(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。Int. Cl. [7]
C07B 57/00

(45) 공고일자 2002년12월12일
(11) 등록번호 10-0364255
(24) 등록일자 2002년11월27일

(21) 출원번호 10-2000-0053590
(22) 출원일자 2000년09월08일

(65) 공개번호 특2002-0020440
(43) 공개일자 2002년03월15일

(73) 특허권자 현명호
부산광역시 연제구 거제1동 1475 쌍용아파트 102-1302
한상철
부산광역시 남구 대연5동 1508-34
크리스토퍼 제이. 웰치
미국 뉴저지주 워싱톤가 29번지
브루스 에이치. 립스츠
미국 칼리포니아주 산타바바라시 칼리포니아대학교 화학과

(72) 발명자 현명호
부산광역시 연제구 거제1동 1475 쌍용아파트 102-1302
한상철
부산광역시 남구 대연5동 1508-34

(74) 대리인 김영옥

심사관 : 최차희

(54) 생리활성 라세미 일차 아미노 화합물의 광학분할을 위한LC용 크라운 에테르 키랄고정상 및 이들로 충진된키랄칼럼

요약

본 발명은 라세미 의약품들 중 아미노산, 아미노 알코올, 아민 등과 같이 일차 아미노기를 가지고 있는 라세미 생리활성 물질(라세미 의약품 포함)을 구성하는 두 개의 광학 이성질체를 분리하는데 아주 유용한 것으로 알려져 있는 새로운 크라운 에테르 키랄고정상을 개발하고 이것을 충진한 키랄 칼럼의 제조에 관한 것이다.

즉, 본 발명은 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(diphenyl substituted alpha,alpha'-binaphthyl-20-crown-6)(1)의 O-알킬화 반응(O-alkylation) 및 히드로실릴화 반응(hydrosilylation)에 의해 합성된 실릴(silyl) 화합물, 혹은 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 O-에스테르화 반응(O-esterification) 및 히드로실릴화 반응(hydrosilylation)에 의해 합성된 실릴 화합물 혹은 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)과 이소이아나토알킬트리에톡시실란(isocyanatoalkyltriethoxysilane) 화합물의 반응에 의해 합성된 실릴 화합물을 실리카 젤과 반응시켜 제조된 키랄고정상들 (CSP2) 과 이들 키랄고정상들로 충진된 LC 혹은 HPLC 용 키랄칼럼을 득할 수 있는 것으로서, 일차 아미노기를 가지고 있는 라세미 의약품의 광학분할을 가장 효과적으로 할 수 있도록 하여 키랄의약품을 개발하고 생산하는 과정에서 반드시 필요한 광학순도 측정 기술을 제공함에 요지가 있다.

대표도

도 1

색인어

라세미 의약품, 생리활성 라세미 일차 아미노 화합물, 광학분할, LC 용 크라운 에테르 키랄고정상, 키랄칼럼, 라세미 생리활성 물질

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명인 CSP2의 화학적 구조도

도 2는 키랄고정상의 제조방법과 관련된 화합물1의 구조 및 키랄고정상(CSP2)의 합성 흐름도

도 3은 HPLC 크로마토그램의 예 [상: 메티오닌(Methionine), 하: 글루탐산(Glutamic acid), 분리조건은 표 1과 동일]

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 라세미 의약품들 중 아미노산, 아미노 알코올, 아민 등과 같이 일차 아미노기를 가지고 있는 라세미 생리활성 물질 (라세미 의약품 포함)을 구성하는 두 개의 광학 이성질체를 분리하는데 아주 유용한 것으로 알려져 있는 새로운 크라운 에테르 키랄고정상을 개발하고 이것을 충진한 키랄 칼럼의 제조에 관한 것이다.

라세미 의약품을 구성하는 서로 거울상의 관계에 있는 한 쌍의 광학 이성질체는 물리적 성질과 화학적 성질이 동일하여 구별이 불가능하다. 그러나 본질적으로 키랄성인 인체내에서 서로 거울상의 관계에 있는 두 개의 광학 이성질체 의약품은 각각 서로 다른 생리 활성을 나타내는 경우가 많이 알려져 있다.

따라서 라세미 의약품을 구성하는 서로 거울상 관계인 두 개의 광학 이성질체를 분리하고 광학활성 의약품의 광학순도를 정확히 측정하는 기술은 아주 중요하다. 이를 수행할 수 있는 여러 가지 기술 중 LC 용 키랄고정상을 이용한 라세미 의약품의 광학분할 기술은 두 개의 광학 이성질체를 획득할 수 있는 기술을 제공할 뿐만 아니라 동시에 광학활성 의약품의 광학순도를 정확하게 측정할 수 있는 기술을 제공한다는 관점에서 아주 중요한 기술이다.

라세미 의약품을 구성하는 두 개의 광학 이성질체중 하나의 광학 이성질체는 인체 내에서 원하는 약리 작용을 나타내나 이것의 거울상인 광학 이성질체는 독성 등의 부작용을 나타낸다. 따라서 라세미 의약품의 광학분할을 효율적으로 수행할 수 있는 LC 용 키랄고정상 및 이들로 충진된 키랄 칼럼은 유용성이 지대하다.

특히 일차 아미노기를 가지고 있는 라세미 의약품의 광학분할을 위한 키랄고정상으로는 키랄 크라운 에테르를 기저로 하는 키랄고정상이 아주 유용하게 쓰일 수 있음이 알려져 있으며 몇 가지의 LC 용 크라운 에테르 키랄고정상 및 키랄 칼럼이 알려져 있다. 그중 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(disubstituted alpha,alpha'-binaphthyl-20-crown-6)을 옥타데실 실리카 젤에 소수성 결합으로 코팅시킨 키랄고정상(혹은 키랄 칼럼)이 유용하게 쓰인 바 있다.

(참고문헌 : 1 . T. Shinbo, T. Yamaguchi, K. Nishimura, M. Sugiura, J. Chromatogr.,405(1987) 145. 2. T. Shinbo, T. Yamaguchi, H. Yanagishita, D. Kitamoto, K. Sakaki, M. Sugiura, J. Chromatogr.,625(1992) 101.)

그러나 이 키랄고정상 (혹은 키랄 칼럼)의 문제점은 다양한 이동상을 사용할 수 없다는 사실이다.

예를 들면 메탄올을 15% 이상 함유한 수용액 이동상을 사용할 경우 키랄 선택자인 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6이 옥타데실 실리카 젤에서 유리되어 키랄 칼럼이 손상되기 때문이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

이에 본 발명은 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)을 적절한 방법으로 실리카 젤에 공유 결합시켜 어떠한 비율의 유기용매를 포함한 이동상을 사용하더라도 키랄 칼럼에 전혀 손상을 주지 않은 채 일차 아미노기를 가지고 있는 라세미 의약품의 광학분할에 장기간 사용할 수 있는 키랄고정상을 제조하고 제조된 키랄고정상을 LC용 공 칼럼에 충진시켜 LC 용 키랄칼럼을 제조하고자 한다.

발명의 구성 및 작용

본 발명은 라세미 의약품들 중 아미노산, 아미노 알코올, 아민 등과 같이 일차 아미노기를 가지고 있는 라세미 생리활성 물질 (라세미 의약품 포함)을 구성하는 두 개의 광학 이성질체를 분리하는데 아주 유용한 것으로 알려져 있는 새로운 크라운 에테르 키랄고정상을 개발하고 이것을 충진한 키랄 칼럼을 제공하고자 하는 것으로서, 이하 제조방법 등에 관한 것을 상세히 설명하기로 한다.

1. 키랄고정상 및 키랄 칼럼의 제조 방법

LC 용 키랄고정상은 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(diphenyl substituted alpha,alpha'-binaphthyl-20-crown-6)(1)을 실리카 젤에 공유결합시켜 제조되었으며 구체적인 방법은 다음과 같다.

(1) 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 에테르 화합물 합성

250㎖의 이구 둥근바닥플라스크에 50㎖의 정제된 THF를 가하고 여기에 1.1g의 광학활성 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)을 용해시킨다. 아르곤 기류하에서 50㎖의 이구 둥근바닥 플라스크에 0.22g의 NaH과 10㎖의 THF를 가하고 30분 동안 저어준 후 생긴 뿌연 상태의 용액을 캐뉼라를 이용하여 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1) 용액이 들어 있는 250㎖의 이구 둥근 바닥플라스크로 천천히 저어주면서 적가하고, 최종 용액을 30분 정도 환류한다.

여기에 2.5 당량에 해당하는, 알킬기의 끝에 이중 결합이 있는 브롬화 알킬 (예 : allyl bromide)을 가하고 4시간 정도 계속 환류한다.

상기 반응 후 용매를 제거하고 나머지를 100 ㎖의 에틸 아세트산염(ethyl acetate)에 용해하고 이 용액을 100 ㎖의 0.1 N HCl 수용액으로 씻어준다.

최종적으로 에틸 아세트산염 용액을 무수 황산 마그네슘으로 건조시킨 후 용매를 제거하고 나머지를 실리카 젤 관 크로마토그라피로 정제하여 에테르 화합물을 얻는다.

상기 합성된 에테르 화합물을 아르곤 기류하에서 250㎖의 이구 둥근 바닥플라스크에 가하여 50㎖의 정제된 CH_2Cl_2에 용해시키고 여기에 5㎎ 정도의 $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$과 10㎖의 디메틸클로로실란(dimethylchlorosilane)을 가하고 40℃에서 5시간정도 가열한다.

상기에서와 같이 5시간 가열 후 농축기를 이용하여 반응 용매 및 과량의 디메틸클로로실란을 제거한다. 농축후 나머지를 30㎖의 CH_2Cl_2에 용해시키고 이 용액에 10㎖의 트리에틸아민/에탄올(triethylamine/ethanol)(1:1, v/v) 혼합용매를 얼음 중탕에서 천천히 가하고 실온에서 2시간 정도 저어 준다. 농축기를 이용하여 용매를 제거하고 나머지를 실리카 젤 관 크로마토그래피로 정제하여 최종적으로 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 에테르 화합물의 합성을 종료한다.

(2)디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 에스테르 화합물 합성

250㎖의 이구 둥근 바닥플라스크에 50㎖의 정제된 CH_2Cl_2를 가하고 여기에 1.1g의 광학활성 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)을 용해시킨다. 여기에 알킬기의 끝에 이중 결합을 가지고 있는 2.5 당량의 산 염화물 (예 : undecenoyl chloride) 및 3 당량 정도의 트리에틸아민을 가하고 실온에서 3시간 정도 저어준다.

상기 반응 혼합물을 0.1 N의 HCl 수용액, 0.1 N의 NaOH 수용액 및 포화 소금물로 차례로 씻어준 후 무수 황한 마그네슘으로 건조한다. 농축기를 사용하여 용매를 제거한 후 나머지를 실리카 젤 관 크로마토그라피로 정제하여 에스테르 화합물을 얻는다.

상기와 같이 얻어진 에스테르 화합물을 아르곤 기류하에서 250 ㎖의 이구 둥근 바닥플라스크에 가하여 50 ㎖의 정제된 CH_2Cl_2에 용해시키고 여기에 5㎎ 정도의 $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$과 10 ㎖의 디메틸클로로실란을 가하고 40℃에서 5시간정도 가열한다.

이상과 같이 5시간 가열 후 농축기를 이용하여 반응 용매 및 과량의 디메틸클로로실란을 제거한다. 나머지를 30 ㎖의 CH_2Cl_2에 용해시키고 이 용액에 10㎖의 트리에틸아민/에탄올(triethylamine/ethanol)(1:1, v/v) 혼합용매를 얼음 중탕에서 천천히 가하고 실온에서 2시간 정도 저어 준 다음 농축기를 이용하여 용매를 제거하고 나머지를 실리카 젤 관 크로마토그래피로 정제하여 최종적으로 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 에스테르 화합물의 합성을 종료한다.

(3) 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 카르밤산 에스테르 합성

250㎖의 이구 둥근바닥플라스크에 50㎖의 정제된 CH_2Cl_2를 가하고 여기에 1.1g의 광학활성 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)을 용해시킨다.

여기에 2.5 당량의 이소이아나토알킬트리에톡시실란(예: 3-isocyanatopropyltriethoxysilane)과 3 당량의 트리에틸아민(triethylamine)을 가하고 실온에서 3시간 정도 저어 준 다음 농축기를 이용하여 용매를 제거한 후 나머지를 실리카 젤 관 크로마토그라피로 정제하여 최종적으로 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 카르밤산 에스테르의 합성을 종료한다.

(4) 키랄고정상의 제조

4.5g의 실리카 젤을 딘스타크 트랩(Dean-Stark trap)이 장치된 250㎖의 이구 둥근 바닥플라스크에 가하고 여기에 정제된 150㎖의 톨루엔을 가하여 환류하고 물을 제거함으로서 실리카 젤에 흡착되어 있는 수분을 완전히 제거한다.

여기에 10㎖의 톨루엔에 용해되어 있는 위 (1)의 과정에서 합성한 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 에테르 화합물 혹은 (2)의 과정에서 합성한 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 에스테르 화합물 혹은 (3)의 과정에서 합성한 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 실릴 카르밤산 에스테르 화합물을 가하고 환류한 다음 72시간 후 온도를 실온으로 식힌 후 유리 여과기를 이용하여 실리카 젤을 거르고 이것을 톨루엔, 아세트산 에틸, CH_2Cl_2, 메탄올, 아세톤, 헥산의 순으로 씻어주고 감압하에 건조하여 키랄고정상 (CSP2)를 제조한다.

(5) 키랄 칼럼의 제조

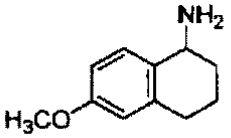
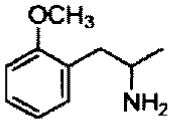
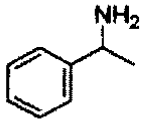
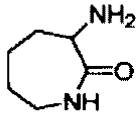
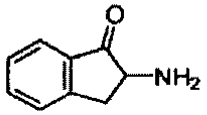
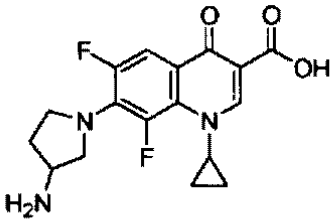
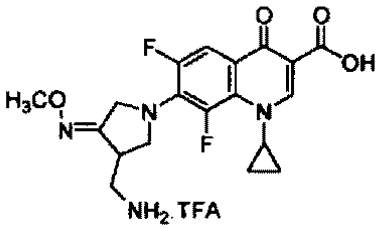
상기에서 합성한 키랄고정상 (CSP2)를 메탄올에 부유시킨 후 슬러리 충진기를 이용하여 HPLC 용 스텐레스강 공 칼럼에 충진하여 키랄 칼럼을 제조한다.

상기 키랄고정상 (CSP2)의 제조방법과 관련된 화합물1의 구조 및 키랄고정상 (CSP2)의 합성 흐름도를 나타낸 화학식은 도 2와 같다.

2. 광학분할 실시 예

본 발명에서 그 제조 방법이 알려진 키랄고정상 (CSP2)가 충진된 키랄 칼럼을 라세미 아미노산 및 라세미 아민 화합물과 퀴놀론 계 항생제의 광학분할에 응용한 실시 예는 다음 표 1과 같으며 대표적인 HPLC 크로마토그램은 도 3에 도시된 바와 같다.

키랄고정상 CSP 1이 충진된 키랄 칼럼을 이용한 라세미 일차 아미노 화합물들의 광학분할

라세미 화합물	k_1	k_2	α	R_S	이동상
Aspartic acid	0.42	1.02	2.43	2.70	A
Glutamic acid	0.59	3.48	5.90	8.40	A
Leucine	0.64	3.16	4.94	5.00	A
Methionine	0.77	3.46	4.49	5.70	A
Phenyalanine	0.79	2.38	3.01	4.80	A
Tyrosine	0.62	1.91	3.08	7.60	A
Phenylglycine	0.70	3.97	5.67	7.78	A
	0.76	1.67	2.20	5.43	B
	1.74	3,53	2.03	5.85	B
	1.59	3.51	2.21	2.89	B
	1.97	4.86	2.47	2.93	B
	2.29	2.83	1.24	1.85	B
	2.65	5.76	2.17	2.71	C
	5.73	9.75	1.70	2.20	C

k_1 및 k_2는 각각 첫 번째 피크와 두 번째 피크에 대한 용량인자 (capacity factor), 알파(alpha)는 분리인자 (separation factor), R_S는 분해인자 (resolution factor)임. 이동상 A: 50 % CH_3OH in H_2O + $HClO_4$ (10 mM) + CH_3COONH_4 (1 mM). 이동상 B: 80 % CH_3CN in H_2O + $HClO_4$ (10 mM) + CH_3COONH_4 (1 mM). 이동상 C: 100 % CH_3OH + $HClO_4$ (10 mM) + CH_3COONH_4 (1 mM). 유속 : 0.5 ml/min. 온도 : 20 ℃. Detection, 225 nm UV.

발명의 효과

이상과 같은 본 발명은 전술한 광학분할의 실시예에서 살펴본 바와 같이 본 발명에서 제조된 LC 용 키랄고정상으로 충진된 키랄칼람들은 일차 아미노기를 가지고 있는 생리활성 라세미 화합물들을 구성하는 두 개의 광학이성질체를 아주 효과적으로 광학분할할 수 있음을 알 수 있는 것으로서, 본 발명에서 제시된 키랄고정상 및 이들로 충진된 키랄칼럼들을 사용함으로써 일차 아미노기를 가지고 있는 라세미 의약품의 광학분할을 가장 효과적으로 할 수 있기 때문에 본 발명은 키랄의약품을 개발하고 생산하는 과정에서 반드시 필요한 광학순도 측정 기술을 제공하는 효과가 있는 매우 우수한 발명이다.

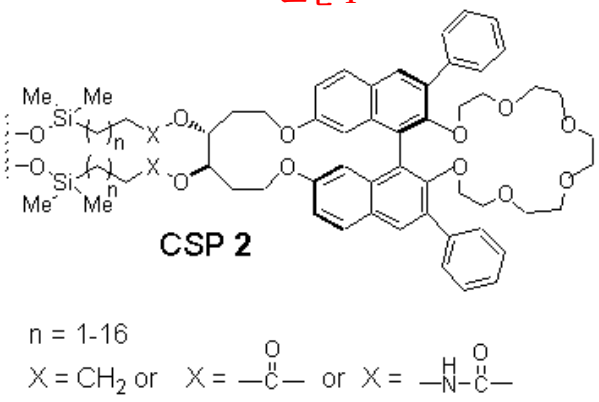
(57) 청구의 범위

청구항 1.

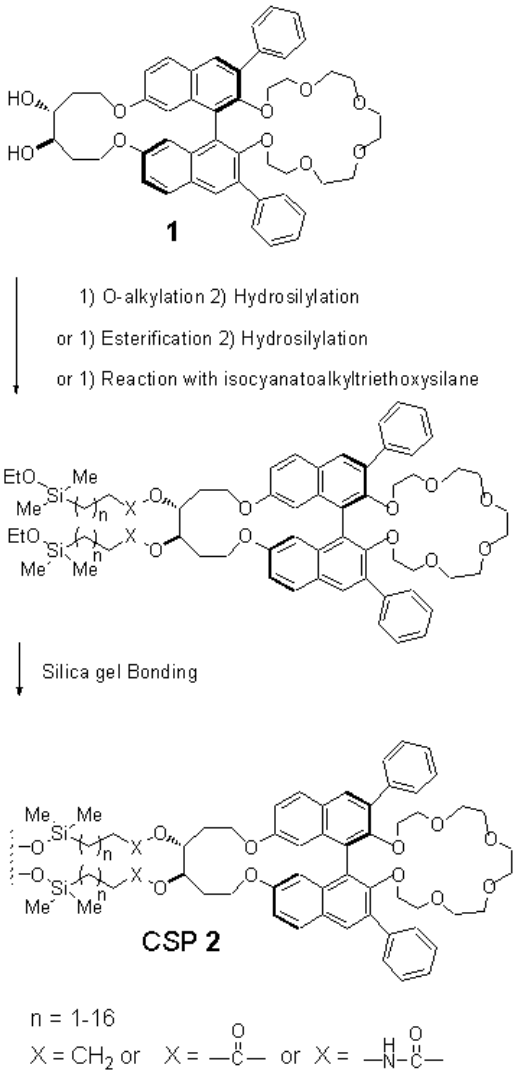
광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(diphenyl substituted alpha,alpha'-binaphthyl-20-crown-6)(1)의 O-알킬화 반응(O-alkylation) 및 히드로실릴화 반응(hydrosilylation)에 의해 합성된 실릴(silyl) 화합물, 혹은 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)의 O-에스테르화 반응(O-esterification) 및 히드로실릴화 반응(hydrosilylation)에 의해 합성된 실릴 화합물 혹은 광학활성인 디페닐이 치환된 알파,알파-비나프틸-20-크라운-6(1)과 이소이아나토알킬트리에톡시실란(isocyanatoalkyltriethoxysilane) 화합물의 반응에 의해 합성된 실릴 화합물을 실리카 젤과 반응시켜 제조된 키랄고정상들(CSP2)과 이들 키랄고정상들로 충진된 LC 혹은 HPLC 용 키랄칼럼을 특징으로 하는 생리활성 라세미 화합물의 광학분할을 위한 LC 용 키랄고정상 및 이들로 충진된 키랄칼럼.

도면

도면 1



도면 2


HO
HO
1
1) O-alkylation 2) Hydrosilylation
or 1) Esterification 2) Hydrosilylation
or 1) Reaction with isocyanatoalkyltriethoxysilane
EtO
Me
Si
n
X
Silica gel Bonding
CSP 2
n = 1-16
X = CH2 or X = —C— or X = —N—C—

도면 3