



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0010754
(43) 공개일자 2017년02월01일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 5/083 (2006.01) A61K 38/06 (2006.01)
C07K 5/087 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 5/0808 (2013.01)
A61K 38/06 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-7030396</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2015년03월11일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2016년10월28일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/CN2015/073989</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2015/149607
국제공개일자 2015년10월08일</p> <p>(30) 우선권주장
201410122313.4 2014년03월30일 중국(CN)</p> | <p>(71) 출원인
췌지양 유니버시티
중국, 췌지양 310027, 항저우 씨티, 시후 디스트릭스, 유-항-탕 로드, 넘버.866
상하이 인스티튜트 오브 마테리아 메디카 차이나즈 아카데미 오브 싸이언시즈
중국 상하이 201203 푸둥 췌지양 주창치 로드 555</p> <p>(72) 발명자
후, 용쑤우
중국, 췌지양 310058, 항쑤우, 유항탕 로드 866
리, 지아
중국, 상하이 201203, 푸둥, 췌지양 하이테크 파크, 주 총즈 로드 555
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
특허법인씨엔에스</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **헤테로사이클에 의해 구조화된 트라이펩타이드 에폭시케톤 화합물 및 이의 제조방법과 용도**

(57) 요약

트라이펩타이드 에폭시케톤 화합물, 이의 제조방법, 및 항종양 약물의 제조에서 이의 용도가 개시된다.

(52) CPC특허분류

C07K 5/0812 (2013.01)

Y02P 20/55 (2015.11)

(72) 발명자

리우, 타오

중국, 쑤저양 310058, 항쑤우, 유항탕 로드 866

쑤, 지안캉

중국, 쑤저양 310058, 항쑤우, 유항탕 로드 866

쑤우, 위보

중국, 상하이 201203, 푸둥, 쑤 지양 하이테크 파크, 주 충 즈 로드 555

양, 보

중국, 쑤저양 310058, 항쑤우, 유항탕 로드 866

허, 치아오준

중국, 쑤저양 310058, 항쑤우, 유항탕 로드 866

쉬, 레이

중국, 상하이 201203, 푸둥, 쑤 지양 하이테크 파크, 주 충 즈 로드 555

후, 시아오베이

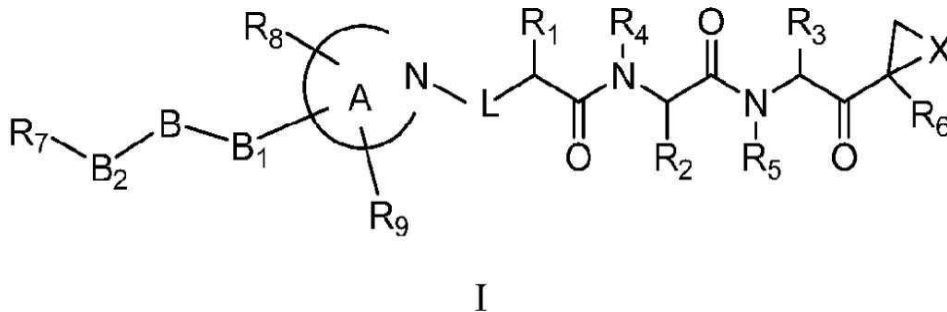
중국, 상하이 201203, 푸둥, 쑤 지양 하이테크 파크, 주 충 즈 로드 555

명세서

청구범위

청구항 1

하기 식을 갖는 트라이펩타이드 에폭시케톤 화합물 또는 그의 염:



상기 식에서,

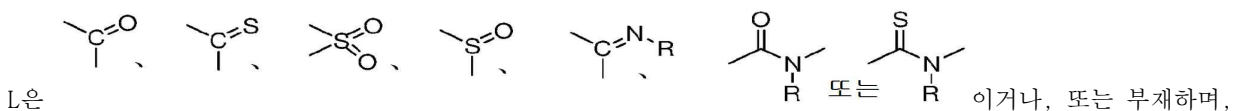
R_1 , R_2 및 R_3 은 각각 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬기-D, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기-D, C_{1-6} 하이드록시 알킬기, C_{1-6} 머캅토 알킬기, C_{1-6} 알콕시 알킬기, 아릴기, 아르알킬기, 헤테로아릴기 및 헤테로아르알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되며,

여기서 D는 $N(R_a)(R_b)$ 이거나, 또는 부재하되, R_a 및 R_b 는 각각 독립적으로 H, OH, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기 및 N-터미널에 대한 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, OH, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기 및 아르알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R_6 은 H, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기, C_{1-6} 하이드록시 알킬기, C_{1-6} 알콕시기, 할로젠화된 C_{1-6} 알콕시기, $C(=O)O-C_{1-6}$ 알킬기, $C(=O)NH-C_{1-6}$ 알킬기 및 아르알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

X는 O, S, NH, N- C_{1-6} 알킬기 또는 N-할로젠화된 C_{1-6} 알킬기이고;



여기서 R은 H, C_{1-6} 알킬기 및 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

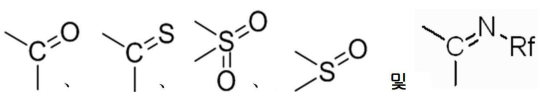
고리 A는 5원 내지 7원 포화된 지방족 헤테로사이클, 불포화된 헤테로사이클, 및 치환된 5원 내지 7원 포화된 지방족 헤테로사이클, 불포화된 헤테로사이클로 이루어진 군으로부터 선택되며,

여기서 헤테로사이클은 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 함유하고, R_8 , R_9 및 B_1 로 이루어진 군으로부터 선택된 것에 의해 선택적으로 치환되고;

R_8 및 R_9 는 각각 독립적으로 H, OH, C_{1-6} 알킬기, C_{1-6} 알콕시기, C_{1-6} 하이드록시 알킬기, C_{1-6} 머캅토 알킬기, C_{1-6} 알킬기-D, 아릴기, 헤테로사이클릭 아릴기, 사이클로알킬기 및 헤테로사이클릭기로 이루어진 군으로부터 선택되며,

상기 기들은 할로젠, 나이트로기, 아미노기, CN, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기, C_{1-6} 알콕시기 및 할로젠화된 C_{1-6} 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택된 것에 의해 선택적으로 치환될 수 있고, 상기 기들은 각각 하나 이상의 아릴기 또는 헤테로사이클릭 아릴기에 선택적으로 융합될 수 있거나, 또는 하나 이상의 포화된 또는 부분적으로 불포화된 사이클로알킬기 또는 헤테로사이클릭기에 융합될 수 있고;

B₁ 및 B₂는 서로 동일하거나, 또는 다르며, 각각 독립적으로 O, S, N(R_c) 및 C(R_d)(R_e)로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 부재하며, 여기서 R_c, R_d 및 R_e는 각각 독립적으로 H, C₁₋₆ 알킬기, 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기, C₁₋₆ 알콕시기 및 할로젠화된 C₁₋₆ 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택되고, R_c, R_d 및 R_e는 서로 동일하거나, 또는 다르고;

B는 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 부재하며, 여기서 R_f는 H, C₁₋₆ 알킬기 및 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R₇은 H, C₁₋₆ 알킬기, C₁₋₆ 알케닐기, C₁₋₆ 알키닐기, 카보사이클릭기, 헤테로사이클릭기, 아릴기, C₁₋₆ 아르알킬기, 헤테로아릴기, C₁₋₆ 헤테로아르알킬기, R_g-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기, R_g-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기, 헤테로사이클릭기-M-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기, (R_g)₂N-C₁₋₈ 알킬기, 헤테로사이클릭기-M- 및 카보사이클릭기-M-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 상기 기들은 할로젠, 나이트로기, 아미노기, CN, C₁₋₆ 알킬기, 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기, C₁₋₆ 알콕시기 및 할로젠화된 C₁₋₆ 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택된 것에 의해 선택적으로 치환될 수 있고, E는 Z가 인접하게 존재한다면 선택적으로 공유결합이고, M은 부재하거나, 또는 C₁₋₁₂ 알킬기이고, Z는 E가 인접하게 존재한다면 선택적으로 공유결합이다.

청구항 2

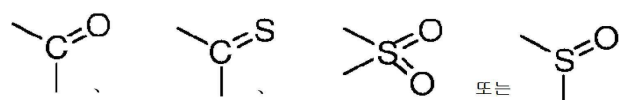
제1항에 있어서,

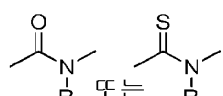
바람직하게는,

X는 바람직하게는 0 원자이고;

고리 A는 바람직하게는 6원 포화된 지방족 헤테로사이클 또는 불포화된 헤테로사이클이고;

B₁ 및 B₂는 바람직하게는 각각 독립적으로 O, S 또는 N(R_c)이거나, 또는 부재하며, 여기서 R_c는 H, C₁₋₆ 알킬기, 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기, C₁₋₆ 알콕시기 및 할로젠화된 C₁₋₆ 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

B는 바람직하게는 이고;

L은 바람직하게는 이며, R은 H, C₁₋₆ 알킬기 또는 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기이고,

여기서 상기 아미노산은 각각 특별하게 특정화되지 않는다면 L-아미노산인 화합물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 화합물은

4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Phe-Leu-Leu-에폭시 케톤;

1-(피라진-2-오일)피페리딘-4-오일-Phe-Leu-Leu-에폭시 케톤;

4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 1-(피라진-2-오일)피페리딘-4-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(피라진-2-오일)피페라진-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(피라진-2-폼아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(1,3,4-싸이아다졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(벤조[d]싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(피리딘-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(피리미딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 1-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-4-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 1-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-4-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-클로로페닐 우르아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(4-메톡시 페닐 우르아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 3-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(모폴린-4-오일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(2-모폴리닐 에틸 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(2-하이드록시 에틸 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤;
 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-사이클로싸이온;
 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-사이클로싸이온;
 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-아지리디논; 또는
 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-(N-에틸 아지리디논)인

화합물.

청구항 4

(1) 0 내지 50℃의 반응 온도에서 축합제의 작용 하에서 2 내지 8시간 동안 화합물(6)을 보호된 아미노산과 반응시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물로서 화합물(7)을 수득하는 단계로서,

여기서 상기 축합제는 다이사이클로헥실 카보다이이미드/4-다이메틸 아미노 피리딘, 다이사이클로헥실 카보다이이미드/1-하이드록시 벤조트리아졸 및 N-(3-다이메틸 아미노 프로필)-N'-에틸 카보다이이미드 하이드로클로라이드/1-하이드록시 벤조트리아졸로 이루어진 군으로부터 선택되는 단계;

(2) -10 내지 40℃의 반응 온도에서 산성 조건 하에서 0.5 내지 3시간 동안 화합물(7)로부터 Boc 보호기를 탈보호시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물을 수득하는 단계로서,

여기서 상기 산성 조건은 에테르 중 HCl의 용액, 에틸 아세테이트 중 HCl의 용액, 메탄올 중 HCl의 용액, 다이옥세인 중 HCl의 용액 또는 트라이플루오로아세트산의 존재 하인 단계;

(3) 단계(2)에서의 반응 조건과 동일한 산성 조건 하에서 화합물(1)로부터 Boc 보호기를 탈보호시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물로서 화합물(2)을 수득하는 단계;

(4) -20 내지 0℃의 반응 온도에서 탄산나트륨, 중탄산나트륨, 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필에틸아민의 존재 하에서 염기성 조건에서 10분 내지 1시간 동안 아미노산 메틸 에스테르를 트라이포스젠과 반응시켜서 아미노산 메틸 에스테르 아이소시아네이트를 수득하고, 1 내지 6시간 동안 0 내지 50℃의 반응 온도에서 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필 에틸아민의 존재 하에서 염기성 조건에서 상기 아이소시아네이트를 화합물(2)로 축합시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물로서 화합물(3)을 수득하는 단계;

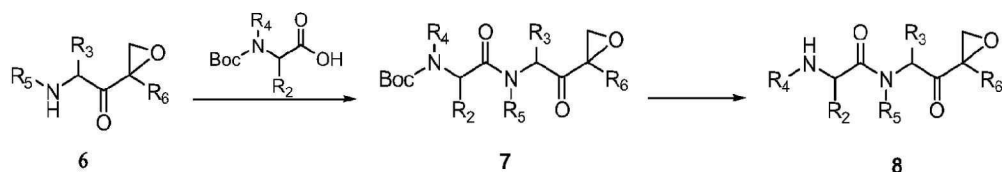
(5) 0.5 내지 2시간 동안 0 내지 40℃의 반응 온도 하에서 수산화나트륨, 수산화리튬 또는 수산화칼륨의 존재 하에서 염기성 조건에서 화합물(3)을 가수분해시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 생성물로서 화합물(4)을 수득하는 단계;

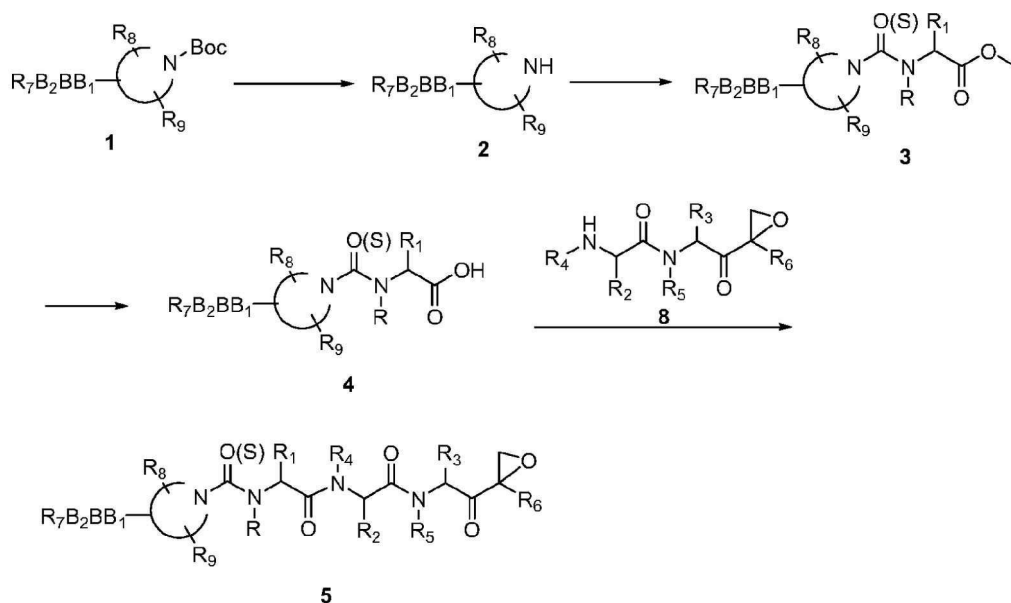
(6) 단계(1)에서와 동일한 축합제의 작용 하에서 화합물(4)를 화합물(8)과 반응시켜서 생성물(5)을 수득하고, 생성된 조생성물을 칼럼 크로마토그래피를 통해 격리시켜서 순수한 생성물을 수득하는 단계

를 포함하는

트라이펩타이드 에폭시케톤 화합물의 제조방법:

반응식





청구항 5

활성 성분으로서 제1항에 따른 적어도 하나의 화합물, 또는 이의 다형체, 입체이성체, 전구체 약물, 용매화물 또는 약학적으로 허용 가능한 염, 및 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 6

항종양 약물의 제조에서, 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 화합물의 용도.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 종양이 혈액 종양, 예컨대 골수종, 림프종, 백혈병 등, 및 유방암, 전립선암, 결장암, 자궁경부암, 위암 등인 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 개시내용은, 약물 제조의 분야, 더욱 구체적으로는 펩타이드 주쇄에서 헤테로사이클을 갖는 트라이펩타이드 에폭시케톤 화합물의 신규 클래스, 이의 제조방법, 및 항종양 약물의 제조에서 상기 화합물들의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

세계 인구에서의 지속적인 증가 및 상기 인구의 고령화 경향과 함께, 환경 오염 뿐만 아니라 흡연을 비롯한 여러 건강에 해로운 생활 양식의 광범위한 존재로 인해, 종양은 선진국에서는 인간 건강을 위협하는 첫번째 살인 요인(killer)이고, 개발도상국에서는 인간 건강을 위협하는 두번째 살인요인이었다(CA-Cancer. J. Clin. 2011, 61, 69-90). 중국에서, 암은 사망의 첫번째 원인이었다. 세계보건기구(World Health Organization)(WHO)에서는, 새롭게 증가된 암 사례들 및 사망 사례들이 세계에서 가장 높은 수준으로 존재한다고 하는 2014년 2월 3일자 문헌 "Global Cancer Report 2014"를 발간하였다. 통상적인 화학요법 약물들, 예컨대 알킬화제, 항대사물질

등은 일반적으로 높은 독성과 부작용 및 약물 내성에 대한 책임(liability)의 단점들을 갖는다. 한편, 신호화 경로들에서 주된 단백질들 또는 활성효소들(kinase)에 대해 지정된 항종양 약물들은 종양 치료의 분야에서 더욱 더 중요한 역할을 담당하고 있다. 따라서, 높은 효율과 낮은 독성을 갖는 신규한 항종양 약물들을 개발하는 것이 매우 중요하며, 이는 사람들의 생활에 불가결한 것이다.

[0003] 프로테아좀(proteasome)은 다수의 하위단위체들을 갖고 진행성 세포질 및 핵에서 넓게 분포되어 있는 거대분자 복합체이다. 프로테아좀은 세포에서 단백질의 80% 내지 90%의 대사를 조절하고 세포주기 조절, 세포 사멸사, 세포 신호화, DNA 복구 및 다양한 생리학적 기능들에 관여하는 다양한 촉매 기능들을 갖고, 이로 인해 세포의 성장과 발달에서 중요한 역할들을 담당하고 있다. 프로테아좀은 세포 신호화 경로에 영향을 미치는 주된 단백질들(예컨대, P53, NF- κ B)의 수준을 조절함으로써 다양한 생활 과정들에서 조절 역할들을 담당한다. 한편, 이들 다수의 조절 단백질들(예컨대, 사이클린(cyclin))은 종양발생(oncogenesis) 및 종양의 성장에 중요한 역할을 담당한다. 프로테아좀 억제제는 세포 내의 다양한 사이클린들의 분해(degradation)에 영향을 미칠 수 있고, 프로테아좀의 활성을 억제시킴으로써 세포 사멸사를 촉진시킬 수 있다.

[0004] 지난 십수년간, 다양한 구조들의 작은 분자 화합물들이 프로테아좀 억제 활성 및 강한 항종양 효과를 갖는 것으로 밝혀져 왔다. 최근, 2개의 작은 분자 프로테아좀 억제제들, 즉 펩타이드 보레이트의 화합물로서의 보르테조미(Bortezomib) 및 에폭시 케톤 펩타이드의 화합물로서의 카르필조미(Carfilzomib)이 임상적으로 사용되고 있다. 이것은 종양 치료의 표적으로서 프로테아좀의 효력(validity)을 추가로 확인하는 것이다.

[0005] 보르테조미와 비교하여, 에폭시 케톤 화합물로서의 카르필조미는 우수한 종양 억제 효과를 가질 뿐만 아니라, 통상의 프로테아좀 억제제들에 의해 부여되는 신경학적 손상을 야기시키는 독성과 부작용을 갖지 않는다. 그 이유로는, 카르필조미가 보르테조미와 비교하여 더욱 특이적인 프로테아좀 억제 활성을 가지며 다른 프로테아좀 억제제들에 대한 억제 활성을 유의적으로 저하시키는 것일 수 있다(Clin Cancer Res. 2011, 17, 2734-2743). 오닉스 파마슈티컬즈 인코포레이티드(Onyx Pharmaceuticals, Inc.)(미국)에 의해 개발된 카르필조미는 2012년에 신속절차(accelerated procedure)를 통해 식품의약품(Food and Drug Administration)(FDA)에 의해 승인 받았으며, 이는 더욱더 높은 선행(precedence)의 적어도 2개의 요법들을 받은 다발골수종(multiple myeloma)의 환자를 치료하는 데 주로 사용되고 있다(보르테조미를 비롯한, 프로테아좀 억제제의 제 1 세대, 및 면역조절제(immunomodulator)). 프로테아좀 억제제의 제 1 세대와 비교하여, 카르필조미는 통상의 항종양 약물들에 대한 내성을 극복할 수 있고, 다발골수종의 치료를 더욱 희망적이게 하는 더욱 우수한 안정성을 가질 수 있는 유의적인 장점을 갖는다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0006] (비특허문헌 0001) CA-Cancer. J. Clin. 2011, 61, 69-90
(비특허문헌 0002) Clin Cancer Res. 2011, 17, 2734-2743

발명의 내용

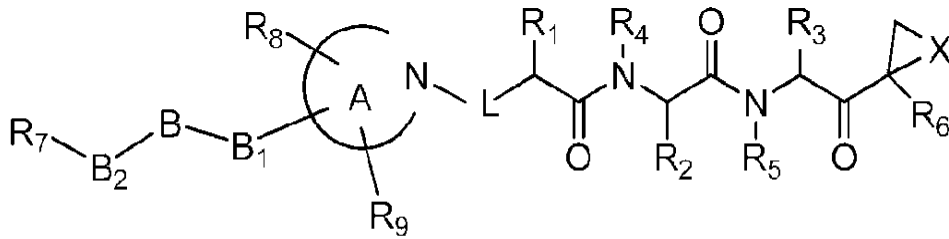
해결하려는 과제

[0007] 선두 화합물로서의 카르필조미를 사용하면, 본 개시내용은, 헤테로사이클로 구조화된 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물을 구조적인 특징으로 하는, 일련의 신규한 작은 분자 짧은 펩타이드-기반 프로테아좀 억제제들을 설계하고 합성하였다. 이러한 화합물들은 분자, 세포 및 동물 수준에서 그들의 프로테아좀 억제 활성에 대해 평가되어 왔다. 한편, 이들은 세포 수준에서 및 동물 수준에서 그들의 항종양 활성에 대해 조사되어 왔다. 결과에서는, 이러한 화합물들이 유망한 프로테아좀 억제제로서 세포 증식 억제 활성 및 극도로 강한 프로테아좀 억제 활성을 가지며, 암을 치료하기 위한 약물들의 연구에 대한 새로운 통찰력을 제공할 수 있는 것으로 나타났다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 개시내용의 목적은, 하기 식을 갖는, 헤테로사이클로 구조화된 신규한 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물을

제공하는 것이다:



I

[0009]

상기 식에서,

[0010]

[0011] R_1 , R_2 및 R_3 은 각각 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬기-D, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기-D, C_{1-6} 하이드록시 알킬기, C_{1-6} 머캅토 알킬기, C_{1-6} 알콕시 알킬기, 아릴기, 아르알킬기, 헤테로아릴기 및 헤테로아르알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되며,

[0012]

여기서 D는 $N(R_a)(R_b)$ 이거나, 또는 부재하되, R_a 및 R_b 는 각각 독립적으로 H, OH, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기 및 N-터미널에 대한 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0013]

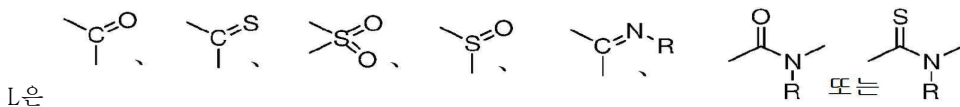
R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, OH, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기 및 아르알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0014]

R_6 은 H, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기, C_{1-6} 하이드록시 알킬기, C_{1-6} 알콕시기, 할로젠화된 C_{1-6} 알콕시기, $C(O)O-C_{1-6}$ 알킬기, $C(O)NH-C_{1-6}$ 알킬기 및 아르알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0015]

X는 O, S, NH, N- C_{1-6} 알킬기 또는 N-할로젠화된 C_{1-6} 알킬기이고;



L은 이거나, 또는 부재하며,

[0016]

여기서 R은 H, C_{1-6} 알킬기 및 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0017]

고리 A는 5원 내지 7원 포화된 지방족 헤테로사이클, 불포화된 헤테로사이클, 및 치환된 5원 내지 7원 포화된 지방족 헤테로사이클, 불포화된 헤테로사이클로 이루어진 군으로부터 선택되며,

[0018]

여기서 헤테로사이클은 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 함유하고, R_8 , R_9 및 B_1 로 이루어진 군으로부터 선택된 것에 의해 선택적으로 치환되고;

[0019]

R_8 및 R_9 는 각각 독립적으로 H, OH, C_{1-6} 알킬기, C_{1-6} 알콕시기, C_{1-6} 하이드록시 알킬기, C_{1-6} 머캅토 알킬기, C_{1-6} 알킬기-D, 아릴기, 헤테로사이클릭 아릴기, 사이클로알킬기 및 헤테로사이클릭기로 이루어진 군으로부터 선택되며,

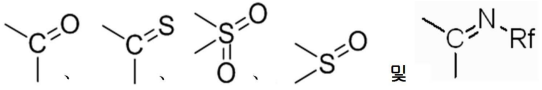
[0020]

상기 기들은 할로젠, 나이트로기, 아미노기, CN, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기, C_{1-6} 알콕시기 및 할로젠화된 C_{1-6} 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택된 것에 의해 선택적으로 치환될 수 있고, 상기 기들은 각각 하나 이상의 아릴기 또는 헤테로사이클릭 아릴기에 선택적으로 융합될 수 있거나, 또는 하나 이상의 포화된 또는 부분적으로 불포화된 사이클로알킬기 또는 헤테로사이클릭기에 융합될 수 있고;

[0021]

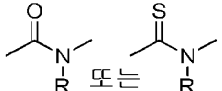
B_1 및 B_2 는 서로 동일하거나, 또는 다르며, 각각 독립적으로 O, S, $N(R_c)$ 및 $C(R_d)(R_e)$ 로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 부재하며, 여기서 R_c , R_d 및 R_e 는 각각 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬기, 할로젠화된 C_{1-6} 알킬기, C_{1-6} 알콕시기 및 할로젠화된 C_{1-6} 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택되고, R_c , R_d 및 R_e 는 서로 동일하거나, 또는 다르고;

[0022]

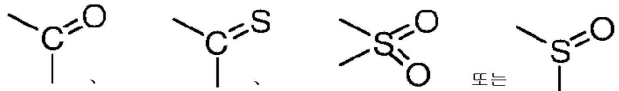
[0023] B는  로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 부재하며, 여기서 R_f는 H, C₁₋₆ 알킬기 및 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0024] R₇은 H, C₁₋₆ 알킬기, C₁₋₆ 알케닐기, C₁₋₆ 알키닐기, 카보사이클릭기, 헤테로사이클릭기, 아릴기, C₁₋₆ 아르알킬기, 헤테로아릴기, C₁₋₆ 헤테로아르알킬기, R_g-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기, R_g-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기, 헤테로사이클릭기-M-Z-EZ-C₁₋₈ 알킬기, (R_g)₂N-C₁₋₈ 알킬기, 헤테로사이클릭기-M- 및 카보사이클릭기-M-로 이루어진 군으로부터 선택되며, 상기 기들은 할로젠, 나이트로기, 아미노기, CN, C₁₋₆ 알킬기, 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기, C₁₋₆ 알콕시기 및 할로젠화된 C₁₋₆ 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택된 것에 의해 선택적으로 치환될 수 있고, E는 Z가 인접하게 존재한다면 선택적으로 공유결합이고, M은 부재하거나, 또는 C₁₋₁₂ 알킬기이고, Z는 E가 인접하게 존재한다면 선택적으로 공유결합이다.

[0025] 바람직하게는, X는 O 원자이다.

[0026] 바람직하게는, L은  이며, R은 H, C₁₋₆ 알킬기 또는 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기이다.

[0027] B₁ 및 B₂는 각각 독립적으로 바람직하게는 O, S 또는 N(R_c)이거나, 또는 부재하며, 여기서 R_c는 H, C₁₋₆ 알킬기, 할로젠화된 C₁₋₆ 알킬기, C₁₋₆ 알콕시기 및 할로젠화된 C₁₋₆ 알콕시기로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0028] 바람직하게는, B는  이다.

[0029] 바람직하게는, 고리 A는 6원 포화된 지방족 헤테로사이클 또는 불포화된 헤테로사이클이다.

[0030] 바람직하게는, 본 개시내용은 하기 화합물들을 제공하며, 여기서 상기 언급된 아미노산은 각각 특별하게 특정화되지 않는다면 L-아미노산이다.

[0031] 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Phe-Leu-Leu-에폭시 케톤(5a);

[0032] 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5b);

[0033] 4-(피라진-2-오일)피페라진-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5c);

[0034] 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5d);

[0035] 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5e);

[0036] 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5f);

[0037] 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5g);

[0038] 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5h);

[0039] 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5i);

[0040] 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5j);

[0041] 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5k);

[0042] 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5l);

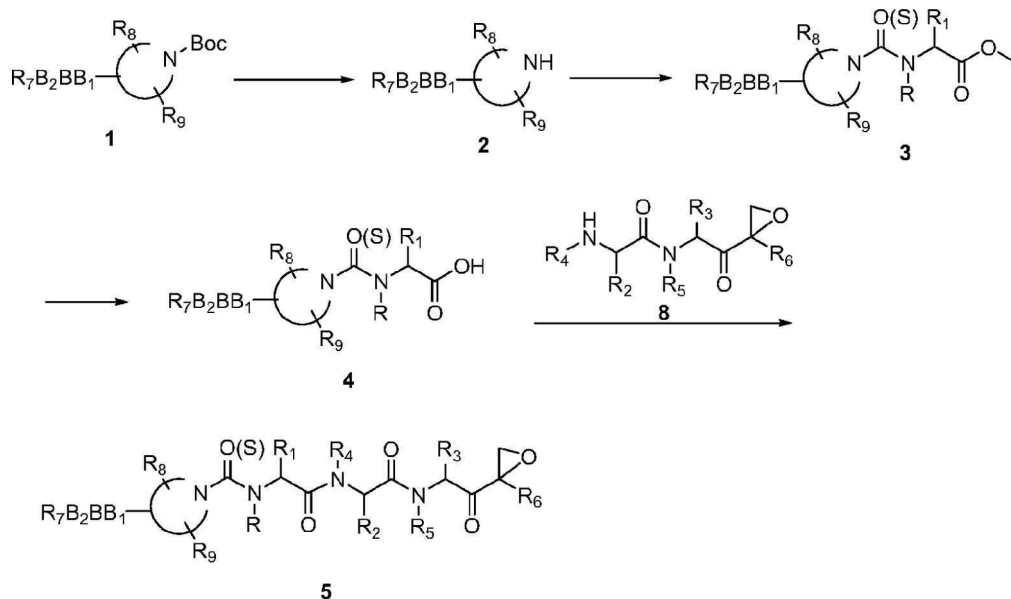
[0043] 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5m);

[0044] 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5n);

[0045] 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5o);

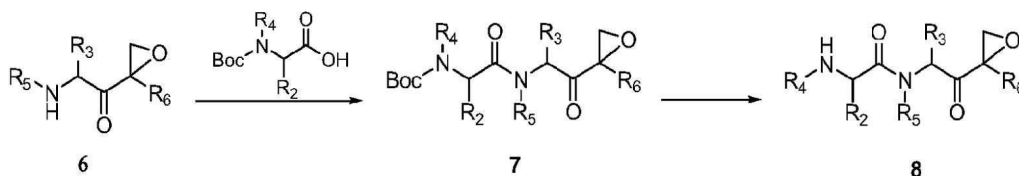
- [0046] 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5p);
- [0047] 4-(모폴린-4-오일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5q);
- [0048] 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5r);
- [0049] 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5s);
- [0050] 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-사이클로싸이온(5t);
- [0051] 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-사이클로싸이온(5u);
- [0052] 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-아지리디논(5v); 또는
- [0053] 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-(N-에틸 아지리디논)(5w).
- [0054] 본 개시내용의 다른 목적은,
- [0055] (1) 0 내지 50℃의 반응 온도에서 축합제의 작용 하에서 2 내지 8시간 동안 화합물(6)을 보호된 아미노산과 반응시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물로서 화합물(7)을 수득하는 단계로서, 여기서 상기 축합제는 다이사이클로헥실 카보다이이미드/4-다이메틸 아미노 피리딘, 다이사이클로헥실 카보다이이미드/1-하이드록시 벤조트라이아졸 및 N-(3-다이메틸 아미노 프로필)-N'-에틸 카보다이이미드 하이드로클로라이드/1-하이드록시 벤조트라이아졸로 이루어진 군으로부터 선택되는 단계;
- [0056] (2) -10 내지 40℃의 반응 온도에서 산성 조건 하에서 0.5 내지 3시간 동안 화합물(7)로부터 Boc 보호기를 탈보호시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물을 수득하는 단계로서, 여기서 상기 산성 조건은 에테르 중 HCl의 용액, 에틸 아세테이트 중 HCl의 용액, 메탄올 중 HCl의 용액, 다이옥세인 중 HCl의 용액 또는 트라이플루오로아세트산의 존재 하인 단계;
- [0057] (3) 단계(2)에서의 반응 조건과 동일한 산성 조건 하에서 화합물(1)로부터 Boc 보호기를 탈보호시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물로서 화합물(2)을 수득하는 단계;
- [0058] (4) -20 내지 0℃의 반응 온도에서 탄산나트륨, 중탄산나트륨, 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필에틸아민의 존재 하에서 염기성 조건에서 10분 내지 1시간 동안 아미노산 메틸 에스테르를 트라이포스젠과 반응시켜서 아미노산 메틸 에스테르 아이소시아네이트를 수득하고, 1 내지 6시간 동안 0 내지 50℃의 반응 온도에서 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필 에틸아민의 존재 하에서 염기성 조건에서 상기 아이소시아네이트를 화합물(2)로 축합시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 조생성물로서 화합물(3)을 수득하는 단계;
- [0059] (5) 0.5 내지 2시간 동안 0 내지 40℃의 반응 온도 하에서 수산화나트륨, 수산화리튬 또는 수산화칼륨의 존재 하에서 염기성 조건에서 화합물(3)을 가수분해시켜서, 다음 단계에서 직접 사용되는 생성물로서 화합물(4)을 수득하는 단계;
- [0060] (6) 단계(1)에서와 동일한 축합제의 작용 하에서 화합물(4)를 화합물(8)과 반응시켜서 생성물(5)을 수득하고, 생성된 조생성물을 칼럼 크로마토그래피를 통해 격리시켜서 순수한 생성물을 수득하는 단계
- [0061] 를 포함하는
- [0062] 트라이펩타이드 에폭시케톤 화합물의 제조방법을 제공하는 것이다:

[0063] 반응식



[0064]

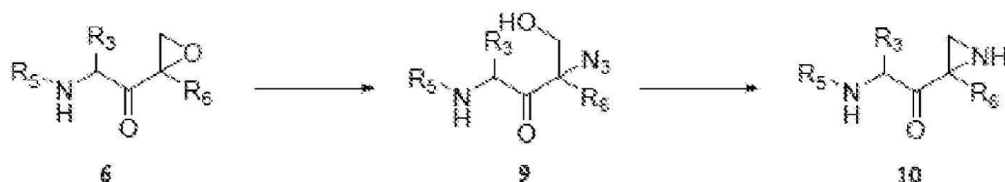
[0065] 원료로서의 화합물(8)은 하기 식에 따라 제조될 수 있다:



[0066]

[0067] 원료로서의 화합물(6)의 합성은 문헌 *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 3028에서 찾을 수 있다.

[0068] 아지리디논을 함유하는 화합물의 제조를 위한 원료로서 사용된 화합물(10)은 하기 식에 따라 제조될 수 있다:



[0069]

[0070] 본 개시내용의 또 다른 목적은, 프로테아좀 매개된 질환들, 예컨대 악성 종양들, 신경변성 장애들, 면역 질환들 등을 치료하는 데 유용한 에폭시 케톤 프로테아좀 억제제인 약학 조성물을 제공하는 것이다. 약학 조성물은, 본 개시내용의 일반식 I을 갖는 헤테로사이클로 구조화된 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물을 그의 활성 성분으로서 함유하며, 선택적으로는 약물 담체를 추가로 포함할 수 있다.

[0071]

본 개시내용의 조성물은 경구, 주사, 흡입 및 이식 투여들과 같은 것들을 위한 다양한 약학 투여량 형태로 제형화될 수 있다. 주사, 동결-건조된 분말 주사, 정제, 캡슐, 과립 등과 같은 것들로서 주사 및 경구 투여들이 바람직하다.

[0072]

약학 조성물 및 이의 다양한 제형들은 통상의 약학 담체들을 사용함으로써 제조될 수 있다.

[0073]

본 개시내용의 또 다른 목적은 일반식 I의 화합물 및 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 약학적 용도를 제공하는 것이다. 즉, 본 개시내용은, 악성 종양들, 신경변성 장애들 및 면역 질환들을 치료하기 위한 약물의 제조에서, 일반식 I의 화합물 및 상기 화합물을 포함하는 약학 조성물의 약학적 용도를 제공하는 것이다.

[0074]

헤테로사이클로 구조화된 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들은 탁월한 프로테아좀 억제 활성을 가지며, 다발 골수종 및 다양한 기타 고형 종양의 세포주(cell strain), 예컨대 RPMI8226, H929, MM-1R, MM-1S 등에 대한 실험관 내에서 극도로 강한 증식 억제 효과를 나타낸다. 본 화합물들은 각각의 반응들에서 높은 수율을 갖는 보통의 반응 조건에서 합리적으로 설계된 계획에 따라 쉽게 수득 가능한 물질들로 합성될 수 있다. 합성은 편리

한 작업들에 의해 실시될 수 있으며, 산업용 생산에 적합하다.

발명의 효과

[0075]

본 화합물들은 프로테아좀의 효율적인 억제제들이다. 활성 검정들의 결과들에서 제시된 바와 같이, 8개 화합물들의 프로테아좀 억제 활성들은 상업적으로 입수 가능한 화합물들 보르테조미드 및 카르필조미드와 비교하여 월등하게 우수하며, 이는 다발골수종 세포들에 대한 극도로 강한 증식 억제 활성을 나타낸다. 정상적인 마우스의 혈액 및 조직들의 프로테아좀 활성의 추가 연구에서, 3개 화합물들이 포지티브 대조군에 대해 더욱 우수하거나, 또는 그에 필적할만한 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 더욱이, 화합물들은 프로테아좀의 3개 가수분해성 활성 부위들에 대해 우수한 선택성을 갖는다. 화합물들 중에서, 2개 화합물들은 종양-함유 마우스의 혈액 및 조직들의 프로테아좀에 대해 우수한 억제 효과를 제시할 뿐만 아니라, 인간 골수종 마우스 이종이식편에 대해 유의적인 억제 효과를 나타내며, 포지티브 대조군의 것보다 더욱 우수한 종양 억제를 갖고, 마우스의 중량에 대한 유의적인 효과를 갖지 않는다. 상기 실험들에서는, 본 화합물들이 항종양 용도의 탁월한 전망을 가지며, 이로 인해 우수한 상업적 가치를 갖는 것으로 입증되었다.

도면의 간단한 설명

[0076]

도 1은 혈구세포들에서 프로테아좀 CT-L에 대한 일부 화합물들의 억제 활성을 나타낸다.

도 2는 정상적인 마우스의 혈구세포들 및 심장 조직들에서 프로테아좀에 대한 일부 화합물들의 억제 활성을 나타낸다.

도 3은 종양-함유 마우스의 혈액 및 조직들에서 프로테아좀 CT-L에 대한 일부 화합물들의 억제 활성을 나타낸다.

도 4는 인간 골수종 RPMI 8226 NOD/SCID 마우스의 체중에 대한 화합물들의 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077]

본 개시내용은, 본 개시내용을 제한하는 것이 아닌, 임의의 방식으로 오직 예시적인 목적을 위한 하기 실시예들과 결부하여 추가로 설명된다.

[0078]

제조 실시예 1, t-부틸 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1a, 1b)

[0079]

1-(t-부톡시 카보닐)피페리딘-1-카복실산(2.75 g, 12 밀리몰)을 50 mL 삼목 플라스크 내에 위치시켰다. 25 mL 무수 CH_2Cl_2 를 N_2 의 보호 하에서 첨가한 후, 피리딘(2.5 mL, 30 밀리몰) 및 다이클로로설폭사이드(1.1 mL, 14 밀리몰)를 서서히 적가하였다. 생성된 반응 혼합물을 0.5시간 동안 실온에서 정치시켰다. 후속적으로, 2-아미노 피라진(0.95 g, 10 밀리몰) 및 15 mL CH_2Cl_2 중에 용해된 트라이에틸아민(5.7 mL, 40 밀리몰)을 반응 혼합물에 서서히 적가하였다. 반응은 6시간 동안 실온에서 실시하였다. 이어서, 반응 혼합물에 20 mL 포화된 수성 NaCl을 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 CH_2Cl_2 로 추출하였다(15 mL*3). 유기 층들을 합치고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에서 증발시켜서 용매를 제거하였다. 생성된 생성물은 칼럼 크로마토그래피에 가하여서 수율 74%의 백색 고체 2.3 g을 수득하였다. m.p.: 134-136°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.55 (s, 1H, 피라진-H), 8.35 (d, 1H, J=2.0Hz, 피라진-H), 8.23 (s, 1H, 피라진-H), 7.97 (s, 1H, NH), 4.20 (m, 2H, CH_2), 2.81 (m, 2H, CH_2), 2.48 (m, 1H, CH), 1.93 (d, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 1.76 (m, 2H, CH_2), 1.47 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 307[M+H]⁺.

[0080]

제조 실시예 2, t-부틸 4-(피라진-2-일 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1c)

[0081]

피라진-2-카복실산(1.5 g, 12 밀리몰)을 50 mL 반응 플라스크 내에 위치시켰다. 35 mL 무수 CH_2Cl_2 를 첨가하여 피라진-2-카복실산을 용해시킨 후, 1-하이드록시 벤조트리아졸(1.6 g, 12 밀리몰) 및 N-(3-다이메틸아미노프로필)-N'-에틸카보다이이미드 하이드로클로라이드(3.5 g, 18 밀리몰)를 첨가하였다. 반응을 0.5시간 동안 실온에서 실시하였다. 후속적으로, t-부틸 피페라진-1-카복실산 에스테르(1.9 g, 10 밀리몰)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응은 실온에서 3 시간 더 실시하였다. 이어서, 반응 혼합물에 20 mL 포화된 수성 NaHCO_3 을 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 포화된 수성 NaCl로 세척하고(20 mL*2), 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하

에서 증발시켜서 용매를 제거하였다. 생성된 생성물은 칼럼 크로마토그래피에 가하여서 수율 83%의 백색 고체 2.4 g을 수득하였다. m.p.: 146-148°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.97 (d, 1H, J=1.5Hz, 피라진-H), 8.65 (d, 1H, J=2.5Hz, 피라진-H), 8.54 (s, 1H, 피라진-H), 3.79 (t, 2H, J=5.0Hz, CH_2), 3.62 (t, 2H, J=5.0Hz, CH_2), 3.56 (t, 2H, J=5.0Hz, CH_2), 3.49 (t, 2H, J=5.0Hz, CH_2), 1.47 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 293[M+H] $^+$.

[0082] 제조 실시예 3, t-부틸 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1d)

[0083] 원료로서 4-플루오로 아닐린을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.4 g을 75%의 수율로 수득하였다. m.p.: 147-149°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.47 (m, 2H, Ar-H), 7.20 (s, 1H, NH), 7.01 (t, 2H, J=8.0Hz, Ar-H), 4.18 (d, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 2.80 (t, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 2.37 (m, 1H, CH), 1.90 (d, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 1.75 (m, 2H, CH_2), 1.47 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 323[M+H] $^+$.

[0084] 제조 실시예 4, t-부틸 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1e)

[0085] 원료로서 (4-아미노 페닐)벤조페논을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 3.0 g을 73%의 수율로 수득하였다. m.p.: 162-164°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.82 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.77 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.67 (d, 2H, J=9.5Hz, Ar-H), 7.58 (t, 1H, J=7.0Hz, Ar-H), 7.48 (t, 2H, J=8.0Hz, Ar-H), 7.41 (s, 1H, NH), 4.18 (d, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 2.78 (t, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 2.44 (m, 1H, CH), 1.90 (d, 2H, J=11.5Hz, CH_2), 1.77 (m, 2H, CH_2), 1.48 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 409[M+H] $^+$.

[0086] 제조 실시예 5, t-부틸 4-(4-바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1f)

[0087] 원료로서 4-아미노 바이페닐을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.3 g을 60%의 수율로 수득하였다. m.p.: 219-221°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.57 (m, 6H, Ar-H), 7.43 (t, 2H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.33 (t, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.22 (s, 1H, NH), 4.20 (d, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 2.81 (t, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 2.40 (m, 1H, CH), 1.93 (d, 2H, J=11.5Hz, CH_2), 1.76 (m, 2H, CH_2), 1.47 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 381[M+H] $^+$.

[0088] 제조 실시예 6, t-부틸 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1g)

[0089] 원료로서 4-클로로 아닐린을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 3.3 g을 98%의 수율로 수득하였다. m.p.: 187-189°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.47 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 7.42 (s, 1H, NH), 7.27 (d, 2H, J=7.5Hz, Ar-H), 4.18 (d, 2H, J=13.5Hz, CH_2), 2.77 (t, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 2.38 (m, 1H, CH), 1.88 (d, 2H, J=11.0Hz, CH_2), 1.73 (m, 2H, CH_2), 1.47 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 339[M+H] $^+$.

[0090] 제조 실시예 7, t-부틸 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1d)

[0091] 원료로서 4-메톡시 아닐린을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.8 g을 85%의 수율로 수득하였다. m.p.: 165-167°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.39 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.38 (s, 1H, NH), 6.83 (d, 2H, J=7.5Hz, Ar-H), 4.16 (d, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 3.77 (s, 3H, CH_3), 2.75 (m, 2H, CH_2), 2.36 (m, 1H, CH), 1.86 (d, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 1.71 (m, 2H, CH_2), 1.45 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 335[M+H] $^+$.

- [0092] 제조 실시예 8, t-부틸 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1i)
- [0093] 원료로서 3-아미노 아이속사졸을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.5 g을 84%의 수율로 수득하였다. m.p.: 164-166°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.92 (s, 1H, NH), 8.35 (d, 1H, J=2.0Hz, 아이속사졸-H), 7.24 (d, 1H, J=2.0Hz, 아이속사졸-H), 4.10 (m, 2H, CH_2), 2.88 (m, 2H, CH_2), 2.62 (m, 1H, CH), 1.99 (d, 2H, J=11.0Hz, CH_2), 1.83 (m, 2H, CH_2), 1.47 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 296[M+H] $^+$.
- [0094] 제조 실시예 9, t-부틸 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1j)
- [0095] 원료로서 2-아미노 싸이아졸을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.5 g을 84%의 수율로 수득하였다. m.p.: 192-194°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 12.10 (s, 1H, NH), 7.42 (d, 1H, J=4.0Hz, 싸이아졸-H), 7.05 (d, 1H, J=3.5Hz, 싸이아졸-H), 4.19 (m, 2H, CH_2), 2.86 (m, 2H, CH_2), 2.65 (m, 1H, CH), 1.91 (d, 2H, J=11.5Hz, CH_2), 1.83 (m, 2H, CH_2), 1.48 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 312[M+H] $^+$.
- [0096] 제조 실시예 10, t-부틸 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1k)
- [0097] 원료로서 2-아미노 피리딘을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.8 g을 92%의 수율로 수득하였다. m.p.: 156-158°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.25 (m, 3H, 피리딘-H+NH), 7.74 (m, 1H, 피리딘-H), 7.06 (dd, 1H, J=6.5, 5.0Hz, 피리딘-H), 4.18 (m, 2H, CH_2), 2.79 (m, 2H, CH_2), 2.43 (m, 1H, CH), 1.91 (d, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 1.74 (m, 2H, CH_2), 1.46 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 306[M+H] $^+$.
- [0098] 제조 실시예 11, t-부틸 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1l)
- [0099] 원료로서 3-아미노 피리딘을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.6 g을 86%의 수율로 수득하였다. m.p.: 53-55°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.61 (s, 1H, 피리딘-H), 8.34 (d, 1H, J=4.0Hz, 피리딘-H), 8.28 (d, 1H, J=8.5Hz, 피리딘-H), 7.81 (s, 1H, NH), 7.32 (dd, 1H, J=8.5, 5.0Hz, 피리딘-H), 4.19 (d, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 2.79 (m, 2H, CH_2), 2.50 (m, 1H, CH), 1.91 (d, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 1.75 (m, 2H, CH_2), 1.46 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 306[M+H] $^+$.
- [0100] 제조 실시예 12, t-부틸 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1m)
- [0101] 30 mL 무수 CH_2Cl_2 중에 용해된 t-부틸 피페라진-1-카복실산(1.9 g, 10 밀리몰)을 얼음-조 내에서 0 °C까지 냉각시켰다. 10 mL 무수 CH_2Cl_2 중에 용해된 4-클로로페닐 아이소시아네이트(1.5 g, 10 밀리몰)를 생성된 혼합물 내에 서서히 적하하였다. 반응은 실온에서 1시간 동안 실시하였다. 생성된 혼합물을 감압 하에서 증발시켜서 용매를 제거하였다. 수득된 생성물은 칼럼 크로마토그래피에 가하여서 수율 89%의 백색 고체 3.0 g을 수득하였다. m.p.: 147-149°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.27 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 7.19 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 6.79 (s, 1H, NH), 3.44 (s, 8H, CH_2), 1.46 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 340[M+H] $^+$.
- [0102] 제조 실시예 13, t-부틸 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1n)
- [0103] 원료로서 p-메톡시 페닐 아이소시아네이트를 사용함으로써, 제조 실시예 12에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.9 g을 88%의 수율로 수득하였다. m.p.: 174-176°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.22 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 6.82 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 6.42 (s, 1H, NH), 3.77 (s, 3H, CH_3), 3.45 (s, 8H, CH_2), 1.47 (s, 9H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 336[M+H] $^+$.

- [0104] 제조 실시예 14, t-부틸 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1o)
- [0105] 원료로서 p-클로로벤조산 및 t-부틸 4-아미노-피페리딘-1-카복실산 에스테르를 사용함으로써, 제조 실시예 2에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 3.3 g을 99%의 수율로 수득하였다. m.p.: 156-158°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.69 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.39 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 6.06 (s, 1H, NH), 4.09 (m, 3H, CH+CH₂), 2.89 (t, 2H, J=12.5Hz, CH₂), 2.00 (m, 2H, CH₂), 1.43 (m, 11H, CH₂+CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 339[M+H]⁺.
- [0106] 제조 실시예 15, t-부틸 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1p)
- [0107] 원료로서 p-메톡시벤조산 및 t-부틸 4-아미노-피페리딘-1-카복실산 에스테르를 사용함으로써, 제조 실시예 2에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 3.3 g을 98%의 수율로 수득하였다. m.p.: 144-146°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.71 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 6.89 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 6.05 (s, 1H, NH), 4.09 (m, 3H, CH+CH₂), 3.83 (s, 3H, CH₃), 2.88 (m, 2H, CH₂), 2.00 (m, 2H, CH₂), 1.45 (m, 11H, CH₂+CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 335[M+H]⁺.
- [0108] 제조 실시예 16, t-부틸 4-(4-모폴린-4-오일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1q)
- [0109] 원료로서 모폴린을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.8 g을 94%의 수율로 수득하였다. m.p.: 122-124°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 4.14 (m, 2H, CH₂), 3.67 (m, 4H, CH₂), 3.61 (brs, 2H, CH₂), 3.51 (brs, 2H, CH₂), 2.75 (m, 2H, CH₂), 2.59 (m, 1H, CH), 1.67 (m, 4H, CH₂), 1.45 (s, 9H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 299[M+H]⁺.
- [0110] 제조 실시예 17, t-부틸 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1q)
- [0111] 원료로서 1-(t-부틸옥시카본일)피페리딘-3-카복실산을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 점성 생성물 2.1 g을 67%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.53 (d, 1H, J=2.0Hz, 피라진-H), 8.52 (brs, 1H, NH), 8.34 (d, 1H, J=3.5Hz, 피라진-H), 8.25 (m, 1H, 피라진-H), 4.09 (m, 1H, CH₂), 3.84 (m, 1H, CH₂), 3.25 (m, 1H, CH₂), 3.01 (m, 1H, CH₂), 2.54 (m, 1H, CH), 1.95 (m, 4H, CH₂), 1.47 (s, 9H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 307[M+H]⁺.
- [0112] 제조 실시예 18, t-부틸 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1s)
- [0113] 원료로서 4-클로로 아닐린 및 1-(t-부틸옥시카본일)피페리딘-3-카복실산을 사용함으로써, 제조 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 점성 생성물 1.9 g을 55%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.42 (brs, 1H, NH), 7.54 (d, 2H, J=11.0Hz, Ar-H), 7.26 (d, 2H, J=11.0Hz, Ar-H), 3.76 (m, 1H, CH₂), 3.57 (m, 2H, CH₂), 3.29 (m, 1H, CH₂), 2.51 (m, 1H, CH), 2.11 (m, 1H, CH₂), 1.86 (m, 3H, CH₂), 1.47 (s, 9H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 339[M+H]⁺.
- [0114] 제조 실시예 19, N-(피라진-2-일)피페리딘-4-폼아미드(2a, 2b)
- [0115] 트라이플루오로아세트산(15 mL)을 40 mL CH_2Cl_2 중에 용해된 반응물(1a)(3.06 g, 10 밀리몰)에 적가하였다. 반응을 실온에서 1시간 동안 실시하였다. 반응 혼합물을 감압 하에서 증발시켜서 다음 단계에서 직접 사용되는 무색 오일로서의 생성물을 수득하였다.
- [0116] 제조 실시예 20, 1-(피라진-2-오일)피페라진(2c)
- [0117] 원료로서 t-부틸 4-(피라진-2-일 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1c)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

- [0118] 제조 실시예 21, N-(4-플루오로페닐)피페리딘-4-폼아미드(2d)
- [0119] 원료로서 t-뷰틸 4-(플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1d)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0120] 제조 실시예 22, N-(벤조일 페닐)피페리딘-4-폼아미드(2e)
- [0121] 원료로서 t-뷰틸 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1e)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0122] 제조 실시예 23, N-(바이페닐)피페리딘-4-폼아미드(2f)
- [0123] 원료로서 t-뷰틸 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1f)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0124] 제조 실시예 24, N-(4-클로로페닐)피페리딘-4-폼아미드(2g)
- [0125] 원료로서 t-뷰틸 4-(클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1g)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0126] 제조 실시예 25, N-(4-메톡시 페닐)피페리딘-4-폼아미드(2h)
- [0127] 원료로서 t-뷰틸 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1h)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0128] 제조 실시예 26, N-(아이속사졸-3-일)피페리딘-4-폼아미드(2i)
- [0129] 원료로서 t-뷰틸 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1i)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0130] 제조 실시예 27, N-(싸이아졸-2-일)피페리딘-4-폼아미드(2j)
- [0131] 원료로서 t-뷰틸 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1j)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0132] 제조 실시예 28, N-(피리딘-2-일)피페리딘-4-폼아미드(2k)
- [0133] 원료로서 t-뷰틸 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1k)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0134] 제조 실시예 29, N-(피리딘-3-일)피페리딘-4-폼아미드(2l)
- [0135] 원료로서 t-뷰틸 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1l)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0136] 제조 실시예 30, N-(4-클로로페닐)피페라진-4-폼아미드(2m)
- [0137] 원료로서 t-뷰틸 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1m)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0138] 제조 실시예 31, N-(4-메톡시 페닐)피페라진-4-폼아미드(2n)
- [0139] 원료로서 t-뷰틸 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페라진-1-카복실산 에스테르(1n)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

다.

- [0140] 제조 실시예 32, 4-클로로-N-(피페리딘-4-일)벤즈아미드(2o)
- [0141] 원료로서 t-부틸 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1o)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0142] 제조 실시예 33, 4-메톡시-N-(피페리딘-4-일)벤즈아미드(2p)
- [0143] 원료로서 t-부틸 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1p)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0144] 제조 실시예 34, 모폴리닐(피페리딘-4-일)케톤(2q)
- [0145] 원료로서 t-부틸 4-(모폴리닐-4-오일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1q)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0146] 제조 실시예 35, N-(피라진-2-일)피페리딘-3-폼아미드(2r)
- [0147] 원료로서 t-부틸 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1r)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0148] 제조 실시예 36, N-(4-클로로페닐)피페리딘-3-폼아미드(2s)
- [0149] 원료로서 t-부틸 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-카복실산 에스테르(1s)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0150] 제조 실시예 37, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Phe-OMe(3a)
- [0151] 10 mL 포화된 NaHCO_3 용액과 10 mL CH_2Cl_2 의 혼합된 용액 중에 용해된 메틸 페닐알라니네이트 하이드로클로라이드(1.9 g, 9 밀리몰)을 얼음-조 내에서 0 °C까지 냉각시켰다. 트라이포스젠(0.9 g, 3 밀리몰)을 혼합물에 첨가하였다. 반응은 0°C의 온도에서 15분 동안 실시하였다. 이어서, 반응 혼합물을 정치시켜서 유기 층을 분리시켰다. 수성 층을 CH_2Cl_2 로 추출하였다(15 mL*3). 유기 층들을 합치고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에서 증발시켜서 용매를 제거하였다. 15 mL CH_2Cl_2 중에 용해된 원료로서의 N-(피라진-2-일)피페리딘-4-폼아미드(2a, 1.2 g, 6 밀리몰)를 상기 새로이 제조된 아이소시아네이트에 적가하였다. 반응은 실온에서 1시간 동안 실시하였다. 반응 혼합물을 감압 하에서 증발시켜서 용매를 제거하였다. 생성된 생성물은 칼럼 크로마토그래피에 가하여서 수율 65%의 백색 고체 1.6 g을 수득하였다. m.p.: 145-147°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.56 (s, 1H, 피라진-H), 8.37 (d, 1H, J=2.5Hz, 피라진-H), 8.25 (s, 1H, 피라진-H), 8.02 (s, 1H, NH), 7.30 (m, 3H, Ar-H), 7.11 (d, 2H, J=7.0Hz, Ar-H), 4.93 (d, 1H, J=7.5Hz, NH), 4.82 (q, 1H, J=6.5Hz, CH), 4.04 (d, 1H, J=13.5Hz, CH_2), 3.92 (d, 1H, J=13.5Hz, CH_2), 3.74 (s, 3H, CH_3), 3.15 (m, 2H, CH_2), 2.88 (m, 2H, CH_2), 2.53 (m, 1H, CH), 1.94 (d, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 1.78 (m, 2H, CH_2) ppm; ESI-MS: m/z = 412[M+H]⁺.
- [0152] 제조 실시예 38, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3b)
- [0153] 원료로서 메틸 류시네이트 하이드로클로라이드를 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.0 g을 87%의 수율로 수득하였다. m.p.: 75-77°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.55 (s, 1H, 피라진-H), 8.36 (d, 1H, J=2.0Hz, 피라진-H), 8.25 (m, 2H, 피라진-H+NH), 4.97 (d, 1H, J=7.5Hz, NH), 4.53 (q, 1H, J=8.0Hz, CH), 4.06 (m, 2H, CH_2), 3.74 (s, 3H, CH_3), 2.92 (q, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 2.57 (m, 1H, CH), 1.97 (m, 2H, CH_2), 1.80 (m, 2H, CH_2), 1.68 (m, 1H, CH_2), 1.63 (m, 1H, CH_2), 1.52 (m, 1H, CH), 0.95 (dd, 6H, J=6.5, 2.0Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 378[M+H]⁺.
- [0154] 제조 실시예 39, 4-(피라진-2-오일)피페라진-1-오일-Leu-OMe(3c)

- [0155] 원료로서 메틸 류시네이트 하이드로클로라이드 및 1-(피라진-2-오일)피페라진(2c)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.0 g을 92%의 수율로 수득하였다. m.p.: 134-136°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.00 (s, 1H, 피라진-H), 8.67 (d, 1H, J=1.5Hz, 피라진-H), 8.56 (s, 1H, 피라진-H), 4.92 (d, 1H, J=7.0Hz, NH), 4.52 (q, 1H, J=8.0Hz, CH), 3.85 (m, 2H, CH_2), 3.75 (s, 3H, CH_3), 3.71 (m, 2H, CH_2), 3.53 (m, 4H, CH_2), 1.65 (m, 2H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 1.54 (m, 1H, CH_2), 0.95 (dd, 6H, J=6.0, 2.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 364[M+H] $^+$.
- [0156] 제조 실시예 40, 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3d)
- [0157] 원료로서 N-(4-플루오로페닐)피페리딘-4-폼아미드(2d)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.3 g을 99%의 수율로 수득하였다. m.p.: 63-65°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.48 (dd, 2H, J=8.5, 5.0Hz, Ar-H), 7.28 (s, 1H, NH), 7.01 (t, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 4.89 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.52 (dd, 1H, J=14.0, 8.5Hz, CH), 4.05 (t, 2H, J=14.0Hz, CH_2), 3.74 (s, 3H, CH_3), 2.91 (q, 2H, J=10.5Hz, CH_2), 2.43 (m, 1H, CH), 1.95 (d, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 1.79 (m, 2H, CH_2), 1.71 (m, 2H, CH_2+CH), 1.53 (m, 1H, CH_2), 0.96 (d, 6H, J=6.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 395[M+H] $^+$.
- [0158] 제조 실시예 41, 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3e)
- [0159] 원료로서 N-(벤조일 페닐)피페리딘-4-폼아미드(2e)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.8 g을 96%의 수율로 수득하였다. m.p.: 71-73°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.82 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.77 (d, 2H, J=7.0Hz, Ar-H), 7.67 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.58 (t, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.55 (s, 1H, NH), 7.48 (t, 2H, J=7.5Hz, Ar-H), 4.90 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.53 (dd, 1H, J=13.5, 8.5Hz, CH), 4.06 (t, 2H, J=13.5Hz, CH_2), 3.74 (s, 3H, CH_3), 2.92 (q, 2H, J=11.0Hz, CH_2), 2.47 (m, 1H, CH), 1.97 (d, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 1.84 (m, 2H, CH_2), 1.69 (m, 2H, CH_2), 1.52 (m, 1H, CH), 0.96 (d, 6H, J=6.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 480[M+H] $^+$.
- [0160] 제조 실시예 42, 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3f)
- [0161] 원료로서 N-(바이페닐)피페리딘-4-폼아미드(2f)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.5 g을 93%의 수율로 수득하였다. m.p.: 67-69°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.59 (m, 6H, Ar-H), 7.43 (t, 2H, J=6.5Hz, Ar-H), 7.33 (t, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.27 (s, 1H, NH), 4.96 (d, 1H, J=5.5Hz, NH), 4.53 (dd, 1H, J=13.5, 8.5Hz, CH), 4.06 (m, 2H, CH_2), 3.75 (s, 3H, CH_3), 2.94 (q, 2H, J=11.5Hz, CH_2), 2.47 (m, 1H, CH), 1.99 (d, 2H, J=11.0Hz, CH_2), 1.82 (m, 2H, CH_2), 1.69 (m, 2H, CH_2), 1.53 (m, 1H, CH), 0.97 (d, 6H, J=6.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 452[M+H] $^+$.
- [0162] 제조 실시예 43, 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3g)
- [0163] 원료로서 N-(4-클로로페닐)피페리딘-4-폼아미드(2g)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.4 g을 98%의 수율로 수득하였다. m.p.: 75-77°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.61 (s, 1H, NH), 7.50 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.27 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 5.06 (d, 1H, J=6.0Hz, NH), 4.50 (dd, 1H, J=13.5, 8.5Hz, CH), 4.04 (t, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 3.72 (s, 3H, CH_3), 2.88 (q, 2H, J=10.5Hz, CH_2), 2.43 (m, 1H, CH), 1.93 (m, 2H, CH_2), 1.72 (m, 3H, CH_2+CH_2), 1.55 (m, 2H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 0.94 (d, 6H, J=6.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 410[M+H] $^+$.
- [0164] 제조 실시예 44, 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3h)
- [0165] 원료로서 N-(4-메톡시 페닐)피페리딘-4-폼아미드(2h)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라

라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 1.8 g을 73%의 수율로 수득하였다. m.p.: 131-133°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.49 (s, 1H, NH), 7.42 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 6.84 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 5.01 (d, 1H, J=5.5Hz, NH), 4.48 (dd, 1H, J=13.5, 8.5Hz, CH), 4.03 (m, 2H, CH_2), 3.78 (s, 3H, CH_3), 3.72 (s, 3H, CH_3), 2.87 (q, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 2.41 (m, 1H, CH), 1.92 (d, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 1.80 (m, 2H, CH_2), 1.71 (m, 1H, CH_2), 1.59 (m, 1H, CH_2), 1.53 (m, 1H, CH), 0.94 (d, 6H, J=6.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 406[M+H] $^+$.

[0166] 제조 실시예 45, 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3i)

[0167] 원료로서 N-(아이속사졸-3-일)피페리딘-4-폼아미드(2i)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.2 g을 99%의 수율로 수득하였다. m.p.: 137-139°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.88 (brs, 1H, NH), 8.32 (s, 1H, 아이속사졸-H), 7.14 (s, 1H, 아이속사졸-H), 4.97 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.52 (dd, 1H, J=14.0, 8.5Hz, CH), 4.06 (dd, 2H, J=30.0, 13.5Hz, CH_2), 3.75 (s, 3H, CH_3), 2.95 (q, 2H, J=13.5Hz, CH_2), 2.61 (m, 1H, CH), 1.97 (d, 2H, J=11.0Hz, CH_2), 1.76 (m, 3H, CH_2+CH_2), 1.64 (m, 1H, CH_2), 1.54 (m, 1H, CH), 0.96 (d, 6H, J=7.0Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 367[M+H] $^+$.

[0168] 제조 실시예 46, 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3j)

[0169] 원료로서 N-(싸이아졸-2-일)피페리딘-4-폼아미드(2j)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.2 g을 97%의 수율로 수득하였다. m.p.: 169-171°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 12.33 (s, 1H, NH), 7.38 (d, 1H, J=3.0Hz, 싸이아졸-H), 7.02 (d, 1H, J=3.5Hz, 싸이아졸-H), 5.17 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.51 (dd, 1H, J=14.0, 8.5Hz, CH), 4.03 (dd, 2H, J=35.0, 13.5Hz, CH_2), 3.72 (s, 3H, CH_3), 2.91 (q, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 2.67 (m, 1H, CH), 1.87 (m, 4H, CH_2+CH_2), 1.70 (m, 1H, CH_2), 1.56 (m, 2H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 0.93 (dd, 6H, J=6.0, 2.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 383[M+H] $^+$.

[0170] 제조 실시예 47, 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3k)

[0171] 원료로서 N-(피리딘-2-일)피페리딘-4-폼아미드(2k)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.1 g을 95%의 수율로 수득하였다. m.p.: 69-71°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.26 (m, 3H, NH+ 피리딘-H), 7.72 (m, 1H, 피리딘-H), 7.05 (m, 1H, 피리딘-H), 4.91 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.51 (m, 1H, CH), 4.02 (m, 2H, CH_2), 3.73 (s, 3H, CH_3), 2.91 (m, 2H, CH_2), 2.47 (m, 1H, CH), 1.95 (t, 2H, J=13.5Hz, CH_2), 1.80 (m, 2H, CH_2), 1.71 (m, 1H, CH_2), 1.61 (m, 1H, CH_2), 1.52 (m, 1H, CH), 0.94 (dd, 6H, J=6.5, 2.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 377[M+H] $^+$.

[0172] 제조 실시예 48, 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3l)

[0173] 원료로서 N-(피리딘-3-일)피페리딘-4-폼아미드(2l)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.0 g을 92%의 수율로 수득하였다. m.p.: 61-63°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.66 (m, 2H, NH+ 피리딘-H), 8.31 (d, 1H, J=4.5Hz, 피리딘-H), 8.22 (d, 1H, J=8.5Hz, 피리딘-H), 7.27 (dd, 1H, J=8.5, 4.5Hz, 피리딘-H), 5.20 (d, 1H, J=8.5Hz, NH), 4.48 (m, 1H, CH), 4.04 (t, 2H, J=13.0Hz, CH_2), 3.70 (s, 3H, CH_3), 2.86 (q, 2H, J=12.0Hz, CH_2), 2.51 (m, 1H, CH), 1.91 (t, 2H, J=12.5Hz, CH_2), 1.73 (m, 3H, CH_2+CH_2), 1.55 (m, 2H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 0.93 (d, 6H, J=6.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 377[M+H] $^+$.

[0174] 제조 실시예 49, 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu-OMe(3m)

[0175] 원료로서 N-(4-클로로페닐)피페라진-4-폼아미드(2m)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 1.8 g을 73%의 수율로 수득하였다. m.p.: 200-202°C; ^1H NMR

(500MHz, CDCl_3): δ = 7.31 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, Ar-H), 7.23 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, Ar-H), 6.66 (s, 1H, NH), 4.91 (d, 1H, $J=7.5\text{Hz}$, NH), 4.49 (m, 1H, CH), 3.72 (s, 3H, CH_3), 3.51 (m, 8H, CH_2), 1.65 (m, 2H, CH_2), 1.52 (m, 1H, CH_2), 0.94 (d, 6H, $J=6.5\text{Hz}$, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 411 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0176] 제조 실시예 50, 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu-OMe(3n)

[0177] 원료로서 N-(4-메톡시 페닐)피페라진-4-폼아미드(2n)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.4 g을 99%의 수율로 수득하였다. m.p.: 197-199 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.24 (d, 2H, $J=9.0\text{Hz}$, Ar-H), 6.84 (d, 2H, $J=9.0\text{Hz}$, Ar-H), 6.32 (s, 1H, NH), 4.84 (d, 1H, $J=7.5\text{Hz}$, NH), 4.52 (m, 1H, CH), 3.78 (s, 3H, CH_3), 3.74 (s, 3H, CH_3), 3.54 (m, 8H, CH_2), 1.65 (m, 2H, CH_2), 1.53 (m, 1H, CH_2), 0.95 (dd, 6H, $J=6.5$, 1.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 407 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0178] 제조 실시예 51, 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3o)

[0179] 원료로서 4-클로로-N-(피페리딘-4-일)벤즈아미드(2o)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.1 g을 84%의 수율로 수득하였다. m.p.: 190-192 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.72 (d, 2H, $J=8.0\text{Hz}$, Ar-H), 7.40 (d, 2H, $J=8.0\text{Hz}$, Ar-H), 6.25 (brs, 1H, NH), 4.98 (brs, 1H, NH), 4.46 (m, 1H, CH), 4.15 (m, 1H, CH), 3.97 (m, 2H, CH_2), 3.70 (s, 3H, CH_3), 2.97 (m, 2H, CH_2), 2.04 (m, 2H, CH_2), 1.67 (m, 2H, CH_2), 1.49 (m, 3H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 0.93 (m, 6H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 410 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0180] 제조 실시예 52, 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3p)

[0181] 원료로서 4-메톡시-N-(피페리딘-4-일)벤즈아미드(2p)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.4 g을 98%의 수율로 수득하였다. m.p.: 169-171 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.72 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, Ar-H), 6.92 (d, 2H, $J=8.5\text{Hz}$, Ar-H), 6.05 (brs, 1H, NH), 4.87 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$, NH), 4.48 (m, 1H, CH), 4.14 (m, 1H, CH), 3.97 (m, 2H, CH_2), 3.84 (s, 3H, CH_3), 3.71 (s, 3H, CH_3), 2.98 (m, 2H, CH_2), 2.04 (m, 2H, CH_2), 1.62 (m, 2H, CH_2), 1.49 (m, 3H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 0.94 (d, 6H, $J=6.5\text{Hz}$, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 406 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0182] 제조 실시예 53, 4-(모폴린-4-오일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3q)

[0183] 원료로서 모폴리닐(피페리딘-4-일)케톤(2q)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 무색 오일성 생성물 1.6 g을 72%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 4.87 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$, NH), 4.55 (m, 1H, CH), 4.00 (m, 2H, CH_2), 3.67 (m, 4H, CH_2), 3.62 (m, 2H, CH_2), 3.55 (s, 3H, CH_3), 3.50 (m, 2H, CH_2), 2.88 (m, 2H, CH_2), 2.62 (m, 1H, CH), 1.75 (m, 4H, CH_2), 1.62 (m, 2H, CH_2), 1.52 (m, 1H, CH), 0.91 (dd, 6H, $J=6.5$, 2.5Hz, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 446 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0184] 제조 실시예 54, 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3r)

[0185] 원료로서 N-(피라진-2-일)피페리딘-3-폼아미드(2r)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 무색 오일성 생성물 2.2 g을 96%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.51 (d, 1H, $J=4.0\text{Hz}$, 피라진-H), 9.44 및 9.00 (s, 1H, 50/50, NH), 8.32 (m, 1H, 피라진-H), 8.27 (m, 1H, 피라진-H), 5.73 및 5.11 (m, 1H, 50/50, NH), 4.58 (m, 1H, CH), 4.10 (m, 1H, CH_2), 4.05 및 3.58 (m, 1H, 50/50, CH_2), 3.71 및 3.55 (s, 3H, 50/50, CH_3), 3.38 및 2.92 (m, 1H, 50/50, CH_2), 3.18 (m, 1H, CH_2), 2.61 및 2.54 (m, 1H, 50/50, CH), 2.01 (m, 4H, CH_2), 1.60 (m, 2H, CH_2), 1.56 (m, 1H, CH), 0.92

(m, 6H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 378[M+H]⁺.

[0186] 제조 실시예 55, 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3s)

[0187] 원료로서 N-(4-클로로페닐)피페리딘-3-폼아미드(2s)을 사용함으로써, 제조 실시예 37에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 2.0 g을 82%의 수율로 수득하였다. m.p.: 145-147°C; ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 9.15 및 9.01 (s, 1H, 50/50, NH), 7.72 및 7.59 (d, 2H, 50/50, J=11.0Hz, Ar-H), 7.25 (m, 2H, Ar-H), 6.24 및 5.05 (brs, 1H, 50/50, NH), 4.49 (m, 1H, CH), 4.17 및 3.56 (m, 1H, 50/50, CH₂), 3.96 (m, 1H, CH₂), 3.73 및 3.34 (s, 3H, 50/50, CH₃), 3.38 및 3.25 (m, 1H, 50/50, CH₂), 2.89 및 2.59 (m, 1H, 50/50, CH₂), 2.27 (m, 1H, CH), 1.87 (m, 4H, CH₂), 1.61 (m, 2H, CH₂), 1.51 (m, 1H, CH), 0.91 (m, 6H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 410[M+H]⁺.

[0188] 제조 실시예 56, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Phe(4a)

[0189] 원료로서 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Phe-OMe(0.41 g, 1 밀리몰)를 4 mL 아세톤 중에 용해시켰다. 0.5 N 수성 LiOH 용액 4 mL를 상기 용액에 첨가하였다. 반응은 0.5시간 동안 실온에서 실시하였다. 생성된 혼합물을 감압 하에서 증발시켜서 용매를 제거하였다. 수성 층을 1N HCl로 pH 3 내지 4로 조정하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다(10 mL*3). 유기 층들을 합치고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후, 감압 하에서 증발시켜서 용매를 제거하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0190] 제조 실시예 57, 4-(피라진-2-오일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4b)

[0191] 원료로서 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3b)를 사용함으로써, 제조 실시예 57에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0192] 제조 실시예 58, 4-(피라진-2-오일)피페라진-1-오일-Leu(4c)

[0193] 원료로서 4-(피라진-2-일)피페라진-1-오일-Leu-OMe(3c)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0194] 제조 실시예 59, 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4d)

[0195] 원료로서 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3d)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0196] 제조 실시예 60, 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4e)

[0197] 원료로서 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3e)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0198] 제조 실시예 61, 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4f)

[0199] 원료로서 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3f)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0200] 제조 실시예 62, 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4g)

[0201] 원료로서 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3g)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0202] 제조 실시예 63, 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4h)

[0203] 원료로서 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3h)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0204] 제조 실시예 64, 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4i)

[0205] 원료로서 4-(4-아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3i)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

- [0206] 제조 실시예 65, 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4j)
- [0207] 원료로서 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3j)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0208] 제조 실시예 66, 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4k)
- [0209] 원료로서 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3k)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0210] 제조 실시예 67, 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4l)
- [0211] 원료로서 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3l)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0212] 제조 실시예 68, 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu(4m)
- [0213] 원료로서 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3m)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0214] 제조 실시예 69, 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페라진-1-오일-Leu(4n)
- [0215] 원료로서 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3n)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0216] 제조 실시예 70, 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu(4o)
- [0217] 원료로서 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3o)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0218] 제조 실시예 71, 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu(4p)
- [0219] 원료로서 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3p)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0220] 제조 실시예 72, 4-(모폴린-4-오일)피페리딘-1-오일-Leu(4q)
- [0221] 원료로서 4-(모폴린-4-오일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3q)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0222] 제조 실시예 73, 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4r)
- [0223] 원료로서 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3r)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0224] 제조 실시예 74, 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4s)
- [0225] 원료로서 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-OMe(3s)를 사용함으로써, 제조 실시예 56에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.
- [0226] 제조 실시예 75, Boc-Phe-Leu-에폭시 케톤(7a)
- [0227] 원료로서 Boc-L-Phe 및 Leu-에폭시 케톤(6a)을 사용함으로써, 제조 실시예 2에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 1.5 g을 90%의 수율로 수득하였다. m.p.: 151-153°C; ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.20 (m, 5H, Ar-H), 6.18 (d, 1H, J=6.5Hz, NH), 4.95 (d, 1H, J=6.5Hz, NH), 4.57 (m, 1H, CH), 4.32 (m, 1H, CH), 3.24 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH₂), 3.03 (m, 2H, CH₂), 2.88 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH₂), 1.63 (m, 1H, CH), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.46 (m, 1H, CH₂), 1.43 (s, 9H, CH₃), 1.17 (m, 1H, CH₂), 0.92 (d, 3H, J= 6.5Hz, CH₃), 0.87 (d, 3H, J= 6.5Hz, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 419[M+H]⁺.
- [0228] 제조 실시예 76, Boc-Leu-Leu-에폭시 케톤(7b)
- [0229] 원료로서 Boc-L-Leu 및 Leu-에폭시 케톤(6b)을 사용함으로써, 제조 실시예 2에서와 동일한 절차에 따라 합성 및

사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 1.2 g을 76%의 수율로 수득하였다. m.p.: 184-186°C; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 6.46 (d, 1H, J=6.5Hz, NH), 4.87 (d, 1H, J=8.5Hz, NH), 4.59 (m, 1H, CH), 4.10 (m, 1H, CH), 3.31 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH_2), 2.90 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH_2), 1.63 (m, 4H, CH+ CH_2), 1.52 (s, 3H, CH_3), 1.46 (m, 1H, CH_2), 1.43 (s, 9H, CH_3), 1.29 (m, 1H, CH_2), 0.93 (m, 12H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 385[M+H] $^+$.

[0230] 제조 실시예 77, Phe-Leu-에폭시 케톤(8a)

[0231] 원료로서 Boc-Phe-Leu-에폭시 케톤(7a)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0232] 제조 실시예 78, Leu-Leu-에폭시 케톤(8b)

[0233] 원료로서 Boc-Leu-Leu-에폭시 케톤(7b)을 사용함으로써, 제조 실시예 19에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 수득된 생성물은 다음 단계에서 직접 사용하였다.

[0234] 제조 실시예 79, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Phe-Leu-Leu-에폭시 케톤(5a)

[0235] 원료로서 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Phe(4a, 0.5 g, 1.2 밀리몰)를 4 mL CH_2Cl_2 중에 용해시켰다. 1-하이드록시 벤조트리아아졸(0.16 g, 1.2 밀리몰) 및 N-(3-다이메틸아미노 프로필)-N'-에틸 카보다이이미드 하이드로클로라이드(0.35 g, 1.8 밀리몰)를 상기 용액에 첨가하였다. 반응은 0.5시간 동안 실온에서 실시한 후, Leu-Leu-에폭시 케톤(8b, 1 밀리몰)을 첨가하였다. 반응은 3시간 동안 실온에서 실시하였다. 10 mL 포화된 NaHCO_3 을 생성된 혼합물에 첨가하였다. 유기 층을 분리하고, 포화된 염수로 세척하고(10 mL*1), 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 증발시켜서 용매를 제거하였다. 잔여물은 칼럼 크로마토그래피에 가하여서 수율 89%의 백색 고체 0.59 g을 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.53 (s, 1H, 피라진-H), 8.36 (d, 1H, J=2.0Hz, 피라진-H), 8.24 (s, 1H, 피라진-H), 7.94 (s, 1H, NH), 7.25 (m, 5H, Ar-H), 6.60 (d, 1H, J=8.5Hz, NH), 6.53 (d, 1H, J=7.0Hz, NH), 4.95 (d, 1H, J=5.0Hz, NH), 4.54 (m, 2H, CH+CH), 4.37 (m, 1H, CH), 3.88 (m, 2H, CH_2), 3.31 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH_2), 3.10 (m, 2H, CH_2), 2.87 (m, 3H, CH_2+OCH_2), 2.50 (m, 1H, CH), 1.89 (m, 2H, CH_2), 1.78 (m, 2H, CH_2), 1.61 (m, 2H, CH_2), 1.46 (m, 6H, CH+ CH_3 + CH_2), 1.30 (m, 1H, CH), 0.91 (m, 12H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 664[M+H] $^+$.

[0236] 제조 실시예 80, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5b)

[0237] 원료로서 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4b) 및 Phe-Leu-에폭시 케톤(8a)을 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.58 g을 87%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.56 (s, 1H, 피라진-H), 8.37 (d, 1H, J=2.5Hz, 피라진-H), 8.25 (s, 1H, 피라진-H), 8.17 (s, 1H, NH), 7.20 (m, 5H, Ar-H), 6.83 (s, 1H, NH), 6.60 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.82 (s, 1H, NH), 4.61 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.55 (m, 1H, CH), 4.23 (m, 1H, CH), 3.95 (m, 2H, CH_2), 3.26 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH_2), 3.06 (m, 2H, CH_2), 2.87 (m, 3H, CH_2+OCH_2), 2.55 (m, 1H, CH), 1.96 (m, 2H, CH_2), 1.75 (m, 2H, CH_2), 1.61 (m, 2H, CH_2), 1.46 (m, 6H, CH+ CH_3 + CH_2), 1.21 (m, 1H, CH), 0.89 (m, 12H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 664[M+H] $^+$.

[0238] 제조 실시예 81, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5c)

[0239] 원료로서 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4c) 및 Phe-Leu-에폭시 케톤(8a)을 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.53 g을 82%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 9.00 (s, 1H, 피라진-H), 8.67 (d, 1H, J=2.5Hz, 피라진-H), 8.55 (s, 1H, 피라진-H), 7.22 (m, 5H, Ar-H), 6.78 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 6.50 (d, 1H, J=7.5Hz, NH), 4.92 (s, 1H, NH), 4.63 (q, 1H, J=6.5Hz, CH), 4.54 (m, 1H, CH), 4.28 (m, 1H, CH), 3.81 (m, 2H, CH_2), 3.67 (m, 2H, CH_2), 3.43 (m, 4H, CH_2), 3.23 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH_2), 3.05 (m, 2H, CH_2), 2.87 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH_2), 1.60

(m, 2H, CH₂), 1.48 (m, 7H, CH₃+CH₂), 0.89 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 650[M+H]⁺.

[0240] 제조 실시예 82, 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5d)

[0241] 원료로서 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4d)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.47 g을 69%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.49 (m, 3H, Ar-H+NH), 7.20 (m, 5H, Ar-H), 7.01 (t, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 6.87 (brs, 1H, NH), 6.62 (d, 1H, J=6.0Hz, NH), 4.88 (brs, 1H, NH), 4.61 (q, 1H, J=6.5Hz, CH), 4.52 (m, 1H, CH), 4.23 (m, 1H, CH), 3.94 (t, 2H, J=14.5Hz, CH₂), 3.21 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH₂), 3.05 (m, 2H, CH₂), 2.83 (m, 3H, CH₂+OCH₂), 2.44 (m, 1H, CH), 1.92 (d, 2H, J=11.5Hz, CH₂), 1.76 (m, 2H, CH₂), 1.47 (m, 7H, CH₃+CH₂), 1.25 (m, 2H, CH+CH), 0.89 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 680[M+H]⁺.

[0242] 제조 실시예 83, 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5e)

[0243] 원료로서 4-(4-벤조일 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4e)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.49 g을 64%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.93 (s, 1H, NH), 7.81 (d, 2H, J=9.0Hz, Ar-H), 7.76 (d, 2H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.68 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.59 (t, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.48 (t, 2H, J=8.0Hz, Ar-H), 7.24 (m, 5H, Ar-H), 6.80 (d, 1H, J=7.5Hz, NH), 6.61 (d, 1H, J=7.5Hz, NH), 4.88 (d, 1H, J=6.0Hz, NH), 4.62 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.54 (m, 1H, CH), 4.23 (m, 1H, CH), 3.95 (t, 2H, J=14.5Hz, CH₂), 3.23 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.09 (m, 2H, CH₂), 2.84 (m, 3H, CH₂+OCH₂), 2.49 (m, 1H, CH), 1.92 (d, 2H, J=13.0Hz, CH₂), 1.78 (m, 2H, CH₂), 1.62 (m, 2H, CH₂), 1.47 (m, 5H, CH₃+CH₂), 1.25 (m, 2H, CH+CH), 0.89 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 766[M+H]⁺.

[0244] 제조 실시예 84, 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5f)

[0245] 원료로서 4-(바이페닐-4-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4f)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.49 g을 67%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.58 (m, 6H, Ar-H), 7.43 (m, 3H, Ar-H+NH), 7.34 (t, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.22 (m, 5H, Ar-H), 6.77 (d, 1H, J=6.5Hz, NH), 6.58 (d, 1H, J=8.5Hz, NH), 4.77 (d, 1H, J=6.0Hz, NH), 4.62 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.56 (m, 1H, CH), 4.23 (m, 1H, CH), 3.95 (m, 2H, CH₂), 3.24 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.08 (m, 2H, CH₂), 2.85 (m, 3H, CH₂+OCH₂), 2.46 (m, 1H, CH), 1.95 (d, 2H, J=11.5Hz, CH₂), 1.70 (m, 4H, CH₂+CH₂), 1.48 (m, 5H, CH₃+CH₂), 1.23 (m, 2H, CH+CH), 0.90 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 738[M+H]⁺.

[0246] 제조 실시예 85, 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5g)

[0247] 원료로서 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4g)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.58 g을 84%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.63 (s, 1H, NH), 7.48 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.25 (m, 5H, Ar-H), 7.16 (d, 2H, J=6.5Hz, Ar-H), 6.83 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 6.62 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.88 (d, 1H, J=6.0Hz, NH), 4.61 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.53 (m, 1H, CH), 4.21 (m, 1H, CH), 3.93 (t, 2H, J=13.5Hz, CH₂), 3.21 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.04 (m, 2H, CH₂), 2.82 (m, 3H, CH₂+OCH₂), 2.42 (m, 1H, CH), 1.90 (d, 2H, J=12.5Hz, CH₂), 1.76 (m, 2H, CH₂), 1.60 (m, 2H, CH+CH), 1.46 (m, 7H, CH₃+CH₂), 0.88 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 696[M+H]⁺.

[0248] 제조 실시예 86, 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5h)

[0249] 원료로서 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4h)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한

절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.46 g을 67%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 7.42 (m, 3H, Ar-H+NH), 7.24 (m, 5H, Ar-H), 6.85 (m, 3H, Ar-H+NH), 6.65 (d, 1H, J=6.5Hz, NH), 4.86 (brs, 1H, NH), 4.56 (m, 2H, CH+CH), 4.22 (m, 1H, CH), 3.94 (m, 2H, CH_2), 3.78 (s, 3H, CH_3), 3.22 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH_2), 3.10(m, 2H, CH_2), 2.83 (m, 3H, CH_2+OCH_2), 2.42 (m, 1H, CH), 1.85 (m, 4H, CH_2+CH_2), 1.61 (m, 2H, CH_2), 1.47 (m, 5H, CH_3+CH_2), 1.25 (m, 2H, CH+CH), 0.87 (m, 12H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 692[M+H] $^+$.

[0250] 제조 실시예 87, 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5i)

[0251] 원료로서 4-(아이속사졸-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4i)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.42 g을 64%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): δ = 9.38 (s, 1H, NH), 8.30 (d, 1H, J=1.0Hz, 아이속사졸-H), 7.22 (m, 5H, Ar-H), 7.12 (d, 1H, J=1.0Hz, 아이속사졸-H), 6.91 (brs, 1H, NH), 6.61 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.90 (brs, 1H, NH), 4.59 (m, 2H, CH+CH), 4.27 (m, 1H, CH), 3.95 (m, 2H, CH_2), 3.27 (d, 1H, J=4.5Hz, OCH_2), 3.07 (m, 2H, CH_2), 2.87 (m, 3H, CH_2+OCH_2), 2.56 (m, 1H, CH), 1.94 (m, 2H, CH_2), 1.69 (m, 4H, CH_2+CH_2), 1.48 (m, 5H, CH_3+CH_2), 1.25 (m, 2H, CH+CH), 0.89 (m, 12H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 653[M+H] $^+$.

[0252] 제조 실시예 88, 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5j)

[0253] 원료로서 4-(싸이아졸-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4j)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.49 g을 74%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 11.47 (brs, 1H, NH), 7.54 (m, 2H, 싸이아졸-H+NH), 7.18 (m, 6H, Ar-H+NH), 7.03 (d, 1H, J=3.5Hz, 싸이아졸-H), 5.08 (brs, 1H, NH), 4.72 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.61(m, 1H, CH), 4.42 (m, 1H, CH), 3.94 (dd, 2H, J=26.0, 13.5Hz, CH_2), 3.28 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH_2), 2.99 (m, 2H, CH_2), 2.87 (m, 3H, CH_2+OCH_2), 2.71 (m, 1H,CH), 1.93 (d, 2H, J=10.0Hz, CH_2), 1.80 (m, 2H, CH_2), 1.52 (m, 7H, CH_3+CH_2), 1.24 (m, 2H, CH+CH), 0.87 (m, 12H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 669[M+H] $^+$.

[0254] 제조 실시예 89, 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5k)

[0255] 원료로서 4-(피리딘-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4k)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.45 g을 70%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.65 (s, 1H, NH), 8.24 (m, 2H, 피리딘-H), 7.75 (m, 1H, 피리딘-H), 7.23 (m, 5H, Ar-H), 7.08 (dd, 1H, J=7.0, 1.5Hz, 피리딘-H), 6.93 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 6.73 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.84 (d, 1H, J=6.0Hz, NH), 4.62 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.56 (m, 1H, CH), 4.24 (m, 1H, CH), 3.93 (dd, 2H, J=35.0, 13.0Hz, CH_2), 3.27 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH_2), 3.06 (m, 2H, CH_2), 2.85 (m, 3H, CH_2+OCH_2), 2.52 (m, 1H, CH), 1.92 (d, 2H, J=11.0Hz, CH_2), 1.76 (m, 2H, CH_2), 1.60 (m, 2H, CH_2), 1.50 (m, 5H, CH_3+CH_2), 1.22 (m, 2H, CH+CH), 0.88 (m, 12H, CH_3) ppm; ESI-MS: m/z = 663[M+H] $^+$.

[0256] 제조 실시예 90, 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5l)

[0257] 원료로서 4-(피리딘-3-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4l)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.48 g을 72%의 수율로 수득하였다. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3): δ = 8.77 (m, 2H, 피리딘-H+NH), 8.49 (d, 1H, J=8.0Hz, 피리딘-H), 8.32 (d, 1H, J=4.5Hz, 피리딘-H), 7.39 (dd, 1H, J=8.5, 5.0Hz, 피리딘-H), 7.22 (m, 5H, Ar-H), 6.97 (d, 1H, J=7.5Hz, NH), 6.77 (d, 1H, J=7.5Hz, NH), 5.02 (d, 1H, J=6.0Hz, NH), 4.63 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.53 (m, 1H, CH), 4.20 (m, 1H, CH), 3.96 (m, 2H, CH_2), 3.24 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH_2), 3.09 (m, 2H, CH_2), 2.85 (m, 3H, CH_2+OCH_2), 2.58 (m, 1H, CH), 1.94 (t, 2H, J=9.5Hz, CH_2), 1.79 (m, 2H, CH_2), 1.58 (m, 2H, CH_2), 1.51 (m, 7H, CH_3+CH_2), 0.89

(m, 12H, CH₃) ppm; ¹³C NMR (125MHz, CDCl₃): δ = 208.08, 173.35, 173.29, 170.88, 157.16, 144.94, 141.19, 136.50, 135.26, 129.29, 128.56, 127.46, 126.98, 123.80, 58.99, 54.14, 53.56, 52.32, 50.13, 43.79, 43.57, 43.51, 41.00, 39.88, 37.53, 29.07, 28.26, 24.98, 24.93, 23.32, 22.92, 22.01, 21.31, 16.70; ESI-MS: m/z = 663[M+H]⁺.

[0258] 제조 실시예 91, 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5m)

[0259] 원료로서 4-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4m)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.45 g을 65%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.33 (d, 2H, J=8.0Hz, Ar-H), 7.21 (m, 7H, Ar-H), 6.87 (brs, 1H, NH), 6.60 (m, 2H, NH), 5.03 (brs, 1H, NH), 4.61 (d, 1H, J=5.0Hz, CH), 4.54 (m, 1H, CH), 4.25 (m, 1H, CH), 3.48 (m, 8H, CH₂), 3.22 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.05 (m, 2H, CH₂), 2.85 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 1.50 (m, 8H, CH+CH₂+CH₃), 1.21 (m, 1H, CH), 0.89 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 697[M+H]⁺.

[0260] 제조 실시예 92, 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5n)

[0261] 원료로서 4-(4-메톡시 페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4n)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.43 g을 62%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.22 (m, 7H, Ar-H), 6.84 (m, 3H, Ar-H+NH), 6.56 (d, 1H, J=5.5Hz, NH), 6.39 (brs, 1H, NH), 4.97 (brs, 1H, NH), 4.57 (m, 2H, CH+CH), 4.25 (m, 1H, CH), 3.78 (s, 3H, CH₃), 3.46 (m, 8H, CH₂), 3.24 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.05 (m, 2H, CH₂), 2.85 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 1.55 (m, 8H, CH+CH₂+CH₃), 1.24 (m, 1H, CH), 0.89 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 693[M+H]⁺.

[0262] 제조 실시예 93, 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5o)

[0263] 원료로서 4-(4-클로로 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu(4o)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.38 g을 55%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.70 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.41 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.21 (m, 5H, Ar-H), 6.80 (brs, 1H, NH), 6.50 (d, 1H, J=7.0Hz, NH), 6.15 (d, 1H, J=5.0Hz, NH), 4.81 (brs, 1H, NH), 4.61 (m, 1H, CH), 4.52 (m, 1H, CH), 4.17 (m, 2H, CH+CH), 3.90 (m, 2H, CH₂), 3.19 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.05 (m, 2H, CH₂), 2.93 (m, 2H, CH₂), 2.82 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 2.03 (m, 2H, CH₂), 1.69 (m, 2H, CH₂), 1.49 (m, 8H, CH+CH₂+CH₃), 1.23 (m, 1H, CH), 0.90 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 696[M+H]⁺.

[0264] 제조 실시예 94, 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5p)

[0265] 원료로서 4-(4-메톡시 벤즈아미도)피페리딘-1-오일-Leu(4p)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.45 g을 65%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.72 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 7.24 (m, 5H, Ar-H), 6.92 (d, 2H, J=8.5Hz, Ar-H), 6.82 (brs, 1H, NH), 6.53 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 6.01 (d, 1H, J=7.0Hz, NH), 4.80 (brs, 1H, NH), 4.62 (q, 1H, J=7.0Hz, CH), 4.53 (m, 1H, CH), 4.19 (m, 2H, CH+CH), 3.87 (m, 5H, CH₃+CH₂), 3.23 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.08 (m, 2H, CH₂), 2.92 (m, 2H, CH₂), 2.83 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 2.04 (m, 2H, CH₂), 1.65 (m, 2H, CH₂), 1.50 (m, 8H, CH+CH₂+CH₃), 1.25 (m, 1H, CH), 0.90 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 692[M+H]⁺.

[0266] 제조 실시예 95, 4-(모폴린-4-오일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5q)

[0267] 원료로서 4-(모폴린-4-오일)피페리딘-1-오일-Leu(4q)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.38 g을 58%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 7.22 (m, 5H, Ar-H), 6.83 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 6.58 (d, 1H, J=8.0Hz, NH), 4.78 (d, 1H, J=6.5Hz,

NH), 4.57 (m, 2H, CH+CH), 4.20 (m, 1H, CH), 3.91 (m, 2H, CH₂), 3.68 (m, 4H, CH₂), 3.62 (m, 2H, CH₂), 3.51 (m, 2H, CH₂), 3.28 (d, 1H, J=5.0Hz, OCH₂), 3.06 (m, 2H, CH₂), 2.83 (m, 3H, OCH₂+CH₂), 2.62 (m, 1H, CH), 1.72 (m, 4H, CH₂), 1.51 (m, 7H, CH₃+CH₂), 1.22 (m, 2H, CH+CH), 0.89 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 656[M+H]⁺.

[0268] 제조 실시예 96, 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5r)

[0269] 원료로서 3-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4r)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.34 g을 52%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 9.52 및 9.50 (s, 1H, 50/50, 피라진-H), 9.27 (m, 1H, NH), 8.33 (m, 1H, 피라진-H), 8.25 및 8.23 (s, 1H, 50/50, 피라진-H), 7.18 (m, 5H, Ar-H), 6.78 및 6.55 (brs, 1H, 50/50, NH), 5.29 (m, 1H, NH), 4.60 (m, 2H, CH+NH), 4.33 (m, 1H, CH), 4.07 (m, 1H, CH), 3.81 및 3.59 (m, 1H, CH₂), 3.15 (m, 5H, OCH₂+CH₂), 2.85 (d, 1H, J=6.0Hz, OCH₂), 2.66 (m, 1H, CH), 2.01 (m, 5H, CH₂), 1.48 (m, 8H, CH+CH₂+CH₃), 1.21 (m, 1H, CH), 0.87 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 664[M+H]⁺.

[0270] 제조 실시예 97, 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-에폭시 케톤(5s)

[0271] 원료로서 3-(4-클로로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu(4s)를 사용함으로써, 제조 실시예 81에서와 동일한 절차에 따라 합성 및 사후-처리를 실시하였다. 백색 고체 0.31 g을 45%의 수율로 수득하였다. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ = 9.03 및 8.98 (s, 1H, 50/50, NH), 7.56 (m, 2H, Ar-H), 7.21 (m, 7H, Ar-H), 6.59 및 5.36 (brs, 1H, 50/50, NH), 6.47 및 5.07 (d, 1H, 50/50, J=8.0Hz, NH), 4.55 (m, 2H, CH+NH), 4.32 (m, 1H, CH), 3.72 (m, 2H, CH+CH₂), 3.12 (m, 5H, OCH₂+CH₂), 2.83 및 2.77 (d, 1H, 50/50, J=5.0Hz, OCH₂), 2.51 (m, 1H, CH), 2.02 (m, 5H, CH₂), 1.52 (m, 8H, CH+CH₂+CH₃), 1.22 (m, 1H, CH), 0.87 (m, 12H, CH₃) ppm; ESI-MS: m/z = 696[M+H]⁺.

[0272] 제조 실시예 98, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-사이클로싸이온(5t)

[0273] 수율은 56%이었다. ESI-MS: m/z = 680.8811[M+H]⁺

[0274] 제조 실시예 99, 4-(4-플루오로페닐 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-사이클로싸이온(5u)

[0275] 수율은 71%이었다. ESI-MS: m/z = 696.8941[M+H]⁺

[0276] 제조 실시예 100, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-아지리디논(5v)

[0277] 수율은 61%이었다. ESI-MS: m/z = 663.8312[M+H]⁺

[0278] 제조 실시예 101, 4-(피라진-2-일 카바모일)피페리딘-1-오일-Leu-Phe-Leu-(N-에틸 아지리디논)(5w).

[0279] 수율은 67%이었다. ESI-MS: m/z = 691.8832[M+H]⁺

[0280] 시험 실시예 1, 헤테로사이클로 구조화된 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의 프로테아좀 억제 활성의 시험

[0281] 실험 방법: 효소의 활성에 대한 다양한 화합물들의 억제를 관찰하기 위해 형광성 기질 Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC를 사용함으로써, 화합물들이 억제 효과를 예비적으로 평가하였다. 인간 프로테아좀 키모트립신-유사 프로테아제는 기질의 서열 Tyr-AMC를 가수분해하여 AMC를 방출할 수 있다. 가수분해성 생성물로서의 AMC의 형광성 흡수는 355 nm의 여기 광 및 460 nm의 방출 광의 조건 하에서 검출되어서, 효소의 활성에 대한 화합물들의 억제가 관찰될 수 있다. 결과들은 표 1에 제시된다.

[0282] 표 1 - 프로테아좀 CT-L에 대한 화합물들의 억제 활성 및 다발골수종 세포들에 대한 이들의 증식 억제 활성

화합물	프로테아좀 CT-L 억제,	세포독성 IC ₅₀ (nM)	
	IC ₅₀ (nM)	RPMI8226 세포	NCI-H929 세포
5a	40.1	16.6	40.4%@100nM
5b	6.5	8.0	60.0
5c	90.8	28.9	100.5
5d	3.4	6.7	38.2
5e	2.4	4.3	46.5
5f	9.4	9.0	75.8
5g	4.6	4.7	35.6
5h	4.8	4.7	33.7
5i	6.4	9.5	49.2
5j	1.5	3.2	33.4
5k	1.5	2.5	15.3
5l	3.6	7.7	41.7
5m	25.6	3.0	6.4
5n	31.7	4.3	3.8
5o	14.5	2.4	4.1
5p	24.1	1.2	5.0
5q	484.1	NT	NT
5r	355.2	19.2	73.6
5s	782.7	83.9	154.1
5t	>1000	>1000	>1000
5u	>1000	>1000	>1000
5v	>1000	>1000	>1000
5w	>1000	>1000	>1000
보르테조미브	10.8	1.8	9.5
카르필조미브	8.6	3.0	28.8

[0283]

[0284] 주: NT - 시험 없음

[0285] 시험 실시예 2, 다발골수종 세포들에 대한 헤테로사이클로 구조화된 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의 증식 억제 활성의 시험

[0286] 실험 방법: 세포 생존력(viability)를 다음과 같이 실시된 MTT 방법에 의해 결정하였다. 대수증식기(logarithmic growth phase)에서의 성장된 세포들을 0.01% 트립신으로 소화시키고, 계수하고, 100 ml에 대한 2.0×10^3 /웰의 세포 밀도에서 96-웰 플레이트에서 도말하고, 밤새도록 37℃의 온도에서 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 각각의 화합물들에서, 6개의 농도들의 기울기를 각 농도에 대해 3중으로 설정하였다. 각 농도의 화합물들을 상응하는 세포에 각각 첨가하고, 72시간 동안 37℃의 온도에서 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 5 mg/ml MTT 20 ml를 각 세포에 첨가하였다. 3시간 동안 37℃의 온도에서의 항온처리 후, 상청액을 흡입에 의해 제거하였다. DMSO 100 ml를 해리를 위해 첨가하였다. 690 nm의 기준 파장(L2)으로 SpectraMAX 340을 사용함으로써 550 nm에서의 흡수(L1)를 결정하였다. (L1-L2)의 값들을 여러 농도들에 대해 플로팅하고, 식으로 정합하여서 IC₅₀을 얻었다. 결과들은 표 1에 제시된다.

[0287] 시험 실시예 3, 다양한 종양 세포들에 대한 헤테로사이클로 구조화된 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의

증식 억제 활성의 시험

실험 방법은 시험 실시예 2를 참조할 수 있으며, 단 RPMI8226 및 NCI-H929의 세포주들을 상응하는 종양 세포들로 교체하였다. 결과들은 표 2에 제시된다.

표 2 - 여러 종양 세포들에 대한 일부 화합물들의 증식 억제 활성

세포주	화합물			
	5j	5k	5l	카르필조립
IC ₅₀ (nM)				
LP1	12.67±3.66	15.20±2.82	80.64±17.79	22.74±2.51
MGC-803	4.91±0.21	3.72±0.13	19.20±1.72	8.95±0.12
IC ₅₀ (μM)				
HCT116	9.77±0.81	5.72±0.72	75.45±9.08	8.93±1.44
PC-3	11.72±1.35	7.74±0.77	62.24±5.28	24.18±2.72
MCF-7	0.24±0.03	0.42±0.04	1.12±0.09	1.02±0.07
세포 활성(%)				
BORT (1μM)	52.75±2.54	54.48±2.13	63.51±2.88	61.08±2.49
HELA (10μM)	54.33±2.06	55.84±3.53	60.67±4.24	61.21±3.44
K562 (10μM)	53.62±1.62	55.58±1.53	52.45±1.58	58.56±1.04
MM-1R (100nM)	82.19±2.36	88.19±7.24	90.24±4.65	92.15±6.34
MM-1S (100nM)	67.34±2.48	72.22±3.19	71.73±3.53	76.22±1.36

시험 실시예 4, 프로테아좀의 3개의 가수분해성 활성 부위들에 대한 헥테로사이클로 구조화된 일부 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의 선택적 검정

실험 방법은 시험 실시예 1을 참조할 수 있으며, 단 PGPH 및 T-L의 억제 활성들에 대한 시험 기질들을 각각 Z-Leu-Leu-Glu-AMC 및 Bz-Val-Gly-Arg-AMC로 교체하는 것은 제외하였다. 결과들은 표 3에 제시된다.

표 3 - 프로테아좀의 3개의 활성 부위들에 대한 일부 화합물들의 억제 활성 및 선택성

화합물	IC ₅₀ (nM)		
	CT-L	PGHP (Fold/CT-L)	T-L (Fold/CT-L)
5j	1.5±0.2	421.8±13.6 (281.2)	2428.3±130.2 (1618.8)
5k	1.5±0.2	484.7±26.1 (321.0)	3181.5±47.2 (2107.0)
5l	3.6±0.5	461.8±27.2 (127.6)	2869.2±381.1 (792.6)
보르테조립	10.8±0.9	113.5±6.8 (10.5)	8832.7±189.9 (817.8)
카르필조립	8.6±1.4	610.2±37.7 (76.3)	586.9±31.4 (68.3)

시험 실시예 5, 혈구세포 프로테아좀 CT-L에 대한 헥테로사이클로 구조화된 일부 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의 억제 활성

실험 방법: ICR 마우스로부터 취한 혈액에 항응고제(anticoagulant)를 첨가하였다. 후속적으로, 1.25 μg/mL의 최종 농도의 화합물을 첨가하였다(혈액에 대한 화합물의 부피 비율은 1:50이었다). 40분 동안 항온처리한 후, 샘플을 원심분리하고(1000 rpm, 5분), 상청액을 제거하였다. 용해(lysis)를 위해 2배 부피의 EDTA(5 mM, pH=8.0)를 첨가하였다. 혈액 샘플을 60분 동안 4℃ 회전기에서 회전시킨 후, 원심분리시켜서(6600 rpm, 10분) 바닥에서 침전물을 제거하였다. 용해된 혈액 샘플의 단백질 농도를 결정하였다. 동일한 단백질 농도로 눈금조정한 후, 프로테아좀 활성을 시험하였다. 시험 방법은 시험 실시예 1에서와 동일하였다. 결과들은 도 1에 제시된다.

시험 실시예 6, 정상적인 마우스 급성(acute) 프로테아좀에 대한 헥테로사이클로 구조화된 일부 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의 억제 활성의 시험

실험 방법: 정상적인 ICR 마우스에 1 mg/kg의 투여량으로 정맥 내 투여하였다. 카르필조립을 포지티브 대조군으로서 사용하고, 생리식염수를 블랭크 대조군으로서 사용하였다. 투여 24시간 후, 마우스의 안와 정맥 열기(orbital venous plexus)로부터 혈액을 취하였다. 동일한 부피의 생리식염수를 원심분리 동안 혈액 샘플에 첨가하였다(1000 rpm, 5분). 상청액을 폐기하였다. 용해를 위해 2배 부피의 EDTA(5 mM, pH=8.0)를 첨가하였다. 혈액 샘플을 60분 동안 4℃ 회전기에서 회전시킨 후, 원심분리시켜서(6600 rpm, 10분) 바닥에서 침전물을 제거

하였다. 용해된 혈액 샘플의 단백질 농도를 결정하였다. 동일한 단백질 농도로 눈금조정한 후, 프로테아좀 활성을 시험하였다. 시험 방법은 시험 실시예 1에서와 동일하였다.

[0299] 안와(orbital)로부터 혈액을 취한 후, 마우스를 해부하고, 심장을 적출하였다(take out). 한편, 심장 내의 혈액을 제거한 후, 심장을 균질화시키고(homogenate) 원심분리시켰다(6600 rpm, 10분). 단백질 농도를 결정하였다. 동일한 단백질 농도로 눈금조정한 후, 심장 프로테아좀 활성을 시험하였다. 시험 방법은 시험 실시예 1에서와 동일하였다. 결과들은 도 2에 제시된다.

[0300] 시험 실시예 7, NOD/SCID 종양-함유 마우스에 대한 헤테로사이클로 구조화된 일부 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의 프로테아좀 억제 활성의 시험

[0301] 실험 방법: NOD/SCID 마우스의 우측 옆구리에서 인간 골수종 RPMI8226 세포주를 1×10^7 세포/마우스의 접종량으로 피하 접종하였다. 이종이식을 형성시킨 후, 실험을 시작하였다.

[0302] RPMI 8226 종양 세포들로 접종된 종양-함유 NOD/SCID 마우스를, 하나의 군마다 4마리 마우스로 무작위적으로 중량 기준으로 4개의 군으로 나누었다. 각 군들에게 5 mg/kg의 투여량으로 정맥 내 투여하였다. 카르필조립을 포지티브 대조군으로서 사용하고, 생리식염수를 블랭크 대조군으로서 사용하였다. 투여 1시간 및 24시간 후, 각각 마우스의 안와 정맥 열기로부터 혈액을 취하였다. 동일한 부피의 생리식염수를 원심분리 동안 혈액 샘플에 첨가하였다(1000 rpm, 5분). 상청액을 폐기하였다. 용해를 위해 2배 부피의 EDTA(5 mM, pH=8.0)를 첨가하였다. 혈액 샘플을 60분 동안 4℃ 회전기에서 회전시킨 후, 원심분리시켜서(6600 rpm, 10분) 바닥에서 침전물을 제거하였다. 용해된 혈액 샘플의 단백질 농도를 결정하였다. 동일한 단백질 농도로 눈금조정한 후, 프로테아좀 활성을 검정하였다.

[0303] 1시간 및 24시간의 2개의 시점에서 혈액 샘플을 취한 후, 마우스를 해부하고, 심장, 간 및 종양 조직을 적출하였다. 분쇄한 후, 조직들을 균질화시키고(homogenate) 원심분리시켰다(6600 rpm, 10분). 단백질 농도를 결정하였다. 동일한 단백질 농도로 눈금조정한 후, 조직 프로테아좀 활성들을 검정하였다. 결과들은 도 3에 제시된다.

[0304] 시험 실시예 8, 인간 골수종 RPMI 8226 NOD/SCID 마우스의 피하 이종이식편에 대한 헤테로사이클로 구조화된 일부 트라이펩타이드 에폭시 케톤 화합물들의 성장 억제 활성의 시험

[0305] 실험 방법: NOD/SCID 마우스의 우측 옆구리에서 인간 골수종 RPMI8226 세포주를 1×10^7 세포/마우스의 접종량으로 피하 접종하였다. 이종이식을 형성시킨 후, 실험을 시작하였다.

[0306] NOD/SCID 마우스의 피하 이종이식의 직경을 버니어 캘리퍼(vernier caliper)로 측정하였다. 종양이 100 내지 300 mm³의 크기까지 성장한 후, 동물들을 무작위적으로 군으로 나누었다. 동일한 부피의 블랭크 용매를 용매 대조군의 군에 투여하였다. 실험 기간 동안, 피하 이종이식편들의 직경들을 1주마다 2회 측정하고, 이와 동시에 마우스를 칭량하였다. 결과들을 표 4 및 도 4에 제시한다.

[0307] 표 4 - 인간 골수종 RPMI8226 NOD/SCID 마우스의 이중이식편의 종양 중량에 대한 화합물들의 효과

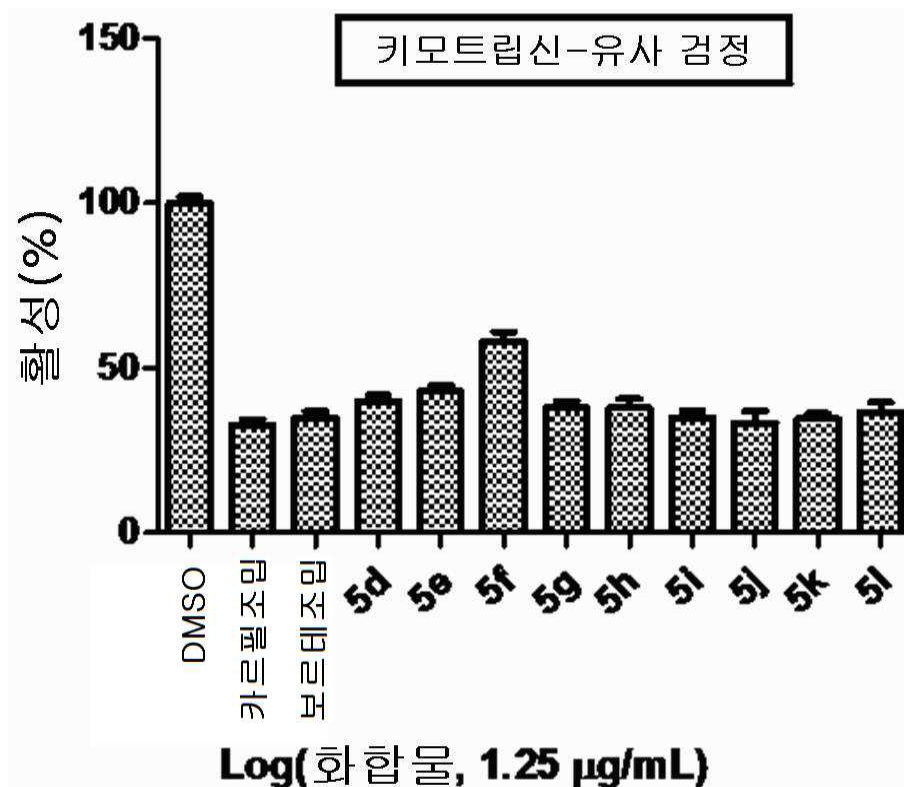
군	종양 중량(g)							종양 억제 (%)
	1	2	3	4	5	6	중간 $\pm$ SD	
0.5% CMC-Na	1.11	1.20	1.43	0.88	1.43	1.79	1.27 $\pm$ 0.25	-
보르테조미 (1mg/kg)	0.87	1.33	1.07	1.39	1.19	1.49	0.83 $\pm$ 0.25*	34.78
용매	1.21	0.38	0.92	0.90	0.74	0.80	0.83 $\pm$ 0.25*	34.78
카르필조미 (4mg/kg)	0.62	1.49	1.91	1.02	1.29	1.17	1.25 $\pm$ 0.41	1.19
5j (4mg/kg)	0.57	-	-	0.38	0.32	0.85	0.53 $\pm$ 0.21*	58.10
5k (4mg/kg)	0.52	0.53	0.52	0.99	0.29	0.61	0.58 $\pm$ 0.21*	54.41
5l (4mg/kg)	0.20	0.66	0.44	0.52	0.72	0.98	0.59 $\pm$ 0.24*	53.62
5m (5mg/kg)	0.53	0.54	0.30	0.40	0.63	0.21	0.44 $\pm$ 0.15*	65.61

[0308]

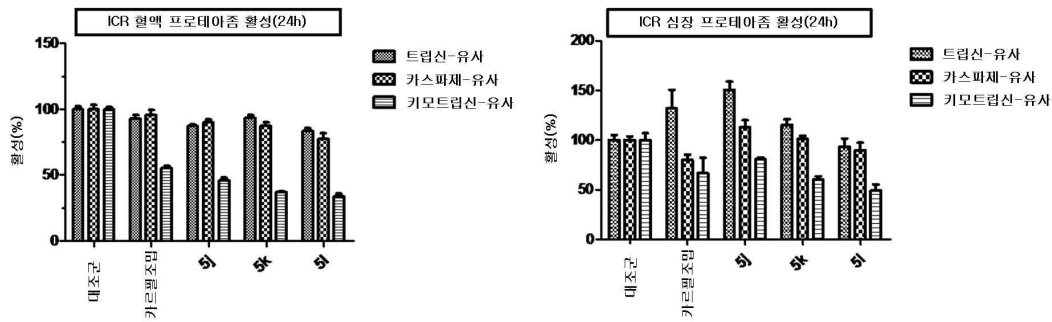
[0309] P 값 대 0.5% CMC-Na 군, *p<0.01

도면

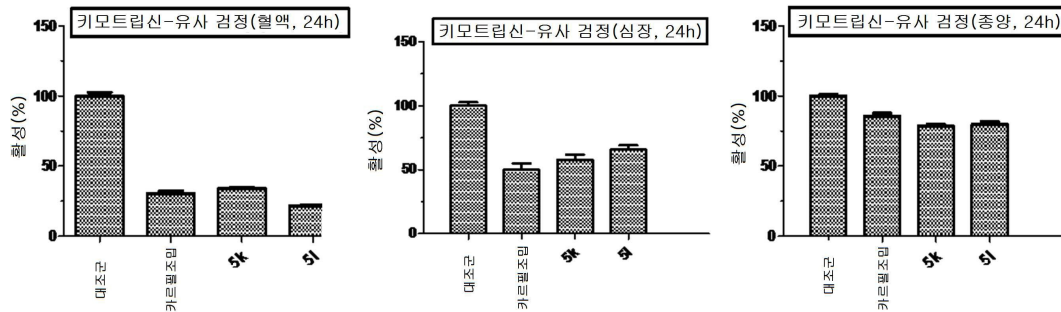
도면1



도면2



도면3



도면4

