

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl.<sup>2</sup>  
C07H 15/22

(45) 공고일자 1980년01월29일  
(11) 공고번호 특허1980-0000057

|           |                                                                                                                      |           |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| (21) 출원번호 | 특1975-0002387                                                                                                        | (65) 공개번호 |
| (22) 출원일자 | 1975년11월04일                                                                                                          | (43) 공개일자 |
| (71) 출원인  | 교와학교 고교 가부시끼가이샤 다까나 히로시<br>일본국 도쿄도 지요다구 오오데마찌 1-6-1                                                                  |           |
| (72) 발명자  | 모리 야스끼<br>일본국 가나가와켄 가와자끼시 다마구 오오젠지 2625<br>도미오까 신지<br>일본국 도쿄도 마찌다시 기소마찌 602<br>후꾸하라 도모꼬<br>일본국 도쿄도 초후시 고크류오쵸 1-17-15 |           |
| (74) 대리인  | 이병호                                                                                                                  |           |

심사관 : 진금섭 (책자공보 제461호)

(54) 항생물질의 제조방법

요약

내용 없음.

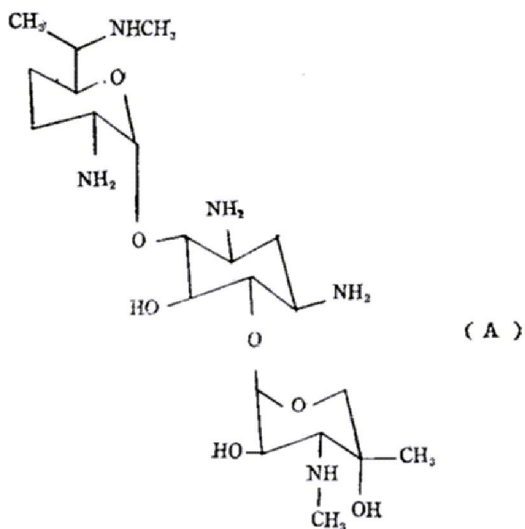
명세서

[발명의 명칭]

항생물질의 제조방법

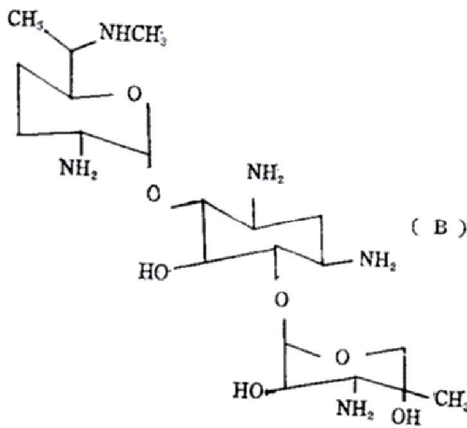
[발명의 상세한 설명]

본 발명은 구조식(B)의 신 항생물질의 제조방법에 관한 것이다.



자세히 말하면, 본 발명은 구조식(A)의 겐타마이신(미합중국 특허원 제3,091,572호 공보참조)을 산화제와 반응시켜서 3'-위치에 있는 N-매틸기의 메틸기를 이탈시키는 것을 특징으로 하는 신 항생물질(화합

물 B)의 제조방법에 관한 것이다.



본 발명의 목적 화합물은 강력한 항균활성을 가지고 있으며 항생물질로서의 용도가 기대되는 아주 새로운 화합물이다.

다음에 본 발명을 상세히 설명하겠다.

본 발명을 불활성 용매중에서 겐타마이신 C<sub>1</sub>을 산화제와 반응시켜서 3'-위치의 N-메틸기의 메틸기를 이탈시켜서 본 출원 목적화합물을 제조하는 것이다.

본 발명에 있어서 산화방법은 종래부터 알려진 방법을 사용하여 수행할 수 있다.

즉 겐타마이신 C<sub>1</sub>과 산화제를 적당한 불활성 용매중에서 다음과 같은 조건으로 산화반응시켜 본 출원 목적 화합물을 생성할 수 있다.

반응온도는 -20 내지 100°C, 일반적으로는 0 내지 7°C이고, 반응시간은 0.5 내지 50시간, 반응액의 pH는 4.0 내지 12.0의 범위이다.

그러한 반응조건은 산화제의 종류, 사용량, 기타의 반응조건에 따라 상기의 범위에서 적의 선택한다.

본 발명에 있어서 사용되는 산화제로는 일반산화제 및 잠재적 산화력을 가진 화합물을 의미한다. 구체적으로는 각종 중금속 염류, 과산화물, 할로겐, 할로겐산소산, 질소산화물, 중금속등을 들 수 있다. 보다 구체적으로는 과망간산염, 망간산염, 이산화망간, 무수크롬산, 중크롬산염, 크롬산염, 크롬산 알킬스테르, 염화크로밀, 이산화셀렌, 제2코발트염, 제2세륨염, 적혈염, 산화구리, 산화아연, 산화수은, 과산화수소 및 제1철염, 제2철염, 이산화셀렌, 사염화오소음, 바나딘산류, 텅스텐산, 크롬산등에서 선택되는 적어도 1종 이상의 화합물과의 혼합물, 사초산아연, 염소, 브롬, 요오드, 차아염소산, 염소산, 차아브롬산, 브롬산 과요오드산, 아산화질소, 이산화질소와 같은 일반 산화제 및 백금, 니켈, 팔라듐, 로듐, 루, 테늄, 레늄등의 귀금속류를 들 수 있다.

본 발명은 상기 산화제의 어느 것이든지 사용하여 달성할 수가 있으나 바람직하기로는 염소, 브롬, 요오드, 적혈염, 과망간산염, 백금, 더욱 바람직하기로는 요오드이다.

겐타마이신 C<sub>1</sub>은 분자내에 수산기, 1급 아미노기등의 관능기를 가지고 있으나 상기 일반 산화제와의 반응에 있어서 산화제의 량, 반응액의 산도, 반응온도, 반응시간, 용매량을 적당히 조절하여 이러한 관능기의 손실을 방지시켜 본 발명의 목적을 달성할 수 있다. 또한 귀금속을 산화제로 사용할때는 활성화시킨직후에 사용하고 공기 또는 산소존재하에 반응시키면 양호한 결과를 얻을 수가 있다. 산화제의 사용량에 있어서는 원료화합물 1몰당 0.5 내지 15.0몰을 사용할 수 있으나 산화제의 종류, 반응온도, 기타의 반응조건에 따라서 상기 범위내에서 적의 선택하여 반응시킬 수 있다.

본 발명에서 사용하는 용매는 반응시약을 용해시키고 한편 반응에 참여하지 않는 것을 사용할 수 있다. 예를 들면 물 단독으로, 혹은 메탄올, 에탄올, 테트라하이드로푸란, 디메틸아세트아마이드, 디메틸포름아마이드, 디옥산, 에틸렌글라이콜 디메틸에테르중에서 선택한 1종 혹은 2종 이상의 혼합용매와 물의 혼합물을 사용할 수 있다.

본 발명을 실시할 때 산화제로서 보다 적당한 요오드를 사용하는 반응조건을 다음에 구체적으로 설명하고자 한다.

겐타마이신 C<sub>1</sub>의 3'-위치의 N-메틸기의 메틸기를 이탈시켜서 본 출원목적 화합물을 양호한 수율로 얻기 위해서 사용하는 요오드는 겐타마이신 C<sub>1</sub> 1몰당 0.7 내지 10.0를, 바람직하기로는 2.0 내지 6.0몰을 사용한다.

산화제로서 요오드를 사용할 경우에는 반응액의 pH를 염기성으로 유지하여 목적화합물의 수율을 보다 좋게 얻을 수가 있다. 반응을 수행할 때 반응액의 pH를 염기성으로 유지하기 위해 사용하는 염기성 물질로서의 조건은 겐타마이신 C<sub>1</sub> 및 탈메틸화 생성물과 반응시켜 그것을 분해시킬 가능성이 없는 것 및 요오드와 반응할 때 요오드의 반응성을 실질적으로 저하시키지 않는 물질이 요망된다. 이러한 조건을 만족시키는 것으로서는 알칼리금속이나 알칼리토금속의 수산화물 및 탄산염, 알칼리금속의 알콜레이트, 카본산의 알칼리금속염 및 카본산의 알칼리토금속염이 바람직하다. 염기성 물질의 사용량에 있어서는 강염기성 물질의 경우에는 탈메틸화 물 1몰당 0.5 내지 6.0몰, 바람직하기로는 2.0 내지 4.0몰이다. 또한

약염기성 물질의 경우에는 5.0 내지 25.0몰, 바람직하기로는 7.0 내지 15.0몰이다. 이러한 염기성 물질은 반응을 시작할 때 가해도 좋고, 반응진행중 적으로 가해도 가능하나 본질적인 차이는 없다. 반응온도는 일반적으로 10 내지 90℃, 바람직하기로는 40 내지 60℃의 범위에서 행하고, 또한 반응을 종료시키기 위해 소요되는 시간은 1 내지 24시간, 일반적으로 2 내지 15시간이다.

본 출원 발명 방법에서는 본 출원 목적화합물만이 생성되는 것은 극히 드물고 본 출원 목적화합물과 동시에 겐타마이신 C<sub>1</sub>의 6'-위치의 N-메틸기의 메틸기가 이탈된 화합물(II)(6'-N-데메틸-겐타마이신C<sub>1</sub>) 및 겐타마이신 C<sub>1</sub>의 6'-위치와 3"-위치의 N-메틸기의 메틸기가 동시에 이탈된 화합물(III)(6'-N, 3"-N-디데메틸-겐타마이신 C<sub>1</sub>)이 생성된다. 화합물(II)는 미합중국 특허 제3,091,572호 공보에 공개된 겐타마이신 C<sub>2</sub>와 동일한 것이나 그 제법을 다르게 한 것이다.

화합물(III)은 문헌에 알려진 바 없다.

반응액에서 생성물의 분리, 정제는 다음과 같은 방법으로 적합히 수행한다.

반응액을 중화한 후 그대로, 또는 감압하에서 농축하여 얻은 잔사의 수용액을 양이온 교환수지에 접촉시켜서 미반응원료 및 생성물을 흡착시켜 수세후 2.0N의 암모니아수로 용출시킨다. 농축후 공지의 분리, 정제방법, 예를들면 이온교환수지, 실리카겔, 알루미늄, 셀룰로오스의 흡착제를 사용하는 컬럼 크로마토그래피법이나 박층 크로마토그래피법으로 분리, 정제한다.

본 발명의 목적 화합물(화합물 B)은 전적으로 새로운 항생물질이며, 그 자체가 본질적으로 항균활성을 가지고 있는 동시에, 독성이 겐타마이신 C<sub>1</sub>의 1/2정도를 낮다는 점에서 가치를 가지고 있는 화합물이다.

또한 본 발명의 목적화합물은 3"-위치의 1급 아미노기에 C<sup>14</sup>H<sub>3</sub>를 도입시켜서 방사성 겐타마이신 C<sub>1</sub>으로 전환시킬 수 있으며 생체내에 있어서 겐타마이신 C<sub>1</sub>의 분포 및 그 대상경로를 검토하는 것도 가능하다.

표 1은 2배 회석법에 의해서 얻어진 여러 그람 양성균 및 음성균에 대한 겐타마이신 C<sub>1</sub>, 화합물 II, III 및 본 출원 목적화합물의 항균범위를 표시한 것이다.

[표 1]

| 균                         | 최소저해농도(MIC mg/ml)    |          |        |         |
|---------------------------|----------------------|----------|--------|---------|
|                           | 겐타마이신 C <sub>1</sub> | 본출원목적화합물 | 화합물 II | 화합물 III |
| 슈도모나스 에어루기노자 BMH          | 2.08                 | 2.08     | 1.04   | 1.04    |
| 스타필로코커스 아우레우스 ATCC 6538 P | 0.016                | 0.033    | 0.008  | 0.033   |
| 바실러스 셉틸리스 No 10707        | <0.004               | 0.016    | <0.004 | 0.008   |
| 프로티우스 벨가리스 ATCC 6897      | 0.065                | 0.26     | 0.065  | 0.13    |
| 시젤라 존나이 ATCC 9290         | 0.13                 | 0.26     | 0.13   | 0.26    |
| 살모넬라 다이로자 ATCC 9992       | 0.033                | 0.13     | 0.033  | 0.065   |
| 클렙시엘라 뉴모니아에 ATCC 10031    | 0.016                | 0.065    | 0.016  | 0.033   |
| 이·콜라이 ATCC 26             | 0.033                | 0.13     | 0.033  | 0.13    |
| 이·콜라이 KY 8327             | 8.34                 | 4.17     | 4.17   | 8.34    |
| 이·콜라이 KY 8348             | 2.08                 | 0.52     | 2.08   | 2.08    |

표중 이·콜라이 KY 8327 및 KY 8348은 각각 아데닐화효소 및 아세틸화 효소를 균체내에서 생산하고, 전자는 카나마이신, 겐타마이신류를 아데닐화하고, 후자는 겐타마이신류를 아세틸화하며, 각각 항생 물질을 불활성화하는 세균이다.

표 2에는 겐타마이신 C<sub>1</sub>, 화합물 II, III 및 본 출원목적화합물의 마우스에 대한 급성 독성치(LD<sub>50</sub>)가 나타내었다.

[표 2]

| LD <sub>50</sub> mg/kg(정맥) |     |
|----------------------------|-----|
| 겐타마이신 C <sub>1</sub>       | 85  |
| 본출원목적화합물                   | 193 |
| 화합물 II                     | 87  |
| 화합물 III                    | 225 |

본 출원 목적화합물은 필요할시 약리적으로 허용되는 무독성 산과의 부가염류(또는 아민염류)로 할 수 있다. 여기서 말하는 무독성 산으로는 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 황산, 인산, 탄산등의 무기산류 및 아세트산 푸마린산, 농금산, 구연산, 만델산, 주석산, 아스코르빈산등의 유기산류가 포함되며, 상기 산류와의 부가염류의 제조법은 공지되어 있다.

다음의 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것이지만 본 발명을 제한하는 것은 아니다.

## [실시예 1]

겐타마이신 C<sub>1</sub> 29g(6.0밀리몰) 및 아세트산나트륨 3수화물 8.3g(65.0밀리몰)을 50% 수성 디메틸포름아미드 130ml에 용해시키고, 그다음 요오드 6.6g(26.0밀리몰)을 한꺼번에 가하고 교반하에 50℃에서 하룻밤 반응시킨다. 반응액을 엠버라이트 IRC -50(H<sup>+</sup>형) 140ml컬럼을 통해주고, 문 500ml로 세척하여 탈염, 탈색을 완전히 한 후 2.0N암모니아수를 통과하고 닌하이드린으로 발색되는 획분 약 250ml을 모아서 강압하에 농축시켜 담황색잔사 2.48g을 얻는다. 이 잔사를 실리카겔 120g을 사용하여 이소프로판올:클로로포름:농암모니아수(4:1:1)의 용매로 컬럼 크로마토그래피하여 용출액을 13ml씩 분액으로 분취하여 분액 제52-70호를 합쳐 강압 농축건고하여 미반응 원료인 겐타마이신 C<sub>1</sub> 430mg을 회수한다. 그다음 분액 제79-88호를 강압하에 농축건고하여 6'-N-데메틸-겐타마이신 C<sub>1</sub>(화합물 II, 겐타마이신 C<sub>2</sub>) 62mg을 얻는다.

융점 : 128 내지 136℃

$[\alpha]_D^{25} +142.1^\circ$  (C=1.03, 물)

적외선 흡수 스펙트럼(KBr, cm<sup>-1</sup>)

3,800-3,000, 2,930, 1,640, 1,575, 1,480, 1,450, 1,360, 1,283, 1,140, 1,098, 1,050, 1,020, 953, 827.

핵자기공명 스펙트럼(D<sub>2</sub>O, DSS부터의 ppm)

1.10(3H,d, J=6.2Hz)

1.21(3H,s)

2.54(3H,s)

5.13(1H,d, J=4.0Hz),

5.21(1H,d, J=4.2Hz)

원소분석 : C<sub>20</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>

계산치 : C 49.87, H 9.02, N 14.52

실측치 : C 49.55, H 8.71, N 14.33

분액 제98-143호를 갈압농축하여 3'-N-데메틸-겐타마이신(본 출원 목적화합물) 1.10g을 얻는다.

융점 : 130 내지 137℃

$[\alpha]_D^{25} +140.7^\circ$  (C=0.10, 물)

적외선 흡수 스펙트럼 (KBr, cm<sup>-1</sup>)

3,800-3,000, 2,940, 1,640, 1,575, 1,470, 1,380, 1,330, 1,285, 1,148, 1,050, 1,024, 955, 867, 813.

핵자기공명 스펙트럼(D<sub>2</sub>O, DSS부터의 ppm)

1.09(3H,d, J=6.1Hz)

1.20(3H, s)

2.42(3H, s)

5.13(1H,d, J=4.0Hz)

5.23(1H,d, J=4.0Hz)

원소분석 : C<sub>20</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · H<sub>2</sub>O

계산치 : C 49.88, H 9.00, N 14.59

실측치 : C 51.11, H 9.42, N 14.27

분액 제152-184호를 갈압 농축건고하여 6'-N, 3'-N-디메틸-겐타마이신 C<sub>1</sub>(화합물 III) 220mg을 얻는다.

융점 : 145 내지 155℃  $[\alpha]_D^{25} =+132.2^\circ$  (C=0.10, 문)

적외선 흡수 스펙트럼(KBr, cm<sup>-1</sup>)

3,800 3,000, 2,940, 1,640, 1,570, 1,465, 1,380, 1,330, 1,287, 1,140, 1,110, 1,052, 1,030, 812.

핵자기공명 스펙트럼(D<sub>2</sub>O, DSS부터의 ppm)

1.01(3H,d, J=6.0Hz)

1.22(3H, s)

5.14(1H, d, J=4.0Hz)

5.22(1H, d, J=4.1Hz)

원소분석 :  $C_{19}H_{39}N_5O_7 \cdot H_2O$

계산치 : C 48.80, H 8.84, N 14.98

실측치 : C 49.12, H 8.62, N 14.76

[실시에 2]

겐타마이신  $C_1$  478mg(1.0밀리몰) 및 수산화나트륨 160mg(4.0밀리몰)을 50% 수성 디메틸아세트아마이드 25ml에 용해시키고 이어서 적혈염 659mg(20밀리몰)을 한꺼번에 가하고 60℃에서 하룻밤 반응을 수행한다. 반응액을 앰버라이트 IRC-50( $H^+$ 형) 40ml컬럼을 통해주고 물 200ml로 세척한 후 2.0N 암모니아수를 통해준 후 닌하이드린으로 발색되는 획분 약 80ml를 모아 감압하에 농축하여 담황색 잔사 420mg을 얻는다. 상기 실시예 1과 같은 방법으로 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피하여 미반응 원료인, 겐타마이신  $C_1$  102mg을 회수하고, 이어서 화합물 II 31mg, 본 출원 목적화합물 190mg 및 화합물 III 48mg을 각각 얻는다.

[실시에 3]

겐타마이신  $C_1$  239mg(0.5밀리몰)을 물 15ml에 용해시키고, 미리 수소로 활성화시킨 새로운 백금흑 300mg을 가한다. 온도를 40 내지 50℃로 유지시키면서 공기를 기포로 반응액에 급히 도입시키고 48시간동안 반응을 수행한다. 반응 후 백금흑을 여과해내고, 감압하 농축하여 얻은 잔사 230mg을 상기 실시예 1과 같은 방법으로 실리카겔상에서 컬럼 크로마토그래피하여 미반응 원료인 겐타마이신  $C_1$  101mg을 회수하고, 이어서 화합물 II 15mg, 본 출원 목적화합물 75mg 및 화합물 III 19mg을 각각 얻는다.

[실시에 4]

겐타마이신  $C_1$  478mg(1.0밀리몰)을 물 20ml에 용해시키고 이어서 과망간산칼리 9,291mg(5.9밀리몰)을 가하고 실온에서 하룻밤 반응시킨다. 반응액을 앰버라이트 IRC-50( $H^+$ 형) 35ml컬럼을 통해주고, 이어서 물 150ml로 세척한 후 2.0N 암모니아수를 통해주고 닌하이드린으로 발색되는 획분 약 75ml를 모아 감압하에 농축하여 담황색의 잔사 415mg을 얻는다. 실시예 1과 같은 방법으로 실리카겔상에서 컬럼 크로마토그래피하여 미반응의 원료인 겐타마이신  $C_1$  118mg을 회수하고, 이어서 화합물(II) 14mg, 본 출원목적화합물 117mg 및 화합물(III) 58mg을 각각 얻는다.

[실시에 5]

3'-N-데메틸-겐타마이신  $C_1$  (본 출원 목적화합물) 496mg(1.0밀리몰)을 5ml의 물에 용해시키고 냉각하에 황산 98mg(1.0밀리몰)을 물 1ml에 용해시킨 용액을 가한다. 30분후, 침전생성이 중단될때까지 냉에탄올을 가하고 석출되는 백색고체를 여과하여 본 출원 목적화합물의 모노 황산염을 얻는다.

## (57) 청구의 범위

### 청구항 1

구조식(A)의 겐타마이신 C<sub>1</sub>을 산화제와 반응시켜 구조식(B)의 신 항생물질을 제조하는 방법.

