



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0110181
(43) 공개일자 2018년10월08일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>C07D 498/04</i> (2006.01) <i>A61K 31/00</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/33</i> (2006.01) <i>A61K 31/395</i> (2006.01)
 <i>A61K 31/41</i> (2006.01) <i>A61K 31/424</i> (2006.01)
 <i>C07D 498/00</i> (2006.01) <i>C07D 498/02</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>C07D 498/04</i> (2013.01)
 <i>A61K 31/00</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-7027659(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2011년09월09일
 심사청구일자 없음</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2013-7009177
 원출원일자(국제) 2011년09월09일
 심사청구일자 2016년09월08일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2018년09월21일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2011/051064</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2012/034058
 국제공개일자 2012년03월15일</p> <p>(30) 우선권주장
 61/381,794 2010년09월10일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 쉘프라 파마슈티컬스, 인크.
 미국 27517 노스캐롤라이나주 채플 힐 스위트 360
 쿼드랭글 드라이브 6320</p> <p>(72) 발명자
 페레이라, 데이비드, 이.
 미국 노스캐롤라이나주 27502 에이펙스 랜스브루크 레인 103</p> <p>(74) 대리인
 특허법인아주</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 질환을 치료하기 위한 수소결합 형성 플루오로 케토라이드

(57) 요약

본 명세서에 기재된 발명은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 화학식 I: A-L-Q의 신규한 마크로라이드 항균제, 및 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 용매화물 및 수화물에 관한 것이다. 그 중에서도, 이 신규한 마크로라이드 항균제는 내성 종들을 포함하는 다수의 세균 종에 대항하여 활성이다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/33 (2013.01)

A61K 31/395 (2013.01)

A61K 31/41 (2013.01)

A61K 31/424 (2013.01)

C07D 498/00 (2013.01)

C07D 498/02 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염:

[화학식 I]

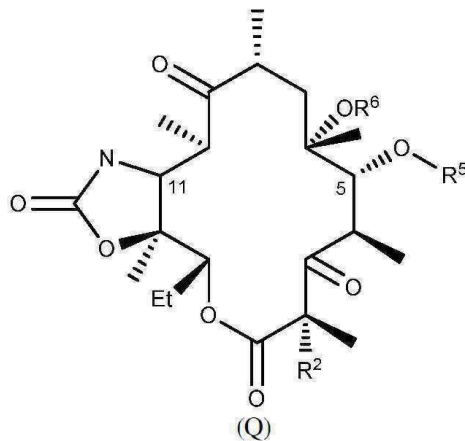
A-L-Q

식 중,

A는 인다졸릴, 벤즈이미다졸리닐, 또는 1-인돌릴 이외의 인돌릴이고, 이들 각각은 비치환 또는 치환되고;

L은 비치환된 또는 치환된 메틸렌, O, S, 비치환된 또는 치환된 NH, 설폰릴, 비닐렌, 및 2가의 단환식 및 이환식 탄소환 고리 및 방향족 고리, 및 단환식 복소환 고리, 이환식 복소환 고리 및 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 선택된 환식 단위로 이루어진 군으로부터 선택된 기로부터 선택된 하나 이상의 단위를 포함하는 2가 연결기이고, 상기 단환식 복소환 고리, 이환식 복소환 고리 및 헤테로방향족 고리는 산소, 황 및 질소로부터 각각 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하고, 상기 환식 단위는 비치환된 또는 치환된 5 내지 10 개의 고리 원자를 포함하되, 단 L은 -O-O- 또는 -O-S-를 포함하지 않으며;

Q는



이되, 식 중, L은 Q의 11-N에 결합되고;

R²는 H 또는 F이며;

R⁵는 테소사민이고;

R⁶은 H 또는 (1-6C)알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R²는 F인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제1항에 있어서, R²는 H인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제1항에 있어서, R⁶은 메틸인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

제1항에 있어서, L은 $-X_a-Y_b-Z_c-$ 이되, X, Y 및 Z는 2가의 모이어티(moiety)이고;

a, b 및 c의 각각은 독립적으로 0 또는 1이되, 단 a, b 및 c 중 적어도 하나는 1이며;

X는 CH_2R^a , O, S 또는 NR^c 이고;

Y는 O, S 및 N으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 단환식 방향족 고리, 이환식 방향족 고리, 단환식 헤테로방향족 고리 혹은 이환식 헤테로방향족 고리이되, 해당 고리는 하나 이상의 치환체를 지닐 수 있으며;

Z는 $-(CH_2)_m-$ 이되, m은 1, 2, 3 또는 4이고, 하나 이상의 메틸렌 단위는 1개 혹은 2개의 메틸기를 지닐 수 있으며, 메틸렌 단위는 O, S 또는 NR^d 에 의해 대체될 수 있고;

R^a , R^b , R^c 및 R^d 의 각각은 독립적으로 H 또는 CH_3 인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 6

제5항에 있어서, a는 0인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 7

제5항에 있어서, a는 1이고 X는 CH_2 인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 8

제5항에 있어서, a는 1이고 X는 0인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 9

제5항에 있어서, b는 1이고 Y는 메타-페닐렌인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 10

제5항에 있어서, b는 1이고 Y는 5-원 헤테로방향족-1,3-다이일(5-원 헤테로아르-1,3-다이일)인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 11

제5항에 있어서, b는 1이고 Y는 [1,2,3]트리아졸-1,4-다이일인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 12

제5항에 있어서, Y는 [1,2,3]트리아졸-1,4-다이일이되, Z는 1번 위치에 결합되는, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 13

제5항에 있어서, c는 1이고 Z는 $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_3-O-$, $-(CH_2)_4-$ $-(CH_2)_3-NH-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_2-O-$, $-(CH_2)_2-NH-$ 또는 $-(CH_2)_2-$ 인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 14

제5항에 있어서, c는 1이고 Z는 $-(CH_2)_4-$ 또는 $-(CH_2)_3-$ 인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, A는 비치환 또는 치환된 인다졸릴인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 16

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, A는 비치환 또는 치환된 벤즈이미다졸리닐인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 17

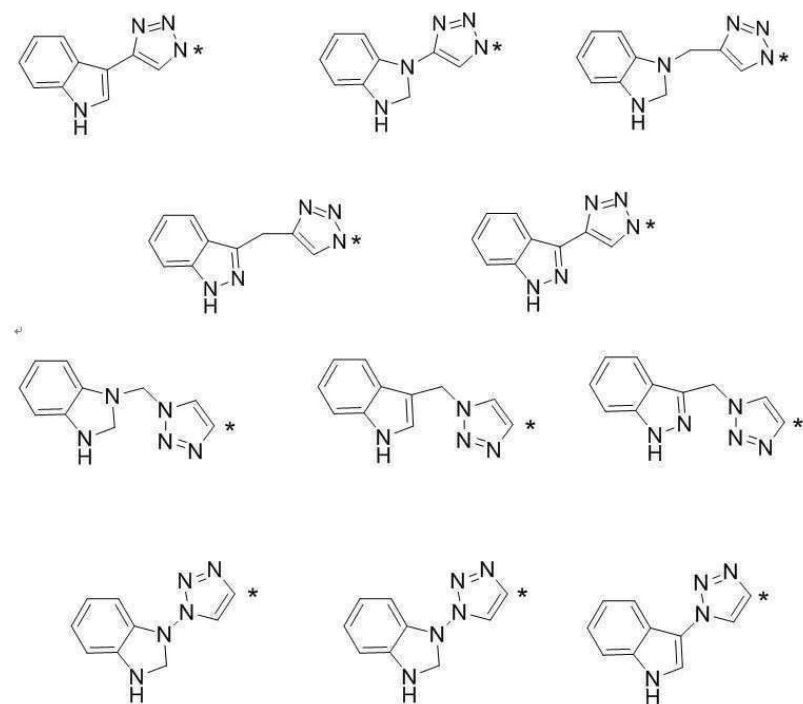
제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, A는 1-인돌릴 이외의 인돌릴인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 18

제17항에 있어서, A는 3-인돌릴인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 19

제5항, 제13항, 제14항 중 어느 한 항에 있어서, A-X-Y는 하기의 작용기로 구성되는 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염:

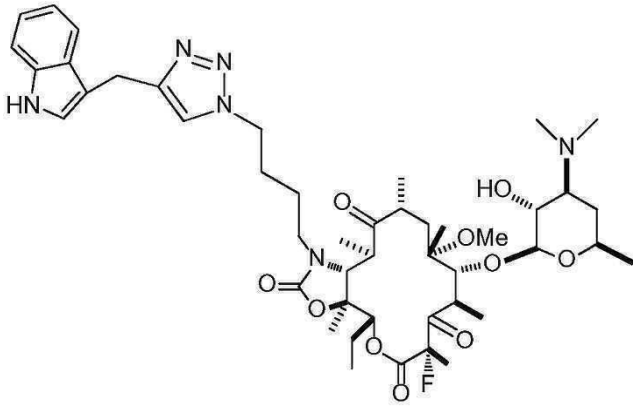


청구항 20

제19항에 있어서, A-X-Y는 4-(인돌-3-일-메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일인, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 21

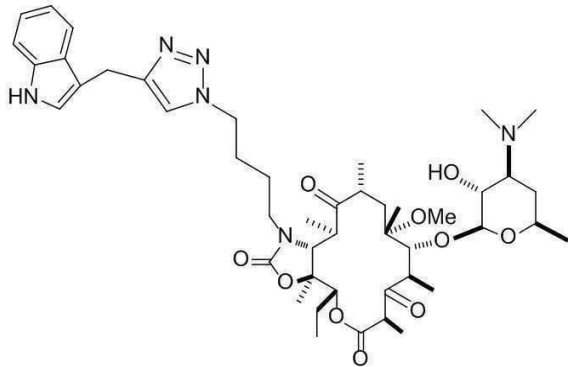
제1항에 있어서, 상기 화합물은



2-플루오로-5-0-데소사미닐-11-N-[4-[4-(인돌-3-일메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸]-6-0-메틸-3-옥소-에리트르놀라이드 A 11,12-환식 카바메이트, 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 22

제1항에 있어서, 상기 화합물은



5-0-데소사미닐-11-N-[4-[4-(인돌-3-일메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸]-6-0-메틸-3-옥소-에리트르놀라이드 A 11,12-환식 카바메이트, 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

청구항 23

세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 장애의 치료를 위한 약제학적 조성물로서, 상기 약제학적 조성물은 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제를 포함하고, 또한 적어도 1종의 약제학적으로 허용가능한 담체 혹은 부형제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 24

세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 장애의 치료를 위한 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 기재된 화학식 I의 제제의 사용 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 약제는 세균 감염 또는 세균 감염과 관련된 장애의 치료를 위한 약제인, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 기재된 화학식 I의 제제의 사용 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 미국 가출원 제61/381,794호(출원일: 2010년 9월 10일)의 이득을 주장하며, 이 기초출원은 본 명세서에 참조로 병합된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 발명은 이하에 규정된 바와 같은 화학식 I의 신규한 마크로라이드 항균제, 및 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 용매화물 및 수화물에 관한 것이다. 그 중에서도, 이 신규한 마크로라이드 항균제는 내성 종을 포함하는 다수의 세균 종에 대항하여 활성이다.

배경 기술

[0005] 하나 이상의 데옥시당(deoxy sugar)에 부착된 커다란 락톤 고리를 특징으로 하는 마크로라이드 항생제, 통상 클라디노스 및 테소사민은, 호기성 및 혐기성 그람 양성 구균에 대항해서 활성인 항균 약물이고 호흡기 및 연조직 감염의 치료를 위하여 처방된다. 천연 산물의 폴리케타이드 부류에 속하는 마크로라이드는, 세균 리보솜의 50S 서브유닛의 23S rRNA 성분에 가역적으로 결합하여, 단백질 합성을 차단하고 세균 성장과 재생을 방지함으로써 기능한다. 마크로라이드 항생제는 커다란 리보솜 서브유닛에 결합하여, 출구 터널에서 발생기 펩타이드의 경로를 차단함으로써 단백질 합성을 억제한다(Gaynor, M., and A. S. Mankin. 2003. Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance. Curr. Top. Med. Chem. 3:949-961). 표전형 마크로라이드 에리트로마이신 A의 화학 구조는 3-O-클라디노스 및 5-O-테소사민 당 잔기로 치환된 14-원자 락톤 고리로 표시된다. 차세대 마크로라이드는 아지트로마이신 등과 같은 락톤의 구조뿐만 아니라 결사슬의 수, 조성 및 부착 부위에 있어서 상이하다(Franceschi, F., Z. Kanyo, E. C. Sherer, and J. Sutcliffe. 2004. Macrolide resistance from the ribosome perspective. Curr. Drug Targets Infect. Disord. 4:177-191; Sutcliffe, J. A. 2005. Improving on nature: antibiotics that target the ribosome. Curr. Opin. Microbiol. 8:534-542).

[0006] 리보솜 내의 마크로라이드의 결합 부위는 23S rRNA 잔기 A2058, A2059, A2062, A2503, G2505 및 C2611[또는 U2611]를 포함한다(여기서 대장균(*E. coli*) 넘버링을 통해서 이용됨, 문헌[Tu, D., G. Blaha, P. B. Moore, and T. A. Steitz. 2005. Structures of MLSBK antibiotics bound to mutated large ribosomal subunits provide a structural explanation for resistance. Cell 121:257-270] 참조). 다른 유기체의 리보솜에서의 대응하는 핵산 잔기는 본 명세서에서 대장균 핵산을 참조하여 설명되는 것임을 이해할 필요가 있다. 마크로라이드 항생제에 대한 내성의 주된 메커니즘들 중 하나는 *erm* 유전자에서 암호화된 메틸전달효소에 의한 A2058의 다이메틸화에 의거한다(Weisblum, B. 1995. Erythromycin resistance by ribosome modification. Antimicrob. Agents Chemother. 39:577-585). A2058의 *erm*-촉매된 다이메틸화는 약물과의 입체적 충돌을 초래하여 리보솜에 대한 에리트로마이신의 친화도를 저감시킨다. 다른 수개의 항생제 내성 유전자와 마찬가지로, *erm* 유전자는 종종 에리트로마이신 및 유사한 약물에 의해 유도될 수 있다. 내성을 방지하기 위한 노력에 있어서, 케토라이드로 알려진 새로운 부류의 마크로라이드가 개발되었다(Bryskier, A. 2000. Ketolides-telithromycin, an example of a new class of antibacterial agents. Clin. Microbiol. Infect. 6:661-669). 케토라이드는 유도성 *erm* 유전자를 지니는 균주에 대항하여 개선된 활성을 보이고, 이전 세대의 마크로라이드와 비교해서 리보솜에 보다 타이트한 결합을 발휘하는 것으로 여겨진다(Poehlsgaard, J., and S. Douthwaite. 2003. Macrolide antibiotic interaction and resistance on the bacterial ribosome. Curr. Opin. Investig. Drugs 4:140-148; Poehlsgaard, J., P. Pfister, E. C. Bottger, and S. Douthwaite. 2005. Molecular mechanisms by which rRNA mutations confer resistance to clindamycin. Antimicrob. Agents Chemother. 49:1553-1555). 케토라이드에서, 3-O-클라디노스는 케토 기능(따라서 이 부류의 명칭)에 의해 대체되며; 환식 카바메이트는 C11-C12 위치에서 융합되고; 치환될 수 있는 아릴 혹은 헤테로아릴기를 지니는 알킬 결사슬 등과 같은 연장된 결사슬은 케토라이드 텔리트로마이신 내에서와 같은 카바메이트의 C11-N 원자(11-N)에서, 또는 케트로마이신 내에서와 같은 6-O- 등과 같은 락톤 고리의 다른 위치에서 부착된다. 초기의 생화학 및 유전적 연구는 케토라이드의 연장된 결사슬이 이들 약물의 증가된 효능을 고려할 수 있었던 리보솜과의 중요한 새로운 상호작용을 확립하는 것을 나타내었다. 구체적으로, 화학적 프로빙(chemical probing) 및 내성 변이는 대장균 23S rRNA의 나선 35의 루프 내 rRNA 잔기와 그리고 U2609와 텔리트로마이신의 11-N-결사슬의 상호작용을 암시하였다(Garza-Ramos, G., L. Xiong, P. Zhong, and A. Mankin. 2002. Binding site of macrolide antibiotics on the ribosome: new resistance mutation identifies a specific interaction of ketolides with rRNA. J. Bacteriol. 183:6898-6907; Hansen, L. H., P. Mauvais, and S. Douthwaite. 1999. The macrolide-ketolide antibiotic binding site is formed by structures in domains II and V of 23S ribosomal RNA. Mol.

Microbiol. 31:623-632; Xiong, L., S. Shah, P. Mauvais, and A. S. Mankin. 1999. A ketolide resistance mutation in domain II of 23S rRNA reveals proximity of hairpin 35 to the peptidyl transferase centre. Mol. Microbiol. 31:633-639 46). 그러나, 세균(테이노코커스 라디오두란스(*Deinococcus radiodurans*)) 또는 고세균(할로아르쿨라 마리스모르투이(*Haloarcula marismortui*)) 리보솜에 결합된 최초로 임상적으로 승인된 케토라이드 텔리트로마이신의 후속의 결정학적 연구는 대장균 리보솜에서 관찰된 rRNA 보호 및 변이와 부적절한 것으로 보이는 위치에서 11N-결사슬의 배치를 보였다(Berisio, R., J. Harms, F. Schlutzen, R. Zarivach, H. A. Hansen, P. Fucini, and A. Yonath. 2003. Structural insight into the antibiotic action of telithromycin against resistant mutants. J. Bacteriol. 185:4276-4279; 41). 또한, 11-N-결사슬의 배향은 보고된 테이노코커스 라디오두란스(*D. radiodurans*) 구조와 할로아르쿨라 마리스모르투이(*H. marismortui*) 구조 사이에 유의하게 상이하였고, 따라서 텔리트로마이신이, 그람 양성 병원성 세균을 포함하는, 케토라이드 항생제에 의해 표적화된 세균의 리보솜에 어떻게 결합하는지의 문제를 미해결 상태로 두었다.

[0007] 2001에 의료 행위에 도입된 첫번째 케토라이드인 텔리트로마이신은, 그람 양성 병원균의 많은 군주에 대하여 우수한 활성을 보였지만, 약물의 보다 넓은 이용 시 명확하게 되는 안전성 문제가 그의 임상적 이용을 제한하였다(문헌[Rafie, S., C. MacDougall, and C. L. James. 2010. Cethromycin: a promising new ketolide antibiotic for respiratory infections. Pharmacotherapy 30:290-303]에서 검토됨). 텔리트로마이신과 연관된 부작용은 보다 새로운 케토라이드에 대한 탐색에 박차를 가하였다. 이 부류의 새로운 유망한 약물들 중 하나는, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2004/080391 및 그의 대응 공보 US 2006/0100164의 실시예 7에 개시된, OP-1068로서 확인된 플루오로케토라이드 CEM-101이다. CEM-101의 구조는 11-N 결사슬 상의 상이한 방향족 기 및 락톤의 C2에서 불소 원자의 존재를 제외하고 텔리트로마이신의 것과 유사하다(여기서 CEM-101에는 4-[4-(3-아미노페닐)[1,2,3]트라이아졸-1-일]뷰틸기가 있다). 추가의 플루오로케토라이드는 문헌[C.-H. Liang et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 15 (2005) 1307-1310]에 보고되어 있다.

[0008] 다수의 임상적 병원균과 연루된 미생물학적 테스트에 있어서, CEM-101은 텔리트로마이신과 비교해서 보다 낮은 최소 억제 농도(minimal inhibitory concentration: MIC)값을 특징으로 하며, 텔리트로마이신-중간체 및 텔리트로마이신-내성 유기체를 포함하는, 내성 유기체에 대항한 증대된 활성을 나타낸다(McGhee, P., C. Clark, K. M. Kosowska-Shick, K. Nagai, B. Dewasse, L. Beachel, and P. C. Appelbaum. 2010. In vitro activity of CEM-101 against *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* with defined macrolide resistance mechanisms. Antimicrob. Agents. Chemother. 54:230-238). 또한, 텔리트로마이신 및 클라디노스-함유 마크로라이드와 비교해서, CEM-101은 대식세포에서 유의하게 증대된 축적을 보인다.

[0009] 텔리트로마이신 및 기타 마크로라이드와 비교해서 CEM-101의 결합 상호작용의 분석에 의하면, 케토라이드는 병원성 세균에 대항해서, 그리고 텔리트로마이신과 유사한 기타 케토라이드에 대해서 내성이 있는 군주를 포함하는, 세균의 내성 군주에 대항하여 높은 활성을 지니도록 설계될 수 있는 것이 발견되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 명세서에 기재된 발명은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 화학식 I: A-L-Q의 신규한 마크로라이드 항균제, 및 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 용매화물 및 수화물에 관한 것이다. 그 중에서도, 이 신규한 마크로라이드 항균제는 내성 종들을 포함하는 다수의 세균 중에 대항하여 활성이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명의 하나의 예시적인 실시형태에 있어서, 하기 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있다:

[0012] [화학식 I]

[0013] A-L-Q

[0014] 식 중,

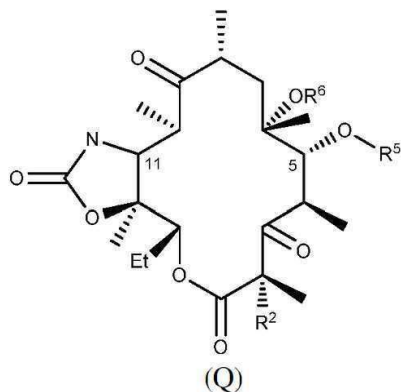
[0015] A는 A752, G748 및 G748 중 하나 이상과 하나 이상의 수소 결합 상호작용을 형성가능한 모이어티(moiety)이고;

[0016] L은 아미노, O, 및 S, 및 알킬렌, 헤테로알킬렌, 사이클로알킬렌, 헤테로사이클로알킬렌, 알케닐렌, 헤테로알케

닐렌, 사이클로알케닐렌, 헤테로사이클로알케닐렌, 아릴렌, 및 헤테로아릴렌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 2가의 라디칼로 이루어진 연결 사슬이고, 이들 각각은 선택적으로 치환되되, 단 L은 0-0 또는 0-S를 포함하지 않으며;

[0017] Q는 세균성 리보솜 출구 터널(bacterial ribosomal exit tunnel)의 상부 부분에 주된 마크로라이드 부위에 결합 가능한 3-케토- 또는 2-플루오로-3-케토 마크로락톤이다.

[0018] 다른 실시형태에 있어서, Q가 이하의 식인 화학식 I의 화합물들이 기재되어 있다:



[0019]

[0020] 식 중, L은 Q의 11-N에 결합되고;

[0021] R^2 는 H 또는 F이며;

[0022] R⁵는 아미노당 잔기이고;

[0023] R⁶ 은 H 또는 (1-6C)알킬이며;

[0024] 여기서 A-L은 Q의 11-N에 결합된 4-[4-(3-아미노페닐)[1,2,3]트리아졸-1-일]부틸 또는 4-[4-(6-아미노피리딘-2-일)[1,2,3]트리아졸-1-일]부틸 이외의 것이다.

[0025] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 및 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 여기서 (a) A는 A752의 04'(공여체로서), G748의 06(공여체로서) 및 G748의 N1(수용체로서) 중 하나 이상과 하나 이상의 수소 결합 상호작용을 형성가능한 모이어티이다. 다른 실시형태에 있어서, (b) Q의 3-케토기는 U2609와 수소 결합 상호작용을 형성가능하다. 다른 실시형태에 있어서, (c) Q의 아미노당은 A2059와 수소 결합 상호작용을 형성가능하다. 다른 실시형태에 있어서, (d) Q의 아미노당은 G2505와 수소 결합 상호작용을 형성가능하다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 및 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 여기서 상기 화합물은 (a), (b), (c) 및 (d)의 임의의 조합을 나타낸다.

[0026] A의 수소 결합 형성 능력은 임의의 종래의 방법을 이용해서 결정될 수 있음이 이해될 것이다. 예를 들어, A의 수소 결합 형성 능력은 대장균 23S 리보솜 부위 내에서 상기 화합물을 컴퓨터 모델링함으로써; 또는 대장균 23S 리보솜 부위 내에서 상기 화합물을 공결정화함으로써 결정될 수 있다.

[0027] Q의 3-케토기의 수소 결합 형성 능력이 임의의 종래의 방법을 이용해서 결정될 수 있다는 것 또한 이해될 것이다. 예를 들어, 다른 실시형태에 있어서, 상기 화합물은, 예컨대, RNA 풋프린팅(footprinting)에서 텔리트로마이신보다 큰 정도로 변형(modification)에 대해서 보호하는 것과 같이, CMCT에 의한 변형으로부터 U2609를 보호한다.

[0028] Q의 아미노당의 수소 결합 형성 능력은 임의의 종래의 방법을 이용해서 결정될 수 있다는 것 또한 이해될 것이다. 예를 들어, 다른 실시형태에 있어서, 상기 화합물은, 예컨대, RNA 풋프린팅에서 에리트로마이신, 클라리트로마이신, 아지트로마이신 및/또는 텔리트로마이신보다 큰 정도로 변형에 대해서 보호하는 것과 같이, 케톡살에 의한 변형으로부터 G2505를 보호한다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 화합물은 RNA 풋프린팅에서 에리트로마이신, 클라리트로마이신, 아지트로마이신 및/또는 텔리트로마이신보다 큰 정도로 메틸화를 차단하는 것과 같이, DMS에 의한 A2059의 메틸화를 차단한다.

[0029] 본 명세서에 기재된 실시형태의 각각의 대안적인 것에 있어서, 세균은 내성 균주일 수 있다. 예시적인 내성 균주로는 에리트로마이신 내성 균주, 클라리트로마이신 내성 균주, 아지트로마이신 내성 균주, 텔리트로마이신 내성 균주, mefA 내성 균주 및 ermB 내성 균주를 들 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0030] 본 명세서에 기재된 발명은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 화학식 I: A-L-Q의 신규한 마크로라이드 항균제, 및 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 용매화물 및 수화물에 관한 것이다. 그 중에서도, 이 신규한 마크로라이드 항균제는 내성 종들을 포함하는 다수의 세균 종에 대하여 활성이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 본 발명의 실시형태는 이하에 열거된 조항에 의해 기재된 것들을 포함한다:

[0032] 1A. 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염:

[0033] [화학식 I]

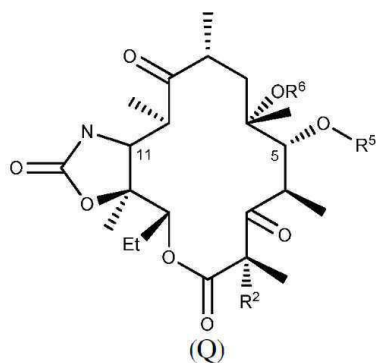
[0034] A-L-Q

[0035] 식 중,

[0036] A는 수소 결합 형성기이고;

[0037] L은 선택적으로 치환된 메틸렌, O, S, 선택적으로 치환된 NH, 설포닐, 비닐렌, 및 2가의 단환식 및 이환식 탄소 환 및 방향족 고리, 및 단환식 및 이환식 복소환 및 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 선택된 환식 단위로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단위를 포함하는 2가 연결기이며, 상기 단환식 및 이환식 복소환 및 헤테로방향족 고리는 산소, 황 및 질소로부터 각각 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하고, 여기서 상기 환식 단위는 선택적으로 치환된 5 내지 10개의 고리 원자를 포함하되, 단 L은 -O-O- 또는 -O-S-를 포함하지 않으며;

[0038] Q는



[0039] 이 되,

[0040] 식 중, L은 Q의 11-N에 결합되고;

[0041] R²는 H 또는 F이며;

[0042] R⁵는 아미노당 잔기이고;

[0043] R⁶은 H 또는 (1-6C)알킬이며;

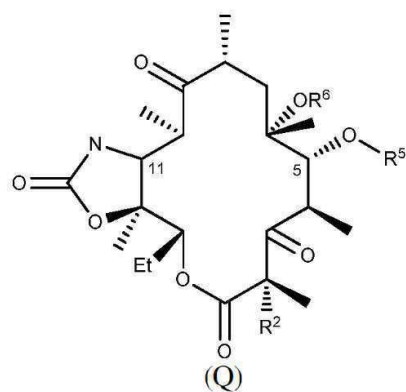
[0044] (a) A가 A752의 04'에 대한 수소 결합 공여, G748의 06에 대한 수소 결합 공여 및 G748의 N1로부터의 수소 결합 수용으로 이루어진 군으로부터 선택된 세균 리보솜 내의 수소 결합 상호작용을 형성가능하거나; 또는

[0045] (b) 상기 Q의 3-케토기가 U2609와 수소 결합 상호작용을 형성가능하거나; 또는

[0046] (c) 상기 Q의 아미노당이 A2059와 수소 결합 상호작용을 형성가능하거나; 또는

[0047] (d) 상기 Q의 아미노당이 G2505와 수소 결합 상호작용을 형성가능하거나; 또는

- [0048] (a), (b), (c) 및 (d)의 임의의 조합이고
- [0049] 여기서 A-L-은 4-[4-(3-아미노페닐)[1,2,3]트라이아졸-1-일]뷰틸 또는 4-[4-(6-아미노피리딘-2-일)[1,2,3]트라이아졸-1-일]뷰틸 이외의 것이다.
- [0050] 1B. 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염:
- [0051] [화학식 I]
- [0052] **A-L-Q**
- [0053] 식 중,
- [0054] A. 상기 화합물이 대장균 23S 리보솜 부위 내에서 모델링될 경우, 또는
- [0055] B. 상기 화합물이 대장균 23S 리보솜 부위 내에서 공결정화될 경우,
- [0056] A는 A752의 O4'에 대한 수소 결합 공여, G748의 O6에 대한 수소 결합 공여 및 G748의 N1로부터 수소 수용로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 수소 결합 상호작용을 형성가능하거나; 또는
- [0057] C. 황색 포도상 구균(*S. aureus*) N315 리보솜의 RNA 풋프린팅 시의 화합물이 텔리트로마이신보다 큰 정도로 CMCT에 의한 변형으로부터 U2609를 보호하거나, 또는
- [0058] D. 황색 포도상 구균 N315 리보솜의 RNA 풋프린팅 시의 화합물이 텔리트로마이신보다 큰 정도로 DMS에 의한 A2059의 메틸화를 차단하거나, 또는
- [0059] E. 황색 포도상 구균 N315 리보솜의 RNA 풋프린팅 시의 화합물이 텔리트로마이신보다 큰 정도로 케톡살에 의한 변형으로부터 G2505를 보호하거나, 또는
- [0060] A, B, C, D 및 E의 임의의 조합이고;
- [0061] L은 선택적으로 치환된 메틸렌, O, S, 선택적으로 치환된 NH, 비닐렌, 및 O, S 및 N으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 2가의 단환식 혹은 이환식 탄소환 혹은 방향족 혹은 단환식 혹은 이환식 복소환 혹은 헤테로방향족 고리로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단위를 포함하는 연결기이고, 상기 고리는 5 내지 10개의 고리 원자를 포함하며 하나 이상의 치환체를 지닐 수 있되, 단 L은 -O-O- 또는 -O-S- 부분을 포함하지 않으며;
- [0062] Q는



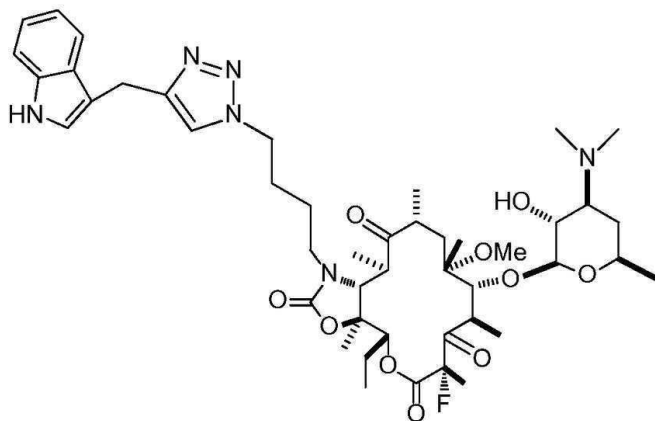
- [0063]
- [0064] 식 중, L은 Q의 11-N에 결합되고;
- [0065] R^2 는 H 또는 F이며;
- [0066] R^5 는 아미노당 잔기이고;
- [0067] R^6 은 H 또는 (1-6C)알킬이며;
- [0068] 여기서 A-L-은 Q의 11-N에 결합된 4-[4-(3-아미노페닐)[1,2,3]트라이아졸-1-일]뷰틸 또는 4-[4-(6-아미노피리딘-2-일)[1,2,3]트라이아졸-1-일]뷰틸 이외의 것이다.

- [0069] 2. A가 A752의 04'에 대한 수소 결합 공여, G748의 06에 대한 수소 결합 공여 및 G748의 N1로부터의 수소 결합 수용으로 이루어진 군으로부터 선택된 수소 결합 상호작용을 형성가능한 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.
- [0070] 3. A가 A752의 04'에 대한 수소 결합 공여 및 G748의 06에 대한 수소 결합 공여로 이루어진 군으로부터 선택된 수소 결합 상호작용을 형성가능한 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.
- [0071] 4. (a) A가 A752의 04'에 대한 수소 결합 공여, G748의 06에 대한 수소 결합 공여 및 G748의 N1로부터의 수소 결합 수용으로 이루어진 군으로부터 선택된 수소 결합 상호작용을 형성가능하고;
- [0072] (b) 상기 Q의 3-케토기가 U2609와 수소 결합 상호작용을 형성가능하며;
- [0073] (c) 상기 Q의 아미노당이 A2059와 수소 결합 상호작용을 형성가능하고;
- [0074] (d) 상기 Q의 아미노당이 G2505와 수소 결합 상호작용을 형성가능한 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.
- [0075] 5. 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자는 적어도 약 9개의 원자의 사슬에 의해 Q의 11-N에 결합되되, 해당 사슬은 하나 이상의 환식 기 내에 선택적으로 포함될 수 있는 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.
- [0076] 6. 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자는 적어도 약 10개의 원자의 사슬에 의해 Q의 11-N에 결합되되, 해당 사슬은 하나 이상의 환식 기 내에 선택적으로 포함될 수 있는 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.
- [0077] 7. 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자는 약 10 또는 약 11개의 원자의 사슬에 의해 Q의 11-N에 결합되되, 해당 사슬은 하나 이상의 환식 기 내에 선택적으로 포함될 수 있는 것. 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.
- [0078] 8. 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자는 약 10개의 원자의 사슬에 의해 Q의 11-N에 결합되되, 해당 사슬은 하나 이상의 환식 기 내에 선택적으로 포함될 수 있는 것 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.
- [0079] 9. 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자는 질소 또는 산소인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0080] 10. A는 복소환 고리를 포함하고, 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자는 상기 복소환 고리의 원자인 것인 조항 9의 화합물.
- [0081] 11. 상기 복소환 고리는 O, S 및 N으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 단환식 혹은 이환식 헤테로방향족 고리이고, 상기 고리는 하나 이상의 치환체를 지닐 수 있는 것인 조항 10의 화합물 또는 염
- [0082] 12. 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자가 아미노 또는 하이드록시기의 부분인 것인 조항 9의 화합물 또는 염.
- [0083] 13. 상기 수소 결합 공여 혹은 수용에 연루된 A의 원자가 당해 모델의 A752의 04', G748의 06 및 G748의 N1 중 적어도 하나의 5 내지 0.5Å 내에 있는 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0084] 14. R^2 가 F인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0085] 15. 2-플루오로기가 당해 모델의 C2611의 글라이코사이드 결합(원자 N1)의 5 내지 0.5Å 내에 있는 것인 조항 14의 화합물 또는 염.
- [0086] 16. R^5 가 테소사미닐인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0087] 17. R^6 이 메틸인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0088] 18. R^{11} 이 H인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0089] 19. L이 $-X_a-Y_b-Z_c-$ 이되, X, Y 및 Z는 2가의 모이어티이고;
- [0090] a, b 및 c의 각각은 독립적으로 0 또는 1이되, 단 a, b 및 c 중 적어도 하나는 1이며;
- [0091] X는 $CH_2R^aR^b$, O, S 또는 NR^c 이고;
- [0092] Y는 O, S 및 N으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 단환식 혹은 이환식 방향족 또는 단환식 혹은

은 이환식 헤테로방향족 고리이되, 해당 고리는 하나 이상의 치환체를 지닐 수 있으며;

- [0093] Z는 $-(CH_2)_m-$ 이되, m은 1, 2, 3 또는 4이고, 하나 이상의 메틸렌 단위는 1개 혹은 2개의 메틸기를 지닐 수 있으며, 메틸렌 단위는 0, S 또는 NR^d 에 의해 대체될 수 있고;
- [0094] R^a , R^b , R^c 및 R^d 의 각각은 독립적으로 H 또는 CH_3 인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0095] 20. A는 1-인돌릴 이외의 인돌릴인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0096] 21. A가 3-인돌릴인 것인 조항 20의 화합물 또는 염.
- [0097] 22. A가 3-아미노페닐인 것인 선행하는 조항 1A 내지 19 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0098] 23. A가 6-아미노피리딘-2-일인 것인 선행하는 조항 1A 내지 19 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0099] 24. A가 3-하이드록시페닐인 것인 선행하는 조항 1A 내지 19 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0100] 25. a가 0인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0101] 26. a가 1인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0102] 27. X가 CH_2 인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0103] 28. X가 0인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0104] 29. b가 1인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0105] 30. Y가 메타-페닐렌인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0106] 31. Y가 2가의 5원(membered) 헤테로방향족 잔기이고, 해당 결합들은 1,3-(또는 등가의) 관계에 있는 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0107] 32. Y가 어느 하나의 배향에 있어서 [1,2,3]트리아졸-1,4-다이일인 것인 조항 31의 화합물 또는 염.
- [0108] 33. Y가 [1,2,3]트리아졸-1,4-다이일이되, Z는 1번 위치에 결합되는 것인 조항 32의 화합물 또는 염.
- [0109] 34. c가 1인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0110] 35. Z가 $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_3-O-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_3-NH-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_2-O-$, $-(CH_2)_2-NH-$ 또는 $-(CH_2)_2-$ 인 것인 조항 34의 화합물 또는 염.
- [0111] 36. Z가 $-(CH_2)_4-$ 또는 $-(CH_2)_3-$ 인 것인 조항 35의 화합물 또는 염.
- [0112] 37. b 및 c의 각각이 1인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0113] 38. a가 0인 것인 조항 37의 화합물 또는 염.
- [0114] 39. a, b 및 c의 각각이 1인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0115] 40. A-X-Y가 4-(인돌-3-일-메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0116] 41. A-L-이 4-[4-(인돌-3-일-메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸인 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.
- [0117] 42. 대장균 23S 리보솜 부위가 CEM-101의 대장균 23S 리보솜과의 복합체의 X-선 좌표(X-ray coordinate)에 의해 규정되는 것인 선행하는 조항들 중 어느 하나의 조항의 화합물 또는 염.

[0118] 43. 상기 화합물이



[0119]

[0120] 2-플루오로-5-O-데소사미닐-11-N-[4-[4-(인돌-3-일메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일]뷰틸]-6-O-메틸-3-옥소-에리트로놀라이드 A 11,12-환식 카바메이트, 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염인 것인 조항 1A 또는 1B의 화합물.

[0121] 44. 선행하는 조항 1A 내지 43 중 어느 하나의 조항에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제를 포함하고, 또한 적어도 1종의 약제학적으로 허용가능한 담체 혹은 부형제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

[0122] 45. 세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 질환의 치료방법으로서, 치료를 필요로 하는 대상체에게 선행하는 조항 1A 내지 43 중 어느 하나의 조항에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제의 치료상 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

[0123] 46. 세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 장애의 치료를 위한, 선행하는 조항 1A 내지 43 중 어느 하나의 조항에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제의 용도.

[0124] 47. 세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 장애의 치료를 위한 약제의 제조를 위한, 선행하는 조항 1A 내지 43 중 어느 하나의 조항에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제의 용도.

[0125] 48. 상기 대상체가 포유동물, 어류, 조류 또는 파충류인 것인 조항 45 내지 47 중 어느 하나의 조항의 방법 또는 용도.

[0126] 49. 상기 대상체가 포유동물인 것인 조항 48의 방법 또는 용도.

[0127] 50. 상기 대상체가 인간인 것인 조항 49의 방법 또는 용도.

[0128] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 락톤 고리가 터널의 벽들과 양성의 소수성 상호작용을 형성하는 마크로락톤이다.

[0129] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 데소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 데소사민 당은 펩티딜 전이효소 중심을 향하여 돌출하여 A2058/A2509 클레프트(cleft)와 상호작용한다.

[0130] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, A-L-은 아릴알킬이고, 아릴알킬 부분(arm)은 터널 아래쪽으로 배향되어 23S rRNA의 A752 및 U2609에 의해 형성된 염기쌍과 접촉한다.

[0131] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, A-L-은 낮은 원자 변위 파라미터(atomic displacement parameter: ADP)를 지닌다.

[0132] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 C2611의 글라이코사이드 결합(원자 N1)과 양성 상호작용(positive interaction)을 가능하게 하는 플루오로기를 포함하는 마크로락톤이다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되

어 있으며, 식 중, Q는, A2058 및/또는 A2059에서 모노메틸화 혹은 다이메틸화된 리보솜 등과 같은, 내성 세균에 존재하는 리보솜의 C2611의 글라이코사이드 결합(원자 N1)과의 양성 상호작용을 가능하게 하는 플루오로기를 포함하는 마크로락톤이다.

[0133] 다른 실시형태에 있어서, 상기 양성 상호작용은, A2058 및/또는 A2059에서 모노메틸화 또는 다이메틸화된 리보솜 등과 같은, 내성 세균에 존재하는 리보솜과의 양성 상호작용이다.

[0134] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 23S rRNA 내 도메인 V 내의 A2058 및 A2059를 DMS에 의한 변형으로부터 보호한다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 A752를 DMS 변형으로부터 보호한다.

[0135] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 *erm* 내성 및/또는 *erm* 변형된 세균 내 23S rRNA의 도메인 V에서의 A2059를 DMS에 의한 변형으로부터 보호한다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 *erm* 내성 및/또는 *erm* 변형된 세균 내 23S rRNA의 도메인 V에서의 A2059를 DMS에 의한 변형으로부터 실질적으로 보호한다.

[0136] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 G2505를 케톡살 변형으로부터 보호한다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 G2505를 케톡살 변형으로부터 보호한다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 U2609를 CMCT에 의한 변형으로부터 보호한다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 식 중, Q는 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 여기서 테소사민은 U2609를 CMCT에 의한 변형으로부터 실질적으로 보호한다.

[0137] 본 명세서에 기재된 화합물이 상기 실시형태에 기재된 하나 이상의 양성 상호작용 및/또는 보호를 지닐 수 있고, 상기 양성 상호작용의 어느 하나 및 모든 조합을 지니는 대응하는 실시형태는 본 명세서에 명확하게 기재되어 있는 것임을 이해할 필요가 있다.

[0138] 리보솜 작용기와의 양성 상호작용 및/또는 상기 작용기의 보호를 언급하는 상기 실시형태의 각각에 있어서, 본 발명에 또한 기재된 화합물은, 황색 포도상 구균(*Staphylococcus aureus*; *S. aureus*), 화농성 연쇄상 구균(*Streptococcus pyogenes*; *S. pyogenes*), 폐렴 연쇄상 구균(*Streptococcus pneumoniae*; *S. pneumoniae*) 등을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 병원성 세균뿐만 아니라, 텔리트로마이신 내성 황색 포도상 구균, MRSA 등을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 내성 병원성 세균에서 대응하는 작용기 등과 같은 기타 세균 리보솜 작용기와 대응하는 및/또는 평행한 양성 상호작용 및/또는 상기 작용기의 보호를 지니는 것임을 이해할 필요가 있다. 이론에 얽매는 일없이, 본 명세서에서는, 컴퓨터 계산을 이용한 방법, 컴퓨터 모델링, 컴퓨터 도킹(computational docking), 에너지 최소화, X선 결정학, 원자 변위 파라미터(ADP) 개선(refinement), RNA 풋프린팅, RNA 결합 평가 등을 포함하는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 대장균의 리보솜 작용기와의 양성 상호작용 및/또는 보호를 지니는 본 명세서에 기재된 화합물의 능력을 결정하는 방법이, 황색 포도상 구균, 화농 연쇄상 구균, 폐렴 연쇄상 구균 등을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 병원성 세균뿐만 아니라, 텔리트로마이신 내성 황색 포도상 구균, MRSA 등을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 내성 병원성 세균 균주와의 동일, 유사, 등가 및/또는 대응하는 상호작용을 예측할 수 있다는 것으로 여겨진다.

[0139] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 양성 상호작용은 화합물 및/또는 리보솜에 대한 보다 낮은 에너지 상태인 상호작용이다. 예시적으로, 양성 상호작용은 공간 내에서 적어도 약 0.5Å 또는 적어도 약 1Å 떨어진 상호작용 등과 같이 입체적으로 군집되어 있지 않은 것이다. 예시적으로, 양성 상호작용들은, 동시에 공간 내에서 적어도 약 0.5Å 떨어지면서, 약 5Å 이하, 약 4.5Å 이하, 약 4Å 이하, 약 3.5Å 이하, 약 3Å 이하, 약 2.5Å

이하, 약 1.5Å 이하 또는 약 1Å 이하인 상호작용 등과 같이 에너지 이득을 제공하기에 충분히 근접한 것들이다.

- [0140] 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 여기서, 경쟁 결합 실험에 있어서, 상기 화합물은 리보솜에 결합된 에리트로마이신을 변위시킬 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 화학식 I의 화합물, 그리고 그의 약제학적으로 허용가능한 염, 수화물, 용매화물 및 전구체가 본 명세서에 기재되어 있으며, 여기서, 경쟁 결합 실험에 있어서, 상기 화합물은 리보솜에 결합된 텔리트로마이신을 변위시킬 수 있다. 예시적으로, 이러한 변위의 IC₅₀은 약 1μM 이하, 약 500nM 이하, 약 250nM 이하, 약 200nM 이하, 약 150nM 이하 또는 약 100nM 이하이다.
- [0141] CEM-101은 본 명세서에 기재된 본 발명에 포함되지 않는 것임을 이해할 필요가 있다. 또한, 텔리트로마이신은 A752, G748 또는 G748의 어느 것보다 수소 결합을 형성하지 않기 때문에 본 명세서에 기재된 본 발명에 포함되지 않는 것임을 이해할 필요가 있다.
- [0142] 다른 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 1종 이상의 화합물의 치료상 유효량을 포함하는 조성물이 기재되어 있다. 이 조성물은 선택적으로 1종 이상의 희석제, 부형제 또는 담체, 및 이들의 조합물을 포함한다.
- [0143] 다른 실시형태에 있어서, 세균 감염 환자를 치료하는 방법이 본 명세서에 기재되어 있다. 상기 방법은 본 명세서에 기재된 1종 이상의 화합물 및/또는 1종 이상의 조성물의 치료상 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0144] 다른 실시형태에 있어서, 세균 감염 환자를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 본 명세서에 기재된 1종 이상의 화합물 및/또는 1종 이상의 조성물의 용도가 본 명세서에 기재되어 있다.
- [0145] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 상기 화합물이 대장균 23S 리보솜 부위 내에서 모델링될 때, 이것은 대장균 23S 세균 리보솜의 계산된 구조/입체 형태, 또는 X-선 결정 측정으로부터 얻어진 세균 리보솜의 구조 내로 도킹함으로써 특정규명되는 것을 의미한다. 예시적인 X-선 결정 측정은, 텔리트로마이신의 결합 연구(Berisio, R., J. Harms, F. Schlutzen, R. Zarivach, H. A. Hansen, P. Fucini, and A. Yonath. 2003. Structural insight into the antibiotic action of telithromycin against resistant mutants. *J. Bacteriol.* 185:4276-4279; Tu, D., G. Blaha, P. B. Moore, and T. A. Steitz. 2005. Structures of MLSBK antibiotics bound to mutated large ribosomal subunits provide a structural explanation for resistance. *Cell* 121:257-270), 및 특히, 대장균 23S 리보솜 부위가 본 명세서에 기재된 CEM-101의 대장균 23S 리보솜과의 복합체의 X선 좌표에 의해 규정되는 측정으로의 것들을 포함한다.
- [0146] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 도킹이란 23S 리보솜에서/내에 화합물을 위치결정하는 것을 지칭하며, 일단 위치결정되면 도킹을 불가능하게 하는 음성의 상호작용(negative interaction)이 없도록 하는 최소화 계산을 선택적으로 포함할 수 있다. 락톤 고리와 5-O 당의 배치(placement) 및 입체배치(configuration)에 부가해서, 결사슬은 A753/U2609 염기쌍과 적층 상호작용을 가능하게 할 수 있고, 2-플루오로기는, 존재한다면, C2610 혹은 C2611과 상호작용을 가능하게 한다. 본 발명의 화합물에 대해서, 분자가 23S 리보솜 내에 도킹될 경우, 모이어티 A는 A752의 O4'에 대한 수소 결합 공여, G748의 O6에 대한 수소 결합 공여 및 G748의 N1로부터의 수소 수용으로 이루어진 군의 하나 이상의 수소 결합 상호작용을 형성가능하다.
- [0147] 화합물 중의 A가 A752, G748 및 G748 중 하나 이상과 하나 이상의 수소 결합 상호작용을 형성가능하고, Q가 테소사민으로 치환된 마크로락톤이며, 테소사민 당이 펩티딜 전이효소 중심을 향하여 돌출하여 A2058/A2509 클레프트와 상호작용하는 것인 본 명세서에 기재된 실시형태에 있어서, 상기 화합물은 A와 테소사민의 둘 모두가 각각 양성 상호작용의 각각에 대해서 위치결정된 경우의 입체형태에 대응하는 계산된 에너지 최소치를 특징으로 할 수 있다.
- [0148] 화합물 중의 A가 A752, G748 및 G748 중 하나 이상과 하나 이상의 수소 결합 상호작용을 형성가능하고, Q가 C2611의 글라이코사이드 결합(원자 N1)과 양성 상호작용을 가능하게 하는 플루오로기를 포함하는 마크로락톤인 것인 본 명세서에 기재된 실시형태에 있어서, 상기 화합물은 A와 플루오로기의 둘 모두가 각각 양성 상호작용의 각각에 대해서 위치결정된 경우의 입체형태에 대응하는 계산된 에너지 최소치를 특징으로 할 수 있다.
- [0149] 화합물 중의 A가 A752, G748 및 G748 중 하나 이상과 하나 이상의 수소 결합 상호작용을 형성가능하고, Q가 C2611의 글라이코사이드 결합(원자 N1)과 양성 상호작용을 가능하게 하는 플루오로기를 포함하는 마크로락톤이며, Q가 테소사민으로 치환된 마크로락톤이고, 여기서 테소사민 당은 펩티딜 전이효소 중심을 향하여 돌출하여

A2058/A2509 클레프트와 상호작용하는 것인 본 명세서에 기재된 실시형태에 있어서, 상기 화합물은 A, 플루오로 기 및 데소사민이 각각 양성 상호작용의 각각에 대해서 위치결정된 경우의 입체형태에 대응하는 계산된 에너지 최소치를 특징으로 할 수 있다.

[0150] 기 A-L-이 아릴알킬이고, 아릴알킬 부분이 터널 아래쪽으로 배향되고, 23S rRNA의 A752 및 U2609에 의해 형성된 염기쌍과 접촉하는 것인 상기 실시형태의 변형예에 있어서, 상기 화합물은 A-L-이 또한 양성 상호작용에 대해서 위치결정된 경우의 입체형태에 대응하는 계산된 에너지 최소치를 특징으로 할 수 있다.

[0151] 계산된 입체형태는 임의의 종래의 소프트웨어 프로그램으로부터 얻어질 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 초기 입체형태가 특정 수소-결합 기 또는 플루오로기와 약 5 내지 0.5Å의 각 요구되는 결합 부위 간의 거리를 포함하지 않을 경우, 추가의 입체형태가 상기 화합물에 대해서 계산될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 추가의 입체형태를 지니는 이들 화합물이 본 명세서에 기재된 방법에 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 예시적인 계산은 기체 상, 압 이니시오(ab initio), 준 용액 구(quasi solution sphere) 등에서 행해질 수 있다. 이러한 계산은 평균 혹은 가중치부가 평균에 기초할 수 있다는 것을 알 수 있다.

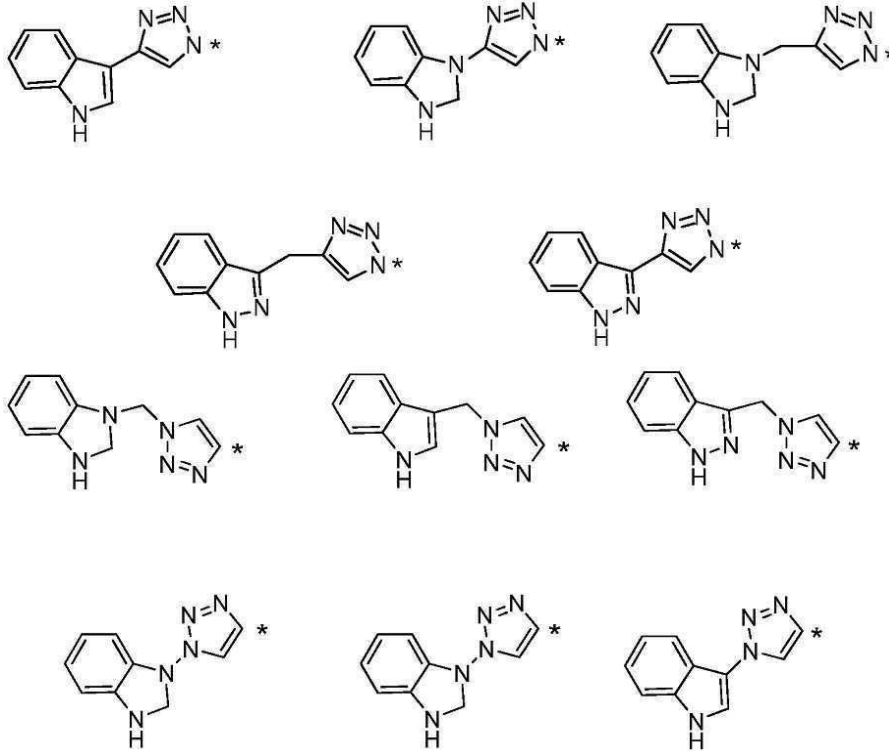
[0152] 다른 실시형태에 있어서, 상기 화합물은 병원균 세포, 예컨대, 세균에 대항하여 높은 효능을 특징으로 한다. 다른 실시형태에 있어서, 상기 화합물은 1종 이상의 다른 화합물에 대해서 내성이 있는 세균에 대항하여 높은 효능을 특징으로 한다. 예시적인 내성 세균으로는 *mefA* 내성 페렴 연쇄상 구균, *ermB* 내성 페렴 연쇄상 구균 등을 들 수 있지만 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0153] A의 일 실시형태에서, A는 페닐, 인데닐, 나프틸, 퓨라닐, 티오펜일, 피롤릴, 옥사다리아졸릴, 티아다리아졸릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 1,2,4-옥사다리아졸릴, 1,2,4-티아다리아졸릴, 1,3,4-옥사다리아졸릴; 1,3,4-티아다리아졸릴, 1,2,3-트리아졸릴, 1,2,4-트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리디닐, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 벤조퓨라닐, 벤조티오펜일, 인돌릴, 인다졸릴, 벤즈아이소옥사졸릴, 벤즈아이소티아졸릴, 벤즈이미다졸릴; 벤즈옥사졸릴; 벤즈아이소티아졸릴, 퀴놀리닐, 아이소퀴놀리닐 또는 퀴나졸리닐이며, 이들의 어느 것이라도 1개 이상의 하이드록시, 아미노, 하이드록시메틸, 아미노메틸, 플루오로, 클로로 또는 메틸 치환체를 지닐 수 있다.

[0154] L에 대한 일 실시형태에 있어서, 선택적으로 치환된 메틸렌은 1개 혹은 2개의 메틸기를 지닐 수 있고; 선택적으로 치환된 NH는 메틸기를 지닐 수 있으며; 2가의 단환식 혹은 이환식 탄소환 또는 방향족 또는 단환식 혹은 이환식 복소환 또는 헤테로방향족 고리는 사이클로프로판다이일, 사이클로펜탄다이일, 사이클로헥산다이일, 사이클로헵탄다이일, 페닐렌, 인단다이일, 인텐다이일, 나프탈렌다이일, 테트라하이드로나프탈렌다이일, 테트라하이드로퓨란다이일, 피롤리딘다이일, 피페리딘다이일, 퓨란다이일, 티오펜다이일, 피롤다이일, 옥사졸다이일, 티아졸다이일, 이미다졸다이일, 피라졸다이일, 1,2,4-옥사다리아졸다이일, 1,2,4-티아다리아졸다이일, 1,3,4-옥사다리아졸다이일; 1,3,4-티아다리아졸다이일, 1,2,3-트리아졸다이일, 1,2,4-트리아졸다이일, 테트라졸다이일, 피리딘다이일, 피리다진다이일, 피리미딘다이일, 피라진다이일, 벤조퓨란다이일, 벤조티오펜다이일, 인돌다이일, 인다졸다이일, 벤즈아이소옥사졸다이일, 벤즈아이소티아졸다이일, 벤즈이미다졸다이일; 벤즈옥사졸다이일; 벤즈아이소티아졸다이일, 퀴놀린다이일, 아이소퀴놀린다이일 또는 퀴나졸린다이일일 수 있고; 하나의 고리는 1개 이상의 하이드록시, 플루오로, 클로로 또는 메틸 치환체를 지닐 수 있다.

[0155] Y의 일 실시형태에 있어서, 2가의 단환식 혹은 이환식 방향족 또는 단환식 혹은 이환식 헤테로방향족 고리는 페닐렌, 인단다이일, 인텐다이일, 나프탈렌다이일, 테트라하이드로나프탈렌다이일, 퓨란다이일, 티오펜다이일, 피롤다이일, 옥사졸다이일, 티아졸다이일, 이미다졸다이일, 피라졸다이일, 1,2,4-옥사다리아졸다이일, 1,2,4-티아다리아졸다이일, 1,3,4-옥사다리아졸다이일, 1,3,4-티아다리아졸다이일, 1,2,3-트리아졸다이일, 1,2,4-트리아졸다이일, 테트라졸다이일, 피리딘, 피리다진다이일, 피리미딘다이일, 피라진다이일, 벤조퓨란다이일, 벤조티오펜다이일, 인돌다이일, 인다졸다이일, 벤즈아이소옥사졸다이일, 벤즈아이소티아졸다이일, 벤즈이미다졸다이일; 벤즈옥사졸다이일; 벤즈아이소티아졸다이일, 퀴놀린다이일, 아이소퀴놀린다이일 또는 퀴나졸린다이일일 수 있고; 하나의 고리는 하나 이상의 하이드록시, 플루오로, 클로로 또는 메틸 치환체를 지닐 수 있다.

[0156] 일 실시형태에 있어서, A-X-Y-는 이하의 라디칼 군으로부터 선택되며, 여기서 Z는 (*)에서 공유 결합되어 있다:



[0157]

[0158] 일 실시형태에 있어서, (1-6C)알킬은 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸 또는 헥실이고, 이들 중 임의의 것은 분지되어 있을 수 있다. 다른 실시형태에서, (1-6C)알킬은 메틸이다.

[0159] 본 발명의 다른 실시형태로서, 본 명세서의 설명의 어느 곳에서 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제를 포함하고, 적어도 1종의 약제학적으로 허용가능한 담체 혹은 부형제를 더 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0160] 예시적으로, 조성물은 1종 이상의 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 화합물들 또는 이들을 함유하는 조성물은, 본 명세서에 기재된 방법에 적합한 임의의 종래의 투약 형태로 조제될 수 있고, 그의 1종 이상의 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함할 수 있다. 이러한 제형 조성물은 공지된 절차를 이용해서, 본 명세서에 기재된 방법의 광범위한 종래의 경로에 의해, 광범위한 투약 형태로 투여될 수 있다. 캡슐 및 정제는 항생제의 경구투여를 위해 통상적으로 이용되는 실시형태이다. 이에 대해서는 일반적으로 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, (21st ed., 2005)]을 참조할 수 있다.

[0161] 본 발명의 다른 실시형태로서, 세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 장애의 치료 방법이 제공되며, 해당 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제의 치료상 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 예시적인 투약량 스케줄은 1일 800mg에 이어서, 2 내지 5일의 각 날에 400mg/일의 용량으로, 또는 대안적으로 1일 400mg의 장입량에 이어서 2 내지 5일의 각 날에 200mg/일의 용량으로의 투여를 포함한다.

[0162] 본 발명의 다른 실시형태로서, 세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 장애를 치료하기 위한, 본 명세서에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제의 용도가 제공된다.

[0163] 본 발명의 다른 실시형태로서, 세균 감염, 원충성 감염, 또는 세균 감염 혹은 원충성 감염과 관련된 장애의 치료를 위한 약제의 제조를 위한, 본 명세서에 기재된 바와 같은 화학식 I의 제제의 용도가 제공된다.

[0164] 추가의 실시형태로서, 위에서 기재된 방법 또는 용도는, 대상물이 포유동물, 어류, 조류 혹은 파충류인 것이다. 다른 실시형태로서, 대상체가 포유동물인 방법 또는 용도가 제공된다. 다른 실시형태로서, 대상체가 인간인 방법 또는 용도가 제공된다.

[0165] 본 명세서에서 이용되는 바와 같은 "치료상 유효량"이란 용어는, 치료 중인 질환 혹은 장애의 증상의 완화를 포함하는, 연구자, 의사, 의사 혹은 기타 임상가가 추구하고 있는 조직 계통, 동물 혹은 인간에서의 생물학적 혹은 약효 반응을 유도하는 활성 화합물 혹은 약제학적 제제의 양을 지칭한다. 일 양상에 있어서, 치료상 유효

량은, 임의의 의학적 치료에 적용가능한 합리적인 유익/유해비에서 질환 혹은 질환의 증상을 치료 혹은 완화할 수 있는 것이다. 그러나, 본 명세서에 기재된 화합물 및 조성물의 총 1일 용량은 건전한 의학적 판단 범위 내에서 담당 의사에 의해 결정될 수 있는 것으로 이해된다. 임의의 특정 환자에 대한 특정 치료상 유효 용량 수준은, 치료 중인 장애 및 장애의 중증도; 이용되는 특정 화합물의 활성; 이용되는 특정 화합물; 환자의 연령, 체중, 일반적 건강, 성별 및 식이; 이용되는 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 속도; 치료 기간; 이용되는 특정 화합물과 조합하여 혹은 동시에 이용되는 약물; 통사의 기술의 연구자, 수의사, 의사 혹은 기타 임상자에게 잘 알려진 유사 인자 등을 비롯한 각종 인자에 따라 좌우될 것이다.

[0166] 각 실시형태에 있어서 본 명세서에 기재된 화합물은, A-L-이 4-[4-(3-아미노페닐)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(4-펜틸페닐)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(2-피리디닐)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(6-아미노피리딘-2-일)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(3-아미노페닐메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(2-피리디닐메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(6-아미노피리딘-2-일메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(2-피리디닐메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(벤즈이미다졸-1-일메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(7-아자벤즈이미다졸-1-일메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(2,6-다이클로로-페녹시메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸, 4-[3-(2-피리디닐메틸)-피라졸-1-일]뷰틸, 4-[3-(3-피리디닐메틸)-피라졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(3-아미노페닐)-이미다졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(3-피리디닐)-이미다졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(3-인돌릴)-이미다졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(2-아미노피리미딘-5-일)-이미다졸-1-일]뷰틸, 4-[4-(2-퓨라닐카보닐아미노)-이미다졸-1-일]뷰틸, 4-(7-아자벤즈이미다졸-1-일)뷰틸, 4-아자이도뷰틸, 3-(2-페닐이미다졸-1-일)프로필아미노, 3-[4-알릴이미다졸-1-일]프로필아미노, 3-[4-(4,5-다이아세톡시)이미다졸-1-일]프로필아미노, 3-[4-(2-(아세틸아미노)에틸)-이미다졸-1-일]프로필아미노, 3-(5-페닐테트라졸-2-일)프로필아미노, 3-[5-(2-클로로페닐)테트라졸-2-일]프로필아미노, 3-(4-퀴놀리닐)프로필아미노, 3-(6-아미노퓨린-9-일)프로필아미노, (R)-1-(2-벤즈이미다졸-카보닐)-피롤리딘-2-일메틸, (R)-1-(2-피롤로[2,3-a]피리딘카보닐)피롤리딘-2-일메틸, (R)-1-(1-아이소퀴놀린카보닐)피롤리딘-2-일메틸, (R)-1-[1-(8-아자아이소퀴놀린)카보닐]-피롤리딘-2-일메틸, 1-(8-아자퀴놀린-4-일메틸)아제티딘-4-일, 1-(3-하이드록시-5-아자퀴놀린-4-일메틸)아제티딘-4-일, (R)-1-[1-(8-아자퀴놀린-4-일)에틸]아제티딘-4-일, 1-(3-사이아노-4-에톡시페닐설폰)아제티딘-4-일, 1-(8-퀴놀린설폰)아제티딘-4-일, (R)-2-아미노-1-(하이드록시메틸)에틸, (R)-2-벤질아미노-1-(하이드록시메틸)에틸, 퀴놀린-6-일메틸-아미노카보닐아미노메틸 및 퀴놀린-6-일메틸옥시카보닐아미노메틸인 화합물 이외의 것임을 이해할 필요가 있다.

[0167] 따라서, 상기 화합물은 본 명세서에 기재된 본 발명의 부분을 형성하지 않는다.

[0168] CEM-101의 결합 부위 및 작용 모드의 특성 규명은 다음과 같이 수행되었다:

[0169] 재료 및 방법

[0170] **실시예.** 항생제, 리보솜 및 시약. CEM-101, CEM-103, 텔리트로마이신 및 [¹⁴C]CEM-101(53 mCi/mmol)은, 모라벡 바이오케미컬즈사(Moravek Biochemicals, Inc.)에 의해 합성되었다. 에리트로마이신과 아지트로마이신은 시그마사(Sigma)로부터 얻었다. [¹⁴C]에리트로마이신(48.8 mCi/mmol)은 퍼킨엘머사(PerkinElmer)로부터 얻었다.

[0171] 항생제는 10mM의 농도로 100% 에탄올 중에 용해시키고, 경쟁 결합 연구와 무세포 전사-번역 검정(cell-free transcription-translation assay)을 위하여 필요로 되는 농도를 얻기 위하여 물에 단계 희석(serial dilution)을 행하였다. 항생제는 리보솜 프로빙 실험을 위하여 에탄올 중에 희석하였다.

[0172] 리보솜은 표준 프로토콜에 의해 대장균(*E. coli*) 균주 MRE 600, 황색 포도상 구균 균주 ATCC 29212 또는 황색 포도상 구균 균주 N315로부터 준비되었다(Spedding, G. 1990. Isolation and analysis of ribosomes from prokaryotes, eukaryotes, and organelles, p. 1-29. In G. Spedding (ed.), Ribosomes and protein synthesis, a practical approach. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom; Adams, P. D., P. V. Afonine, G. Bunkoczi, V. B. Chen, I. W. Davis, N. Echols, J. J. Headd, L. W. Hung, G. J. Kapral, R. W. Grosse-Kunstleve, A. J. McCoy, N. W. Moriarty, R. Oeffner, R. J. Read, D. C. Richardson, J. S. Richardson, T. C. Terwilliger, and P. H. Zwart. 2010. PHENIX: a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution. Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 66:213-221).

[0173] 화학약품의 대부분은 피셔 사이언티픽사(Fisher Scientific) 또는 시그마사로부터 얻었다.

[0174] **실시예.** 경쟁 결합 연구. 대장균 및 황색 포도상 구균 리보솜에의 에리트로마이신의 결합 및 경쟁 실험은 문

현[Xiong, L., Y. Korkhin, and A. S. Mankin. 2005. Binding site of the bridged macrolides in the Escherichia coli ribosome. Antimicrob. Agents Chemother. 49:281-288]에 기재된 바와 같이 바이오-겔 P30 스핀 칼럼(Bio-Gel P30 spin columns)을 이용한 크기 배제 크로마토그래피에 의해 행하였다.

[0175] 직접 항생제 결합 실험은, 37℃에서 15분 동안, 이어서 20℃에서 10분 동안 완충액 A(20mM Tris-HCl[pH 7.5], 10mM MgCl₂, 150mM NH₄Cl, 6mM 2-머캅토에탄올) 중 160μl의 전체 용적 중 방사능 표지된 약물의 농도를 변화시키면서 리보솜을 100nM 농도에서 인큐베이팅시킴으로써 행하였다. 이 반응물을 회전 칼럼 상에 장입하고 스윙-버킷 마이크로원심 회전자(swinging-bucket microcentrifuge rotor)에서 실온에서 1,000g에서 1분 동안 원심분리하였다. 유동-통과 용액을 수집하고; 그 용액 130μl를 섬광 각테일 5ml와 혼합하였다. 섬광 계수기에서 방사능을 측정하고, 이것은 리보솜에 결합된 방사능 표지된 약물의 양을 계산하는데 이용하였다.

[0176] 경쟁 결합 실험을 위하여, 리보솜(100nM)을, 37℃에서 15분 동안, 이어서 20℃에서 10분 동안 완충액 A 160μl 중의 100nM [¹⁴C]에리트로마이신(48.8 mCi/mmol; 퍼킨엘머사)으로 예비인큐베이팅하였다. 경쟁용 항생제를 다양한 농도에서 첨가하고, 결합 혼합물을 20℃에서 100분 동안 인큐베이팅하였다. 이 반응물을 회전 칼럼 상에 장입하고, 리보솜-연결된 방사능의 양을 위에 설명된 바와 같이 측정하였다. 결합 데이터는 프리즘 소프트웨어(Prism software)(GraphPad)를 이용해서 분석하였다.

[0177] 무세포 전사-번역 검정.

[0178] 환형 DNA용의 대장균 전사-번역(TnT) S30 추출 시스템(Promega, 카탈로그 번호 L1020)을 세균 단백질 합성에 대한 항생제의 효과를 평가하는데 이용하였다. 실험은 최종 용적 10μl 중 96-웰 원추형 바닥 플레이트에서 수행하였다. S30 추출물(3μl)을 상기 플레이트의 웰에 분배하고, 물 혹은 항생제 용액 1μl와 합하고, 25℃에서 5분 동안 예비인큐베이팅하였다. 반응은 pBEST-luc(상표명) DNA(0.7μg) 1μl, 1mM 아미노산 혼합물 1μl 및 S30 프리믹스 4μl를 함유하는 번역 믹스(translation mix) 6μl를 첨가함으로써 개시시켰다. 이 반응물을 20℃에서 40분 동안 인큐베이팅시키고 나서 얼음 위에 배치하였다. 또 다른 96-웰 플레이트에는, 브라이트-글로 희석 시약(Bright-Glo dilution reagent)(Promega, 카탈로그 번호 E266A) 150μl를 분배하여, 번역 반응물 1.5μl와 혼합하고; 얻어진 용액 30μl를 96-웰 백색벽 플레이트(퍼킨엘머사, 카탈로그 번호 E2610)에서 브라이트-글로 희석 시약 30μl와 혼합하였다. 발광은 탑카운트 섬광 및 발광 계수기(TopCount Scintillation and Luminescence Counter)(퍼킨엘머사) 상에서 측정하였다.

[0179] 토끼 망상적혈구 무세포 번역 시스템(프로메가사(Promega), 카탈로그 번호 L4540)은 진핵생물 리보솜의 활성에 대한 약물의 효과를 검정하는데 이용하였다. 실험은 10μl의 최종 용적에서 96-웰 원추형 바닥 플레이트에서 수행하였다. 토끼 망상적혈구 용해물(7μl)을 물 혹은 항생제 1μl와 혼합하고 25℃에서 5분 동안 예비인큐베이팅하였다. 폴리아데닐화된 루시페라제 mRNA(프로메가사, 카탈로그 번호 L4561)는 65℃에서 3분 동안 RNA를 인큐베이팅함으로써 사용 전에 변성시키고 나서, 얼음 상에 배치하였다. 번역 믹스(2μl)를 토끼 망상적혈구 용해물과 혼합하여 반응을 개시시켰다. 상기 번역 믹스는 변성된 루시페라제 mRNA(0.3μg) 0.3μl, 1mM 아미노산 혼합물 0.2μl, 리보뉴클레아제 억제제(8U, 로체사(Roche), 카탈로그 번호 03 335 399001) 0.2μl, 2.5M 염화칼륨 0.4μl 및 물 0.9μl를 함유하였다. 이 반응물을 30℃에서 30분 동안 인큐베이팅하고 나서 얼음 상에 배치하였다. 또 다른 96-웰 플레이트에는, 브라이트-글로 희석 시약(프로메가사, 카탈로그 번호 E266A) 150μl를 분배하여, 번역 반응물 1.5μl와 혼합하고; 얻어진 용액 30μl를 96-웰 백색벽 플레이트에서 브라이트-글로 희석 시약(프로메가사, 카탈로그 번호 E2610) 30μl와 혼합하였다. 발광은 탑카운트 섬광 및 발광 계수기(퍼킨엘머사) 상에서 측정하였다.

[0180] **실시예.** 리보솜 화학적 프로빙. rRNA 프로빙은, 미소 변형과 함께, 표준 프로토콜에 따라서 행하였다(Merryman, C., and H. F. Noller. 1998. Footprinting and modification-interference analysis of binding sites on RNA, p. 237-253. In C. W. J. Smith (ed.), RNA:Protein Interactions, A Practical Approach. Oxford University Press, Oxford). 요약하면, 200nM 리보솜을 37℃에서 10분 동안, 이어서 20℃에서 10분 동안 완충액 B(80mM HEPES-KOH [pH 7.8], 20mM MgCl₂, 100mM NH₄Cl, 1.5mM 다이티오프레이트) 50μl 중 100 μM 항생제를 이용해서 인큐베이팅하였다. 변형 시약(다이메틸 설페이트[DMS], 케톡살 또는 1-사이클로헥실-3-(2-몰폴리노에틸)카보다이드 메토 p-톨루엔 설포네이트[CMCT])을 첨가하고, 변형 반응을 37℃에서 10분 동안 수행하였다. 반응 및 에탄올 석출을 중지시킨 후, rRNA를 추출하고, 변형된 뉴클레오타이드의 분배를 프라이머 신장에 의해 평가하였다.

[0181] **실시예.** 대장균 리보솜에 복합체화된 CEM-101의 결정학적 연구. 리보솜은 앞서 기재된 바와 같이 MRE600 대장

균 세포로부터 정제하였다(Schuwirth, B. S., M. A. Borovinskaya, C. W. Han, W. Zhang, A. Vila-Sanjurjo, J. M. Holton, and J. H. Cate. 2005. Structures of the bacterial ribosome at 3.5 Å resolution. *Science* 310: 827-834). 리보솜 결정은, 동결보호 완충액이 50 μM CEM-101로 보충된 것을 제외하고, 문헌[Zhang, W., J. A. Dunkle, and J. H. Cate. 2009. Structures of the ribosome in intermediate states of ratcheting. *Science* 325:1014-1017]에 기재된 바와 같이 성장시키고 취급하였다. 이 결정은 동결보호 완충액 + CEM-101 중에 12 내지 24시간 동안 담그고 나서, 액체 질소로 급속 냉동시켰다. X-선 회절 데이터는, 100K에서 0.1° 내지 0.3° 진동을 이용해서, 로렌스 버클리 네셔널 라보라토리(Lawrence Berkeley National Laboratory)의 어드밴스트 라이트 소스(Advanced Light Source)의 빔라인 12.3.1에서 수집되어 ADSC Q315 검출기 상에 기록되었다. X-선 회절 데이터는 HKL2000을 이용해서 저장되고 스케일조정되었다(Otwinowski, Z., and M. W. 1997. Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode, p. 307-326. In C. W. J. Carter and S. R. M. (ed.), *Methods Enzymol.*, vol. 276. Academic Press, New York). 3I1M, 3I1N, 3I1O 및 3I1P에 보고된 좌표는 PHENIX 소프트웨어 슈트를 이용해서 반사 데이터에 대해서 개량되었다(Adams, P. D., P. V. Afonine, G. Bunkoczi, V. B. Chen, I. W. Davis, N. Echols, J. J. Headd, L. W. Hung, G. J. Kapral, R. W. Grosse-Kunstleve, A. J. McCoy, N. W. Moriarty, R. Oeffner, R. J. Read, D. C. Richardson, J. S. Richardson, T. C. Terwilliger, and P. H. Zwart. 2010. PHENIX: a comprehensive Python-based system for macromolecular structure 용액. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 66:213-221). Fo-Fc 맵은 PHENIX를 이용해서 계산되었고, CEM-101에 대한 좌표는 소프트웨어 쿄트(software Coot)를 이용해서 이 공정한 차이 밀도(unbiased difference density) 내에 배치하였다(Emsley, P., and K. Cowtan. 2004. Coot: model-building tools for molecular graphics. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 60:2126-2132). CEM-101과 텔리트로마이신 간의 비교를 위한 개별의 원자 변위 파라미터값은 PHENIX를 이용해서 계산하였다. 도면은 PyMol을 이용해서 작성하였다.

[0182] **실시예.** 대장균 및 황색 포도상 구균으로부터의 야생형 리보솜에 대한 CEM-101의 친화도. 그람 음성 및 그람 양성 세균으로부터의 야생형 리보솜에 대한 CEM-101의 결합은 [¹⁴C]에리트로마이신과의 경쟁에 의해 처음에 분석되었다. 그것을 위하여, 대장균 및 황색 포도상 구균 70S 리보솜의 제제에 대한 방사성 동위원소 표지된 에리트로마이신의 결합이 우선 분석되었다. 포화 결합 실험에 있어서, [¹⁴C]에리트로마이신은 두 세균으로부터 리보솜에 용이하게 결합되었고, 이는 대장균과 황색 포도상 구균 리보솜 각각에 대해서 66±11nM 및 11±1nM의 *K_d*를 나타내었다(데이터 미표시). 이들 값은 앞서 발표된 것들(10⁻⁸ 내지 10⁻⁷M)과 견줄만하였다(Douthwaite, S., and C. Aagaard. 1993. Erythromycin binding is reduced in ribosomes with conformational alterations in the 23S rRNA peptidyl transferase loop. *J. Mol. Biol.* 232:725-731; Karahalios, P., D. L. Kalpaxis, H. Fu, L. Katz, D. N. Wilson, and G. P. Dinou. 2006. On the mechanism of action of 9-O-arylalkyloxime derivatives of 6-O-mycaminosyltylonolide, a new class of 16-membered macrolide antibiotics. *Mol. Pharmacol.* 70:1271-1280). 에리트로마이신의 결합은 대장균 또는 황색 포도상 구균 리보솜 1pmol당 약물 1pmol에 가깝게 포화되었으며, 이는 제제 중의 리보솜의 대다수가 결합에 대한 능력이 있었다는 것을 나타낸다.

[0183] 경쟁 결합 실험에 있어서, CEM-101은 대장균 리보솜에 대해서 155±8nM, 황색 포도상 구균 리보솜에 대해서 117±3nM의 IC₅₀으로 두 유형의 리보솜으로부터 에리트로마이신을 용이하게 변위시켜, CEM-101에서 62±3nM(대장균) 및 12±1nM(황색 포도상 구균)이 얻어졌다(표 1). 황색 포도상 구균 야생형 리보솜에 대해서 방사능 동위원소 표지된 [¹⁴C]CEM-101의 친화도는 포화 결합 실험에 의해서 측정되었다. 이 접근법에서 얻어진 50±13nM의 *K_d*는 에리트로마이신과의 경쟁에 의해 얻어진 것과 유사하였다. 전적으로, 약물 결합 연구는, CEM-101이 에리트로마이신의 것과 일치하거나 중첩되는 리보솜 부위와 상호작용하는 것을 입증하였고, 또한 약물은 다른 마크로라이드의 것과 유사한 친화도를 지니는 그람 양성 및 그람 음성 세균의 리보솜에 결합하는 것을 입증하였다.

[0184] **실시예.** CEM-101에 의한 세균 단백질의 억제. 세균 단백질 합성에 대한 CEM-101의 효과는 대장균 무세포 전사-번역 시스템에서 검정되었다. CEM-101은 아지트로마이신(IC₅₀ 0.3 μM) 및 텔리트로마이신(IC₅₀ 0.5 μM)에 의해 제공된 억제와 견줄만한 1.1 μM의 IC₅₀을 지니는 개통벌레 루시페라제(Lux)의 합성을 억제하였다. 무세포 시스템에서 전사보다 오히려 번역(즉, 암호해독) 시 CEM-101의 특이적 효과가 주형으로서 DNA 대신에 *lux* mRNA를 이용해서 독립적으로 검증되었다(데이터 미표시). 단, 세균 무세포 번역 시스템(600nM) 내의 리보솜의 농도는 마크로라이드 항생제의 *K_d*값을 상당히 초과하는 것에 유의할 필요가 있다. 따라서, IC₅₀값은 세균 번역의 억제에서 테스트된 마크로라이드 항생제의 상대 효율을 정확하게 기술하지 못하지만, 오히려 세균 단백질 합성을 용이

하게 간섭하는 그들의 능력의 정량적인 표시를 제공한다. 세균 번역 시 그의 효과와 대조적으로, CEM-101은 50 μ M까지의 농도에서 진행생물(토끼) 무세포 번역 시스템에서 루시페라제의 합성에 대한 효과를 보이지 않았다. 이와 같이 해서, CEM-101은 세균 번역의 선택적이고도 효과적 억제제를 발휘한다.

[0185] 실시예. 결정 상태에서 CEM-101의 대장균 리보솜과의 상호작용. CEM-101에 결합된 대장균 리보솜의 고해상도 X선 결정학적 구조가 얻어졌다(표 2).

표 2

CEM-101에 복합체화된 대장균 70S 리보솜의 결정에 대한 회절 통계치

데이터 수집 ^{a)}	
공간군	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
셀 차원	
<i>a, b, c</i> (Å)	210.7, 433.2, 618.8
<i>a, b, c</i> (°)	90, 90, 90
해상도 (Å)	100-3.11 (3.17-3.11) ^{b)}
<i>R</i> _{대칭} 또는 <i>R</i> _{병합}	11.1 (89.9)
<i>I</i> / $\sigma(I)$	8.27 (1.19)
압축률 (%)	93.8 (85.3)
용장성	3.3 (2.5)
개량	
해상도 (Å)	69.7-3.10
반사 수	821,883
<i>R</i> _{가공} / <i>R</i> _{자유}	0.22/0.26
원자 수	284,555
R.m.s. 편차	
결합 길이 (Å)	0.006
결합 각 (°)	1.452

a) 2개의 결정이 사용되었다.

b) 괄호 안의 값은 최고-해상도 셀에 대한 것이다.

[0186]

[0187] 텔리트로마이신의 결합은 X-선 결정학에 의해 이미 연구되었다(Berisio, R., J. Harms, F. Schlunzen, R. Zarivach, H. A. Hansen, P. Fucini, and A. Yonath. 2003. Structural insight into the antibiotic action of telithromycin against resistant mutants. J. Bacteriol. 185:4276-4279; Tu, D., G. Blaha, P. B. Moore, and T. A. Steitz. 2005. Structures of MLSBK antibiotics bound to mutated large ribosomal subunits provide a structural explanation for resistance. Cell 121:257-270).

[0188] 11-N 결사슬이 4-[4-(3-아미노페닐)[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸기인 플루오로케토라이드 CEM-101의 결합은, 11-N 결사슬이 4-[4-(3-피리디닐)-이미다졸-1-일]뷰틸기인 (비-플루오로) 케토라이드 텔리트로마이신의 결합과 비교되었다. 리보솜 내의 CEM-101의 일반적인 자세는 대장균의 리보솜에 결합된 텔리트로마이신에 대해서 보여주는 것과 유사하다. 두 약물의 락톤 고리 및 데소사민 당의 배치 및 입체배치(configuration)는 본질적으로 구별불가능하다. CEM-101의 결사슬의 아미노페닐트리아졸 헤드는 텔리트로마이신의 피리디닐이미다졸 모이어티로서 A752-U2609 염기쌍과 유사한 적층 상호작용을 행하며; 이는 A752 및 U2609 염기로부터 3.5Å의 거리에 위치되어 이들과 평행하게 배향된다. 중요하게는, 대장균 리보솜에서 관찰되는 CEM-101(및 텔리트로마이신) 11-N 결사슬의 상호작용은 테이노코커스 라디오두란스 또는 할로아르콜라 마리스모르투이의 리보솜과의 케토라이드의 결정학적 복합체에서 앞서 나타난 것과는 근본적으로 상이하다(Berisio, R., J. Harms, F. Schlunzen, R. Zarivach, H. A. Hansen, P. Fucini, and A. Yonath. 2003. Structural insight into the antibiotic action of telithromycin against resistant mutants. J. Bacteriol. 185:4276-4279; Schlunzen, F., J. M. Harms, F. Franceschi, H. A. Hansen, H. Bartels, R. Zarivach, and A. Yonath. 2003. Structural basis for

the antibiotic activity of ketolides and azalides. Structure 11:329-338; Tu, D., G. Blaha, P. B. Moore, and T. A. Steitz. 2005. Structures of MLSBK antibiotics bound to mutated large ribosomal subunits provide a structural explanation for resistance. Cell 121:257-270). 대장균 및 많은 병원성 세균의 리보솜 내의 A752-U2609 염기쌍의 존재는 케토라이드의 결사슬의 상호작용의 이 특이적 모드를 해명할 수 있다. 23S rRNA 서열 차이 때문에, 이러한 염기쌍의 형성은 데이노코커스 라디오두란스 또는 할로아르쿨라 마리스모르투이에서 불가능하다. 따라서, 대장균 리보솜과 복합체화된 케토라이드의 구조는 병원성 세균의 리보솜과의 약물의 상호작용을 더욱 정확하게 반영하는 것으로 여겨진다.

[0189] CEM-101 및 텔리트로마이신의 결사슬의 일반적으로 유사한 배향에도 불구하고, 그들의 화학적 구조의 변동은 결합 모드에서 중요한 차이를 초래한다. CEM-101 원자에 대한 원자 변위 파라미터(ADP) 개선은, CEM-101의 신장된 부분이 텔리트로마이신의 결사슬과 비교하여 상당히 낮은 ADP값을 발휘하는 반면, 기타 항생제 원자 모두에 대한 평균 ADP값은 두 경우에 있어서 매우 유사한 것으로 나타낸다. 리보솜에서의 그의 결합 부위에서 CEM-101의 보다 양호한 고정을 반영하는 이 차이는, CEM-101의 결사슬에서 아미노페닐의 환의 아미노기의 추가의 수소 결합 상호작용으로부터 기인하는 것으로 여겨진다. 구체적으로, 아미노기는 A752의 O4' 및 G748의 O6에 대해서 H-결합 공여체로서 역할하는 것으로 보이는 반면, G748의 N1로부터의 H-결합 수용체이다. 이들 상호작용의 어느 것도 텔리트로마이신에 대해서는 가능하지 않다.

[0190] 텔리트로마이신 및 수개의 다른 케토라이드에 비해서 CEM-101의 독특한 특성은 락톤 고리의 C2 위치에서 불소 원자의 존재이다. 대장균 리보솜에 결합된 CEM-101의 구조에 있어서, 불소 원자는 C2611의 글라이코사이드 결합(원자 N1)으로부터 2.7Å의 거리에 위치되어 있고, 따라서, 약물 결합에 잠재적으로 기여할 수 있다. 몇몇 보고는 케토라이드의 활성에 대한 2-F의 중요성을 문제시화하고 있지만(Keyes, R. F., J. J. Carter, E. E. Englund, M. M. Daly, G. G. Stone, A. M. Nilius, and Z. Ma. 2003. Synthesis and antibacterial activity of 6-O-arylbutynyl ketolides with improved activity against some key erythromycin-resistant pathogens. J. Med. Chem. 46:1795-1798), CEM-101의 MIC값의 불소 원자가 결합된 그의 유사체의 것과의 비교는, CEM-101이 *erm* 메틸전달효소 유전자를 수반하는 연쇄상 구균의 성장을 더욱 용이하게 억제하는 나타내었다(표 3). 이와 같이 해서, C2 탄소 원자의 불소화는 A2058에서 다이메틸화된 리보솜에 대한 약물의 보다 타이트한 결합에 특별히 기여할 수 있다. 대장균 리보솜에 복합체화된 CEM-101의 구조에서, 불소 원자는 C2611의 N1로부터 2.7 Å에 위치되어 있다.

표 3

연쇄상 구균에 대한 CEM-101의 활성화에 대한 2-불소 원자의 역할

종 및 표현형 a)	균주 수	CEM-101		CEM-Des-F b)	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
페렴 연쇄상 구균 Pen ^S , Tel ^S , Mac ^S	10	0.03 c)	0.03	0.03	0.03
페렴 연쇄상 구균 Pen ^R , Tel ^{I/R} , Mac ^R	12 d)	0.5	0.5	4	4
화농성 연쇄상 구균 Tel ^S , Mac ^S	10	0.03	0.03	0.03	0.03
화농성 연쇄상 구균 Tel ^R , Mac ^R	9 e)	0.125	0.25	2	2

- a) 페니실린 (Pen), 텔리트로마이신 (Tel) 및 마크로라이드 (Mac) 민감성에서 상이한 임상적 단리체. 이 연구에서 이용된 균주의 수는 괄호 안에 표시되어 있다.
- b) 불소 원자 결여 CEM-101의 유도체인 CEM-Des-F; Tel, 텔리트로마이신; Azt, 아지트로마이신.
- c) MIC₅₀ 및 MIC₉₀ 값은 테스트된 균주의 50% (MIC₅₀) 또는 90% (MIC₉₀) 억제된 항생제의 농도 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)에 대응한다.
- d) 페렴 연쇄상 구균의 Mac^R 균주는 모두 구성 *ermB* 유전자를 수반하였다.
- e) 화농성 연쇄상 구균의 8개의 Mac^R 균주는 구성 *ermB* 유전자를 수반하였고, 하나의 균주는 구성 *ermA* 유전자를 수반하였다.

[0191]

[0192]

실시예. 용액 중 CEM-101의 야생형 대장균 및 황색 포도상 구균 리보솜과의 상호작용. 결정 상태에서 리보솜에 대한 약물의 결합이 용액 중의 것과 상이할 수 있기 때문에, 그리고 생화학적, 유전적 및 결정학적 증거는 동일한 화합물이 상이한 종의 리보솜과 상이한 상호작용을 보일 수 있는 것을 나타낸다(Bottger, E. C. 2006. The ribosome as a drug target. Trends Biotechnol. 24:145-147), 대장균 리보솜에 결합된 CEM-101의 결정학적 구조가 그람 양성 병원균의 리보솜과의 약물의 상호작용을 정확하게 반영하는지의 문제는 RNA 풋프린팅을 이용해서 대장균 및 황색 포도상 구균 리보솜과의 그의 상호작용을 프로빙함으로써 CEM-101 결합의 구조적 연구를 확장시킴으로써 탐구되었다(Moazed, D., and H. F. Noller. 1987. Chloramphenicol, erythromycin, carbomycin and vernamycin B protect overlapping sites in the peptidyl transferase region of 23S ribosomal RNA. Biochimie 69:879-884). 또한 이 연구에는 C2-연결된 불소 원자를 결여하는 CEM-101의 C3-클라디노스 계통인 CEM-103도 포함되었다.

[0193]

다른 조사된 마크로라이드 및 케토라이드와 유사하게, CEM-101과 CEM-103은 23S rRNA의 도메인 V 내의 A2058 및 A2059를 DMS에 의한 변형으로부터 보호한다. 결정학적 연구로부터 추론될 수 있는 바와 같이, 이들 보호는 C5 데소사민 당에 의해 제공되며, 이는 A2058 및 A2059 잔기에 의해 형성된 클레프트를 밀접하게 접근시킨다. 또한, 대장균 리보솜과 복합체화된 CEM-101(및 텔리트로마이신), CEM-101뿐만 아니라, 텔리트로마이신 및 CEM-103의 결정학적 구조와의 우수한 일치는 대장균 및 황색 포도상 구균 리보솜 둘다 내에서의 DMS 변형으로부터 A752를 강력하게 보호한다. 이와 대조적으로, 연장된 결사슬을 결여하는 에리트로마이신은, A752를 DMS 변형으로부터 보호하지 못한다. 이와 같이 해서, 결정 상태에서 보여지는 CEM-101 결사슬의 A752-U2609 염기쌍과의 상호작용은 용액 중에서 리보솜에 대한 약물의 결합을 정확하게 반영하는 것으로 보인다. C2 불소의 결여 또는 CEM-103 내 C3 클라디노스의 존재는 풋프린팅 패턴 내 임의의 차이를 발생하지 않으며, 이는 이 약물의 모이어티가 DMS 변형을 위하여 접근가능한 rRNA 잔기와 접촉하지 않는다.

[0194]

중요하게는, 대장균의 리보솜 내의 CEM-101의 풋프린팅 패턴이 황색 포도상 구균의 리보솜의 것과 구별하기 어려우며, 이는 본 명세서에 기재된 대장균 리보솜에 복합체화된 CEM-101의 고해상도 구조가 그람 양성 병원균의 리보솜에 대한 약물의 결합을 마찬가지로 정확하게 반영하는 것을 나타낸다.

- [0195] **실시예.** *Erm*-메틸전달효소에 의해 A2058에서 다이메틸화된 황색 포도상 구균 리보솜과의 CEM-101의 상호작용. *Erm*-메틸전달효소는 아데닌 염기는 아데닌 염기의 환외 아미노기에 2개의 메틸기를 연속적으로 첨가함으로써 23S rRNA 내의 A2058을 변형시킨다. 이러한 변형은 에리트로마이신 및 유사한 마크로라이드의 결합을 완전히 차단하는 반면, 케토라이드의 결합에 대한 그의 효과는 덜 명확하다(Douthwaite, S., L. H. Hansen, and P. Mauvais. 2000. Macrolide-ketolide inhibition of MLS-resistant ribosomes is improved by alternative drug interaction with domain R of 23S rRNA. *Mol. Microbiol.* 36:183-193; Liu, M., and S. Douthwaite. 2002. Activity of the ketolide telithromycin is refractory to *Erm* monomethylation of bacterial rRNA. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1629-1633). 따라서, Tn554 이동유전자(transposon) 내에 존재하는 구성적으로 발현된 *ermA* 유전자의 5개의 염색체 복제물을 운반하는, 만성 황색 포도상 구균 균주 N315로부터 단리된 CEM-101의 리보솜과의 상호작용(Kuroda, M., T. Ohta, I. Uchiyama, T. Baba, H. Yuzawa, I. Kobayashi, L. Cui, A. Oguchi, K. Aoki, Y. Nagai, J. Lian, T. Ito, M. Kanamori, H. Matsumaru, A. Maruyama, H. Murakami, A. Hosoyama, Y. Mizutani-Ui, N. K. Takahashi, T. Sawano, R. Inoue, C. Kaito, K. Sekimizu, H. Hirakawa, S. Kuhara, S. Goto, J. Yabuzaki, M. Kanehisa, A. Yamashita, K. Oshima, K. Furuya, C. Yoshino, T. Shiba, M. Hattori, N. Ogasawara, H. Hayashi, and K. Hiramatsu. 2001. Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 357:1225-1240)이 연구되었다. 황색 포도상 구균 N315 균주로부터 단리된 리보솜은 A2058 잔기에서 광범위하게 다이메틸화되며, 이것은 이 균주로부터 제조된 리보솜에 대한 [¹⁴C]에리트로마이신의 결합의 결여와 잘 일치한다(데이터 미표시).
- [0196] 풋프린팅 분석은 케토라이드(CEM-101 및 텔리트로마이신) 및 클라디노스-함유 마크로라이드(CEM-103 및 에리트로마이신)의 황색 포도상 구균 N315 균주로부터 단리된 2058-다이메틸화된 리보솜과의 상호작용을 테스트하는데 이용되었다. 리보솜은 약물(100 μM 농도에서 존재)을 이용해서 인큐베이팅하고 DMS 변형에 의해 프로빙되었다. 다이메틸화된 A2058이 RNA 주형을 따라 역전사효소의 진행을 차단하기 때문에, 강한 역전사효소 중지는 프라이머 연장 겔 상에서 A2058에서 관찰된다(Vester, B., and S. Douthwaite. 1994. Domain V of 23S rRNA contains all the structural elements necessary for recognition by the *ErmE* methyltransferase. *J. Bacteriol.* 176:6999-7004; Zhong, P., Z. Cao, R. Hammond, Y. Chen, J. Beyer, V. D. Shortridge, L. Y. Phan, S. Pratt, J. Capobianco, K. A. Reich, R. K. Flamm, Y. S. Or, and L. Katz. 1999. Induction of ribosome methylation in MLS-resistant *Streptococcus pneumoniae* by macrolides and ketolides. *Microb. Drug Resist.* 5:183-188). 따라서, 황색 포도상 구균 N315 리보솜에서의 이 위치와의 마크로라이드의 상호작용을 평가하기 위하여 풋프린팅을 이용하는 것은 불가능하다. 그러나, A2059 밴드의 강도의 조사는, 에리트로마이신이 아니라 CEM-101과 CEM-103 둘 모두가 *Erm*-변형된 리보솜에 결합되어, DMS 변형으로부터 A2059의 보호를 초래할 수 있었던 것을 명확하게 나타내었다. 텔리트로마이신은 또한 CEM-101 또는 CEM-103보다 적은 정도로 A2059를 보호하였다. 케토라이드 및 CEM-103의 황색 포도상 구균 리보솜에 대한 결합의 더욱 광범위한 분석을 위하여, 풋프린팅 연구는, 2개 이상의 변형 시약인 구아노신을 변형시키는 케톡살과, 유리딘을 변형시키는 1-사이클로헥실-3-(2-몰폴리노에틸)-카보다이이미드 메토-p-톨루엔 설포네이트(CMCT)를 포함시킴으로써 확대되었다(Merryman, C., and H. F. Noller. 1998. Footprinting and modification-interference analysis of binding sites on RNA, p. 237-253. In C. W. J. Smith (ed.), *RNA:Protein Interactions, A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford). 케톡살 프로빙은 CEM-101과 CEM-103이 케톡살 변형으로부터 G2505를 부분적으로 보호하고 CMCT에 의한 변형으로부터 U2609를 전체적으로 보호하는 것을 나타내었다. 텔리트로마이신은 두 위치에서 현저하게 보다 약한 보호를 제공하였다. 에리트로마이신은 두 위치의 어느 것도 보호하지 않았으며, 이는 A2058의 다이메틸화가 에리트로마이신 결합을 방지하는 것으로 알려진 사실과 일치하였다(Weisblum, B. 1995. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:577-585).
- [0197] 풋프린팅 연구의 결과로부터 유도될 수 있는 전반적인 결론은, (헤테로)아릴기를 담지하는 연장된 알킬 결사슬을 지니는 마크로라이드가, 충분히 농도에서 존재할 경우, *Erm* 메틸전달효소의 작용에 의해 A2058에서 다이메틸화된 리보솜에 결합될 수 있다는 것이다. 또한, 트리아졸 모이어티 및 아미노페닐 모이어티를 특징으로 하는, CEM-101 및 CEM-103의 결사슬, 그리고 A752-U2609 염기쌍과의 그의 명백한 추가의 상호작용은, 텔리트로마이신과 비교해서 더욱 효율적인 결합을 보이는 것은 명백하다.
- [0198] **실시예.** 신규한 마크로라이드 제제를 이용해서 배양된 바와 같은 종래의 스크린을 이용한 선별 결과는 이하의 표에 제공된다.

유기체	CEM-219	CEM-199
페렴 연쇄상 구균		
ATCC 49619/WT	≤ 0.015	0.06
117-20B/WT	≤ 0.015	0.06
014-4331A/ <i>mefA</i>	0.5	1
007-4589A/ <i>ermB</i>	≤ 0.015	0.12
120-1037B/- <i>ermB/mefA</i>	0.12	0.5
화농성 연쇄상 구균		
ATCC 19615	≤ 0.015	0.06
129-7129A/ <i>ermA</i>	≤ 0.015	0.12
089-14217A/ <i>ermB</i>	0.5	1
황색 포도상 구균		
024-11A/WT	0.5	0.5
ATCC 29213/WT	0.25	0.5
BAA-977/ <i>ermA</i>	0.25	0.5
D-5/ <i>ermA</i>	>16	>16
마이크로코커스 루테우스(<i>M. luteus</i>)		
ATCC 9341/WT	≤ 0.015	0.06
대장균		
ATCC 25922/WT	>16	16
122-5930A/WT	>16	16

[0199]

[0200]

실시예. 신규한 마크로라이드 제제의 제조. 이 신규한 마크로라이드 제제는 거대고리 및 치환체의 제조를 위하여 당업계에서 공지된 방법과 유사한 방법을 이용해서 또는 본 명세서에 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다. 이하의 실시예는 본 발명의 구체적인 실시형태를 더욱 예시하지만, 이하의 예시적인 실시예는 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 실시예에서 이용된 약어는 다음과 같다: DCM, 다이클로로메탄; DMAP, 4-다이메틸아미노피리딘; DMSO; 다이메틸 설펍사이드; EA, 에틸 아세테이트; $^1\text{H-NMR}$, 양성자 핵자기 공명 분광법; MeOH, 메탄올; Mw, 분자량; RT, 실내(주위) 온도; THF, 테트라하이드로퓨란; TLC, 박막 크로마토그래피.

[0201]

실시예. 제법 1. 클라리트로마이신 다이벤조에이트. a. 에리트로마이신 A 9-옥심(1)의 합성. MeOH(23ml) 중 에리트로마이신 A(15g, 20.4 mmol), $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (7.3g, 105 mmol) 및 트라이에틸아민(7g, 69 mmol)의 혼합물을 환류 하에 하룻밤 가열하였다. 반응 동안 백색 고체가 형성되었다. 이 반응 혼합물을 작은 용적으로 농축시켰다. 얻어진 잔사에 이 혼합물의 pH가 약 10 내지 11에 도달할 때까지 0°C에서 묽은 수성 NH_4OH 용액을 첨가하였다. 이 과정 동안 상기 혼합물로부터 추가의 고체가 석출되었다. 이 혼합물을 여과시키고, 수집된 고체를 물로 세척하고 진공 하 건조시켜 백색 과립 고체로서 1을 93% 수율로 14.2g 수득하였다. 얻어진 1의 TLC 분석(DCM:MeOH: NH_4OH = 90:10:1)은, Z-이성질체에 기인될 수 있는 보다 저농도의 스팟의 매우 약간의 오염을 보였다. 얻어진 1의 질량 분석은 현저한 피크로서 목적으로 하는 생성물의 분자량(Mw 749)을 지니는 피크를 보였다. 이 생성물의 $^1\text{H-NMR}$ 은, 이것이 목적으로 하는 1과 목적으로 하는 1의 HCl염의 혼합물인 것을 나타내었다. 조질의 생성물은 정제 없이 그 다음 단계의 반응에 이용되었다.

[0202]

b. 0-(2-메톡시-2-프로필)에리트로마이신 A 9-옥심(2)의 합성. 무수 다이클로로메탄(DCM, 21ml) 중 1(3g, 4 mmol)의 용액에 2-메톡시프로펜(1.5g, 20.8 mmol)을 첨가하고 나서, 0°C에서 피리딘 하이드로클로라이드(0.72g, 6.2 mmol)를 첨가하였다. 첨가 후, 이 반응 혼합물을 RT에서 0°C에서 30분 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물의 TLC 분석(DCM:MeOH: NH_4OH = 90:10:1)은 남아 있는 다량의 미반응 1에 의해 형성된 단지 소량의 생성물을 보였다. 이 반응 혼합물을 0°C로 도로 냉각시켰다. 이것에 2-메톡시프로펜(6.9 mmol)의 0.5g을 더 첨가하였다. 이 혼합물을 더욱 0.5시간 동안 0°C에서 교반하였다. 이 반응 혼합물의 TLC 분석은 여전히 불완전 반응을 보였다. 따라서, 이 반응 혼합물에 0°C에서 추가로 2-메톡시프로펜(6.9 mmol) 0.5g을 첨가하고 나서 피리딘 하이드

로클로라이드(0.86 mmol) 0.1g을 추가로 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 더욱 15분 동안 0℃에서 교반하였다. 이 반응 혼합물의 TLC 분석은 출발 물질이 없는 것을 보였다. 이 반응 혼합물을 포화 수성 NaHCO₃ 용액으로 희석하였다. DCM 층이 분액되었고, 수성층을 DCM으로 추출하였다. DCM 층들을 합하여 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 나서, 건조 상태로 농축시켜 조질의 생성물 3.3g을 백색 발포체로서 정량적 수율로 수득하였다. 이 조질물 2의 질량 분석은 과반응된 부산물에 기인된 861의 분자량을 지니는 매우 미소한 피크와 함께 주된 피크(Mw 821)로서 목적으로 하는 생성물 피크를 보였다. 이 조질물 2의 ¹H-NMR은 가능한 2-메톡시프로판-2-올 및 피리딘의 오염과 함께 2의 목적으로 하는 구조를 보였다. 이 조질의 생성물은 추가의 정제 없이 그 다음 단계의 반응에 이용되었다.

[0203]

c. 2',4"-다이벤조일-0-(2-메톡시-2-프로필)에리트로마이신 A 9-옥심(3)의 합성. 에틸 아세테이트(65ml) 중 2(4.1g, 5 mmol)의 용액에 벤조산 무수물(4.5g, 20 mmol)을 첨가하고 나서, RT에서 트라이에틸아민(1.26g, 12.5 mmol) 및 DMAP(0.9 g, 7.4 mmol)를 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 RT에서 36시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 포화 수성 NaHCO₃ 용액으로 희석하였다. EA 층이 분액되었고, 수성 층은 EA로 추출하였다. EA 층들을 합하여 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시킨 후, 여과시켜 건조제를 제거하고, 건조 상태로 농축시켰다. 얻어진 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(DCM:MeOH:NH₄OH = 97:3:0.3)에 걸쳐 3을 백색 고체로서 80% 수율로 4.2g 수득하였다. 얻어진 3의 질량 분석은 주된 성분 피크로서 목적으로 하는 생성물의 분자량(Mw 1029)을 지니는 피크를 보였다. 얻어진 3의 ¹H-NMR 분석은 상기 명명된 생성물의 구조를 보였다.

[0204]

d. 2',4"-다이벤조일-0-(2-메톡시-2-프로필)-6-0-메틸-에리트로마이신 A 9-옥심(4)의 합성. 무수 THF(15ml) 및 무수 DMSO(15ml) 중 3(3.8g, 3.7 mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. 이것에 분말화된 KOH(0.46g, 8.2 mmol)를 첨가하고 나서, 0℃에서 요오드화메틸(1.06g, 7.5 mmol)을 첨가하였다. 얻어진 반응 혼합물을 0℃에서 5분 동안 교반하였다. 이것은 걸쭉한 페이스트로 변하였고, 따라서 교반을 중지하였다. 이 혼합물을 5분 동안 RT까지 가온시킨 바, 이 혼합물은 걸쭉한 페이스트인 채로 있었다. 따라서, 이 반응 혼합물에 더욱 THF 15ml와 DMSO 15ml를 첨가하였다. 첨가 후, 이 반응 혼합물은 자유 유동 현탁액으로 변하였다. 이 혼합물을 RT에서 더욱 0.5시간 동안 교반하고, 포화 수성 NaHCO₃ 용액으로 희석시킨 후, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 에틸 아세테이트 추출물을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 건조 상태로 농축시켰다. 얻어진 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(DCM:MeOH:NH₄OH = 97:3:0.3)에 걸쳐 4를 백색 고체로서 73%의 수율로 2.83g 수득하였다. 단리된 4의 질량 분석은 과메틸화된 부산물의 질량을 지니는 Mw 1057의 미소한 피크와 함께 주 성분으로서 목적으로 하는 생성물 피크(Mw 1043)를 보였다. 단리된 4의 ¹H-NMR 분석은 상기 명명된 생성물의 구조와 일치하였다.

[0205]

e. 클라리트로마이신 다이벤조에이트[2',4"-다이벤조일-6-0-메틸-에리트로마이신 A]의 합성. 에탄올(8ml) 및 물(8ml) 중 4(800mg, 0.78 mmol)의 용액에 RT에서 메타중아황산나트륨(740mg, 3.89 mmol)을 첨가하였다. 얻어진 혼합물의 pH를 포름산(1.5ml)의 추가로 2 내지 3으로 조정하였다. 이 혼합물을 60℃에서 1시간 동안 가열하였다. 이 반응 혼합물의 질량 분석은 다량의 탈보호된 옥심 중간체(Mw 971)와 함께 미량의 생성물을 보였다. 이 반응 혼합물에 메타중아황산나트륨(10.5 mmol) 2g을 더욱 첨가하였다. 이 혼합물을 더욱 7시간 동안 60℃에서 교반한 후, RT로 냉각시켰다. 반응이 진행됨에 따라서 이 반응 혼합물로부터 백색 고체가 석출되었다. 이 반응 혼합물은 pH가 8 내지 9로 될 때까지 묽은 수성 NaHCO₃ 용액으로 중화시키고 얻어진 혼합물을 여과시켰다. 수집된 백색 고체를 진공 하에 건조시켜 클라리트로마이신 다이벤조에이트 760mg을 얻었다. 이 조질의 생성물을 11 스케일의 200mg에서 파일럿 실행(pilot run)으로부터 얻어진 조질의 생성물과 합하여, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 클라리트로마이신 다이벤조에이트 730mg을 79%의 수율로 수득하였다. 정제된 생성물의 질량 분석은 이전의 단계에서 비롯된 C-11 하이드록시 메틸화된 불순물에 기인하는 분자량 970을 지니는 미소 피크와 함께 주 성분으로서 목적으로 하는 생성물 피크(Mw 956)를 나타내었다. 정제된 생성물의 ¹H-NMR 분석은 클라리트로마이신 다이벤조에이트의 목적으로 하는 구조를 나타내었다.

[0206]

실시예. 제법 2. 11-N-(4-아자이도뷰틸)-5-0-(2'-벤조일테소사미닐)-6-0-메틸-3-옥소-에리트르놀라이드 A 11,12-환식 카바메이트. 아자이드는 실시예 5 또는 실시예 5A, 및 선행하는 실시예들에서 WO 2009/055557 A1(US 2010-0216731 A1)에 기재된 절차를 이용해서 클라리트로마이신 다이벤조에이트로부터 얻어질 수 있다.

[0207]

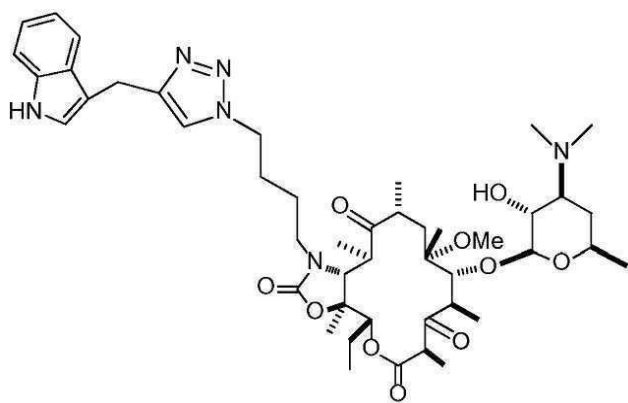
실시예. 제법 3. 11-N-(4-아자이도뷰틸)-5-0-(2'-벤조일테소사미닐)-2-플루오로-6-0-메틸-3-옥소-에리트르놀라

이드 A 11,12-환식 카바메이트. 아자이드는 실시예 6 또는 실시예 6B, 및 선행하는 실시예들에서 WO 2009/055557 A1(US 2010-0216731 A1)에 기재된 절차를 이용해서 클라리트로마이신 다이벤조에이트로부터 얻어질 수 있다.

[0208] **실시예.** 비교예 1. 11-N-[4-[4-(3-아미노페닐)[1,2,3]트리아졸-1-일]-뷰틸]-6-O-메틸에리트로마이신 A 11,12-환식 카바메이트(CEM-103)의 합성. 상기 화합물은, CEM-101의 제조에 대해 기재된 것들과 유사한 방법을 이용해서, WO 2009/055557의 실시예 3인 2',4"-다이-O-벤조일-11-N-(4-아자이드뷰틸)-6-O-메틸에리트로마이신 A 11,12-환식 카바메이트로부터 제조될 수 있다.

[0209] **실시예.** 비교예 2. 11-N-[4-[4-(3-아미노페닐)[1,2,3]트리아졸-1-일]-뷰틸]-5-O-데소사미닐-6-O-메틸-3-옥소-에리트로놀라이드 A 11,12-환식 카바메이트(테스플루오로 CEM-101, CEM-Des-F)의 합성. 상기 화합물은 CEM-101의 제조에 대해 기재된 것들과 유사한 방법을 이용해서 상기 제법 2의 아자이드로부터 제조될 수 있다.

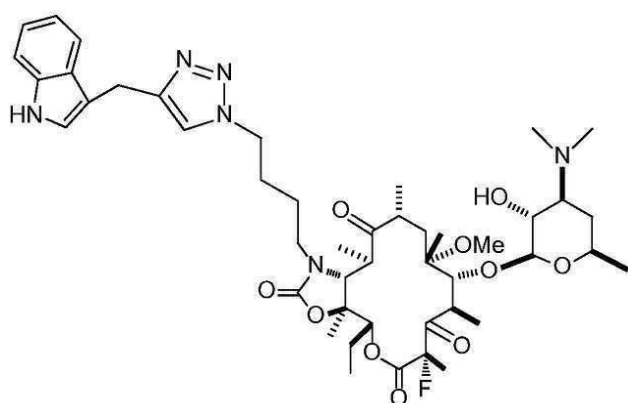
[0210] **실시예.** 비교예 3. 5-O-데소사미닐-11-N-[4-[4-(인돌-3-일메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸]-6-O-메틸-3-옥소-에리트로놀라이드 A 11,12-환식 카바메이트(CEM-199)의 합성. 분자식: $C_{46}H_{68}N_6O_{10}$; 정확한 질량: 864.50; 분자량: 865.07.



[0211]

[0212] 상기 화합물은 CEM-101의 제조에 대해 기재된 것들과 유사한 방법을 이용해서 상기 제법 2의 아자이드로부터 제조될 수 있다.

[0213] **실시예.** 2-플루오로-5-O-데소사미닐-11-N-[4-[4-(인돌-3-일메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일]뷰틸]-6-O-메틸-3-옥소-에리트로놀라이드 A 11,12-환식 카바메이트(CEM-219)의 합성. 분자식: $C_{46}H_{67}FN_6O_{10}$; 정확한 질량: 882.49; 분자량: 883.06.



[0214]

[0215] 상기 화합물은 CEM-101의 제조에 대해 기재된 것들과 유사한 방법을 이용해서 상기 제법 3의 아자이드로부터 제조될 수 있다.