(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
C08B 30/18

(45) 공고일자 1999년02월01일
(11) 등록번호 특0173480
(24) 등록일자 1998년10월30일

(21) 출원번호 특1992-015602
(22) 출원일자 1992년08월28일
(65) 공개번호 특1993-004330
(43) 공개일자 1993년03월22일

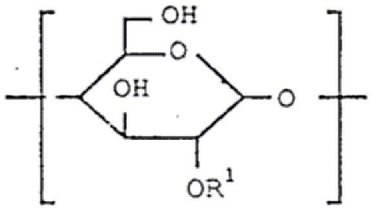
(30) 우선권주장 91-299983 1991년08월29일 일본(JP)
92-85119 1992년02월20일 일본(JP)
(73) 특허권자 다나베세이야꾸 가부시끼가이샤 지바따 이찌로
일본국 오오사까후 오오사까시 쥬오꾸 도쇼마찌 3쪼메 2방 10고
(72) 발명자 구리따 히로노리
일본국 사이따마껭 와라비시 기따마찌 2-9-27
모리야 다몬
일본국 오오사까후 다까쯔끼시 기따쇼와다이쪼 5-9
오오다께 도루
일본국 나라껭 가시바시 세끼야끼따 7-22-26
모리 하루요
일본국 나라껭 우다군 하이바라쪼 아까네다이 1-2-12
모리모또 모또꼬
일본국 오오사까후 히라까따시 고리가오까 9-4 D22-402
(74) 대리인 이준구, 박해선

심사관 : 한현숙

(54) 베타-시클로덱스트린 유도체의 폴리술페이트 및 그의 제조방법

요약

β-시클로덱스트린을 구성하는 적어도 하나의 7D-글루코스 단위가 하기 식 (I-a)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트 및 그의 염이 개시되며, 이는 항-레트로바이러스 활성이 매우 우수하며, 항-레트로바이러스 약제로서 유용하다.



(I - a)

[상기 식에서 R^1은 탄소수 1-8의 알킬기, 치환체를 갖는 저급 알킬기 또는 저급 알케닐기이다]

명세서

[발명의 명칭]

β-시클로덱스트린 유도체의 폴리술페이트 및 그의 제조방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 항-레트로바이러스 활성을 갖는 β-시클로덱스트린 유도체의 신규 폴리술페이트 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

AIDS(후천성 면역결핍증)는 레트로바이러스의 일종인 인체 면역 결핍 바이러스(HIV)의 감염으로 발병하는 치명적이거나 극히 악성인 질병이다. 그의 예방 및 박멸(destruction)은, 세계적으로 인류가 극복해야 할 가장 심각한 과제이다.

항-레트로바이러스 활성을 갖는 화합물로는, 예컨대 아지도티미딘[IGAKUNOAYUMI (Walking of Medicine), vol. 142, No. 9, pp. 619-622(1987)], 술페이트화 폴리사카라이드류(일본국 특허 공개 공보 제45223/1988호 및 제25724/1989호) 등이 공지되어 있다.

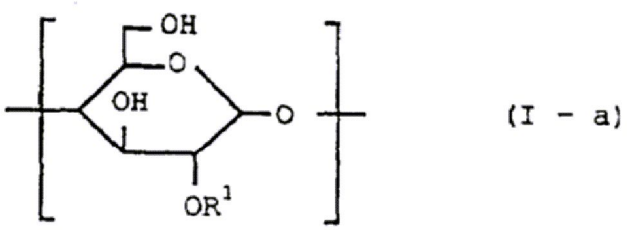
그러나, 항-레트로바이러스 활성을 갖고 있는 기존의 화학물질이 AIDS의 치료에 유효하고 안전한지의 여

부를 아직 완전하게 규명하거나 확신하지 못하고 있다.

본 발명의 목적은 매우 우수한 항-레트로바이러스 활성, 특히 HIV에 대하여 매우 우수한 증식 억제 활성을 갖는 신규의 약제학적 화합물을 제공하는 것이다.

본 발명은 친지성 기-변형 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트에 관한 것이다. 보다 구체적으로는, β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1 이상이 하기 식(I-a)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트(이하에서, 폴리술페이트 화합물이라 한다) 또는 그의 염에 관한 것이다:

화학식 1



(I - a)

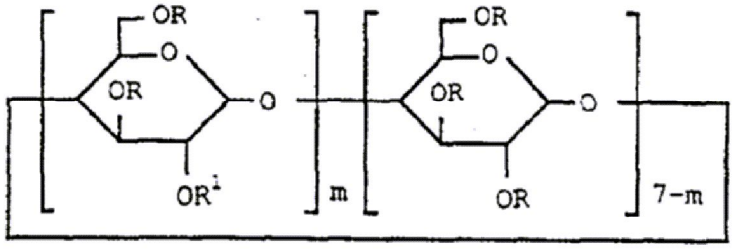
[상기 식에서, R^1은 탄소수 1-8의 알킬기, 치환체를 갖는 저급 알킬기 또는 저급 알케닐기이다.]

상기 정의한 본 발명의 폴리술페이트 화합물의 제조 방법은 β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1 이상이 식 (I-a)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린 유도체를 술폰화제와 반응시킨 다음, 원한다면, 그 생성물을 염으로 전환시키는 것을 포함한다.

하기에서, 본 발명을 상세하게 설명한다.

본 발명의 폴리술페이트 화합물은 하기와 같이 보다 구체적으로 나타낼 수 있다:

화학식 2



(I)

[상기 식에서, m은 1-7의 정수이고, R 들 중의 1 이상은 $-SOH_3$기이며, 그 나머지 R은 수소를 나타내고, R^1은 상기의 정의와 같다.]

상기 식 (I)에서, 7개의 구성 단위는 1-위치 및 4-위치 사이의 결합을 통해 임의의 순서로 시클릭 고리를 형성한다.

본 발명의 폴리술페이트 화합물의 특별한 예로는 R^1이 탄소수 1-8의 알킬기, 페닐-치환 저급 알킬기(예. 벤질기 및 페네틸기), 할로게노 페닐-치환 저급 알킬기(예. 클로로벤질기 및 플루오로벤질기), 저급 알킬 페닐-치환 저급 알킬기(예. 메틸벤질기 및 에틸벤질기) 또는 저급 알케닐기(예. 알릴기 및 펜테닐기)인 식 (I)의 화합물이 언급될 수 있다.

본 발명의 폴리술페이트 화합물(I) 중에서, 바람직한 것은 R^1이 페닐-치환 저급 알킬기 또는 할로게노 페닐-치환 저급 알킬기인 화합물이고, 보다 바람직한 것은 R^1이 벤질기, 플루오로벤질기 또는 클로로벤질기인 화합물이다.

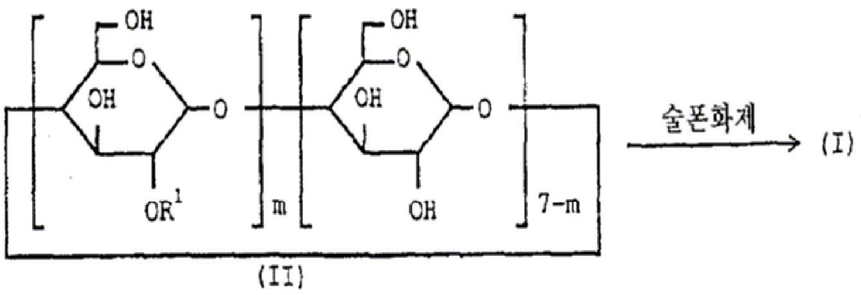
본 발명의 폴리술페이트 화합물(I)은 바람직하게는 8-20개, 특히 바람직하게는 9-18개의 술페이트기를 갖는다.

본 발명에서, 저급 알킬기는 탄소수가 1-6인 것, 특히 탄소수가 1-4인 것을 포함하고, 저급 알케닐기는 탄소수가 2-6인 것을 포함한다.

본 발명의 폴리술페이트 화합물(I)은 β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1이상이 식(I-a)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린 유도체를 술폰화제와 반응시켜 제조할 수 있다.

이 반응은 하기와 같이 설명될 수 있다:

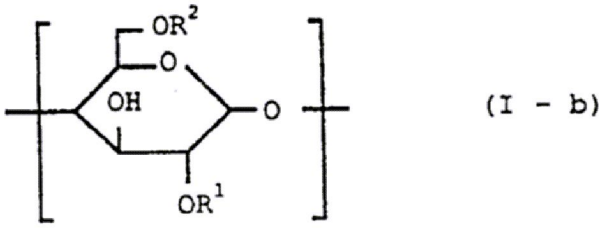
화학식 3



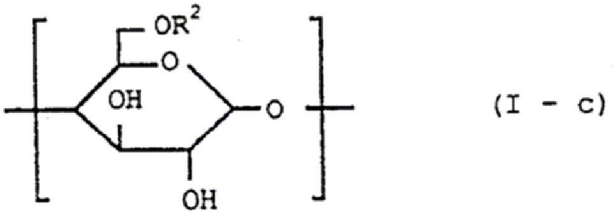
[여기서, 각각의 기호는 상기 정의한 바와 동일한 의미를 갖는다.]

본 발명의 목적 화합물 (I) 중에서, 7개의 D-글루코스 단위의 6-위치가 모두 유리 히드록시기인 화합물은, β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1 이상이 하기 식(I-b)로 나타내는 단위이며, 나머지 단위가 하기 식(I-c)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린 유도체를 술폰화제와 반응시킨 다음, 히드록시기용 보호기를 제거하여 제조할 수 있다:

화학식 4



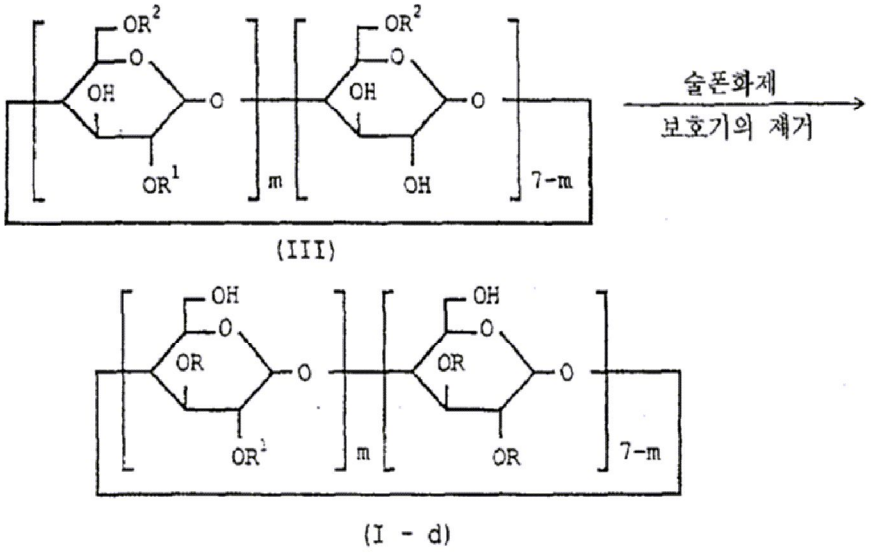
화학식 5



[상기 식에서, R^2는 히드록시기용 보호기이고, R^1은 상기에 정의한 바와 동일한 의미이다.]

이 반응은 하기와 같이 설명될 수 있다:

반응식 1



[상기 식에서, 각각의 기호는 상기에 정의한 바와 동일한 의미를 갖는다.]

상기 화합물(III)에서, 히드록시기용 보호기(R^2)는 당 분야에서 통상 사용되고 있는 것인 한, 특별하게 한정되지 않으며, 예컨대, t-부틸디메틸실릴기, 트리메틸실릴기 및 트리이소프로필실릴기 등과 같은 저급 알킬기-치환 실릴기; 아세틸기, 벤조일기, 에톡시카르보닐기 및 피발로일기 등과 같은 아실기; 또는 트리틸기 등이 사용될 수 있다.

화합물(III) 또는 (III)과 술폰화제의 반응은 적당한 용매중에서 수행될 수 있다.

술폰화제로는, 예컨대 삼산화황 착물(예, 삼산화황-피리딘 착물, 삼산화황-트리알킬아민 착물, 삼산화황-디옥산 착물 및 삼산화황-디메틸포름아마이드 착물), 무수 황산, 진한 황산 및 클로로술폰산 등이 적당하게 사용될 수 있다.

술폰화제의 사용량은 화합물(II) 또는 (III)의 양보다 과량을 사용함이 바람직하다. 예컨대, 삼산화황-피리딘 착물 또는 삼산화황-트리알킬아민 착물을 술폰화제로 사용하는 경우, 그 사용량은, 화합물(II) 또는 (III)의 히드록시기의 양에 대하여 바람직하게는 1-10 당량, 특히 바람직하게는 2-5 당량이다.

반응용 용매로는, 예컨대 3차 아민(예. 피리딘, 피콜린, 루티딘 및 N, N-디메틸아닐린), N, N-디메틸포름아마이드, 포름아마이드, 헥사메틸레포스포릴트리아마이드, 클로로포름, 벤젠, 톨루엔, 크실렌, 물, 그의 혼합물 및 액체 이산화황이 바람직하게 사용될 수 있다.

본 반응은 냉각 내지 가열하에서 수행할 수 있으며, 특히 바람직하게는 가열하에서 수행할 수 있다. 피리딘 중의 술폰화제로서 삼산화황 착물 또는 클로로술폰산이 사용되는 경우, 바람직하게는 30-200℃, 특히 바람직하게는 60-120℃에서 수행할 수 있다.

화합물(III)이 술폰화제와 반응되는 경우, 히드록시기용 보호기는, 보호기의 종류에 좌우되어 기존의 방법에 따라, 얻어진 생성물에서 제거할 수 있다. 예컨대, 보호기가 t-부틸디메틸실릴기와 같은 저급 알킬기 치환 실릴기인 경우, 냉각 내지 가열하에, 용매(물, 메탄올 및 에탄올 등과 같은 저급 알칸올, 디옥산, 테트라히드로푸란, 아세토니트릴 또는 그의 혼합물) 중에서, 산, 불소, 화합물, 염기 및 산화제 등과 같은 기존의 탈실릴화제로 처리하여 보호기를 제거할 수 있다. 산으로는, 무기산, 또는 염산, 불소화수소산, 브롬화수소산, 황산, 아세트산, 트리플로오로아세트산, 시트르산 및 p-톨루엔술폰산 등과 같은 유기산이 언급될 수 있고, 불소 화합물로는 불소화 테트라부틸암모늄 및 불소화 세슘 등이 언급될 수 있다. 또한, 염기로는 알칼리 금속 히드록사이드 및 알칼리 토금속 히드록사이드가 언급될 수 있고, 산화제로는 브롬 및 N-브로모숙신이미드가 언급될 수 있다. 보호기가 아실기 또는 트리틸기인 경우, 상기 보호기는 가수분해로 제거할 수 있다. 가수분해는, 예컨대 냉각 내지 가열하에서, 적당한 용매(예. 메탄올, 에탄올 및 물) 하에, 알칼리 시약(예. 수산화 나트륨, 수산화 칼륨) 또는 산(예. 염산 및 브롬화 수소산)으로 처리하여 수행할 수 있다.

술폰화 반응 또는 보호기 제거 반응의 종결후, 통상의 방법에 따라 목적 생성물을 분리하고 정제한다. 예컨대, 반응 혼합물에서 수득한 조생성물을 알칼리 금속 히드록하이드로 처리하고, 이어서 가교 결합된 덱스트란 겔이 충진된 칼럼에 통과시켜 목적 생성물을 알칼리 금속 염으로서 수득한다.

본 발명에 사용될 출발 화합물(II) 및 (III)은, 예컨대 Carbohydrate Research vol. 187, pp. 203-221(1989)에 기재된 방법에 따라 제조할 수 있다.

본 발명의 폴리술페이트 화합물은 유리 형태 또는 그의 약제학적 허용가능 염의 형태로 적당하게 사용될 수 있다. 그러한 염으로서, 예컨대 나트륨 염, 칼륨 염 및 리튬 염 등과 같은 알칼리 금속 염, 칼슘염, 마그네슘 염 및 바륨 염 등과 같은 알칼리 토금속 염, 및 트리메틸아민 염, 트리에틸아민 염, 피리딘

염, 글리신 에틸 에스테르 염, 에탄올아민 염 및 염기성 아미노산 염 등과 같은 유기아민 염 등이 언급될 수 있다.

본 발명의 폴리술페이트 화합무 ㄹ또는 그의 염은 경구 또는 비경구(예. 정맥, 근육 및 피하 투여)로 투여될 수 있으며, 통상적인 방법, 예컨대 정제, 과립, 캡슐, 분말, 주사 제제, 좌약, 페서리 및 크림 등과 같은 임의의 약제학적 제제로 사용될 수 있다.

활성성분으로 투여되는 본 발명의 화합물의 투여량은 환자의 연령, 체중, 상태 및 증후의 유형에 따라 상이하며, 약 0.1-500mg/kg이 적당하고, 약 1.0-50mg/kg이 특히 바람직하다.

본 발명은 하기 실시예를 참조하여 보다 상세히 기술된다.

[실시예 1]

4.70g의 헵타키스(2-O-벤질)-β-시클로덱스트린에 230ml의 피리딘을 첨가하고, 그 혼합물을 100℃로 가열한다. 계속해서, 여기에 17.8g의 삼산화황-피리딘 착물을 첨가하고, 그 혼합물을 동일한 온도로 8시간 교반한다. 피리딘을 감압 제거시키고, 물 20ml 및 메탄올 50ml의 혼합 용액에 그 잔류물을 용해시킨다. 다음, 이 용액에 700ml의 메탄올을 추가로 첨가하고, 이 혼합물을 서늘한 장소에서 밤새 방치한다. 이 용액에서 상층부를 제거하고, 잔류물을 메탄올로 세척한 다음, 100ml의 물에 용해시킨다. 얻어진 용액에 2.6g의 수산화 나트륨을 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 30분 교반한다. 감압하에 반응 혼합물을 증발 건조시키고, 잔류물을 메탄올로 처리하여 분말로 만든다. 얻어진 분말을 여과하여 수거하고, 건조한 다음, 물에 용해시킨다. 얻어진 용액을 Sephadex G-10(상표명, 제조원; Pharmacia AB)로 충진된 칼럼(용출제:물)에 통과시킨다. 목적 화합물을 함유하는 분획을 수거하고, 활성탄으로 처리하여 막필터로 여과한다. 여과액을 동결 건조하여 헵타키스(2-O-벤질)-β-시클로덱스트린 폴리술페이트의 나트륨 염 6.91g을 무색 분말로 수득한다.

IR^{KBr} V_{max} cm^{-1}: 3492, 1635, 1500, 1455, 1239, 1165, 1140, 1100, 1055, 993, 940, 808, 745

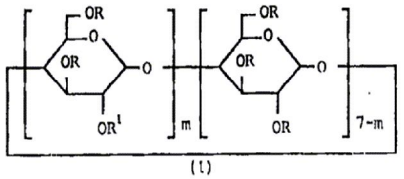
^1H-NMR(D_2O) δ: 3.8-4.1(m, 14H), 4.1-4.3(m, 7H), 4.27(brs, 14H), 4.54(brs, 14H), 4.6-4.9(m, 7H), 5.21(d, 7H), 7.1-7.5(m, 35H)

원소 분석치에서 계산되는 분자중의 술페이트기의 수:14

[실시예 2-12]

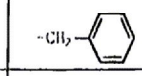
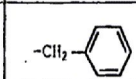
상응하는 출발 화합물을 실시예 1과 동일한 방법으로 처리하여 하기 표1에 나타난 바와 같은 화합물을 수득한다.

[표 1a]

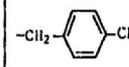
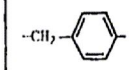
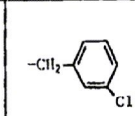


(I)

(단, 7 개의 구성 단위는 1-위치와 1-위치 사이의 결합을 통해 임의의 순서로 시클릭 고리를 형성한다)

실시예 번호	화합물 (I)				물리적 성질			
	R^1	m	술페이트기의 수	위의 종류	형태	수율** (%)	IR ν cm^{-1}***	^1H-NMR (D_2O) δ
2		3	16	K	무색 분말	62	3494, 1639, 1500, 1455, 1240, 1116, 1060, 1035, 1002, 945, 815, 747	3.0 ~ 6.0 (m), 7.0 ~ 7.8 (m)
3		2	18	K	무색 분말	239	3530, 1641, 1240, 1162, 1056, 1035, 1003, 943, 813, 744	3.0 ~ 5.7 (m), 7.1 ~ 7.7 (m)
4	$-CH_3$	7	14	Na	무색 분말	58	3500, 1640, 1270, 1220, 1150, 1060, 990, 940, 820, 740	3.53 (s, 21H), 3.75 ~ 3.85 (m, 7H), 4.17 (brs, 14H), 4.25 ~ 4.50 (m, 14H), 4.6 ~ 4.9 (m, 7H), 5.33 (d, 7H)

[표 1b]

실시예 번호	화합물 (I)				물리적 성질			
	R^1	m	술페이트기의 수*	염의 종류	형태	수율** (%)	IR ν cm^{-1}***	^{1}H-NMR (D_2O) δ
5		7	14	Na	무색 분말	75	3500, 1640, 1230, 1160, 1060, 990, 940, 810, 720	2.21 (s, 21H), 3.97 (brs, 14H), 4.25 (br tri, 21H), 4.55 (brs, 7H), 4.6 ~ 4.95 (m, 14H), 5.22 (d, 7H), 7.1 ~ 7.3 (m, 28H)
6		7	14	Na	무색 분말	51.5	3420, 1640, 1600, 1260, 1220, 1160, 1060, 990, 940, 820, 740	3.8 ~ 4.0 (m, 14H), 4.05 ~ 4.2 (m, 7H), 4.28 (brs, 14H), 4.50 (brs, 7H), 4.6 ~ 4.9 (m, 14H), 5.20 (d, 7H), 7.02 (tri, 14H), 7.22 (tri, 14H)
7		7	14	Na	무색 분말	105	3500, 1630, 1240, 1160, 1100, 1060, 990, 950, 820, 780, 720	3.8 ~ 4.0 (m, 14H), 4.1 ~ 4.25 (m, 14H), 4.34 (tri, 7H), 4.50 (brs, 7H), 4.6 ~ 4.8 (m, 14H), 5.25 (d, 7H), 7.0 ~ 7.4 (m, 28H)
8	$-CH_2CH=CH_2$	7	14	Na	무색 분말	129	3518, 1641, 1240, 1160, 1110, 1065, 999, 946, 820, 744	3.5 ~ 5.0 (m, 56H), 5.0 ~ 5.6 (m, 21H), 5.8 ~ 6.2 (m, 7H)

[표 1c]

실시예 번호	화합물 (I)				물리적 성질			
	R^1	m	술페이트기의 수*	염의 종류	형태	수율** (%)	IR ν cm^{-1}***	^{1}H-NMR (D_2O) δ
9	$-CH_2CH=CHC_2H_5$	7	14	Na	무색 분말	127	3507, 1641, 1236, 1150, 1106, 1063, 996, 947, 821, 749	0.96 (t, 21H), 1.9 ~ 2.3 (m, 14H), 3.7 ~ 4.6 (m, 49H), 4.6 ~ 5.0 (m, 7H), 5.30 (d, 7H), 5.4 ~ 5.9 (m, 14H)
10	$-n-C_8H_{17}$	1	17	Na	무색 분말	215	3524, 1637, 1240, 1145, 1055, 1040, 1010, 950, 890, 824, 750	0.7 ~ 1.1 (m, 3H), 1.1 ~ 1.6 (m, 10H), 1.6 ~ 1.9 (m, 2H), 3.3 ~ 5.2 (m, 44H), 5.3 ~ 5.8 (m, 7H)
11	$-n-C_3H_7$	7	14	Na	무색 분말	159	3534, 1643, 1237, 1145, 1105, 1060, 995, 940, 816, 746	0.92 (t, 21H), 1.4 ~ 1.8 (m, 14H), 3.4 ~ 3.8 (m, 14H), 3.8 ~ 4.6 (m, 35H), 4.7 ~ 4.9 (m, 7H), 5.30 (d, 7H)
12	$-n-C_5H_{11}$	7	14	Na	무색 분말	100	3496, 1635, 1240, 1145, 1105, 1060, 996, 945, 818, 750	0.8 ~ 1.2 (m, 21H), 1.2 ~ 1.5 (m, 28H), 1.5 ~ 2.0 (m, 14H), 3.5 ~ 4.5 (m, 49H), 4.6 ~ 5.1 (m, 7H), 5.27 (d, 7H)

* : 원소 분석치에서 계산되는 한 분자중의 술페이트기의 수

** : 수율은 출발 화합물에 대한 목적 화합물의 중량%로 산정하여 나타낸다

*** : KBr 은 실시예 1, 3 및 8 내지 12 에 사용되고, Nujol 은 실시예 4 내지 7 에 사용된다

[실시예 13]

331mg의 트리스(2-O-벤질)-헵타키스(6-O-t-부틸디메틸실릴)-β-시클로덱스트린에 30ml의 피리딘을 첨가하고, 그 혼합물을 100℃로 가열한다. 계속해서, 여기에 788mg의 삼산화황-피리딘 착물을 첨가하고, 혼합물을 동일한 온도에서 6시간 교반한다. 피리딘을 감압 제거시키고, 물 10ml 및 메탄올 10ml의 혼합용액에 그 잔류물을 용해시킨다. 다음, 이 용액에 5% 염산 10ml를 추가로 첨가하고, 그 혼합물을 실온에서 30분간 교반한다. 얻어진 용액에, 냉각하에서 수산화칼륨 2g을 첨가하고, 그 혼합물을 실온에서 30분간 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에서 증발 건조시키고, 잔류물을 20ml의 물에 용해시켜 활성탄으로 처리한다. 투석 막(비스킹 시임레스(visking seamless) 셀룰로오스막, 제조원:Shiraimatsu Kikai K.K.)을 사용하여, 얻어진 용액을 2시간 투석시키며, 물을 교환한 다음, 추가로 2시간 투석시키고, 이어서 농축시킨다. 이 농축물을 Sephadex G-10(상표명, 제조원Pharmacia AB)가 충진된 칼럼(용출제:물)에 통과시킨다. 목적 생성물을 함유하는 분획을 수거하고, 활성탄으로 처리하여, 막 필터로 여과한다. 여과액을 동결 건조하여 트리스(2-O-벤질)-β-시클로덱스트린 폴리술페이트 (단, 6-위치의 히드록시기는 술페이트화

되지 않음)의 칼륨 염 230㎎을 무색 분말로 수득한다.

IR^{KBr} ν_{max} cm^{-1} : 1641, 1236, 1138, 1008, 950, 817, 755

^1H - NMR (D_2O) δ : 3.0 - 6.0 (m), 6.9 - 7.9 (m)

원소 분석치로 부터 계산되는 분자내의 술페이트기의 수: 9

[실시예 14]

실시예 13과 동일한 방법으로 상응하는 출발 화합물을 처리하여 비스(2-O-벤질)-β-시클로덱스트린 폴리술페이트(단, 6-위치의 히드록시기는 술페이트화되지 않음)의 칼륨 염을 무색 분말로 수득한다.

IR^{KBr} ν_{max} cm^{-1} : 1640, 1246, 1164, 1010, 956, 824, 754

^1H - NMR (D_2O) δ : 3.0 - 5.6 (m), 6.9 - 7.7 (m)

원소 분석치로 부터 계산되는 분자내의 술페이트기의 수: 10

[참고예 1]

N, N-디메틸포름아미드 150㎖에 헵타키스(6-O-t-부틸디메틸실릴)-β-시클로덱스트린 6.2g을 용해시키고, 이 용액에 산화 바륨 3.54g 및 수산화 바륨 옥타히드레이트 1.83g을 첨가한다. 교반 및 빙냉하에, 벤질 브로마이드 1.14g을 혼합물에 적가하고, 얻어진 혼합물을 실온에서 18시간 교반한다. 불용성 물질을 여과 제거한 다음, 잔류물에 300㎖의 에틸 아세테이트를 첨가한다. 이 혼합물을 묽은 염산, 물 및 포화 식염수로 연속해서 세척한다. 혼합물을 황산 마그네슘으로 건조하고, 감압하에서 여과 건조시킨다. 잔류물을 분리하고, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(용매:클로로포름:메탄올=95:5-9:1)로 정제하여 하기의 화합물을 수득한다:

비스(2-O-벤질)-헵타키스(6-O-t-부틸디메틸실릴)-β-시클로덱스트린

수율: 1.2g

형태: 카라멜형

^1H - NMR ($CDCl_3$) δ : 0.00 (s, 42H), 0.84 (s, 63H), 3.1 - 4.2 (m, 42H), 4.3 - 5.4 (m, 16H), 5.6 - 6.5 (m, 7H), 7.0 - 7.5 (m, 10H)

트리스(2-O-벤질)-헵타키스(6-O-t-부틸디메틸실릴)-β-시클로덱스트린

수율: 1.3g

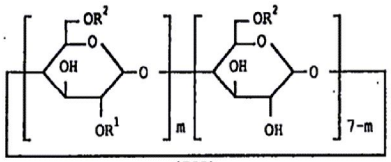
형태: 카라멜형

^1H - NMR ($CDCl_3$) δ : 0.00 (s, 42H), 0.85 (s, 63H), 3.1 - 4.2 (m, 42H), 4.4 - 6.3 (m, 24H), 7.0 - 7.5 (m, 15H)

[참고예 2-9]

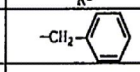
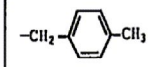
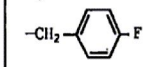
참고예 1과 동일한 방법으로 상응하는 출발 화합물을 처리하여 하기 표 2에 나타난 화합물을 수득한다.

[표 2a]

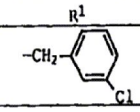


(III)

(단, 7 개의 구성 단위는 1-위치와 4-위치 사이의 결합을 통해 임의의 순서로 시클릭 고리를 형성하고, R^2 는 t-부틸디메틸실릴기이다)

참고예 번호	화합물 (III)		물리적 성질		
	R^1	m	형태	수율 (%)	^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 또는 융점
2		7	침상	13	융점 : 199 ~ 201 °C
3	$-CH_3$	7	무색 분말	82	융점 : 215 ~ 220 °C
4		7	카라멜형	11	-0.03 (s, 42H), 0.82 (s, 63H), 2.35 (s, 21H), 3.2 ~ 4.0 (m, 42H), 4.6 ~ 4.7 (m, 7H), 4.73 (brs, 7H), 4.85 ~ 4.95 (brs, 14H), 7.05 ~ 7.25 (m, 28H)
5		7	카라멜형	24	0.00 (s, 42H), 0.84 (s, 63H), 3.2 ~ 4.0 (m, 42H), 4.6 ~ 4.8 (m, 14H), 4.8 ~ 4.95 (m, 14H), 6.9 ~ 7.1 (m, 14H), 7.2 ~ 7.4 (m, 14H)

[표 2b]

참고예 번호	화합물 (III)		물리적 성질		
	R^1	m	형태	수율 (%)	^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 또는 융점
6		7	무색 분말	30	융점 : 115 ~ 120 °C
7	$-CH_2CH=CH_2$	7	무색 분말	22	융점 : 163 ~ 166 °C
8	$-CH_2CH=CHC_2H_5$	7	무색 분말	8	융점 : 179 ~ 182 °C
9	$-n-C_8H_{17}$	1	무색 분말	20	융점 : 238 ~ 240 °C (분해)

[참고예 10]

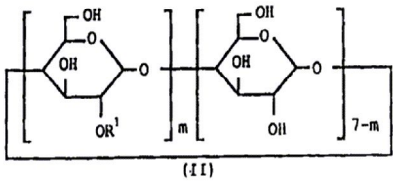
8ml의 테트라히드로푸란데 635mg의 비스(2-O-벤질)-헵타키스(6-O-t-부틸디메틸실릴)-β-시클로덱스트린을 용해시킨다. 얻어진 혼합물에 n-테트라부틸암모늄 플루오라이드의 테트라히드로푸란 용액(1몰 농도 용액) 2.5ml를 첨가하고, 이 혼합물을 가열하에 2시간 환류시킨다. 테트라히드로푸란을 감압하에 제거하고, 물과 에틸 아세테이트를 잔류물에 첨가시킨다. 수성층을 수거하고 감압하에 농축시킨 다음, 농축물을 고다공성 중합체 CHP-20P(상표명, 제조원:MITSUBISHI KASEI CORPORATION) 30ml가 충진된 칼럼 크로마토그래피에 가한다. 얻어진 생성물을 100ml 물, 50ml의 20% 메탄올 및 50ml의 50% 메탄올로 연속해서 세척한 후, 70% 메탄올로 용출시킨다. 용출물을 수거하고 감압하에서 증발 건조시킨다. 잔류물을 아세톤으로 세척하고 여과하여 수거하며, 건조시켜 비스(2-O-벤질)-β-시클로덱스트린 270mg을 무색 분말로 수득한다.

융점: 260-262℃(분해)

[참고예 11-19]

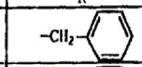
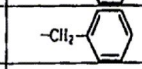
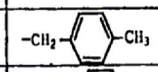
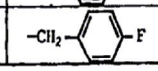
참고예 10과 동일한 방법으로 상응하는 출발 화합물을 처리하여 하기 표 3에 나타난 바와같은 화합물을 수득한다.

[표 3a]

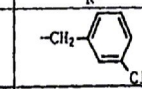


(II)

(단, 7 개의 구성 단위는 1-위치와 4-위치 사이의 결합을 통해 임의의 순서로 시클릭 고리를 형성한다)

참고예 번호	화합물 (II)		물리적 성질		
	R^1	m	형태	수율 (%)	융점 (°C)
11		7	무색 침상	96	150 ~ 153
12		3	무색 분말	70	262 ~ 264 (분해)
13	$-CH_3$	7	무색 분말	60	250 ~ 255 (분해)
14		7	무색 분말	48	80 ~ 100
15		7	무색 분말	57	180 ~ 190

[표 3b]

참고예 번호	화합물 (II)		물리적 성질		
	R^1	m	형태	수율 (%)	융점 (°C)
16		7	무색 분말	51	215 ~ 225 (분해)
17	$-CH_2CH=CH_2$	7	무색 분말	92	200 ~ 205 (분해)
18	$-CH_2CH=CHC_2H_5$	7	무색 분말	78	145 ~ 150 (분해)
19	$-n-C_8H_{17}$	1	무색 침상	51	280 °C 또는 그 이상

[참고예 20]

제ml의 메탄올에 425mg의 헵타키스(2-O-알릴)-β-시클로덱스트린을 용해시키고, 수득된 혼합물에 400mg의 10% 팔라듐-탄소 촉매를 첨가한다. 이 혼합물을 3kg/㎠의 수소 대기하에, 실온에서 18시간 진탕시킨다. 촉매를 여과 제거하고, 여과액을 감압하에 증발 건조시켜 헵타키스(2-O-n-프로필)-β-시클로덱스트린 420mg을 무색 분말로 수득한다.

융점: 233~238℃(분해)

[참고예 21]

헵타키스(2-O-2-펜테닐)-β-시클로덱스트린을 참고예 20과 동일한 방법으로 처리하여 헵타키스(2-O-n-펜틸)-β-시클로덱스트린을 무색 분말로 수득한다.

융점: 200~205℃(분해)

[시험예 1]

HIV 증식 억제 확성

[원리]

인체 T-세포 백혈병 바이러스 I 유형(HTLV-I)의 감염성 세포계를 유지하는 MT-4 세포가 HIV 로 감영되는 경우, HIV는 급속히 증식하고, MT-4 세포는 세포의 손상으로 인하여 5~6일 내에 죽는다고 알려져 있다. 따라서, 시료의 HIV 증식 억제 활성은 HIV로 감염된 MT-4 세포의 생존 세포수를 측정함으로써 평가할 수 있다.

[절차]

MT-4 세포를 37℃에서 1시간, HIV(TALL-1/LAV-1의 배양 상층액)로 감염시켜 TCID(중간 조직 배양 감염량)/세포가 0.001이 되도록 한 다음, 배지를 세척한다. 다음, 감염된 MT-4 세포를 각각, 각종 농도의 시료를 함유하는 RPMI-1640 배지 [10%의 FCS(송아지 태아 혈청)을 함유함]에 1×10 세포/ml의 농도로 현탁시킨다. 수득한 각각의 세포 현탁액을 평평한 바닥 배양판(flat bottom culture plate)에 200㎕/웰(well)의 양으로 도입하고, 5% 이산화탄소의 존재하에 5일간 37℃로 항온 처리한다. 항온 처리 후, 트리판-블루(Tripan-Blue) 염색 방법으로 세포 현탁액 중의 생존 세포수를 센다. 시료의 HIV 증식 억제 활성은, MT-4 세포내에서 HIV의 감염도 및 세포 변조 활성을 100%로 억제하는 시료 농도로 평가된다.

[결과]

그 결과는 하기 표 4에 나타낸다

[표 4]

시험 화합물	HIV 증식 억제 활성, 100 % 억제 농도 (㎍/ml)
실시예 1 에서 제조한 폴리술페이트 화합물 (나트륨염)	0.98
실시예 2 에서 제조한 폴리술페이트 화합물 (칼륨염)	1.95
실시예 3 에서 제조한 폴리술페이트 화합물 (칼륨염)	1.95
실시예 6 에서 제조한 폴리술페이트 화합물 (나트륨염)	3.9

[시험예 2]

HIV 증식 억제 확성(인체 혈청 존재하)

[절차]

37℃에서, HIV(TALL-1/LAV-1의 배양 상층액)로 MT-4 세포를 1시간 감염시켜 TCID(중간 조직 배양 감염량)/세포가 0.001이 되도록 하고, 이어서 배지를 세척한다. 다음, 감염된 MT-4 세포를 각각, 각종 농도의 시료를 함유하는 RPMI-1640 배지(50%의 HS(인체 혈청)을 함유함)에 1×10세포/ml의 농도로 현탁시킨다. 수득한 각각의 세포 현탁액을 평평한 바닥 배양판에 1ml/웰의 양으로 도입하고, 5% 이산화탄소 존재하에 5일간 37℃로 항온 처리한다. 항온 처리 후, 트리판-블루 염색 방법으로 세포 현탁액 중의 생존 세포수를 측정한다. 시료의 HIV 증식 억제 활성은 MT-4 세포에서 HIV의 감염도 및 세포 변조 활성을 50%로 억제하는 시료 농도로 평가된다.

[결과]

그 결과는 하기 표 5에 나타난다.

[표 5]

시험 화합물	HIV 증식 억제 활성 50 % 억제 농도 (㎍/ml)
실시예 1 에서 제조한 폴리술페이트 화합물 (나트륨염)	0.87

[시험예 3]

거대 세포 형성 억제 활성

[원리]

Molt-4 세포를 HIV(HTLV-IIIB)로 영구 감염된 Molt-4/HIV 세포와 함께 배양하는 경우, 1~2일 이내에 거대 세포가 형성된다. 이러한 현상은 Molt-4 세포 표면상의 CD4 수용체(receptor)와, Molt-4/HIV 세포의 표면상에 생성된 HIV 엔벨로프(envelope) 단백질 gp120 사이의 결합에 기인한다. 따라서, 시료 HIV 및 CD4 분자간의 결합(임파구에 대한 HIV의 흡착)에 대한 억제 활성은 거대 세포 형성의 존재로서 평가될 수 있다.

[절차]

평평한 바닥 배양판의 각각의 웰에, 시험 화합물의 순차적 희석용액(각종 농도), 건강한 인체 혈청(50%), 및 Molt-4 세포와 Molt-4/HTLV-IIIB 세포의 혼합물(1:1)의 세포 현탁액(5×10 세포./ml, 1ml)를 첨가한 다음, 배양한다. 22시간 후, 생존 세포수를 트리판 블루 배제(Exclusion) 방법으로 세고, IC(거대 세포수를 50%로 감소시키는 50% 억제 농도)를 계산한다.

[결과]

그 결과는 하기 표 6에 나타난다.

[표 6]

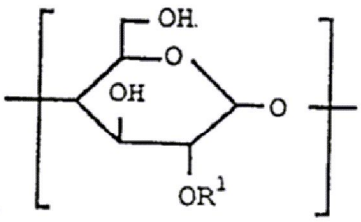
시험 화합물	HIV-유도 거대 세포 형성에 대한 억제 활성, 50 % 억제 활성 (㎍/ml)
실시예 1 에서 제조된 폴리술페이트 화합물 (나트륨염)	0.81

본 발명의 폴리술페이트 화합물은, 상기한 바와 같이 매우 우수한 항레트로바이러스 활성, 특히 매우 우수한 HIV 증식 억제 활성 및 거대 세포 형성 억제 활성, 또한 저독성이고 약물로서 매우 안전함이 증명된 특징을 갖고 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1이상이 하기 식(I-a)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트 또는 그의 염:



(I - a)

[상기 식에서, R^1은 탄소수 1~8의 알킬기, 치환체를 갖는 저급 알킬기 또는 저급 알케닐기이다.]

청구항 2

제1항에 있어서, R^1이 탄소수 1~8의 알킬기, 치환체를 가져도 무방한 페닐기로 치환된 저급 알킬기 또는 저급 알케닐기임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3

제2항에 있어서, R^1이 탄소수 1~8의 알킬기, 페닐-치환 저급 알킬기, 할로게노페닐-치환 저급 알킬기, 저급 알킬페닐-치환 저급 알킬기 또는 저급 알케닐기임을 특징으로 하는 화합물,

청구항 4

제3항에 있어서, R^1이 페닐-치환 저급 알킬기 또는 할로게노페닐-치환 저급 알킬기임을 특징으로 하는 화

합물.

청구항 5

제1항에 있어서, R^1이 벤질기, 플루오로벤질기 또는 클로로벤질기임을 특징으로 하는 화합물.

청구항 6

헵타키스(2-O-벤질)-β-시클로덱스트린 폴리술페이트 또는 그의 염.

청구항 7

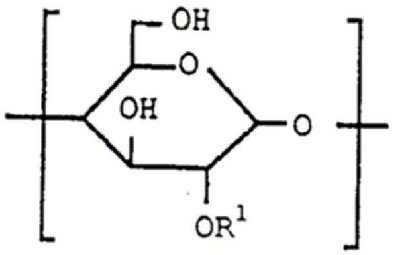
제1항에 있어서, 상기 폴리술페이트가 8~20개의 술페이트기를 가짐을 특징으로 하는 화합물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 폴리술페이트가 9~18개의 술페이트기를 가짐을 특징으로 하는 화합물.

청구항 9

β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1 이상이 하기 식(I-a)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트 또는 그의 염의 제조에 있어서, β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1 이상이 하기 식으로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린 유도체를 술폰화제와 반응시킨 다음, 생성물을 염으로 전환시킬 수 있음을 특징으로 하는 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트 또는 그의 염을 제조하는 방법:



(I - a)

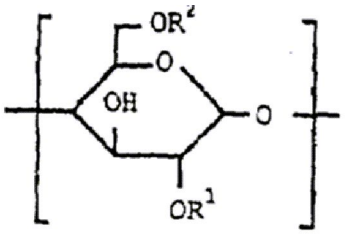
[상기 식에서, R^1은 탄소수 1~8의 알킬기, 치환체를 갖는 저급 알킬기 또는 저급 알케닐기이다.]

청구항 10

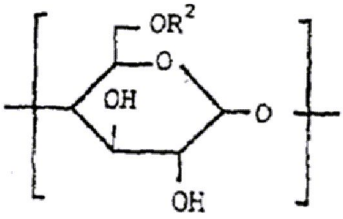
제9항에 있어서, 술폰화제가 삼산화황 착물, 무수 황산, 진한 황산 또는 클로로술폰산임을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1 이상이 하기 식(I-b)로 나타내는 단위이고, 나머지 단위는 하기 식(I-c)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트 또는 그의 염의 제조에 있어서, β-시클로덱스트린을 구성하는 7개의 D-글루코스 단위의 1 이상이 하기 식(I-b)로 나타내는 단위이고, 나머지 단위는 하기 식(I-c)로 나타내는 단위인 β-시클로덱스트린 유도체를 술폰화제와 반응시키고, 히드록시기의 보호기를 제거한 다음, 그 생성물을 염으로 전환시킬 수 있음을 특징으로 하는 β-시클로덱스트린의 폴리술페이트 또는 그의 염을 제조하는 방법:



(I - b)



(I - c)

[상기 식에서, R^1은 탄소수 1~8의 알킬기, 치환체를 갖는 저급 알킬기 또는 저급 알케닐기이며, R^2는 히

드록시기의 보호기를 나타낸다.]

청구항 12

제11항에 있어서, 술폰화제가 삼산화황 착물, 무수 황산, 진한 황산 또는 클로로술폰산임을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제1항에 기재된 화합물의 치료학적 유효량 및 그의 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함함을 특징으로 하는, HIV 증식억제 활성을 갖는 약제학적 조성물.