(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl. [7]
C07H 19/067

(11) 공개번호 특2002-0092899
(43) 공개일자 2002년12월12일

(21) 출원번호 10-2002-7001686
(22) 출원일자 2002년02월07일
번역문 제출일자 2002년02월07일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2000/05415
(86) 국제출원출원일자 2000년08월11일
(87) 국제공개번호 WO 2001/12643
(87) 국제공개일자 2001년02월22일

(81) 지정국 국내특허 : 알바니아, 오스트레일리아, 보스니아-헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 캐나다, 쿠바, 체코, 에스토니아, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 대한민국, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 리투아니아, 라트비아, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 터어키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 미국, 베트남, 루마니아, 러시아, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 도미니카연방, 모로코, 남아프리카, 그레나다, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 유고슬라비아, 폴란드, 알제리, 벨리즈, 중국, 안티구아바부다,
AP ARIPO특허: 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 모잠비크, 탄자니아,
EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄,
EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 핀랜드, 사이프러스,
OA OAPI특허: 부르키나파소, 베넹, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기네, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기네비쏘,

(30) 우선권주장 JP-P-1999-00228866 1999년08월12일 일본(JP)

(71) 출원인 자이단 호진 비세이부츠 카가쿠 켄큐카이
일본국 도쿄도 시나가와쿠 카미오사키 3-14-23
메이지 세이카 가부시키가이샤
일본국 도쿄토 주오쿠 교바시 2초메 4-16

(72) 발명자 다케우치도미오
일본국도쿄도시나가와쿠히가시고탄다5쵸메1반11고뉴후지만숀701
이가라시마사유키
일본국가나가와켄아쓰기시나카마치4쵸메10반4고아쓰기그린코포802고
나가나와히로시
일본국도쿄도오타구덴엔쵸후혼쵸3반17고
하마다마사
일본국도쿄도신쥬쿠구혼시오쵸17반2

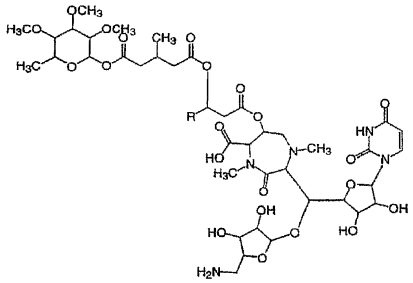
(74) 대리인 박종길
김재만

심사청구 : 없음

# (54) 항생 물질 카프라자마이신류 및 그 제조법

## 요약

다음의 일반식 (I)



[식 중에서, R은 도데실기, 11-메틸-도데실기 등임]으로 표기되는 항생 물질 카프라자마이신 A F가 스트렙토미세스 sp. MK730-62F2(수탁 번호 FERM BP-7218)의 배양에 의해 얻어졌다. 이들 카프라자마이신류는 각종 항산성균, 세균 및 이들의 약제 내성 균주에 대해 우수한 항균 활성을 갖는다.

색인어
항생 물질, 카프라자마이신, 항균성 조성물, 핵 자기 공명 스펙트럼, 박층 크로마토그래피, 자외선 흡수 스펙트럼, 적외선 흡수 스펙트럼, 비선광도.

## 명세서

### 기술분야

본 발명은 우수한 항균 활성을 가지는 신규의 항생 물질인 카프라자마이신(caprazamycin) A, B, C, E 및 F 또는 제약학적으로 허용되는 그것의 염에 관한 것이다. 또 본 발명은 이들 카프라자마이신류의 제조법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 이들 카프라자마이신류 또는 그들의 염을 유효 성분으로 하는 의약 조성물, 특히 항균성 조성물에 관한 것이다. 또, 본 발명은 이들 카프라자마이신류를 생산할 수 있는 특성을 가지는 신규의 미생물로서 스트렙토미세스 에스피(Streptomyces sp.) MK730-62F2에 관한 것이다.

### 배경기술

세균 감염증의 화학 요법, 특히 항산성균(抗酸性菌) 감염증의 화학 요법에 있어서 리팜피신, 카나마이신, 스트렙토마이신, 바이오마이신, 카프레오마이신, 사이클로세린 등의 항생 물질이 항균제로서 사용되고 있다.

세균 감염증의 화학 요법에 있어서, 감염증의 원인이 되는 세균이 약제 내성이 되는 것은 중대한 문제이다. 특히 항산성

균의 감염증의 화학 요법에 있어서 리팜피신, 카나마이신, 스트렙토마이신, 바이오마이신, 카프레오마이신, 사이클로세린 등에 내성을 가지는 항산성균이 출현하여 사회적 문제가 되고 있다. 약제 내성 항산성균의 감염증에 유효한 새로운 화학 요법제가 강하게 요망되고 있다. 또, 화학 요법이 확립되지 않은 비정형(非定型) 항산성균의 감염증에 유효한 새로운 화학 요법제도 강하게 요망되고 있다. 이로 인해, 종래 사용되고 있는 기지의 항생 물질과는 달리, 신규의 화학 구조를 가지면서 우수한 항균 작용 등 양호한 성질을 표기되는 신규 화합물의 발견 또는 창제가 강하게 요망되고 있다. 본 발명은 상기의 요망에 부응할 수 있는 우수한 항균 활성을 가지는 신규의 항생 물질을 제공하는 것을 목적으로 한다.

## 발명의 상세한 설명

본 발명자들은 유용한 항생 물질을 발견할 목적으로 연구를 행했다. 그 결과, 본 발명자들에 의해서 분리된 스트렙토미세스속에 속하는 새로운 균주가 새로운 구조 골격을 가지는 복수의 항생 물질을 생산하는 것을 발견했다. 그들 한 군의 항생 물질을 총괄하여 카프라자마이신류라 칭하기로 했다. 그리고, 카프라자마이신류가 각종 항산성균, 그램 양성 세균 및 그들의 약제 내성균에 강한 항균 활성을 표기되는 것을 발견했다. 또한, 연구를 계속하여 카프라자마이신류를 분석함으로써, 이번에 얻어진 카프라자마이신류에는 5종의 화합물이 포괄되어 있는 것을 발견하고, 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F로 각각 명명하여 그들의 화학 구조를 결정했다. 그리고 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F가 신규 화합물인 것을 확인하고, 이들을 총괄적으로 다음 일반식 (I)에 의해 나타낼 수 있는 것을 알았다. 또, 카프라자마이신류는 일반식 (I)에 표기되는 바와 같이 하나의 공통된 기본 골격을 갖는데, 측쇄인 R은 서로 상이한 탄소수 11 13인 직쇄의 알킬기 또는 분기된 알킬기이다.

따라서, 제1 발명에서는 다음 일반식 (I)

(I)

[식 중에서, R은 카프라자마이신 A에서는 트리데실기이며, 카프라자마이신 B에서는 11-메틸-도데실기이며, 카프라자마이신 C에서는 도데실기이며, 카프라자마이신 E에서는 운데실기이며, 카프라자마이신 F에서는 9-메틸-데실기임]으로 표기되는 화합물인, 항생 물질 카프라자마이신 A, 카프라자마이신 B, 카프라자마이신 C, 카프라자마이신 E 및 카프라자마이신 F, 또는 제약학적으로 허용할 수 있는 그들의 염이 제공된다.

제1 발명에 의한 신규의 항생 물질 카프라자마이신류에는 하기의 식 (Ia)의 카프라자마이신 A, 식 (Ib)의 카프라자마이신 B, 식 (Ic)의 카프라자마이신 C, 식 (Ie)의 카프라자마이신 E 및 식 (If)의 카프라자마이신 F가 포함된다.

(1) 다음 식 (Ia)

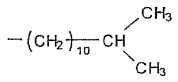
(Ia)

으로 표기되는 카프라자마이신 A[일반식 (I)에서 R이 트리데실기 $-(CH_2)_{12}-CH_3$인 경우의 화합물].

(2) 다음 식 (Ib)

(Ib)

으로 표기되는 카프라자마이신 B[일반식 (I)에서 R이 11-메틸-도데실기



인 경우의 화합물].

(3) 다음 식 (Ic)

(Ic)

으로 표기되는 카프라자마이신 C[일반식 (I)에서 R이 도데실기 $-(CH_2)_{11}-CH_3$ 인 경우의 화합물].

(4) 다음 식 (Ie)

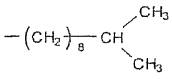
(Ie)

으로 표기되는 카프라자마이신 E[일반식 (I)에서 R이 운데실기 $-(CH_2)_{10}-CH_3$ 인 경우의 화합물].

(5) 다음 식 (If)

(If)

으로 표기되는 카프라자마이신 F[일반식 (I)에서 R이 9-메틸-데실기



인 경우의 화합물].

제1 발명에 의한 식 (Ia)의 카프라자마이신 A의 이화학적 성상은 다음과 같다.

(1) 외관

무색 분말

(2) 분자식

$C_{53}$ $H_{87}$ $N_5$ $O_{22}$

(3) 고분해능 질량 분석(HRFABMS: 양이온 모드)

실험치: 1146.5933$(M+H)^+$

계산치: 1146.5921

(4) 비선광도

$[\alpha]_D^{23}$ -1.4° (c 0.83, DMSO)

(5) 자외선 흡수 스펙트럼(메탄올 내)

λmax nm(ε): 261(7,400)

첨부 도면의 도 1에 표기된다.

(6) 적외선 흡수 스펙트럼

첨부 도면의 도 2에 표기된다.

(7) 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼

500MHz에서 중(重)디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한 프로톤 NMR 스펙트럼 첨부 도면의 도 3에 표기된다.

(8)$^{13}$ C 핵 자기 공명 스펙트럼

125MHz에서 중디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한$^{13}$ C NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 4에 표기된다.

(9) 용해성

메탄올, 디메틸설폭사이드(DMSO), 물에 용해 가능하며, 아세톤, 초산에틸에 용해되지 않는다.

(10) TLC

실리카겔 $60F_{254}$ (메르크사 제조)의 박층 크로마토그래피 상에서 부탄올:메탄올:물(4:l:2)의 용매로 전개했을 때의 Rf값은 0.44이다.

제1 발명의 카프라자마이신 A는 양성(兩性) 물질이며, 제약학적으로 허용할 수 있는 그것의 염으로는 제4급 암모늄염 등의 유기 염기와의 염, 또는 각종 금속과의 염, 예를 들면 나트륨염과 같은 알칼리 금속과의 염, 또는 초산 등의 유기산과의 부가염, 또는 염산과 같은 무기산과의 부가염을 들 수 있다.

제1 발명에 의한 식 (Ib)의 카프라자마이신 B의 이화학적 성상은 다음과 같다.

(1) 외관

무색 분말

(2) 분자식

$C_{53}H_{87}N_5O_{22}$

(3) 고분해능 질량 분석(HRFABMS: 음이온 모드)

실험치: 1144.5750(M-H)$^-$

계산치: 1l44.5764

(4) 비선광도

$[\alpha]_D^{23}$ -2.6° (c 0.91, DMSO)

(5) 자외선 흡수 스펙트럼(메탄올 내)

λmax nm(ε): 261(8,000)

첨부 도면의 도 5에 표기된다.

(6) 적외선 흡수 스펙트럼

첨부 도면의 도 6에 표기된다.

(7) 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼

500MHz에서 중디메틸설폭사이드:중수(=10:1)의 혼합 용매 내 실온에서 측정한 프로톤 NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 7에 표기된다.

(8) $^{13}$C 핵 자기 공명 스펙트럼

125MHz에서 중디메틸설폭사이드:중수(=10:1)의 혼합 용매 내 실온에서 측정한 $^{13}$C NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 8에 표기된다.

(9) 용해성

메탄올, DMSO, 물에 용해 가능하며, 아세톤, 초산에틸에 용해되지 않는다.

(10) TLC

실리카겔 60$F_{254}$ (메르크사 제조)의 박층 크로마토그래피 상에서 부탄올:메탄올:물(4:1:2)의 용매로 전개했을 때의 Rf 값은 0.44이다.

본 발명의 카프라자마이신 B는 양성 물질이며, 제약학적으로 허용할 수 있는 그것의 염으로는 제4급 암모늄염 등의 유기 염기와의 염, 또는 각종 금속과의 염, 예를 들면 나트륨염과 같은 알칼리 금속과의 염, 또는 초산 등의 유기산과의 부가염, 또는 염산과 같은 각종 무기산과의 부가염을 들 수 있다.

본 발명에 의한 식 (Ic)의 카프라자마이신 C의 이화학적 성상은 다음과 같다.

(1) 외관

무색 분말

(2) 분자식

$C_{52}H_{85}N_5O_{22}$

(3) 고분해능 질량 분석(HRFABMS: 양이온 모드)

실험치 1l32.5747$(M+H)^+$

계산치 l132.5764

(4) 비선광도

$[\alpha]_D^{25}$ -1.1° (c 1.33, DMSO)

(5) 자외선 흡수 스펙트럼(메탄올 내)

λmax nm(ε): 261(8,300)

첨부 도면의 도 9에 표기된다.

(6) 적외선 흡수 스펙트럼

첨부 도면의 도 10에 표기된다.

(7) 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼

500MHz에서 중디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한 프로톤 NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 11에 표기된다.

(8) $^{13}C$ 핵 자기 공명 스펙트럼

125MHz에서 중디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한 $^{13}C$ NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 12에 표기된다.

(9) 용해성

메탄올, DMSO, 물에 용해 가능하며, 아세톤, 초산에틸에 용해되지 않는다.

(10) TLC

실리카겔 60$F_{254}$ (메르크사 제조)의 박층 크로마토그래피 상에서 부탄올:메탄올:물(4:1:2)의 용매로 전개했을 때의 Rf 값은 0.44이다.

본 발명의 카프라자마이신 C는 양성 물질이며, 제약학적으로 허용할 수 있는 그것의 염으로는 제4급 암모늄염 등의 유기 염기와의 염, 또는 각종 금속과의 염, 예를 들면 나트륨염과 같은 알칼리 금속과의 염, 또는 초산 등의 유기산과의 부가염, 또는 염산과 같은 각종 무기산과의 부가염을 들 수 있다.

본 발명에 의한 식 (Ie)의 카프라자마이신 E의 이화학적 성상은 다음과 같다.

(l) 외관

무색 분말

(2) 분자식

$C_{51}H_{83}N_5O_{22}$

(3) 고분해능 질량 분석(HRFABMS: 양이온 모드)

실험치 ll18.5613$(M+H)^+$

계산치 1118.5608

(4) 비선광도

$[\alpha]_D^{25}$ -5.1° (c 0.83, DMSO)

(5) 자외선 흡수 스펙트럼(메탄올 내)

λmax nm(ε): 262(7,700)

첨부 도면의 도 13에 표기된다.

(6) 적외선 흡수 스펙트럼

첨부 도면의 도 14에 표기된다.

(7) 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼

500MHz에서 중디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한 프로톤 NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 15에 표기된다.

(8) $^{13}C$ 핵 자기 공명 스펙트럼

125MHz에서 중디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한 $^{13}C$ NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 16에 표기된다.

(9) 용해성

메탄올, DMSO, 물에 용해 가능하며, 아세톤, 초산에틸에 용해되지 않는다.

(10) TLC

실리카겔 $60F_{254}$ (메르크사 제조)의 박층 크로마토그래피 상에서 부탄올:메탄올:물(4:1:2)의 용매로 전개했을 때의 Rf 값은 0.44이다.

본 발명의 카프라자마이신 E는 양성 물질이며, 제약학적으로 허용할 수 있는 그것의 염으로는 제4급 암모늄염 등의 유기 염기와의 염, 또는 각종 금속과의 염, 예를 들면 나트륨염과 같은 알칼리 금속과의 염, 또는 초산 등의 유기산과의 부가염, 또는 염산과 같은 각종 무기산과의 부가염을 들 수 있다.

본 발명에 의한 식 (If)의 카프라자마이신 F의 이화학적 성상은 다음과 같다.

(1) 외관

무색 분말

(2) 분자식

$C_{51}H_{83}N_5O_{22}$

(3) 고분해능 질량 분석(HRFABMS: 양이온 모드)

실험치 1118.5615$(M+H)^+$

계산치 1118.5608

(4) 비선광도

$[\alpha]_D^{25}$ -4.7° (c 0.90, DMSO)

(5) 자외선 흡수 스펙트럼(메탄올 내)

$\lambda$max nm($\varepsilon$): 262(7,600)

첨부 도면의 도 17에 표기된다.

(6) 적외선 흡수 스펙트럼

첨부 도면의 도 18에 표기된다.

(7) 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼

500MHz에서 중디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한 프로톤 NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 19에 표기된다.

(8)$^{13}$C 핵 자기 공명 스펙트럼

125MHz에서 중디메틸설폭사이드 내 실온에서 측정한$^{13}$C NMR 스펙트럼은 첨부 도면의 도 20에 표기된다.

(9) 용해성

메탄올, DMSO, 물에 용해 가능하며, 아세톤, 초산에틸에 용해되지 않는다.

(10) TLC

실리카겔 $60F_{254}$ (메르크사 제조)의 박층 크로마토그래피 상에서 부탄올:메탄올:물(4:1:2)의 용매로 전개했을 때의 Rf 값은 0.44이다.

본 발명의 카프라자마이신 F는 양성 물질이며, 제약학적으로 허용할 수 있는 그것의 염으로는 제4급 암모늄염 등의 유기 염기와의 염, 또는 각종 금속과의 염, 예를 들면 나트륨염과 같은 알칼리 금속과의 염, 또는 초산 등의 유기산과의 부가염, 또는 염산과 같은 각종 무기산과의 부가염을 들 수 있다.

또, 본 명세서에서는 카프라자마이신 A, 카프라자마이신 B, 카프라자마이신 C, 카프라자마이신 E, 카프라자마이신 F 중 하나 또는 2개, 또는 그 이상의 혼합물, 또는 모든 혼합물을 단순히 카프라자마이신류라고 하는 경우가 있다.

본 발명에 의한 상기의 일반식 (I)로 나타낼 수 있는 카프라자마이신류는 하기의 생물학적 성질을 가진다.

즉, 카프라자마이신 A, 카프라자마이신 B, 카프라자마이신 C, 카프라자마이신 E 및 카프라자마이신 F는 약제 내성균을 포함하는 항산성균 및 약제 내성균(메티실린 내성균 등)을 포함하는 그램 양성의 세균에 대하여 항균 활성을 표기된다. 이들 세균에 대한 카프라자마이신류의 항균 활성을 다음과 같이 시험했다.

[시험예 1]

각종 미생물에 대한 카프라자마이신 A의 항균 스펙트럼은 일본 화학 요법 학회 표준법에 기초하여 1% 글리세린을 가한 보통 한천 배지 상에서 배수(倍數) 희석법에 의해 측정했다. 그 결과를 표 1에 표기된다.

표 1

[표 1]

| 시험에 제공된 균 | 카프라자마이신 A최소 발육 저지 농도(㎍/㎖) |
|---|---|
| 마이코박테리움 스메그마티스(Mycobacterium smegmatis) ATCC607 | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 PM-R(파로모마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 VM-R(바이오마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 CPM-R(카프레오마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 ST-R(스트렙토트리신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 KM-R(카나마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 SM-R(스트렙토마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 RFP-R(리팜피신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 플레이(Mycobacterium phlei) | 1.56 |
| 마이코박테리움 바케(Mycobacterium bake) ATCC15483 | 0.2 |
| 마이코박테리움 포르투이툼(Mycobacterium fortuitum) | 6.25 |

[시험예 2]

각종 미생물에 대한 카프라자마이신 B의 항균 스펙트럼은 일본 화학 요법 학회 표준법에 기초하여 1% 글리세린을 가한 보통 한천 배지 상에서 배수 희석법에 의해 측정했다. 그 결과를 표 2에 표기된다.

표 2

[표 2]

| 시험에 제공된 균 | 카프라자마이신 B최소 발육 저지 농도(㎍/㎖) |
|---|---|
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 | 3.13 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 PM-R(파로모마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 VM-R(바이오마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 CPM-R(카프레오마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 ST-R(스트렙토티리신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 KM-R(카나마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 SM-R(스트렙토마이신 내성) | 3.13 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 RFP-R(리팜피신 내성) | 3.13 |
| 마이코박테리움 플레이 | 3.13 |
| 마이코박테리움 바케 ATCC15483 | 0.39 |
| 마이코박테리움 포르투이툼 | 50 |

[시험예 3]

표 2에 표기된 것 이외의 각종 미생물에 대한 카프라자마이신 B의 항균 스펙트럼을 일본 화학 요법 학회 표준법에 기초하여 뮐러·힌튼 한천 배지 상에서 배수 희석법에 의해 측정했다. 그 결과를 표 3에 표기된다.

표 3

[표 3]

| 시험에 제공된 균 | 카프라자마이신 B최소 발육 저지 농도(㎍/㎖) |
|---|---|
| 스타필로콕커스 아우레우스(Staphylococcus aureus) FDA209P | 1.56 |
| 스타필로콕커스 아우레우스 스미스 | 3.13 |
| 스타필로콕커스 아우레우스 MS9610(다제 내성) | 3.13 |
| 스타필로콕커스 아우레우스 No.5(메티실린 내성) | 3.13 |
| 스타필로콕커스 아우레우스 No.17(메티실린 내성) | 6.25 |
| 스타필로콕커스 아우레우스 MS16526(메티실린 내성) | 3.13 |
| 스타필로콕커스 아우레우스 TY-04282(메티실린 내성) | 6.25 |
| 미크로콕커스 루테우스(Micrococcus luteus) FDA16 | 3.13 |
| 미크로콕커스 루테우스 PCI1001 | 3.13 |
| 바실루스 안트라시스(Bacillus anthracis) | 0.78 |
| 바실루스 수브틸리스(Bacillus subtilis) NRRL B-558 | 12.5 |
| 바실루스 수브틸리스 PCI219 | 6.25 |
| 바실루스 세레우스(Bacillus cereus) ATCC10702 | 3.13 |
| 코리네박테리움 보비스(Corynebacterium bovis) 1810 | 3.13 |
| 에스케리시아 콜리(Escherichia coli) NIHJ | 100 |

[시험예 4]

각종 미생물에 대한 카프라자마이신 C의 항균 스펙트럼은 일본 화학 요법 학회 표준법에 기초하여 1% 글리세린을 가한 보통 한천 배지 상에서 배수 희석법에 의해 측정했다. 그 결과를 표 4에 표기된다.

표 4

[표 4]

| 시험에 제공된 균 | 카프라자마이신 C최소 발육 저지 농도(㎍/㎖) |
|---|---|
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 PM-R(파로모마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 VM-R(바이오마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 CPM-R(카프레오마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 ST-R(스트렙토트리신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 KM-R(카나마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 SM-R(스트렙토마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 RFP-R(리팜피신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 플레이 | 1.56 |
| 마이코박테리움 바케 ATCC15483 | 0.39 |
| 마이코박테리움 포르투이툼 | 12.5 |

[시험예 5]

각종 미생물에 대한 카프라자마이신 E의 항균 스펙트럼은 일본 화학 요법 학회 표준법에 기초하여 1% 글리세린을 가한 보통 한천 배지 상에서 배수 희석법에 의해 측정했다. 그 결과를 표 5에 표기된다.

표 5

[표 5]

| 시험에 제공된 균 | 카프라자마이신 E최소 발육 저지 농도(㎍/㎖) |
|---|---|
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 PM-R(파로모마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 VM-R(바이오마이신 내성) | 0.39 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 CPM-R(카프레오마이신 내성) | 0.39 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 ST-R(스트렙토트리신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 KM-R(카나마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 SM-R(스트렙토마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 RFP-R(리팜피신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 플레이 | 1.56 |
| 마이코박테리움 바케 ATCC15483 | 0.39 |
| 마이코박테리움 포르투이툼 | 12.5 |

[시험예 6]

각종 미생물에 대한 카프라자마이신 F의 항균 스펙트럼은 일본 화학 요법 학회 표준법에 기초하여 1% 글리세린을 가한 보통 한천 배지 상에서 배수 희석법에 의해서 측정했다.

그 결과를 표 6에 표기된다.

표 6

[표 6]

| 시험에 제공된 균 | 카프라자마이신 F최소 발육 저지 농도(㎍/㎖) |
|---|---|
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 PM-R(파로모마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 VM-R(바이오마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 CPM-R(카프레오마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 ST-R(스트렙토트리신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 KM-R(카나마이신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 SM-R(스트렙토마이신 내성) | 1.56 |
| 마이코박테리움 스메그마티스 ATCC607 RFP-R(리팜피신 내성) | 0.78 |
| 마이코박테리움 플레이 | 1.56 |
| 마이코박테리움 바케 ATCC15483 | 0.78 |
| 마이코박테리움 포르투이툼 | 12.5 |

[시험예 7]

결핵균(Mycobacteriumtuberculosis ) 및 비정형 항산성균인 마이코박테리움 아비움 키르히베르그(Mycobacterium avium kirchberg) 및 마이코박테리움 인트라셀루라레( Mycobacteriumintracellulare )에 대한 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F의 항균 스펙트럼을 Middlebrook 7H9 액체 배지 내에서 배수 희석법에 의해 측정했다. 또, 상기 세균에 대한 리팜피신(RFP) 및 이소니코틴산 히드라지드(INH)(비교약제로서)의 항균 스펙트럼을 동일한 배수 희석법에 의해 측정했다. 얻어진 결과를 다음 표 7에 표기된다.

표 7

[표 7]

| 시험에 제공된 화합물 | 시험에 제공된 하기의 균에 대한 시험에 제공된 화합물의 최소 발육 저지 농도(㎍/㎖) | | |
|---|---|---|---|
| | 결핵균H37Rv NIHJ-1633 | 마이코박테리움 아비움 키르히베르그 NIHJ-1605 | 마이코박테리움 인트라셀루라레E-1 NIHJ-1618 |
| 카프라마이신 A | 1.56 | < 0.025 | 0.78 |
| 카프라마이신 B | 1.56 | < 0.025 | 0.78 |
| 카프라마이신 C | 0.78 | < 0.025 | 0.78 |
| 카프라마이신 E | 0.78 | < 0.025 | 0.78 |
| 카프라마이신 F | 1.56 | 0.1 | 1.56 |
| RFP(비교 약제) | 0.1 | 0.78 | 0.2 |
| INH(비교 약제) | 0.05 | 25 | 0.78 |

또한, 제2 발명에 의하면, 스트렙토미세스속에 속하고, 상기의 일반식 (I)로 표시되는 카프라자마이신 A, 카프라자마이신 B, 카프라자마이신 C, 카프라자마이신 E 및 카프라자마이신 F 중 적어도 하나를 생산하는 생산균을 배양하여, 그 배양물로부터 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F 중 적어도 하나를 수득하는 것을 특징으로 하는, 일반식 (I)로 표시되는 항생 물질 카프라자마이신 A, B, C, E 및(또는) F의 제조 방법이 제공된다.

제2 발명의 방법에서 사용되는 항생 물질 카프라자마이신류의 생산균은 전술한 이화학적 성질 및 생물학적 성질을 가지는 항생 물질을 생산하는 능력을 가지는 것이면 그 종류를 막론하고 사용할 수 있어 광범위한 미생물로부터 선택할 수 있다. 이러한 미생물 중, 항생 물질 카프라자마이신류의 생산균의 바람직한 구체적인 일례로는 본 발명자들에 의해 평성9(1997)년 3월, 미생물 화학 연구소에서 하와이, 오아후섬의 토양으로부터 분리된 방선균으로, MK730-62F2의 균주 번호가 부여된 균주가 있다.

이하에 MK73O-62F2 균주의 여러 가지 균학적 성질에 대해 기재한다.

1. 형태

MK730-62F2 균주는 분기된 기생 균사로부터 비교적 긴 기균사(氣菌絲)를 신장하고, 그 선단에 5-10회전의 나선을 형성한다. 성숙한 포자쇄는 10-50개의 타원형 포자를 연쇄하고, 포자의 크기는 약 0.5 0.6×0.8 1.0μ이다. 또, 포자의 표면은 평활하다. 윤생지(輪生枝), 균사 가닥, 포자낭 및 운동성 포자는 관찰되지 않는다.

2. 각종 배지에서의 생육 상태

색의 기재에 대해 [] 내에 표기되는 색의 표준은 Container Corporation of America의 " color harmony manual" 을 이용했다.

(1) 수크로오스·질산염 한천 배지(27℃에서 배양)

연한 황색[2 ea, Lt Wheat]의 발육 상에, 백색의 기균사를 얇게 착생하고, 용해성 색소는 관찰되지 않는다.

(2) 글리세린·아스파라긴 한천 배지(ISP-배지 5, 27℃에서 배양)

연한 황색[2 ea, Lt Wheat] 연한 황갈색[2 ng, Dull Gold]의 발육 상에, 회백색[3 dc, Natural] 밝은 회색[d]의 기균사를 착생한다. 용해성 색소는 관찰되지 않는다.

(3) 녹말·무기염 한천 배지(ISP-배지 4, 27℃에서 배양)

연한 황색[2 ea, Lt Wheat] 연한 황갈색[2 lg, Mustard Tan]의 발육 상에, 백색 밝은 회색[d]의 기균사를 착생한다. 용해성 색소는 관찰되지 않는다.

(4) 티로신 한천 배지(ISP-배지 7, 27℃에서 배양)

연한 황갈색[2 1e, Mustard 2 ng, Dull Gold]의 발육 상에, 회백색[b, Oyster White 3 dc, Natural]의 기균사를 착생하고, 어두운 갈색의 용해성 색소를 생성한다.

(5) 이스트·맥아 한천 배지(ISP-배지 2, 27℃에서 배양)

연한 황갈색[2 ie, Lt Mustard Tan 3 ic, Lt Amber]의 발육 상에, 회백색[b, Oyster White] 밝은 회색[d]의 기균사를 착생한다. 용해성 색소는 관찰되지 않는다.

(6) 오트밀 한천 배지(ISP-배지 3, 27℃에서 배양)

연한 황색[2 ea, Lt Wheat]의 발육 상에, 회백색[3 dc, Natural] 밝은 회색[d]의 기균사를 착생하고, 용해성 색소는 관찰되지 않는다.

3. 생리학적 성질

(1) 생육 온도 범위

글루코스·아스파라긴 한천 배지[글루코스 1.0%, 아스파라긴 0.05%, 인산2칼륨 0.05%, 띠(string) 한천 2.5%, pH 7.0]를 이용하여 10℃, 20℃, 24℃, 27℃, 30℃, 37℃, 45℃ 및 50℃의 각 온도에서 시험한 결과, 본 균주는 10℃, 45℃ 및 50℃를 제외하고, 20℃부터 37℃의 범위에서 생육되었다. 생육 최적 온도는 30 37℃ 부근이다.

(2) 녹말 가수분해(녹말·무기염 한천 배지, ISP-배지 4, 27℃에서 배양)

배양 후 3일째부터 녹말의 가수분해가 관찰되고, 그 작용은 중간 정도이다.

(3) 멜라노이드 색소의 생성(트립톤·이스트·브로스, ISP-배지 1;펩톤·이스트·철 한천 배지, ISP-배지 6; 티로신 한천 배지, ISP-배지 7; 모두 27℃에서 배양)

어느 배지나 양성이다.

(4) 탄소원의 이용성[프리드함·고트리브(Pridham-Gottlieb) 한천 배지, ISP-배지 9, 27℃에서 배양)

D-글루코오스, L-아라비노스, D-프룩토오스, 수크로오스, 이노시톨, 람노즈, 라피노즈 및 D-만니톨을 이용하여 발육하고, D-크실로스도 이용될 수 있을 것이다.

(5) 질산염의 환원 반응(0.1% 질산칼륨 함유 펩톤수, ISP-배지 8, 27℃에서 배양)

음성이다.

(6) 젤라틴의 액화(단순 젤라틴, 20℃ 배양; 글루코오스·펩톤·젤라틴, 27℃에서 배양)

단순 젤라틴은 배양 후 40일간의 관찰에서 액화가 인지되지 않았다. 글루코오스·펩톤·젤라틴의 경우, 배양 후 40일쯤에 약한 액화를 나타내었다.

(7) 탈지 우유의 응고·펩톤화(10% 탈지 우유, 37℃에서 배양)

응고되지 않고, 배양 후 7일째부터 펩톤화가 시작되어 14일째에는 완료되었다.

이상의 성상을 요약하면, MK730-62F2 균주는 분지된 기생 균사로부터 나선 형성을 가지는 기균사를 신장한다. 포자의 표면은 평활하다. 각종 배지에서 연한 황색 연한 황갈색의 발육 상에, 회백색 밝은 회색의 기균사를 착생한다. 용해성 색소는 멜라노이드 색소 이외는 관찰되지 않는다. 생육 최적 온도는 30 37℃ 부근이다. 멜라노이드 색소의 생성은 양성, 녹말의 가수분해성은 중간 정도이다. 또, 세포벽에 포함되는 2,6-디아미노피멜린산은 LL-형이며, 균체 내의 중요한 메나퀴논은 MK-9(H8) 및 MK-9(H6)였다.

이들 성상으로부터 MK730-62F2 균주는 스트렙토미세스(Streptomyces )속에 속한다고 생각된다. 그래서, 유사한 기지 균종을 검색한 결과, 스트렙토미세스 디아스타토크로모게네스(Streptomycesdiastatochromogenes , 문헌, International Journal of Systematic Bacteriology, 22권, 290페이지, 1972년), 스트렙토미세스 레지스토미시피쿠스(Streptomycesresistomycificus , 문헌, International Journal of Systematic Bacteriology, 18권, 165페이지, 1968년), 스트렙토미세스 콜리누스(Streptomycescollinus , 문헌, International Journal of Systematic Bacteriology, 18권, 100페이지, 1968년) 및 스트렙토미세스 아우란티오그리세우스( Streptomycesaurantiogriseus , 문헌, International Journal of Systematic Bacterio1ogy, 18권, 297페이지, 1968년)를 들 수 있다. 다음에 상기 4종류의 본 연구소 보존 균주와 MK730-62F2 균주를 실제로 비교 검토했다. 그 성적을 표 8에 표기된다.

표 8

[표 8]

| | MK730-62F2 균주 | 스트렙토미세스 디아스타토크로모게네스IMC S-0712(ISP 5449) | 스트렙토미세스 레지스토미시피쿠스IMC S-0212(ISP 5133) |
|---|---|---|---|
| 기균사의 형태 | 나선 | 파형 나선1 | 나선 |
| 포자의 표면 | 평활 | 평활 | 평활 |
| 기균사의 색 | 회백 밝은 회색 | 밝은 회색 | 백색 회색 |
| 발육의 색 | 연한 황색 연한 황갈색 | 연한 황색 연한 황갈색 | 연한 황갈 흑갈색 |
| 용해성 색소 | - | - | - 갈색을 띰 |
| 멜라노이드 색소의 생성ISP 1ISP 6ISP 7 | (+)+(+) | +++ | ++(+) |
| 질산염의 환원 | - | - | - |
| 녹말의 가수분해 | + | + | + |
| 탈지 우유의 응고 | - | - | - |
| 탈지 우유의 펩톤화 | + | (+) | - |
| 단순 젤라틴의 액화 | - | (+) | - |
| 글루코오스、펩톤、젤라틴의 액화 | (+) | (+) | (+) |
| 탄소원의 이용성*L-아라비노스D-크실로스D-글루코오스D-프룩토오스 수크로오스이노시톨람노즈 라피노즈 D-만니톨 | +(+)++++++++ | +++++++++ | +(+)+++++++ |

* +: 이용, (+): 이용 가능성이 있음, ±:이용 가능성 여부가 명백하지 않음.

표 8 계속됨

[표 9]

| | MK730-62F2 균주 | 스트렙토미세스 콜리누스 IMC S-0201(ISP 5129) | 스트렙토미세스 아우란티오그리세우스IMC S-0069(ISP 5138) |
|---|---|---|---|
| 기균사의 형태 | 나선 | 직선형 루프형 | 나선 |
| 포자의 표면 | 평활 | 평활 | 평활 |
| 기균사의 색 | 회백색 밝은 회색 | 백색 회백색 | 백색 회색 |
| 발육의 색 | 연한 황색 연한 황갈색 | 연한 황갈색 밝은 갈색 | 연한 황갈색 밝은 갈색 |
| 용해성 색소 | - | - | - 갈색을 띰 |
| 멜라노이드 색소의 생성ISP 1ISP 6ISP 7 | (+)+(+) | (+)+(+) | ++(+) |
| 질산염의 환원 | - | - | + |
| 녹말의 가수분해 | + | + | + |
| 탈지 우유의 응고 | - | - | - |
| 탈지 우유의 펩톤화 | + | - | + |
| 단순 젤라틴의 액화 | - | - | (+) |
| 글루코오스、펩톤、젤라틴의 액화 | (+) | (+) | (+) |
| 탄소원의 이용성*L-아라비노스D-크실로스D-글루코오스D-프룩토오스 수크로오스이노시톨람노즈 라피노즈 D-만니톨 | +(+)++++++ | +(+)++++(+)+`+ | +(+)++(+)(+)+++ |

* +: 이용, (+): 이용 가능성이 있음, ±:이용 가능성 여부가 명백하지 않음.

이상의 표 8로부터 명백한 바와 같이, MK730-62F2 균주는 표 8에서 비교된 어떤 종류와도 유사한 성상을 나타내었다. 그러나, 스트렙토미세스 레지스토미시피쿠스는 발육의 색조가 연한 황갈색-갈색을 나타내고, 용해성 색소가 갈색을 띠고, 탈지 우유를 펩톤화하지 않는 점에서, MK730-62F2 균주와 상위했다. 또, 스트렙토미세스 콜리누스는 기균사의 형태가 직선형-루프형을 나타내고, 탈지 우유를 펩톤화하지 않는 점에서, 또 스트렙토미세스 아우란티오글리세우스는 용해성 색소가 갈색을 띠고, 단순 젤라틴을 액화하고, 질산염을 환원하는 점에서, MK730-62F2 균주와 구별되었다. 한편, 스트렙토미세스 디아스타토크로모게네스는 단순 젤라틴의 액화가 양성을 표기되는 점 이외는 MK730-62F2 균주와 매우 유사했다. 그러나, 현 시점에서는 MK730-62F2 균주를 스트렙토미세스 디아스타토크로모게네스의 한 균주라고 특정할 수 없다. 따라서, MK730-62F2 균주를 스트렙토미세스 에스피( Streptomyces sp.) MK730-62F2로 했다.

또, MK730-62F2 균주를 일본국 이바라키켄 쯔꾸바시 히가시 1쵸메 1반 3고에 있는 공업 기술원 생명공학 공업 기술연구소에 기탁 신청하고, 1998년 11월 27일, FERMP-17067로서 수탁되었다. 또, 2000년 7월 12일을 수탁일로 부다페스트 조약의 규약 하에 MK730-62F2 균주는 FERM BP-7218의 수탁 번호로 상기의 연구소에 기탁되었다.

제2 발명의 방법에서는 항생 물질 카프라자마이신류의 제조는 다음과 같이 행해진다.

즉, 항생 물질 카프라자마이신류의 제조는 항생 물질 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F 중 적어도 하나를 생산하는 생산균(간단히 카프라자마이신 생산균이라고 함)을 영양 배지 내에 접종하고, 항생 물질 카프라자마이신류의 생산에 양호한 온도에서 배양함으로써 행해져 항생 물질 카프라자마이신류를 포함하는 배양물이 얻어진다. 이러한 목적으로 이용하는 영양 배지로는 방선균의 배양에 이용할 수 있는 것이 사용된다. 영양원으로서, 예를 들면 시판되고 있는 대두 가루, 펩톤, 효모 추출물, 고기 추출물, 옥수수 침지액, 황산암모늄 등의 질소원을 사용할 수 있다. 또, 토마토 페이스트, 글리세린, 녹말, 글루코오스, 갈락토오스, 덱스트린 등의 탄수화물 또는 지방 등의 탄소원을 사용할 수 있다. 또한, 식염, 탄산칼슘 등의 무기염을 첨가하여 사용할 수 있다. 그 외 필요에 따라 미량의 금속염을 첨가할 수 있다. 이러한 것은 카프라자마이신 생산균이 이용되고, 항생 물질 카프라자마이신류의 생산에 도움이 되는 것이면 되고, 공지된 방선균의 배양 재료는 전부 이용할 수 있다.

항생 물질 카프라자마이신류의 생산은 스트렙토미세스속에 속하는 항생 물질 카프라자마이신류의 생산 능력을 가지는 미생물이 사용된다. 구체적으로는, 본 발명자들이 분리한 스트렙토미세스 에스피 MK730-62F2가 항생 물질 카프라자마이신류를 생산하는 것은 본 발명자들에 의해 밝혀져 있으나, 그 외의 균주에 대해서는 항생 물질 생산균을 단리하는 통상의 방법에 의해서 자연계로부터 분리하는 것이 가능하다. 또, 스트렙토미세스 에스피 MK730-62F2를 포함해서 카프라자마이신 생산균을 방사선 조사, 그 외 변이 처리에 의해 항생 물질 카프라자마이신류의 생산 능력을 높일 여지도 남아 있다. 또 유전 공학적 방법에 의해 항생 물질 카프라자마이신류의 생산도 가능하다.

카프라자마이신류의 생산을 위한 종모(種母) 배지로는 한천 배지 상에서, MK730-62F2 균주의 사면(斜面) 배양으로부터 얻은 생육물을 사용한다.

항생 물질 카프라자마이신류의 제조에 있어서는, 스트렙토미세스속에 속하는 카프라자마이신 생산균을 적당한 배지에서 호기적으로 배양하는 것이 바람직하고, 그 배양액으로부터 원하는 카프라자마이신을 수득하는 데에는 상용의 수단을 이용할 수 있다. 배양 온도는 카프라자마이신 생산균의 발육이 실질적으로 저해되지 않고 이들 항생 물질을 생산할 수 있는 범위이면, 특별히 제약을 받지 않는다. 배양 온도는 사용되는 카프라자마이신 생산균에 대응하여 적당히 선택할 수 있지만, 바람직하게는 25 30℃의 범위 내의 온도를 들 수 있다.

상기 MK730-62F2 균주에 의한 카프라자마이신류의 생산은 통상은 3일 내지 9일 사이에 최고에 달하지만, 일반적으로 충분한 항균 활성이 배지에 부여될 때까지 계속된다. 이 배양액 내의 카프라자마이신류의 역가 농도의 경시 변화는 HPLC법 또는 마이코박테리움 스메그마티스 또는 마이코박테리움 바케를 피검균으로 하는 원통 평판법에 의해 측정할 수 있다.

제2 발명의 방법에서는, 상기와 같이 하여 얻어진 배양물로부터 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F 중 적어도 하나를 수득하지만, 수득법으로는 미생물이 생산하는 대사물을 수득하는 데 이용되는 수단을 적당히 이용할 수 있다. 예를 들면, 물과 혼합되지 않는 유기 용매에 의한 추출 수단, 각종 흡착제에 대한 흡착 친화성의 차이를 이용하는 수단, 겔 여과, 향류 분배를 이용한 크로마토그래피 등을 단독 또는 조합하여 이용하고, 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F를 각각 단독으로 또는 혼합물로서 수득할 수 있다. 또, 분리된 균체로부터는 적당한 유기 용매를 이용한 용매 추출법이나 균체 파쇄에 의한 용출법에 의해 카프라자마이신을 추출하고, 상기와 같이 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F를 단리하여 수득할 수 있다. 이렇게 하여, 상기한 항생 물질 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F가 개별로 또는 혼합물로서 얻어진다. 또, 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F의 상호 분리는 후기하는 실시예에서 예시되는 바와 같이, 적당한 전개 용매를 이용하는 고속 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해서 행할 수 있다.

또한, 제3 발명에서는, 일반식 (I)로 표기되는 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F 중 적어도 하나, 또는 그것의 염을 유효 성분으로서 함유하고, 또한 제약학적으로 허용되는 담체를 유효 성분과 혼화하여 함유하는 의약 조성물이 제공된다.

제3 발명에 의한 의약 조성물에 있어서는, 유효 성분으로서의 일반식 (I)의 화합물을 제약학적으로 허용할 수 있는 상용의 고체 또는 액상 담체, 예를 들면 에탄올, 물, 생리식염수, 녹말 등과 혼화하여 함유하는 조성물 형태일 수 있다.

제3 발명의 의약 조성물에서 사용하는 유효 성분인 일반식 (I)의 카프라자마이신 또는 그 염은 경구적으로 투여할 수 있거나, 또는 정맥 내 또는 근육 내 주사 또는 복강 내 투여 등에 의해 비경구적으로도 투여할 수 있다.

경구 투여용인 경우에는, 제3 발명의 의약 조성물에서는 유효 성분으로서의 일반식 (I)의 카프라자마이신 또는 그 염을 약학적으로 허용할 수 있는 관용의 고체 또는 액체상의 담체와 혼화하고, 그 혼합물을 산제(散劑), 정제, 캡슐제, 현탁제, 시럽제 등의 형태로 제제로 만들 수 있다.

제3 발명의 의약 조성물에 있어서의 유효 성분으로서의 일반식 (I)의 화합물의 함량 비율은 제제의 형태에 따라서 다르지만, 예를 들면, 바람직한 함량 비율은 투여 단위물의 중량의 약 2  90% 범위에 있는 것이 바람직하다.

제3 발명의 조성물을 주사용으로 제제하는 경우에는, 바람직한 제제 형태로는 유효 성분으로서의 상기의 화합물을 포함하는 무균의 수용액 또는 무균의 동결 건조제가 있다. 여기에 이용하는 액체 담체로는 예를 들면 물, 함수에탄올, 글리세롤, 프로필렌글리콜, 식물유 등이 바람직하다.

본 발명의 조성물에 있어서 유효 성분으로서 이용되는 일반식 (I)의 카프라자마이신 또는 그 염의 투여량은 치료할 세균 감염증의 종류, 치료의 목적 및 증상의 정도 등에 따라 다르지만, 최적의 투여량은 전문가에 의한 적당한 예비 시험으로 결정할 수 있다. 또, 카프라자마이신 B는 마우스(ICR계, 4주된 것, 암컷)에 대하여 정맥 주사 시에 75mg/kg의 투여량으로 독성을 나타내지 않았다.

또, 제4 발명에서는 상기의 일반식 (I)의 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F를 생산하는 특성을 가지며, 또한 공업 기술원 생명공학 공업 기술 연구소에 FERM BP-7218의 수탁 번호로 기탁된 스트렙토미세스 에스피 MK730-62F2 균주가 신규의 미생물로서 제공된다.

## 도면의 간단한 설명

도 1은 카프라자마이신 A의 메탄올 용액 내의 자외선 흡수 스펙트럼.

도 2는 카프라자마이신 A의 KBr 정제법으로 측정한 적외선 흡수 스펙트럼.

도 3은 카프라자마이신 A의 중(重)디메틸설폭사이드 용액 내 실온에서 측정한 500MHz에서의 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 4는 카프라자마이신 A의 중디메틸설폭사이드 용액 내 실온에서 측정한 125MHz에서의 $^{13}$C 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 5는 카프라자마이신 B의 메탄올 용액 내의 자외선 흡수 스펙트럼.

도 6은 카프라자마이신 B의 KBr 정제법으로 측정한 적외선 흡수 스펙트럼.

도 7는 카프라자마이신 B의 중디메틸설폭사이드:중수(=10:1)의 혼합 용매 내 실온에서 측정한 500MHz에서의 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 8은 카프라자마이신 B의 중디메틸설폭사이드:중수(=10:1)의 혼합 용매 내 실온에서 측정한 125MHz에서의 $^{13}$C 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 9는 카프라자마이신 C의 메탄올 용액 내의 자외선 흡수 스펙트럼.

도 10은 카프라자마이신 C의 KBr 정제법으로 측정한 적외선 흡수 스펙트럼.

도 11은 카프라자마이신 C의 중디메틸설폭사이드 용액 내 실온에서 측정한 500MHz에서의 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 12는 카프라자마이신 C의 중디메틸설폭사이드 용액 중에서 실온에서 측정한 125MHz에서의 $^{13}$C 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 13은 카프라자마이신 E의 메탄올 용액 내의 자외선 흡수 스펙트럼.

도 14는 카프라자마이신 E의 KBr 정제법으로 측정한 적외선 흡수 스펙트럼.

도 15는 카프라자마이신 E의 중디메틸설폭사이드 용액 내 실온에서 측정한 500MHz에서의 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 16은 카프라자마이신 E의 중디메틸설폭사이드 용액 내 실온에서 측정한 125MHz에서의 $^{13}$C 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 17은 카프라자마이신 F의 메탄올 용액 내의 자외선 흡수 스펙트럼.

도 18은 카프라자마이신 F의 KBr 정제법으로 측정한 적외선 흡수 스펙트럼.

도 19는 카프라자마이신 F의 중디메틸설폭사이드 용액 내 실온에서 측정한 500MHz에서의 프로톤 핵 자기 공명 스펙트럼.

도 20은 카프라자마이신 F의 중디메틸설폭사이드 용액 내 실온에서 측정한 125MHz에서의 $^{13}$C 핵 자기 공명 스펙트럼.

## 실시예

이하에 실시예에 의해 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[실시예 1]

항생 물질 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F의 제조

한천 사면 배지에 배양한 스트렙토미세스 에스피 MK730-62F2(수탁 번호 FERM BP-7218로 기탁)를 갈락토오스 2%, 덱스트린 2%, 글리세린 1%, 박토소이톤(bactosoyton)[디프코(Difco)사 제조] 1%, 옥수수 침지액(CSL) 0.5%, 황산암모늄 0.2%, 탄산칼슘 0.2%을 포함하는 액체 배지(pH 7.4로 조정)를 삼각 플라스크(500m1 용량)에 110㎖씩 주입하여 통상의 방법에 의해 120℃에서 20분 멸균한 배지에 접종했다. 그 후에 30℃에서 2일에 걸쳐 회전 진동 배양하여 종모 배양액을 얻었다.

토마토 페이스트[가고메(Kagome)사 제조] 2.4%, 덱스트린 2.4%, 효모 추출물[오리엔탈(Oriental)사 제조] 1.2%, 염화코발트 0.0006%(pH 7.4로 조정) 조성의 배지 15ℓ를 탱크 배양조(30ℓ 용량) 내에 조제하고, 멸균 후에 생산 배지로서 이용했다. 이 생산 배지에 상기의 종모 배양액의 2%의 양을 접종하고, 27℃, 1분당 통기량 15ℓ, 200rpm의 교반 속도를 이용하는 배양 조건으로 6일간 탱크 배양했다.

이렇게 하여 얻어진 배양액을 원심 분리하여 배양 여과액 12ℓ와 균체를 분리했다. 계속해서, 균체에 6ℓ의 메탄올을 첨가하여 충분히 교반하고, 균체로부터 카프라자마이신류를 메탄올로 추출했다. 배양 여과액과 균체 추출액(메탄올 추출액)을 합하여, 얻어진 혼합액 18ℓ를 방향족계 합성 흡착제 다이아이온 HP-20[일본, 미쓰비시(三菱) 화학 주식회사 제조]의 컬럼 750㎖에 통과시키고, 카프라자마이신류를 흡착시켰다. 상기 다이아이온 HP-20에 탈이온수, 50% 메탄올수, 80% 메탄올수, 80% 아세톤수, 아세톤을 각 2.25ℓ 순차로 통과시켰다. 카프라자마이신류는 80% 아세톤수에서의 용출 분획 중에 많이 용출되었다. 또, 50% 메탄올수 용출 분획 및 80% 메탄올수 용출 분획에도 카프라자마이신류가 포함되어 있었기 때문에, 양자를 합하여 다시 다이아이온 HP-20컬럼(750㎖)에 통과시키고, 이로써 카프라자마이신류를 컬럼의 흡착제에 흡착시키고, 계속해서 컬럼에 80% 메탄올수 2.25ℓ를 통과시켰다. 그 후, 컬럼으로부터 80% 아세톤수 2.25ℓ로 용출시켰다. 상기 80% 아세톤수에서의 용출액을 앞선 80% 아세톤수 용출 분획에 맞추고, 감압 하에서 농축 건고하여 카프라자마이신류를 포함하는 조(粗)정제물 10.1g을 얻었다.

상기 카프라자마이신류를 포함하는 조정제물 10.1g를 클로로포름-메탄올(=1:2)의 혼합 용매 50㎖에 용해하고, 그

용액에 키젤구르[메르크(Merck)사 제조, Art.10601] 50㎖을 가하고 용매를 감압 하에서 농축 건고했다. 이와 같이 카프라자마이신류를 키젤구르에 흡착시킨 것을 실리카겔 컬럼(내경 54mm× 길이 200mm) 상에 탑재하여 크로마토그래피를 행했다. 이 때는, 전개 용매로서 클로로포름-메탄올-물(=4:1:0.1), 클로로포름-메탄올-물(=2:1:0.2), 클로로포름-메탄올-물(=1:1:0.2)의 각 혼합액의 각 1.35ℓ를 이용하여 차례로 전개를 했다. 프렉션콜렉터(fraction collector)에 의해 실리카겔 컬럼으로부터의 용출액을 프렉션 No.1 53에서는 20g씩 분획하고, 프렉션 No.54 117에서는 19g씩 분획하여 모으면, 카프라자마이신류를 포함하는 활성 분획은 프렉션 No.66 83에 용출되었다. 이들 활성 분획을 모아 감압 하에서 농축 건고하고, 625.3mg의 카프라자마이신류를 포함하는 조정제물을 얻었다.

상기 카프라자마이신류를 포함하는 조정제물에 메탄올 5㎖을 첨가하여 용해했다. 얻어진 용액을 5℃의 냉암 하에 정치하면, 카프라자마이신류를 포함하는 석출 침전 분획의 537.3mg를 얻었다.

계속해서, 상기 카프라자마이신류를 포함하는 석출 침전물을 HPLC(CAPCELL PAK C18 φ20×250mm, 시세이도 제조)를 이용하여 정제했다. 이 HPLC에서는 전개용매로서 50% 아세토니트릴수-0.05% 개미산(유속: 120㎖/min)에 의해 전개하면, 61 68분 후에 카프라자마이신 A가 용출되고, 52 60분 후에 카프라자마이신 B가 용출되고, 39 41분 후에 카프라자마이신 C가 용출되고, 25 28분 후에 카프라자마이신 E가 용출되고, 22 25분 후에 카프라자마이신 F가 용출되었다. 각각의 활성 분획을 모아서, 감압 하에서 농축 건고함으로써 카프라자마이신 A를 56.9mg, 카프라자마이신 B를 90.3mg, 카프라자마이신 C를 19.7mg, 카프라자마이신 E를 30.3mg 및 카프라자마이신 F를 25.5mg 얻었다.

## 산업상 이용 가능성

이상 설명한 대로, 본 발명에 의한 신규의 항생 물질로서 일반식 (I)로 표시되는 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F는 각각 각종 항산성균, 세균 및 그들의 약제 내성 균주에 대해 뛰어난 항균 활성을 가진다. 따라서, 본 발명의 카프라자마이신류는 항산성균 및 세균의 감염증을 치료하는 데에 유효하고 유용하다.

## (57) 청구의 범위

### 청구항 1.

다음 일반식 (I)

(I)

[식 중에서, R은 카프라자마이신 A에서는 트리데실기이며, 카프라자마이신 B에서는 11-메틸-도데실기이며, 카프라자마이신 C에서는 도데실기이며, 카프라자마이신 E에서는 운데실기이며, 카프라자마이신 F에서는 9-메틸-데실기임]로 표기되는 화합물인, 항생 물질 카프라자마이신 A, 카프라자마이신 B, 카프라자마이신 C, 카프라자마이신 E, 카프라자마이신 F, 또는 제약학적으로 허용할 수 있는 그들의 염.

### 청구항 2.

제1항에 있어서,

다음 식 (Ia)

(Ia)

으로 표기되는 카프라자마이신 A[제1항에 표기된 일반식 (I)의 화합물로서 R이 트리데실기 $-(CH_2)_{12}-CH_3$ 인 경우의 화합물]인 항생 물질.

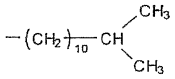
청구항 3.

제1항에 있어서,

다음 식 (Ib)

(Ib)

으로 표기되는 카프라자마이신 B[제1항에 표기된 일반식 (I)의 화합물로서 R이 11-메틸-도데실기



인 경우의 화합물]인 항생 물질.

청구항 4.

제1항에 있어서,

다음 식 (Ic)

(Ic)

으로 표기되는 카프라자마이신 C[제1항에 표기된 일반식 (I)의 화합물로서 R이 도데실기 $-(CH_2)_{11}-CH_3$ 인 경우의 화합물]인 항생 물질.

청구항 5.

제1항에 있어서,

다음 식 (Ie)

(Ie)

으로 표기되는 카프라자마이신 E[제l항에 표기된 일반식 (I)의 화합물로서 R이 운데실기 $-(CH_2)_{10}-CH_3$ 인 경우의 화합물]인 항생 물질.

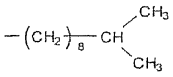
청구항 6.

제1항에 있어서,

다음 식 (If)

(If)

으로 표기되는 카프라자마이신 F[제1항에 표기되는 일반식 (I)의 화합물로서 R이 9-메틸-데실기



인 경우의 화합물]인 항생 물질.

청구항 7.

스트렙토미세스속에 속하고, 제1항에 기재된 일반식 (I)로 표기되는 항생 물질 카프라자마이신 A, 카프라자마이신 B, 카프라자마이신 C, 카프라자마이신 E 및 카프라자마이신 F 중 적어도 하나를 생산하는 생산균을 배양하고, 그 배양물로부터 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F 중 적어도 하나를 수득하는 것을 특징으로 하는, 제1항에 기재된 항생 물질 카프라자마이신 A, B, C, E 및(또는) F의 제조 방법.

청구항 8.

제7항에 있어서,

카프라자마이신 A, B, C, E 및 F 중 적어도 하나를 생산하는 균으로서, 공업 기술원 생명공학 공업 기술 연구소에 부다페스트 조약의 규약 하에 FERM BP-7218의 수탁 번호로 기탁되어 있는 스트렙토미세스 에스피(Streptomyces sp.) MK730-62F2를 사용하는 방법.

청구항 9.

제1항에 기재된 일반식 (I)로 표기된 항생 물질 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F 중 적어도 하나, 또는 제약학적으로 허용할 수 있는 그것의 염을 유효 성분으로서 함유하고, 또한 제약학적으로 허용되는 담체를 유효 성분과 혼화하여 함유하는 의약 조성물.

청구항 10.

제9항에 있어서,

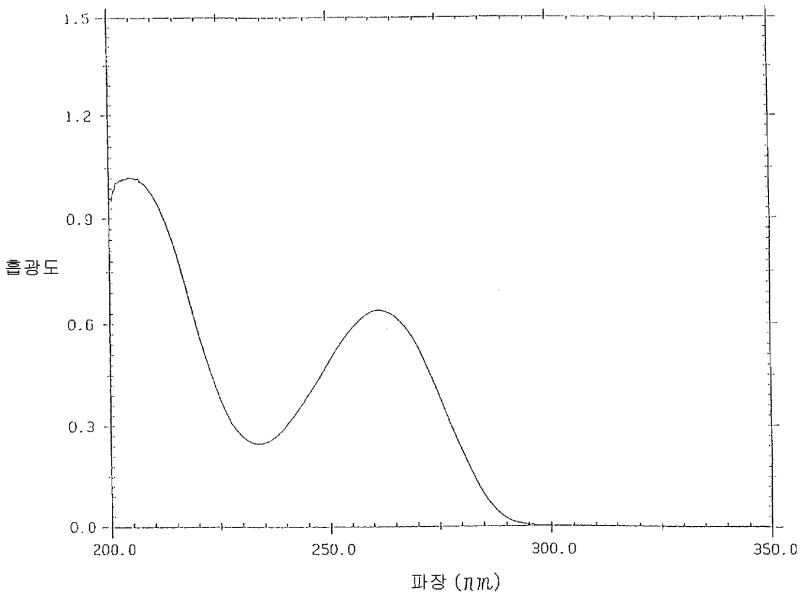
항세균성 조성물인 의약 조성물.

청구항 11.

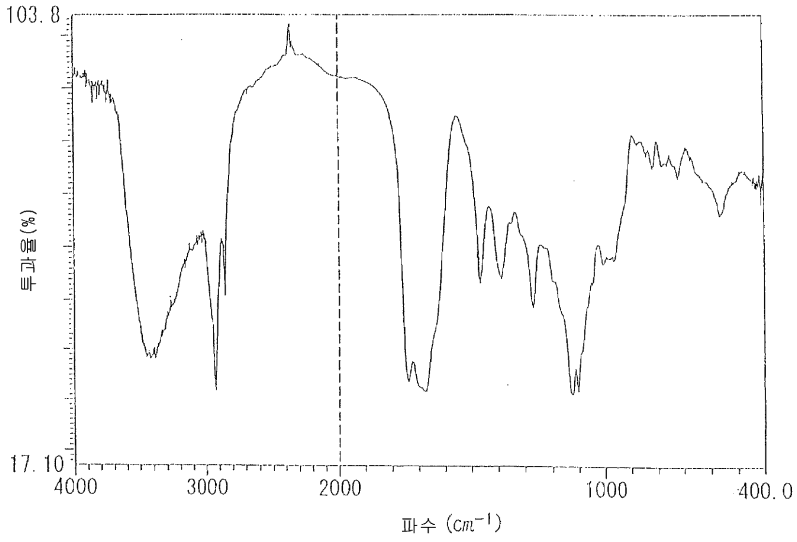
제1항에 기재된 일반식 (I)로 표기된 항생 물질 카프라자마이신 A, B, C, E 및 F를 생산하는 특성을 가지고, 또한 공업 기술원 생명공학 공업 기술 연구소에 FERM BP-7218의 수탁 번호로 기탁된 스트렙토미세스 에스피 MK730-62F2.

## 도면

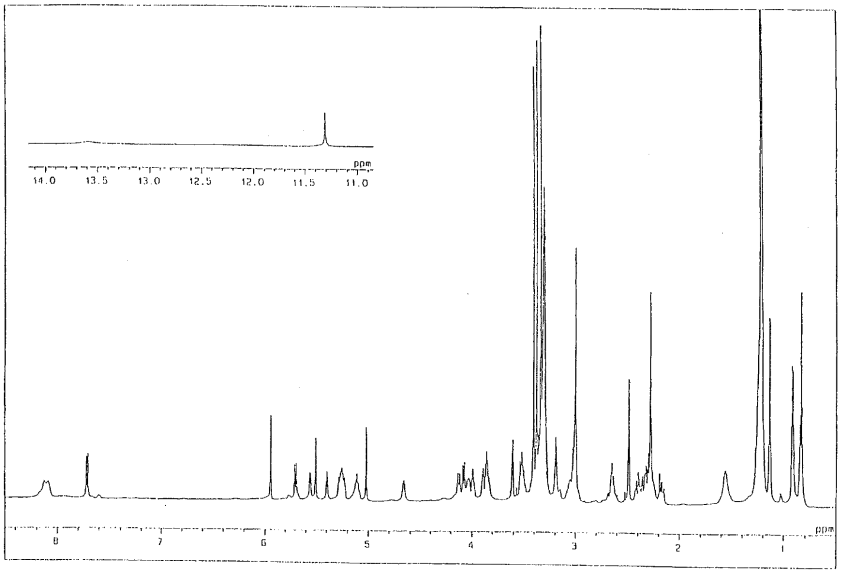
### 도면 1


1.5
1.2
0.9
0.6
0.3
0.0
흡광도
200.0
250.0
300.0
350.0
파장 (nm)

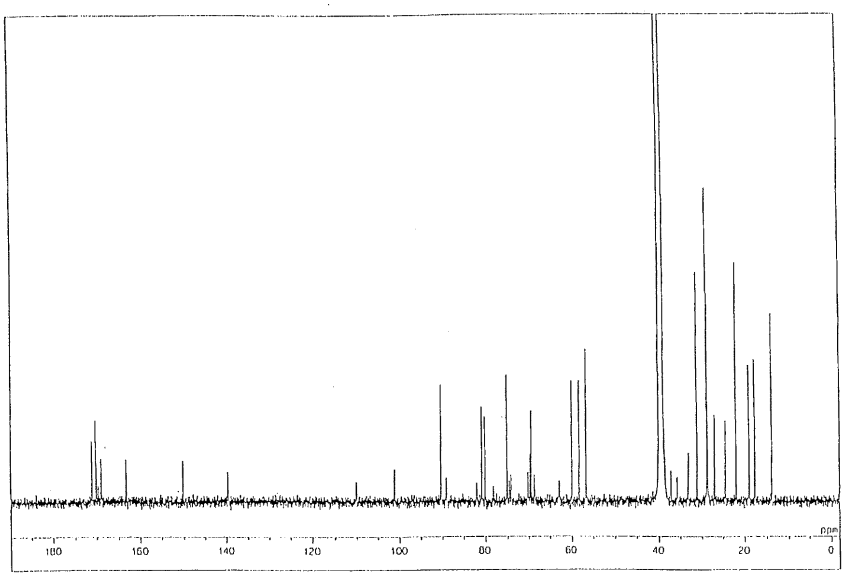
### 도면 2


103.8
17.10
투과율(%)
4000
3000
2000
1000
400.0
파수 (cm⁻¹)

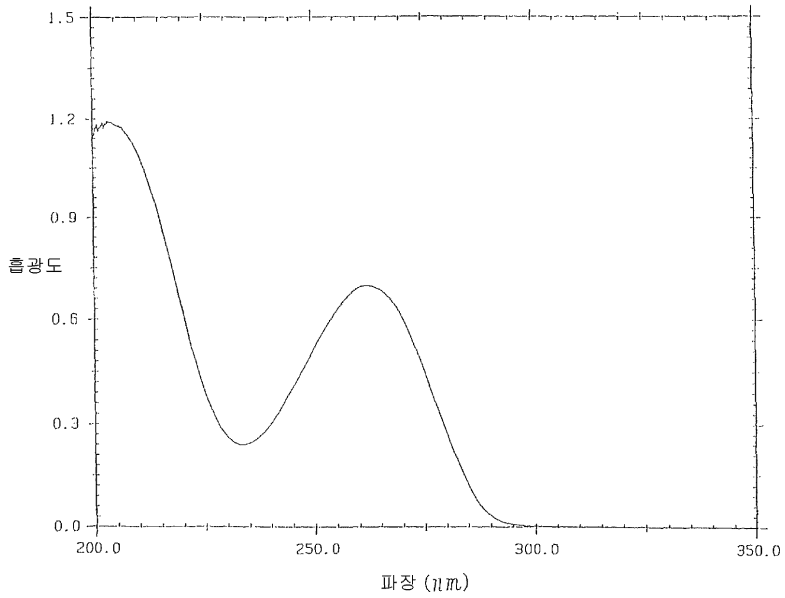
도면 3


14.0
13.5
13.0
12.5
12.0
11.5
11.0
ppm
8
7
6
5
4
3
2
1
ppm

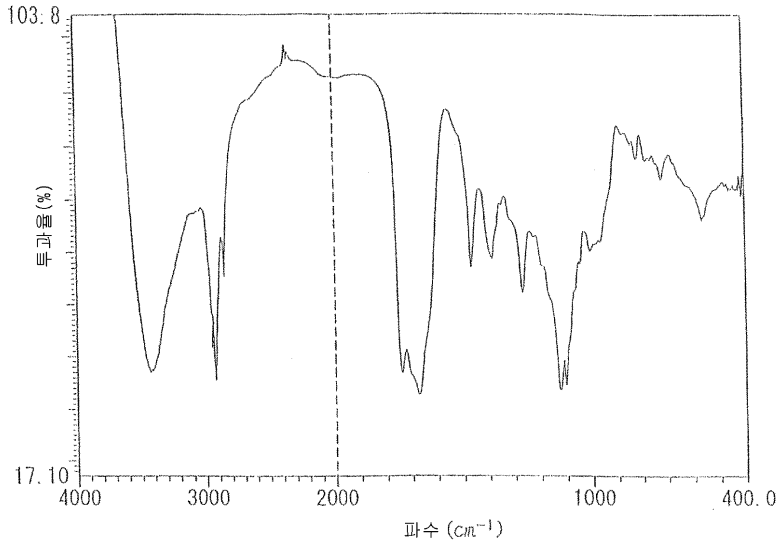
도면 4


180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
ppm

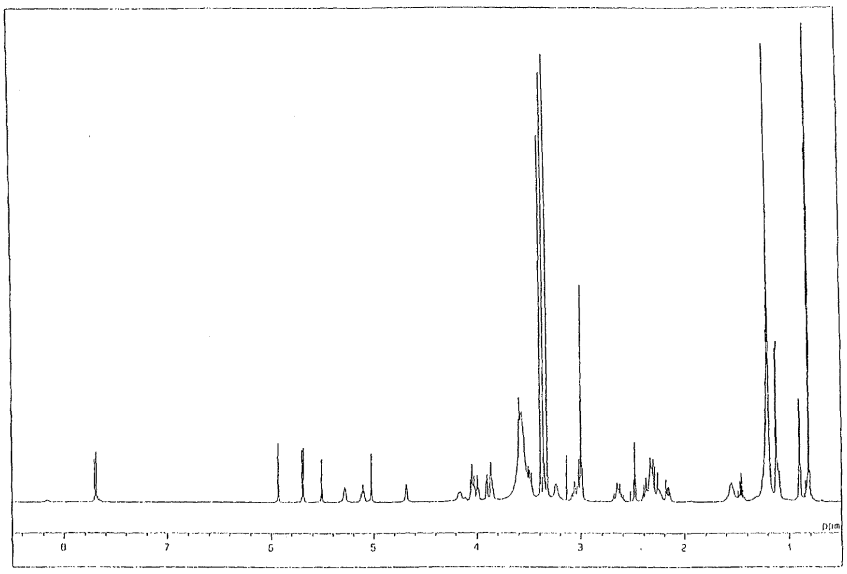
도면 5


1.5
1.2
0.9
0.6
0.3
0.0
흡광도
200.0
250.0
300.0
350.0
파장 (㎚)

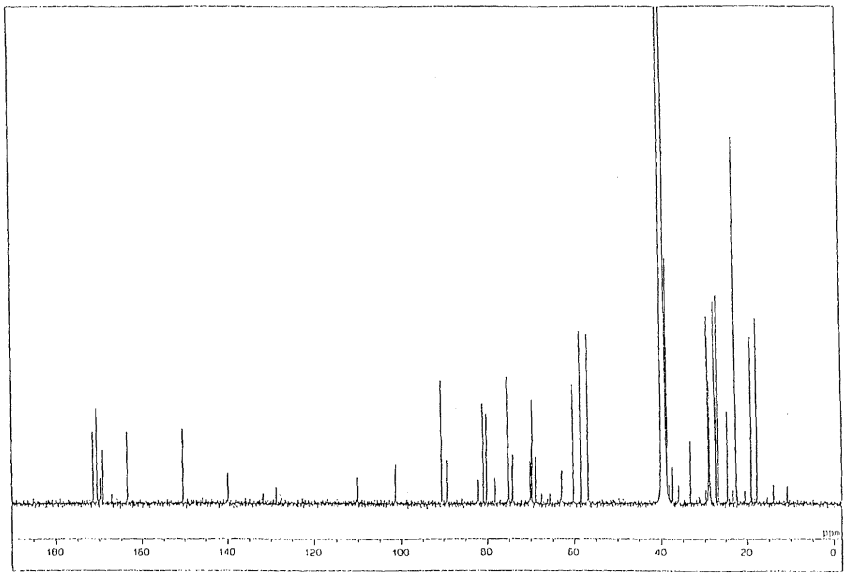
도면 6


103.8
17.10
투과율(%)
4000
3000
2000
1000
400.0
파수 (㎝⁻¹)

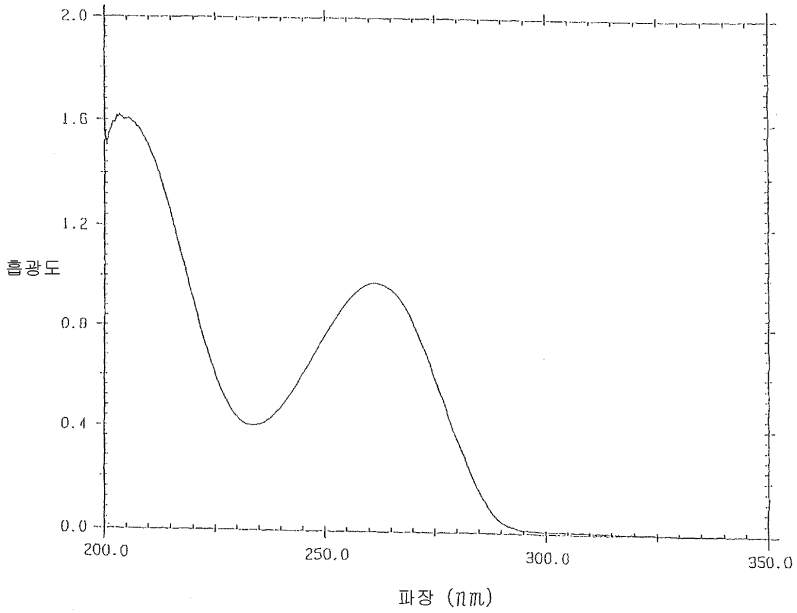
도면 7



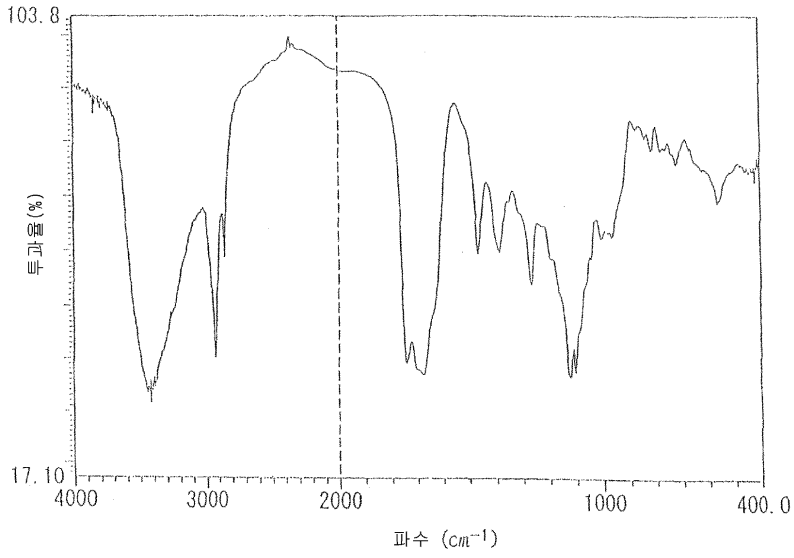

도면 8



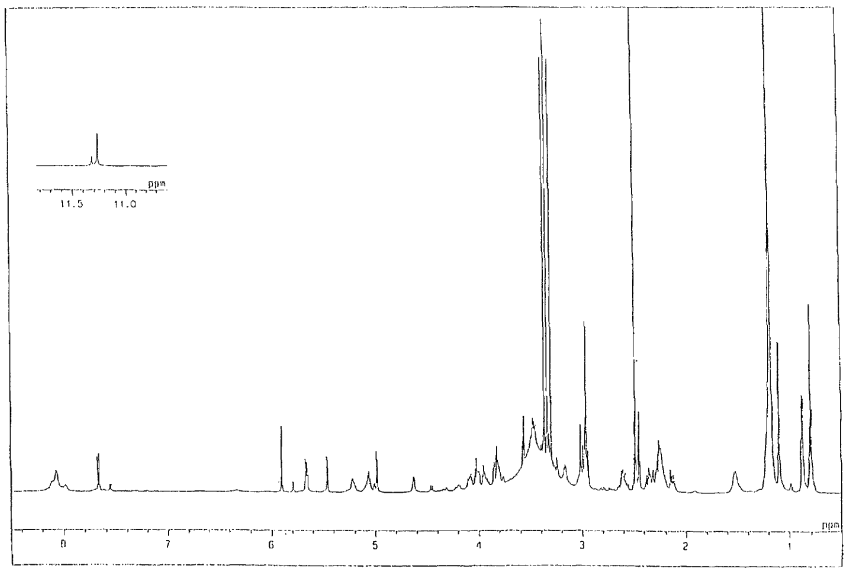
도면 9


2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
흡광도
200.0
250.0
300.0
350.0
파장 (㎚)

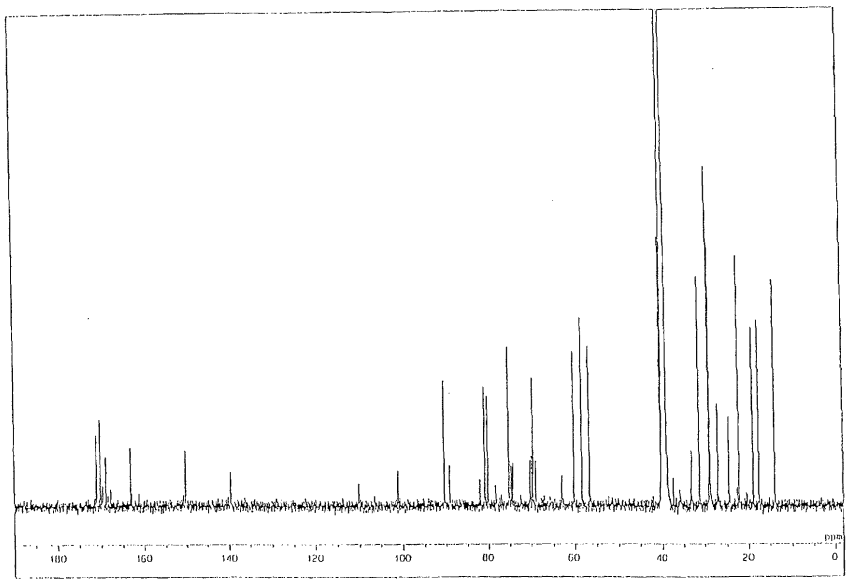
도면 10


103.8
17.10
투과율(%)
4000
3000
2000
1000
400.0
파수 (㎝⁻¹)

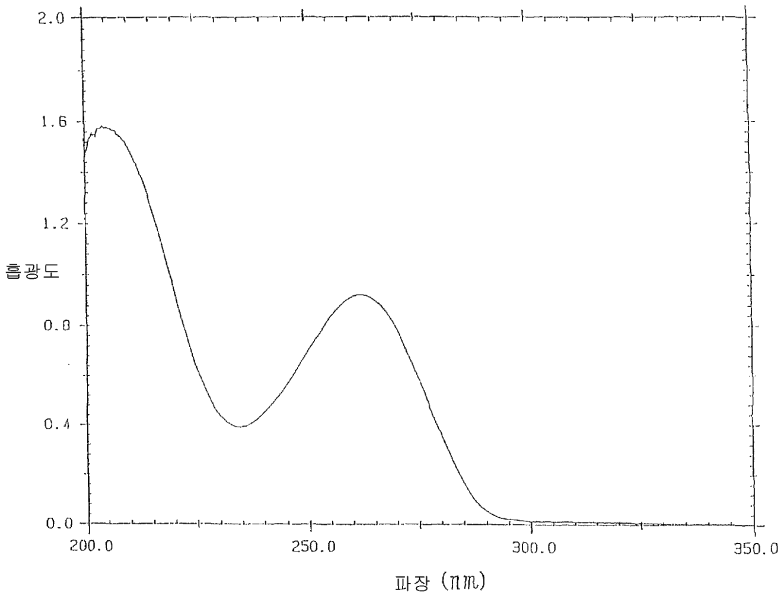
도면 11



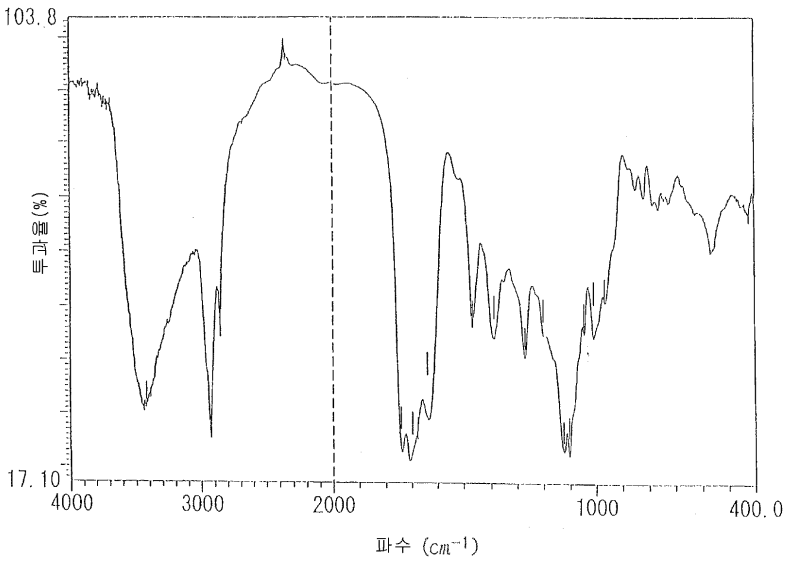

도면 12



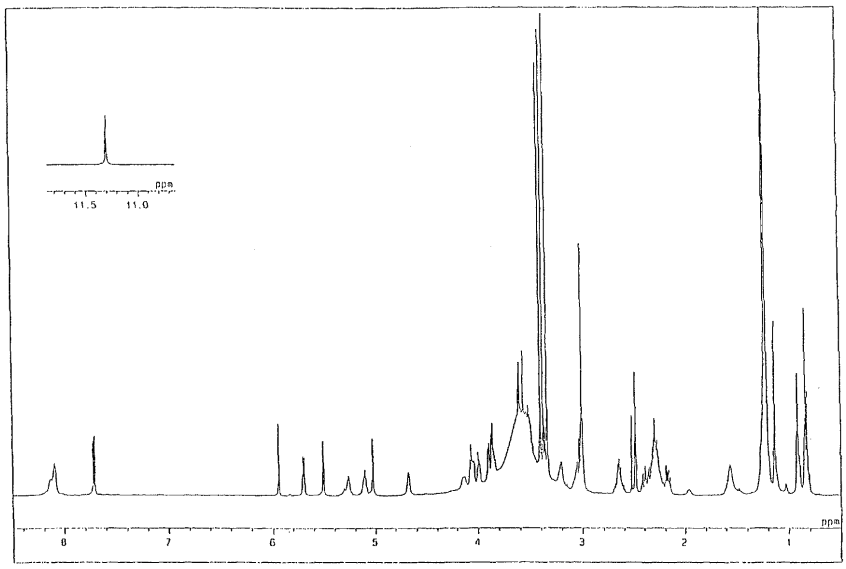
도면 13


2.0
1.6
1.2
흡광도
0.8
0.4
0.0
200.0
250.0
300.0
350.0
파장 (㎚)

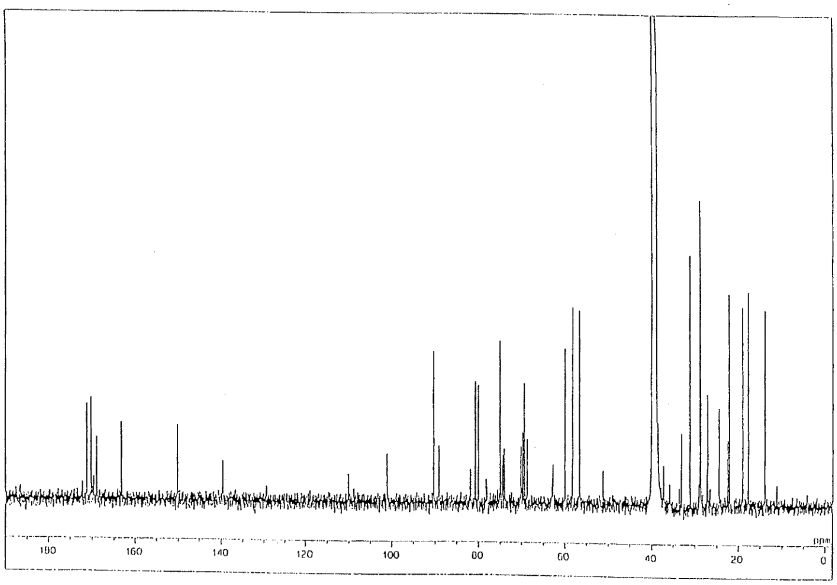
도면 14


103.8
투과율(%)
17.10
4000
3000
2000
1000
400.0
파수 (cm⁻¹)

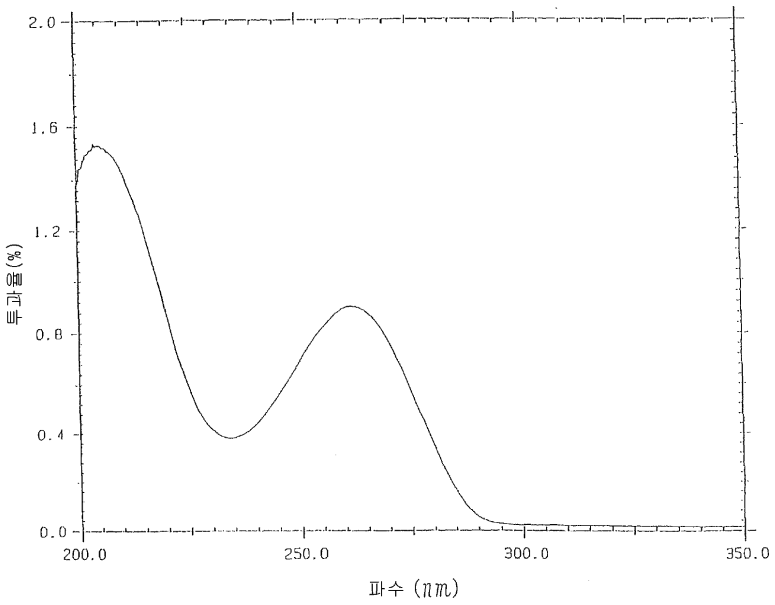
도면 15



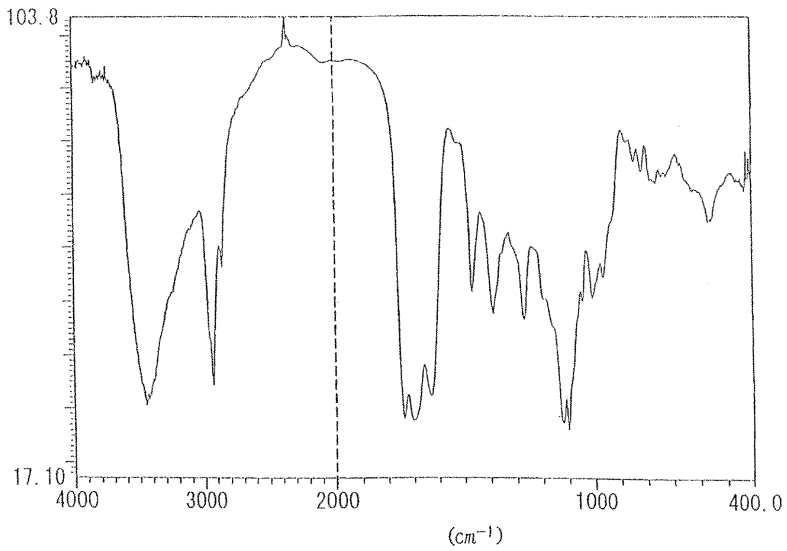

도면 16



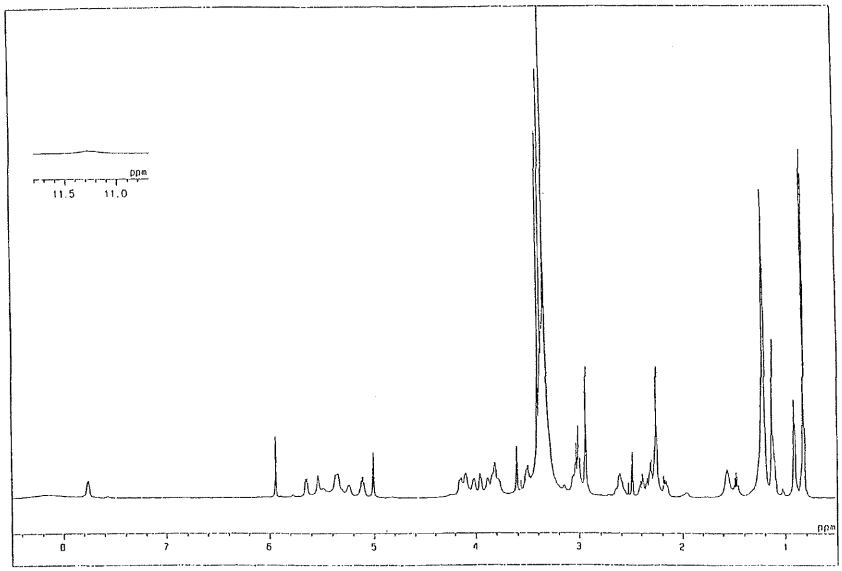
도면 17


2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
투과율(%)
200.0
250.0
300.0
350.0
파수 (nm)

도면 18


103.8
17.10
4000
3000
2000
1000
400.0
(cm⁻¹)

도면 19




도면 20