



등록특허 10-2167324



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년10월20일
(11) 등록번호 10-2167324
(24) 등록일자 2020년10월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/64 (2006.01) *A61K 31/65* (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 7/64 (2013.01)
A61K 31/65 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7005848
(22) 출원일자(국제) 2013년08월07일
심사청구일자 2018년07월04일
(85) 번역문제출일자 2015년03월05일
(65) 공개번호 10-2015-0038612
(43) 공개일자 2015년04월08일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2013/066530
(87) 국제공개번호 WO 2014/023757
국제공개일자 2014년02월13일
(30) 우선권주장
12005744.3 2012년08월08일
유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌
JP2009523713 A*
KR1020100014596 A
Annals of Clinical & Laboratory Science, Vol.
41, No. 1, pp. 39-43(2011.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 11 항

심사관 : 노은주

(54) 발명의 명칭 백본-고리형 펩타이드와의 조합물

(57) 요 약

식 (I): cyclo(-Thr-Trp-Ile-Dab-Orn-^DDab-Dab-Trp-Dab-Dab-Ala-Ser-^DPro-Pro)의 β -헤아핀 펩티도모방체와 글리실사이클린 클래스의 화합물, 특히 티게사이클린을 포함하며, 각각의 화합물의 단독 투여시 보다 낮은 용량으로 인간 또는 동물에서 특이적인 박테리아 감염을 치료학적으로 방제할 수 있는, 새로운 조합물에 관한 것이다. 상기 조합물은 예를 들어 피부나 연조직 감염; 눈, 귀, 혈류 또는 복막내 감염; 호흡 질환, 골 질환, 심혈관 질환, 비뇨생식기 질환 또는 위장 질환과 관련 감염을 치료하기 위한 약제로서 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 38/12 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

식 (I)의 β -헤어핀 펩티도모방체 (β -hairpin peptidomimetic); 및 티게사이클린 (tigecycline), 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물 또는 용매화물 을 포함하는 항균용 조합물:

cyclo(-Thr-Trp-Ile-Dab-Orn-^DDab-Dab-Trp-Dab-Dab-Ala-Ser-^DPro-Pro)(I),

상기 식 (I)에서,

Dab는 (S)-2,4-다이아미노부탄산이고;

^DDab는 (R)-2,4-다이아미노부탄산이고;

Orn은 (S)-2,5-다이아미노펜탄산임.

청구항 2

제1항에 있어서, 의약에 사용하기 위한 것임을 특징으로 하는 조합물.

청구항 3

제1항에 있어서, 인간 또는 동물에서 감염 또는 상기 감염과 관련된 질환의 치료용인 것을 특징으로 하는 조합물로서, 상기 감염과 관련된 질환이 인공 호흡기성 폐렴 (VAP), 병원성 폐렴 (HAP), 의료 시설성 폐렴 (HACP), 폐렴, 낭포성 섬유증, 폐기종, 천식, 수술 상처, 외상성 상처, 화상 상처, 각막염, 안내염, 이염, 뇌농양, 수막염, 골연골염, 골수염, 심내막염, 심낭염, 폐혈증, 부고환염, 전립선염, 요도염, 유행성 설사, 괴사성 장염, 맹장염, 위장염, 췌장염, 또는 세균성 복막염인, 조합물.

청구항 4

제1항에 있어서, 인간 또는 동물에서 감염 또는 상기 감염과 관련된 질환의 치료에 사용하기 위한 것임을 특징으로 하는 조합물로서, 상기 감염과 관련된 질환이 인공 호흡기성 폐렴 (VAP), 병원성 폐렴 (HAP), 의료 시설성 폐렴 (HACP), 폐렴, 낭포성 섬유증, 폐기종, 천식, 수술 상처, 외상성 상처, 화상 상처, 각막염, 안내염, 이염, 뇌농양, 수막염, 골연골염, 골수염, 심내막염, 심낭염, 폐혈증, 부고환염, 전립선염, 요도염, 유행성 설사, 괴사성 장염, 맹장염, 위장염, 췌장염, 또는 세균성 복막염인, 조합물.

청구항 5

제1항에 따른 조합물 및 하나 이상의 약제학적으로 불활성인 담체 (pharmaceutically inert carrier)를 포함하는 항균용 약학 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 경구, 국소, 경피, 주사, 주입, 볼, 경점막, 직장, 질, 폐 또는 흡입에 의한 투여를 위한 형태인, 약학 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

정제, 당의정제 (dragee), 캡슐제, 용액제 (solution), 액제 (liquid), 젤제 (gel), 경고제 (plaster), 크림제, 연고제, 시럽제, 슬러리제, 산제, 혼탁제, 스프레이제, 분무제 (nebulizer) 또는 좌제의 형태인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 인간 또는 동물에서 감염 또는 상기 감염과 관련된 질환의 치료용인 것을 특징으로 하는 약학 조성물로서, 상기 감염과 관련된 질환이 인공 호흡기성 폐렴 (VAP), 병원성 폐렴 (HAP), 의료 시설성 폐렴 (HACP), 폐렴, 낭포성 섬유증, 폐기종, 천식, 수술 상처, 외상성 상처, 화상 상처, 각막염, 안내염, 이염, 뇌농양, 수막염, 골연골염, 골수염, 심내막염, 심낭염, 폐혈증, 부고환염, 전립선염, 요도염, 유행성 설사, 괴사성 장염, 맹장염, 위장염, 췌장염, 또는 세균성 복막염인, 약학 조성물.

청구항 9

제6항에 있어서, 인간 또는 동물에서 감염 또는 상기 감염과 관련된 질환의 치료용인 것을 특징으로 하는 약학 조성물로서, 상기 감염과 관련된 질환이 인공 호흡기성 폐렴 (VAP), 병원성 폐렴 (HAP), 의료 시설성 폐렴 (HACP), 폐렴, 낭포성 섬유증, 폐기종, 천식, 수술 상처, 외상성 상처, 화상 상처, 각막염, 안내염, 이염, 뇌농양, 수막염, 골연골염, 골수염, 심내막염, 심낭염, 폐혈증, 부고환염, 전립선염, 요도염, 유행성 설사, 괴사성 장염, 맹장염, 위장염, 췌장염, 또는 세균성 복막염인, 약학 조성물.

청구항 10

제1항에 따른 식 (I)의 β -헤어핀 웨티도모방체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 파트; 및 티게사이클린 (tigecycline) 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 포함하는 파트를 포함하는 항균용 키트.

청구항 11

제10항에 있어서, 인간 또는 동물에서 감염 또는 상기 감염과 관련된 질환의 치료용인 것을 특징으로 하는 키트로서, 상기 감염과 관련된 질환이 인공 호흡기성 폐렴 (VAP), 병원성 폐렴 (HAP), 의료 시설성 폐렴 (HACP), 폐렴, 낭포성 섬유증, 폐기종, 천식, 수술 상처, 외상성 상처, 화상 상처, 각막염, 안내염, 이염, 뇌농양, 수막염, 골연골염, 골수염, 심내막염, 심낭염, 폐혈증, 부고환염, 전립선염, 요도염, 유행성 설사, 괴사성 장염, 맹장염, 위장염, 췌장염, 또는 세균성 복막염인, 키트.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 화합물 각각의 단독 투여시 보다 낮은 용량으로 인간 또는 동물에서 특이적인 박테리아 감염을 치료학적으로 방제할 수 있는, 화합물들의 조합물을 제공한다. 이러한 화합물들 중 하나는, β -헤어핀-유사 구조 (β -hairpin-like conformation)에 특이적인 구조적 제한을 제공하는 12개의 α -아미노산 잔기로 된 체인이 주형에 결합된, 병원체-특이적인 항생제 백본-고리형 웨타이드 (pathogen-specific antibiotic backbone-cyclized peptide)로서, 우수한 효능과 생체이용성을 나타내며, 특히 생체내 반감기가 길다.

배경 기술

[0002]

확립된 항생제에 대해 증가되고 있는 미생물 내성 문제는 새로운 작용방식을 가진 새로운 항균제의 개발에 집중적인 관심을 불러일으키고 있다 (H. Breithaupt, *Nat. Biotechnol.* 1999, 17, 1165-1169). 새롭게 등장한 하나의 항생제 부류는 천연 양이온성 웨타이드를 기초로 한다 (T. Ganz, R. I. Lehrer, *Mol. Medicine Today* 1999, 5, 292-297; R. M. Epand, H. J. Vogel, *Biochim. Biophys. Acta* 1999, 1462, 11-28). 이러한 웨타이드로는 이황화 결합된 β -헤어핀 웨타이드와 β -시트 웨타이드 (예, 프로테그린 [O. V. Shamova, H. A. Korneva, R. I. Lehrer, *FEBS Lett.* 1993, 327, 231-236], 타키플레신 [T. Nakamura, H. Furunaka, T. Miyata, F. Tokunaga, T. Muta, S. Iwanaga, M. Niwa, T. Takao, Y. Shimonishi, Y. J. Biol. Chem. 1988, 263, 16709-16713], 및 테펜신 *defensin* [R. I. Lehrer, A. K. Lichtenstein, T. Ganz, *Annu. Rev. Immunol.*

1993, 11, 105-128], 양친매성 α -나선 펩타이드 (예, 세크로핀 (cecropin), 더마셉틴 (dermaseptin), 마가인 (magainin) 및 멜리틴 (mellitin) [A. Tossi, L. Sandri, A. Giangaspero, *Biopolymers* 2000, 55, 4-30]), 뿐만 아니라 그외 선형 및 루프형 구조의 펩타이드를 포함한다. 양이온성 항균 펩타이드의 작용 기전은 아직 충분히 밝혀진 것은 아니지만, 이들의 주된 상호작용 부위는 미생물의 세포막이다 (H. W. Huang, *Biochemistry* 2000, 39, 8347-8352). 세포막이 이 물질에 노출되게 되면, 세포막은 투과화 (permeabilization)가 진행됨으로써, 빠르게 세포 사멸이 이루어진다. 그러나, 보다 복잡한 작용 기전, 예를 들어 수용체-매개 신호전달이 포함된 작용 기전은 없앨 수 없다 (M. Wu, E. Maier, R. Benz, R. E. Hancock, *Biochemistry* 1999, 38, 7235-7242; M. Scocchi, A. Tossi, R. Gennaro, *Cell. Mol. Sci.* 2011, 68, 2317-2330).

[0003]

이러한 수많은 양이온성 펩타이드의 항균 활성을 통상적으로는 수용액 또는 막-유사 환경에서 관찰되는 이들의 바람직한 2차 구조와 관련되어 있다 (N. Sitaram, R. Nagaraj, *Biochim. Biophys. Acta* 1999, 1462, 29-54). 핵 자기 공명 (NMR) 분광측정에 의한 구조 연구를 통해, 프로테그린 1 (A. Aumelas, M. Mangoni, C. Roumestand, L. Chiche, E. Despaux, G. Grassy, B. Calas, A. Chavanieu, A. *Eur. J. Biochem.* 1996, 237, 575-583; R. L. Fahrner, T. Dieckmann, S. S. L. Harwig, R. I. Lehrer, D. Eisenberg, J. Feigon, J. *Chem. Biol.* 1996, 3, 543-550) 및 타키플레신 I (K. Kawano, T. Yoneya, T. Miyata, K. Yoshikawa, F. Tokunaga, Y. Terada, S. J. Iwanaga, S. *J. Biol. Chem.* 1990, 265, 15365-15367) 등의 양이온성 펩타이드가 2개의 이황화 결합으로 인해 구속되어 명확한 β -헤어핀 구조를 취한다는 것이 밝혀졌다. 그러나, 이들의 높은 용혈 활성을 항생제로서의 광범위한 사용에 방해가 되었다. 최근 NMR을 이용한 구조 연구에서, 높은 용혈 활성이 고리형의 β -헤어핀-유사 분자의 높은 양친매성과 관련성이 있는 것이 분명하지만, 이의 구조와 양친매성을 조절함으로써 항균 활성과 용혈 활성을 분리할 수 있다는 것이 확인되었다 (L. H. Kondejewski, M. Jelokhani-Niaraki, S. W. Farmer, B. Lix, M. Kay, B. D. Sykes, R. E. Hancock, R. S. Hodges, *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 13181-13192; C. McInnes, L. H. Kondejewski, R. S. Hodges, B. D. Sykes, *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 14287-14294).

[0004]

최근들어, 이러한 설계 기준에 따라 일련의 항생제 화합물들이 WO2007079605, WO2007079597에 개시되었으며, 이들 화합물은 슈도모나스 에어루지노사 (*Pseudomonas aeruginosa*)에 특이적인 높은 효능과 낮은 용혈성을 겸비한 것이다. 이러한 화합물 시리즈는 이 컨셉을 도입한 WO2002070547 및 WO2004018503에서 일찍이 개시되었다. 이 문헌에 기술된 화합물에서, 백본-고리형 양이온성 펩타이드 모방체의 β -헤어핀 구조를 안정화함으로써 매우 선택적인 항균 활성을 나타내도록 하기 위해, 새로운 전략이 도입되었다. 이 방법은 주형에 펩타이드 루프 백본을 헤어핀 구조로 구속하는 기능을 가진 양이온성 및 소수성의 헤어핀 서열을 도입하는 것을 포함한다.

[0005]

이러한 타입의 주형-결합된 헤어핀 모방체 펩타이드는 또한 문헌들에 개시되어 있으며 (D. Obrecht, M. Altorfer, J. A. Robinson, *Adv. Med. Chem.* 1999, 4, 1-68; J. A. Robinson, *Syn. Lett.* 2000, 4, 429-441), 조합 병렬 합성법을 이용하여 β -헤어핀 펩티도모방체를 제조하는 방법이 확립되어 있다 (L. Jiang, K. Moehle, B. Dhanapal, D. Obrecht, J. A. Robinson, *Helv. Chim. Acta* 2000, 83, 3097-3112).

[0006]

다약제 내성 박테리아의 유행과 전파를 막아내기 위한 다른 방법은 흔히 사용되는 유형들로부터 항생제 물질을 변형시켜, 추가로 개발하는 것이다. 최근 몇년간 티게사이클린 (tigecycline)의 개발에 있어 상당한 성과가 달성되어, 글리사이클린으로 통칭되는 매우 강력한 새로운 클래스의 항생제가 구축되었다. 이러한 새로운 광범위 항생제 클래스는 호기성 내지 혐기성의 그람 양성 또는 그람 음성 박테리아 뿐만 아니라 비-정형 유기체 (atypical organism)에 대해 높은 항미생물 활성을 시험관내 검사에서 나타내었으며, 특히 반코마이신 내성 장구균 (vancomycin-resistant enterococci), 메티실린 내성 스타필로코커스 아우레우스 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), 페니실린 내성 스트렙토코커스 뉴모니아 (penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*) 및 여러 종의 다약내 내성 그람 음성 박테리아에 대한 항미생물 활성에 중요하다 (G. A. Pankey, *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, 56, 470-480). 생체내 연구와 임상 실험을 통해 고 효능을 검증할 수 있었으며, 현재 시판 허가가 승인된 일련의 증상들에 대한 우호적인 안전성 프로파일이 확립되었다 (Y. Cai, R. Wang, B. Liang, N. Bai, Y. Liu, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011, 55, 1162-1172; D. Yahav, A. Lador, M. Paul, L. Leibovici, *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011, 66, 1963-1971; E. Tasina, A. B. Haidich, S. Kokkali, M. Arvanitidou, *Lancet Infect. Dis.*, 2011, 11, 834-844).

[0007]

그러나, 티게사이클린을 광범위 항생제로서 치료학적으로 사용하는 것은 아직까지 완벽하지 않으며, 예를 들어 슈도모나스 에어루지노사 등의 저 반응성 병원체가 빠져나갈 수 있는 틈이 존재하고 있다. 뿐만 아니라 티게사이클린은 위험-효용 비가 좋지 않아, 일부 병원내 감염, 예컨대 병원성 폐렴에 대한 사용이 제한적이다. 따라서, 글리실사이클린 클래스의 항생제를 대표하는 티게사이클린의 치료학적 범위를 확장시키는 것이 매우 유익할

것이다.

[0008] 이는, 일 예로, 티게사이클린에 대한 감수성 브레이크포인트 (susceptibility breakpoint)가 높은 박테리아로까지 효능을 확장하는 치료 옵션에 의해 달성될 수 있거나, 또는 지금까지 위험-효용 비가 좋지 않은 것으로 판정된 임상 사례들에서 치료제의 유효성을 낮출 수 있다. 티게사이클린 단일요법의 문제점을 극복하기 위한 임상 상황에서의 표준적인 접근 방식은 약물을 보완 항생제와 조합하는 것이다.

[0009] 2종의 약제 활성 성분들을 개별적으로 그리고 이를 조합하였을 때의 생물학적 효능을 파악하기 위해, 역사적으로 여러가지 방법들이 채택되어왔다 (E. Jawetz, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1967; 203-209; T.-C. Chou, P. Talalay, *Adv. Enzyme Regul.*, 1984, 22, 27-55). 그 과정에서, 특히 항생제에 대해 판찰되는 약물-약물 상호작용을 분류하는데에는 광범위하게 일치된 의견에 도달하게 되었다. 기본적으로 용량 조합-반응 효과의 양에 따른 용어법에 따라, 1종의 활성 성분이 서로 각각 독립적으로 거동하며, 비슷한 협력 작용 (joint action)을 하는 경우, 약물-약물 상호작용은 "상가적 (additive)" 또는 "무관 (indifferent)"한 것으로 표시된다. 적용되는 활성 화합물들이 서로 부정적인 영향을 나타낼 수 있으며, 기본적으로 서로 상충되는 경우에는, "길항성"이라는 용어로 표시된다. 마지막으로, "상승적"이라는 용어는 용량-반응이 각 개별 약물 단독 투여시의 고유 수준 보다 높게 현저하게 강화되는 경우에 사용된다 (J. M. T. Hamilton-Miller, *J. Antimicrob. Chemother.*, 1985, 15, 655-657; G. M. Eliopoulos, R. C. Moellering Jr., "Antibiotics in laboratory medicine", 1991, 3rd Ed., The William & Wilkins Co., 432-492).

[0010] 특히 항생제의 약물-약물 상호작용은 여러가지 임상 및 전임상 단계들에서 분석할 수 있다. 현재 가장 널리 사용되는 항생제 조합을 검사하는 시험관내 방법은 분할된 저해 농도 인덱스 (fractional inhibitory concentration index)를 만드는 체커보드 기법 (checkerboard technique)과 사멸 곡선 방법 (killing curve method)이다 (H. O. Hallender et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1982; 22, 743-752; M. J. Hall et al., *J. Antimicrob. Chemother.*, 1983, 11, 427-433). 기본적으로 동일한 원리에 몇가지 기법들이 추가되는데 (예, R. C. Li et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993; 37, 523-531; Chr. C. Sanders et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993; 37, 260-264), 이 검사의 의도는 주로 임상 실무에서 길항성 조합의 사용을 방지하거나 또는 임상적인 용도로 잠재적인 상승 조합을 동정하는데 있다. 그러나, 시험관내 기법들 모두 표준화가 덜된 편이고, 특히 생체내 상황에 대한 예측력이 부족하기 때문에 지금까지 어려움을 겪고 있다. 따라서, 공동-투여되는 약제학적 조성물의 효능을 직접 평가하는 생체내 실험이 강력하게 권고되고 있다.

[0011] 티게사이클린의 경우, 매우 상당한 수의 다른 항박테리아제와의 조합이 광범위한 감수성 및 다약제 내성의 그램 양성 및 그램 음성 박테리아를 대상으로 조사되었다 (J. M. Entenza, P. Morreillon, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2009, 34, 8.e1-8.e9). 시험관내에서 대부분의 조합들이 주로 무관한 반응을 나타내었으며, 즉, 상승 또는 길항성은 판찰되지 않았다.

[0012] 하지만, 일부 몇몇 조합들은 특정 박테리아 분리주들에 대해 상승적인 작용을 나타내었다.

[0013] 이에, 환자에 대한 우수한 위험-효용 비로, 병원체를 치료하기 어려운 상황을 타개하기 위한, 혼행 대책에 대한 보완 필요성이 증대되고 있다. 따라서, 생체내에서 강력한 상승 작용을 제공하는 조합은 상당한 진일보를 제공할 것이다.

발명의 내용

[0014] 본 발명은 식 (I)의 β -헤어핀 켈티도모방체와, 글리실사이클린 클래스, 특히 티게사이클린 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물 또는 용매화물을 포함하는, 새로운 조합을 제공한다:

[0015] cyclo(-Thr-Trp-Ile-Dab-Orn-^DDab-Dab-Trp-Dab-Dab-Ala-Ser-^DPro-Pro) (I),

[0016] 상기 식 (I)에서,

[0017] Dab는 (S)-2,4-다이아미노부탄산이고;

[0018] ^DDab는 (R)-2,4-다이아미노부탄산이고;

[0019] Orn은 (S)-2,5-다이아미노펜탄산이고;

[0020] D-아미노산 잔기로 명시적으로 기재되지 않은 경우, 그외 아미노산 잔기들 모두 L-아미노산 잔기이며, 표준

IUPAC 명명법을 따른다.

- [0021] 의심의 여지를 피하기 위해, 이하 본 발명의 목적에 적합하며 본원에 언급되는 아미노산 또는 잔기들에 대해 일반적으로 적용되는 통례적인 실무에 대해 약어 리스트를 표시한다.
- [0022] 서술자 L과 D, 예컨대 ^DPro에서 D는 각각 α -아미노산의 α -위치에서의 입체구조를 나타내며, IUPAC의 피셔-로사노프 협약 (Fischer-Rosanoff convention)에 따라 사용된다.
- | | | | |
|--------|------------------|--------|-----------------------------|
| [0023] | Ala | L-알라닌 | (S)-2-아미노프로판산 |
| [0024] | Ile | L-이소루신 | (2S,3S)-2-아미노-3-메틸펜탄산 |
| [0025] | Orn | L-오르니틴 | (S)-2,5-다이아미노펜탄산 |
| [0026] | Pro | L-프롤린 | (S)-2-피롤리딘카르복시산 |
| [0027] | ^D Pro | D-프롤린 | (R)-2-피롤리딘카르복시산 |
| [0028] | Ser | L-세린 | (S)-2-아미노-3-하이드록시프로판산 |
| [0029] | Thr | L-트레오닌 | (2S,3R)-2-아미노-3-하이드록시부탄산 |
| [0030] | Trp | L-트립토판 | (S)-2-아미노-3-(1H-인돌-3-일)프로판산 |
| [0031] | Dab | | (S)-2,4-다이아미노부탄산 |
| [0032] | ^D Dab | | (R)-2,4-다이아미노부탄산. |
- [0033] 다른 구현예에서, 본 발명은 동일 화합물의 단독 투여시 보다 식 (I)의 β -헤어핀 웨티도모방체의 낮은 용량에서 인간 또는 동물에 특이적인 박테리아 감염을 치료학적으로 방제할 수 있는, 화합물들의 조합을 제공한다.
- [0034] 본 발명의 화합물들의 조합물은, 미생물 증식을 저해하거나 사멸시켜, 사람에서 또는 다른 척추동물들에서 비슷한 병인성으로 인해, 바람직한 치료 효과를 발생시키기 위해, 광범위한 용도로 사용될 수 있다. 특히, 청구한 조합물은 호기성 또는 혐기성, 그람 양성 또는 그람 음성 박테리아 거대 패널의 미생물, 또는 비-정형 유기체 (atypical organism), 특히 반코마이신 내성 장구균, 메티실린 내성 스타필로코커스 아우레우스, 페니실린 내성 스트렙토코커스 뉴모니아 및 슈도모나스 에어루지노사 (*Pseudomonas aeruginosa*)의 증식을 저해하거나 사멸시키는데 사용될 수 있다.
- [0035] 감염, 또는 이러한 감염과 관련된 질환, 특히 인공 호흡기성 폐렴 (VAP), 병원성 폐렴 (HAP), 의료 시설성 폐렴 (HACP)과 같은 질환과 관련된 병원내 감염; 요로 감염 (UTL) 등의 카테터-관련 및 바-카테터-관련 감염; 폐렴, 낭포성 섬유증, 폐기종 및 천식 등의 호흡 질환과 관련된 감염; 수술 상처, 외상성 상처 및 화상 상처 등의 피부 또는 연조직 질환과 관련된 감염; 각막염 및 안내염 등의 눈 질환 관련 감염; 이염 등의 귀 질환 관련 감염; 뇌농양 및 수막염 등의 CNS 질환 관련 감염; 골연골염 및 골수염 등의 골 질환 관련 감염; 심내막염 및 심낭염 등의 심혈관 질환 관련 감염; 폐혈증 등의 혈류 감염 (BSI); 부고환염, 전립선염 및 요도염 등의 비뇨생식기 질환 관련 감염; 유행성 설사, 과사성 장염, 맹장염, 위장염 또는 췌장염 등의 위장 질환 관련 감염; 또는 세균성 복막염 등의 복막내 감염을 치료 또는 예방하는데 사용되는 경우, 본 발명의 조합물의 구성성분으로서 화합물 또는 이들 각각의 약학 조성물은, 하나 또는 분리된 물리적 물질로서 동시에 뿐만 아니라 순차적으로, 즉, 투약 용법에 따라 특정 시간 간격으로 투여될 수 있다.
- [0036] 따라서, 이들 성분들은 본 발명의 "부품 키트 (kit-of-parts)"로서 구체적인 구현예를 형성하는 상승적인 방식으로 기능적인 단일체로서 작용하는 것으로 명확하게 이해된다.
- [0037] 본 발명의 화합물을 각각 또는 조합하여 포함하는 약학 조성물은, 통상적인 박성, 용해, 과립화, 코팅 정제-제조, 레비게이팅 (levigating). 유화, 캡슐화, 포집 (entrapping) 또는 동결건조 공정을 이용하여 제조할 수 있다. 약학 조성물은, 활성 성분들을 약제학적으로 이용가능한 조제물로의 가공을 용이하게 만드는, 하나 이상의 생리학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 부형제 또는 보조제를 이용하여 기존 방식으로 제형화할 수 있다. 적정 제형은 선택한 투여 방법에 따라 결정된다.
- [0038] 국소 투여의 경우, 본 발명의 약제학적인 활성 화합물을, 용액제, 젤제, 연고제, 크림제, 혼탁제 등의 당해 기술 분야에 널리 공지된 바와 같이 제형화할 수 있다.

- [0039] 전신용 제형은 주입에 의해 투여하도록 설계된 제형을 포함하며, 예로 예컨대 피하, 정맥내, 근육내, 척수강내 또는 복막내 주입 뿐만 아니라 경피, 경점막, 경구 또는 폐 투여용으로 설계된 제형을 포함한다.
- [0040] 주사의 경우, 본 발명의 화합물은 적절한 용액, 바람직하게는 행크 용액, 링거액 또는 생리 식염수 완충액 등의 생리학적으로 적합한 완충제에서 제형화할 수 있다. 용액은 혼탁화제, 안정화제 및/또는 분산화제 등과 같은 제형제 (formulatory agent)를 포함할 수 있다. 다른 예로, 본 발명의 활성 약제 성분은 사용전에 적정 비히클, 예컨대 무균성의 발열원 제거 수(pyrogen-free water)에 조합하는 분말 형태일 수 있다.
- [0041] 경점막 투여용인 경우, 통과할 장벽에 적합한 침투제가 당해 기술 분야에 공지된 바와 같이 제형에 사용된다.
- [0042] 경구 투여용인 경우, 본 발명의 화합물은 당해 기술 분야에 널리 공지된 약제학적으로 허용가능한 담체와 조합함으로써 쉽게 제형화할 수 있다. 이를 담체는 본 발명의 화합물을 치료할 환자에서 경구로 섭취하기 위한 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액체, 갤제, 시럽제, 슬리리제, 혼탁제 등으로 제형화할 수 있다. 산제, 캡슐제 및 정제 등의 경구 제형의 경우, 적합한 부형제로는 락토스, 슈크로스, 만니톨 및 소르비톨 등의 당과 같은 충진제; 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 검, 메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸 셀룰로스, 소듐 카르복시-메틸-셀룰로스 및/또는 폴리비닐피롤리돈 (PVP) 등의 셀룰로스 조제물; 과립화제; 및 결합제를 포함한다. 필요에 따라, 가교된 폴리비닐피롤리돈, 아가 또는 알긴산 또는 이의 염, 예로 소듐 알기네이트 등의 봉해제가 첨가될 수 있다. 필요에 따라, 고체 투약 형태는 표준 기법으로 당-코팅되거나 또는 장용-코팅될 수 있다.
- [0043] 예를 들어, 혼탁제, 엘리서제 및 용액제 등의 경구 액체 조제물인 경우, 적합한 담체, 부형제 또는 희석제로 물, 글리콜, 오일, 알코올 등을 포함한다. 아울러, 착향제, 보존제, 착색제 등도 첨가될 수 있다.
- [0044] 복 투여용인 경우, 조성물은 통상적으로 정제되는 정제, 로젠제 등의 형태를 취할 수 있다.
- [0045] 흡입 투여용인 경우, 본 발명의 화합물은 가압 팩 또는 분무기로부터, 적정 추진제, 예컨대 다이클로로다이플루오로메탄, 트리클로로-플루오로-메탄, 탄소 다이옥사이드 또는 다른 적정 가스를 이용하여, 에어로졸 스프레이 형태로 쉽게 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하기 위한 밸브를 구비함으로써 측량될 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 캡슐제 및 카트리지 예로, 젤라틴은 본 발명에 따른 화합물의 분말 믹스와 락토스 또는 스타치 등의 적정 분말 기재를 포함하도록 제형화될 수 있다.
- [0046] 또한, 화합물은, 코코아 버터 또는 그외 글리세라이드 등의 적정 좌제 베이스와 함께, 관장 또는 좌제용 액체 등의 직장 또는 질 조성물로 제형화될 수 있다.
- [0047] 전술한 제형들 외에도, 본 발명의 조성물은 데포트 (depot) 조제물로서 제형화될 수 있다. 이러한 장기 작용 제형은 이식 (예, 피하 또는 근육내)에 의해 또는 근육내 주입에 의해 투여될 수 있다. 이러한 데포트 조제물의 제조시, 본 발명의 화합물은 적정 폴리머 물질 또는 소수성 물질 (예, 허용가능한 오일 중의 유제) 또는 이온 교환 수지 또는 난용성 염 (sparingly soluble salt)을 이용하여 제형화할 수 있다.
- [0048] 아울러, 당해 기술 분야에 널리 공지된 리포倨 및 유제 등의 다른 약제학적 전달 시스템도 채택될 수 있다. 다이메틸설포사이드 등의 특정 유기 용매도 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 약제학적 활성 화합물은 치료제제를 담고 있는 고형 폴리머로 된 반투과성 매트릭스와 같이, 서방형 시스템을 이용하여 전달할 수 있다. 다양한 서방성 물질들이 확립되고 있으며, 당해 기술 분야의 당업자라면 잘 알 것이다. 서방형 캡슐제는, 화합물의 특성에 따라, 수일에서 3년 동안 화합물을 방출할 수 있다. 치료 제제의 화학적 특성과 생물학적 안정성에 따라, 단백질 안정화와 유사한 추가적인 전략이 적용될 수 있다.
- [0049] β -헤어핀 웨티도모방체 뿐만 아니라 본 발명의 글리실사이클린 클래스의 화합물들은 하전된 잔기를 포함하며, 각각 서브-구조를 포함할 수 있으므로, 이들은 독립적으로 그대로 또는 약제학적으로 허용가능한 염으로서 전술한 상기한 제형들 중 임의의 제형에 포함될 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염은 대응되는 유리 염기 형태보다는 수성의 다른 양자성 용매에 더 용해되는 경향을 보인다.
- [0050] 아울러, 본 발명의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 그대로 사용되거나 또는 용매를 여러가지 함량을 포함하거나 포함하지 않는 형태학적으로 다른 고상 형태로, 예컨대 결정화 공정에서 남게되는 수화물 형태로 임의의 적정 제형으로 사용될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 β -헤어핀 웨티도모방체 뿐만 아니라 글리실사이클린 클래스 화합물, 또는 이의 조성물은, 일반적으로, 의도한 목적을 달성하는데 유효한 양으로 사용될 것이다. 사용량은 구체적인 용어에 따라 결정되는 것으로

이해된다.

[0052] 미생물 감염 또는 상기한 감염과 관련된 질환을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위해, 본 발명의 화합물 또는 이의 조성물은 치료학적 유효량으로 투여 또는 적용된다. 치료학적 유효량이라는 것은 미생물 감염 또는 이와 관련된 질환의 증상을 완화하거나, 상기한 감염 또는 질환을 완화, 치료 또는 예방하는데 유효한 양을 의미한다. 치료학적 유효량은 당해 기술 분야의 당업자의 판단 하에서 결정된다.

[0053] 전신 투여용인 경우, 치료학적 유효량은 먼저 시험관내 분석을 통해 추정할 수 있다. 예를 들어, 세포 배양에서 결정된 IC_{50} (즉, 시험 화합물이 세포 배양물의 50%를 사멸시키는 농도), 세포 배양에서 결정된 MIC (즉, 시험 화합물이 미생물의 가시적인 증식을 억제하는 농도)를 포함하는 활성 약제 성분의 순화 농도를 달성하도록, 어떤 용량을 동물 모델에서 제형화할 수 있다. 처음 용량은 생체내 데이터로부터, 예컨대 동물 모델에서 당해 기술 분야에 널리 공지된 기법, 예컨대 실시예 파트에 기술된 바에 따라 결정할 수 있다. 당해 기술 분야의 기술을 가진 당업자라면 동물 데이터를 기반으로 인간에 대한 투여를 쉽게 최적화할 수 있다.

[0054] 사용되는 활성 성분의 유효량은 사용되는 구체적인 화합물 또는 약학 조제물, 투여 방식 및 치료하는 증상의 정도와 타입에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 투약 용법은 투여 경로 및 소거 경로, 예컨대 환자의 신장 및 간 기능 등의 인자들에 따라 정해진다. 당해 기술 분야의 의사, 임상학자 또는 수의학자는 증상 또는 질환을 예방, 완화 또는 진행을 정지시키는데 필요한 활성 성분 각각의 또는 이들의 조합의 양을 쉽게 결정 및 처방할 수 있다. 독성없이 활성 성분의 농도를 결정하는데 최상의 정밀성은 활성 성분의 타겟 부위에서의 이용성 카이네틱스에 근거한 용법 (regimen)을 필요로 한다. 이는 활성 성분의 분포, 평형 및 소거의 고려를 수반한다.

[0055] 국부 투여 또는 선택 흡수의 경우, 본 발명에 따른 화합물의 국소 유효 농도는 혈장 농도와 무관할 수 있다. 당해 기술 분야의 기술을 가진 당업자라면 과도한 실험없이도 치료학적으로 유효한 국소 용량을 최적화할 수 있을 것이다.

[0056] 본 발명에 따른 각각의 화합물 또는 이들의 조합에 대해, 임상 환경에서의 약제로서의 효능, 용량, 투약 용법 및 일반적인 치료 인덱스를 결정하는 추가적인 파라미터들은 다양한 시험관내 분석으로 미리-평가할 수 있다. 이들 주요 파라미터들 중 몇가지로는 예컨대 최소 살세균 농도, 최소 저해 농도, 항생제 사멸 곡선, 세포독성, 용혈, 혈장 안정성, 각각의 혈장 반감기, 미크로솜 안정성, 약물 대사 (약물-약물 상호작용을 포함함), 단백질 결합, 막 투과성, 용해성 등이 있다.

[0057] 이제 본 발명은 아래 실시예를 들어 보다 상세하게 설명될 것이며, 이들 실시예들은 단지 예시하기 위한 것일 뿐 어떠한 방식으로도 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되진 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0058] 실시예

[0059] 생체내 효능 검사:

[0060] 슈도모나스 에어루지노사 PAX11045에 대한 뮤라인 폐렴 모델에서의 효능 및 ED_{50} 추정

[0061] 참조 1

[0062] 식 (I)의 화합물 ("화합물 1")의 효능과 ED_{50} 은 슈도모나스 에어루지노사의 임상 분리주 PAX11045에 대해 마우스 폐렴 모델에서 측정하였다. 폐와 비장에서의 콜로니 카운트는 처리 후 20시간째에 측정하였다.

[0063] 마우스 감염

[0064] 5 % 말 혈액 아가 플레이트에서 하룻밤 배양한 신선한 PAX11045 콜로니를 0.9 % 멸균 식염수에 대략 10^8 CFU/ml로 혼탁하고, 다시 대략 5×10^7 CFU/ml로 희석하였다. 암컷 마우스 (DBA/2, 비근교계, 18-22 g, Charles River)를 콜레틸 (틸레타민 + 콜라제팜) 0.08 ml로 마취하고, 대략 10^6 CFU를 포함하는 박테리아 혼탁액 0.05 ml을 파이펫을 사용해 코를 통해 접종하였다. 접종하고 4시간 후, 통증 완화를 위해 마우스에 뉴로펜 45 μ l (20 mg 이부프로펜/ml, 이는 약 30 mg/kg에 해당됨)를 경구 처리하였다.

[0065] 마우스에 화합물 1의 처리

[0066] 활성 화합물 1이 10 mg 든 바이알 2개를 0.9 % 멸균 식염수 2.25 ml에 각각 4.5 mg/ml 농도로 용해하였다. 바

이얼 하나는 다시 식염수로 2.25, 1.125, 0.56 및 0.28 mg/ml로 2배 희석하였다. 감염 4시간 후, 마우스의 목 부위에 1회 투여로 0.2 ml을 피하 투여하였으며, 용량은 평균 마우스 체중 20 g을 토대로 계산하였다. 양성 대조군으로서 시프로플로사신을 고정 용량 19 mg/kg으로 동일한 방식으로 사용하였다.

[0067] 샘플링

[0068] 콜로니 카운트는 접종 후 4시간 (비-치료 마우스) 및 24시간 (치료 마우스 및 비히클 단독 처리 마우스)에 측정하였다. 마우스의 안락사 직후에 폐와 비장을 취하여, -20°C에서 냉동시켰다. 이를 해동한 후, 장기를 0.9% 식염수 1 ml에서 균질화하였다. 그런 후, 각 샘플을 식염수에서 10배 희석하고, 20 μ l 스팟을 혈액 아가 플레이트 상에 점적하였다. 아가 플레이트 모두 주위 공기 하 35°C에서 18-48시간 배양하였다.

[0069] CFU 카운트

[0070] 접종물내 CFU/ml은 7.92 \log_{10} CFU/ml로 측정되었으며, 이는 6.62 \log_{10} CFU/마우스에 해당된다.

[0071] 감염 후 4시간째에, 평균 \log_{10} CFU/폐는 5.28이고, CFU 수준은 비히클-단독 그룹에서의 24시간 이후의 수준과 비슷한 수준으로 유지되었다. 비장에서 아날로스 베이스라인 데이터를 수집하였으며, 비히클-단독 그룹의 경우, 4시간째의 평균 \log_{10} CFU/비장은 1.96이었고, 24시간 후 2.60으로 증가하였다.

[0072] 화합물 1 처리 결과, 양쪽 장기에서 CFU 수준이 비히클 처리군에 비해 농도 의존적인 방식으로 유의하게 감소하였다 (더 높은 농도의 경우 $p<0.001$). 또한, 시프로플로사신 (19 mg/kg)은 박테리아 부하를 낮추는데 강력한 효과를 발휘하였다 ($p<0.001$).

[0073] 시그모이드형 용량-반응 모델 (가변성 슬로프)을 이용한 화합물 1의 뮤라인 폐에서 PAX11045에 대한 용량-반응 곡선 평가에서 ED_{50} 은 4.33 mg/kg으로 추정되었다. 아래 표 1은 해당 효능 값을 요약 개시한다.

[0074] 실시예 1:

[0075] 식 (I)의 화합물 ("화합물 1")의 티게사이클린과의 조합시, 그 효능과 ED_{50} 은 슈도모나스 에어루지노사의 임상 분리주 PAX11045에 대해 마우스 폐렴 모델에서 측정하였다. 폐와 비장에서의 콜로니 카운트는 처리 후 20시간 째에 측정하였다.

[0076] 마우스 감염

[0077] 5 % 말 혈액 아가 플레이트에서 하룻밤 배양한 신선한 PAX11045 콜로니를 0.9 % 멸균 식염수에 대략 10^8 CFU/ml로 혼탁하고, 다시 대략 5×10^7 CFU/ml로 희석하였다. 암컷 마우스 (DBA/2, 비근교계, 18-22 g, Chales River)를 졸레틸 0.08 ml로 마취하고, 대략 10^6 CFU를 포함하는 박테리아 혼탁액 0.1 ml을 파이펫을 사용해 코를 통해 접종하였다. 접종하고 4시간 후, 통증 완화를 위해 마우스에 뉴로펜 45 μ l (20 mg 이부프로펜/ml, 이는 약 30 mg/kg에 해당됨)를 경구 처리하였다.

[0078] 마우스에 티게사이클린 처리

[0079] 티게사이클린 (Tygacil, Wyeth) 53 mg을 0.9 % 멸균 식염수 5.3 ml에 10 mg/ml 농도로 용해하고, 다시 식염수로 1.25 mg/ml로 희석하였다. 감염 3시간 후, 마우스의 목 부위에 1회 투여로, 평균 마우스 체중 20 g을 토대로 12.5 mg/kg에 해당되는 0.2 ml을 피하 투여하였다.

[0080] 마우스에 화합물 1의 처리

[0081] 활성 화합물 1이 5 mg 든 바이얼 2개를 0.9 % 멸균 식염수 2.5 ml에 2 mg/ml 농도로 각각 용해하였다. 바이얼 하나는 다시 식염수로 1.1, 0.55, 0.275 및 0.137 mg/ml로 희석하였다. 감염 4시간 후, 마우스의 목 부위에 1회 투여로 0.2 ml을 피하 투여하였으며, 용량은 평균 마우스 체중 20 g을 토대로 계산하였다. 양성 대조군으로서 시프로플로사신을 고정 용량 20 mg/kg으로 동일한 방식으로 사용하였다.

[0082] 샘플링

[0083] 콜로니 카운트는 접종 후 4시간 (비-치료 마우스) 및 24시간 (치료 마우스 및 비히클 단독 처리 마우스)에 측정하였다. 마우스의 안락사 직후에 폐를 취하여, -20°C에서 냉동시켰다. 이를 해동한 후, 장기를 0.9% 식염수 1 ml에서 균질화하였다. 그런 후, 각 샘플을 식염수에서 10배 희석하고, 20 μ l 스팟을 혈액 아가 플레이트 상에

점적하였다. 아가 플레이트 모두 주위 공기 하 35°C에서 18-24시간 배양하였다.

[0084] CFU 카운트

[0085] 접종물내 CFU/ml은 $7.6 \log_{10}$ CFU/ml로 측정되었으며, 이는 $6.3 \log_{10}$ CFU/마우스에 해당된다.

[0086] 비히클-단독 그룹의 경우, 감염 후 4시간째의 평균 \log_{10} CFU/폐는 6.13이고, 24시간 이후의 CFU 수준은 비슷한 수준으로 유지되었다.

[0087] 화합물 1과 티게사이클린의 조합 처리 결과, CFU 수준이 비히클 처리군에 비해 농도 의존적인 방식으로 유의하게 감소하였다 ($p<0.001$). 또한, 시프로플로사신 (20 mg/kg)도 박테리아 부하를 낮추는데 강력한 효과를 발휘하였다 ($p<0.001$).

[0088] 티게사이클린 단독 처리 (12.5 mg/kg)는 박테리아 부하 저하에 영향을 미치지 않았다.

[0089] 시그모이드형 용량-반응 모델 (가변성 슬로프)을 이용한 뮤라인 폐에서, 고정 용량의 티게사이클린 (12.5 mg/kg)의 존재 시, PAX11045에 대한 화합물 1의 용량-반응 곡선 평가에서 ED_{50} 은 1.33 mg/kg으로 추정되었다. 아래 표에 해당 효능 값을 요약 개시한다.

[0090] 표 1: 화합물 1의 효능 결과

표 1

	화합물 1	화합물 1 + 티게사이클린 12.5 mg/kg
최고	$1.3 \log_{10}$ CFU/ml	$0.13 \log_{10}$ CFU/ml
최저	$-2.2 \log_{10}$ CFU/ml	$-2.37 \log_{10}$ CFU/ml
E_{max}	$3.5 \log_{10}$ CFU/ml	$2.5 \log_{10}$ CFU/ml
ED_{50}	4.33 mg/kg	1.33 mg/kg
고정 용량 (Static dose)	1.55 mg/kg	0.74 mg/kg
1 log 사멸 용량	8.1 mg/kg	1.2 mg/kg
2 log 사멸 용량	20 mg/kg	2.1 mg/kg
R^2	0.55 - 0.75	0.77