

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)

| | |
|---|---|
| (51) Int. Cl. ⁵ C07H 17/00 C07D 498/18 | (45) 공고일자 1993년11월08일 (11) 공고번호 특1993-0010708 (24) 등록일자 1993년11월08일 |
| (21) 출원번호 특1993-0017419(분할) | (65) 공개번호 |
| (22) 출원일자 1993년09월01일 | (43) 공개일자 |
| (62) 원출원 특허 특1985-0009022 원출원일자 : 1985년12월12일 | |
| (30) 우선권 주장 8430455 1984년12월03일 영국(GB) 8502869 1985년02월05일 영국(GB) 8508429 1985년04월01일 영국(GB) | |
| (71) 출원인 후지사와 야구형 고교 가부시끼가이샤 후지사와 도모기찌로 일본국 오오사카시 츄우오오쿠 도오슈우쵸오 3쵸메 4반 7고오 | |
| (72) 발명자 오쿠하라 마사구니 일본국 이바라기켄 니이하리군 사꾸라무라 우메조노 2-쵸메 14-10 다나카 히로가즈 일본국 이바라기켄 니이하리군 사꾸라무라 나비끼 4-쵸메 15-1-502 고또 도시오 일본국 이바라기켄 니이하리군 사꾸라무라 센겐 1-쵸메 14-20 기노 도루 일본국 이바라기켄 쓰찌우라시 나까우라미나미 6-쵸메 11-11 하다나카 히로시 일본국 이바라기켄 니이하리군 사꾸라무라 나미끼 4-쵸메 15-1-205 | |
| (74) 대리인 최규팔, 김석중 | |

심사관 : 민만호 (책자공보 제3459호)

(54) 트리사이클로 화합물의 제조방법

요약

내용 없음.

명세서

[발명의 명칭]

트리사이클로 화합물의 제조방법

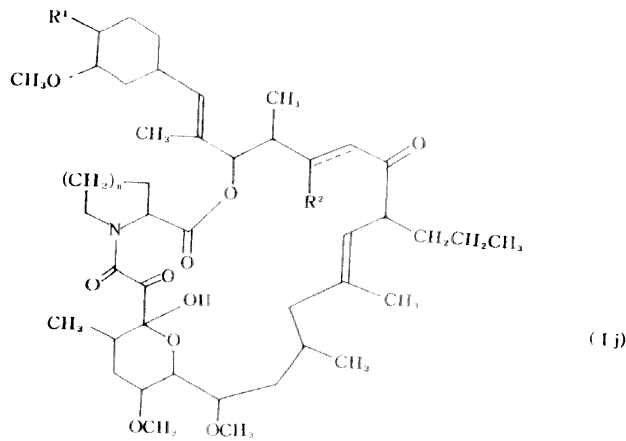
[발명의 상세한 설명]

본 발명은 약리학적 활성을 갖는 신규 트리사이클로 화합물의 제조방법에 관한 것이다.

더욱 특히, 본 발명은 면역 억제 활성, 항균 활성등과 같은 약리학적 활성을 갖는 신규 트리사이클로 화합물의 제조방법에 관한 것이다.

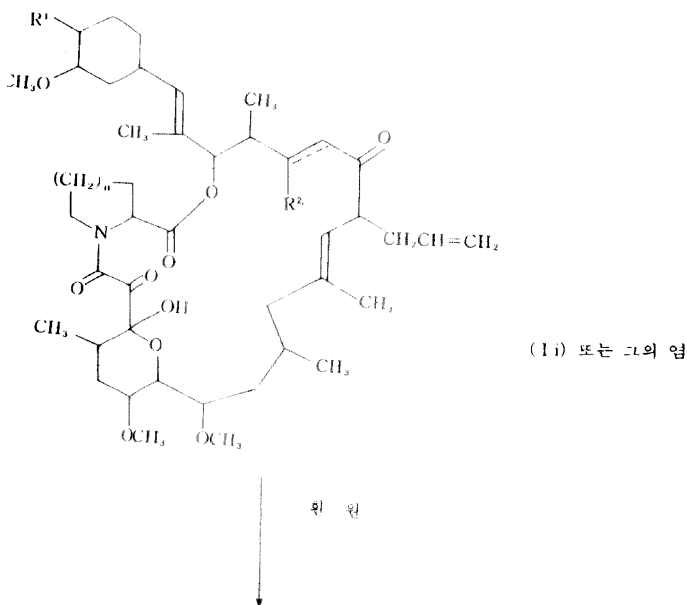
따라서, 본 발명의 목적은 이식에 의한 거부반응, 골수 이식에 의한 이식편대숙주질환(graft-versus-host disease), 자가면역 질환, 감염성 질환등의 예방 및 치료에 유용한 신규 트리사이클로 화합물의 제조 방법을 제공하는 것이다.

본 발명에 의해 제조된 신규 트리사이클로 화합물은 다음 일반식(Ij)의 화합물 및 그의 염이다.



상기식에서, R¹은 하이드록시 또는 보호된 하이드록시이고, R²는 수소, 하이드록시 또는 보호된 하이드록시이며, n은 1 또는 2의 정수이고, 선 및 점선 기호는 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.

본 발명의 방법은 하기 반응도식으로 나타낼 수 있다 :



상기 반응도식에서, R¹, R², n 및 선 및 점선 기호는 각각 상기 정의한 바와 같다.

본 발명에 있어서, 본 발명은 신규의 특정 화합물인 FR-900506 및 FR-900525 물질을 최초로 새롭게 발견하여 이를 근거로하여 완성된 것이다. 더욱 상세하게는, 본 발명에 따라 FR-900506 및 FR-900525 물질은 스트렙토마이세스(Streptomyces)속에 속하는 신규한 종의 균주의 발효에 의해 얻어진 배양 육즙으로부터 순수 형태로 최초로 신규하게 분리되었다.

또한, FR-900506 및 FR-900525 물질의 화학 구조를 규명하기 위한 광범위하고 집중적인 연구의 결과로 본 발명자들은 그들의 화학 구조를 결정하고 트리사이클로 화합물을 제조하는데 성공하였다.

출발 화합물(Ii)중에서, 다음 두개의 특정 화합물이 발효에 의하여 제조되는 것으로 확인되었다.

(1) FR-900506 물질로 명명되는, R¹ 및 R²가 각각 하이드록시이고, n은 2의 정수이고, 선 및 점선 기호는 단일 결합인 화합물(Ii) ; (2) FR-900525 물질로 명명되는, R¹ 및 R²가 각각 하이드록시이고, n은 1의 정수이고, 선 및 점선 부호는 단일 결합인 화합물(Ii).

본 발명에 의해 제조된 트리사이클로 화합물(Ij)는 비대칭 탄소원자(들) 및 이중결합(들)으로 인해 광학 및 기하이성체와 같은 하나 이상의 컨포머(conformer)(들) 또는 입체 이성체쌍으로 존재할 수 있으며, 이들 이성체들도 또한 본 발명의 범위내에 포함된다.

상기 정의 및 그의 바람직한 구체예를 이후 상세히 설명한다.

본 명세서에서 사용된 용어 " 저급 "은 다른 지시가 없는 한 한 탄소수 1 내지 6을 의미한다.

" 보호된 하이드록시 "에서 적합한 하이드록시 보호기에는 다음의 기들이 포함될 수 있다:

저급알킬티오메틸(예 : 메틸티오메틸, 에틸티오메틸, 프로필티오메틸, 이소프로필티오메틸,

부틸티오메틸, 이소부틸티오메틸, 헥실티오메틸 등) 등과 같은 1-(저급 알킬티오)(저급)알킬, 여기에서 바람직한 것은 C₁-C₄ 알킬티오메틸일 수 있고, 가장 바람직한 것은 메틸티오메틸일 수 있다. 트리(저급)알킬실릴(예 : 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, 트리부틸실릴, t-부틸-디메틸실릴, 트리-t-부틸실릴 등), 저급 알킬-디아릴실릴(예 : 메틸-디페닐실릴, 에틸-디페닐실릴, 프로필-디페닐실릴, t-부틸-디페닐실릴 등)과 같은 삼치환된 실릴, 여기에서 바람직한 것은 트리(C₁-C₄)알킬실릴 및 C₁-C₄알킬-디페닐실릴일 수 있고, 가장 바람직한 것은 t-부틸-디메틸실릴 및 t-부틸-디페닐실릴일 수 있다 ; 카복실산 및 설폰산으로 부터 유도된, 지방족 아실, 방향족 아실 및 방향족기로 치환된 지방족 아실과 같은 아실 등.

지방족 아실에는 카복시와 같은 하나 이상의 적합한 치환체(들)를 가질 수 있는 저급알카노일(예 : 포르밀, 아세틸, 프로피오닐, 부틸릴, 이소부틸릴, 발레릴, 이소발레릴, 피발로일, 헥사노일, 카복시아세틸, 카복시프로피오닐, 카복시부틸릴, 카복시헥사노일 등), 저급알킬과 같은 하나 이상의 적합한 치환체(들)를 가질 수 있는 사이클로(저급) 알킬옥시(저급)알카노일(예 : 사이클로프로필옥시아세틸, 사이클로부틸옥시프로피오닐, 사이클로헥틸옥시부틸릴, 멘틸옥시아세틸, 멘틸옥시프로피오닐, 멘틸옥시부틸릴, 멘틸옥시헥사노일 등), 캄포설폰일 등이 포함될 수 있다.

방향족 아실에는, 니트로와 같은 하나 이상의 적합한 치환체(들)를 가질 수 있는 아로일(예 : 벤조일, 톨루오일, 크실로일, 나프토일, 니트로벤조일, 디니트로벤조일, 디니트로나프토일 등), 할로겐과 같은 하나 이상의 적합한 치환체(들)를 가질 수 있는 아렌설폰일(예 : 벤젠설폰일, 톨루엔설폰일, 크실렌설폰일, 나프탈렌설폰일, 플루오로벤젠설폰일, 클로로벤젠설폰일, 브로모벤젠설폰일, 요오도벤젠설폰일 등) 등이 포함될 수 있다.

방향족기로 치환된 지방족 아실에는 저급알콕시 및 트리할로(저급)알킬과 같은 하나 이상의 적합한 치환체(들)를 가질 수 있는 아르(저급)알카노일(예 : 페닐아세틸, 페닐프로피오닐, 페닐부틸릴, 2-트리플루오로메틸-2-메톡시-2-페닐아세틸, 2-에틸-2-트리플루오로메틸-2-페닐아세틸, 2-트리플루오로메틸-2-프로폭시-2-페닐아세틸 등) 등이 포함될 수 있다.

상기 정의된 것중에서 더욱 바람직한 아실기는 카복시를 가질 수 있는 C₁₋₄ 알카노일, 사이클로알킬 부위에 두개의 (C₁-C₄) 알킬기를 가지는 사이클로(C₅-C₆)알킬옥시(C₁₋₄)알카노일, 캄포설폰일, 하나 또는 두개의 니트로를 가질 수 있는 벤조일, 할로겐을 가지는 벤젠설폰일, C₁-C₄ 알콕시 및 트리할로(C₁-C₄)알킬을 가지는 페닐(C₁-C₄) 알카노일 일 수 있고, 가장 바람직한 것은 아세틸, 카복시프로피오닐, 멘틸옥시아세틸, 캄포설폰일, 벤조일, 니트로벤조일, 디니트로벤조일, 요오도벤젠설폰일 및 2-트리플루오로메틸-2-메톡시-2-페닐아세틸일 수 있다.

본 발명의 출발화합물(i)로서 사용되는 FR-900506 및 FR-900525 물질은 스트렙토마이세스 쯔꾸바엔시스 9993(*Streptomyces tsukubaensis* No. 9993)과 같은 스트렙토마이세스 속에 속하는 FR-900506 및/또는 FR-900525물질(들)-생성 균주를 영양 배지중에서 발효시킴으로써 제조할 수 있다.

FR-900506 및/또는 FR-900525 물질의 제조에 사용될 수 있는 미생물은 스트렙토마이세스 속에 속하는 FR-900506 및/또는 FR-900525 물질(들)-생성 균주이며, 이들중 스트렙토마이세스 쯔꾸바엔시스 9993은 일본국 이바라끼켄 쯔꾸바군 도요사도쯔에서 수집된 토양 샘플에서 새로이 분리된 것이다.

새로이 분리된 스트렙토마이세스 쯔꾸바엔시스 9993의 동결건조 샘플은 과학기술성 산하발효 연구소(Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Techonlogy)(일본국 이바라끼켄 쯔꾸바군 야다베마찌 히가시 1-쯔메 1-3)에 기탁번호 FERM P-7886(기탁일 : 1984. 10. 5)으로 기탁되었으며[한국기탁번호 ; KFCC-10192, 기탁기관 ; 한국중균협회, 기탁일 ; 1986. 3.7], 이 균주는 그 후에 부다페스트 조약에 따라 1985년 10월 19일 동일한 기탁기관에서 신 기탁번호 FREM BP-927로 변경되었다.

출발화합물(i)의 제조방법을 이후 언급되는 제조예에서 상세히 설명된다.

화합물(ij)는 화합물(i)를 환원시킴으로써 수득할 수 있다.

이 방법에서 환원은 촉매적 환원 등과 같은, 알릴기를 프로필기로 환원시킬 수 있는 통상적인 방법에 의해 수행할 수 있다.

촉매적 환원에 사용되는 적합한 촉매에는 백금촉매(예 : 백금 플레이트, 스폰 지상 백금, 백금 블랙, 콜로이드상 백금, 산화백금, 백금망 등), 팔라듐 촉매(예 : 스폰 지상 팔라듐, 팔라듐 블랙, 산화 팔라듐, 탄소상 팔라듐, 콜로이드상 팔라듐, 황산바륨상 팔라듐, 탄산바륨상 팔라듐 등), 니켈 촉매(예 : 환원니켈, 산화니켈, 라니니켈 등), 코발트 촉매(예 : 환원 코발트, 라니코발트 등), 철 촉매(예 : 환원 철, 리니 철 등), 구리 촉매(예 : 환원 구리, 라니구리, 울만(Ulman)구리 등)등과 같은 통상적인 촉매가 포함된다.

환원 반응은 일반적으로 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 피리딘, 에틸아세테이트, N,N-디메틸포름아미드, 디클로로메탄, 또는 이들의 혼합물과 같이 반응에 나쁜 영향을 주지 않는 통상적인 용매중에서 수행한다.

이 환원 반응의 반응 온도는 중요하지 않으며, 반응은 일반적으로 냉각 내지 가열하에 수행된다.

상기에 설명된 합성 방법에 따라 수득된 목적 트리사이클로 화합물(ij)는 통상적인 방법으로, 예를 들어 추출, 침전, 분별 결정화, 재결정화, 크로마토그래피 등의 방법에 따라 분리 및 정제할 수 있다.

화합물(ii) 및 (ij)의 적합한 염에는 약제학적으로 허용되는 염, 예를 들어 알카리금속염(예 : 나트륨염, 칼륨염 등), 알카리토금속염(예 : 칼슘염, 마그네슘염 등), 암모늄염, 아민염(예 : 트리에틸아민염, N-벤질-N-메틸아민염 등) 및 그 밖의 다른 통상적인 유기염과 같은 염기성 염이 포함될 수 있다.

전술한 반응 또는 그 반응 혼합물의 후처리에 있어서, 출발 물질 및 목적 화합물의 비대칭 탄소원자(들) 또는 이중결합(들)에 기인한 컨포머 및/또는 입체이성체(들)는 때때로 다른 컨포머 및/또는 입체이성체(들)로 전환될 수 있음을 주목해야 하며, 이러한 경우도 또한 본 발명의 범위내에 포함된다.

본 발명에서 제조한 트리사이클로 화합물(Ij)는 면역억제활성, 항균활성 등과 같은 약리학적 활성을 가지며, 따라서 심장, 신장, 간, 골수, 피부 등과 같은 기관 또는 조직의 이식에 대한 거부반응, 골수 이식에 의한 이식편대숙주질환, 류마티스성 관절염, 전신성 홍반성 루푸스, 하시모도(Hashimoto) 갑상선염, 다발성 경화증, 중증 근無力증, 타잎 1 당뇨병, 포도막염 등과 같은 자가면역질환 및 병원성 미생물에 의한 감염성질환 등의 치료 및 예방에 유용하다.

본 발명에서 제조된 화합물(Ij)을 함유하는 약제학적 조성물은 활성 성분으로서 본 발명의 트리사이클로 화합물(Ij)을 외용, 내용 또는 비경구 투여에 적합한 유기 또는 무기담체 또는 부형제와 혼합물 상태로 함유하는 약제학적 제제의 형태, 예를 들어 고체, 반고체 또는 액체형태로 사용될 수 있다. 활성 성분은 예를 들어 정제, 펠릿, 캡슐제, 좌제, 용액제, 유제, 현탁제 및 사용하기에 적합한 그 밖의 다른 형태의 제제에 사용되는 일반적인 약제학적으로 허용되는 비독성 담체와 배합될 수 있다. 사용될 수 있는 담체는 물, 글루코스, 락토스, 아라비아 고무, 젤라틴, 만니톨, 전분 페이스트, 마그네슘 트리실리케이트, 활석 옥수수 전분, 케라틴, 콜로이드상 실리카, 감자전분, 우레아 및 고체, 반고체 또는 액체 형태의 제제를 제조하는데 사용하기에 적합한 그 밖의 다른 담체가 있으며, 그 외에도 보조제, 안정제, 농후제 및 착색제 및 향료가 사용될 수도 있다. 활성 목적 화합물은 질병의 진행 정도 또는 상태에 따라 목적하는 효과를 제공하기에 충분한 양으로 약제학적 조성물중에 함유된다.

이 조성물을 인체에 적용하는 경우에, 비경구 또는 장내 투여하는 것이 바람직하다. 트리사이클로 화합물(Ij)의 치료학적으로 유효한 용량은 치료되는 각 환자의 연령 및 상태에 따라 달라지며, 활성성분 약 0.01 내지 1000mg, 바람직하게는 0.1 내지 500mg 및 더욱 바람직하게는 0.5 내지 100mg의 1일 용량이 질환을 치료하기 위해 일반적으로 제시되고, 일반적으로 약 0.5mg, 1mg, 5mg, 10mg, 50mg, 100mg, 250mg 및 500mg의 평균 1회 용량이 일반적으로 투여된다.

다음의 제조에 및 실시에는 본 발명을 설명할 목적으로 주어진 것이다.

[제조예 1]

스트렙토마이세스 프꾸바엔시스 9993(KFCC-10192)의 분리

스트렙토마이세스 프꾸바엔시스 9993는 이하에 기술된 평판희석 기술에 의해 분리된다.

일본국 이바라키켄 프꾸바군 도요사또쵸에서 수집한 토양 약 1g을 멸균 시험관에 넣고 5ml의 용적이 되도록 멸균수를 가진다. 그 후 혼합물을 튜브 부저(tube buzzer)에 의해 10초 동안 혼합하고 10분간 정치시킨다. 상등액을 멸균수로 100배까지 연속 희석한다. 희석용액(0.1ml)를 페트리 접시내의 티아민 하이드로클로라이드를 보강한 자페크(Czapek)한천(사카로스 30g, 질산나트륨 3g, 인산이칼륨 1g, 황산 마그네슘 0.5g, 염화칼륨 0.5g, 황산 제 1철 0.01g, 티아민 하이드로클로라이드 0.1g, 한천20g, 수돗물 1000ml ; pH7.2)상에 산포시킨다. 30℃에서 21일간 배양한 후 플레이트상에 성장한 종식 콜로니를 사면 배지[이스트-액추출물 한천(ISP-배지 2)]에 옮기고 30℃에서 10일간 배양한다. 분리된 콜로니중에서 스트렙토마이세스 프꾸바엔시스 9993(KFCC-10192)이 발견된다.

[발효]

글리세린(1%), 가용성전분(1%), 글루코스(0.5%), 면실 밀(0.5%), 건조 이스트(0.5%), 옥수수침지액(0.5%), 및 탄산칼슘(0.2%)를 함유하는 배양 배지(160ml)(pH 6.5로 조절됨)를 20개의 500ml 에rlenmeyer(Erlenmeyer) 플라스크 각각에 붓고 120℃에서 30 동안 멸균시킨다. 스트렙토마이세스 프꾸바엔시스 9993 인 FERM BP-927의 사면 배양물 1루프를 각 배지에 접종하고 30℃에서 4일 동안 회전 진탕기 상에서 배양한다. 생성된 배양액을 120℃에서 20분 동안 미리 멸균시킨 200ℓ 자(jar)-발효기중의 가용성전분(4.5%), 옥수수침지액(1%), 건조 이스트(1%), 탄산칼슘(0.1%) 및 아데카놀(Adekanol : 소포제, 상표명, 제조원 : Asahi Denka Co.)(0.1%)을 함유하는 배지(150 ℓ)에 접종한 후 150ℓ/분의 통기 및 250rpm의 교반하에 30℃에서 4일동안 배양한다.

[분리 및 정제]

이렇게 수득된 배양 육즙을 규조토(5kg)를 사용하여 여과한다. 균사체 케이크(cake)를 메탄올(50ℓ)로 추출하여 추출액 50ℓ를 수득한다. 균사체로 부터의 메탄올 추출물과 여액을 합하고 비이온성 흡착수지 다리아이온 HP-20(Diaion HP-20)(상품명 : Mitsubishi Chemical Industries Ltd. 제조)(10ℓ)의 칼럼에 통과시킨다. 물(30ℓ) 및 수성메탄올(30ℓ)로 세척한 후 메탄올로 용출시킨다. 용출액을 감압하에 증발시켜 잔류하는 물(2ℓ)을 얻는다. 이 잔류물을 에틸아세테이트(2ℓ)로 추출한다. 에틸아세테이트 추출물을 감압하에 농축하여 오일상 잔류물을 수득한다. 오일상 잔류물을 2배의 중량의 산성 실리카겔(특제 실리카겔 12등급, Fuji Devision Co. 제조)과 혼합하고 혼합물을 에틸아세테이트중에서 슬러리화 한다. 용매를 증발시킨 후 생성된 건조 분말을 n-헥산으로 충전시킨 동일한 산성실리카겔(800ml)상에서 컬럼 크로마토그래피한다. 컬럼을 n-헥산(3ℓ), n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합물(9 : 1v/v, 3ℓ 및 4 : 1v/v, 3ℓ) 및 에틸아세테이트(3ℓ)로 전개시킨다. 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축시켜 오일상 잔류물을 수득한다. 오일상 잔류물을 n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합물(1 : 1v/v, 30ml)에 용해시키고 동일 용매 시스템으로 충전시킨 실리카겔(Merck Co., Ltd 제조, 230-400메쉬)(50ml)상에서 컬럼 크로마토그래피한다.

용출은 n-헥산 및 에틸아세테이트(1 : 1v/v 2ℓ 및 1 : 2v/v, 1.5ℓ)의 혼합물로 수행한다. 제 1목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축하여 황색 오일을 얻는다. 오일상 잔류물을 2배의 중량의 산성 실리카겔과 혼합하고, 이 혼합물을 에틸아세테이트중에서 슬러리화한다. 용매를 증발시킨 후, 생성된 건조 분말을 n-헥산에 의해 충전되고 전개되는 산성 실리카겔상에서 크로마토그래피한다. 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축시켜 조 FR-900506 물질(1054mg)을 백색 분말의 형태로 수득한다.

이 조생성물 100mg을 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)시킨다. 용출은 담체로서 리크로스orb(Si 60(상품명, Merck Co., Ltd 제품)을 사용한 컬럼(8φ×500mm)을 사용하여 수행한다. 이 크로마토그래피는 230nm에서 UV 검출기로 모니터하며, 이동상으로는 5ml/분의 유속으로 메틸렌클로라이드 및 디옥산의

혼합물(85 : 15v/v)을 사용하고, 활성 분획을 수집하여 증발시킨다. 고압 액체 크로마토그래피를 다시 반복수행하여 정제된 FR-900506 물질 14mg을 백색 분말로 수득한다.

또한, 용출을 에틸아세테이트(1.5 l)를 사용하여 계속적으로 수행하여, 제 2의 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에서 농축시켜 조 FR-900525 물질(30mg)을 황색오일 형태로 수득한다.

[제조예 2]

[발효]

글리세린(1%), 옥수수전분(1%), 글루코스(0.5%), 면실 밀(1%), 옥수수침지액(0.5%), 건조 이스트(0.5%) 및 탄산칼슘(0.2%)를 함유하는 예비 배양배지(100ml)(pH 6.5)를 500ml의 에렌마이어 플라스크에 붓고 120℃에서 30동안 멸균시킨다. 스트랩토마이세스 프꾸바엔시스 9993(KFCC-10192)의 사면 배양물 1루프를 배지에 접종하고 30℃에서 4일간 배양한다. 생성된 배양물을 120℃에서 20분 동안 미리 멸균시킨 30 l 자발효기 내의 동일한 예비 배양배지(20 l)에 옮긴다. 배양물을 30℃에서 2일간 배양하고, 이 예비 배양물 16 l를 120℃에서 30분동안 미리 살균시킨 2톤 탱크중의, 가용성전분(4.5%), 옥수수침지액(1%), 건조 이스트(1%), 탄산칼슘(0.1%) 및 아데카놀(소포제, 상표명, Asahi Denka Co.제조)(0.1%)을 함유하는 발효 배지(1600 l)(pH 6.8)에 접종한 후 30℃에서 4일동안 배양한다.

[분리 및 정제]

이렇게하여 수득된 배양 육즙을 규조토(25kg)를 사용하여 여과한다. 균사체 케이크를 아세톤(500 l)으로 추출하여 추출물 500 l를 얻는다. 균사체로부터 얻어진 아세톤 추출물 및 여액(1350 l)을 합하여 비이온성 흡착수지 다이아이온 HP-20(Diaion HP-20)(상품명 : Mitsubishi Chemical Industries Ltd. 제조)(100 l)의 칼럼에 통과시킨다. 물(300 l) 및 50% 수성아세톤(300 l)으로 세척한 후, 용출을 75% 수성 아세톤을 사용하여 수행한다. 용출액을 감압하에 증발시켜 잔류하는 물(300 l)을 얻는다. 이 잔류물을 에틸아세테이트(20 l)로 3회 추출한다. 에틸아세테이트 추출물을 감압하에 농축하여 오일상 잔류물을 수득한다. 오일상 잔류물을 2배의 중량의 산성 실리카겔(특제 실리카겔 그레이드 12등급, Fuji Devison Co. 제품)과 혼합하고, 이 혼합물을 에틸아세테이트중에서 슬러리화 한다. 용매를 증발시킨 후, 생성된 건조 분말을 n-헥산으로 충전시킨 동일한 산성실리카겔(8 l)상에서 컬럼 크로마토그래피한다. 칼럼을 n-헥산(30 l), n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합물(4 : 1v/v, 30 l), 및 에틸아세테이트(30 l)로 전개시킨다. 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축시켜 오일상 잔류물을 얻는다. 오일상 잔류물을 2배의 중량의 산성 실리카겔과 혼합하고 이 혼합물을 에틸아세테이트중에서 슬러리화한다. 용매를 증발시킨 후, 생성된 건조 분말을 n-헥산으로 충전시킨 산성 실리카겔(3.5 l)상에서 재 크로마토그래피한다. 칼럼을 n-헥산(10 l), n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합물(4 : 1v/v, 10ml) 및 에틸아세테이트(10 l)로 전개시킨다. 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축시켜 황색 오일을 수득한다. 이 오일상 잔류물은 n-헥산 및 에틸아세테이트의 혼합물(1 : 1v/v, 300ml)에 용해시키고 동일 용매계로 충전시킨 실리카겔(Merck Co., Ltd 제조, 230-400메쉬)(2 l)상에서 칼럼 크로마토그래피한다.

용출은 n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합물(1 : 1v/v 10 l 및 1 : 2v/v, 6 l) 및 에틸아세테이트(6 l)를 사용하여 수행한다.

제 1목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축하여 FR-900506물질을 백색 분말 형태로 수득한다(34g). 이 백색 분말을 아세토니트릴에 용해시키고 감압하에 농축시킨다. 이 농축물을 5℃에서 밤새 유지시켜 프리즘상 결정(22.7g)을 수득한다. 동일 용매로 재결정화시켜 정제된 FR-900506 물질 (13.6g)을 무색 프리즘상 결정으로 수득한다.

또한, 제 2 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에서 농축시켜 조 FR-900525 물질(314mg)을 황색분말 형태로 수득한다.

[제조예 3]

[발효]

글리세린(1%), 가용성전분(1%), 글루코스(0.5%), 면실 밀(1%), 건조 이스트(0.5%), 옥수수침지액(0.5%), 및 탄산칼슘(0.2%)를 함유하는 배양 배지(160ml)(pH 6.5로 조정된)를 10개의 500ml 에렌마이어 플라스크 각각에 도입시키고 120℃에서 30분 동안 멸균시킨다. 스트랩토마이세스 프꾸바엔시스 9993(KFCC-10192)의 사면 배양물 1루프를 각 배지에 접종하고 30℃에서 4일 동안 회전 진탕기 상에서 배양한다. 생성된 배양물을 120℃에서 20분 동안 미리 멸균시킨 200 l-발효기중의 가용성전분(5%), 땅콩분말(0.5%), 건조 이스트(0.5%), 글루텐 밀(0.5%), 탄산칼슘(0.1%) 및 아데카놀(소포제, 상표명, Asahi Denka Co. 제조)(0.1%)을 함유하는 배지(150 l)에 접종한 다음 150 l/분의 통기 및 250rpm의 교반하에 30℃에서 4일동안 배양한다.

[분리 및 정제]

이렇게하여 수득된 배양 육즙을 규조토(5kg)를 사용하여 여과한다. 균사체 케이크를 아세톤(50 l)을 추출하여 추출물 (50 l)을 수득한다. 균사체로부터의 아세톤 추출물 및 여액(135 l)을 합하여 비이온성 흡착수지 다이아이온 HP-20(상품명 : Mitsubishi Chemical Industries Ltd. 제조)(10 l)의 칼럼에 통과시킨다. 물(30 l) 및 50% 수성아세톤(30 l)으로 세척한 후, 75% 수성 아세톤으로 용출시킨다. 용출액(30 l)을 감압하에 증발시켜 잔류하는 물(2 l)을 수득한다. 이 잔류물을 에틸아세테이트(2 l)로 3회 추출한다. 에틸아세테이트 추출물을 감압하에 농축시켜 오일상 잔류물을 수득한다. 오일상 잔류물을 2배의 중량의 산성 실리카겔(특제 실리카겔 12등급, Fuji Devison Co. 제품)과 혼합하고, 이 혼합물을 에틸아세테이트중에서 슬러리화 한다. 용매를 증발시킨 후, 생성된 건조 분말을 n-헥산으로 충전시킨 동일한 산성실리카겔(800ml)상에서 컬럼 크로마토그래피한다. 이 칼럼을 n-헥산(3 l), n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합물(4 : 1v/v, 3 l), 및 에틸아세테이트(3 l)로 전개시킨다. 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축시켜 오일상 잔류물을 수득한다. 오일상 잔류물을 n-헥산 및 에틸아세테이트의 혼합물(1 : 1v/v, 30ml)에 용해시키고 동일 용매계로 충전시킨 실리카겔(Merck Co., Ltd. 제조, 230-400메쉬)(500m

1)상에서 칼럼 크로마토그래피한다. 용출은 n-헥산 및 에틸아세테이트의 혼합물(1 : 1v/v 2ℓ 및 1 : 2v/v, 1.5ℓ) 및 에틸아세테이트(1.5ℓ)를 사용하여 수행한다.

제 1목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축하여 조 FR-900506 물질(3g)을 황색 분말 형태로 얻는다

또한 제 2목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축시켜 오일상 잔류물을 얻는다. 이 오일상 잔류물을 실리카겔로 재크로마토그래피하여 황색 오일을 얻는다. 이 오일상 잔류물을 2배의 중량의 산성 실리카겔과 혼합하고, 이 혼합물을 에틸아세테이트중에 슬러리화한다. 용매를 증발시킨 후, 생성된 건조 분말을 n-헥산에 의해 충전 및 전개되는 산성실리카겔(100ml)상에서 크로마토그래피한다. 목적 화합물을 함유하는 분획을 수집하고 감압하에 농축하여 FR-900525 물질을 담황색분말(380mg) 형태로 수득한다. 이 분말을 n-헥산 및 에틸아세테이트의 혼합물 (1 : 1v/v, 5ml)에 용해시키고 동일 용매계로 충전 및 세척된 실리카겔(특제 실리카겔 12등급, Fuji Devision Co. 제품)(100ml)상에서 칼럼 크로마토그래피한다. 용출은 에틸아세테이트를 사용하여 수행한다. 황색 분획을 수집하고 감압하에 증발시켜 정제된 FR-900525 물질(230mg)을 백색 분말의 형태로 수득한다.

[실시에 1]

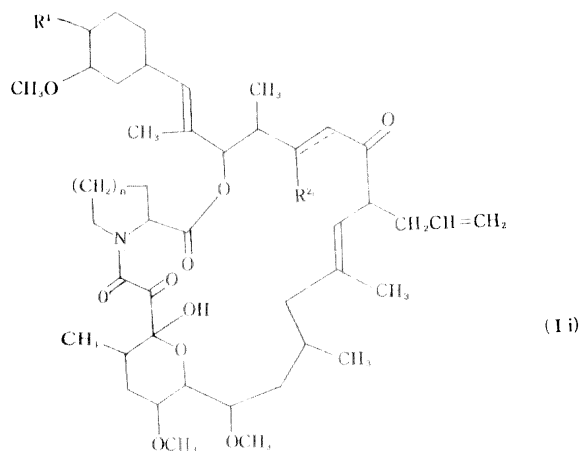
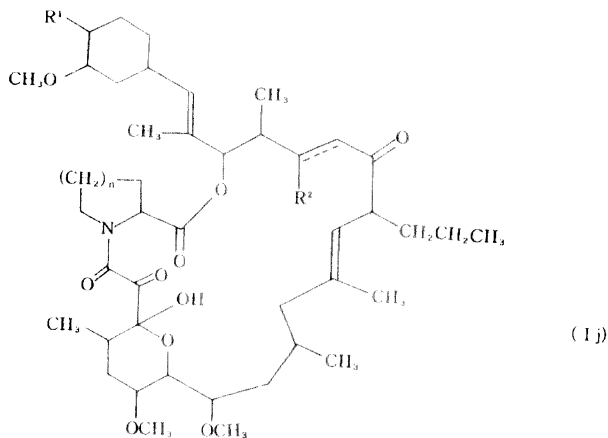
에틸아세테이트(2ml)중의 FR-900506 물질(50mg)의 용액에 대기압하에 실온에서 10% 탄소상 팔라듐(10mg)을 사용하여 20분 동안 촉매적 환원시킨다. 반응 혼합물을 여과하고 여액을 증발 건조시킨 후, 박층 크로마토그래피에 의해 정제한다. 클로로포름 및 아세톤의 혼합물(5 : 1v/v)로 전개하여 1,14-디하이드록시-12[2-(4-하이드록시-3-메톡시사이클로헥실)-1-메틸비닐]-23,25-디메톡시-13, 19,21,27-테트라메틸-17-프로필-11,28-디옥사-4-아자트리사이클로[22.3.1.0^{4,9}]옥타코스-18-엔-2,3, 10, 16-테트라온(50.0mg)을 수득한다.

○ IR ν (CHCl₃) : 3480, 1735(sh), 1717, 1700, 1650(sh), 1625cm⁻¹

(57) 청구의 범위

청구항 1

일반식 (Ii) 화합물 또는 그의 염을 환원시킴을 특징으로 하여 일반식 (Ij) 화합물 또는 그의 염을 제조하는 방법.



상기 식에서, R¹은 하이드록시 또는 보호된 하이드록시이고, R²는 수소, 하이드록시 또는 보호된 하이드록시이며, n은 1 또는 2의 정수이고, 선 및 점선 기호는 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.

