



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0016713
(43) 공개일자 2012년02월27일

(51) Int. Cl.

C07D 493/20 (2006.01) *A61K 31/35* (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0079101

(22) 출원일자 2010년08월17일

심사청구일자 2010년08월17일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

윤여준

서울특별시 강남구 압구정동 신현대아파트 126동 202호

박제원

경기도 고양시 일산서구 대화2로 121, 602동 1405호 (대화동, 대화마을)

박성렬

경기도 고양시 일산동구 숲속마을1로 55, 207동 604호 (풍동, 숲속마을)

(74) 대리인

노경규

전체 청구항 수 : 총 10 항

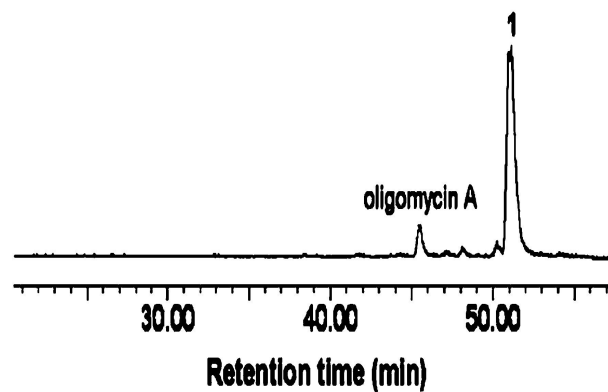
(54) 신규한 올리고마이신 유도체 및 이를 포함하는 항생제

(57) 요약

본 발명은 신규한 올리고마이신 유도체, 및 이를 포함하는 항생제에 관한 것으로, 보다 상세하게는 하기 화학식 1로 표시되는 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조방법, 및 이를 유효성분으로 하는 항생제 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 스트렙토마이세스 베네주엘라(*Streptomyces venezuelae*)로부터 바이오 생전환 기술을 이용하여 제조된, 신규한 올리고마이신 유도체는 사카로마이세스 세레비아제(*Saccharomyces cerevisiae*)에 대하여 우수한 항균 활성을 나타내므로, 항생제로서 유용하게 사용될 수 있다.

[화학식 1]

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

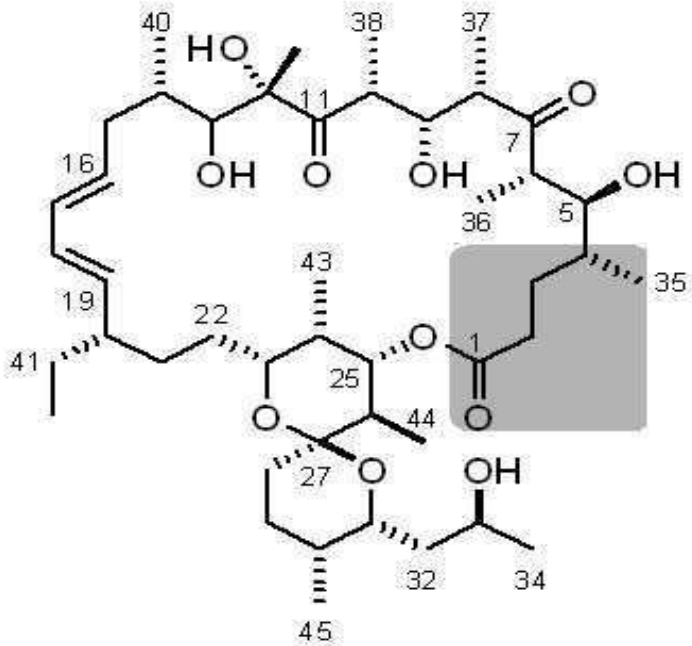
과제고유번호	20100623
부처명	농림수산식품부
연구관리전문기관	농림수산식품부
연구사업명	농림기술개발사업
연구과제명	토양방선균 유래 농용항생제의퇴행성 유전질환치료제로 응용 개발
기여율	1/2
주관기관	농림수산식품부
연구기간	2010.04.01 ~ 2013.03.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	2010k000890
부처명	교육과학부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	특정연구개발사업
연구과제명	방선균 생전환 시스템을 통한 폴리케타이드화합물의 대사 다양성 구축
기여율	1/2
주관기관	한국연구재단
연구기간	2008.05.01 ~ 2011.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 올리고마이신(oligomycin) 유도체:

[화학식 1]



청구항 2

제 1항에 있어서, 올리고마이신 A로부터 스트렙토마이세스 베네주엘라(*Streptomyces venezuelae*)에 의해 생전환되어 제조된 것을 특징으로 하는 올리고마이신 유도체.

청구항 3

제 1항에 있어서, 사카로마이세스 세레비아제(*Saccharomyces cerevisiae*)에 대하여 항균활성을 갖는 것을 특징으로 하는 올리고마이신 유도체.

청구항 4

- 1) 올리고마이신 A를 첨가한 배지에서 스트렙토마이세스 베네주엘라(*S. venezuelae*)를 배양하는 단계;
- 2) 단계 1)에서 배양된 배양액을 유기용매로 추출하는 단계;
- 3) 단계 2)의 유기체 추출물을 진공 하에 농축시키는 단계; 및
- 4) 단계 3)의 잔여물을 유기용매로 용해시킨 후 크로마토그래피로 분리하는 단계를 포함하는, 제 1항의 올리고마이신 유도체의 제조 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서, 상기 단계 2)의 유기용매는 에틸아세테이트(EtOAc)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 4항에 있어서, 상기 단계 4)의 유기용매는 메탄올(MeOH)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 4항에 있어서, 상기 단계 4)의 크로마토그래피는 HPLC(High-performance liquid chromatography)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 HPLC에서 유지시간(Retention time)이 50 내지 53분에서 분리하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제 1항의 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항생제 조성물.

청구항 10

제 9항에 있어서, 상기 조성물은 사카로마이세스 세레비아제(*Saccharomyces cerevisiae*)에 대하여 항균활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 항생제 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 신규 화합물 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 신규한 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조방법, 및 이를 유효성분으로 하는 항생제 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 천연물은 여전히 새로운 약물 개발의 영감을 부여하고 있다. 생물활성 천연물질을 개시물질로 이용하여 물질 내 특정 구조(스캐폴드; scaffold)에서의 표적 변형을 통한 차세대 신규 치료제를 고안하기 위해서는, 유기합성을 이용한 반합성 접근뿐만 아니라 생체축매로서 미생물을 이용한 생합성 접근에 적용할 수 있다. 특히, 최근에 출몰하는 병원체들 중에 다중 약제 내성의 발생은 개선된 항생제 제조를 위한 상기 스캐폴드 개조 전략이 우선사항임을 암시하고 있다.

[0003] 마크로라이드(macrolide)계 항생제들은 큰 거대환고리의 락톤 고리(macrocyclic lactone ring)의 존재로부터 파생되는 활성을 갖는 폴리케타이드(polyketide) 군이다. 이들은 항암, 항진균, 면역억제 및 항노화 활성을 포함하는 다양한 생물활성 특성을 나타내는 구조적으로 다양한 종류의 천연물이다.

[0004] 올리고마이신 A(oligomycin A)는 1954년에 토양 박테리아인 스트렙토마이세스 디아스타토크로모제네스(*Streptomyces diastatochromogenes*)로부터 처음 분리되었으며, 올리고마이신 A는 26 종류의 거대환고리 락톤

중 하나로서 올리고마이신의 주요 구성성분이다. 이 항생제는 잠재적인 항종양 활성을 갖는 것으로 알려졌다.

[0005] 최근에, 본 발명자들은 스트렙토마이세스 베네주엘라(*Streptomyces venezuelae*)에 의해, 불포화된 12종류의 메티마이신(methymycin) 및 14종류의 피크로마이신(pikromycin) 마크로라이드에 대한 독특하고 부위-특이적인 경화 활성, 및 비천연의 16종류의 마크로라이드의 발생에 대한 이들의 적용을 보고한 바 있다. 실제로, 이런 박테리아 환원 시스템(bacterial reduction system)은 표적 이중 결합, 즉 폴리케타이드 골격에서 하나의 인접한 탄소의 카르보닐 작용기와 또다른 인접한 탄소의 메틸기 주위에서 특이적인 구조적 꾸밈을 인지할 수 있다(화학식 1의 음영의 직사각형으로 표시된 부분 참조).

[0006] 이에, 본 발명자들은 불포화 마크로라이드계 항생제인 천연 올리고마이신 A에 대한 생체경화(biohydrogenation) 활성의 확대를 시도하고자 연구한 결과, 올리고마이신 A를 첨가한 배지에서 배양한 스트렙토마이세스 베네주엘라(*S. venezuelae*) 배양액으로부터, 이전에 특정되지 않은 2,3-이수소-올리고마이신 A(2,3-dihydro-oligomycin A)을 분리하였으며, 이들의 구조 및 항균 활성을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 신규한 올리고마이신 유도체를 제공하는 데 있다.

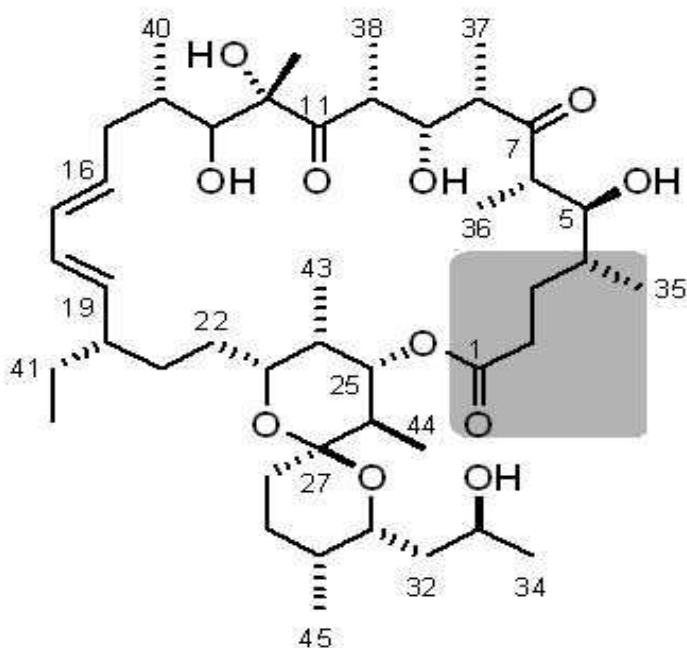
[0008] 본 발명의 다른 목적은 상기 올리고마이신 유도체의 제조방법을 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항생제 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규한 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0011] [화학식 1]



[0012]

[0013] 또한, 본 발명은 상기 올리고마이신 유도체의 제조방법을 제공한다.

[0014] 나아가, 본 발명은 상기 올리고마이신 유도체 또는 이의 염을 유효성분으로 함유하는 항생제 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명은 미생물의 생전환기법을 도입하여, 기존의 상용 마크로라이드계 항진균제로 이용 중인 올리고마이신 A에 구조 내 이중결합을 치환시킨 신규한 올리고마이신 A 유도체를 개발하였으며, 상기 구조가 확인된 신규 올리고마이신 A 유도체가 기존의 천연 올리고마이신 A에 비해 우수한 항균 활성을 나타냄으로써, 상기 신규 올리고마이신 유도체를 항생제의 유효성분으로 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 올리고마이신 A가 첨가된 배지에서 스트렙토마이세스 베네주엘라(*S. venezuelae*)가 배양된 배양액으로부터 획득된 유기체 추출물의 이온크로마토그램을 나타내는 그림이다. 여기서, 올리고마이신 A 및 2,3-이수소-올리고마이신 A(1)로 표지된 피크는 분자[M+H]⁺ 이온 791 및 793에서 각각 선별되었다.

도 2는 올리고마이신 A 및 2,3-이수소-올리고마이신 A(1)의 ESI-MS/MS 스펙트럼을 보여주는 그림이다.

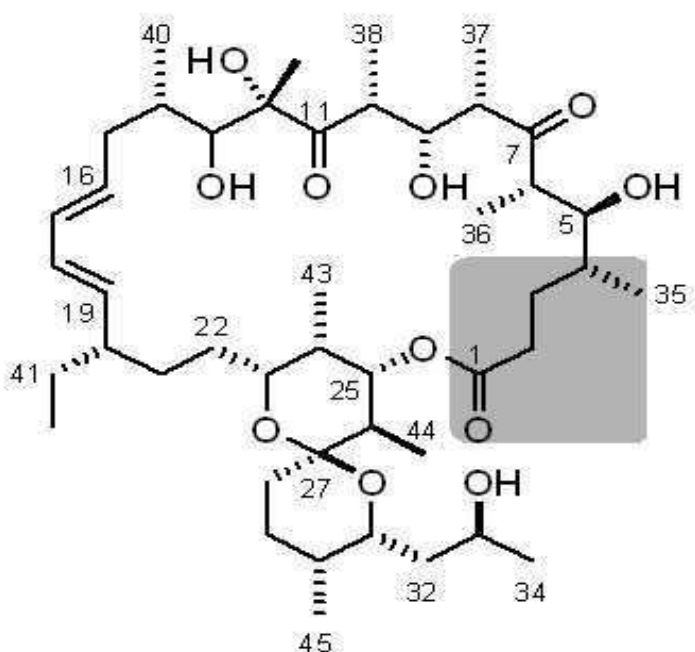
도 3은 CDCl₃에서 2,3-이수소-올리고마이신 A(1)의 ¹H-NMR 스펙트럼을 보여주는 그림이다. 삽입 그림은 2,3-이수소-올리고마이신 A(1)의 화학적 이동이 올리고마이신 A에 비해 주목할 만한 변화가 있음을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0018] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규한 올리고마이신 유도체를 제공한다.

화학식 1



[0019]

- [0020] 상기 올리고마이신 유도체는 올리고마이신 A로부터 스트렙토마이세스 베네주엘라(*Streptomyces venezuelae*)에 의해 생전환되어 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않으며, 합성에 의한 것을 모두 포함한다.
- [0021] 상기 올리고마이신 유도체는 사카로마이세스 세레비아제(*Saccharomyces cerevisiae*)에 대하여 우수한 항균활성을 갖는다.
- [0022] 상기 화학식 1로 표시되는 본 발명의 올리고마이신 유도체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 아세트산, 젖산, 말레산, 푸마린산, 글루콘산, 메탄설폰산, 글리콘산, 숙신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산 또는 아스파르트산 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 무기산으로는 염산, 유기산으로는 메탄설폰산을 사용할 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 올리고마이신 유도체는 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.
- [0024] 본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 화합물을 수산화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹이고 과량의 유기산을 가하거나 무기산의 산 수용액을 가한 후 침전시키거나 결정화시켜서 제조할 수 있다. 이어서 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시켜서 부가염을 얻거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.
- [0025] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규 올리고마이신 유도체를 제조하는 방법을 제공한다.
- [0026] 구체적으로,
- [0027] 1) 올리고마이신 A를 첨가한 배지에서 스트렙토마이세스 베네주엘라(*S. venezuelae*)를 배양하는 단계;
- [0028] 2) 단계 1)에서 배양된 배양액을 유기용매로 추출하는 단계;
- [0029] 3) 단계 2)의 유기체 추출물을 진공 하에 농축시키는 단계; 및
- [0030] 4) 단계 3)의 잔여물을 유기용매로 용해시킨 후 크로마토그래피로 분리하는 단계를 포함하는 방법으로 제조될 수 있다.
- [0031] 상기 방법에 있어서, 단계 2)의 유기용매는 에틸아세테이트(EtOAc)인 것이 바람직하고, 단계 4)의 유기용매는 메탄올(MeOH)인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0032] 상기 방법에 있어서, 단계 4)의 크로마토그래피는 HPLC(High-performance liquid chromatography)을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 한가지 실시태양에서는 preparative HPLC를 이용하여 유지시간(Retention time)이 50 내지 53분에서 상기 화합물을 분리하였다.
- [0033] 본 발명에 따른 제조방법은 기존의 선행기술인 화학적 합성법이 아닌 스트렙토마이세스 베네주엘라(*Streptomyces venezuelae*) 토양 미생물의 바이오 생전환기술을 활용하여 제조하는데 그 특징이 있다.
- [0034] 아울러, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항생제 조성물을 제공한다.
- [0035] 본 발명에 따른 조성물에 유효성분으로 함유되는 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 시험관내(*in vitro*) 항균 활성 실험을 통해, 기존의 항생 활성이 알려진 올리고마이신 A에 비해 사카로마이세스 세레비아제(*Saccharomyces cerevisiae*)에 대하여 우수한 항균활성을 나타내었다. 따라서 본 발명에 따른 올리고마이신 유도체는 새로운 항생제로서 유용하게 사용될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 조성물을 의약품으로 사용하는 경우, 상기 화학식 1로 표시되는 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학

적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 임상투여 시에 다양한 하기의 경구 또는 비경구 투여 형태로 제제화되어 투여될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0037] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캡셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/ 또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리 에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.

[0038] 상기 화학식 1로 표시되는 올리고마이신 유도체를 유효 성분으로 하는 약학 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사를 주입하는 방법에 의한다.

[0039] 이때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 화학식 1의 올리고마이신 유도체 또는 이의 약학적으로 허용되는 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.

[0040] 또한, 본 발명의 화합물의 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 0.01 ~ 1,000 mg/일이며, 바람직하게는 0.1 ~ 500 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0041] 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기 위한 실시예를 제시한다.

[0042] 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 설명하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0043] <실시예 1> 올리고마이신 A 유도체의 제조

[0044] <1-1> 마크로라이드의 생물변환

[0045] 피크로마이신 폴리케타이드 합성효소(pikromycin polyketide synthase)를 암호화하는 유전자 및 데소사민(desosamine) 생합성 유전자가 모든 제거된, *S. venezuelae* YJ028의 재조합 돌연변이 종[Park, J. W. 등(*Chem. Commun.* 2008, 44, 5782-5784)에 기재된 종을 사용]을 우선, SPA(sorbitol pyroglutamic acid) 아가 플레이트 [0.1% 효모 추출물, 0.1% 쇠고기 추출물, 0.2% 트립토즈(tryptose), 1.0% 글루코즈(glucose), 1.5% 아가, 및 미량의 FeSO₄]에서 분리를 위해 희석화(streak)한 다음, 2일 동안 30℃에서 배양하였다. 그런 다음, 칸막이된 삼각 플라스크(Erlenmeyer flask)에서 30℃에서 2일 동안 50 ml의 SCM 배지[1.5% 수용성 전분(soluble starch), 2.0% 소이톤(soytone), 0.01% CaCl₂, 0.15% 효모 추출물(yeast extract), 및 1.0% MOPS]에서 배양된 재조합 strain YJ028에 올리고마이신 A(Sigma)를 첨가(250 μg; 최종 농도 5 μg/mL; 100 uL의 MeOH로 용해된)한 다음, 3일 동안 더 배양하였다. 모든 실험은 적어도 세 번 독립적으로 수행하였다.

[0046] <1-2> 올리고마이신 A 유도체의 추출 및 분리

[0047] 상기 실시예 <1-1>의 전체 배양액을 250 mL의 분별깔때기에서 두 번 평균부피의 EtOAc를 이용하여 추출 및 분리한 다음, 상기 유기체 추출물을 진공 하에 농축시켰다. 건조된 잔여물을 즉시 200 uL의 MeOH로 용해시켰으며, 상기 용매의 일부를 분석에 이용하였다. 우선, Micromass Quattro *micro* MS에 직접 연결된 분석 역상 Nova-Pak C₁₈ 컬럼(Waters, Milford, MA; 150 × 3.9 mm, 4.0 μm)으로 구성된 Waters/Micromass Quattro *micro*/MS 접속기를 이용하여 마크로라이드 분석을 수행하였다.

[0048] 그 결과, YJ028 종의 여러 배치배양액으로 상기 마크로라이드 올리고마이신 A를 첨가함으로써, 환원된 마크로라

이드 1을 생성하였다. 올리고마이신 A에 대응하는 환원된 마크로라이드 1를 약 67%의 변환율로 발생하는 것을 확인하였다.

[0049]

그런 다음, 이 새로운 마크로라이드 1은 분취 역상 HPLC, 및 수집된 각 분획(5 mL/분획)의 연속적 ESI-MS 분석을 이용하여 크로마토그래피 분리에 의해 정제하였으며, 이들의 화학적 구조는 ^1H - and ^{13}C -NMR 분광분석법을 이용하여 분석하였다. 구체적으로, 크로마토그래피 분리는 Watchers 120 ODS-BP 컬럼(250 × 10.0 mm, 5.0 μm)으로 구성된 preparative HPLC를 이용하여 수행하였다. 또한, ^1H - and ^{13}C -NMR 분광분석법은 다음과 같이 수행하였다. NMR 시료들은 200 μL 의 CDCl_3 에서 각 마크로라이드 1을 용해시킨 후, 상기 용매에 적절한 5 mm Shigemi advanced NMR 마이크로튜브(Sigma, St. Louis, MO)에 상기 용매를 방치시킴으로써 제조하였다. ^1H 및 ^{13}C NMR 스펙트럼은 Varian INOVA 500 분광광도계를 이용하여 298 K에서 획득하였고, 화학적 이동은 내부 준거로서 TMS를 이용하여 ppm으로 기록되었다. 모든 NMR 데이터 산출은 Mnova Suite 5.3.2 소프트웨어를 이용하여 수행하였다.

[0050]

그 결과, 변환된 마크로라이드 1의 화학적 이동은 모 마크로라이드인 올리고마이신 A의 구조와 비교함으로써, 마크로라이드 1은 2,3-이수소-올리고마이신 A(2,3-dihydro-oligomycin A)임을 결정하였다(표 1 참조).

표 1

2,3-이수소-올리고마이신 A와 올리고마이신 A에 대한
NMR 분광 데이터(500 MHz, CDCl₃)

position	2,3-dihydro-oligomycin A (1)		oligomycin A	
	δ_c , mult	δ_H , mult	δ_c	δ_H
1	172.8, C	-	166.7	-
2	30.6, CH ₂	2.25, m	121.5	5.83
3	25.3, CH ₂	1.97, m	147.6	6.88
		1.76, dt		
4	43.4, CH	1.50, m	48.0	2.42
5	75.1, CH	1.73, m	74.7	3.46
6	47.5, CH	3.51, dd	47.2	2.60
7	219.6, C	2.58, dq	219.4	-
8	46.1, CH	-	46.6	2.69
9	67.6, CH	2.67, dq	67.2	3.85
10	40.8, CH	3.86, dd	40.4	3.37
11	214.9, C	3.41, dq	214.4	-
12	93.8, C	-	93.2	-
13	83.9, CH	3.55, d	83.7	3.50
14	27.6, CH	1.90, m	27.2	1.87
15	34.8, CH ₂	2.08, m	34.4	2.04
16	135.3, CH	2.01, m	135.2	5.61
		5.65, ddd		
17	130.5, CH	6.03, ddd	130.2	6.03
18	128.2, CH	5.96, dd	128.0	5.93
19	133.8, CH	5.61, dd	133.6	5.34
20	44.5, CH	2.14, m	44.1	2.16
21	29.5, CH ₂	1.32, m	29.2	1.30
22	33.0, CH ₂	1.30, m	32.8	1.28
		1.48, m		
23	76.3, CH	1.38, m	75.9	1.37
24	37.4, CH	3.61, ddd	37.8	3.58
25	69.4, CH	2.38, m	69.5	2.35
26	39.5, CH	4.95, dd	39.2	4.95
27	124.5, C	1.86, dq	123.3	1.82
28	31.7, CH ₂	-	31.2	-
29	26.2, CH ₂	1.93, m	25.7	1.91
		1.23, m		
30	35.6, CH	1.71, m	35.5	1.69
31	73.6, CH	1.46, m	73.1	1.44
32	41.8, CH ₂	1.79, m	41.3	1.76
33	71.8, CH	4.03, m	71.6	4.03
		1.63, m		
34	24.4, CH ₃	1.25, m	23.8	1.18
35	15.8, CH ₃	4.05, m	15.3	1.15
36	14.5, CH ₃	1.19, d	14.4	1.10
37	12.8, CH ₃	0.88, d	12.7	1.08
38	13.9, CH ₃	1.11, d	13.5	1.12
39	19.0, CH ₃	1.08, d	18.5	1.33
40	21.2, CH ₃	1.14, d	20.5	0.99
41	28.5, CH ₂	1.34, s	28.3	1.50
42	12.4, CH ₃	1.02, d	12.0	0.82
		1.53, m		
43	9.5, CH ₃	1.44, m	9.1	0.86
44	10.0, CH ₃	0.86, t	9.5	0.96
45	16.1, CH ₃	0.90, d	15.9	0.90

[0051]

[0052]

올리고마이신 A 및 그의 환원된 산물 1의 ¹H-NMR 분광 데이터의 비교를 통해 관찰된 가장 명백한 변화는 올리고마이신 A에서 올레핀 프로톤(olefinic proton)(H-2,3)의 대표적인 5.83 및 6.88 ppm의 신호의 결핍이었다. 모 화합물의 C-2 및 C-3 신호(각각 121.5 및 147.6 ppm에서 30.6 및 25.3 ppm)의 업필드 이동(upfield shift)은 ¹H-NMR 데이터를 통해 확인된 차이를 지지하는 것이며, 따라서 상기 산물 1은 C-2,3 이중 결합(표 1 및 도 3)이 제거됨에 의해 올리고마이신 A 환원 형태라는 것을 입증하는 것이다. 이런 결과는 상기 환원된 마크로라이드 1이 다양한 고리 마크로라이드들의 생체경화(biohydrogenation)를 위한 위치 선택적인 활성을 포함하는 *S. venezuelae*에 의한 전환이 나타났음을 알 수 있는 것이다.

[0053]

<실시예 2> 올리고마이신 A 유도체의 항생 활성 확인

[0054]

올리고마이신 A이 항진균 항생 활성이 알려져 있으므로, 본 발명에서 획득된 화합물 1의 항균 활성을 알아보기 위해, 임상 및 실험 표준화 기관(Clinical and Laboratory Standard Institute; CLSI)에 의해 권장되는 미량희석법(microdilution method)을 이용하여, 사카로마이세스 세레비아제(*Saccharomyces cerevisiae*)에 대한 항진균 활성을 측정하였다.

[0055] 구체적으로, 사카로마이세스 세레비아제(*Saccharomyces cerevisiae*) ATCC 9763를 Antibiotic 19(Difco, BD Biosciences, San Jose, CA)에서 성장시켰다. 그런 다음, 올리고마이신 A 및 이에 대응하는 마크로라이드 1을 사카로마이세스 세레비아제에 처리하였다. 마크로라이드 1의 연속 2배 희석은 최종 농도가 0.78-100 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 DMSO를 이용하여 수행하였고, DMSO의 일부는 음성 대조군으로 사용하였다. 시험 중의 성장은 Labsystems Bioscreen C 리더기를 이용하여 600 nm에서 모니터링하였으며, 시험 미생물의 성장을 억제하는 broth 배지에서 희석된 마크로라이드의 최저 농도는 MIC를 이용하여 결정하였다. 모든 분석은 세번 수행하였다.

표 2

[0056] 올리고마이신 A에 대응하는 마크로라이드 1의 MIC 데이터 비교

	올리고마이신 A	마크로라이드 1
MIC (/mL)	25.0	12.5

[0057] 그 결과, 본 발명의 화합물 1은 우수한 항균 활성을 나타내었다(표 2 참조). 특히, 올리고마이신 A(최소 억제 농도; MIC ~ 25.0 $\mu\text{g/mL}$)와 비교하여, 상기 화합물 1은 사카로마이세스 세레비아제에 대해 보다 증가된 활성을 나타내었다(MIC ~ 12.5 $\mu\text{g/mL}$).

[0058] 결론적으로, 본 발명은 화학적 합성법이 아닌 미생물에 의한 바이오 생전환 기술을 이용하여 올리고마이신 A와 같은, 모 천연 및 반합성의 마크로라이드 보다 유의적으로 우수한 항생제 개발을 위해 유용하게 사용될 수 있다. 즉, 이런 바이오 생전환 기술은 앞으로 26종류의 링 마크로라이드를 포함하는 다양한 마크로라이드 스캐폴드를 변환시키는 것이 가능하기 때문에, 새로운 항생제 개발을 위해 유용하게 사용될 수 있다.

[0059] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 올리고마이신 유도체는 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0060] <제제예 1> 정제(직접 가압)

[0061] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 14.1 mg, 크로스포비돈 USNF 0.8 mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg을 혼합하고 가압하여 정제로 제조하였다.

[0062] <제제예 2> 정제(습식 조립)

[0063] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 16.0 mg과 녹말 4.0 mg을 섞었다. 폴리솔베이트 80 0.3 mg을 순수한 물에 녹인 후 이 용액의 적당량을 첨가한 다음, 미립화하였다. 건조 후에 미립을 체질한 후 콜로이달 실리콘 디옥사이드 2.7 mg 및 마그네슘 스테아레이트 2.0 mg과 섞었다. 미립을 가압하여 정제로 제조하였다.

[0064] <제제예 3> 분말과 캡슐제

[0065] 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후에, 락토스 14.8 mg, 폴리비닐 피롤리돈 10.0 mg, 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg와 함께 혼합하였다. 상기 혼합물을 적당한 장치를 사용하여 단단한 No. 5 젤라틴 캡슐에 채웠다.

[0066] <제제예 4> 주사제

[0067] 활성성분으로서 100 mg을 함유시키고, 그 밖에도 만니톨 180 mg, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg 및 증류수 2974 mg를 함유시켜 주사제를 제조하였다.

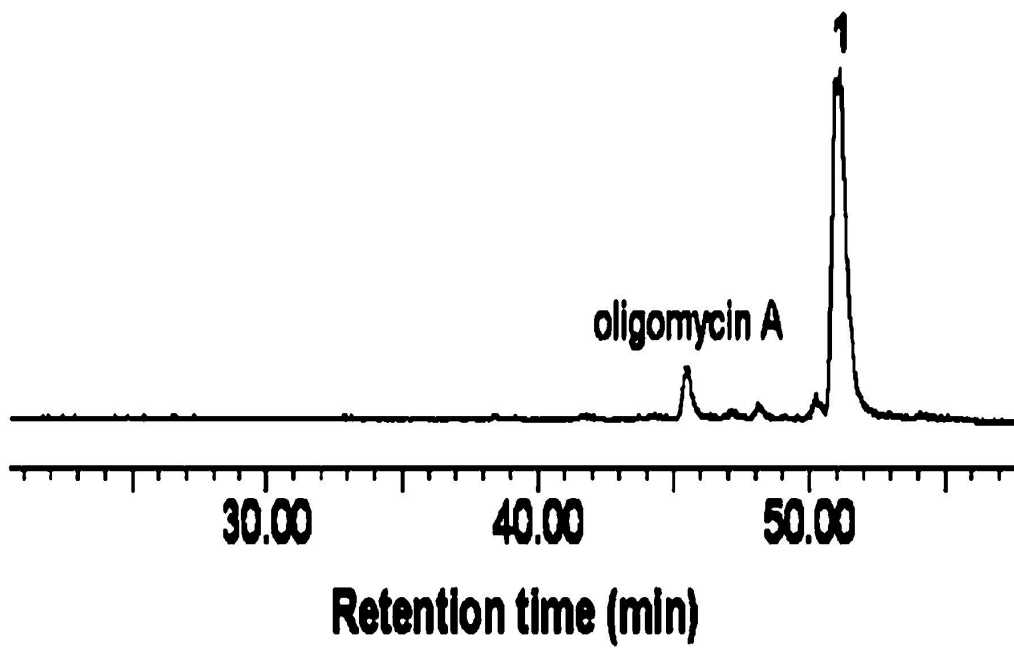
산업상 이용가능성

[0068]

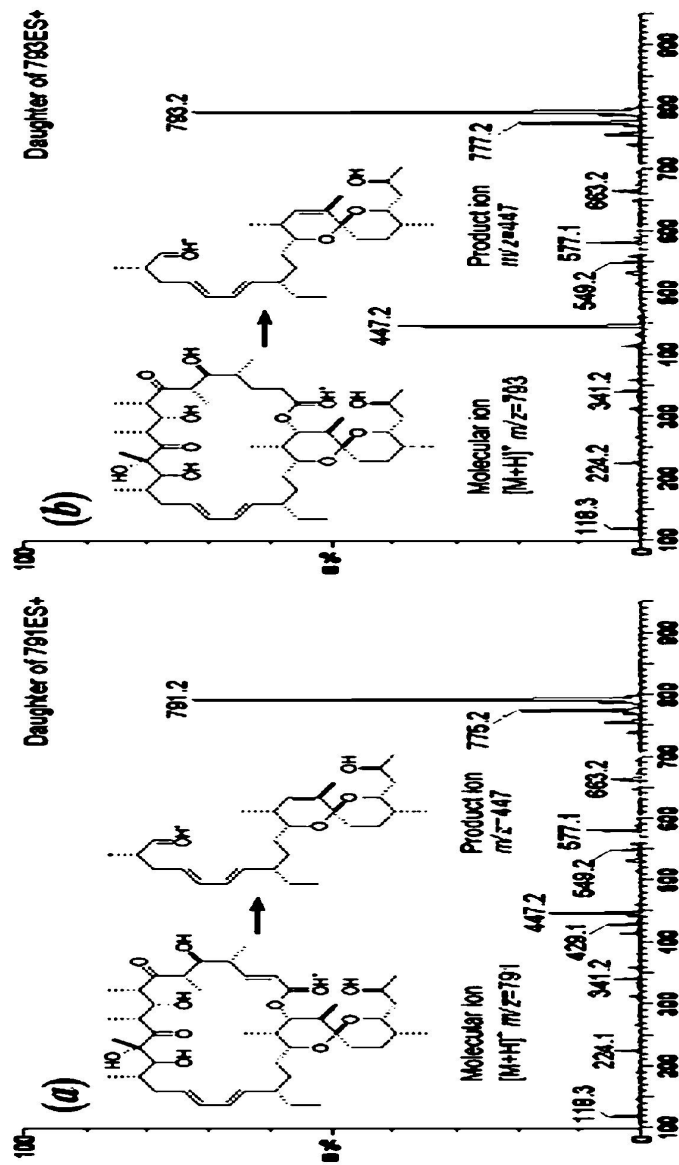
본 발명은 미생물 수소화 활성의 확대가능성을 보임으로써 보다 다양한 항생제 개발에 유용하게 이용할 수 있으며, 스캐폴드 개조 전략 중 하나로서 생체전환 기술 개발에 유용하게 이용될 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

