



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년09월03일

(11) 등록번호 10-0754236

(24) 등록일자 2007년08월27일

(51) Int. Cl.

C07F 7/18 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2002-7004033

(22) 출원일자 2002년03월28일

심사청구일자 2005년09월23일

번역문제출일자 2002년03월28일

(65) 공개번호 10-2002-0029796

공개일자 2002년04월19일

(86) 국제출원번호 PCT/US2000/026445

국제출원일자 2000년09월27일

(87) 국제공개번호 WO 2001/23395

국제공개일자 2001년04월05일

(30) 우선권주장

09/408,830 1999년09월29일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현

US 05362718

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 35 항

심사관 : 김동석

(54) 라파마이신 유도체의 지향선택적 합성방법

(57) 요 약

본 발명은 라파마이신의 42-에스테르 또는 에테르와 31-실릴 에테르 중간체의 지향선택적 제조방법을 제공한다.

(72) 발명자

누렐멩라자크

캐나다취4두블베르2익스6퀘벡브로사르튀르네7360

칠글로리아카렌

캐나다아쉬8빼3떼3퀘벡라잘아래비소브8213

포르티에쥬느비에브캐나다아쉬3제드1엠드2퀘벡웨스트마운트볼르바르드
메종뇌브퀘스트#2234800

(56) 선 행 기술 조사 문현

US 05387680

US 05563145

(81) 지정국

국내특허 : 아랍에미리트, 안티구와바부다, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 벨리제, 캐나다, 스위스, 중국, 코스타리카, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 도미니카, 알제리, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그라나다, 그루지야, 가나, 감비아, 크로아티아, 헝가리, 인도네시아, 이스라엘, 인도, 아이슬랜드, 일본, 캐냐, 키르키즈스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 모로코, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 모잠비크, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투칼, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 시에라리온, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니아드토바고, 탄자니아, 우크라이나, 우간다, 우즈베키스탄, 베트남, 세르비아 앤 몬테네그로, 남아프리카, 짐바브웨

AP ARIPO특허 : 가나, 감비아, 캐냐, 레소토, 말라위, 모잠비크, 수단, 시에라리온, 스와질랜드, 탄자니아, 우간다, 짐바브웨

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르키즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기니, 기니비사우, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

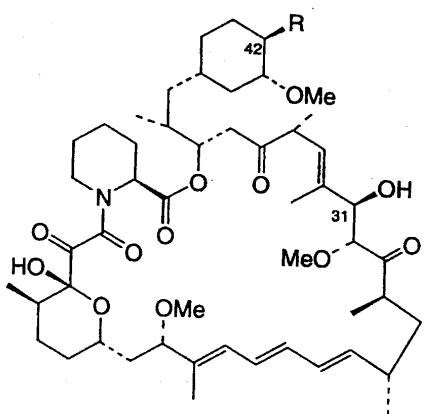
청구항 2

라파마이신을 0 내지 5°C에서 실릴화제로 처리하여 라파마이신 31,42-비스-실릴 에테르를 생성시키는 단계(a),
상기 31,42-비스-실릴 에테르를 0 내지 5°C에서 끓은 산에서 가수분해시켜 라파마이신 31-실릴 에테르를 제공하는 단계(b),

라파마이신 31-실릴 에테르를 적당한 에스테르화 시약 또는 에테르화 시약과 0°C 미만의 온도에서 반응시켜 라파마이신 31-실릴 에테르 42-에스테르 또는 에테르를 생성시키는 단계(c) 및

라파마이신 31-실릴 에테르 42-에스테르 또는 에테르를 -5 내지 10°C에서 끓은 산에서 가수분해시켜 목적하는 라파마이신 42-에스테르 또는 에테르를 제공하는 단계(d)를 포함하는, 다음 화학식 I의 라파마이신의 42-에스테르 또는 에테르의 제조방법.

화학식 I



위의 화학식 I에서,

R은 에스테르 또는 에테르이다.

청구항 3

제2항에 있어서, 화학식 I의 화합물에서

R¹⁰] (i) -O-C(=O)R⁷R⁸R⁹(즉, 에스테르) 및 (ii) -OR¹(즉, 에테르)로부터 선택되고, 여기서,

R⁷은 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 2 내지 7의 알케닐, 탄소수 2 내지 7의 알키닐, -(CR³R⁴)_fOR¹⁰, -CF₃
또는 -F이고;

R⁸과 R⁹는 각각 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬 또는 -(CR³R⁴)_fOR¹⁰이거나, R⁸과 R⁹는 함께 X를 형성할 수도 있고,

R¹⁰은 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 2 내지 7의 알케닐, 탄소수 2 내지 7의 알키닐, 트리페닐메틸, 벤질, 탄소수 2 내지 7의 알콕시메틸, 클로로에틸 또는 테트라하이드로파라닐이고,

X는 5-(2,2-디-(탄소수 1 내지 6의 알킬))[1,3]디옥산일, 5-(2-스피로(탄소수 3 내지 8의 사이클로알킬))[1,3]디옥산일, 4-(2,2-디-(탄소수 1 내지 6의 알킬))[1,3]-디옥산일, 4-(2-스피로(탄소수 3 내지 8의 사이클로알킬))[1,3]디옥산일, 4-(2,2-디-(탄소수 1 내지 6의 알킬))[1,3]-디옥살란일 또는 4-(2-스피로(탄소수 3 내지 8의 사이클로알킬))[1,3]디옥살란일이고,

R^3 과 R^4 는 각각 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 2 내지 7의 알케닐, 탄소수 2 내지 7의 알키닐, 트리플루오로메틸 또는 -F이며,

f는 0 내지 6이고,

단, R이 하나 이상의 $-(CR^3R^4)_fOR^{10}$ 또는 X 그룹을 함유하고,

R^1 은 알킬, 티오알킬, 아릴알킬, 하이드록시알킬, 디하이드록시알킬, 하이드록시알킬아릴알킬, 디하이드록시알킬아릴알킬, 알콕시알킬, 아실옥시알킬, 아미노알킬, 알킬아미노알킬, 알콕시카보닐아미노알킬, 아실아미노알킬, 아릴설폰아미도알킬, 알릴, 디하이드록시알킬알릴, 디옥솔란일알릴 또는 카브알콕시알킬이고, 여기서, "알크(alk-)" 또는 "알킬"은 측쇄형 또는 직쇄형 C_{1-6} 알킬이고, 탄소 쇄는 에테르(-O-) 결합에 의해 차단될 수 있고, "아실"은 알킬카보닐이며, "아릴"은 6 내지 10개의 탄소원자를 함유하는 제조방법.

청구항 4

제3항에 있어서, R^1 이 하이드록시알킬, 하이드록시알콕시알킬, 아실아미노알킬 및 아미노알킬로부터 선택되는 제조방법.

청구항 5

제4항에 있어서, R^1 이 2-하이드록시에틸, 3-하이드록시프로필, 2-[(2-하이드록시)에톡시]에틸 및 2-아세트아미노에틸로부터 선택되는 제조방법.

청구항 6

제2항에 있어서, 화학식 I의 화합물에서 R이 2,2-비스(하이드록시메틸)프로파이오닐옥시 또는 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카보닐옥시인 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 에스테르화 단계(c)가 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산 클로라이드 또는 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산의 2,4,6-트리클로로벤조일 혼합 무수물을 사용하여 수행되는 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 메틸렌 클로라이드를 포함하는 용매 속에서 수행되는 제조방법.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, -20°C 내지 -15°C 의 온도에서 수행되는 제조방법.

청구항 10

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(d)의 산이 묽은 무기산인 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 산이 황산, 염산 또는 인산인 제조방법.

청구항 12

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(d)에서 사용되는 산이 0.1N 내지 3N인 제조방법.

청구항 13

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(d)에서 사용되는 산이 0.2N 내지 2N인 제조방법.

청구항 14

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(d)에서 사용되는 산이 0.5N인 제조방법.

청구항 15

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(d)가 단일상 수성 산/유기 용매 시스템 속에서 수행되는 제조방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 유기 용매가 아세톤인 제조방법.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

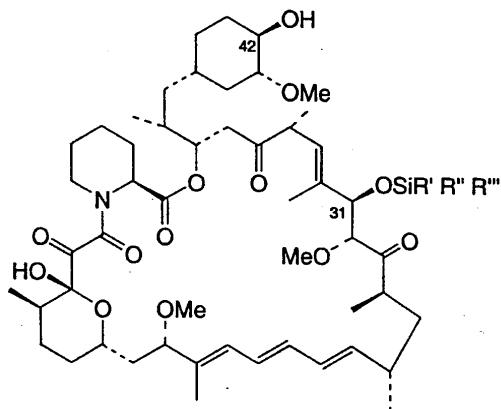
청구항 19

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(d)가 0°C 내지 5°C의 온도에서 수행되는 제조방법.

청구항 20

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(b)에서 제조되는 31-실릴 에테르가 다음 화학식 IA의 화합물인 제조방법.

화학식 IA



위의 화학식 IA에서,

R', R'' 및 R'''는 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐 및 벤질로부터 선택되고 동일하거나 상이하다.

청구항 21

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(a)의 실릴화제가 트리-(C₆)알킬실릴 할라이드인 제조방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 단계(a)의 실릴화제가 트리메틸실릴 클로라이드인 제조방법.

청구항 23

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 실릴화 단계(a)가 이미다졸, 1-메틸이미다졸, 트리에틸아민 및 N,N-디이소프로필에틸아민으로부터 선택된 염기의 존재하에 불활성 용매 속에서 수행되는 제조방법.

청구항 24

삭제

청구항 25

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(b)의 산이 묽은 무기산인 제조방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 산이 황산, 염산 또는 인산인 제조방법.

청구항 27

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(b)에서 사용되는 산이 0.08N 내지 2.5N인 제조방법.

청구항 28

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(b)에서의 산의 강도가 0.1N 내지 1N인 제조방법.

청구항 29

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(b)에서 사용되는 산이 0.5N인 제조방법.

청구항 30

제2항 내지 제8항 중의 어느 한 항에 있어서, 단계(b)가 2상의 수성 산/수불흔화성 유기 용매 시스템 속에서 수행되는 제조방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 수불흔화성 유기 용매가 에틸 아세테이트인 제조방법.

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

라파마이신을 0 내지 5°C에서 실릴화제와 반응시켜 라파마이신 31,42-비스-실릴 에테르를 생성시키는 단계(a), 라파마이신 31,42-비스-실릴 에테르를 0 내지 5°C에서 묽은 산에서 선택적으로 가수분해시켜 라파마이신 31-실릴 에테르를 제공하는 단계(b),

라파마이신 31-실릴 에테르를 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산 클로라이드 또는 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산의 2,4,6-트리클로로벤조일 혼합 무수물로 0°C 미만의 온도에서 아실화시켜 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르, 42-에스테르를 수득하는 단계(c) 및,

라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르, 42-에스테르를 0 내지 5°C에서 묽은 산에서 선택적으로 가수분해시켜 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 42-에스테르를 제공하고, 이어서 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 42-에스테르를 묽은 산으로 처리하여 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산과의 42-에스테르를 제공하는 단계(i) 및

2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르, 42-에스테르를 묽은 산으로 처리하여 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산과의 42-에스테르를 제공하는 단계(ii) 중의 하나의 단계(d)를

포함하는, 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산과의 라파마이신 42-에스테르의 제조방법.

청구항 36

삭제

청구항 37

라파마이신을 0 내지 5°C에서 실릴화제와 반응시켜 라파마이신 31,42-비스-실릴 에테르를 생성시키는 단계(a), 라파마이신 31,42-비스-실릴 에테르를 0 내지 5°C에서 끓은 산에서 선택적으로 가수분해시켜 라파마이신 31-실릴 에테르를 제공하는 단계(b),

라파마이신 31-실릴 에테르를, 0°C 미만의 온도에서, 에틸렌 글리콜 등가물의 하나의 말단에서 보호된 산 불안정성 하이드록실 보호 그룹과 에틸렌 글리콜 등가물의 또 다른 말단으로서 하이드록실 그룹을 알킬화하기에 적합한 이탈 그룹을 갖는 에틸렌 글리콜 등가물과 반응시키는 단계(c) 및

31 위치와 42-하이드록시에틸 위치에 존재하는 보호 그룹을 0 내지 5°C에서 끓은 산에서 가수분해시키는 단계(d)를 포함하는, 42-0-(2-하이드록시)에틸-라파마이신의 제조방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 실릴화제가 트리알킬실릴 할라이드인 제조방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 실릴화제가 클로로트리메틸실란인 제조방법.

청구항 40

제37항 내지 제39항 중의 어느 한 항에 있어서, 에틸렌 글리콜 등가물이 2-(t-부틸디메틸실릴)옥시에틸 트리플레이트인 제조방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 단계(b)와 단계(d)에서 사용되는 산이 황산인 제조방법.

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

제2항에 있어서, 존재하는 기타 보호 그룹을 연속적으로 또는 동시에 제거하는 단계(e)를 추가로 포함하는 제조 방법.

청구항 54

제3항에 있어서, "알크-" 또는 "알킬"이 C_3 알킬인 제조방법.

명세서

기술분야

<1>

본 발명은 면역 억제를 유도하고, 이식 거부, 이식편 대 숙주병, 자가면역 질환, 염증 질환, 성인 T세포 백혈병 /림프종, 고형 암, 진균 감염 및 혈관과증식성 질병의 치료에 유용한 라파마이신 유도체의 42번 위치에서의 지향선택적인 합성방법에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 발명은 라파마이신의 42-에스테르 및 에테르 화합물에 대한 중간체로서 유용한 라파마이신의 31-실릴 보호 에테르를 본질적으로 선택적으로 제조하는 방법을 제공한다.

배경기술

<2>

라파마이신은 매크로사이클릭 트리엔 항생제로서 스트렙토마이세스 하이그로스코포쿠스(*Streptomyces hygroscopicus*)에 의해 생산되며, 항진균 활성, 특히 칸디다 알비칸스에 대해 시험판내와 생체내 둘 다에서 활성을 가지는 것으로 밝혀졌다[참조: C. Vezina et al., J. Antibiot. 28, 721 (1975); S.N. Sehgal et al., J. Antibiot. 28, 727 (1975); H.A. Baker et al., J. Antibiot. 31, 539 (1978); 미국 특허 제3,929,992호 및 미국 특허 제3,993,749호].

<3>

라파마이신 자체(참조: 미국 특허 제4,885,171호) 또는 피시바닐과의 배합물(참조: 미국 특허 제4,401,653호)은 항암 활성을 가지는 것으로 밝혀져 있다. 문헌[참조: R. Martel et al., Can. J. Physiol. Pharmacol. 55, 48 (1977)]에는, 라파마이신이 실험용 알러지성 뇌척수염 모델, 다발성 경화증 모델, 보조 관절염 모델, 류마티스 성 관절염 모델에 유효하고 IgE 유형의 항체 생성을 효과적으로 저해하는 것으로 기재되어 있다.

<4>

라파마이신의 면역 억제 효과는 문헌[참조: FASEB 3, 3411 (1989)]에 기재되어 있다. 사이클로스포린 A와 FK-506, 기타 매크로사이클릭 분자 또한 면역억제제로서 유효한 것으로 밝혀져 있고, 따라서 이식거부 방지에 유용한 것으로 알려져 있다[참조: FASEB 3, 3411 (1989); FASEB 3, 5256 (1989); R.Y. Calne et al., Lancet 1183 (1978); 및 미국 특허 제5,100,899호].

<5>

라파마이신은 또한 전신성 홍반성 루프스[참조: 미국 특허 제5,078,999호], 폐렴[참조: 미국 특허 제5,080,899호], 인슐린 의존성 당뇨병[참조: 미국 특허 제5,321,009호], 평활근 세포의 증식 및 혈관손상 후 내막 비후[참조: 미국 특허 제5,516,781호], 성인 T세포 백혈병/림프종[참조: 유럽 공개특허공보 제525,960 A1호] 및 안염증[참조: 미국 특허 제5,387,589호]의 예방 또는 치료에 유효한 것으로 밝혀져 있다.

<6>

수많은 라파마이신 42-유도체가 알려져 있는데, 42번 위치에서 에스테르화 또는 에테르화에 의해 제조되는 라파

마이신의 42-하이드록실 그룹의 에스테르(기본적으로 탄소와 황) 또는 에테르가 전형적이다. 라파마이신의 42번 위치에서의 에스테르화는 라파마이신을 아실화제와 직접 반응시켜 목적하는 생성물을 제공함으로써 주로 제조된다. 이러한 화학반응은 오히려 간단한 것으로 여겨진다. 그러나, 라파마이신이 31번과 42번 위치에서 2개의 2차 하이드록실 그룹을 포함하기 때문에, 이들 2개의 작용성 중심 사이에 차별을 두어 42-모노아실화 생성물을 선택적으로 합성하기 위한 시도는 어려운 도전이었다. 이러한 유형의 비지향선택적인 반응은 또한 31,42-비스-아실화 부산물을 생성시켰고, 동시에 약간의 미반응 라파마이신이 반응 혼합물에 잔존하였다. 최종 결과로서 수득률은 보다 낮았고 오랜 정제를 거쳐야 순수한 42-모노아실화 생성물을 수득할 수 있었다. 이러한 문제점들은 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산을 사용한 라파마이신 42-에스테르(본 명세서에서 화합물 [C]라고 함)와 같은 42-모노에스테르의 합성방법에 대한 참고자료로써 설명될 수 있다. 예컨대, 미국 특허 제5,362,718호의 실시예 10에 기재되어 있는 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산을 사용한 라파마이신 42-에스테르의 합성방법은 비지향선택적이고, 31,42-비스에스테르 부산물을 또한 생성시켰다. 그 결과, 후처리 후의 조 생성물 [B]는 목적하는 생성물 [B], 31,42-비스에스테르 부산물과 미반응 라파마이신을 포함한다. 잔존하는 출발물질인 라파마이신을 소비하기 위한 노력의 일환으로, 반응을 부정적인 결과에도 불구하고 보다 오랜 시간 동안 더 진행시켰더니 31,42-비스에스테르의 양이 현저하게 증가하였다. 생성된 조 생성물 [B]는 미반응 라파마이신과 31,42-비스에스테르로 불순해졌고, 이후에 컬럼크로마토그래피로 정제하는 것은 42,31-비스에스테르가 생성물 [B]에 매우 가까운 체류시간을 가지기 때문에 어려운 것으로 판명되었다. 결국, 화합물 [B]의 대량 생산에 있어서 주요한 장애는 비지향특이성이고 이는 정제상 어려움으로 한층 곤란한 것으로 생각된다.

<7>

그러므로, 라파마이신의 42-에스테르 또는 에테르의 지향선택적 합성방법에 대한 요구가 있다.

<8>

상업적 생산 또는 대규모 생산에 적합하고 효과적으로 수행될 수 있는 라파마이신의 42-에스테르 또는 에테르의 선택적 제조방법에 대한 요구가 있다.

발명의 상세한 설명

<9>

제1 양태에서, 본 발명은

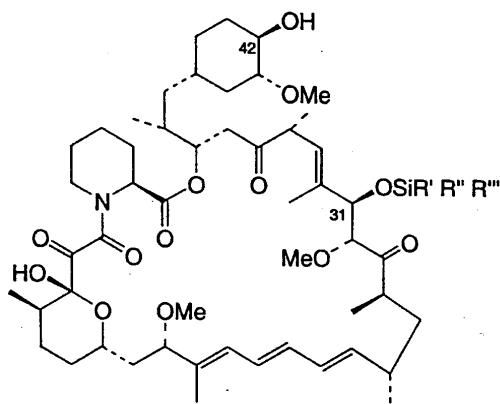
<10>

라파마이신을 실릴화제로 처리하여 라파마이신 31,42-비스-실릴 에테르를 생성시키는 단계(a) 및

<11>

42-실릴 에테르 그룹을 차가운 물은 산에서 가수분해시켜 라파마이신 31-실릴 에테르, 예컨대 화학식 IA의 화합물을 제공하는 단계(b)를 포함하는, 라파마이신의 31-실릴 에테르, 예컨대 화학식 IA의 화합물의 지향선택적 제조방법을 제공한다.

화학식 IA



<12>

위의 화학식 IA에서,

<13>

R', R'' 및 R'''는 각각 바람직하게는 탄소수 1 내지 6, 예컨대 탄소수 1 내지 4의 알킬 그룹, 가장 바람직하게는 메틸, 에틸 및 프로필 등의 유기 그룹이다.

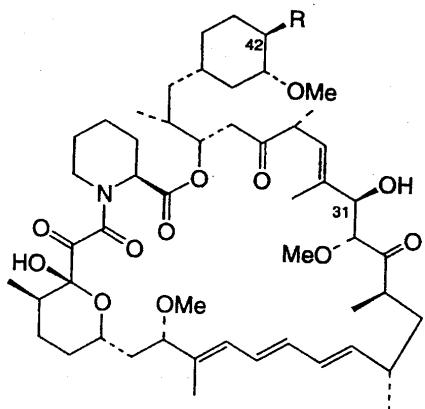
<14>

라파마이신 31-실릴 에테르를 42-하이드록시 그룹에 대하여 아실화 또는 에테르화시킨 후, 31-실릴 보호 그룹과 존재할 수 있는 기타의 보호 그룹을 제거하여 목적하는 라파마이신의 42-에스테르 또는 에테르를 수득할 수 있

다.

- <16> 따라서, 제2 양태에서, 본 발명은
- <17> 라파마이신을 실릴화제로 처리하여 라파마이신 31,42-비스-실릴 에테르를 생성시키는 단계(a),
- <18> 42-실릴 에테르를 차가운 끓은 산에서 가수분해시켜 라파마이신 31-실릴 에테르를 제공하는 단계(b),
- <19> 라파마이신 31-실릴 에테르를 적당한 에스테르화 시약 또는 에테르화 시약으로 처리하여 라파마이신 31-실릴 에테르 42-에스테르 또는 에테르를 생성시키는 단계(c) 및
- <20> 31-실릴 에테르를 차가운 끓은 산에서 가수분해시키고, 필요하다면, R에 있을 수 있는 보호 그룹을 동시에 또는 연속적으로 제거하여 목적하는 라파마이신 42-에스테르 또는 에테르를 제공하는 단계(d)를 포함하는, 화학식 I의 42-에스테르 또는 에테르 라파마이신의 지향선택적 제조방법을 제공한다.

화학식 I



- <21>
- <22> 위의 화학식 I에서,
- <23> R은 에스테르 또는 에테르이다.
- <24> 본 발명에서 제공되는 방법으로 제조될 수 있는 바람직한 라파마이신의 42-에스테르 및 에테르는 다음 특허들에 기재되어 있고, 이들 모두 참고자료로써 본 명세서에 삽입된다: 알킬 에스테르(참조: 미국 특허 제4,316,885호); 아미노알킬 에스테르(참조: 미국 특허 제4,650,803호); 플루오르화 에스테르(참조: 미국 특허 제5,100,883호); 아미드에스테르(참조: 미국 특허 제5,118,677호); 카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,118,678호); 실릴 에테르(참조: 미국 특허 제5,120,842호); 아미노에스테르(참조: 미국 특허 제5,130,307호); 아세탈(참조: 미국 특허 제5,51,413호); 아미노디에스테르(참조: 미국 특허 제5,162,333호); 설포네이트 및 설페이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,177,203호); 에스테르(참조: 미국 특허 제5,221,670호); 알콕시에스테르(참조: 미국 특허 제5,233,036호); 0-아릴, -알킬, -알케닐, 및 알키닐 에테르(참조: 미국 특허 제5,258,389호); 카보네이트 에스테르(미국 특허 제5,260,300호); 아릴카보닐 및 알콕시카보닐 카바메이트(참조: 미국 특허 제5,262,423호); 카바메이트(참조: 미국 특허 제5,302,584호); 하이드록시에스테르(참조: 미국 특허 제5,362,718호 및 WO 제95/28406호); 장애 에스테르(참조: 미국 특허 제5,385,908호); 헤테로사이클릭 에스테르(참조: 미국 특허 제5,385,909호); 같은 자리 이치환 에스테르(참조: 미국 특허 제5,385,910호); 아미노 알칸산 에스테르(참조: 미국 특허 제5,389,639호); 포스포릴카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,391,730호); 카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,411,967호); 카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,434,260호); 아미디노 카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,463,048호); 카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,480,988호); 카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,480,989호); 카바메이트 에스테르(참조: 미국 특허 제5,489,680호); 장애 N-옥사이드 에스테르(참조: 미국 특허 제5,491,231호); 비오텐 에스테르(참조: 미국 특허 제5,504,091호); 및 0-알킬 에테르(참조: 미국 특허 제5,665,772호). 이들 특허에는 또한 화학식 I의 R과 등가인 다양한 상당물과 단계(c)에서 사용되는 에스테르화 또는 에테르화 방법이 기재되어 있다.

- <25> 화학식 I의 R 그룹으로서 특히 바람직한 상당물은

- <26> (a) $-O-C(=O)R^7R^8R^9$ (즉, 에스테르)[여기서, R^7 은 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 2 내지 7의 알케닐, 탄

소수 2 내지 7의 알카닐, $-(CR^3R^4)_fOR^{10}$ {여기서, R^{10} 은 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 2 내지 7의 알케닐, 탄소수 2 내지 7의 알카닐, 트리페닐메틸, 벤질, 탄소수 2 내지 7의 알콕시메틸, 클로로에틸 또는 테트라하이드로페란일이고, R^3 과 R^4 는 각각 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 2 내지 7의 알케닐, 탄소수 2 내지 7의 알카닐, 트리플루오로메틸 또는 $-F$ 이며, f 는 0 내지 6이다}, $-CF$, $-F$ 또는 $-CO_2R^{11}$ 이고,

<27> R^8 과 R^9 는 각각 독립적으로 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬 또는 $-(CR^3R^4)_fOR^{10}$ {여기서, R^3 , R^4 , R^{10} 및 f 는 위에서 정의한 바와 같다}이거나, R^8 과 R^9 는 함께 X{여기서, X는 5-(2,2-디-(탄소수 1 내지 6의 알킬))[1,3]디옥산일, 5-(2-스피로(탄소수 3 내지 8의 사이클로알킬))[1,3]디옥산일, 4-(2,2-디-(탄소수 1 내지 6의 알킬))[1,3]-디옥산일, 4-(2-스피로(탄소수 3 내지 8의 사이클로알킬))[1,3]디옥산일, 4-(2,2-디-(탄소수 1 내지 6의 알킬))[1,3]-디옥살란일 또는 4-(2-스피로(탄소수 3 내지 8의 사이클로알킬))[1,3]디옥살란일이다}를 형성할 수도 있다]{단, R은 하나 이상의 $-(CR^3R^4)_fOR^{10}$ (여기서, R^3 , R^4 , R^{10} 및 f 는 위에서 정의한 바와 같다) 또는 X 그룹(여기서, X는 위에서 정의한 바와 같다)을 함유한다} 및

<28> (b) $-OR^1$ (즉, 에테르)[여기서, R^1 은 알킬, 티오알킬, 아릴알킬, 하이드록시알킬, 디하이드록시알킬아릴알킬, 디하이드록시알킬아릴알킬, 알콕시알킬, 아실옥시알킬, 아미노알킬, 알킬아미노알킬, 알콕시카보닐아미노알킬, 아실아미노알킬, 아릴설폰아미도알킬, 알릴, 디하이드록시알킬알릴, 디옥솔란일알릴 또는 카브알콕시알킬{여기서, "알크(alk-)" 또는 "알킬"은 측쇄형 또는 직쇄형 C_{1-6} 알킬, 바람직하게는 C_{1-3} 알킬<여기서, 탄소 쇄는 에테르(-O-) 결합에 의해 임의로 차단될 수 있다>이고, "아실"은 알킬카보닐이며, "아릴"은 6 내지 10개의 탄소원자를 함유하며 페닐, 나프틸 등을 포함한다}이다]이다.

<29> 가장 바람직하게는, R^1 은 하이드록시알킬, 하이드록시알콕시알킬, 아실아미노알킬 및 아미노알킬; 특히 40-0-(2-하이드록시)에틸-라파마이신, 40-0-(3-하이드록시)프로필-라파마이신, 40-0-[2-(2-하이드록시)에톡시]에틸-라파마이신 및 40-0-(2-아세트아미노에틸)-라파마이신으로부터 선택된다.

<30> 가장 바람직하게는, 화학식 I 중 R 은 2,2-비스(하이드록시메틸)프로피온일옥시 또는 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카보닐옥시이다.

<31> 단계(a)와 관련하여, 실릴화는 불활성 용매, 예를 들면, 에틸 아세테이트 속에서, 바람직하게는 적당한 염기, 예를 들면, 이미다졸의 존재하에 수행될 수 있다. 반응은 저온에서, 예컨대 실온 이하, 예컨대 0°C에서, 바람직하게는 0 내지 5°C에서 수행될 수 있다. 31- 및 42-하이드록실 그룹을 트리알킬실릴 에테르로 보호하는 것이 바람직하다. 31,42-비스-실릴화 라파마이신의 42-실릴 보호 하이드록실 그룹은 온화한 산성 조건에서 선택적으로 절단되어 31-실릴 라파마이신이 제공될 수 있다. 본 변환에 사용되는 실릴화제는 시중에서 입수 가능한 클로로트리메틸실란, 클로로트리에틸실란 또는 클로로트리프로필실란 등의 클로로알킬실란이 일반적이다. 그러나 31-하이드록실 그룹을 다시 생성시키기 위한 최종 단계로부터 2번째 화학반응 단계에서 트리알킬실란 분자가 클 수록 산성 매질에서의 탈보호화에 더 많은 시간이 요구된다. 또한, 산성 매질에서의 반응시간이 길수록 분해 부산물이 더 많이 생긴다. 클로로트리메틸실란, 클로로트리에틸실란 또는 클로로트리프로필실란이 라파마이신 31-0-트리알킬실릴 에테르의 제조에 사용될 수 있으나, 클로로트리메틸실란이 바람직한 실릴화제이다. 트리메틸실릴 그룹은 보다 산에 불안정하고, 따라서 변환중 탈보호화되기 쉬우며, 사실상 이는 분해 생성물의 생성을 최소화한다. 바람직한 제조방법으로서, 라파마이신을 유기 염기의 존재하에 0 내지 5°C에서 에틸 아세테이트 중의 과량의 클로로트리메틸실란으로 처리하고 라파마이신의 42- 및 31-하이드록실 그룹을 실릴화하여 라파마이신 31,42-비스-0-트리메틸실릴 에테르를 정량적 수율로 생성시킨다. 이미다졸, 1-메틸이미다졸, 트리에틸아민 및 N,N-디이소프로필에틸아민 등의 일반적인 유기 염기가 통상의 실릴화 반응에 사용될 수 있다. 그러나, 이미다졸이 반응을 30분내에 완성시키므로, 라파마이신의 실릴화를 위한 바람직한 염기인 것으로 밝혀졌다.

<32> 단계(b)와 관련하여, 라파마이신 31,42-비스-0-실릴 에테르의 42-실릴 에테르 그룹을 제거하여 라파마이신 31-0-실릴 에테르를 생성시키기 위한 탈보호화 반응은 본질적으로 차가운 물은 산에서 수행될 수 있는데, 단지 매우 소량의 라파마이신(즉, 완전히 탈보호화된 생성물)과 같은 부산물을 31-실릴 에테르에 비해 20% 미만으로, 일반적으로는 10% 미만으로 정량적으로 생성시킬 수 있다는 것을 본 발명자들이 놀랍게도 발견하였다. 본 명세서에 기재되어 있는 바와 같이, 탈보호화 단계(b)의 생성물은 31-실릴 에테르 보호 라파마이신을 약 80% 이상으로, 라파마이신을 약 10% 미만으로 포함할 수 있으며, 라파마이신을 약 1% 이하 정도의 낮은 수준으로 낮출 수

있다. 이러한 선택적인 탈보호화 반응은 묽은 유기산 또는 무기산, 특히 황산, 염산 또는 인산 등의 무기산을, 예컨대 2.5N 미만으로, 바람직하게는 0.8N 내지 약 2.5N의 범위로, 가장 바람직하게는 0.1N 내지 1N의 범위로 사용하여 편리하게 수행한다. 황산이 특히 바람직하다. 바람직하게는, 반응은 2상의 수성 산/유기 용매 시스템(예를 들면, 제2 상으로서 에틸 아세테이트 사용) 속에서 수행되는데, 예컨대 약 2 내지 3시간만에 선택적으로 제거될 수 있는 탈보호 그룹으로서 트리메틸실릴이 사용되는 경우에 특히 그러하다. 바람직하게는, 저온의 반응온도, 예를 들면, 약 25°C 이하, 바람직하게는 약 15°C 이하로, 예컨대 약 -5°C 내지 +10°C, 가장 바람직하게는 0 내지 5°C의 범위에서 사용된다. 가장 바람직하게는, 탈보호화 반응은 0 내지 5°C에서, 에탄올, 에탈올-물 혼합물, 물과 묽은 무기산 또는 유기산을 사용하여, 실릴화 반응 후 동일 반응계에서 수행된다. 황산(0.5N)이 반응을 깨끗하고 상업적 제조로서 용이하게 2 내지 5시간내에 완성시킬 수 있기 때문에 특히 바람직하다. 그러나, 반응성이 작은 실릴 보호 그룹, 예컨대 트리에틸실릴 또는 트리프로필실릴을 사용하는 경우에 반응시간이 더 필요한 것으로 밝혀졌고, 이러한 경우에는 선택적으로 탈보호화하기 위해 단일상 용매 시스템, 예컨대 산/아세톤이 사용될 수 있다.

<33> 수많은 유기 용매가 실릴화에 사용될 수 있고, 특히 DMF가 문헌에서 자주 언급된다. 그러나, 본 발명에서 에틸 아세테이트가 단계(a)의 용매로서 바람직하고, 따라서 2상 반응매질이 후속의 탈보호화 단계(b)에서 사용된다.

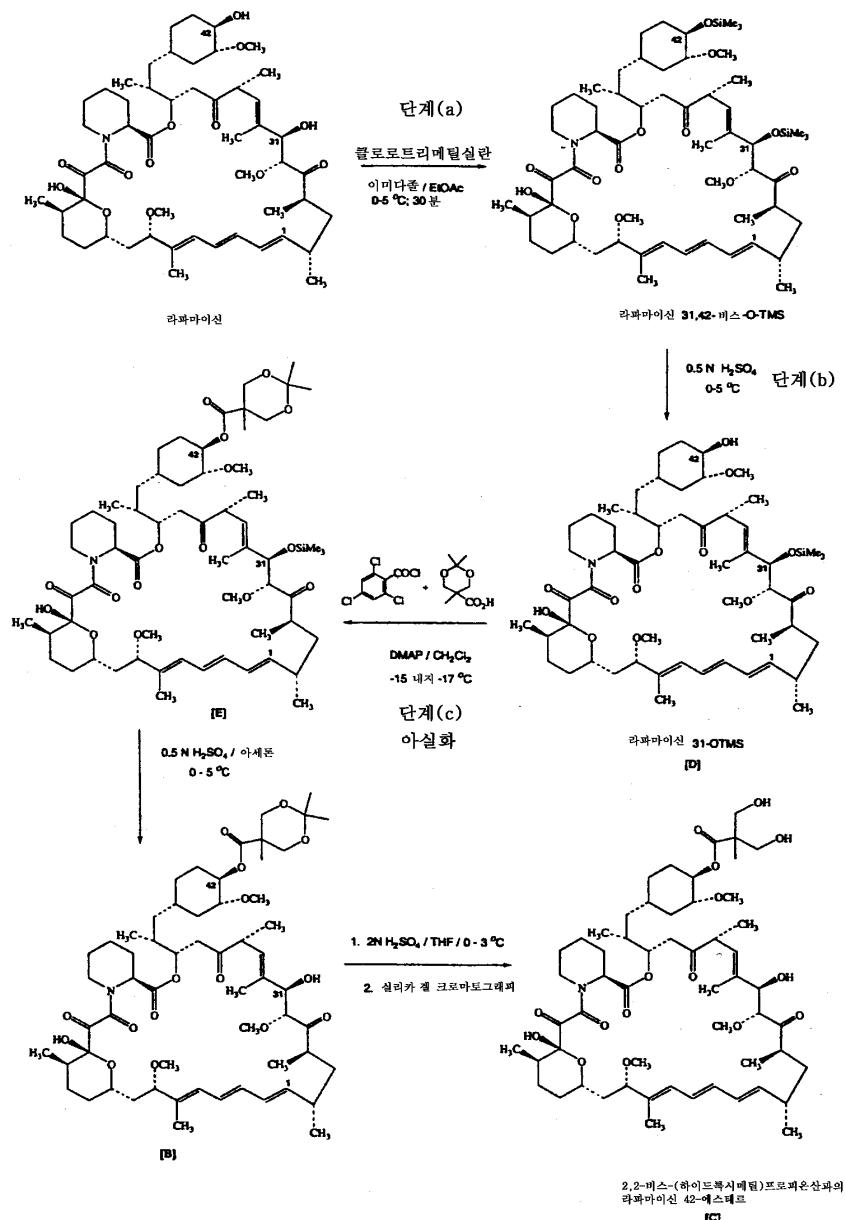
<34> 단계(c)와 관련하여, 31-보호 라파마이신의 에스테르화 또는 에테르화는 위에서 열거한 특허에 기술된 반응조건 하에서 수행될 수 있다. 예를 들면, 이후에 나타낼 반응식 I에서, 라파마이신 31-트리메틸실릴 에테르의 아실화는 4-디메틸아미노페리딘 또는 유사한 시약의 존재하에 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산의 2,4,6-트리클로로벤조일 혼합 무수물을 사용하여 수행한다. 게다가, 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산 클로라이드가 또한 4-디메틸아미노페리딘 또는 유사한 시약의 존재하에서 본 발명의 아실화제로서 유효한 것으로 밝혀졌다. 아실화 반응조건에서, 메틸렌 클로라이드가 선행 기술에 기재된 테트라하이드로푸란보다 바람직한 용매이다. 반응은 약 -50°C 내지 약 +25°C의 온도에서 수행될 수 있다. 그러나, 0°C 미만의 저온의 반응온도, 보다 바람직하게는 -20°C 내지 -15°C 또는 그 이하의 온도에서의 반응이 미국 특허 제5,362,718호에 기재된 실온에서의 아실화보다 더 나은 결과를 가져온다.

<35> 단계(d)와 관련하여, 42-에스테르화 또는 에테르화-31 실릴 라파마이신으로부터 31-실릴 보호 그룹의 제거는 위에서 기재한 바와 같은 묽은 산을 사용하여, 바람직하게는 황산, 염산 또는 인산과 같은 묽은 무기산을 사용하여 가수분해함으로써 수행될 수 있다. 다른 보호 그룹을 동시에 제거하는 것이 필요한가에 따라, 산은 약 0.1N 내지 약 3N이 될 수 있고, 바람직하게는 약 0.2N 내지 약 2N, 가장 바람직하게는 약 0.5N이 될 수 있다. 편리하게 단계(d)는, 예를 들면, 유기 용매가 아세톤인 경우, 단일상 수성 산/유기 용매 시스템 속에서 수행된다. 반응은 약 25°C 이하, 예컨대 약 -5°C 내지 약 10°C에서, 바람직하게는 약 0°C 내지 약 5°C의 온도에서 수행될 수 있다.

<36> 다음 반응식 I에서, 아실화 생성물, 31-O-TMS, 42-(보호 하이드록시)에스테르(화합물 [E])를 묽은 산으로 추가로 처리하여 42-(보호-하이드록시)에스테르(화합물 [B])로 변환시킬 수 있거나, 이를 직접 사용하여 최종 생성물 42-하이드록시에스테르(최종 생성물 [C])로 만들 수 있다. 이러한 방법론은 단순히 사용되는 에스테르화 또는 에테르화제를 다양하게 변화시킴으로써 라파마이신의 다른 에스테르 또는 에테르를 제조하는 데 사용될 수 있다.

<37> 다음 반응식은 또한 본 발명에서 제공된 방법에 따라서 제조될 수 있는 대표적인 라파마이신의 42-에스테르로서, 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산과의 라파마이신 42-에스테르의 지향선택적 제조방법을 도시한다. 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산과의 라파마이신 42-에스테르의 원래의 합성방법은 미국 특허 제5,362,718호에 기재되어 있다.

반응식 I



38

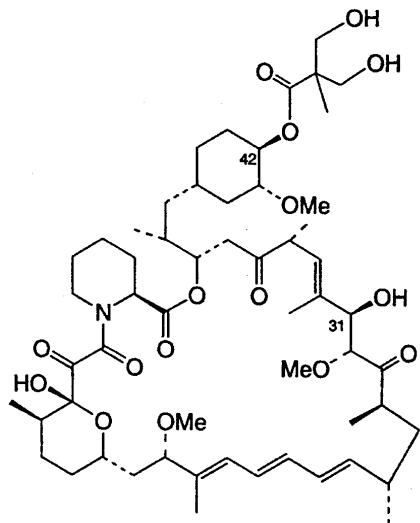
39

반응식 1에서, 화합물 [B]를 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산과의 라파마이신 42-에스테르 [C]로 변환시키는 것은 온화한 산성 조건하에서 수행할 수 있다. 미국 특히 제5,362,718호에 기재되어 있는 바와 같이, 수성 염산을 사용하는 경우, 생성되는 불순물의 형성을 감소시킬 수 있기 때문에, 수성 황산을 사용하는 것이 바람직하다. 염산을 사용할 때 생성된 테트라엔 불순물은 목적하는 생성물로부터 질량 크로마토그래피에 의해 분리하기가 어려운 것으로 보고된 바 있다(참조: Caufield et al., *Tetrahedron Lett.*, 1994, 37, 6835). 또한, 미국 특히 제5,362,718호에 기재되어 있는 바와 같이, 실온보다는 0 내지 5°C에서 가수분해반응을 수행하는 것이 바람직하다.

<40>

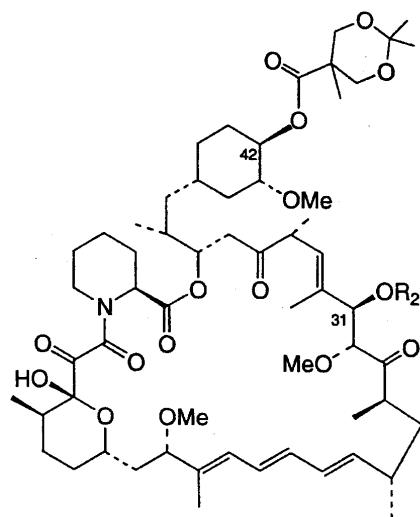
따라서, 본 발명은 또한 화학식 C의 화합물을 제조하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 화학식 B의 화합물을 물은 황산, 예컨대 1N 내지 3N 황산을 사용하여 가수분해하는 것으로 이루어진다. 바람직하게는, 본 반응은 -5°C 내지 +10°C의 온도에서 수행된다. 테트라하이드로푸란을 용매로서 사용하는 것이 바람직하다.

화학식 C



<41>

화학식 B



<42>

<43>

위의 화학식 B에서,

<44>

R_2 는 수소 또는 $-SiR'RR''$ (여기서, R , R' 및 R'' 는 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐 및 벤질로부터 선택되고 동일하거나 상이하다)이다.

<45>

본 명세서에 기재되어 있는 합성 경로는 라파마이신 에스테르 또는 에테르의 제조방법으로서 공개되어 있는 합성 방법론에 비해, 주로 목적하는 42-에스테르 또는 에테르의 수율과 정제의 용이성 면에서 몇가지 뚜렷한 장점을 제공한다. 이 반응은 지향선택적 합성방법이기 때문에, 목적하는 42-에스테르 또는 에테르의 전체 수율이 획기적으로 향상된다. 예를 들면, 미국 특허 제5,362,718호에 교시된 합성 방법론은 화합물 [B]를 35%의 수율로 제공하는 반면, 본 명세서에 기재되어 있는 방법론을 사용하면 화합물 [B]를 85%의 수율로 수득한다. 또한, [B]로부터 2,2-비스-(하이드록시메틸)프로피온산과의 라파마이신 42-에스테르로 변환시키는 것은 본 명세서에 기재되어 있는 방법을 사용하면 대략 75%의 수율로 이루어지는 반면, 미국 특허 제5,362,718호의 방법론을 사용하면 단지 20%의 변환이 이루어진다.

<46>

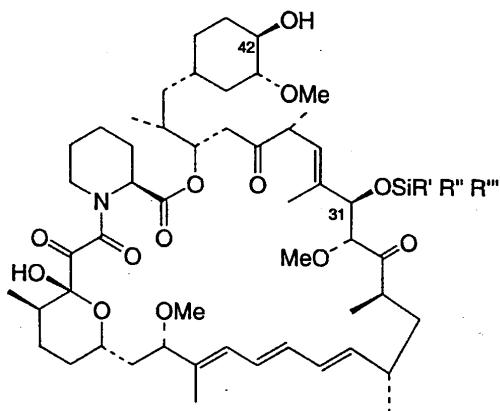
동일한 방법론을 사용하면, 라파마이신 42-에테르는 지향선택적 방법으로 제조될 수 있다. 예로서, 미국 특허 제5,665,772호에는, 비지향선택적인 방법으로 라파마이신 40-0-알킬 에테르를 제조하는 방법이 기재되어 있다. 명명법의 차이로 인해, 라파마이신의 42위치(본 명세서에서 명명된 바에 따름)는 미국 특허 제5,665,772호에서 40위치를 가리킨다. 이들 위치는 동일하다. 본 명세서에 기재되어 있는 방법론을 사용하여, 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르를 예컨대 2-(t-부틸디메틸실릴)옥시에틸 트리플레이트로 처리하여 31-0-트리메틸실릴, 42-0-[2-(t-부틸디메틸실릴)옥시]에틸-라파마이신을 제공할 수 있다. 묽은 황산과 같은 온화한 산성 조건하에서

라파마이신의 31-하이드록실 그룹과 42-하이드록시에틸 부분으로부터 실릴 보호 그룹을 제거하여 42-O-(2-하이드록시)에틸 라파마이신을 제공할 수 있다. 기타 라파마이신의 42-에테르 화합물의 비지향선택적 제조는 미국 특허 제5,665,772호에 기재되어 있다. 또한, 이들은 라파마이신 31-O-트리메틸실릴 에테르를 거쳐서 지향선택적으로 제조될 수 있다.

<47> 또한, 본 발명은, 본 명세서에 기재되어 있는 바와 같이, 라파마이신의 42-에스테르 및 에테르의 제조에 유용한, 라파마이신의 31-실릴 에테르와 라파마이신의 42-에스테르화 또는 에테르화 유도체의 31-실릴 에테르를 포함한다. $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$ 로 나타낸 규소 잔기는 동일하거나 다를 수 있는 3개의 그룹을 포함한다. 본 발명의 전형적인 실릴 에테르는 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐 또는 벤질 그룹인 R' , R'' 또는 R''' 부분을 포함한다. 알킬 그룹은 측쇄 또는 직쇄일 수 있다. 바람직하게는, R' , R'' 또는 R''' 는 알킬 그룹이고, 보다 바람직하게는 R' , R'' 또는 R''' 는 메틸 또는 에틸이다. 31-실릴 에테르가 라파마이신 31-O-트리메틸실릴 에테르인 것이 한층 더 바람직하다.

<48> 따라서, 본 발명은 다음 화학식 IA 및 IB의 31-실릴 에테르를 제공한다.

<49> 화학식 IA

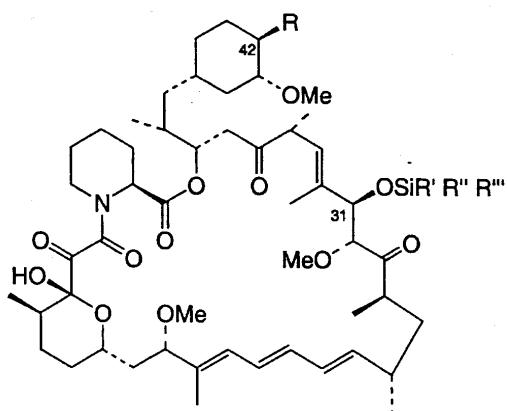


<50>

<51> 위의 화학식 IA에서,

<52> R' , R'' 및 R''' 은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐 및 벤질로부터 선택되고 동일하거나 상이하다.

화학식 IB



<53>

<54> 위의 화학식 IB에서,

<55> R은 위에서 정의한 바와 같은 에스테르 또는 에테르 그룹이고,

<56> R' , R'' 및 R''' 은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐 및 벤질로부터 선택되고 동일하거나 상이하다.

<57> 다음 실시예는 본 발명의 제조방법으로 제조될 수 있는 대표적인 화합물인 라파마이신 31-실릴 에테르와 라파마이신 42-에스테르의 제조방법을 나타낸다.

<58> 실시예 1

<59> 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르

<60> 에틸 아세테이트 750mL 중의 라파마이신(25.0g, 강도 92.4%; 25.28mmol)의 용액을 0 내지 5°C까지 냉각시켰다. 이미다졸 7.5g(110.20mmol)을 가하고, 교반하여 용액을 만들었다. 냉각된 용액에 클로로트리메틸실란 11.0g(101.25mmol)을 30분에 걸쳐서 적가하고, 0 내지 5°C에서 추가로 30분 동안 교반하여 라파마이신 31,42-비스-0-트리메틸실릴 에테르를 생성시켰다. 0.5N 황산 50mL의 양을 10분에 걸쳐서 적가하고, 혼합물을 0 내지 5°C에서 2.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 분별 깔대기로 옮겨 수층을 분리하고, 에틸 아세테이트 125mL로 추출하였다. 유기층을 모으고, 염수(125mL), 포화 중탄산나트륨 용액(100mL), 물(125mL × 2), 이어서 염수로 연속적으로 세척하여 pH 6 내지 pH 7로 맞추었다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압하에 증발시켜 베이지색의 포말 생성물을 28.5g(이론치 24.94g) 수득하였다. HPLC로 분석한 결과, 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르 86%(면적%)와 라파마이신 7%를 함유하는 것으로 나타났다. 생성물은 후속 반응에 직접 사용되었다.

<61> LC/MS 전기분무 (+)모드 (M-H)=985. ^1H NMR(400MHz, d-6 DMSO) δ 4.60(m, 1H, (42C)OH), 4.10(m, 1H, C(31)H), 3.09(m, 1H, C(42)H), -0.027(s, 9H, 31-0-TMS).

<62> 실시예 2

<63> 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산 클로라이드

<64> 무수 톨루엔 200mL 중의 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산(17.42g, 0.1mol)의 용액을 40°C까지 가온하고, 옥실릴 클로라이드 26.0mL(37.83g, 0.3mol)를 30분에 걸쳐서 적가한 다음, 40°C에서 2.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압하에 증발시켜 용매와 과량의 옥실릴 클로라이드를 제거하였다. 잔여 생성물을 무수 톨루엔(200mL)으로 2회 증발시키고, 이어서 40°C에서 2시간 동안 고진공 상태하에서 건조시켜 생성물을 오랜지색 액체로서 19.75g 수득하였다. ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 4.28(2H, d, $J=10.5\text{Hz}$), 3.76(2H, d, $J=10.5\text{Hz}$), 1.46(3H, s), 1.29(3H, s). ^{13}C NMR(75MHz, CDCl_3) δ 176.43, 98.76, 66.06, 52.07, 25.82, 21.20, 18.10.

<65> 실시예 3

<66> 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르, 42-에스테르

<67> 방법 A:

<68> 2,4,6-트리클로로벤조일 클로라이드(13.35g, 54.73mmol)를 질소하에 실온에서 메틸렌 클로라이드 200mL 중의 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산(9.77g, 56.08mmol)과 N,N-디이소프로필에틸아민(12.00g, 92.80mmol)의 용액에 가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 -20 내지 -15°C로 냉각시키고, 메틸렌 클로라이드 120mL 중의 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르(28.50g, 조화합물, 라파마이신 25.28mmol로부터 제조됨)의 용액을 가하였다. 메틸렌 클로라이드 110mL 중의 4-디메틸아미노페리딘(11.68g, 95.60mmol)의 용액을 2시간에 걸쳐서 적가하였다. 반응 혼합물을 -15°C 내지 -16°C에서 16시간 동안 추가로 교반하였다. 반응 혼합물을 물 100mL로 급냉시키고, 유기층을 분리한 다음, 0.5N 황산(180mL)으로 세척하고, 염수(100mL), 포화 중탄산나트륨 용액(100mL), 물(100mL × 2), 염수(100mL)로 세척하여 pH 6 내지 pH 7로 맞추었다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압하에 증발시켜 베이지색 포말로서 표제 화합물(33.18g)을 수득하였다.

<69> LC/MS 전기분무 (+)모드 (M+NH₄)=1160. ^1H NMR(400MHz, d-6 DMSO) δ 4.57(m, 1H, C(42)H), 4.10(m, 1H, C(31)H), 4.03(d, 2H), 3.57(d, 2H), 1.34(s, 3H), 1.24(s, 3H), 1.13(s, 3H), -0.023(s, 9H, 31-0-TMS)

<70>

방법 B:

<71>

N,N-디메틸포름아미드 2mL를 함유하는 메틸렌 클로라이드 120mL 중의 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르 (11.00g; 라파마이신 10.0g으로부터 제조됨; 11.15mmol)의 용액을 질소하에서 교반하고, -15°C로 냉각시킨 다음, 4-디메틸아미노페리딘(4.80g, 39.29mmol)을 가하고, 혼합물을 교반하여 용액을 생성시켰다. 냉각된 용액에 메틸렌 클로라이드 중의 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산 클로라이드(42.18g, 16.42mmol)의 7.5% 용액을 2시간에 걸쳐서 적가하였다. 용액을 -15°C에서 추가로 1시간 동안 교반하고, 메틸렌 클로라이드 중의 산 클로라이드(14.06g, 5.47mmol)의 7.5% 용액을 추가로 30분에 걸쳐서 가하였다. 반응 혼합물을 -15°C 내지 -16°C에서 16시간 동안 추가로 교반하였다. 반응 혼합물을 염수 100mL로 급냉시키고, 유기층을 분리한 다음, 차가운 0.5N 황산(100mL), 염수(100mL), 포화 중탄산나트륨 용액(100mL), 물(100mL), 염수(100mL)로 세척하여 pH 6 내지 pH 7로 맞추었다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압하에 증발시켜 황색 포말로서 생성물(12.15g)을 수득하였다.

<72>

실시예 4

<73>

2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 42-에스테르

<74>

아세톤 100mL 중의 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르 42-에스테르(33.18g, 실시예 3, 방법 A로부터 제조됨)의 용액을 교반하고, 0 내지 5°C까지 냉각시켰다. 냉각된 용액에 0.5N 황산 17mL를 10분에 걸쳐서 적가하고, 혼합물을 0 내지 5°C에서 2.5시간 동안 교반하였다. 물 20mL 중의 중탄산나트륨(1.44g)의 용액을 20분에 걸쳐서 적가하고, 이어서 추가로 물 33mL를 30분에 걸쳐서 가하였다. 약 1시간 동안 교반한 후, 생성물이 침전되기 시작한다. 혼합물을 0 내지 5°C에서 하룻밤 동안 교반하고, 여과한 다음, 고형 생성물을 아세톤-물(1:1) 60mL로 세척하였다. 생성물을 30°C의 진공 오븐에서 건조시켜 생성물을 28.85g(강도 83.9%, 라파마이신으로부터 제조된 전체 수율 89.3%) 수득하였다. 생성물의 ¹H NMR은 미국 특허 제5,362,718호의 실시예 10에 기재된 생성물의 ¹H NMR과 동일하였다.

<75>

실시예 5

<76>

2,2-비스-(하이드록시메틸)프로파온산과의 라파마이신 42-에스테르

<77>

방법 A:

<78>

테트라하이드로푸란 276mL 중의 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 42-에스테르(28.85g; 실시예 4로부터 제조됨)의 용액을 교반하고, 0 내지 5°C까지 냉각시켰다. 냉각된 용액에 차가운 2N 황산 83mL를 30분에 걸쳐서 적가하고, 혼합물을 0 내지 5°C에서 60시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 600mL로 희석시키고, 염수 120mL로 세척하였다. 수층을 에틸 아세테이트 120mL로 1회 추출하고, 유기 추출물을 모은 다음, 포화 중탄산나트륨 용액(120mL), 물(200mL × 2) 및 염수(120mL)로 세척하여 pH 6 내지 pH 7로 맞추었다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 실온에서 감압하에 증발시켜 베이지색 포말로서 생성물(28.42g)을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼에서 크로마토그래피하고, 헵탄 중 30% 아세톤으로 용출시켜 순수한 생성물을 백색 고체로서 18.06g(라파마이신으로부터의 전체 수율 69.4%) 수득하였다. 생성물의 ¹H NMR은 미국 특허 제5,362,718호의 실시예 11에 기재된 생성물의 ¹H NMR과 동일하였다.

<79>

방법 B:

<80>

테트라하이드로푸란 230mL 중의 2,2,5-트리메틸[1,3-디옥산]-5-카복실산과의 라파마이신 31-0-트리메틸실릴 에테르, 42-에스테르(23.25g, 라파마이신 20.06g으로부터 제조됨, 강도 92.7%, 20.34mmol)의 용액을 교반하고, 0 내지 5°C까지 냉각시켰다. 냉각된 용액에 차가운 2N 황산 115mL를 45분에 걸쳐서 적가하고, 혼합물을 0 내지 5°C에서 88시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 500mL로 희석시키고, 염수 100mL로 세척하였다. 수층을 에틸 아세테이트 100mL로 1회 추출하고, 유기 추출물을 모은 다음, 포화 중탄산나트륨 용액(80mL), 물(80mL × 2) 및 염수(100mL)로 세척하여 pH 6 내지 pH 7로 맞추었다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 실온에서 감압하에 증발시켜 베이지색 포말로서 생성물(22.48g)을 수득하였다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼에서 크로마토그래피하고, 헵탄 중 30% 아세톤으로 용출시켜 순수한 생성물을 백색 고체로서 16.50g(라파마이신으로부터의 전체 수율 78.4%) 수득하였다. 생성물의 ¹H NMR은 미국 특허 제5,362,718호의 실시예 11에 기재된 생성물의 ¹H NMR과 동일하였다.

<81> 실시예 6

<82> 라파마이신 31,42-비스-0-트리메틸실릴 에테르

에틸 아세테이트 150mL 중의 라파마이신(10.0g, 강도 94.3%; 10.3mmol)의 용액을 0 내지 5°C까지 냉각시켰다. 이미다졸 3.0g(44mmol)을 가하고, 교반하여 용액을 생성시켰다. 냉각된 용액에 클로로트리메틸실란 4.4g(40.5mmol)을 20분에 걸쳐서 적가하고, 이어서 용액을 0 내지 5°C에서 추가로 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하여 이미다졸 HCl을 제거하고, 여액을 감압하에 증발시켜 황색 포말을 수득하였다. 헵탄(200mL)을 가하고, 실온에서 20분 동안 교반한 다음, 혼합물을 여과하였다. 여액을 포화 중탄산나트륨 용액 40mL로 세척하고, 물(80mL)로 2회 세척한 다음, 염수(50mL)로 세척하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 증발시켜 황색의 포말로서 생성물을 11.42g(98.6%) 수득하였다.

<84> LC/MS 전기분무 (-) 모드 (M-H)=1057. ^1H NMR(400MHz, d-6 DMSO) δ 4.10(m, 1H, C(31)H), 3.31(m, 1H, C(42)H), 0.057(s, 9H, 42-O-TMS), -0.027(s, 9H, 31-O-TMS).

<85> 실시예 7

<86> 라파마이신 31-0-트리에틸실릴 에테르

에틸 아세테이트 75mL 중의 라파마이신(5.00g, 강도 92.7%; 5.07mmol)의 용액을 0 내지 5°C까지 냉각시켰다. 이미다졸 1.50g(22.03mmol)을 가하고, 교반하여 용액을 생성시켰다. 냉각된 용액에 클로로트리에틸실란 3.05g(20.23mmol)을 10분에 걸쳐서 적가하였다. 혼합물을 0 내지 5°C에서 30분 동안 교반한 다음, 실온에서 하룻밤 동안 교반하여 라파마이신 31,42-비스-0-트리에틸실릴 에테르를 생성시켰다. 반응 혼합물을 여과한 후, 여액을 실온의 감압하에 증발시켜 대부분의 용매를 제거하였다. 잔여 용액(약 10mL)을 아세톤 60mL에 용해시키고, 0.15N 황산 15mL를 가한 다음, 혼합물을 0 내지 5°C에서 25시간 동안 교반하였다. 라파마이신 31,42-비스-0-트리에틸실릴 에테르는 이 단계에서 사라진다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 80mL로 희석시키고, 염수(60mL \times 2), 포화 중탄산나트륨 용액(40mL), 물(60mL \times 2), 염수(60mL)로 연속적으로 세척하여 pH 6 내지 pH 7로 맞추었다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압하에 증발시켜 연황색의 고무로서 생성물을 6.92g(이론상 5.21g) 수득하였다. HPLC로 분석한 결과, 당해 생성물은 라파마이신 31-0-트리에틸실릴 에테르 95.2%(면적%)와 라파마이신 0.9%를 함유하는 것으로 밝혀졌다.

<88> 실시예 8

<89> 라파마이신 31-0-트리프로필실릴 에테르

에틸 아세테이트 75mL 중의 라파마이신(5.00g, 강도 92.7%; 5.07mmol)의 용액을 0 내지 5°C까지 냉각시켰다. 이미다졸 1.50g(22.03mmol)을 가한 후, 교반하여 용액을 생성시켰다. 냉각된 용액에 클로로트리프로필실란 3.91g(20.3mmol)을 10분에 걸쳐서 적가하였다. 혼합물을 0 내지 5°C에서 30분 동안 교반한 다음, 실온에서 21시간 동안 교반하여 라파마이신 31,42-비스-0-트리프로필실릴 에테르를 생성시켰다. 반응 혼합물을 여과한 후, 여액을 실온에서 감압하에 증발시켜 대부분의 용매를 제거하고, 잔여 용액을 아세톤 60mL에 용해시켰다. 0.25N 황산 15mL의 양을 가하고, 혼합물을 0 내지 5°C에서 45시간 동안 교반하였다. 라파마이신 31,42-비스-0-트리프로필실릴 에테르가 이 단계에서 사라진다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 100mL로 희석시키고, 염수(40mL \times 2), 포화 중탄산나트륨 용액(40mL), 물(40mL \times 2) 및 염수(50mL)로 연속적으로 세척하여 pH 6 내지 7로 맞추었다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압하에 증발시켜 연황색의 고무로서 생성물을 8.07g(이론상 5.43g) 수득하였다. HPLC로 분석한 결과, 당해 생성물은 라파마이신 31-0-트리프로필실릴 에테르 96.7%(면적%)와 라파마이신 1%를 함유하는 것으로 밝혀졌다.