



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0008871
(43) 공개일자 2015년01월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 413/12 (2006.01) *A61K 31/422* (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01) *A61P 31/00* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7031517
- (22) 출원일자(국제) 2013년03월13일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2014년11월10일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2013/055078
- (87) 국제공개번호 WO 2013/167295
국제공개일자 2013년11월14일
- (30) 우선권주장
12167640.7 2012년05월11일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (71) 출원인
폴리켐 에스.에이.
룩셈부르크 엘-1526 발 플레우리 50
- (72) 발명자
가그리아르디 스테파니아
이탈리아 아이-20871 비메르카테 (엠비) 비아 파
시라노 24
콘소니 아레산드라
이탈리아 아이-21012 카사노 마그나고 (브이에이)
비아 마찌니 17
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
정홍식, 이현수, 김태현

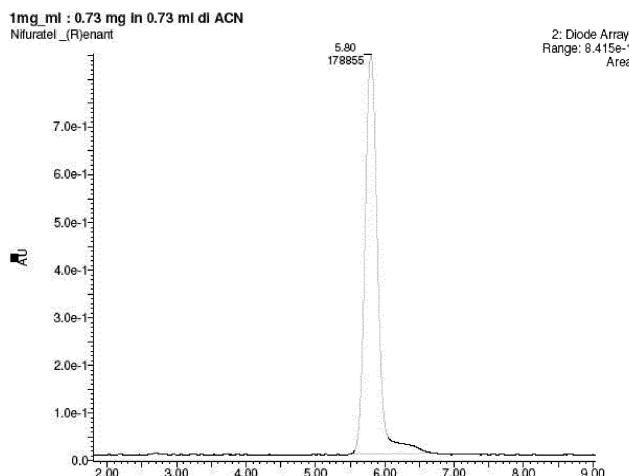
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 (R)-니푸라텔, 그의 감염 치료의 용도 및 (R) 및 (S)-니푸라텔의 합성

(57) 요약

(R)-니푸라텔이 살균성(bactericide) 및 세균 발육 억제제(bacteriostatic agent)의 용도와 함께, 이를 포함하는 약학 조성물로서의 용도로 개시된다; (R)-니푸라텔은 놀랍게도 니푸라텔 라세미체 또는 (S)-니푸라텔보다 더 나은 항균 프로파일을 가짐이 발견되었다. (R)-니푸라텔 및 (S)-니푸라텔의 합성의 새로운 방법 또한 개시된다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

메일랜드 폐데리코

스위스 체하-6900 루가노 스트라다 레지나 10

불게로니 안나

이탈리아 아이-21100 바레세 (브이에이) 비아 지.

자넬라 20

특허청구의 범위

청구항 1

(R)-니푸라텔(Nifuratel).

청구항 2

외부 생식기 감염(external genital infections), 질 감염(vaginal infections), 요로 감염(urinary infections), 위장 감염(gastrointestinal infections), 또는 호흡기 감염(respiratory infections) 치료용 (R)-니푸라텔.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 감염은, 박테리아 또는 원생동물(protozoa)로 인한 것인 (R)-니푸라텔.

청구항 4

제1항에 있어서,

포유동물, 바람직하게 인간에게 투여하기 위한 것인 (R)-니푸라텔.

청구항 5

제4항에 있어서,

0.001 내지 1000 mg/Kg/1일 를 포함하는 투여 계획으로 투여되는 것인 (R)-니푸라텔.

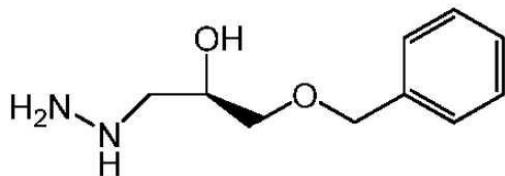
청구항 6

(R)-니푸라텔 및 적어도 약학적 허용가능한 부형제(excipient) 또는 어쥬번트(adjuvant)를 포함하는 약학적 제형.

청구항 7

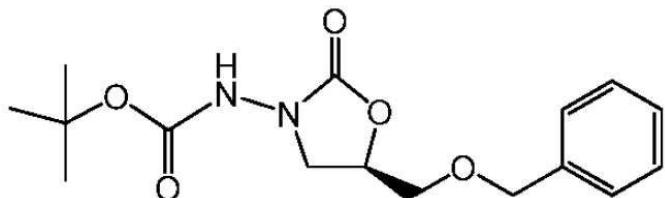
(a) (R)-2-(벤질옥시메틸)옥시란((R)-2-(benzyloxymethyl)oxirane)을 하이드라진(hydrazine)과 반응시켜 화합물 1을 획득하는 단계;

[화합물 1]



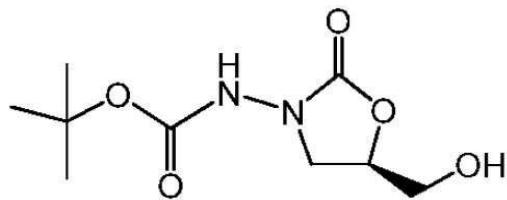
(b) 화합물 1을 화합물 2로 변환시키는 단계;

[화합물 2]



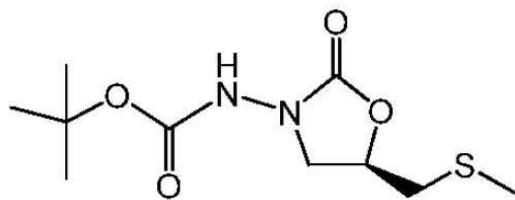
(c) 화합물 2를 탈벤질화(de-benzylating)하여 화합물 3을 획득하는 단계;

[화합물 3]



(d) 화합물 3을 화합물 4로 변환시키는 단계;

[화합물 4]

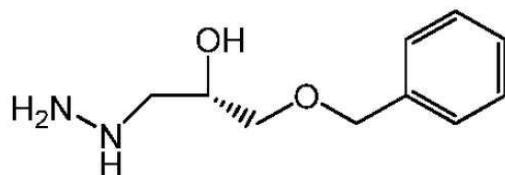


(e) 화합물 4를 (R)-니푸라텔로 변환시키는 단계; 를 포함하는 (R)-니푸라텔 제조방법.

청구항 8

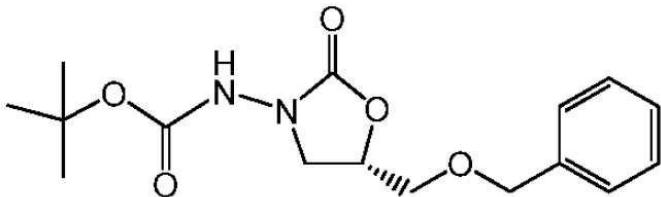
(a)(S)-2-(벤질옥시메틸)옥시란((S)-2-(benzyloxymethyl)oxirane)을 하이드라진과 반응시켜 화합물 1을 획득하는 단계;

[화합물 1]



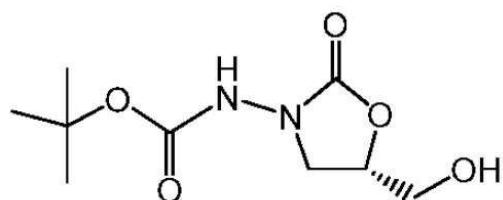
(b) 화합물 1을 화합물 2로 변환시키는 단계;

[화합물 2]



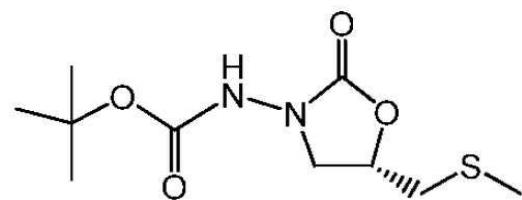
(c) 화합물 2를 탈벤질화하여 화합물 3을 획득하는 단계;

[화합물 3]



(d) 화합물 3을 화합물 4로 변환시키는 단계;

[화합물 4]



(e) 화합물 4를 (S)-니푸라텔로 변환시키는 단계;를 포함하는 (S)-니푸라텔 제조방법.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서,

단계(a)는 30 내지 100°C 사이에서, 바람직하게 90°C에서 수행되는 것인 제조방법.

청구항 10

제7항 또는 제8항에 있어서,

단계(a)는 물과 같은 극성 용매, 또는 바람직하게 순수 조건(neat condition) 하에서 수행되는 것인 제조방법.

청구항 11

제7항 또는 제8항에 있어서,

단계(b)는,

알칼리 또는 알칼리-토 금속 $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$ -알콕사이드, 바람직하게 메톡시나트륨(sodium methoxide) 또는 에톡시나트륨(sodium ethoxide)의 촉매량의 존재 하에서, 화합물 1을 $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$ -디알킬 카보네이트(dialkyl carbonate), 바람직하게 디에틸 카보네이트(diethyl carbonate)와 반응시키고, 카바메이트(carbamate), 바람직하게 터트-부틸 카바메이트(tert-butyl-carbamate)로 자유 아미노기(free amino group)가 보호됨으로써 수행하는 것인 제조방법.**청구항 12**

제11항에 있어서,

화합물 1과 디에틸 카보네이트와의 반응은 순수(neat) 또는 극성 유기 용매, 바람직하게 메탄올, THF, 또는 DMF에서 수행되는 것인 제조방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 자유 아미노기의 보호는, $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$ -알킬 클로로포르메이트(alkyl chloroformate) 또는 $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$ -알킬 카보네이트, 바람직하게 메틸-클로로포르메이트(methyl-chloroformate), 에틸-클로로포르메이트(ethyl-chloroformate) 또는 디-터트-부틸 디카보네이트(di-tert-butyl dicarbonate)와의 반응에 의하여 성취되는 것인 제조방법.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 자유 아미노기의 보호는 극성 유기 용매, 바람직하게 THF 또는 DMF, 바람직하게 100°C보다 낮은 온도에서, 더욱 바람직하게 60 내지 90°C의 온도에서 수행되는 것인 제조방법.

청구항 15

제7항 또는 제8항에 있어서,

단계 (c)는,

적절한 압력, 바람직하게 15 내지 45psi에서 H₂로 상온(room temperature)에서, 탄소 상의 팔라듐(palladium on carbon) 또는 탄소 상의 백금, 바람직하게 탄소 상의 10% 팔라듐과 같은 적절한 탈벤질화 촉매(de-benzylating catalyst)의 존재하에서, 알코올, 바람직하게 C₁-C₄알코올, 더욱 바람직하게 메탄올 또는 에탄올에서 수행되는 것인 제조방법.

청구항 16

제7항 또는 제8항에 있어서,

단계(c)는,

수소 전달 조건(hydrogen transfer condition) 하에서, 적절 온도, 바람직하게 60 내지 90°C 온도에서 화합물 2를 가열시킴으로써, 포름산암모늄(ammonium formate) 및 적절한 탈벤질화 촉매, 바람직하게 탄소 상 10% 팔라듐의 촉매량의 존재 하에서, 적절한 유기 용매, 바람직하게 C₁-C₄ 알코올, 더욱 바람직하게 메탄올 또는 에탄올에서 수행되는 것인 제조방법.

청구항 17

제7항 또는 제8항에 있어서,

단계 (d)는,

화합물 3의 하이드록시기를 우선 관능화(functionalizing)하고, 그 획득된 중간체를 알칼리 또는 알칼리-토금속 티오메톡사이드와 반응시킴으로써 획득되는 것인 제조방법.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 하이드록시기의 관능화는,

화합물 3을 메탄술포닐 클로라이드(methanesulfonyl chloride), 토실클로라이드(tosyl chloride), 트리플루오로메탄술포닐 클로라이드(trifluoromethansulfonyl chloride) 또는 p-니트로벤젠술포닐 클로라이드(p-nitrobenzensulfonyl chloride), 바람직하게 메탄술포닐 클로라이드로, 트리에틸아민과 같은 적절한 염기의 존재 하에서, 적절한 유기 용매, 바람직하게 메틸렌 디클로라이드(methylene dichloride)와 같은 비양자성 유기 용매(aprotic organic solvent)에서 처리함으로써 획득되는 것인 제조방법.

청구항 19

제17항에 있어서,

상기 획득된 중간체는,

알칼리 또는 알칼리-토금속 티오메톡사이드, 바람직하게 소듐 티오메톡사이드(sodium thiometoxide)와, 극성 유기 용매, 바람직하게 DMF에서, 바람직하게 상온(room temperature)에서 반응되는 것인 제조방법.

청구항 20

제7항 또는 제8항에 있어서,

단계(e)는,

화합물 4 카바메이트 탈보호 이후에 5-나트로푸란-2-카르발데히드(5-nitrofuran-2-carbaldehyde)와 반응시킴으로써 획득되는 것인 제조방법.

청구항 21

제20항에 있어서,

카바메이트 탈보호는 비양자성 유기 용매, 바람직하게 THF에 화합물 4가 용해된 용액을 유기 비양자성 용매, 바람직하게 다이옥산(dioxane)에 염화수소(hydrogen chloride) 또는 트리플루오로아세트산(trifluoro acetic acid)가 용해된 용액과 상온(room temperature)에서 반응시킴으로써 성취되는 것인 제조방법.

청구항 22

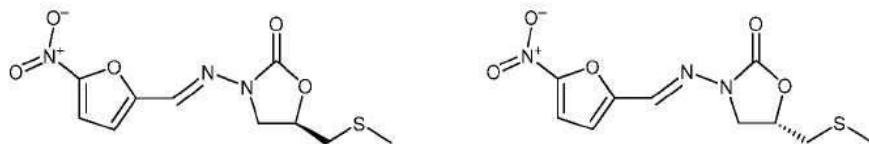
제20항에 있어서,

획득된 중간체는 극성 유기 용매, 바람직하게 알코올, 더욱 바람직하게 C₁-C₄ 알코올, 더더욱 바람직하게 에탄올에서 5-나트로푸란-2-카르발데히드(5-nitrofuran-2-carbaldehyde)와 반응되는 것인 제조방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 (R)-니푸라텔(Nifuratel), (R)-니푸라텔을 포함하는 약학 조성물 및 그 살균성(bactericide) 및 세균 발육 억제제(bacteriostatic agent)의 용도에 대한 것이다. 또한 하기 기재되는 화학식의 (R) 및 (S)-니푸라텔의 새로운 합성 공정을 제공한다.



(R)-Nifuratel (Ia)

(S)-Nifuratel (Ib)

배경기술

[0003] 니푸라텔(CAS 4936-47-4)은 강한 트리코모니시탈 활성(trichomonicidal activity)과 그람-양성 및 그람-음성 개체 모두에 적용되는 넓은 항박테리아 스펙트럼을 갖는 라세미 니트로푸란 유도체이다. 또한 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*) 및 마이코플라스마 종(*Mycoplasma spp.*)에 대한 활성을 갖는다. 니푸라텔은 쥐의 급성 시험에서 비독성인 매우 안전한 독물학상 프로파일을 가지고, 반복되는 경구 및 질내 투여 후에 좋은 내약성이 있다. 기형발생효과가 관측되지 않기에 니푸라텔은 또한 임신 중에도 처방된다. 이 화합물은 현재 외음부질염(vulvo-vaginal infections)의 치료와 헬리코박터 파이로리(*Helicobacter pylori*)의 박멸의 용도로 이용된다. 동일 질병에 사용되는 다른 약품에 대비하여, 니푸라텔 치료동안 내성 현상(resistance phenomena)이 지금까지 보고되지 않았다.

[0004] 니푸라텔 및 그 합성은 GB969126에 개시되고 있다. 중국특허출원 CN101037435A는 에난티오머퓨어 (S)-에피클로로히드린(enantiopure (S)-epichlorohydrine, CAS 67843-74-7)으로부터 개시되고 상기 라세미 니푸라텔 합성을 위하여 개시된 것과 유사한 화학적 경로를 이용하여 (S)-니푸라텔의 제조방법이 개시된다. 상기 동일한 중국 특허출원은 (S)-니푸라텔은 라세미 화합물보다 더 나은 항염증 및 항-진균 활성을 갖는다고 개시한다; 그러나 (R)-니푸라텔의 제조에 관하여는 어떤 정보도 없고, 라세미 화합물의 분할(resolution of the racemic compound)에 의하여 이것이 분리가능함이 개시되지 않는다.

도면의 간단한 설명

[0005] 도 1은 (R)-니푸라텔 (Ia)의 프로파일.

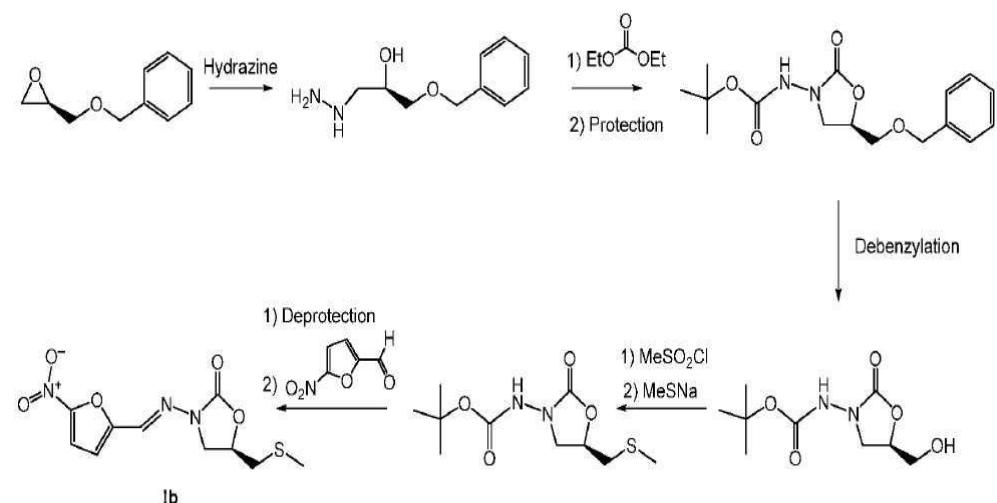
도 2는 (S)-니푸라텔 (Ib)의 프로파일.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0006] 본 발명자는 놀랍게도 첫 번째 단계에서 사용된 시약의 입체화학(stereochemistry)에 의존하여, 순수 (R)- 또는 (S)-니푸라텔 거울상 이성질체(enantiomer) [(R)- 또는 (S)- 5-(메틸티오메틸)-3-((5-니트로푸란-2-일)메틸렌아미노)옥사졸리딘-2-원] ((R)- or (S)-5-(methylthiomethyl)-3-((5-nitrofuran-2-yl)methyleneamino)oxazolidin-2-one])를 생성하는 새로운 합성 반응 시퀀스를 발견하였다. 본 발명자들은 또한 더욱 놀랍게도 (R)-니푸라텔은 니푸라텔 라세미체(nifuratel racemate) 또는 (S)-니푸라텔보다 더 나은 항미생물 프로파일을 가짐을 발견하였다.

[0007] 본 발명의 일 실시예는 그리므로 박테리아 또는 원생동물로 인한 외부 생식기 감염(external genital infections), 질 감염(vaginal infections), 요로 감염(urinary infections), 위장 감염(gastrointestinal infections), 또는 호흡기 감염(respiratory infections)의 치료 용도의 (R)-니푸라텔을 포함한다. 본 발명의 다른 일 실시예는 (R)-니푸라텔 또는 (S)-니푸라텔의 제조 방법을 포함한다. 특히 본 발명의 방법은 (R) 거울상 이성질체 (Ia)의 합성을 위한 도식 1과 (S) 거울상 이성질체 (Ib)의 합성을 위한 도식 2에서의 단계들을 포함한다.

[0008] 도식 1



[0010] 단계(a)로 정의되는 제1 단계는, 화학적으로 이용가능한 (R)-2-(벤질옥시메틸)옥시란((R)-2-(benzyloxymethyl)oxirane)을 히드라진(hydrazine)과 반응시켜 화합물 1을 획득한다. 상기 반응은 적절한 온도, 일반적으로 30 내지 100°C에서, 바람직하게 90°C에서, 히드라진 수화물(hydrazine hydrate)의 초과량, 전형적으로 6 내지 9 등가물을 이용하여 수행된다. 상기 반응은 물과 같은 극성 용매에서, 또는 바람직하게 순수 조건(neat condition)에서 (즉, 어떤 추가적인 용매없이 상기 반응물질에서 반응을 수행함으로써) 수행된다.

[0011] 단계(b)로 정의되는 화합물 1의 화합물 2로의 변환은, 바람직하게 화합물 1의 5-멤버 고리 옥사졸리디논(5-member ring oxazolidinone)으로 우선 고리화(cyclisation)하고 자유 아미노기를 보호함으로써 성취된다. 화합물 1의 상기 5-멤버 고리 옥사졸리디논의 고리화는, 알칼리(alkaline) 또는 알칼리-토금속 C₁-C₄-알콕사이드(alkaline-earth metal C₁-C₄ alkoxide), 바람직하게 소듐 메톡사이드(sodium methoxide) 또는 소듐 에톡사이드(sodium ethoxide)의 촉매량의 존재 하에서, 바람직하게 C₁-C₄-디알킬 카보네이트(C₁-C₄-dialkyl carbonate), 바람직하게 디에틸 카보네이트(diethyl carbonate)와 반응에 의해 성취된다. 상기 반응은 순수 또는 적절한 용매, 바람직하게 메탄올, THF, 또는 DMF와 같은 극성 유기 용매에서 전형적인 가열, 일반적으로 100°C보다 이하의 온

도에서, 바람직하게 60 내지 90°C에서, 상기 용매 의존적으로 수행된다. 화합물 2는 상기 자유아미노기가 카바메이트(carbamate), 바람직하게 터트-부틸-카바메이트(tert-butyl-carbamate)로 보호된 후에 획득된다. 상기 화학적 변형은 상기 화합물을 C₁-C₄-알킬 클로로포르메이트(alkyl chloroformate) 또는 C₁-C₄-알킬 카보네이트, 일반적으로 메틸-클로로포르메이트(methyl-chloroformate), 에틸-클로로포르메이트(ethyl-chloroformate) 또는 디-터트-부틸 디카보네이트(di- tert-butyl dicarbonate)로, 적절한 용매, 바람직하게 THF 또는 DMF와 같은 극성 유기 용매에서, 용매 의존적으로 적절한 온도, 바람직하게 100°C보다 낮은 온도, 바람직하게 60 내지 90°C의 온도에서 처리함으로써 성취된다.

[0012] 화합물 2의 화합물 3으로의 변환, 이를하여 탈-벤질화(de-benzylation) 단계(c)는, 바람직하게 상온(room temperature), 바람직하게 20 내지 25°C에서, 적절한 압력, 바람직하게 15 내지 45psi에서 H₂로, 탄소 상의 팔라듐 또는 탄소 상의 백금과 같은 적절한 탈벤질화 촉매, 바람직하게 탄소 상의 10% 팔라듐의 존재 하에서, 알코올과 같은 적절한 유기 용매, 바람직하게 C₁-C₄-알코올, 더욱 바람직하게 메탄올 또는 에탄올에서 반응시킴으로서 성취되어 화합물 3이 획득된다. 상기 탈벤질화 반응은 수소 전달 조건(hydrogen transfer condition) 하에서, 예를 들어 화합물 2를 암모늄 포르메이트(ammonium formate) 및 적절한 탈벤질화 촉매 존재 하에서, 알코올, 바람직하게 C₁-C₄-알코올, 더욱 바람직하게 메탄올 또는 에탄올과 같은 적절한 유기 용매에서 적절한 온도, 바람직하게 60 내지 90°C에서 가열시킴으로써 획득될 수 있다.

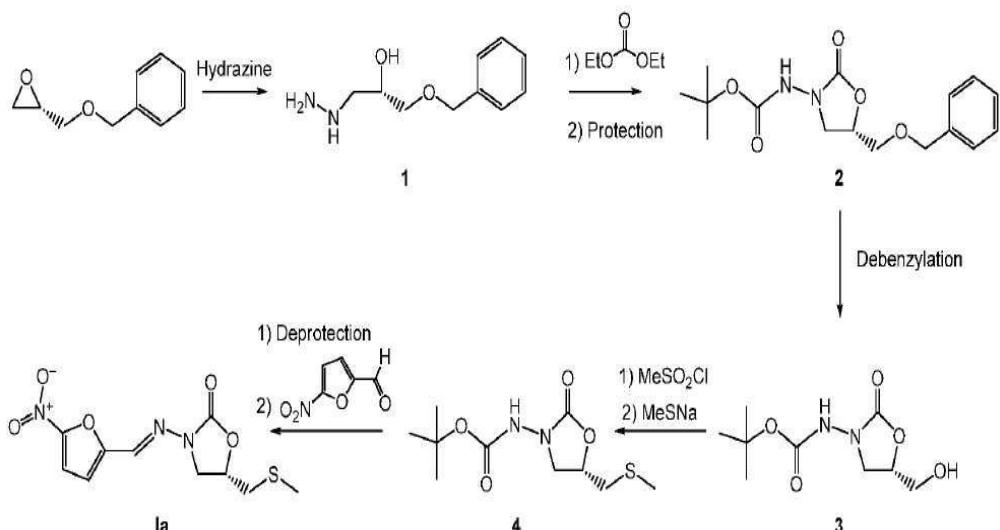
[0013] 단계(d)의 화합물 3의 화합물 4로의 변환은, 바람직하게 상기 히록시기를 우선 관능화(functionalizing)하고 상기 획득된 중간체를 알칼리 또는 알칼리-토금속 티오메톡사이드(alkaline-earth metal thiomethoxide)로 반응시킴으로써 성취된다. 더욱 상세하게, 상기 히드록시기의 관능화는 화합물 3을 메탄술포닐 클로라이드(methanesulfonyl chloride), 토실 클로라이드(tosyl chloride), 트리플루오로메탄술포닐 클로라이드(trifluoromethansulfonyl chloride), 또는 p-나트로벤젠술포닐 클로라이드(p-nitrobenzenesulfonyl chloride), 바람직하게 메탄술포닐 클로라이드로, 트리에틸아민(triethylamine)과 같은 적절한 염기의 존재에서, 적절한 유기 용매, 바람직하게 메틸렌 디클로라이드(methylene dichloride)와 같은 비양자성 유기 용매(aprotic organic solvent)에서 처리함으로써 획득된다. 상기 중간체는 그리고 나서 알칼리 또는 알칼리-토금속 티오메톡사이드, 바람직하게 소듐 티오메톡사이드로, 적절한 유기 용매, 바람직하게 DMF와 같은 극성 유기 용매로 적절한 온도, 일반적으로 상온(room temperature), 더욱 바람직하게 20 내지 25°C에서 반응시킴으로써 화합물 4를 획득한다.

[0014] 단계(e)의 화합물 4의 (R)-니푸라렐로의 변환은, 바람직하게 우선 카바메이트 탈보호(carbamate deprotection) 후에 5-나트로푸란-2-카르발데히드(5-nitrofuran-2- carbaldehyde)와 반응시킴으로써 성취된다. 카바메이트 탈보호는 바람직하게 당업계에 잘 알려진 방법을 통하여 성취되는데, 예를 들어 여기 참조로 통합된, Green's Protective Groups in Organic Synthesis (Fourth Edition) Wiley-Interscience에 개시되어 있다; 바람직하게 적절한 유기 용매, 바람직하게 THF와 같은 비양자성 용매에 화합물 4가 용해된 용액을 적절한 유기 비양자성 용매, 바람직하게 다이옥산(dioxane)에 염화수소(hydrogen chloride) 또는 트리플루오로 아세트산(trifluoro acetic acid)가 용해된 용액을, 적절한 온도, 일반적으로 상온(room temperature), 더욱 바람직하게 20 내지 25°C에서, 적절한 시간동안, 일반적으로 18 내지 96시간 동안 반응시킴으로써 획득된다. 상기 획득되고 적절한 극성 유기 용매, 일반적으로 알코올, 바람직하게 C₁-C₄ 알코올, 바람직하게 에탄올(또는 물과 알코올의 혼합물, 바람직하게 에탄올/물 혼합물)에 용해되는 중간체는 시중에 나와 있는, 적절한 극성 유기 용매, 일반적으로 알코올, 바람직하게 C₁-C₄ 알코올, 바람직하게 에탄올에 용해된 5-나트로푸란-2-카발데히드과, 적절한 시간 동안, 전형적으로 15 내지 60분 동안, 적절한 온도, 바람직하게 상온(room temperature), 더욱 바람직하게 20 내지 25°C에서 반응시켜, 상기 목적의 (R)-니푸라렐(Ia)를 획득한다.

[0015] 상기 기재된 모든 합성 단계의 경우, 일반적인 워크-업 후에, 필요한 경우 통상적인 정제방법, 예를 들어 크로마토그래피, 분쇄(trituration), 결정화 또는 분취용 HPLC(preparative HPLC)에 의하여 조생성물(crude product)이 정제될 수 있다.

[0016] (S)-니푸라렐(Ib)의 합성은 동일한 반응 시퀀스를 이용하여 획득되나, 시중에 나와 있는 (S)-2-(벤질옥시메틸)옥시란((S)-2-(benzyloxymethyl)oxirane)으로부터 시작된다. 완전한 반응 시퀀스는 도식 2에서 나타낸다.

[0017] 도식 2



[0018]

[0019]

필요한 경우, (S)- 및 (R)-니푸라텔의 초과 거울상 이성질체가 적절한 용매, 예를 들어, 아세토니트릴(acetonitrile)/에탄올(1:1)에서 결정화에 의하여 더 증가될 수 있다. 상기 초과 거울상 이성질체는 Chiralcel OJ-RH 150x2.1 mm x 5 μ m와 같은 키랄 HPLC 컬럼(chiral HPLC column)을 이용하여 측정될 수 있다. (도 1: (R)-니푸라텔 (Ia)의 프로파일 및 도 2: (S)-니푸라텔 (Ib)의 프로파일)

[0020]

(R)-니푸라텔은 알려진 방법에 따라 약학적으로 제형될 수 있다. 본 발명의 화합물은 통상적인 방식, 예를 들어, 경구(orally), 정맥내(intravenously), 피하(subcutaneously), 경점막(transmucosally) (구강(buccally), 설하(sublingually), 요도경유(transurethrally), 및 직장(rectally)을 포함), 국소(topically), 경피(transdermally)로, 투여될 수 있고, 또는 다른 투여 경로를 이용하여 투여될 수 있다.

[0021]

(R)-니푸라텔은 알려진 방법에 따라 약학적으로 제형될 수 있다. 상기 약학 조성물은 치료의 기능으로 선택될 수 있다. 상기 조성물은 그들 성분의 적절한 혼합으로 제조되고 경구 또는 비경구(parenteral) 투여를 위하여 적절하게 조정되고; 그들은 정제(tablets), 캡슐(capsules), 경구 제제(oral preparations), 파우더(powders), 그레뉼(granules), 로젠지(lozenges), 재생가능 파우더(regenerable powders), 주사액(liquid injectables) 또는 불용해성 용액(infusible solutions), 혼탁액(suspensions), 에멀젼(emulsions) 또는 좌약(suppositories)으로 제형화될 수 있다. 경구 투여용 정제 및 캡슐은 통상적으로 단일의 투여량 형태로 나타나고, 바인더, 필러, 희석제, 타정제(tabletting agents), 윤활제(lubricants), 계면활성제(detergents), 봉해제(disintegrants), 염료(dyes), 풍미(flavours) 및 습윤제(wetting agents)와 같은 통상적인 부형제(excipient)를 포함할 수 있다. 정제는 당업계에 잘 알려진 방법에 따라 코팅될 수 있다. 적절한 필러는 셀루로오즈, 만니톨, 락토오즈 및 유사 제제를 포함한다. 적절한 봉해제는 전분, 폴리비닐필로리돈(polyvinylpyrrolidone), 및 전분 글리콘산 나트륨과 같은 전문 유도체를 포함한다. 적절한 윤활제는 예를 들어 스테아린산 마그네슘(magnesium stearate)을 포함한다. 적절한 습윤제는 소듐 라우릴설페이트(sodium laurylsulphate)를 포함한다.

[0022]

고형 경구 조성물(Solid oral composition)은 통상적으로 혼합, 필링 또는 압축에 의하여 제조될 수 있다. 상기 혼합 공정을 반복하여 고함량의 필러를 함유하는 조성물에서 상기 활성 성분을 분산시키는 것이 가능하다. 이러한 공정은 통상적이다.

[0023]

액상 경구 제제는 예를 들어 수성 또는 오일 혼탁액 또는 용액, 에멀젼, 시럽 또는 일렉서(elixir)로 제형될 수 있거나, 사용 전 물로 또는 적절한 운반체(vehicle)로 재생되는 동결 건조된 제품으로 나타낼 수 있다. 상기 액상 제제는 혼탁제, 예를 들어 솔비톨, 시럽, 메틸셀룰로오스(methylcellulose), 젤라틴(gelatine), 하이드록시에틸셀룰로오스(hydroxyethylcellulose), 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethylcellulose), 알루미늄 스테아레이트 젠(alluminium stearate gel), 또는 수화된 식용 지방(hydrogenated edible fats), 에멀젼 화제(emulsifying agent), 예를 들어 레시틴(lecithin), 소르비坦 모노올레이트(sorbitan monooleate), 또는 아카시아(acacia); (식용 오일을 포함할 수 있는) 비-수성 베허를(non-aqueous vehicles), 예를 들어 아몬드유(almond oil), 분별된 코코넛유, 글리세린 에스테르와 같은 유상 에스테르(oily esters), 프로필렌 글리콜

(propylene glycol) 또는 에틸 알코올(ethyl alcohol); 보존제, 예를 들어 메틸 또는 프로필 p-하이드록시벤조에이트(methyl or propyl p-hydroxybenzoate) 또는 소르브산(sorbic acid), 및 필요한 경우 통상적인 풍미 및 염료와 같은 통상적인 첨가제를 포함할 수 있다.

[0024] 경구 제형은 장용정(enteric coated tablet) 또는 그레뉼(granule)과 같은 통상적인 서방형 제제 형태(sustained release form)를 포함한다.

[0025] 비경구 투여(parenteral administration)의 경우, 상기 화합물 및 살균 운반체(vehicle)를 포함하는, 유체 복용량 단위(fluid dosage units)로 제조될 수 있다. 상기 선택된 운반체 및 농도에 의존하여 상기 화합물은 혼탁되거나 용해될 수 있다. 비경구 용액은 일반적으로 상기 화합물을 운반체에 용해시키고, 여과에 의하여 멸균하고, 적절한 바이알(vial)에 충진하고 밀봉하여 제조된다. 또한, 국소 마취(local anaesthetic), 보존제 및 버퍼제와 같이 운반체로 적절한 어쥬번트(adjuvant)에서 용해가 가능하다. 안정성을 증가시키기 위하여, 상기 조성물은 상기 바이알에 충진하고 및 진공 하에서 수분 제거한 후에 동결될 수 있다. 비경구 혼탁액은 실질적으로 동일한 방식으로 제조되는데, 상기 화합물이 상기 운반체에 용해되기 보다는 혼탁될 수 있는 점이 다르고, 그들은 상기 멸균 운반체에 혼탁되기 전에 에틸렌 옥사이드(ethylene oxide)로 처리되어 멸균될 수 있다. 또한 상기 조성물 내에 계면활성제(surfactant) 또는 습윤제(wetting agent)를 포함하여 본 발명의 조성물의 균일한 분산이 용이하도록 할 수 있다.

[0026] 본 발명의 조성물은 국소적으로 투여될 수 있다. 국소 제형(Topical formulations)은 예를 들어, 연고(ointment), 크림, 젤, 로션, 용액, 페이스트 또는 이와 유사한 제형을 포함할 수 있고, 및/또는 리포솜, 미셀(micelles), 및/또는 미세구(microspheres)를 포함하도록 제조될 수 있다. 약학 제형으로 당업계에 잘 알려진 연고는 페트로라툼(petrolatum) 또는 다른 페트로리엄 유도체(petroleum derivatives)에 기초하여 전형적으로 반고체 제제(semisolid preparation)이다. 연고의 예시는 채소 오일, 동물로부터 획득되는 지방, 및 페트로리엄으로부터 획득된 반고체 하이드로카본 같은 기름기 연고 베이스(leaginous ointment bases), 하이드록시스테아린 설페이트(hydroxystearin sulfate), 무수화 라놀린(anhydrous lanolin) 및 친수성 페트로라툼(hydrophilic petrolatum)과 같은 유화 연고 베이스(emulsifiable ointment bases), 세틸 알코올(cetyl alcohol), 글리세릴 모노스테아레이트(glyceryl monostearate), 라놀린(lanolin) 및 스테아르산(stearic acid)과 같은 애멸전 연고 베이스, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜로부터 제조되는 수용성 연고 베이스를 포함한다. (참조, e. g. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Twentieth Ed., Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2000) 당업자에게 잘 알려진 크림은 점성액 또는 반고체 애밀전이고, 오일상(oil phase), 유화제(emulsifier), 및 수상(aqueous phase)을 포함한다. 상기 오일상은 일반적으로 페트로라툼(petrolatum) 및 세틸 또는 스테아릴 알코올과 같은 지방산 알코올이 포함된다. 상기 수상(aqueous phase)은 일반적으로 습윤제(humectant)를 포함한다. 상기 크림 제형 내의 유화제는 비이온, 음이온, 양이온 또는 양쪽성 이온성 계면활성제로부터 선택된다. 단일 상 젤(Single-phase gels)은 상기 캐리어 액체 전체에 실질적으로 균일하게 분산된 유기 마크로분자(organic macromolecules)를 포함하여 통상적으로 수성(aqueous)뿐만 아니라, 바람직하게 알코올 및 선택적으로 오일을 포함한다. 바람직한 젤화제(gelling agents)는 가교된 아크릴산 폴리머(예를 들어 "카보머(carbomer)" 폴리머, 예를 들어 Carbopol 상표로 상업적으로 획득 가능한 카르복시폴리알킬렌(carboxypolyalkylenes))이다. 또한 바람직한 것은 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체 및 폴리비닐알코올과 같은 친수성 폴리머; 하이드록시스프로필 셀룰로오스(hydroxypropyl cellulose), 하이드록시에틸 셀룰로오스(hydroxyethyl cellulose), 하이드록시스프로필 메틸셀룰로오스(hydroxypropyl methylcellulose), 하이드록시스프로필 메틸셀룰로오스 프탈레이트(hydroxypropyl methylcellulose phthalate), 및 메틸셀룰로오스(methylcellulose)와 같은 셀루오로스 폴리머; 트래거캔스(tragacanth) 및 잔탄 검(xanthan gum)과 같은 검; 알긴산 나트륨(sodium alginate); 및 켈라틴이다. 균일 젤의 제조의 경우, 알코올 또는 글리세린과 같은 분산제가 첨가될 수 있거나, 젤화제는 분쇄(trituration), 기계적 혼합 및/또는 교반에 의하여 분산될 수 있다.

[0027] 본 발명의 조성물은 또한 경피적 방출(transdermal release)을 통하여 투여될 수 있다. 전형적인 경피 제형은 통상적인 수성 및 비수성 벡터, 예를 들어 크림, 오일, 로션, 또는 페이스트를 포함하거나, 멤브레인 또는 의료용 플래스터(medicated plasters)로서 제공될 수 있다. 일 실시 예에서, 본 발명의 조성물은 피부에 부착되는 압력-민감성 플래스터에서 분산된다. 본 제형은 상기 화합물이 상기 플래스터로부터 피부를 통하여 환자에게 흡수되도록 한다. 진피(cutis)를 통한 혼탁 의약 방출을 획득하기 위하여, 천연 고무 및 실리콘 압력-민감성 접착제로서 사용될 수 있다.

- [0028] 일반적인 실행으로, 상기 조성물은 관련 치료 용도를 위하여 기재 또는 인쇄된 지시문이 수반된다.
- [0029] (R)-니푸라렐의 투여량(dosage)은 환자 및 그 상태, 질환의 진행 정도, 선택된 투여 방식, 매일 투여되는 선택된 회수 등에 따라 널리 다양하다. 참조로서, 0.001 내지 1000 mg/Kg/1일의 용량 범위로 투여될 수 있다.

실험 예

1. 화학적 합성

[0030] 지시되지 않는 한, 모든 개시제(starting reagent)는 시중에 나와있는 것이고 어떤 사전 정제 없이 사용되었다. 본 발명의 화합물은 통상적 합성 과정을 이용하여 순조롭게 제조될 수 있다. 이 반응에서, 당업자에게 잘 알려진 변형체의 이용이 가능하나, 여기에 더 상세히 기재하지는 않는다. 게다가, 본 발명의 화합물의 제조를 위한 다른 방법은 하기 반응 도식 및 예시들의 측면에서 당업자에게 자명할 것이다. 달리 지시하지 않는 한, 모든 변형체들이 상기 정의된 것과 같다. 당업자에 의하여 자명한 것과 같이, 참조는 "유사한" 절차를 이용하여 제조되고, 그러한 절차는 마이너 변형, 예를 들어 반응 온도, 시약/용매 양, 반응 시간, 워크-업 조건 또는 크로마토그래피 정체 조건과 관련될 수 있다.

[0031] 본 명세서에서 사용된 약어는 표 1에 요약되었다.

[표 1]

UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography)	R _t (retention time in minutes)
LC-MS (Liquid Chromatography Mass Spectrum)	ESI (Electro Spray Ionization)
HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	min (minutes)
h (hours)	mmol (millimoles)
μm (micrometers)	μl (microlitres)
TFA (trifluoroacetic acid)	HCl (hydrochloric acid)
psi (pound per square inch)	Pd/C (palladium on carbon)
r.t. (room temperature)	Et ₂ O (diethyl ether)
DCM (dichloromethane)	THF (tetrahydrofuran)
MeOH (methanol)	CH ₃ CN (acetonitrile)
DMSO (dimethylsulfoxide)	AcOEt (ethyl acetate)
DMF (dimethylformamide)	Na ₂ SO ₄ (Sodium sulfate)

[0035] 달리 지시된 것을 제외하고, 모든 온도는 °C(섭씨 온도) 또는 K(켈빈)으로 표현된다.

[0036] 양성자 핵 자기 공명분석 (Proton Nuclear Magnetic Resonance) (¹H-NMR) 스펙트럼은 브루커(Bruker) 300MHz 상에 기록되었다. 화학적 이동(Chemical shift)이 밀리온 부분으로(ppm, δ 단위)로 표현된다. 분할 패턴(Splitting pattern)은 다중도(multiplicities)를 나타내고 s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), quint (quintet), sext (sextet), m (multiplet), br. s (broad singlet)으로 지시된다.

[0037] LC-MS는 다음 조건 하에서 기록되었다:

[0038] **방법 A:** 질량 분석 단일 4중극 ZQ(Mass Spectrometer Single Quadrupole ZQ) (물)로 접속된 Acquity UPLC: ESI 포지티브 모드. 컬럼 Acquity UPLC-BEH C18 (50x2.1 mm, 1.7 μm). 유속 0.5 mL/min, 40°C에서 컬럼.

[0040] 이동상: A 상 = H₂O/CH₃CN 95/5 + 0.1 % TFA; B 상 = H₂O/CH₃CN 5/95 + 0.1 % TFA.

Time (min)	% B	Flow
0.00	5.0	0.5
0.30	8.0	0.5
1.50	100.0	0.5
2.00	100.0	0.5
2.40	5.0	0.5

[0041] [0042] 방법 B. 샘플 매니저를 포함한 UPLC 및 질량 분석 단일 4중극 ZQ(Mass Spectrometer Single Quadrupole ZQ) (물)로 접속된 2996 PDA 디텍터(물). ZQ 인터페이스: ESI 포지티브 모드. 102부터 900 amu까지 전체 스캔. 캐필러리(Capillary) 3.2V, 콘(cone) 25V, 추출기(extractor) 3V, RF 0.3V, 소스 온도 115°C, 탈용매화 온도(desolvation temperature) 350° C, 가스 흐름 800 1/h, 콘(cone) 100 1/h. 컬럼 Acquity UPLC-BEH C18 (50x2.1 mm, 1.7μm). 유속 0.6 mL/min, 40°C에서 컬럼, 주입 2μl.

[0043] 이동상: A 상 = H₂O/CH₃CN 95/5 + 0.1 % TFA; B 상 = H₂O/CH₃CN 5/95 + 0.1 % TFA.

Time (min)	% B
0.00	5.0
0.50	5.0
6.00	100.0
7.00	100.0
7.10	5.0
8.50	5.0

[0044] [0045] 방법 C. 고정상: Chiralcel OJ-RH 150x2.1 mm x 5 μm. 방법: 등용매(isocratic) 70% A, 30% B. 유속: 0.3 mL/min

[0046] 이동상: A 상 = H₂O + 0.1 % 아세트산; B 상 = CH₃CN

[0047] 실시예 1 : S-니푸라填补

[0048] 1A. (S)-3-아미노-5-(벤질옥시메틸)옥사졸리딘-2-원 ((S)-3-amino-5-(benzylloxymethyl)oxazolidin-2-one)

[0049] (S)-2-(벤질옥시메틸)옥시란((S)-2-(Benzylloxymethyl)oxirane)(2.5 g, 15.23 mmol)이 90°C에서 미리 가열된, 히드라진 모노-하이드레이트 (5.44 g, 107 mmol)에 드롭 방식(dropwise)으로 첨가되었다.

[0050] 상기 혼합물을 교반 하에서 30분 동안 환류되었다. 히드라진 하이드레이트의 초과량은 진공(8 mbar) 하에서, 60 °C에서, 6h 동안 증발되었고, 18h 동안 격렬한 자석 교반(vigorous magnetic) 하에 있었다. 상기 획득된 혼성 무색 오일이 드라이 메탄올 (5mL) 및 소듐 메톡사이드(sodium methoxide) (MeOH에서 0.5M, 4.57mL, 2.28mmol)의 용액에서 용해되었고, 그리고 디에틸 카르보네이트(diethyl carbonate) (2.16g, 18.27 mmol)가 드롭 방식으로 첨가되었다. 상기 혼합물은 4시간 30분동안 환류되었다. 용매는 증발되고 플래쉬 실리카-겔 크로마토그래피 (DCM/MeOH = 75:1)에 의하여 조생성물이 정제되고, 목적 화합물(title compound)이 노란색 오일로서 획득되어 스텠딩 상에서 고체화(화이트 고체)되었다(2.074 g, 9.33 mmol). 수율=61%.

[0051] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 7.22–7.44 (m, 5H); 4.56–4.66 (m, 1 H); 4.53–4.56 (m, 2H); 4.52 (s, 2H); 3.62 (t, 1 H); 3.61 (dd, 1 H); 3.56 (dd, 1 H); 3.34 (dd, 1 H).

[0052] LC-MS m/z (ESI⁺): 223.1 (M⁺), R_t = 1.07 분 (방법 A).

1B. (S)-터트-부틸 5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 ((S)-tert-Butyl 5-(benzyloxymethyl)-2-oxooazolidin-3-ylcarbamate)

드라이 THF (20mL)에 (S)-3-아미노-5-(벤질옥시메틸)옥사졸리딘-2-원 (2.06 g, 9.27 mmol)가 용해된 용액에, 다이-터트-부틸 디카르보네이트 (5.06 g, 23.17 mmol)가 첨가되었고, 상기 혼합물은 60°C에서, 질소 분위기 하에서, 6h 동안 교반되었다. 용매가 증발되고 AcOEt가 첨가되었다. 상기 용액은 물로 세척되고, Na₂SO₄로 건조되고 상기 용매는 감소된 압력 하에서 증발되었다. 상기 조생성물은 플래쉬 실리카-겔 크로마토그래피 (DCM/MeOH = 200:1)에 의하여 정제되었다. 두 개의 생성물이 화이트 고체(white solid)로서 분리되었다: 목적 화합물 (1.547 mg, 4.80 mmol)과 (S)-다이터트-부틸5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (829 mg, 1.962 mmol). 수율 = 52% (목적 화합물).

[0055] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 9.31 (br. s, 1 H); 7.27–7.42 (m, 5H); 4.75 (m, 1 H); 4.56 (s, 2H); 3.53–3.80 (m, 3H); 3.44 (t, 1 H); 1.41 (br. s, 9H).

[0056] LC-MS m/z (ESI⁺): 345.1 (MNa⁺), R_t = 1.44 분 (방법 A).

(S)-다이터트-부틸5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트((S)-ditert-butyl 5-(benzyloxymethyl)-2-oxooazolidin-3-ylcarbamate):

[0058] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 7.24–7.43 (m, 5H); 4.77–1.94 (m, 1 H); 4.57 (s, 2H); 3.78 (dd, 1 H); 3.55–3.71 (m, 2H); 3.45–3.55 (m, 1 H); 1.46 (s, 9H); 1.41 (s, 9H).

[0059] LC-MS m/z (ESI⁺): 445.1 (MNa⁺), R_t = 1.73 분 (방법 A).

IC. (S)-터트-부틸 5-(하이드록시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 ((S)-tert-butyl 5-(hydroxymethyl)-2-oxooazolidin-3-ylcarbamate)

[0061] 10% Pd/C (0.761 g, 0.715 mmol)를 갖는, 에탄올 (25 mL)에 (S)-터트-부틸-5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (1.537 g, 4.77 mmol)가 용해된 용액이 40psi에서 18h 동안 수화되었다(hydrogenated). 변환率 약 40% 일어났다. 촉매는 여과되고 프레쉬 10% Pd/C (0.254 g, 0.238 mmol)로 대체되고; 암모늄 포르메이트 (0.752 g, 1.1 .92 mmol)가 첨가되고 상기 반응은 5h 동안 교반되는 동안, 질소 하에서 환류되었다. 변환率 완료되었다. 촉매는 여과되고 상기 용매는 증발되었다. 잔류물을 뜨거운 다이이소프로필 에테르/MeOH (10:1)으로 습제(triturated)되어 상온(room temperature)에서 스텐딩 상에서 침전물로 남겨졌다. 상기 목적 화합물이 화이트 고체 (802 mg, 3.45 mmol)로 획득되었다. 수율=72%.

[0062] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 9.28 (br. s, 1 H); 5.15 (t, 1 H); 4.34–4.65 (m, 1 H); 3.64 (dd, 1 H); 3.48–3.61 (m, 2H); 3.44 (t, 1 H); 1.41 (s, 9H).

[0063] LC-MS m/z (ESI⁺): 255.2 (MNa⁺), R_t = 0.94 분 (방법 A).

[0064] 유사하게, 10% Pd/C (101 mg, 0.095 mmol) 및 암모늄 포르메이트 (119 mg, 1.894 mmol)의 MeOH (2 mL)에 (S)-다이터트-부틸-5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (160 mg, 0.379 mmol)가 용해된 용액에 첨가되었고, 상기 혼합물은 3h 동안 질소 분위기 하에서 환류되었다. 추가 암모늄 포르메이트 (60 mg, 0.947 mmol)가 첨가되고 상기 반응은 70°C에서 교반되었다. 15시간 30분 후에 상기 목적 화합물로의 변환率 완료되었다. 촉매는 여과되었고 상기 여과된 액체는 증발되었다. 점성 고체가 디이소프로필 에테르/MeOH (2:1)으로 습제되고

목적 생성물이 화이트 고체 (71 mg, 0.306 mmol)로 획득되었다. 수율=81%.

[0065] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 9.27 (br. s, 1 H); 5.15 (br. s, 1 H); 4.40-1.74 (m, 1 H); 3.64 (dd, 1 H); 3.48-3.60 (m, 2H); 3.44 (t, 1 H); 1 .41 (s, 9H).

[0066] LC-MS m/z (ESI⁺): 255.1 (MNa⁺), R_t = 0.93 분 (방법 A).

[0067] ID. (S)-터트-부틸 5-(메틸티오메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 ((S)-tert-butyl 5-(methylthiomethyl)-2-oxooxazolidin-3-ylcarbamate)

[0068] DCM (5 mL)에 (S)-터트-부틸 5-(하이드록시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (800 mg, 3.44 mmol)가 용해된 탁한 용액에, 트리에틸아민 (436 mg, 4.31 mmol) 및 메탄술포닐 클로라이드 (493 mg, 4.31 mmol)가 첨가되었고 상기 반응이 상온(room temperature)에서 질소 분위기 하에서 1시간 30분 동안 교반되었다. 상기 대응 메탄술포닐 중간체로의 변환이 완료되었다. 상기 용액이 차가운 구연산(citric acid) (pH=4-5) 및 차가운 브라인(brine)으로 세척되고 유기층이 분리되고 Na₂SO₄으로 건조되었다. 32°C에서 상기 용매의 증발 후 DMF (5mL)에서 용해된 무색의 폼(colourless foam) (980 mg; 수율=92%)이 수득되었다. 소듐 메탄에티올레이트 (Sodium methanethiolate) (302 mg, 4.31 mmol)가 첨가되었고 상기 혼합물은 1시간 동안 60°C에서 교반되었다. 상기 목적 생성물로의 변환이 완료되었다. AcOEt가 첨가되고 상기 용액이 차가운 구연산 (pH=3-4), 그 다음으로 차가운 물과 차가운 브라인으로 세척되었다. 유기층은 Na₂SO₄로 건조되고 용매는 증발되었고, 목적 화합물이 디이소프로필 에테르로부터 화이트 고체(404 mg, 1 .539 mg)로 결정화된 노란색의 점성 고체로 수득되었다. 수율=45%.

[0069] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 9.32 (br. s, 1 H); 4.64-4.86 (m, 1 H); 3.76 (t, 1 H); 3.42 (t, 1 H); 2.83 (dd, 1 H); 2.77 (dd, 1 H); 2.14 (s, 3H); 1 .42 (s, 9H).

[0070] LC-MS m/z (ESI⁺): 285.1 (MNa⁺), R_t = 1 .27 분 (방법 A).

[0071] IE. (S)-3-아미노-5-(메틸티오메틸)옥사졸리딘-2-원 하이드로클로라이드 ((S)-3-amino-5-(methylthiomethyl)oxazolidin-2-one hydrochloride)

[0072] THF (2 mL)에 (S)-터트-부틸 5-(메틸티오메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (374 mg, 1 .426 mmol)가 용해된 용액에, 다이옥산(1 .25 mL, 4.99 mmol)에서의 4M HCl가 첨가되었다. 상기 반응은 4일 동안 상온(room temperature)에서 교반되고 화이트 고체가 침전되었다. 상기 획득 생성물은 여과되고 뜨거운 디이소프로필 에테르로 습제되어 목적 화합물 (240 mg, 1.208 mmol)이 획득되었다. 수율=85%.

[0073] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 4.59-4.83 (m, 1 H); 3.75 (t, 1 H); 3.38 (dd, 1 H); 2.80 (dd, 2H); 2.13 (s, 3H).

[0074] LC-MS m/z (ESI⁺): 163.1 (MKT), R_t = 0.51 분 (방법 A).

[0075] IF. (S)-니푸라렐

[0076] 에탄올/물 (1 :1 ; 3 mL)에 (S)-3-아미노-5-(메틸티오메틸)옥사졸리딘-2-원 하이드로클로라이드 (230 mg, 1.158 mmol)가 분산된 혼탁액에, 에탄올 (2mL)에서 5-니트로푸란-2-카발데히드 (163 mg, 1.158 mmol)의 용액이 교반 하에서 드롭 방식으로 첨가되었다. 상기 용액이 무색으로부터 어두운 노란색으로 변하고 목적 생성물이 노란색 미세 고체로 침전되었다. 30분 후에 상기 생성물이 여과되고, 디이소프로필 에테르로 습제되고 상온(room temperature)에서 진공 하에서 하룻밤 동안 건조되었다. 상기 목적 화합물은 노란색 미세 고체 (303 mg, 1 .062 mmol)로 획득되었다. 수율=92%. [α]_D²⁰ = + 128.2 (c 0.24, CHCl₃)

[0077] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 7.86 (s, 1 H); 7.78 (d, 1 H); 7.15 (d, 1 H); 4.99 (dq, 1 H); 4.10 (t, 1 H); 3.69 (dd, 1 H); 2.86-3.04 (m, 2H); 2.16 (s, 3H).

[0078] LC-MS m/z (ESI⁺): 286.1 (MH⁺), R_t = 1 .25 분 (방법 A).

[0079] LC-MS m/z (ESI⁺): 286.1 (MH⁺), R_t = 2.29 분 (방법 B).

[0080] LC-MS m/z (ESI⁺): 286.0 (MH⁺), R_t = 6.33 분 (방법 C). ee ≥ 99.5 %.

실시 예 2. (R)-니푸라텔

2A. (R)-3-아미노-5-(벤질옥시메틸)옥사졸리딘-2-원 ((R)-3-Amino-5-(benzyloxymethyl)oxazolidin-2-one)

(R)-2-(벤질옥시메틸)옥시란 (2.5 g, 15.23 mmol)이 95°C에서 미리 가열된, 히드라진 모노-하이드레이트 (4.67 g, 91 mmol)에 격렬한 교반 하에서 드롭 방식으로 첨가되었다. 상기 혼합물을 30분 동안 환류되었다. 히드라진 하이드레이트의 초과양이 53°C에서, 3h 동안 진공 하에서 증발되었고 상온(room temperature)에서 18h 동안 격렬한 자석 교반되었다. 점성 무색 오일이 획득되었다. 조생성물이 드라이 MeOH (5 mL) 및 메탄올 (4.6 mL, 2.284 mmol)에서 소듐 메톡사이드 0.5M의 용액에 용해되었고 디에틸 카보네이트 (2.16 g, 18.27 mmol)가 드롭 방식으로 첨가되었다. 상기 혼합물은 6h 동안 환류되었다. 상기 용매는 증발되고 플래쉬 실리카-겔 크로마토그래피 (DCM/MeOH = 75:1)에 의하여 정제된 조생성물이 노란색 오일로 목적 화합물이 획득된 후 화이트 고체 (2.232 g, 10.04 mmol)로 스텐딩상에서 고체화되었다. 수율 = 66%.

[0084] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 7.25-7.42 (m, 5H); 4.56-4.66 (m, 1 H); 4.55 (s, 2H);

[0085] 4.51 (s, 2H); 3.63 (t, 1 H); 3.61 (dd, 1 H); 3.55 (dd, 1 H); 3.34 (dd, 1 H).

[0086] LC-MS m/z (ESI⁺): 223.2 (MH⁺), R_t = 1 .08 분 (방법 A).

2B. (R)-터트-부틸 5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 ((R)-tert-butyl 5-(benzyloxymethyl)-2-oxooxazolidin-3-ylcarbamate)

드라이 THF (20mL)에 (R)-3-아미노-5-(벤질옥시메틸)옥사졸리딘-2-원 (2.069 g, 9.31 mmol)가 용해된 용액에, 디-터트-부틸 디카르보네이트 (2.337 g, 10.71 mmol)가 첨가되었고 상기 혼합물은 60°C에서, 질소 분위기 하에서, 12h 동안 교반되었다.

(R)-터트-부틸 5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (메인 생성물) 및 (R)-다이터트-부틸 5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (마이너 생성물)의 혼합물이 획득되었다. 용매가 증발되고 AcOEt 가 첨가되었다. 유기총이 5% 구연산, 소듐 바이카보네이트 (수성 포화된 용액) 및 브라인으로 세척되고 Na₂SO₄으로 건조되고 감소된 압력 하에서 증발되었다. 조생성물은 플래쉬 실리카-겔 크로마토그래피 (DCM/MeOH=250:1 to 100:1)로 정제되었다. 목적 화합물이 화이트 고체 (1 .946 g, 6.04 mmol)로서 수득되었다. 수율=65%.

[0090] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 9.31 (br. s, 1 H); 7.23-7.50 (m, 5H); 4.63-4.96 (m, 1 H); 4.56 (s, 2H); 3.52-3.87 (m, 3H); 3.44 (t, 1 H); 1 .41 (br. s, 9H).

[0091] LC-MS m/z (ESI⁺): 345.2 (MNa⁺), R_t = 1.45 분 (방법 A).

[0092] 상기 마이너 생성물 (R)-다이터트-부틸 5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트가 회복되어 특정되었다(283 mg, 0.670 mmol). 수율=7%.

[0093] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 7.22-7.46 (m, 5H); 4.77-1.95 (m, 1 H); 4.57 (s, 2H);

[0094] 3.78 (dd, 1 H); 3.54-3.71 (m, 2H); 3.51 (t, 1 H); 1 .46 (s, 9H); 1 .41 (s, 9H).

[0095] LC-MS m/z (ESI⁺): 445.2 (MNa⁺), R_t = 1.73 분 (방법 A).

2C. (R)-터트-부틸 5-(하이드록시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 ((R)-tert-butyl 5-(hydroxymethyl)-2-oxooazolidin-3-ylcarbamate)

[0097] 에탄올 (25mL)에 (R)-터트-부틸 5-(벤질옥시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (1.908 g, 5.92 mmol) 및 10% Pd/C (315 mg, 0.296 mmol)가 분산된 혼탁액에, 암모늄 포르메이트 (933 mg, 14.80 mmol)가 첨가되고 상기 반응이 질소 분위기 하에서 3시간 30분 동안 교반되는 동안 환류되었다. 상기 촉매는 여과되고 용매는 증발되었다. 잔류물이 디이소프로필 에테르:MeOH = 10:1로 습제되었다. 목적 화합물이 화이트 고체 (852 mg, 3.67 mmol)로 획득되었다. 수율=62%.

[0098] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 9.27 (br. s, 1 H); 5.15 (t, 1 H); 4.26-4.68 (m, 1 H); 3.64 (dd, 1 H); 3.47-3.61 (m, 2H); 3.44 (t, 1 H); 1 .41 (s, 9H).

[0099] LC-MS m/z (ESI⁺): 255.1 (MNa⁺), R_t = 0.93 분 (방법 A).

2D. (R)-터트-부틸 5-(메틸티오메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 ((R)-tert-butyl 5-(methylthiomethyl)-2-oxooazolidin-3-ylcarbamate)

[0101] DCM (10mL)에 (R)-터트-부틸 5-(하이드록시메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (840 mg, 3.62 mmol)가 용해된 탁한 용액에, 트리에틸아민 (458 mg, 4.52 mmol) 및 메탄솔포닐 클로라이드 (518 mg, 4.52 mmol)가 첨가되었고 상기 반응은 상온(room temperature)에서 질소 분위기 하에서 2시간 30분 동안 교반되었다. 상기 용액은 차가운 물 (pH=7-8 초래), 차가운 구연산 (pH=4-5 초래) 및 차가운 브라인으로 세척되었다. 상기 유기층은 Na₂SO₄으로 건조되고 증발되고 잔류물 (베이지 폼, beige foam)이 디이소프로필 에테르로 습제되고, (S)-(3-터트-부톡시카르보닐아미노)-2-옥소옥사졸리딘-5-일)메틸 메탄솔포네이트 ((S)-(3-(tert- butoxycarbonylamino)-2-oxooazolidin-5-yl)methyl methanesulfonate) (1.055 g, 3.40 mmol)가 화이트 고체로서 획득되어, 7mL DMF에서 용해되었다. 소듐 메탄티오레이트 (317 mg, 4.52 mmol)가 상기 용액에 첨가되고 상기 혼합물이 60°C에서 3h 동안 교반되었다. AcOEt가 첨가되고 상기 용액은 차가운 물, 차가운 구연산 (pH=6까지) 및 차가운 브라인으로 세척되었다. 상기 유기층은 Na₂SO₄으로 건조되고 노란색 오일이 남도록 증발되었다. 목적 화합물은 결정화에 의하여 디이소프로필 에테르로부터 화이트 고체로서 침전되고, Buchner (429 mg, 1.635 mmol) 상에서 여과되어 회복되었다. 수율=45%.

[0102] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 9.32 (br. s, 1 H); 4.75 (dq, 1 H); 3.76 (t, 1 H); 2.83 (dd, 1 H); 2.77 (dd, 1 H); 2.14 (s, 3H); 1 .42 (s, 9H).

[0103] LC-MS m/z (ESI⁺): 285.1 (MNa⁺), R_t = 1.24 분 (방법 A).

2E. (R)-3-아미노-5-(메틸티오메틸)옥사졸리딘-2-원 하이드로클로라이드 ((R)-3-Amino-5-(methylthiomethyl)oxazolidin-2-one hydrochloride)

[0105] THF (3 mL)에 (R)-터트-부틸 5-(메틸티오메틸)-2-옥소옥사졸리딘-3-일카바메이트 (429 mg, 1 .63 mmol)가 용해된 용액에, 다이옥신 (1.022 mL, 4.09 mmol)에 4M HCl가 용해된 용액이 첨가되었다. 상기 반응은 질소 분위기 하에서 하룻밤 동안 상온(room temperature)에서 교반되었다. 변환이 완료되었다. 화이트 고체로 침전된 목적 화합물이 여과되어 디이소프로필 에테르로 세척되고 진공 하에서 건조되었다 (260 mg, 1.31 mmol). 수율=80%.

[0106] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 4.67–4.84 (m, 1 H); 3.81 (t, 1 H); 3.43 (dd, 1 H); 2.85 (dd, 1 H); 2.79 (dd, 1 H); 2.13 (s, 3H).

[0107] LC-MS m/z (ESI⁺): 163.1 (MKT), R_t = 0.56 분 (방법 A).

2F. (R)-니푸라텔

[0108] [0109] 에탄올/물 (1 : 1 ; 3 mL)에 (R)-3-아미노-5-(메틸티오메틸)옥사졸리딘-2-원 하이드로클로라이드(248 mg, 1.248 mmol)가 분산된 혼탁액에, 에탄올 (2.5mL)에 5-니트로푸란-2-카발데히드 (176 mg, 1.248 mmol)가 용해된 용액이 교반 하에서 드롭 방식으로 첨가되었다. 상기 용액은 무색에서 어두운 노란색으로 변환되었고 노란색 미세 고체로 침전물이 생성되었다. 20분 후 상기 생성물이 여과되어 디이소프로필 에테르로 습제되고 상온(room temperature)에서 하룻밤 동안 그리고 40°C에서 4h 동안 진공 하에서 건조되었다. 목적 화합물은 노란색 파우더로 획득되었다 (335 mg; 1.174 mmol). 수율=94%.

[0110] [α]D²⁰ = -106.2 (c 0.26, CHCl₃)

[0111] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆, 303 K) δ : 7.86 (s, 1 H); 7.78 (d, 1 H); 7.15 (d, 1 H); 4.99 (dq, 1 H); 4.10 (t, 1 H); 3.69 (dd, 1 H); 2.83–3.04 (m, 2H); 2.16 (s, 3H).

[0112] LC-MS m/z (ESI⁺): 286.2 (MH⁺), R_t = 1.25 분 (방법 A).

[0113] LC-MS m/z (ESI⁺): 286.04 (MH⁺), R_t = 2.28 분 (방법 B).

[0114] LC-MS m/z (ESI⁺): 285.97 (MH⁺), R_t = 5.80 분 (방법 C). ee ≥ 98 %.

항균 활성(ANTIMICROBIAL ACTIVITY)

[0116] 거울상 이성질체(enantiomers)의 활성 테스트를 위하여 사용된 미생물:

[0117] 마이크로코커스 피오게네스(Micrococcus pyogenes) (ATCC 11631), 바실러스 서브틸러스(Bacillus subtilis) (ATCC 11774), 락토바실러스 이너스(Lactobacillus iners)(ATCC 55195), 대장균(Escherichia coli) (ATCC 11775), 프로테우스 미라빌리스(Proteus mirabilis) (ATCC 14153), 클레브시엘라 뉴모니에(Klebsiella pneumoniae) (ATCC 10031), 시겔라 소네이(Shigella sonnei) (ATCC 11060), 나이세리아 고노르호애(Neisseria gonorrhoeae) (ATCC 19424), 살모넬라 티피무리움(Salmonella typhimurium) (ATCC 14028), 살모넬라 파라타이 피 B (Salmonella paratyphi B) (ATCC 10719), 헬리코박터 파이로리(Helicobacter pylori) (ATCC 43504) 및 질 아토포비옴(Atopobium vaginae)의 몇몇 균주(strain)들 및 가르드네렐라 바기날리스(Gardnerella vaginalis).

제조 및 보존

[0119] 균주들은 동결 건조된 펠릿으로부터 준비되었다. 상기 (상기 균주 순도 테스트용) 혼탁액의 분리 및 균주 대규모 성장이 아가 메디아(agar media)에서 미생물 혼탁액을 스트리킹(streaking)함으로써 만들어졌다. 상기 아가 플레이트 상의 박테리아 콜로니를 3–5 mL의 특정 액체 메디움 + 15% 글리세롤로 수거하고 시험 표본(aliquots)이 -80°C에서 동결되었다.

[0120] 화합물 최소 저지 농도 (Compounds Minimal Inhibitory Concentration , MIC)가 CLSI (National Committee for Clinical Laboratory Standards) M07-A8 및 M11-A7 참조로 발전된 방법으로 브로스 마이크로-희석 민감성 테스트(broth micro-dilution susceptibility)를 통하여 결정되었다. 분석이 특정 배지에서 수행되었다. 상기 테스트가 다음의 상기 브로스 마이크로희석 에세이(assay) 또는 아가 희석 에세이로 수행되었다. 화합물 스톡

용액(Compounds stock solution)이 DMSO 100%에서 12.8 mg/mL으로 제조되었다. 두 배 희석액이 균주 특이적 브로스를 이용하여 제조되었다. 최종 농도는 1 % DMSO에서 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 였다. MIC는 어떤 가시적 성장을 예방하는 항박테리아제의 가장 낮은 농도로 정의된다.

[표 2]

	성장 배지	배양
Gram 양성 균	<i>Micrococcus pyogenes</i>	Nutrient agar Nutrient broth 37°C 24 h aerobic
	<i>Bacillus subtilis</i>	Nutrient agar Nutrient broth 30°C 48 h aerobic
	<i>Lactobacillus iners</i>	Columbia agar + 5%sheep blood ATCC 1885 NYC III 35°C 48-72 h microaerobic 5% CO ₂
	<i>Afopobium vaginalae</i>	Chocolate agar BHI broth 37°C 72 h anaerobic
Gram 음성 균	<i>Escherichia coli</i>	Nutrient agar Nutrient broth 37°C 24 h aerobic
	<i>Proteus mirabilis</i>	Nutrient agar Nutrient broth 37°C 48 h aerobic
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nutrient agar Nutrient broth 37°C 48 h aerobic
	<i>Shigella sonnei</i>	Nutrient agar Nutrient broth 37°C 48 h aerobic
	<i>Helicobacter pylori</i>	Trypticase soy agar + 5% sheep blood Brucella broth 37°C 72 h microaerobic
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Nutrient agar Nutrient broth 37°C 24 h aerobic
	<i>Salmonella paratyphi B</i>	Nutrient agar Nutrient broth 37°C 24 h aerobic
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Columbia agar + 5% sheep blood BHI broth 37°C 24-48 h microaerobic 5% CO ₂
그람 가변 (GRAM VARIABLE)		
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Columbia agar + 5% sheep blood Mueller Hinton + 5% sheep blood	35°C 48-72 h anaerobic

[0122]

상기 실시예에서 제조된, 니푸라텔 거울상 이성질체는 상기 기재된 방법에 의하여 항 그람 양성 및 음성 활성으로 측정되고 니푸라텔 라세미체에 의하여 나타난 MIC와 비교되었다.

[표 3] 상기 브로스 마이크로회석법에 의하여 획득된 MIC 수치

그람 양성	니푸라텔 라세미체	S-니푸라텔	R-니푸라텔
<i>Micrococcus pyogenes</i> ATCC 11631	1	1	2
<i>Bacillus subtilis</i>	0.5	1	0.25
<i>Lactobacillus iners</i> ATCC 55195	16	32	16
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	2	4	2
그람 음성			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	1	2	1
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	8	8	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	2	4	2
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 11060	1	4	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 19424	0.25	0.5	0.25
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	4	8	2
<i>Salmonella paratyphi B</i> ATCC 10719	2	4	1
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504	0.125	0.25	0.125

[표 4] 아가 회석법에 의하여 획득된 MIC 수치

<i>Atopobium vaginiae</i>	니푸라텔 라세미체	S-니푸라텔	R-니푸라텔
CCUG 48515	1	1	0.5
CCUG 55226	1	1	1
CCUG 42099	0.5	0.5	0.25
CCUG 44156	0.5	0.25	0.25
CCUG 39382	0.25	0.25	0.125
CCUG 38953	0.125	0.25	0.25
CCUG 43049	0.25	0.5	0.25
CCUG 55227	0.25	0.5	0.25
CCUG 44061	0.5	0.125	0.25
<i>Gardnerella vaginalis</i>	니푸라텔 라세미체	S-니푸라텔	R-니푸라텔
ATCC 14018	2	2	1
C2	8	8	4
D2	4	2	4
E2	2	2	1
G2	2	1	2
H2	1	2	1
J2	2	4	2
K2	4	4	4

[0127] 양 거울상 이성질체는 니푸라텔 라세미체에 대하여 비교할만한 활성을 보유하였다. 전반적으로, (R)-니푸라텔은 니푸라텔 라세미체 또는 (S)-니푸라텔과 비교할 때 더 나은 항균 프로파일을 보여줬다.

2. S- 및 R-니푸라텔의 팫 약동학 프로파일 (PAT PHARMACOKINETIC PROFILE)

[0129] S- 및 R-니푸라텔의 약동학 프로파일은 수컷 쥐에 정맥 투여 (2mg/kg) 및 경구 위관 영양(oral gavage) (15mg/kg) 후에 측정되었다.

[0130] 상기 약동학 데이터의 비 구획 분석 (WinNonLin 5.1)에 의하여 획득된 결과는 니푸라텔 라세미체 데이터와 함

께 표에서 평균으로 보고된다.

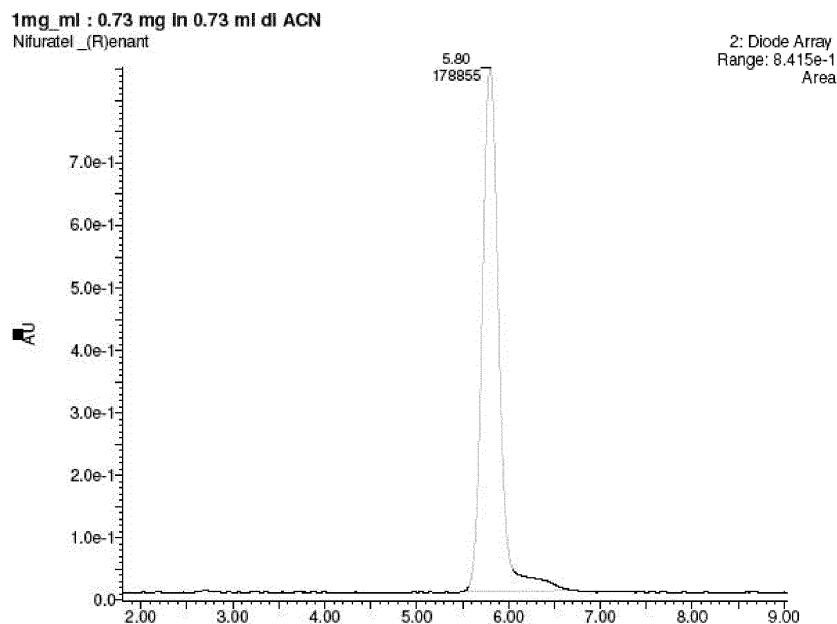
IV (2mg/Kg)	니푸라텔 라세미체	S-니푸라텔	R-니푸라텔
T _{1/2} (min)	24	8	11
T _{max} (min)	2	2	2
C _{max} (ng/ml)	555	1148	4194
T _{last} (min)	120	53	75
C _{last} (ng/ml)	5	5	43
AUC _{last} (min*ng/ml)	7348	9969	44370
AUC _{inf} (min*ng/ml)	7526	10022	44983
Cl (ml/min/kg)	267	203	49
MRT (min)	13	4	7
V _{ss} (l/kg)	4.5	0.9	0.4
XOS (15mg/kg)	니푸라텔	S- 니푸라텔	R- 니푸라텔
T _{1/2} (min)	182	na	236
T _{max} (min)	30	5	5
C _{max} (ng/ml)	8	6	34
T _{last} (min)	240	480	480
C _{last} (ng/ml)	3	3	3
AUC _{last} (min*ng/ml)	1218	1958	4008
MRT (min)	109	na	4944
Mean Fpo (%)	2.2	2.6	1.2

[0132]

S- 및 R-니푸라텔은 2mg/kg 정맥 투여와 15 mg/Kg 경구 투여에서 니푸라텔 라세미체에 비교하여 더 나은 약동학 프로파일을 보여주고, 더 느린 클리어런스(slower clearance) 및 더 높은 Cmax 및 AUC를 보여준다. 전반적으로, R-니푸라텔은 경구와 정맥 투여 모두에서 가장 좋은 약동학 프로파일을 보여주었다.

도면

도면1



도면2

