



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0107793  
(43) 공개일자 2015년09월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C07K 7/62* (2006.01) *A61K 38/12* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*C07K 7/62* (2013.01)  
*A61K 38/12* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7021592
- (22) 출원일자(국제) 2014년01월09일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2015년08월10일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2014/050320
- (87) 국제공개번호 WO 2014/108469  
국제공개일자 2014년07월17일
- (30) 우선권주장  
61/751,341 2013년01월11일 미국(US)  
61/904,793 2013년11월15일 미국(US)
- (71) 출원인  
셀리아 파마슈티칼즈 에이피에스  
덴마크 코펜하겐 에스 달슬란즈가테 11 (우:  
2300)
- (72) 발명자  
건네스, 솔비  
노르웨이 엔-1350 롬메다렌 80비  
비외른스타드, 비다르  
노르웨이 엔-1155 오슬로 그리며베인 14  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인 남엔드남

전체 청구항 수 : 총 19 항

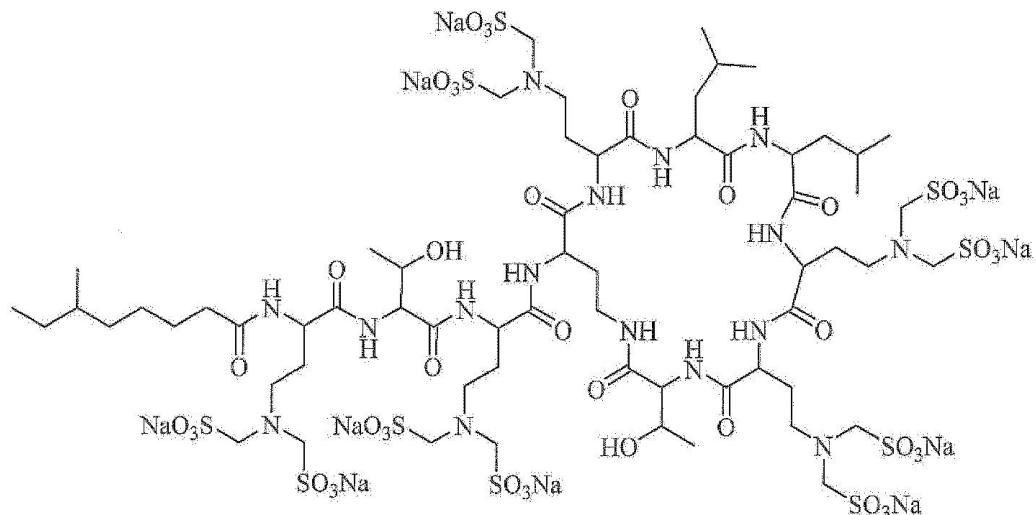
(54) 발명의 명칭 폴리믹신, 조성물, 제조 방법 및 사용 방법

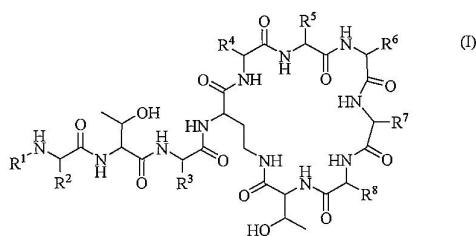
### (57) 요 약

본원에서는 하기 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함하는 조성물이 기술된다:

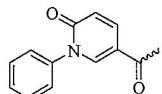
(뒷면에 계속)

### 대 표 도





상기 식에서,



$R^1$ 은 지방족 선형 또는 분지형  $C_6-C_{10}$  아실기, 또는 이고;

$R^5$ 은  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ ,  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ , 또는  $-CH_2C_6H_5O$ 고;

$R^6$ 은  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ , 또는  $-CH(CH_3)CH_2CH_3O$ 고;

각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$ 은  $-(CH_2)_xCH_2NH_2$  또는  $-(CH_2)_xCH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 고;

여기서,  $x$ 는 0 또는 1이고;

$M$ 은 일가 양이온이고;

$R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$  중 적어도 세 개는  $-(CH_2)_xCH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이다.

(72) 발명자

만손, 마르틴

코치, 토르벤

노르웨이 엔-1187 오슬로 에네바크베인 230디

덴마크 디케이-2400 코펜하겐 엔브이 로드기데베이  
62

메란더, 클라에스

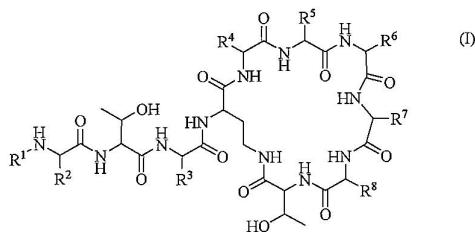
스웨덴 에스-217 52 말모 노르드린드스베크

## 명세서

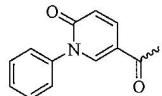
### 청구범위

#### 청구항 1

하기 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함하는 조성물:



상기 식에서,



$R^1$ 은 지방족 선형 또는 분지형  $C_6-C_{10}$  아실기, 또는 ○고;

$R^5$ 은  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ ,  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ , 또는  $-CH_2C_6H_5$ ○고;

$R^6$ 은  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ , 또는  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ ○고;

각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$ 은  $-(CH_2)_xCH_2NH_2$  또는  $-(CH_2)_xCH_2N(CH_2SO_3M)_2$ ○고;

여기서,  $x$ 는 0 또는 1○고;

$M$ 은 일가 양이온이고;

$R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$  중 적어도 세 개는  $-(CH_2)_xCH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이다.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,  $R^1$ 이 헵타노일, 메틸헵타노일, 옥타노일, 메틸옥타노일, 노나노일, 메틸노나노일 또는 데실인 조성물.

#### 청구항 3

제 2항에 있어서,  $R^1$ 이 헵타노일, (S)-6-메틸헵타노일, (S)-7-메틸헵타노일, 옥타노일, (S)-6-메틸옥타노일, 노나노일, (S)-6-메틸노나노일, (S)-7-메틸노나노일, (S)-8-메틸노나노일, 또는 데카노일인 조성물.

#### 청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,  $M$ 이  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $H_mN(C_{1-4}알킬)_n^+$ , 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서  $m$ 은 0-4○고,  $n$ 은 0-4이나, 단,  $m+n=4$ 인 조성물.

#### 청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염이 UHPLC에 의해 적어도

10%, UHPLC에 의해 적어도 20%, UHPLC에 의해 적어도 30%, UHPLC에 의해 적어도 40%, UHPLC에 의해 적어도 50%, UHPLC에 의해 적어도 60%, UHPLC에 의해 적어도 70%, UHPLC에 의해 적어도 80%, UHPLC에 의해 적어도 90%, UHPLC에 의해 적어도 95%, UHPLC에 의해 적어도 97%, UHPLC에 의해 적어도 98%, 또는 UHPLC에 의해 적어도 99%의 양으로 존재하는 조성물.

#### 청구항 6

제 1항에 있어서, x가 1이고, M이  $H^+$ ,  $Na^+$  또는  $K^+$ 인 조성물.

#### 청구항 7

제 6항에 있어서,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$  중 세 개가  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 인 조성물.

#### 청구항 8

제 6항에 있어서, 각각의  $R^2$ ,  $R^4$  및  $R^8$ 이  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 인 조성물.

#### 청구항 9

제 6항에 있어서,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$  중 네 개가  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 인 조성물.

#### 청구항 10

제 9항에 있어서, 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$ 이  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 인 조성물.

#### 청구항 11

제 6항에 있어서, 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$ 이  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 인 조성물.

#### 청구항 12

제 6항 내지 제 11항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 폴리막신 또는 이들의 염이 UHPLC에 의해 적어도 10%, UHPLC에 의해 적어도 20%, UHPLC에 의해 적어도 30%, UHPLC에 의해 적어도 40%, UHPLC에 의해 적어도 50%, UHPLC에 의해 적어도 60%, UHPLC에 의해 적어도 70%, UHPLC에 의해 적어도 80%, UHPLC에 의해 적어도 90%, UHPLC에 의해 적어도 95%, UHPLC에 의해 적어도 97%, UHPLC에 의해 적어도 98%, 또는 UHPLC에 의해 적어도 99%의 양으로 존재하는 조성물.

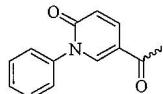
#### 청구항 13

제 1항에 있어서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리막신 또는 이들의 염이

(A)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(B)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(C)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^3$  및  $R^7$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;



(D)  $R^1$ 은 이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5O$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(E)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(F)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3O$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(G)

(1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(3)  $R^1$ 은 옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(4)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3O$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(5)  $R^1$ 은 7-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(H)

(1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5O$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5O$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(I)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고;

$R^3$ 은  $-CH_2CH_2NH_2O$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고;

(J)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2O$ 이고; 각각의  $R^3$  및  $R^7$ 은  $-CH_2CH_2NH_2O$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2O$ 이고, (A) 내지 (J) 중 어느 하나를 포함하는 조성물.

#### 청구항 14

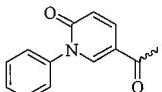
제 1항에 있어서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리막신 또는 이들의 염이

(A)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(B)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;

$R^3$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(C)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^3$  및  $R^7$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;



(D)  $R^1$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(E)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(F)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(G)

(1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(3)  $R^1$ 은 옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(4)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(5)  $R^1$ 은 7-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(H)

(1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

(I) R<sup>1</sup>은 6-메틸옥타노일이고; 각각의 R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>이고; R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>이고; 각각의 R<sup>5</sup> 및 R<sup>6</sup>은 -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>이고;

(J) R<sup>1</sup>은 6-메틸옥타노일이고; 각각의 R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, 및 R<sup>8</sup>은 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>이고; 각각의 R<sup>3</sup> 및 R<sup>7</sup>은 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>이고; 각각의 R<sup>5</sup> 및 R<sup>6</sup>은 -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>인, (A) 내지 (J) 중 어느 하나를 포함하는 조성물.

### 청구항 15

치료학적 유효량의 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항의 조성물, 및 임의로 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는, 약제 조성물.

### 청구항 16

제 15항에 있어서, 그람-음성 세균 감염(gram-negative bacterial infection)을 치료하기 위해 사용되는, 약제 조성물.

### 청구항 17

제 16항에 있어서, 감염이 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 악시네토박터 바우만니(Acinetobacter baumannii), 클로브시엘라 뉴모니아(Klebsiella pneumonia), 에스케리키아 콜리(Escherichia coli), 또는 이들의 조합에 기인하는, 약제 조성물.

### 청구항 18

감염된 환자의 그람-음성 세균 감염을 치료하는 방법으로서, 환자에게 제 15항의 약제 조성물을 투여하는 것을 포함하는 것을 포함하는 방법.

### 청구항 19

제 18항에 있어서, 감염이 슈도모나스 아에루기노사, 악시네토박터 바우만니, 클로브시엘라 뉴모니아, 에스케리키아 콜리, 엔테로박터 에어로게네스(Enterobacter aerogenes), 또는 이들의 조합에 기인하는, 약제 조성물.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 조성물

[0002] 관련 출원

[0003] 2013년 1월 11일자 출원된 미국 가출원 제61/751,341호, 및 2013년 11월 15일자 출원된 미국 가출원 제61/904,793호를 우선권 주장하며, 두 출원의 요지는 참조로 포함된다.

[0004] 발명의 분야

[0005] 본원에서는 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함하는 조성물이 기술된다.

### 배경 기술

[0006] 폴리믹신은 바실러스 폴리믹사(Bacillus polymyxa)에 의해 생성된 항생제로서 1947년에 발견되었다. 폴리믹신은 헵타펩타이드 고리 및 N-말단 아미드 결합된 지방산을 함유하는 항생 테카펩타이드(antibiotic decapeptid e)이다. 오늘날, 두 개의 상업적 폴리믹신 혼합물, 즉, 폴리믹신 B 및 폴리믹신 E (Colistin)가 임상에 사용된다. 두 혼합물 모두 문헌(Goevaerts et al 2002 및 Van den Bossche et al 2011)에 기술된 바와 같은 여러 성분들을 포함한다. EP 약전(EP pharmacopoeia)에 따르면, 콜리스틴(Colistin)은 77% 초과의 폴리믹신 E1, E2, E3, E1-i 및 E1-7MOA를 포함해야 하나, 미량 성분인 각각의 폴리믹신 E3, E1-i 및 E1-MOA는 10% 미만으로 포함

해야 한다.

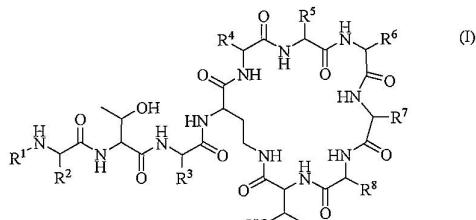
[0007] 콜리스틴과 관련된 독성으로 인해, 1950년대에 설포메틸화에 의해 혼합물을 개량하였다. 설포메틸화된 콜리스틴은 콜리스틴의 프로드러그(prodrug)인 것으로 간주되는 콜리스티메테이트 소듐(Colistimethate sodium)(CMS)으로 불린다. CMS는 다약제 내성균(multidrug-resistant organism), 예컨대, 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 악시네토박터 바우만니(Acinetobacter baumannii), 클로브시엘라 뉴모니아(Klebsiella pneumonia) 및 그 밖의 그램 음성 병원균(Gram negative pathogen)에 대한 최종 치료 선택으로서 임상에 사용된다. 오랫동안, CMS 방안은 또한 낭포성 섬유증(cystic fibrosis)(CF)이 있는 환자의 폐에 분무시켜서 투여되어 P. 아에루기노사에 의한 콜로니화(colonization) 또는 감염증에 대처하여 왔다.

[0008] 상업적 CMS 생성물이 상이한 폴리믹신의 유도체의 복합 혼합물을 함유한다는 사실은 여러 결과를 갖는다. 이들 결과 중 가장 중요한 것은 어떠한 시판되는 제품의 치료적 가치와 관련된다. CMS는 콜리스틴-저장소(reservoir)로 간주될 수 있기 때문에, 체내에 주입되거나 흡입되면, 분비되기 전에 적당량의 CMS가 콜리스틴으로 변환된다는 점이 중요하다. 그렇지 않으면, 콜리스틴의 혈청 수준이 표적된 병원균을 사멸시키거나 병원균의 성장을 방지하기에 충분히 높은 수준에 도달하지 못할 수 있다. 따라서, 조절된 양의 대체물과 함께 혼합물로 또는 단일 성분으로서 CMS를 제조할 수 있음으로써 정량 미만 또는 정량 초과 방지에 의해 치료적 잠재력을 증가시킨다. 또한, CMS의 가수분해율(CMS의 콜리스틴으로의 생체내 전환율)에 영향을 미침으로써 분자의 프로드러그 특징을 증가시킬 수 있다.

### 발명의 내용

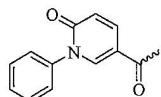
[0009] 요약

[0010] 본 발명은 하기 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함하는 조성물에 관한 것이다:



[0011]

[0012] 상기 식에서,



[0013] R<sup>1</sup>은 지방족 선형 또는 분지형 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 아실기, 또는

이고;

[0014] R<sup>5</sup>은 -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 또는 -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>이고;

[0015] R<sup>6</sup>은 -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 또는 -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>이고;

[0016] 각각의 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은 -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> 또는 -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>이고;

[0017] 여기서, x는 0 또는 1이고;

[0018] M은 일가 양이온이고;

[0019] R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup> 중 적어도 세 개는 -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>이다.

### 도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>의 구조식이다.

도 2는 PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>의 구조식이다.

도 3은 PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>의 구조식이다.

도 4는 본원에 기술된 바와 같은 몇몇 설포메틸화된 폴리믹신의 일반적인 화학 구조식이다(표 1 참조).

도 5는 위치 3에 DAP 잔기를 함유하는 테카 설포메틸화된 폴리믹신의 구조식이다.

도 6은 PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>의 UHPLC 크로마토그램(도 1, 상부) 및 CMS 시험 표준(저부)이다.

도 7은 PE2-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>의 구조식이다.

도 8은 PE1-i-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>의 구조식이다.

도 9는 실시예 4에 기술된 PE-(MS)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> 조성물 중 폴리믹신 성분의 구조식이다.

도 10은 실시예 5에 기술된 PB-(MS)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> 조성물 중 폴리믹신 성분의 구조식이다.

도 11은 콜리스틴(Colistin)(Sigma, C4461)의 존재 하의 HK-2 세포의 세포 용해 퍼센트이다.

도 12는 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1의 존재 하의 HK-2 세포의 세포 용해 퍼센트이다.

도 13은 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E2의 존재 하의 HK-2 세포의 세포 용해 퍼센트이다.

도 14은 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸)DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1-i의 존재 하의 HK-2 세포의 세포 용해 퍼센트이다.

도 15는 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸)DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 B의 존재 하의 HK-2 세포의 세포 용해 퍼센트이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 정의

[0022] 본원에서 사용되는 단수형 실체는 하나 이상의 그러한 실체를 나타내며, 예를 들어, 화합물은 하나 이상의 화합물 또는 적어도 하나의 화합물을 나타낸다. 이와 같이, 단수형, "하나 이상", 및 "적어도 하나의"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

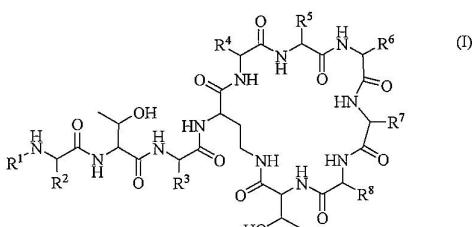
[0023] 본원에서 사용되는 용어 "임의의" 또는 "임의로"는 이후 기술되는 사건 또는 상황이 일어나지 않을 수도 있으며, 이러한 기재는 사건 또는 상황이 일어나는 경우, 및 일어나지 않는 경우를 포함함을 의미한다. 예를 들어, "임의의 결합"은 결합이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 이러한 기재는 단일, 이중 또는 삼중 결합을 포함함을 의미한다.

[0024] 용어 "입체이성질체"는 그것의 분명하고, 일상적인 의미를 갖는다.

[0025] 화학식(I)로 표시되는 폴리믹신 또는 이들의 염은 천연 (L-) 및 비천연 (D-) 아미노산 잔기의 입체화학적 표시를 지닐 수 있는, 다수의 탄소 기반 입체중심을 함유한다. 모이어티 -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> 및 -CH(OH)CH<sub>3</sub>는 L-이소류신 및 L-트레오닌에서 발견되는 라디칼로서 동일한 입체화학을 가질 수 있는 탄소-기반 입체중심을 함유하는 것을 이해해야 한다.

[0026] 본원에서 사용되는 표현 "지방족 선형 또는 분지형 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 아실기"는 카르보닐 모이어티 및 비카르보닐 모이어티를 함유하는 치환체를 나타내며, 헵타노일, 메틸헵타노일 ((S)-6-메틸헵타노일 포함), 옥타노일, 메틸옥타노일 ((S)-6-메틸옥타노일, (S)-7-메틸옥타노일 포함), 노나노일, 메틸노나노일 ((S)-6-메틸노나노일, (S)-7-메틸노나노일, 및 (S)-8-메틸노나노일 포함) 및 테카노일을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아닌, 공지된 폴리믹신 화합물에서 발견되는 아실기를 포함한다.

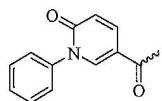
- [0027] 본원에서 사용되는 용어 "염" 또는 "이들의 염"은 당업자들에게 공지되어 있는 어떠한 공정에 의해, 예를 들어, 양성자-받개 모이어티(proton-accepting moiety)의 양성자화 및/또는 양성자-주개 모이어티(proton-donating moiety)의 탈양성자화에 의해 제조될 수 있는, 양이온 및 음이온을 포함하는 화합물을 나타낸다. 다르게는, 염은 양이온/음이온 복분해(metathesis) 또는 양이온/음이온 교환 반응 교환 반응에 의해 제조될 수 있다.
- [0028] 표현 "-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>"은 매질의 pH에 의거하여 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> 또는 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0029] 본원에서 사용되는 용어 "M은 일가 양이온"이란 단일 양전하를 함유하는 양이온성 종을 나타내며, 그 예로는 Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, H<sub>m</sub>N(C<sub>1~4</sub>-알킬)<sub>n</sub><sup>+</sup>(여기서, m은 0~4이고, n은 0~4이고, 단 m+n = 4임)를 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0030] 본원에서 사용되는 용어 "C<sub>1~4</sub>-알킬"은 1 내지 4개의 탄소 원자를 함유하는 선형 또는 분지형 사슬 알킬기를 나타낸다. C<sub>1~4</sub> 알킬기의 예는 메틸, 에틸, 프로필, i-프로필, 및 n-부틸을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.
- [0031] 본원에서 기술되는 용어 "DAB"는 카르보닐 탄소 (즉, α-탄소)에 인접한 탄소 원자가 L-배치로서 표시되는 입체 화학을 갖는, 2,4-디아미노부탄산으로부터 유도된 라디칼을 나타낸다. L-DAB는 다르게는 문현에서 L-DBU로서 지칭된다.
- [0032] 본원에서 기술되는 용어 "DAB 잔기"는 적어도 하나의 아미노산에 아미드-결합된 2,4-디아미노부티레이트 화합물을 나타낸다. 천연 발생 폴리믹신은 일반적으로 6개의 DAB 잔기를 포함하며, 이 중 5 개는 유리 γ-아미노기를 갖는다.
- [0033] 본원에서 기술되는 용어 "설포메틸"은 -CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M 모이어티를 나타내며, 여기서, M은 상기 정의된 바와 같다. 설포네이트 (-SO<sub>3</sub>) 모이어티는 산성 형으로 존재할 수 있지만, 생리적 환경(생체 내)에서 음전하를 가질 것이고, 회합된 양이온, 예컨대 M을 가질 것이다.
- [0034] 본원에서 기술되는 용어 "DAP"는 화합물 2,3 디아미노프로피오네이트를 나타낸다. 본원에서 기술되는 용어 "DAP 잔기"는 적어도 하나의 아미노산에 아미드-결합된 2,3-디아미노프로피오네이트 화합물을 나타낸다.
- [0035] 본원에서 기술되는 용어 "FA"는 표현 "지방 아실"에 대한 약어이고, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염과 관련한, 표현 "지방족 선형 또는 분지형 C<sub>6</sub>~C<sub>10</sub> 아실기"에 의해 포함된다.
- [0036] 본원에서 기술되는 용어 "UHPLC에 의해 적어도 X%의 양으로"는 본 출원의 물질 및 방법 부분에서 기술되는 UHPLC 방법으로부터 유도된 크로마토그램의 관련 피크(들)의 상대적 통합 면적으로서 이해해야 한다.
- [0037] 용어 "UHPLC 크로마토그램에 기초한 Y% 초과의 순도"는 본 출원의 물질 및 방법 부분에서 기술되는 UHPLC 방법으로부터 유도된 크로마토그램의 관련 피크(들)의 상대적 통합 면적으로서 이해해야 한다.
- [0038] 제 1 구체예는 하기 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함하는 조성물에 관한 것이다:



[0039]

[0040]

상기 식에서,



[0041]  $R^1$  은 지방족 선형 또는 분지형  $C_6-C_{10}$  아실기, 또는 이고;

[0042]  $R^5$ 는  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ ,  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ , 또는  $-CH_2C_6H_5$ 이고;

[0043]  $R^6$ 은  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ , 또는  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이고;

[0044] 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$ 은  $-(CH_2)_xCH_2NH_2$  또는  $-(CH_2)_xCH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;

[0045] 여기서,  $x$ 는 0 또는 1이고;

[0046] M은 일가 양이온이고;

[0047]  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$  중 적어도 세 개는  $-(CH_2)_xCH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이다.

[0048] 제 1 구체예의 제 1 양태에서,  $R^1$ 은 헵타노일, 메틸헵타노일, 옥타노일, 메틸옥타노일, 노나노일, 메틸노나노일 또는 테실이다.

[0049] 제 1 구체예의 제 2 양태에서,  $R^1$ 은 헵타노일, (S)-6-메틸헵타노일, 옥타노일, (S)-6-메틸옥타노일, (S)-7-메틸옥타노일, 노나노일, (S)-6-메틸노나노일, (S)-7-메틸노나노일, (S)-8-메틸노나노일 또는 데카노일이다.

[0050] 제 1 구체예의 제 3 양태에서, 전술된 조성물은, M이  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $H_mN(C_{1-4}알킬)_n^+$ , 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기서 m은 0-4이고, n은 0-4이나, 단, m+n=4임을 특징으로 한다.

[0051] 제 1 구체예의 제 4 양태에서, x는 1이고, M은  $H^+$ ,  $Na^+$  또는  $K^+$ 이다.

[0052] 제 1 구체예의 제 5 양태에서, x는 1이고, M은  $H^+$ ,  $Na^+$  또는  $K^+$ 이고,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$  중 세 개는  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이다.

[0053] 제 1 구체예의 제 6 양태에서, x는 1이고, M은  $H^+$ ,  $Na^+$  또는  $K^+$ 이고, 각각의  $R^2$ ,  $R^4$  및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이다.

[0054] 제 1 구체예의 제 7 양태에서, x는 1이고, M은  $H^+$ ,  $Na^+$  또는  $K^+$ 이고,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$  중 네 개는  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이다.

[0055] 제 1 구체예의 제 8 양태에서, x는 1이고, M은  $H^+$ ,  $Na^+$  또는  $K^+$ 이고, 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이다.

[0056] 제 1 구체예의 제 9 양태에서, x는 1이고, M은  $H^+$ ,  $Na^+$  또는  $K^+$ 이고, 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이다.

[0057] 제 1 구체예의 제 10 양태에서, 제 1 구체예의 제 2 양태 내지 제 9 양태 중 어느 하나에 의해 기술된 조성물은 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염이 UHPLC에 의해 적어도 10%, UHPLC에 의해 적어도 20%, UHPLC에 의해 적어도 30%, UHPLC에 의해 적어도 40%, UHPLC에 의해 적어도 50%, UHPLC에 의해 적어도 60%, UHPLC에 의해 적어도 70%, UHPLC에 의해 적어도 80%, UHPLC에 의해 적어도 90%, UHPLC에 의해 적어도 95%, UHPLC에 의해 적어도 97%, UHPLC에 의해 적어도 98%, 또는 UHPLC에 의해 적어도 99%의 양으로 존재함을 특징으로 한다.

[0058] 제 1 구체예의 제 11 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 5개 초과의 철포메틸기를 포함한다.

[0059] 제 1 구체예의 제 12 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 DAB 잔기 상의

$\gamma$ -아미노기에 결합된 6-10개의 설포메틸기를 포함한다.

[0060] 제 1 구체예의 제 13 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 DAB 잔기 상의  $\gamma$ -아미노기에 결합된 6, 8 또는 10개의 설포메틸기를 포함한다.

[0061] 제 1 구체예의 제 14 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 DAB 잔기 상의  $\gamma$ -아미노기에 결합된 10개의 설포메틸기를 포함한다.

[0062] 제 1 구체예의 제 15 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 DAB 잔기 상의  $\gamma$ -아미노기에 결합된 8개의 설포메틸기를 포함한다.

[0063] 제 1 구체예의 제 16 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 DAB 잔기 상의  $\gamma$ -아미노기에 결합된 6개의 설포메틸기를 포함한다.

[0064] 제 1 구체예의 제 17 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 내 DAB 잔기 상의 5개의  $\gamma$ -아미노기 각각에 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다. 이러한 폴리믹신은 데카 설포메틸화된다.

[0065] 제 1 구체예의 제 18 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 내 DAB 잔기 상의 4개의  $\gamma$ -아미노기 각각에 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다. 이러한 폴리믹신은 옥타 설포메틸화된다.

[0066] 제 1 구체예의 제 19 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 내 DAB 잔기 상의 3개의  $\gamma$ -아미노기 각각에 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다. 이러한 폴리믹신은 헥사 설포메틸화된다.

[0067] 제 1 구체예의 제 20 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 통상적인 폴리믹신 넘버링 시스템(numbering system)을 사용하여 DAB 잔기 1, 3, 5, 8 및 9 상의  $\gamma$ -아미노기 각각에 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다(도 4). 이러한 폴리믹신 화합물은 웬타( $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신으로서 지칭된다. 데카 설포메틸화된 폴리믹신 E1에 대한 구조식이 도 1에 보여지고, 약칭 PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>으로 제시된다.

[0068] 제 1 구체예의 제 21 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 넘버링 시스템을 사용하여 DAB 잔기 1, 5, 8 및 9 상의  $\gamma$ -아미노기 각각에 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다(도 4). 상기 폴리믹신 화합물의 예는 본원에서 테트라( $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸) DAB<sup>1,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1으로서 지칭된다. 이러한 화합물의 예가 도 2에 보여진다. 이 화합물의 약칭은 PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>이다.

[0069] 옥타 설포메틸화된 폴리믹신의 다른 예는 테트라 ( $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8</sup> 폴리믹신 E1, 테트라 ( $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,8,9</sup> 폴리믹신 E1, 테트라 ( $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,9</sup> 폴리믹신 E1, 테트라 ( $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸) DAB<sup>3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1이 있다.

[0070] 제 1 구체예의 제 22 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 DAB 잔기 1, 5, 및 9 상의  $\gamma$ -아미노기에 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다. 상기 폴리믹신의 예는 본원에서 트리( $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸) DAB<sup>1,5,9</sup> 폴리믹신 E1로서 지칭되고, 그의 구조식이 도 3에서 보여진다. 이 화합물에 대한 약칭은 PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>이다. 헥사 설포메틸화된 폴리믹신의 다른 예가 표 1에서 보여진다.

표 1: 펜타, 테트라 및 트리  $N^{\gamma}$ -비스-설포메틸화된 폴리믹신의 예

		DAB 위치				
		1	3	5	8	9
N <sup>γ</sup> -비스-설포메틸화된 폴리(10개의 상이한) (N <sup>γ</sup> -비스-설포메틸화된 폴리(5개의 상이한))	펜타 (5개의 상이한)	x	x	x	x	x
		x	x	x	x	
		x	x	x		x
		x	x		x	x
		x		x	x	x
	테트라 (5개의 상이한)	x	x	x		x
		x	x			x
		x			x	x
			x	x	x	x
			x	x	x	x
	트리(10개의 상이한)	x		x		x
		x	x		x	
		x			x	x
			x	x	x	x
			x	x	x	x

[0072]

각각의 x는 비스-설포메틸화된 DAB  $\gamma$ -아민을 나타낸다.

제 1 구체예의 제 23 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 E에서 DAB 잔기 1, 3, 5, 8 및 9 상의  $\gamma$ -아미노기 결합된 설포메틸기를 포함한다.

제 1 구체예의 제 24 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 E에서 DAB 잔기 1, 5, 8 및 9 상의  $\gamma$ -아미노기 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다.

제 1 구체예의 제 25 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 E에서 DAB 잔기 1, 5, 및 9 상의  $\gamma$ -아미노기 결합된 2개의 설포메틸기를 포함한다.

제 1 구체예의 제 26 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 E 또는 이들의 염이다.

제 1 구체예의 제 27 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 폴리믹신 B 또는 이들의 염이다.

제 1 구체예의 제 28 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 10% 초과의 순도를 갖는다.

제 1 구체예의 제 29 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 20% 초과의 순도를 갖는다.

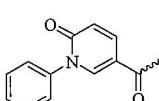
제 1 구체예의 제 30 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 30% 초과의 순도를 갖는다.

제 1 구체예의 제 31 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 40% 초과의 순도를 갖는다.

제 1 구체예의 제 32 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 50% 초과의 순도를 갖는다.

제 1 구체예의 제 33 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 60% 초과의 순도를 갖는다.

제 1 구체예의 제 34 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 70% 초과의 순도를 갖는다.

- [0086] 제 1 구체예의 제 35 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 80% 초과의 순도를 갖는다.
- [0087] 제 1 구체예의 제 36 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 90% 초과의 순도를 갖는다.
- [0088] 제 1 구체예의 제 37 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 UHPLC 크로마토그램에 기초하여 95% 초과의 순도를 갖는다.
- [0089] 제 1 구체예의 제 38 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 10% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0090] 제 1 구체예의 제 39 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 20% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0091] 제 1 구체예의 제 40 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 30% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0092] 제 1 구체예의 제 41 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 40% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0093] 제 1 구체예의 제 42 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 50% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0094] 제 1 구체예의 제 43 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 60% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0095] 제 1 구체예의 제 44 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 70% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0096] 제 1 구체예의 제 45 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 80% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0097] 제 1 구체예의 제 46 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 90% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0098] 제 1 구체예의 제 47 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은 6-10개의 설포메틸기를 포함하는, 적어도 95% w/w의 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다.
- [0099] 제 1 구체예의 제 48 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은
- [0100] (A)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;
- [0101] (B)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;
- [0102] (C)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^3$  및  $R^7$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;
- [0103] (D)  $R^1$ 은 이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^5$ 는  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0104] (E)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0105] (F)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0106] (G)

[0107] (1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0108] (2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0109] (3)  $R^1$ 은 옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0110] (4)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0111] (5)  $R^1$ 은 7-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0112] (H)

[0113] (1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0114] (2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0115] (I)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0116] (J)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3M)_2$ 이고; 각각의  $R^3$  및  $R^7$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 인, (A) 내지 (J) 중 어느 하나를 포함한다.

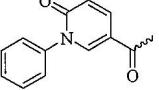
[0117] 제 1 구체예의 제 49 양태에서, 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염은

[0118] (A)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0119] (B)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0120] (C)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^3$  및  $R^7$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고;

고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0121] (D)  $R^1$ 은 이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0122] (E)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0123] (F)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0124] (G)

- [0125] (1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0126] (2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0127] (3)  $R^1$ 은 옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0128] (4)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0129] (5)  $R^1$ 은 7-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

[0130] (H)

- [0131] (1)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0132] (2)  $R^1$ 은 6-메틸헵타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^5$ 은  $-CH_2C_6H_5$ 이고;  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0133] (I)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고;  $R^3$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고;

- [0134] (J)  $R^1$ 은 6-메틸옥타노일이고; 각각의  $R^2$ ,  $R^4$ , 및  $R^8$ 은  $-CH_2CH_2N(CH_2SO_3Na)_2$ 이고; 각각의  $R^3$  및  $R^7$ 은  $-CH_2CH_2NH_2$ 이고; 각각의  $R^5$  및  $R^6$ 은  $-CH_2CH(CH_3)_2$ 이고, (A) 내지 (J) 중 어느 하나를 포함한다.

[0135] 제 1 구체예의 제 50 양태에서, 적어도 하나의 폴리믹신은 도 1, 도 2, 도 3, 도 5, 도 7 또는 도 8에 도시된 바와 같은 구조식으로 표시된다.

- [0136] 제 1 구체예의 제 51 양태에서, 조성물은 도 9 또는 도 10에 도시된 바와 같은 구조식으로 표시되는 폴리믹신을 포함한다.
- [0137] 폴리믹신은 헵타펩타이드 고리 및 N-말단 아미드 결합된 지방산을 함유하는 항생제 데카펩타이드이다. 수 개의 폴리믹신이 바실러스 폴리믹사에 의해 천연 생성된다. 폴리믹신의 구조 및 이력은 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌(Velkov et al. J. Med. Chem. (2010) 53(5): 1898-1916)에 기술되어 있다.
- [0138] 본원에서 기술되는 폴리믹신은 치환체의 수 및 이들의 위치와 관련하여 다수의 분자 종을 수용한다. 예를 들어, 수용액 상태에서, 전하는 pH에 의거할 것이다. 본원에서 기술되는 폴리믹신 화합물은 이들의 약제학적으로 허용되는 염 및 이온을 모두 포함한다. 폴리믹신 중에 헥사-, 옥타-, 및 데카-소듐 염이 있음은 물론이다. 또한, 그 밖의 약제학적으로 허용되는 염으로는 예를 들어, 칼륨, 리튬, 및 암모늄 염(예컨대,  $H_mN(C_{1-4}\text{-알킬})_n^+$  (여기서, m은 0-4이고, n은 0-4이나, 단  $m+n=4$ 임), 또는 이들의 조합이 포함된다.
- [0139] 본원에서 기술되는 폴리믹신은 DAB 잔기 상의  $\gamma$ -아미노기에 결합된 6-10개의 설포메틸기를 갖는 어떠한 폴리믹신 화합물을 포함한다.
- [0140] 폴리믹신 중 잔기의 넘버링은 문헌(Velkov 등, 예를 들어, 도 4 참조)에 따른다. 천연 발생 폴리믹신에 있어서, 지방산은 N-말단 아미노산 잔기(1)에 결합되고, 아미노산 잔기 (10)는 아미노산 잔기 (4)와 래리어트(lariate) 구조를 형성한다. 즉, 지방 아실기 (예컨대, 6-메틸-헵탄산 또는 6-메틸-옥탄산)는 일부 천연 발생 폴리믹신에서 L-DAB 잔기 (1)에 아미드 결합되고, 트레오닌 잔기 (10)는 L-DAB 잔기 (4)에 아미드 결합된다.
- [0141] 폴리믹신 B와 폴리믹신 E (콜리스틴) 간의 구조에서의 유일한 차이는 아미노산 성분에 있다. 폴리믹신은 지방 산에 공유 결합되어 있는 트리펩타이드 측쇄와 함께 사이클릭 헵타펩타이드 고리로서 배열된 L-아미노산을 주로 함유한다(예를 들어, 도 4 참조). 폴리믹신 B와 폴리믹신 E 간의 차이는 잔기 6에 있다. 폴리믹신 B에서 잔기 (6)는 D-페닐알라닌이고, 폴리믹신 E 잔기에서, 잔기 (6)은 D-류신이며, 이 둘 모두는 잔기(7)에 L-류신을 함유 한다.
- [0142] 도 4에서 확인되는 입체화학적 표시는 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염에 존재하는 탄소 기반 입체중심의 가능한 입체 화학적 표시를 한정하지 않는 것으로 이해해야 한다.

[0143]

표 2: 설포메틸화된 폴리미신의 조

설포메틸화된 폴리미신	약어	EA	Dab 1 (N <sup>7</sup> )	Dab 3 (N <sup>7</sup> )	Dab 5 (N <sup>7</sup> )	X 6	Y 7	Dab 8 (N <sup>7</sup> )	Dab 9 (N <sup>7</sup> )
페(염-비스-설포메틸) DAB <sub>1,3,5,8,9</sub>	PE1 <sup>-i</sup> (SM) <sub>10</sub> <sub>1,3,5,8,9</sub>	6- MOA	2SM	2SM	Le u	Leu	2SM	2SM	
페(염-비스-설포메틸) DAB <sub>1,3,5,8,9</sub>	PE2 <sup>-i</sup> (SM) <sub>10</sub> <sub>1,3,5,8,9</sub>	6- MHA	2SM	2SM	Le u	Leu	2SM	2SM	
페(염-비스-설포메틸) DAB <sub>1,3,5,8,9</sub>	PE1 <sup>-i</sup> (SM) <sub>10</sub> <sub>1,3,5,8,9</sub>	6- MOA	2SM	2SM	Le u	Ile	2SM	2SM	
페(염-비스-설포메틸) DAB <sub>1,3,5,8,9</sub>	PE <sup>-i</sup> (SM) <sub>10</sub> <sub>1,3,5,8,9</sub>	6- MHA / OCT	2SM	2SM	Le u	Leu/Ile	2SM	2SM	

[0144]

<i>tert</i> (N <sup>t</sup> -비스-설포메틸)DAB <sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 B	PB- (SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup>	6-MOA / 6-MHA / 6-OCT	2SM	2SM	Ph e	Leu	2SM	2SM
<i>tetra</i> (N <sup>t</sup> -비스-설포메틸)DAB <sup>1,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1	PEI <sup>1-9</sup> (SM) <sub>8</sub> <sup>1,5,8,9</sup>	6-MOA	2SM	2SM	Le u	Leu	2SM	2SM
<i>tri</i> (N <sup>t</sup> -비스-설포메틸)DAB <sup>1,5,9</sup> 폴리믹신 E1	PEI-(SM) <sub>6</sub> <sup>1,5,9</sup>	6-MOA	2SM	2H	Le u	Leu	2H	2SM

(FA = 지방 아실, 6-MOA = 6-메틸옥티노일, 6-MHA = 6-메틸헵타노일, 6-OCT = 옥ти노일, 2SM = 비스-설포메틸, Leu = 류신 잔기, Ile = 이소류신 잔기, Phe = 페닐알라닌 잔기, DAB1 = DAB 전기 번호 1 등)

[0145]

[0146]

많은 천연 발생 폴리믹신은 아미드 결합에 의해 웨타이드에 결합된 6-메틸-헵탄산 또는 6-메틸-옥탄산을 포함한다. 천연 지방산이 합성 지방산으로 교체된 다수의 폴리믹신이 선행 기술에서 생성되었다. 본 발명의 폴리믹신은 또한 청구범위의 특징을 달리 실현하는 경우라면 이러한 반합성 폴리믹신을 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 많은 반합성 폴리믹신이 문헌(참조예: Magee et al., J. Med. Chem. (2013) 56: 5079-5093)에 기술되어 있다.

[0147]

본원에서 기술되는 용어 "CMS"는 설포메틸화된 폴리믹신 E1 및 설포메틸화된 폴리믹신 E2를 포함하는 조성물을 나타낸다. CA(Chemical abstracts)는 CMS에 대해 번호 8068-28-8을 이러한 조성물에 할당하였다.

[0148]

본원에서 기술되는 용어 "콜리스틴"은 폴리믹신 E1 및 폴리믹신 E2를 포함하는 조성물을 나타낸다. CA는 콜리스틴에 대해 번호 1066-17-7을 할당하였다. EP 약전에 따르면, 콜리스틴은 77% 초과의 폴리믹신 E1, E2, E3, E1-i 및 E1-7MOA를 포함해야 하며, 각각의 미량 성분인 폴리믹신 E3, E1-i 및 E1-MOA는 10% 미만으로 포함해야 한다.

[0149]

본원에서 기술되는 용어 "폴리믹신 E"는 "콜리스틴"과 상호교환가능하게 사용된다.

[0150]

본원에서 기술되는 용어 "폴리믹신 E1"은 CAS 번호 7722-44-3를 갖는 화합물을 나타낸다. 폴리믹신 E1은 콜리스틴 A와 상호교환가능하게 사용된다.

[0151]

본원에서 기술되는 용어 "폴리믹신 E2"은 CAS 번호 7239-48-7을 갖는 화합물을 나타낸다. 폴리믹신 E2은 콜리스틴 B와 상호교환가능하게 사용된다.

[0152]

본원에서 기술되는 용어 "설포메틸화된 폴리믹신"은 L-DAB 잔기 상의 γ-아미노기에 결합된 적어도 하나의 설포

메틸기를 포함하는 폴리믹신을 나타낸다.

[0153] 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염에 의해 포함되는 특정 폴리믹신 유도체는 US 2012/0316105에 상응하는 WO 2012/168820에 기술된 바와 같이, L-DAB 잔기 상의  $\gamma$ -아미노기 또는 L-DAP 잔기 상의  $\beta$ -아미노기에 결합된 6-10개의 설포메틸기를 포함하는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염을 포함한다. 그 안에, 화합물은 6 내지 10개의 설포메틸기를 함유하지 않는다. 화학식(I)로 표현되는 적어도 하나의 폴리믹신 또는 이들의 염의 한 가지 예는 하기 구조식을 갖는 화합물을 포함한다:

[0154] 제 2 구체예는 유효량의, 제 1 구체예의 다수의 양태에서 기술된 조성물 중 어느 하나를 포함하는 약제 조성물에 관한 것이다.

[0155] 제 2 구체예의 제 1 양태에서, 약제 조성물은 약제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함한다. 약제학적으로 허용되는 부형제는, 보존제, 완충제, 산화방지제, 또는 희석제를 포함할 수 있다. 적합한 희석제는 희석제: 주입용 물, 0.9% NaCl, 0.9% NaCl 중 5% 텍스트로스, 수 중 5% 텍스트로스, 0.45% NaCl 중 5% 텍스트로스, 0.225% NaCl 중 5% 텍스트로스, 및 젖산화 링거 용액(Lactated Ringer's solution)을 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다.

[0156] 약제 조성물은 주입가능한 경로(예를 들어, 비경구 또는 정맥내 투여)에 의해, 또는 예를 들어, 분무기 또는 그 밖의 이러한 흡입 장치를 사용하는 흡입에 의해 투여를 위한 적합한 희석제를 사용하여 재구성될 수 있는 동결건조된 생성물일 수 있다.

[0157] 본원에서 사용되는 용어 "유효량"은 피검체에서 예를 들어, 슈도모나스 아에루기노사, 악시네토박ter 바우만니, 클로브시엘라 뉴모니아, 에스케리키아 콜리(Escherichia coli), 엔테로박ter 에어로게네스(Enterobacter aerogenes) 등과 같은 세균 감염, 예컨대 그램-양성 세균 감염의 증상을 감소시키는데 요구되는 양을 의미한다. 투여량이 각각의 특정 경우에 개개의 요건에 대해 조절될 것이다. 그러한 용량은 다수의 인자, 예컨대, 치료되어야 하는 질병의 중증도, 환자의 연령 및 전반적인 건강 상태, 환자가 치료받고 있는 그 밖의 의약, 투여 경로 및 형태, 관련된 의료진의 선호도 및 경험에 의거하여 광범위한 제한 내에서 달라질 수 있다.

[0158] 제 3 구체예는 그람-음성 세균 감염 치료에서의, 유효량의 제 1 구체예의 다수의 양태에서 기술된 조성물 중 어느 하나를 포함하는 약제 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0159] 제 3 구체예의 제 1 양태에서, 용도는 상업적으로 입수가능한 폴리믹신 드러그(drug) 제품, 예를 들어, 주입용 콜리스티메테이트(Colistimethate for Injection, USP)와 동일하다.

[0160] 제 3 구체예의 제 2 양태에서, 용도는 슈도모나스 아에루기노사, 악시네토박ter 바우만니, 클로브시엘라 뉴모니아, 에스케리키아 콜리, 엔테로박ter 에어로게네스, 또는 이들의 조합에 기인한 또는 매개된 감염을 치료하는 것이다.

[0161] 제 4 구체예는 감염된 환자에게서 그람-음성 세균 감염을 치료하는 방법으로서, 유효량의 제 1 구체예의 다수의 양태에 기술된 조성물 중 어느 하나를 포함하는 약제 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0162] 제 4 구체예의 제 1 양태에서, 치료 방법은 상업적으로 입수가능한 폴리믹신 드러그 제품, 예를 들어, 주입용 콜리스티메테이트(Colistimethate for Injection, USP)에 대해 지시된 용도와 실질적으로 동일하다.

[0163] 제 4 구체예의 제 2 양태에서, 그람 음성 세균 감염은 슈도모나스 아에루기노사, 악시네토박ter 바우만니, 클로브시엘라 뉴모니아, 에스케리키아 콜리, 엔테로박ter 에어로게네스, 또는 이들의 조합에 기인하거나 매개된다.

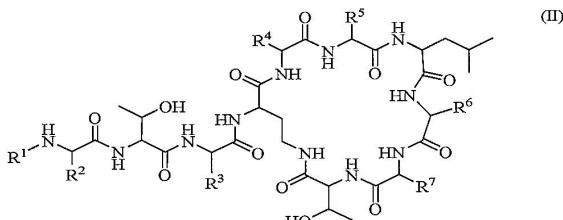
[0164] 제 5 구체예는 감염된 환자에게서 그람-음성 세균 감염을 치료하는 방법으로서, 유효량의 제 1 구체예의 다수의 양태에 기술된 조성물 중 어느 하나를 포함하는 약제 조성물을 또 다른 항균제와 함께 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0165] 제 5 구체예의 제 1 양태에서, 약제 조성물 및 또 다른 항균제의 투여는 동시에 또는 다르게는 특정 시간적 투여 순서 없이 실시된다.

[0166] 제 5 구체예의 제 2 양태에서, 그람 음성 세균 감염은 슈도모나스 아에루기노사, 악시네토박ter 바우만니, 클로브시엘라 뉴모니아, 에스케리키아 콜리, 엔테로박ter 에어로게네스, 또는 이들의 조합에 기인하거나 매개된다.

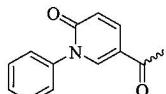
[0167] 제 6 구체예는 제 1 구체예의 다수의 양태에서 기술된 조성물 중 어느 하나를 제조하는 방법으로서, 하기 화학

식(II)의 화합물 또는 이들의 염을 메틸설폰화제와 반응시키는 것을 포함하는 방법에 관한 것이다:



[0168]

상기 식에서,



R<sup>1</sup>은 지방족 선형 또는 분지형 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 아실기, 또는

R<sup>5</sup>은 -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 또는 -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O]고;

R<sup>6</sup>은 -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 또는 -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>O]고;

각각의 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> 및 R<sup>8</sup>은 -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>O]고; 여기서, x는 0 또는 1이다.

제 7 구체예는 제 5 구체예에서 기술된 방법에 의해 얻어진 생성물에 관한 것이다.

#### 물질 및 방법

##### 초고압 액체 크로마토그래피(Ultra High Pressure Liquid Chromatography) (UHPLC):

사용된 UHPLC 방법은 UV 검출기를 지닌 쿼터너리 펌프 시스템(quaternary pump system)이 구비된 워터스 액퀴티 시스템(Waters Acquity system)템이었다. 사용된 컬럼은 30°C에서 유지되는 워터스 액퀴티 UPLC CSH C18, 1.7 μm, 150 x 2.1 mm 이었다. 모든 크로마토그램을 엠파워 2(Empower 2)를 사용하여 기록하였다. 유량은 0.30 mL/min이고, 주입량은 2 μL였다. 이동상은 하기로 이루어졌다: A) 95:5 v/v 비의 0.05 M 인산염 완충제 pH 6.5 및 아세토니트릴 (MeCN); B) 50:50 v/v 비의 0.05 M 인산염 완충제 pH 6.5 및 MeCN. 모든 용매 및 화학약품은 분석용 등급(analytical grade)이고, 사용전에 0.2 μm 필터를 통해 여과시켰다. 사용된 구배는 다음과 같다: 초기, 20% B; 0 - 10 min, 선형 내지 32% B; 10 - 35 min, 선형 내지 47% B; 35 - 36 min, 선형 내지 20% B; 36 min - 44 min, 20% B. 모든 크로마토그램을 210 nm에서 기록하였다. 모든 용매 및 화학약품은 머크 (Merck, Germany)로부터 구입하였고, 분석용 또는 프로 분석(pro analysis)(PA) 등급의 것들이었다.

#### UHPLC 및 MS를 위한 시험 샘플 용액의 제조

CMS 시험 표준물질을 수중에 용해시킴으로써 샘플을 제조한 직후, 샘플의 최종 농도가 2 mg/mL이고, 수분 함량이 5%이 되도록 메탄올(MeOH)로 회석하였다. 이는 설포메틸화된 화합물의 가수분해를 감소시킴으로써 샘플 안정도를 증가시킨다. 분리된 성분을 대략 1mg/mL의 농도로 순수한 메탄올 중에 용해시킴으로써 개개의 성분을 확인하였다. 모든 샘플을 사용 전에 2-8°C에서 냉장고 또는 오토샘플러(autosampler)에 저장하였다.

#### 질량 분석법(Mass spectrometry)(MS)

모든 샘플을 네거티브 모드(negative mode)의 전자분무 주입식 비행시간형 질량 분석기(electrospray infusion time-of-flight mass spectrometer)(ESI-TOF MS) (Bruker microTOF)에 의해 분석하였다. 샘플을 0.5 mg/mL의 농도로 메탄올을 중에 용해시키고, 30분 동안 초음파 배쓰 상에 두었다. 샘플을 대략 30초 동안 250 μL/시간의 유량으로 주입하였다. MS 세팅(setting)은 다음과 같다; 엔드 플레이트 오프셋(End Plate Offset) -500 V, 캐필러리(Capillary) 3500V, 네뷸라이저(Nebulizer) 3.0 Bar, 건조 가스(Dry Gas), 250°C에서 4.0 mL/min, -80V 내지 120 V에서 변하고, -100.0V의 일반적인 값을 갖는 캐필러리 엑시트(Capillary Exit), 스키머(Skimmer) 1 - 33.3 V, 헥사폴(hexapole) 1 -23.5 V, 헥사폴 RF 300.0 Vpp, 스키머 2 -223.5 V. 캐필러리 엑시트는 성분들의 단편화(fragmentation)에 상당히 영향을 미친다. 따라서, 개별 성분들에 대한 이러한 파라미터의 최적화가

필요하였다. 일부 화합물에 대해서 소정의 단편화가 여전히보여졌다. 공급원 분해 시 여러 염 및 그 밖의 성분들의 존재로 인해, MS 스펙트럼은 순수하지 않으며, 추가의 시그널을 함유할 수 있다. 그러나, 각 성분이 단일성분(monocomponent)(UHPLC에 의해 입증됨)으로서 분리되었기 때문에, 가장 가능성성이 높은 매스(mass)가 순상되지 않은 분자이고, 보다 낮은 매스를 지닌 다른 모든 매스는 분획인 것으로 예측되었다. 이는 또한 캐필러리 엑시트 에너지(capillary exit energy)를 달리함으로써 입증되었다.

[0182] NMR: 1D 및 2D NMR 실험에 대한 표준 펄스 시퀀스(standard pulse sequence) 하에서 브루커(Bruker) 600 MHz 분광기를 사용하여 실험결과를 얻었다. 298 K에서 데이터를 CD<sub>3</sub>OH에서 기록하였다. 화학적 이동(Chemical shift)을 CHD<sub>2</sub>OH ( $\delta_{\text{H}}$  3.30 ppm) 및 CD<sub>3</sub>OH ( $\delta_{\text{c}}$  49.0 ppm)에 대해 ppm로 기록하였다. 하기 NMR 실험결과가 얻어졌다: <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT, COSY, HMBC, HSQC, TOCSY 및 NOESY. 문헌(Wishart et al. J. Biomol. NMR (1995) 6: 135-140))에 의해 기술된 주파수 비를 사용하는 <sup>15</sup>N 화학적 이동이 참조되었다.

### 실시예

[0184] 예로서 제한되지 않고, 하기 실시예는 본원에서 기술되는 요지를 보다 잘 용이하게 이해하게 한다.

#### 실시예 1

[0186] 펜타(<sup>N</sup>-비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1 (PE1-(SM)<sub>10</sub>)<sup>1,3,5,8,9</sup> (도 1))의 제조

[0187] 분리된 폴리믹신 E1 설페이트 (3.5 g) 및 포름알데하이드 소듐 바이설파이트 (11.3 g) 부가물의 45% w/w 수용액을 혼합하고, 교반하면서 60°C로 가온시켰다. 이후, 2 M NaOH를 여러번 첨가하여 pH를 7.0 - 7.5에서 유지시켰다. 18시간 후, 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 미정제 생성물을 200 mL의 메탄올/아세토니트릴 1/1 v/v 중에 침전시킴으로써 백색 고형물로서 얻었다.

[0188] 생성물을 탈염시키고, 하기 절차에 의해 폴리싱(polishing)하였다: C18 컬럼 6 μ, 예를 들어, 페노메넥스 X 브릿지 프레프 쉴드(Phenomenex X Bridge Prep Shield) 10 x 250 mm 또는 유사물을 세척하고, 5% MeCN로 평형화시켰다(염 없음). 컬럼을 워터스 델타 프레프 HPLC 시스템(Waters Delta Prep HPLC system, 150 mL/min 최대 유량)에 장착하였다. 검출기는 280 nm로 조절된 워터스 2487(Waters 2487)이었다. 230 mg PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>의 9 mL 5% MeCN 용액과 1 mL 2M NaCl의 혼합물을 컬럼에 로딩시켰으며, 유량은 6-8 mL/min였다.

[0189] 6-8 mL/min으로 5% MeCN를 사용하여 용리하고 탈염시키고, PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> 분획을 수거하였다. 공정 동안에 컬럼 상에서 소정의 분해가 일어났지만, 헤드(head) 및 테일(tail) 부분을 잘라냄으로써, 고순도가 유지될 것이다. 헤드 분획 약 35 mL을 450 mL 100% MeCN로 직접 수거하고, 추가의 550 mL 100% MeCN을 첨가한 후, 2L의 배(pear) 모양 증발 플라스크에서 97:3 MeCN:H<sub>2</sub>O 용액을 진공-증발시켰다. 증류 공정을 부치 회전증발기(Buechi Rotavapor)로 수행하였다. 94:6 공비혼합물(azeotrope)을 증발시켜 2 L 진공-증류 플라스크에서 수분비함유 PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> 잔기를 형성시켰다. 이 잔기를 3 x 8 mL 100% MeOH (무수)로 분리시키고, 50 mL 진공-증발 플라스크에 붓고, 1-2 mL MeOH-PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> 혼탁액으로 진공-증발시켰다. 15 mL 100% MeCN을 첨가하고, 용액/혼탁액을 더욱 건조되도록 35°C의 수조 온도로 진공-증발시켰다. 압력이 공정 동안 70-60 Torr에서 20-15 Torr로 감소하였다. 추가의 진공-건조를 진공을 유지시킨 채로 35°C 물에서 서서히 회전시키면서 30분 동안 수행하였다. 150 mg 물질의 PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>를 수득하였다. 여러 실행을 실시하여 90% 초과의 상대적 크로마토그래피 순도를 지닌 990 mg 배치를 얻었다.

[0190] 역상 구배에 의한 UHPLC (CSH C18, 1.7 μm, 150 x 2.1 mm)는 PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>, C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub>로 단일 피크를 나타내었다. 순도는 컬럼 용리제가 210 nm에서 모니터링된 경우 93%였다 - 도 6 참조. 또한, ESI-TOF MS를 사용하여 분리된 성분의 직접 주입을 통해 분석을 실시하였다(네가티브 모드): C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M]<sup>-</sup>에 대한 이론치 m/z = 2328.3. 실측치 [M+8 Na]<sup>-2</sup>: m/z 1141.2 및 [M+7Na]<sup>-3</sup> m/z 753.1. 생성물은 <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-, 및 <sup>15</sup>N-NMR 분광법 (데이터 미기재)에 의해 측정되었다.

#### 실시예 2

[0192] 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E2 (PE2-(SM)<sub>10</sub>)<sup>1,3,5,8,9</sup> (도 7))의 제조

[0193] 폴리믹신 E2 설페이트 (3.5 g) 및 포름알데하이드 소듐 바이설파이트 (11.3g) 부가물의 45% w/w 수용액을 혼합하고, 교반하면서 60°C로 가온시켰다. 이후, 2 M NaOH를 여러번 첨가하여 pH를 7.0 - 7.5에서 유지시켰다. 18시간 후, 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 미정제 생성물을 200 mL의 메탄올/아세토니트릴 1/1 v/v 중에 침전시킴으로서 백색 고형물로서 얻었다. 생성물을 추가로 실시예 1에서 기술된 바와 같이 탈염시키고 폴리싱하였다.

[0194] 역상 구배에 의한 UHPLC (CSH C18, 1.7 $\mu$ m, 150 x 2.1 mm)는 PE2-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>, C<sub>62</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub>로 단일 피크를 나타내었다. 순도는 컬럼 용리제가 210 nm에서 모니터링된 경우 81%였다. 또한, ESI-TOF MS(네가티브 모드)를 사용하여 분리된 성분의 직접 주입을 통해 분석을 실시하였다: C<sub>62</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M]에 대한 이론치 m/z = 2314.5. 실측치 [M+8 Na]<sup>-2</sup>: m/z 1135.2 및 [M+7Na]<sup>-3</sup>: m/z 748.5. 생성물은 <sup>1</sup>NMR 분광법에 의해 측정되었다.

### 실시예 3

[0196] 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸)DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1-i (PE1-i-(SM)<sub>10</sub>)<sup>1,3,5,8,9</sup> (도 8))의 제조

[0197] 폴리믹신 E1-i 설페이트 (3.5 g) 및 포름알데하이드 소듐 바이설파이트 (11.3 g) 부가물의 45% w/w 수용액을 혼합하고, 교반하면서 60°C로 가온시켰다. 이후, 2 M NaOH를 여러번 첨가하여 pH를 7.0 - 7.5에서 유지시켰다. 18시간 후, 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 미정제 생성물을 200 mL의 메탄올/아세토니트릴 1/1 v/v 중에 침전시킴으로써 백색 고형물로서 얻었다. 생성물을 추가로 실시예 1에서 기술된 바와 같이 탈염시키고 폴리싱하였다.

[0198] 역상 구배에 의한 UHPLC (CSH C18, 1.7 $\mu$ m, 150 x 2.1 mm)는 PE1-i-(SM)<sub>10</sub>, C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub>로 단일 피크를 나타내었다. 순도는 컬럼 용리제가 210 nm에서 모니터링된 경우 95%였다. 또한, ESI-TOF MS(네가티브 모드)를 사용하여 분리된 성분의 직접 주입을 통해 분석을 실시하였다: 실측치 [M+8 Na]<sup>-2</sup>: m/z 1141.2 및 [M+7Na]<sup>-3</sup>: m/z 753.1.

### 실시예 4

[0200] 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 E (PE-(SM)<sub>10</sub>)<sup>1,3,5,8,9</sup> (도 9)의 제조

[0201] 콜리스틴 설페이트 혼합물 (3.5 g) 및 포름알데하이드 소듐 바이설파이트 (11.3 g) 부가물의 45 % w/w 수용액을 혼합하고, 교반하면서 60°C로 가온시켰다. 이후, 2 M NaOH를 여러번 첨가하여 pH를 7.0 - 7.5에서 유지시켰다. 18시간 후, 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 미정제 생성물을 200 mL의 메탄올/아세토니트릴 1/1 v/v 중에 침전시킴으로써 백색 고형물로서 얻었다. 생성물: PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (도 9)을 추가로 실시예 1에서 기술된 바와 같이 탈염시키고 폴리싱하였다.

[0202] 역상 구배에 의한 UHPLC (CSH C18, 1.7 $\mu$ m, 150 x 2.1 mm)는 PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>로 약칭된, 폴리믹신의 각각의 주성분에 대한 단일 피크를 나타내었다. 5 개의 주요 폴리믹신 피크의 총 상대적 순도는 컬럼 용리제가 210 nm에서 모니터링된 경우 83%였다. 또한, 네가티브 모드로 ESI-TOF MS를 사용하여 PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> 혼합물의 직접 주입을 통해 분석을 실시하였다: E1: C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M]에 대해 계산된 주 성분 이론치 m/z = 2328.3 및 E2: C<sub>62</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M]에 대한 m/z = 2314.5. 각각의 실측치 [M+8 Na]<sup>-2</sup>: m/z 1141.2 + 1135.1 및 [M+7Na]<sup>-3</sup>: m/z 748.5 및 753.1.

### 실시예 5

[0204] 펜타(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> 폴리믹신 B (PB-(SM)<sub>10</sub>)<sup>1,3,5,8,9</sup> (도 10))의 제조

[0205] 폴리믹신 B 설페이트 (3.5 g) 및 포름알데하이드 소듐 바이설파이트 (11.3 g) 부가물의 45 % w/w 수용액을 혼합

하고, 교반하면서 60°C로 가온시켰다. 이후, 2 M NaOH를 여러번 첨가하여 pH를 7.0 - 7.5에서 유지시켰다. 18시간 후, 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 미정제 생성물을 200 mL의 메탄올/아세토니트릴 1/1 v/v 중에 침전시킴으로써 백색 고형물로서 얻었다. 생성물: PB-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (도 10)을 추가로 실시예 1에서 기술된 바와 같이 탈염시키고 폴리싱하였다.

[0206] 역상 구배에 의한 UHPLC (CSH C18, 1.7 μm, 150 x 2.1 mm)는 PB-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>를 나타내었다. 또한, ESI-TOF MS (네가티브 모드)를 사용하여 PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> 혼합물의 직접 주입을 통해 분석을 실시하였다: B1: C<sub>66</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M]에 대해 계산된 주 성분 이론치 m/z = 2362.3 및 B2: C<sub>65</sub>H<sub>106</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M]에 대한 m/z = 2348.3. 실측치 M<sup>-2</sup>: m/z 1158.2 + 1151.2, 및 M<sup>-3</sup> m/z 764.4 및 주 성분들(각각의 실측 질량에 대한 폴리믹신 B 성분들의 혼합물)로서 759.8.

[0207] 실시예 6

[0208] 악시네토박ter 바우만니(Acinetobacter baumannii), 클레브시엘라 뉴모니아(Klebsiella pneumonia), 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa) 및 에스케리키아 콜리(Escherichia coli)에 대한 데카 설포메틸화된 폴리믹신의 항균 활성.

[0209] 데카 설포메틸화된 폴리믹신을 EUCAST에 따른 브로쓰 희석 방법(broth dilution method)을 사용함으로써 최소 억제 농도(MIC)를 측정함으로써 항균 활성을 대해 시험하였다. 4개의 세균 인디케이터(indicator) 유기체, 예를 들어, 콜리스틴-민감성 악시네토박ter 바우만니, 클레브시엘라 뉴모니아 #3010, 슈도모나스 아에루기노사 ATCC27853, 에스케리키아 콜리 ATCC25922 및 에스케리키아 콜리 DSA443를 사용하였다. 시험을 스타텐스 세럼 인스티튜트(Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark department for Microbiology 및 Infection Control)에서 실시하였다.

[0210] 사용된 농도 범위는 0.125-128 μg/mL이었다. 젠타마이신(Gentamicin)을 포지티브 품질 대조군으로서 포함시켰다. 젠타마이신의 제조: 1000 μg/mL 원액: 0.125 mL의 헥사마이신의 40 mg/mL 용액 + 4.875 mL 멸균수. 128 μg/mL: 0.640 mL의 "1000 μg/mL 원액" + 4.36 mL 멜러-힌톤 브로쓰(Mueller-Hinton broth) (MHB).

[0211] 본원에서 기술되는 화합물의 제조: 5 mg/mL 원액: 5 mg의 하나의 바이알에 1.0 mL 멸균수를 첨가하였다. 512 μg /mL 용액: 0.205 mL의 "5 mg/mL 원액" + 1.795 mL MHB.

[0212] 접종원(inoculum)의 제조: 5% 말 혈액 한천 평판(horse blood agar plate)으로부터의 신선한 오버나이트 콜로니를 0.5 McFarland의 탁도(turbidity)로 혼탁시키고, 추가로 멜러-힌톤 브로쓰 중에서 1x10<sup>6</sup> CFU/mL로 희석시켰다. 총 50 μL의 희석된 세균 혼탁액(Mueller Hinton BBL II-broth, SSI)을 본원에서 기술된 50 μL의 두배 화합물 또는 젠타마이신 희석물을 함유하는 웰(well)에 첨가하였다. 모든 화합물을 3회 시험하였다. 평판을 35°C에서, 16-20 시간 인큐베이팅하였다.

[0213] 결과가 표 3에 기재된다. 포지티브 대조군 젠타마이신에 대한 MIC는 P. 아에루기노사 ATCC27853 (0.5-2 μg/mL) 및 E. coli ATCC 25922 (0.25-1 μg/mL)에 한 허용치 내에 있었으며, 이는 올바른 절차임을 나타낸다.

[0214] 모든 균주(strain)에 대해, 대조군 물질 CMS은 5 개의 데카 설포메틸화된 폴리믹신 중 3 개가 CMS 대조군에 필적하는 활성을 나타낸 A. 바우만니 콜리스틴 콜리스틴 민감성 균주를 제외하고, 데카 설포메틸화된 폴리믹신보다 낮은 MIC-값을 지녔다. MIC 데이터는 모든 데카 설포메틸화된 폴리믹신 물질에 대해 항균 활성을 나타내나, 일반적으로 CMS 대조군에 비해 활성이 낮았다.

표 3. 테카 설포메틸화된 폴리믹신에 대한 MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) 결과

세균 균주	<i>E. coli</i>		<i>P. 아에루기노사</i>	<i>A. 바우만니</i>	<i>K. 뉴모나이</i>
	ATCC 25922	DSA 443	ATCC 27853	콜리스틴 S	#3010
1 (PE1-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	4	16
2 (PE2-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	4	16
3 (PE1-i-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	4	16
4 (PE-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	8	16
5 (PB-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	16	16	8	8	16
CMS	2	4	4	4	4
젠타마이신	1	>32	1	>32	0.125

[0216]

## 실시예 7

[0218] 테트라 ( $N^{\text{X}}-\text{비}-\text{설포메틸}$ ) DAB<sup>1,5,8,9</sup> 폴리믹신 E1 (PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> (도 2))의 제조

[0219] 소듐 바이설파이트 - 포름알데하이드 부가물(9.80 g, 68.5 mmol)을 물(100 mL) 중에 용해시키고, 37% HCl (1.75 g, 17.7 mmol)를 첨가하였다. 이후, 폴리믹신 E1 (11.7 g, 10.0 mmol)을 교반된 용액에 서서히 첨가하였다. 이후, 형성된 분산물을 10시간 동안 40°C로 가열하고, 이어서 백색 고형물로 동결건조시켰다.

[0220] 400 mg의 설포메틸화 폴리마이신 E1를 20 mL 50% 메탄올 중에 용해시키고, 20 mL/min의 유량으로 워터스 프레프 LC 유니버설 베이스(Waters Prep LC Universal Base)에 장착된 워터스 노바 팍(Waters Nova Pak), C18, 6  $\mu\text{m}$ , 60 Å, 40 x 310 mm에 로딩하였다. 물질 용액을 적용하기 전에 컬럼을 A-용리제로 평형화시켰다.[0221] A-용리제는 CH<sub>3</sub>CN: 10 mM 트리에틸아민 40 mM NaCl 완충제, 1:9임.[0222] B-용리제는 CH<sub>3</sub>CN: 10 mM 트리에틸아민 40 mM NaCl 완충제, 4:6임.

[0223] 용리 시스템은 등용매(isocratic)의 0~5 min 100% A-용리제이고, 20 min 동안 선형 구배로서 100% A 내지 50% 임.

[0224] 처음 5개의 주요 피크를 수거하고, 분석하였다. RT 12 분에서 처음 주요 피크는 PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>였다. 추가로 후처리하기 전에 분획을 -80°C에서 냉동고에서 저장하였다. 빠르게 용융된, 여전히 냉각되어 있는 PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> (도 11)를 지닌 50~100 mL 분획을 100 % CH<sub>3</sub>CN로 희석하여 CH<sub>3</sub>CN 중 약 4% 물을 얻었다. 75~85% 순도로 15~30 mg PE1-(SM)<sub>8</sub>을 함유하는 희석된 분획을 진공 증발 건조시키고, 100% 메탄올 중에 재용해시키고, -20 °C 냉동고에서 수거하여 150~300 mg 물질을 얻었다.[0225] 상기 물질을 상기에서와 동일한 방식으로 분취용 HPLC로 재처리하고, 끝으로 실시예 1에서와 같이 틸염시키고, 폴리싱하였다. 생성물을 <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-, 및 <sup>15</sup>N-NMR 분광법에 의해 결정하였다.[0226] 정제된 PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>의 역상 구배에 의한 UHPLC (CSH C18, 1.7  $\mu\text{m}$ , 150 x 2.1 mm)는 옥타 설포메틸화된 폴리믹신으로의 단일 피크를 나타내었다. PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>의 순도는 컬럼 용리제가 210 nm에서 모니터링된 경우 94%였다. 또한, ESI-TOF MS(네가티브 모드)를 사용하여 옥타 및 헥사 설포네이트화된 콜리스틴 혼합물의 직접 주입을 통해 분석을 실시하였다: C<sub>61</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>8</sub>O<sub>37</sub>S<sub>8</sub> [M]<sup>-</sup>에 대한 이론치 m/z = 2096.4, PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> [M+8Na]<sup>-2</sup> m/z에 대한 실측치 1025.2, 및 [M+7Na]<sup>-3</sup> m/z 675.8.

[0227] 표 4. 옥타 설포메틸화된 폴리믹신 E1에 대한 MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) 결과

세균 균주	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. 아에루기노사</i> ATCC27853	<i>A. 바우만니</i>	<i>K. 뉴모니아</i>
PE1-(SM) <sub>8</sub> <sup>1,5,8,9</sup>	8	8	4	16

## [0228] 실시예 8

[0230] 트리(*N*<sup>y</sup>-비스-설포메틸) DAB<sup>1,5,9</sup> 폴리믹신 E1 (약어: PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> (도 3))의 제조

[0231] 소듐 바이설파이트 - 포름알데하이드 부가물(9.80 g, 68.5 밀리몰)을 물 (100 mL)에 용해시키고, 37% HCl (1.75 g, 17.7 mmol)를 첨가하였다. 이후, 폴리믹신 E1 (11.7 g, 10.0 mmol)을 교반된 용액에 서서히 첨가하였다. 이후, 형성되는 분산물을 10시간 동안 40°C로 가열하고, 이어서 백색 고형물로 동결건조시켰다.

[0232] 400 mg의 설포메틸화된 폴리믹신 E1을 20 mL 50% 메탄올 중에 용해시키고, 20 mL/min의 유량으로 워터스 프레프 LC 유니버설 베이스(Waters Prep LC Universal Base)에 장착된 워터스 노바 팍(Waters Nova Pak), C18, 6  $\mu\text{m}$ , 60 Å, 40 x 310 mm에 로딩하였다. 물질 용액을 적용하기 전에 컬럼을 A-용리제로 평형화시켰다.[0233] A-용리제는 CH<sub>3</sub>CN: 10 mM 트리에틸아민 40 mM NaCl 완충제, 1:9임.[0234] B-용리제는 CH<sub>3</sub>CN: 10 mM 트리에틸아민 40 mM NaCl 완충제, 4:6임.

[0235] 용리 시스템은 등용매의 0-5 min 100% A-용리제이고, 20 min 동안 선형 구배로서 100% A 내지 50%임.

[0236] 처음 5개의 주요 피크를 수거하고, 분석하였다. 22분에서 마지막 주요 피크는 PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> (도 3)였다. 추가로 후처리하기 전에 분획을 -80°C에서 냉동고에서 저장하였다. 빠르게 용융된, 여전히 냉각되어 있는 PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>를 지닌 50-100 mL 분획을 100 % CH<sub>3</sub>CN로 희석하여 CH<sub>3</sub>CN 중 약 4% 물을 얻었다. 75-85% 순도로 15-30 mg PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>를 함유하는 희석된 분획을 진공 증발 건조시키고, 100% 메탄올 중에 재용해시키고, -20°C 냉동고에서 수거하여 150-300 mg 물질을 얻었다.

[0237] 상기 물질을 상기에서와 동일한 방식으로 분취용 HPLC로 재처리하고, 끝으로 실시예 1에서와 같이 탈염시키고, 폴리싱하였다. 생성물을 NMR 분광법에 의해 결정하였다.

[0238] 역상 구배에 의한 UHPLC (CSH C18, 1.7  $\mu\text{m}$ , 150 x 2.1 mm)는 정제된 PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>로의 단일 피크를 나타내었다. 정제된 PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>의 순도는 컬럼 용리제가 210 nm에서 모니터링된 경우 87%였다. 또한, ESI-TOF MS(네가티브 모드)를 사용하여 옥타 및 헥사 설포네이트화된 폴리믹신 E1의 직접 주입을 통해 분석을 실시하였다: C<sub>59</sub>H<sub>106</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>6</sub>O<sub>31</sub>S<sub>6</sub> [M]에 대한 이론치 m/z = 1864.5, PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> [M+8Na]<sup>-2</sup> m/z에 대한 실측치 909.3, 및 [M+7Na]<sup>-3</sup> m/z 598.5.[0239] 표 5. 헥사 설포메틸화된 폴리믹신 E1에 대한 MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) 결과

세균 균주	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. 아에루기노사</i> ATCC27853
PE1-(SM) <sub>6</sub> <sup>1,5,9</sup>	8	8

## [0240] 실시예 9

[0241] 시험관 내 독성 연구

[0242] HK-2 세포(신장 네프론(kidney nephron)의 근위 세관으로부터의 인간 파필로마바이러스 16형 형질전환된 세포주)를 96 웰 플레이트(well plate)에서 시딩(seeding)하고, 24시간 동안 0.05 mg/mL 소 뇌하수체 추출물(Bovine Pituitary Extract) 및 5 ng/mL EGF을 지닌 케라티노사이트(Keratinocyte) 무혈청 배지에서 배양시켰

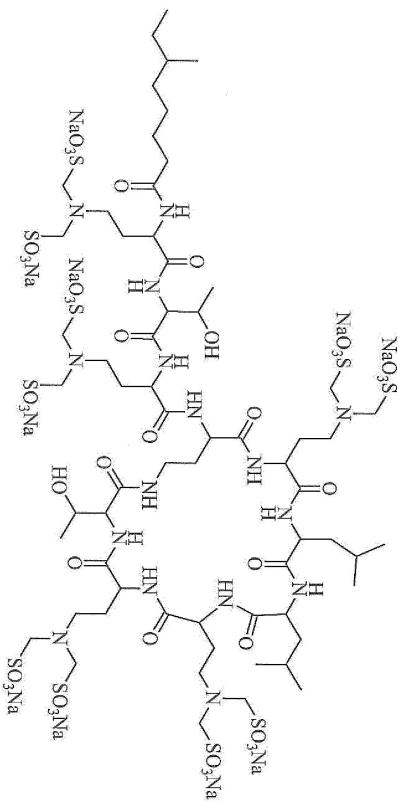
다. 세포를 손상된 세포막 만 침투하는 사이토스 그린(Sytox Green)의 존재 하에서 명시된 화합물로 처리하였다.

[0244] 세포용해된 세포의 퍼센트를 나타내는 시간-경과 이미지화를 2시간마다 하나의 이미지로 수행하였다. 결과는 11-15에 시각화되어 있으며, 시험관 내 HK-2 세포의 용해력에 대한 콜리스틴과 데카 셀포메틸화된 폴리미신 간의 차이를 나타낸다. 이 차이는 100  $\mu\text{g/mL}$  초과의 어떠한 농도에 대해 뚜렷하고, 치료의 처음 24시간 동안이 가장 두드러진다.

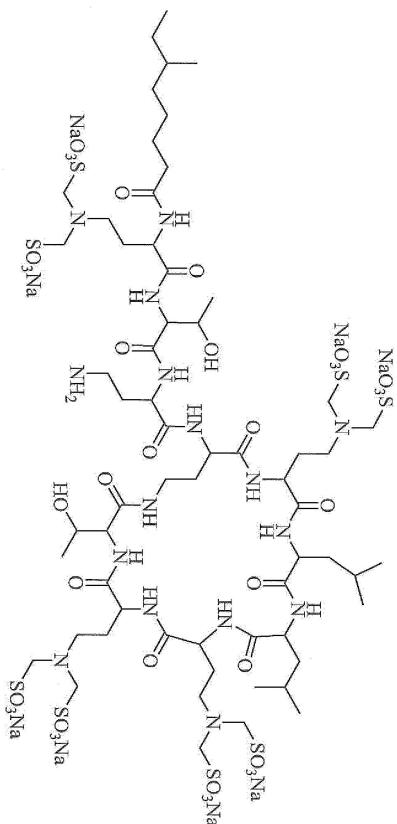
[0245] 본원에 완전한 기재가 포함되는 것으로 여겨지기는 하지만, 특정 특허 및 비특허 참조문헌이 특정 필수 요지를 포함할 수 있다. 이들 특허 및 비특허 참조문헌이 필수 요지를 기술하고 있는 정도까지, 이들 참조문헌은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다. 포함된 요지의 의미는 본원에서 기술되는 요지의 의미보다 부차적인 것으로 이해된다.

## 도면

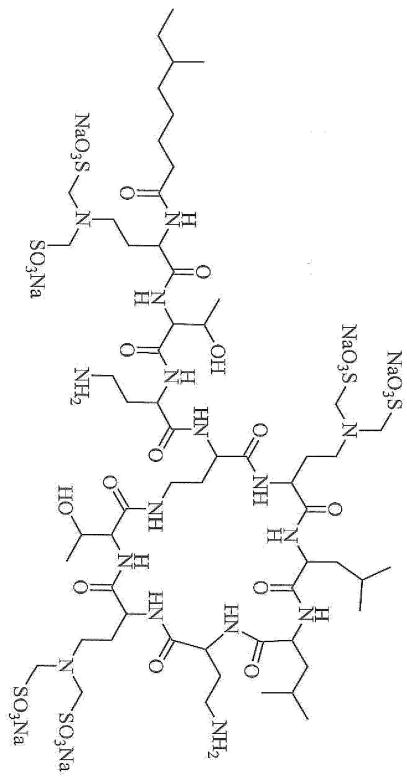
### 도면1



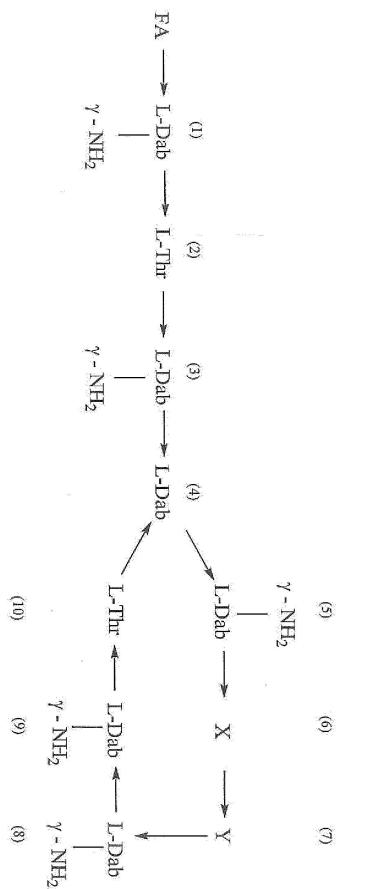
도면2



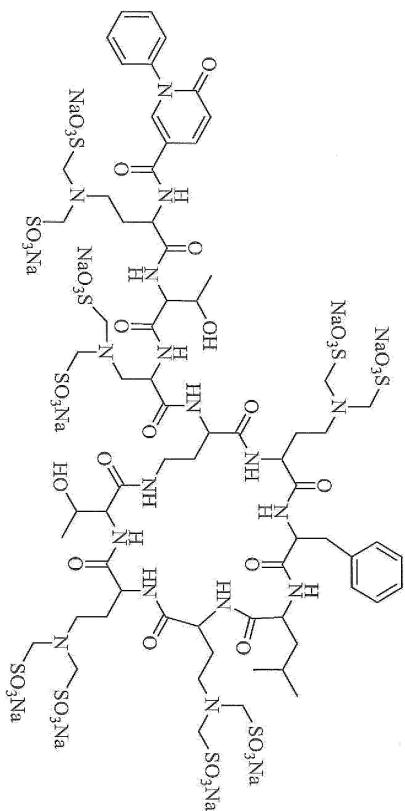
도면3



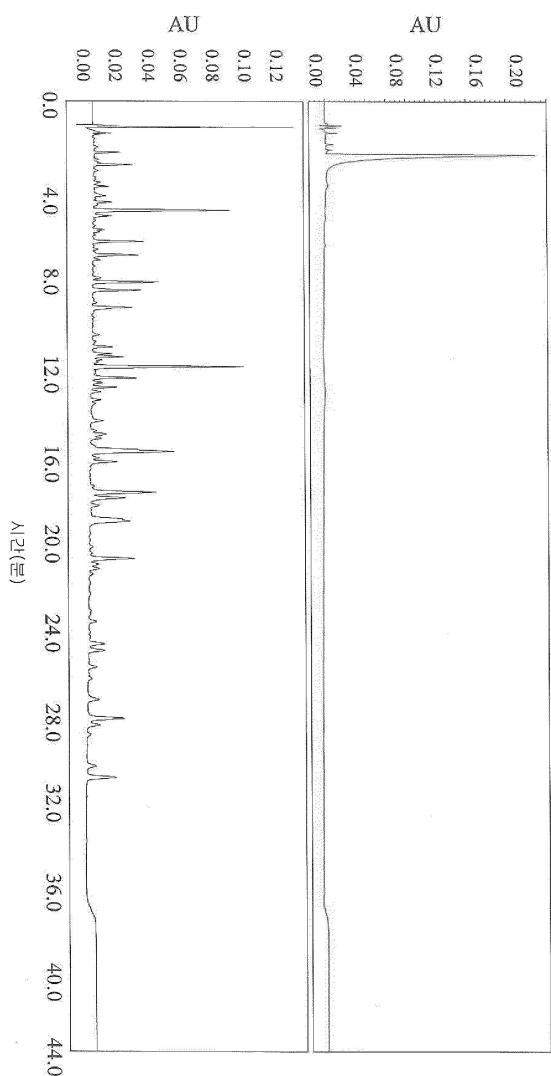
## 도면4



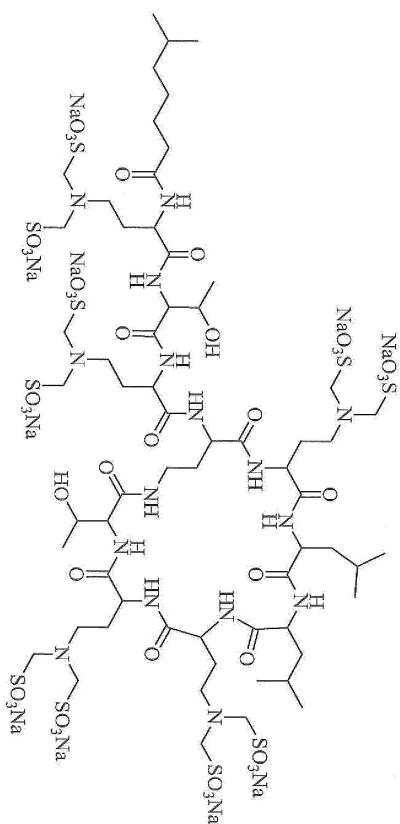
도면5



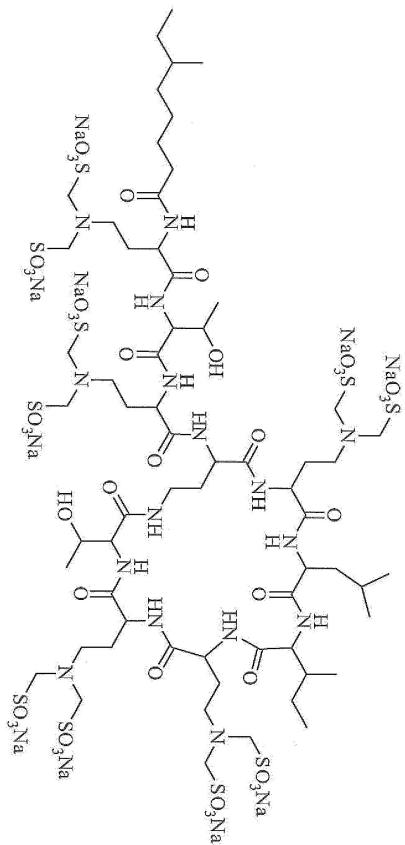
도면6



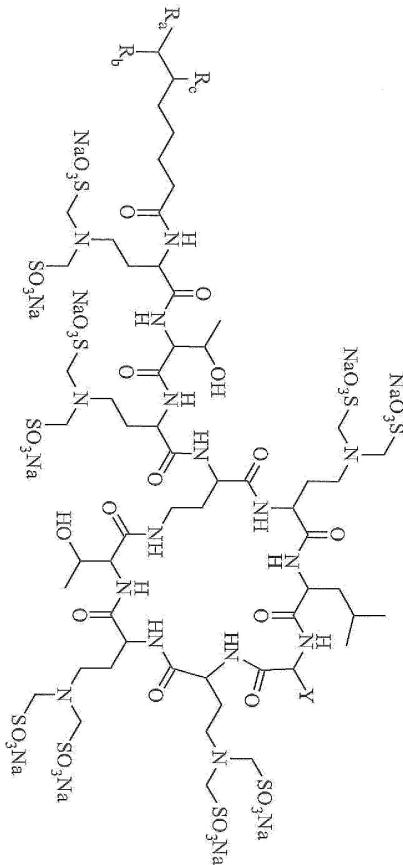
도면7



도면8

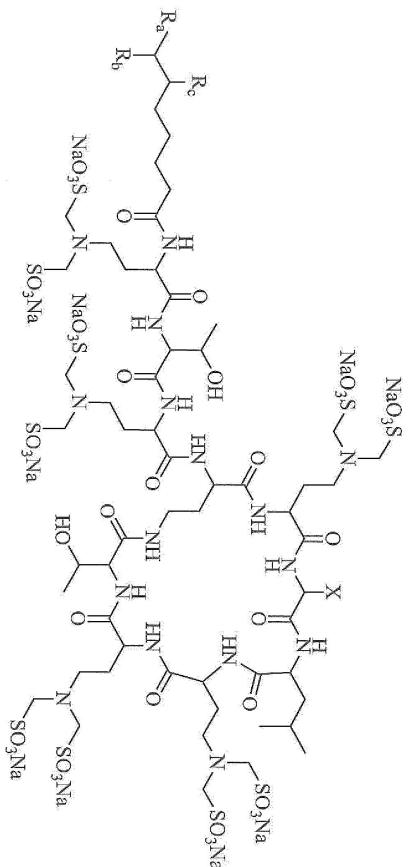


## 도면9



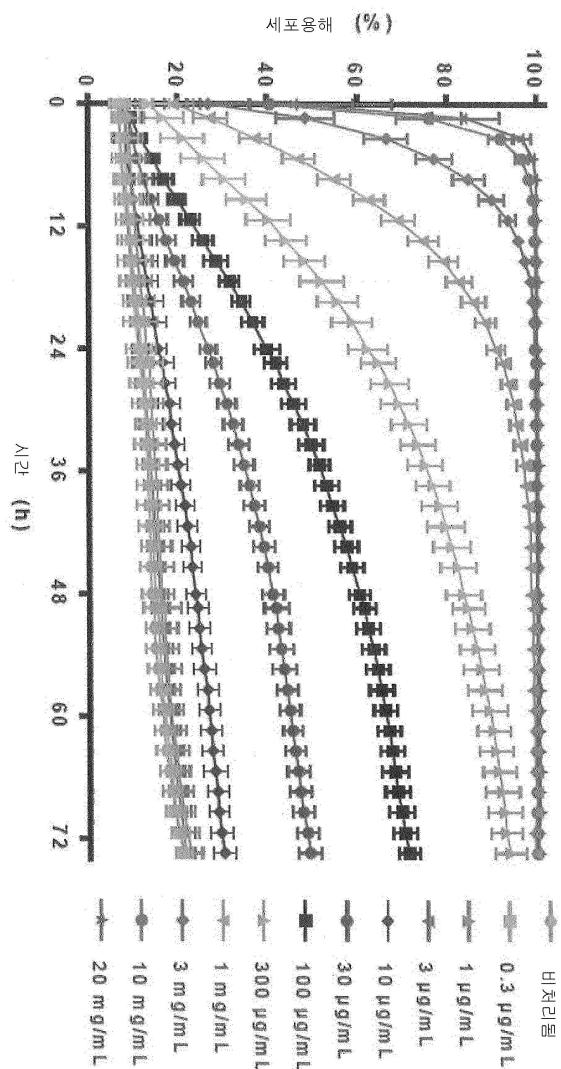
폴리머신	Y	$\text{R}_a$	$\text{R}_b$	$\text{R}_c$	MW
E1	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_3$	H	$\text{CH}_3$	2328.3
E2	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H	H	$\text{CH}_3$	2314.3
E3	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_3$	H	H	2314.3
E1-i	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$	H	$\text{CH}_3$	2328.3
E1-7MOA	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$	H	2328.3

## 도면10

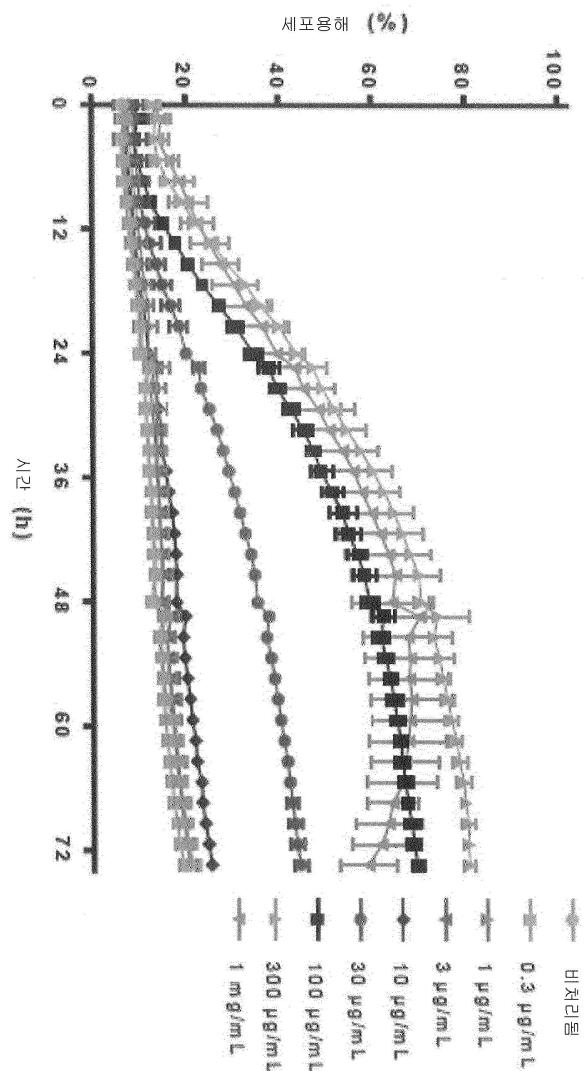


폴리액신	X	R <sub>a</sub>	R <sub>b</sub>	R <sub>c</sub>	MW
B1	-CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	2362.3
B2	-CH <sub>2</sub> Ph	H	H	CH <sub>3</sub>	2348.3

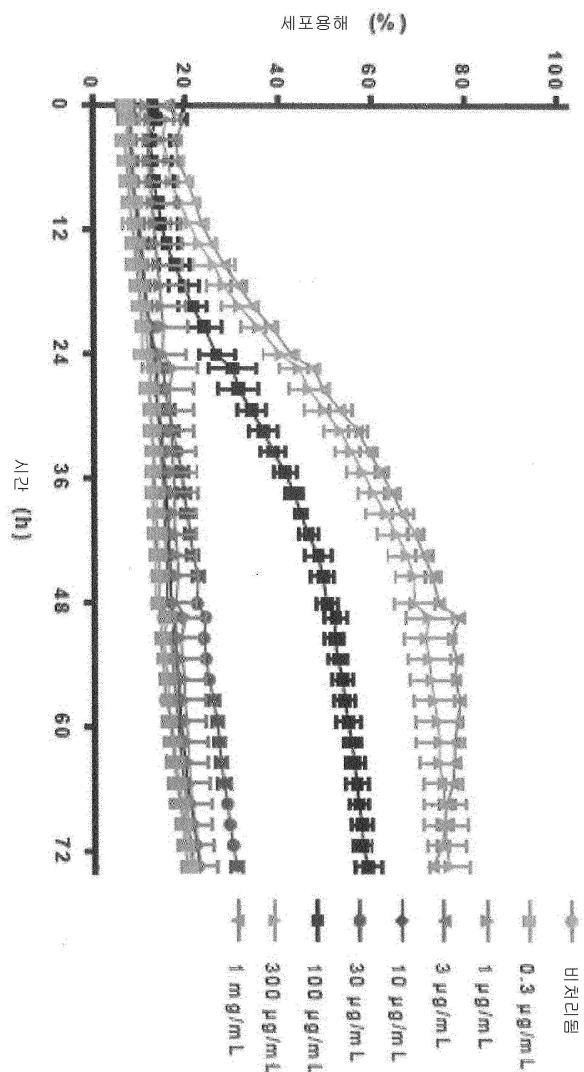
도면11



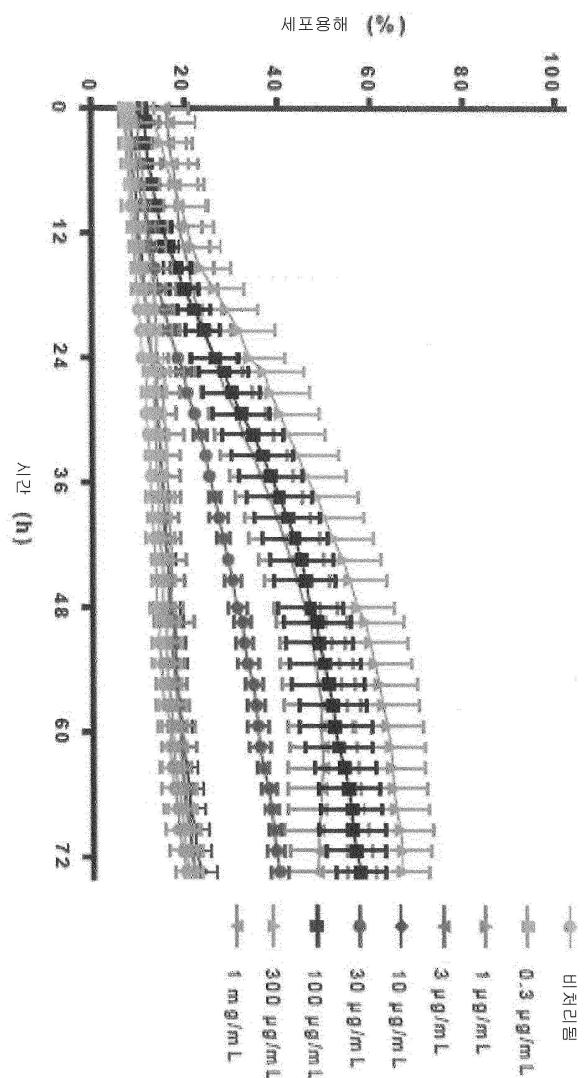
도면12



도면13



도면14



## 도면15

