21.5, CH ₃	0.85, d (6.7)
9-OH		5.92, s	40	100.1, CH	4.37, brd (10.4)
10	46.8, CH	1.08, m	41	39.9, CH ₂	1.95, ovl ^c ; 1.29, ovl ^c
11	67.5, CH	3.36, ovl ^c	42	70.2, CH	3.34, ddd (11.7, 8.8, 5.1)
11-OH		4.43, d (6.0)	42-OH		4.82, d (3.2)
12	42.1, CH ₂	1.70, ovl ^c ; 1.01, ovl ^c	43	76.8, CH	2.70, td (8.3, 3.3)
13	63.5, CH	3.85, ovl ^c	43-OH		4.91, d (4.0)
14	41.4, CH ₂	1.88, t (10.7); 1.43, ovl ^c	44	71.5, CH	3.04, dq (12.4, 6.2)
15	75.0, CH	3.66, m	45	18.1, CH ₃	1.12, d (6.1)
16	41.1, CH ₂	1.70, ovl ^c ; 1.53, m	46	96.2, CH	4.44, brd (10.5)
17	68.6, CH	4.08, m	47	37.5, CH ₂	2.03, dd (11.3, 4.7); 1.29, ovl ^c
17-OH		4.65, d (4.3)			
18	137.6, CH	5.68, dd (15.1, 7.5)	48	78.7, CH	3.56, ddd (11.9, 8.8, 5.2)
19	130.0, CH	6.12, dd (15.0, 10.6)	49	74.5, CH	2.81, td (8.8, 2.7)
20	131.4, CH	6.28, dd (14.9, 10.6)	49-OH		4.73, d (2.7)
21	131.5, CH	6.22, dd (14.9, 10.4)	50	71.1, CH	3.14, dq (12.3, 6.1)
22	130.3, CH	6.01, dd (15.2, 10.4)	51	18.1, CH ₃	1.16, ovl ^c
23	133.8, CH	5.86, dd (15.4, 6.0)	52	97.4, CH	4.61, brd (9.8)
24	40.0, CH	2.47, ovl ^c	53	39.8, CH ₂	1.94, ovl ^c ; 1.35, ovl ^c
25	73.7, CH	5.04, m	54	70.2, CH	3.36, ovl ^c
26	38.2, CH ₂	1.69, ovl ^c	54-OH		4.89, d (3.2)
27	71.5, CH	3.52, m	55	76.6, CH	2.74, td (8.7, 3.2)
27-OH		4.57, d (4.6)	55-OH		4.99, d (3.8)
28	39.0, CH	1.43, ovl ^c	56	71.8, CH	3.19, dq (12.4, 6.2)
29	74.7, CH	3.34, ovl ^c	57	17.9, CH ₃	1.17, d (6.2)
29-OH		4.33, d (5.2)			

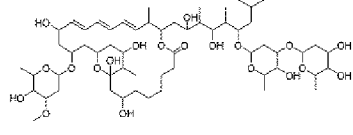
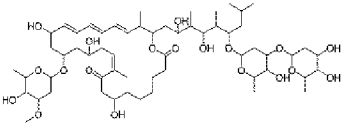
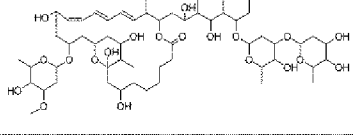
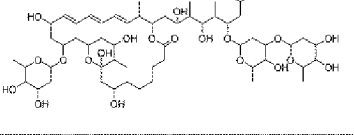
[148] 상기 표 4에서,

[149] ^a900Hz에서 측정; ^b225MHz에서 측정; ^c겹친 신호.

[150] 상기 실시예 1-4에서 제조한 매크로라이드계 화합물의 구체적인 구조를 하기 표 5에 나타내었다.

[151] [표 5]

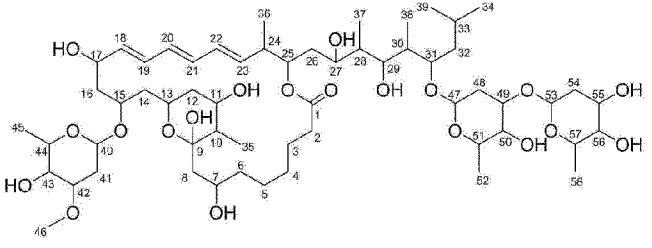
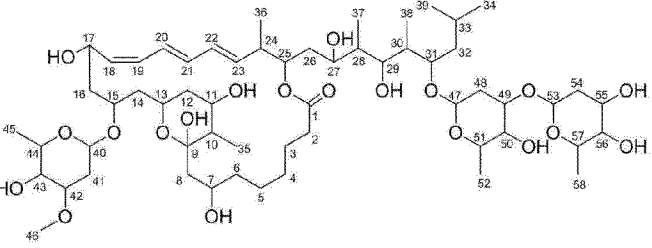
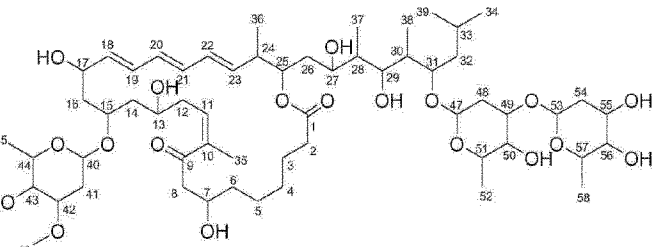
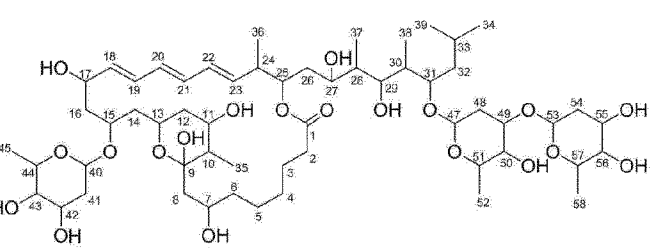
[152]

실시예	화학구조	실시예	화학구조
1		3	
2		4	

[153] 또한, 본 발명에 따른 실시예 1-4에서 제조한 매크로라이드계 화합물을 넘버링하면 아래 표 6과 같다.

[154] [표 6]

[155]

실시예	넘버링
1	
2	
3	
4	

[156] <실험예 1> 항말라리아 활성 평가

- [157] 본 발명에 따른 매크로라이드계 화합물의 항말라리아 활성을 평가하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- [158] 열대말라리아 열원충(*Plasmodium falciparum* 3D7)을 3% hematocrit type A human red blood cells, 25mM HEPES, 24mM NaHCO₃, 0.03% L-glutamine이 함유된 RPMI배지에서 0.4% glucose, 20μg/ml hypoxanthine, 24μg/ml gentamicin 및 0.25% AlbuMax II을 첨가하여 5% CO₂, 5% O₂, 37°C 조건하에 배양하였다. 항말라리아 활성 검사를 수행하기 위하여 100μl의 0.3%-parasitized red blood cells 및 2% hematocrit을 96-well 플레이트에 분주 후, 실시예 화합물을 농도별로 처리하였다.
- [159] 72시간 후, -70°C에서 플레이트를 동결시킨 뒤, 상온에서 4시간 이상 두어 해동시켰다. LDH 활성을 측정하기 위하여, 150μL의 반응 용액(166mM sodium L-lactate, 166μM 3-acetyl pyridine adenine dinucleotide, 208μM NitroBlue tetrazolium chloride, 150μg/mL diaphorase (22.5U/mL), 0.8% Tween 20, 116mM Tris-HCl, pH 8.0)을 첨가한 뒤, 상온에서 10분간 반응 후, 흡광도(650nm)를 측정하였다. 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다.

[160] [표 7]

실시예	IC ₅₀ (μM)
1	12
2	>30
3	5.5
4	21.8

- [162] 상기 표 7에 나타난 바와 같이,
- [163] 본 발명에 따른 매크로라이드계 화합물은 우수한 항말라리아 활성을 나타내는 것으로 확인되었으며, 그중에서도 특히 실시예 3 화합물은 가장 우수한 항말라리아 활성을 갖는 것으로 나타났다.
- [164] <제제예 1> 약학적 제제의 제조
- [165] 1-1. 산제의 제조
- [166] 화학식 1의 화합물 500 mg
- [167] 유당 100 mg
- [168] 탈크 10 mg
- [169] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.
- [170] 1-2. 정제의 제조
- [171] 화학식 1의 화합물 500 mg
- [172] 옥수수전분 100 mg
- [173] 유당 100 mg
- [174] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [175] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.
- [176] 1-3. 캡셀제의 제조

- [177] 화학식 1의 화합물 500 mg
 [178] 옥수수전분 100 mg
 [179] 유당 100 mg
 [180] 스테아린산 마그네슘 2 mg
 [181] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.
- [182] 1-4. 주사제의 제조
 [183] 화학식 1의 화합물 500 mg
 [184] 주사용 멸균 증류수 적량
 [185] pH 조절제 적량
 [186] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.
- [187] 1-5. 액제의 제조
 [188] 화학식 1의 화합물 100 mg
 [189] 이성화당 10 g
 [190] 만니톨 5 g
 [191] 정제수 적량
 [192] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬 향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색 병에 충전하여 멸균시켜 액체를 제조한다.

서열목록 Free Text

- [193] TCAGCTCGTGTCTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
 TCGTTCCATGTTGCCAGCGCGTTATGGCGGGGACTCATGGGAGACTGCCGG
 GGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATG
 TCCAGGGCTGCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGAGGGCTGCGATACC
 GCGAGGTGGAGCGAATCCCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCT
 GCAACTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAAC
 GCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACGTCACG
 AAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCCTTGTGGAGGGAGCCG
 TCGAAGGTGGGAC

[194]

번 역 문

특허절차상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한
부다페스트 조약

국제 서식
규칙 7.1에 의한

원기탁에 대한 수탁증

TO: 안중석

대한민국 충청북도 청주시 청원구 오창읍 연구단지로 30 한국생명공학연구원 (28116)

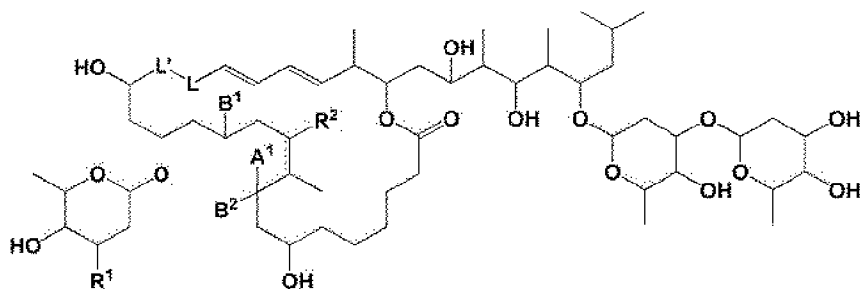
I. 미생물의 특징	
기탁자가 부여한 특징표시 Catenulispora sp. KCB13F217	국제기탁기관이 부여한 수탁번호 KCTC 13074BP
II. 과학적 성질 및/또는 분류학적 위치	
I 로 특징된 미생물은 ☐ 과학적 성질 ☐ 분류학적 위치로 기재하였다 (적용되는 부분에 표시한다).	
III. 수탁	
국제기탁기관은 I 로 특징되는 미생물을 2016년 08월 05일에 수탁하였다.	
IV. 수탁전환의 청구	
I 로 특징된 미생물은 국제기탁기관에 수탁되었고, 동 미생물에 대한 원기탁을 부다페스트 조약에 의한 기탁으로의 전환 청구가 접수되었다.	
V. 국제기탁기관	
명칭 : 한국생명공학연구소 유전자은행 (KCTC) 주소 : 대한민국 전라북도 정읍시 입신길 181 한국생명공학연구원 (56212)	국제 기탁 기관을 대표할 권한이 있는 자의 서명  담당자 : 김 차 영 날 짜 : 2016년 10월 18일

BP/4 형식 (KCTC 제17형식)

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



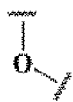
상기 화학식 1에서,

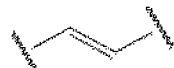
-----는 단일결합 또는 이중결합이고;

R¹ 및 R²는 독립적으로 -H, -OH, 할로젠, -CN, -NO₂, C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 또는 C₁₋₁₀의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시이고;

A¹은 부재 또는 -OH이되,

A¹이 부재일 경우, B¹은 -OH, B²는 =O이고,

A¹이 -OH일 경우, B¹ 및 B²는 서로 연결되어 를 형성하고; 및

는  또는 다.

[청구항 2] 제1항에 있어서,

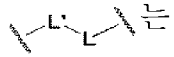
-----는 단일결합 또는 이중결합이고;

R¹ 및 R²는 독립적으로 -H, -OH, 할로젠, C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알킬, 또는 C₁₋₅의 직쇄 또는 분지쇄 알콕시이고;

A¹은 부재 또는 OH이되,

A¹이 부재일 경우, B¹은 -OH, B²는 =O이고,

A¹이 -OH일 경우, B¹ 및 B²는 서로 연결되어 를 형성하고; 및

는  또는 인 것을 특징으로 하는

매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

[청구항 3] 제1항에 있어서,

-----는 단일결합 또는 이중결합이고;

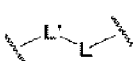
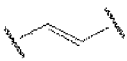
R¹은 -OH 또는 -OMe이고;

R²는 -H 또는 -OH이고;

A¹은 부재 또는 -OH이되,

A¹이 부재일 경우, B¹은 -OH, B²는 =O이고,

A¹이 -OH일 경우, B¹ 및 B²는 서로 연결되어 를 형성하고; 및

는  또는 인 것을 특징으로 하는

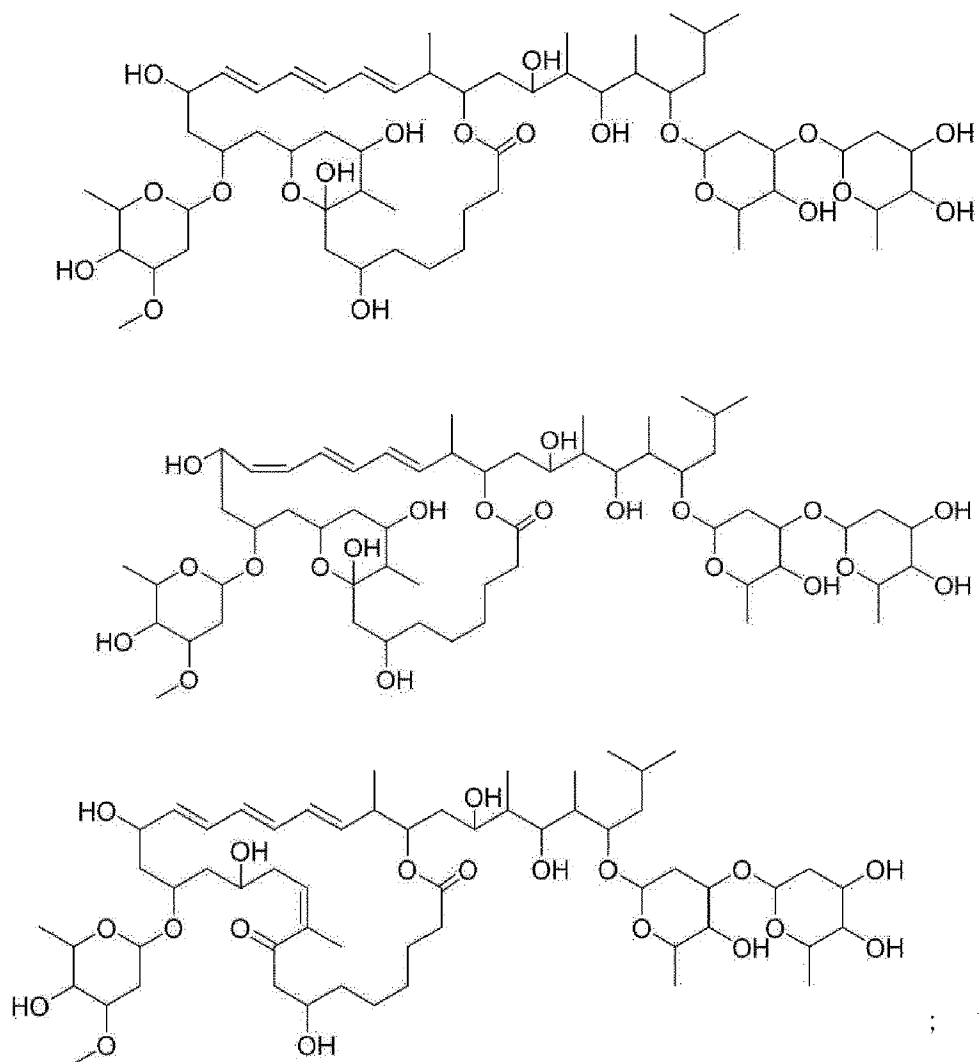
매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

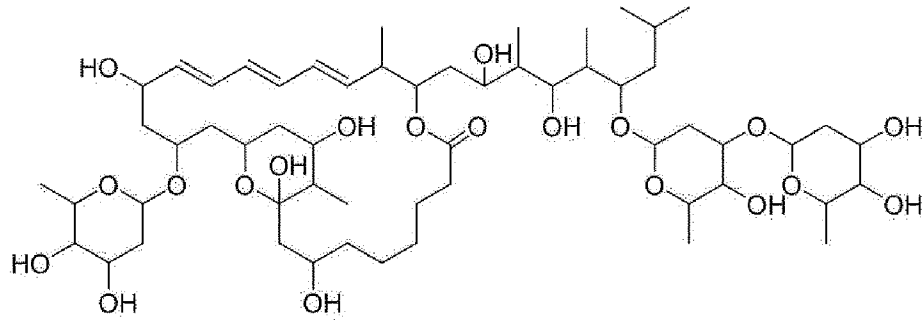
[청구항 4]

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물은 하기 화합물

군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

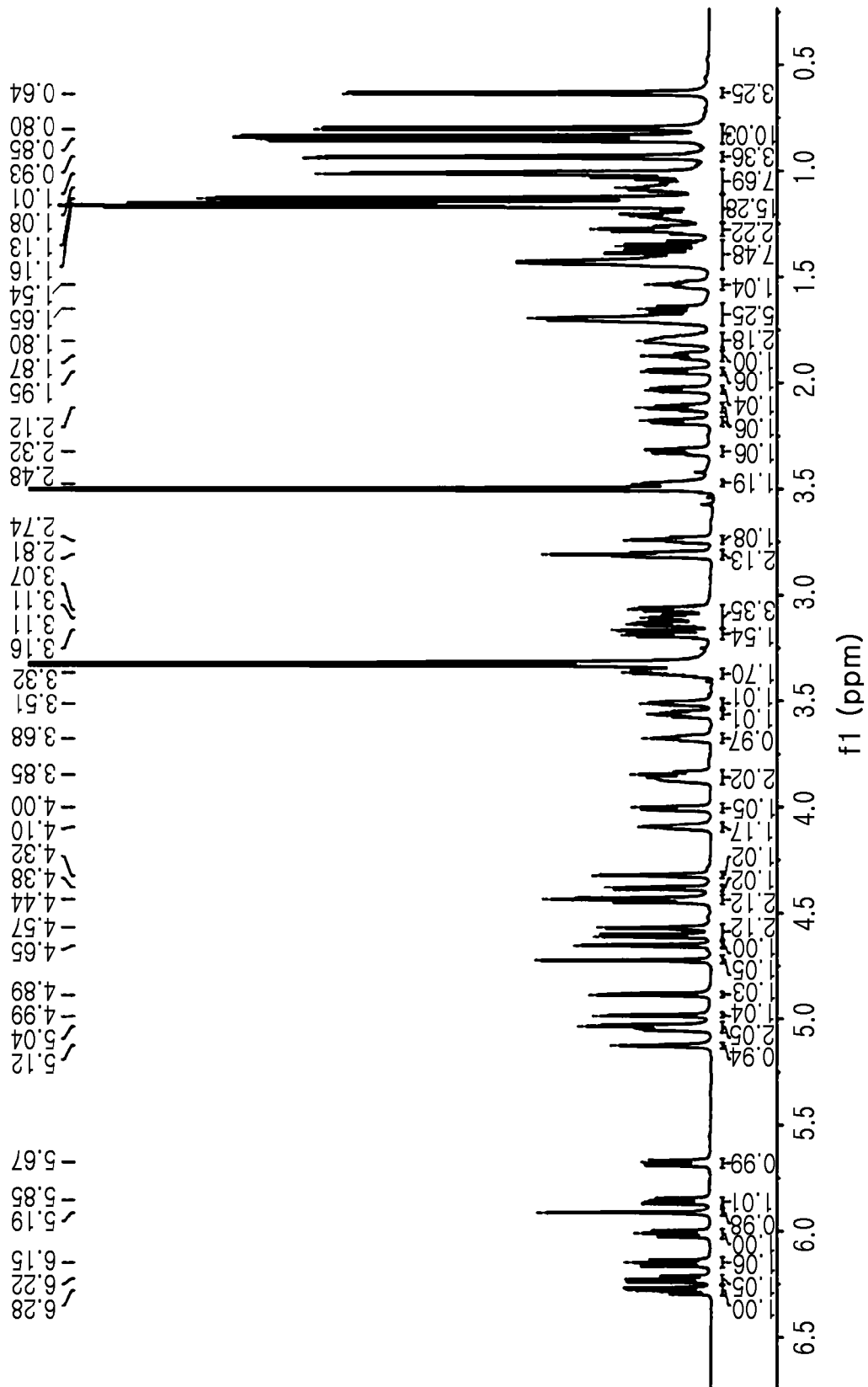




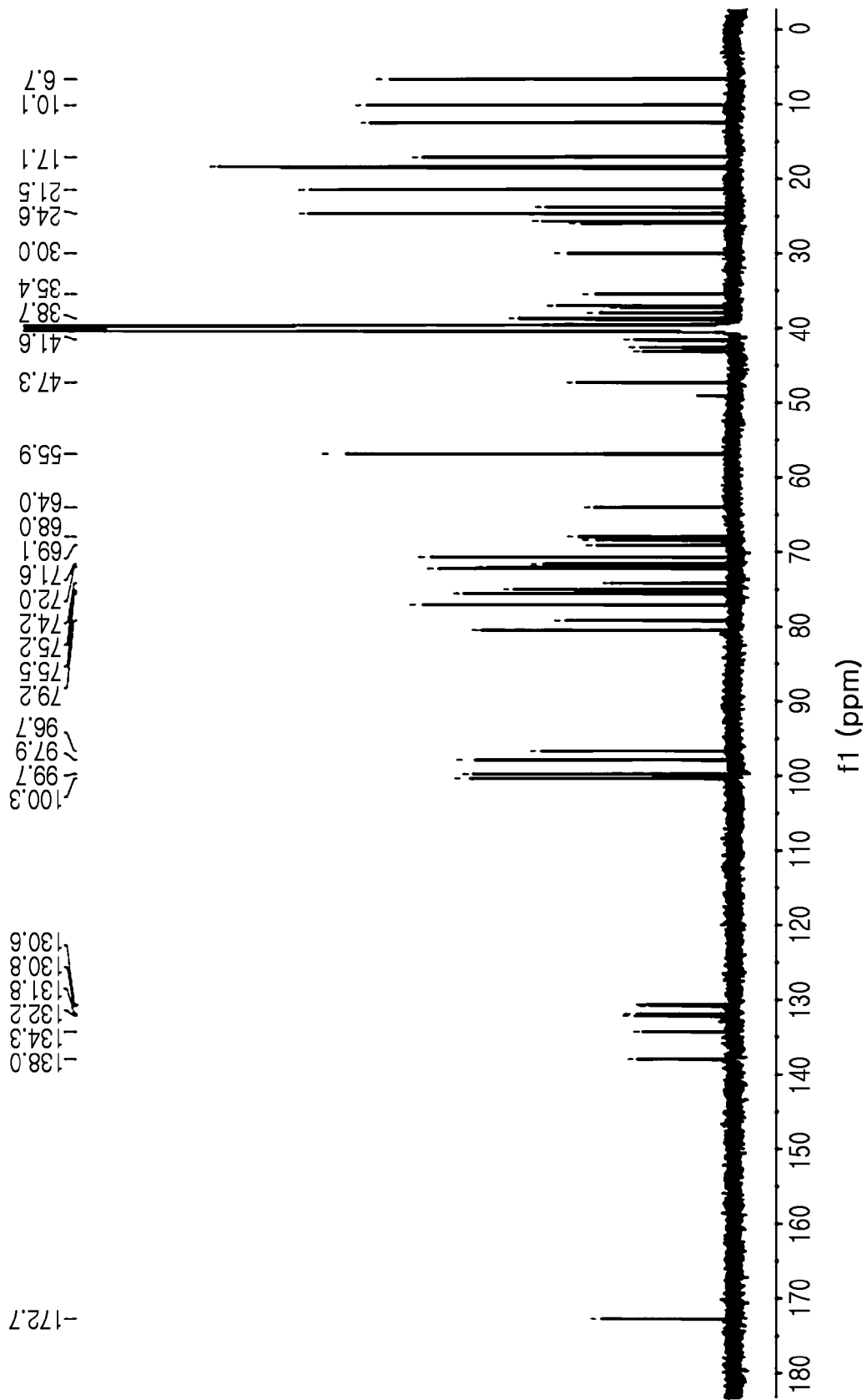
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물은 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주로부터 분리된 것을 특징으로 하는 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.
- [청구항 6] 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주를 배양하여 균주 배양물을 얻는 단계(단계 1); 및
상기 단계 1에서 얻어진 균주 배양물에서 매크로라이드계 화합물을 분리하는 단계(단계 2);를 포함하는, 제1항의 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물의 제조방법.
- [청구항 7] 제1항의 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항원충용 약학적 조성물.
- [청구항 8] 제7항에 있어서,
상기 항원충용 약학적 조성물은 플라스모듐 속(*Plasmodium* sp.) 원충을 억제하는 것을 특징으로 하는 항원충용 약학적 조성물.
- [청구항 9] 제1항의 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 말라리아의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 10] 제1항의 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 원충 감염증의 예방 또는 치료 방법.
- [청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 원충 감염증은 플라스모듐 속(*Plasmodium* sp.) 원충 감염증인 원충 감염증의 예방 또는 치료 방법.
- [청구항 12] 제1항의 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 말라리아의 예방 또는 치료 방법.
- [청구항 13] 원충 감염증 또는 말라리아의 예방 또는 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 제1항의 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물, 이의 입체 이성질체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도.

- [청구항 14] 수탁번호 KCTC13074BP로 기탁된, 제1항의 화학식 1로 표시되는 매크로라이드계 화합물을 생산하는 카테누리스포라 속(*Catenulispora* sp.) KCB13F217 균주.

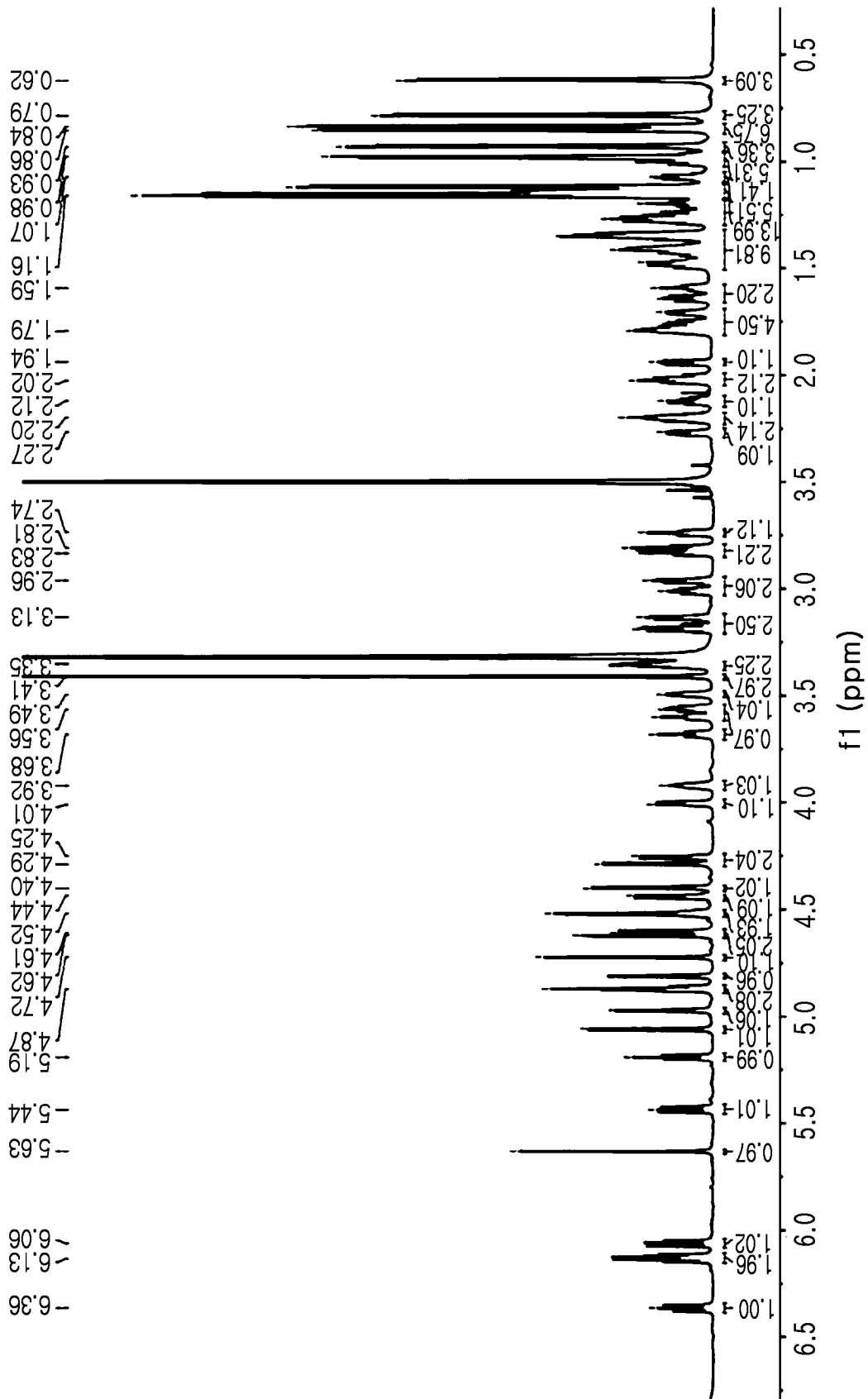
[도1]



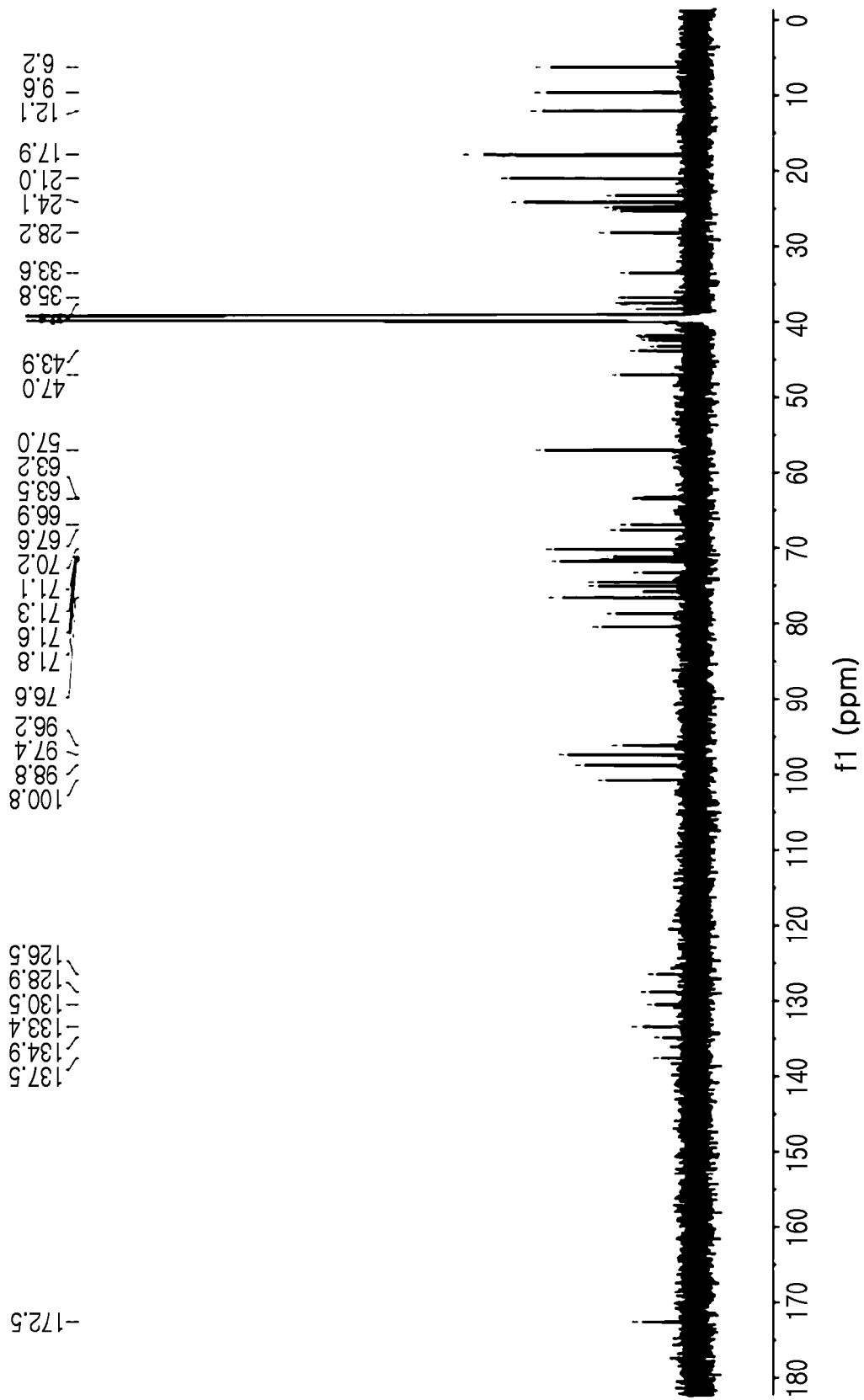
[도2]



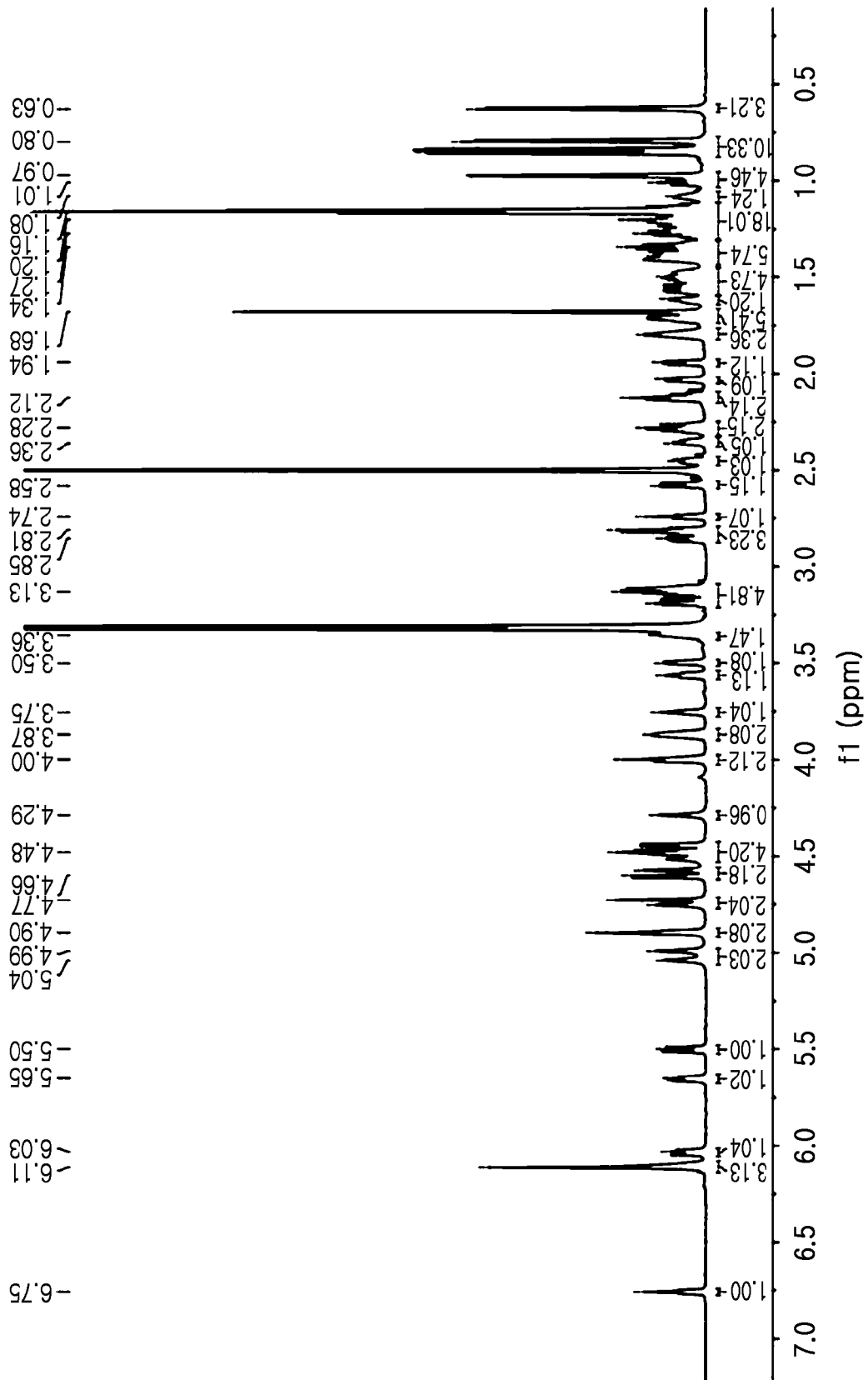
[도3]



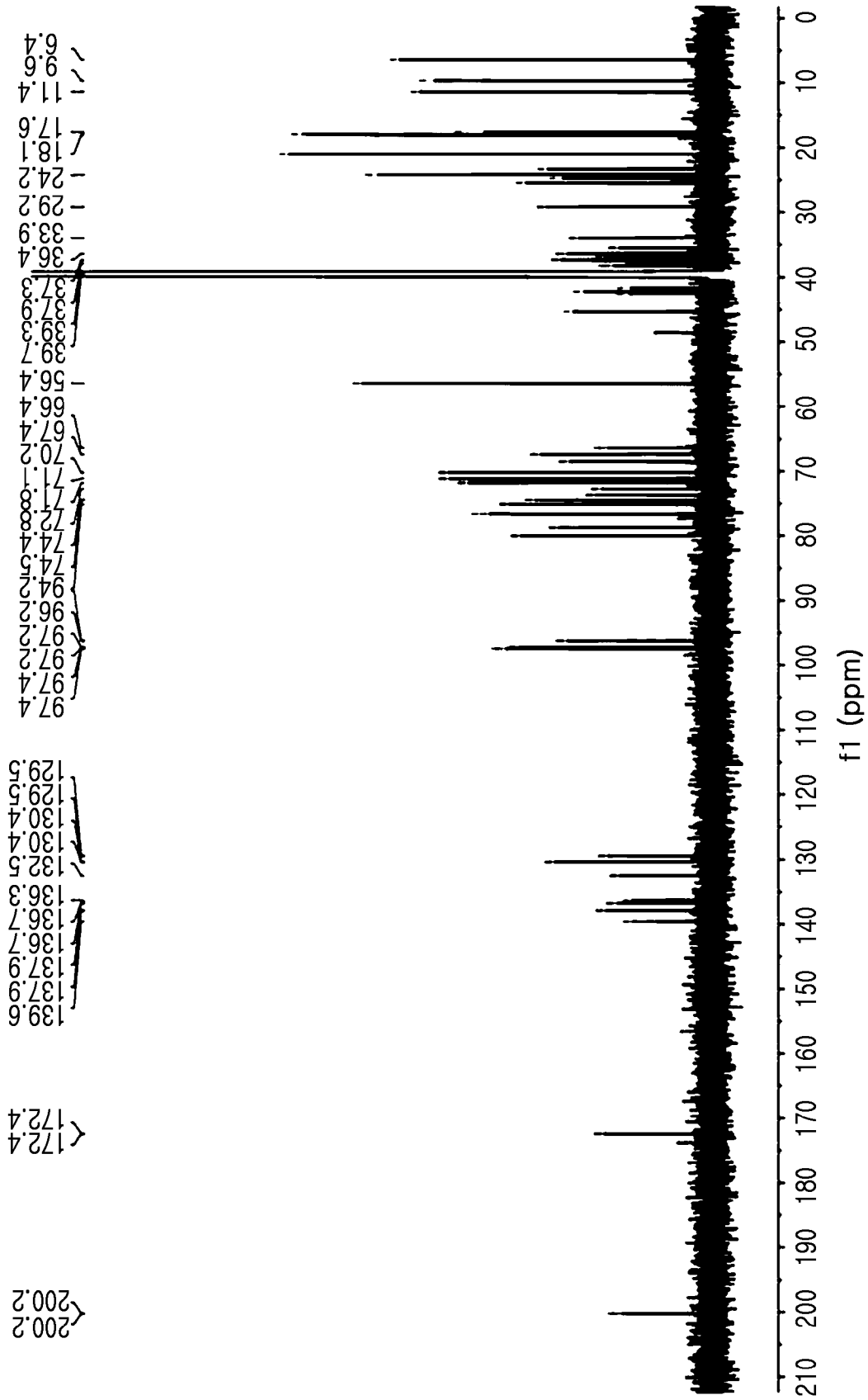
[도4]



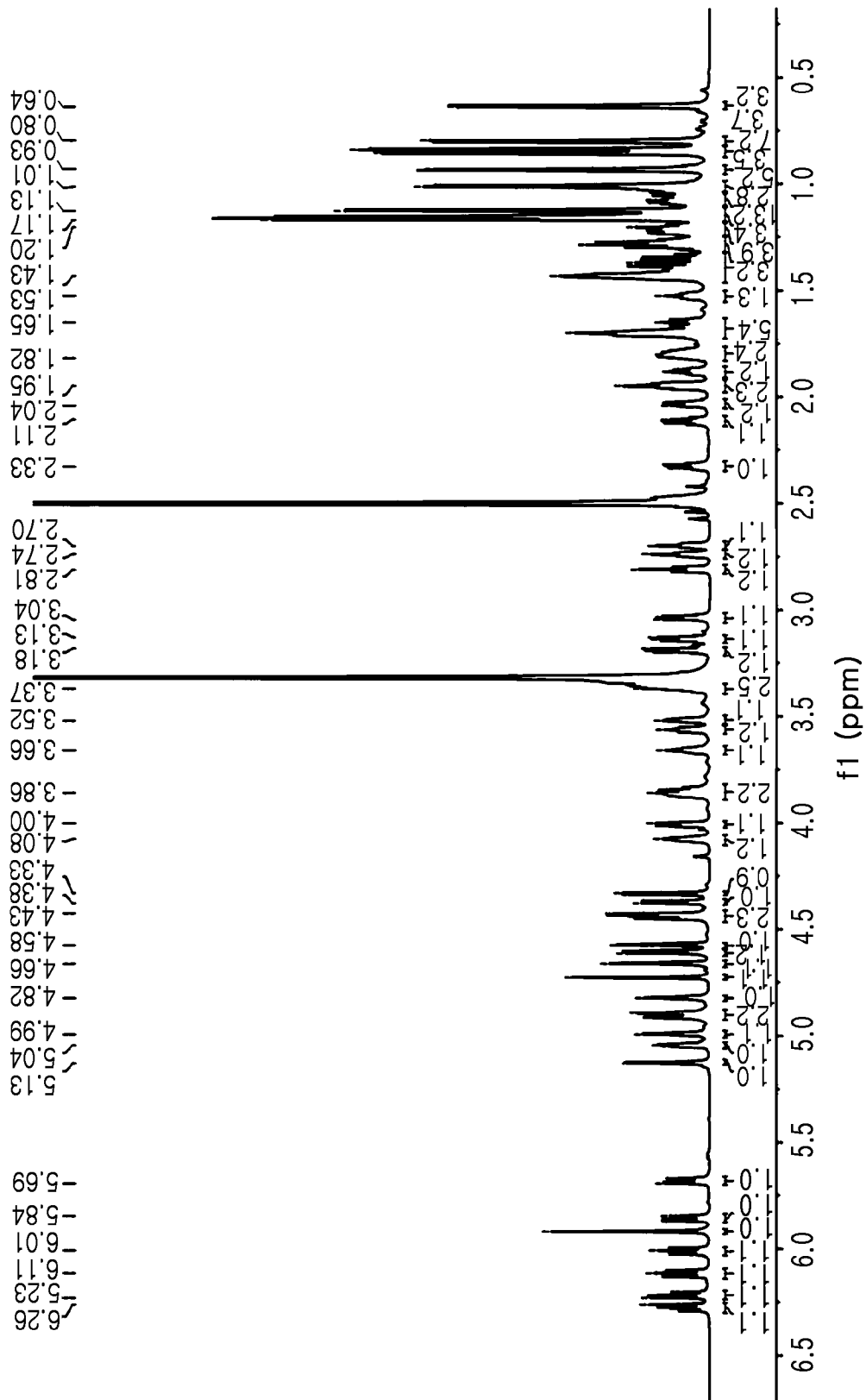
[도5]



[도6]



[도7]



[도8]

