

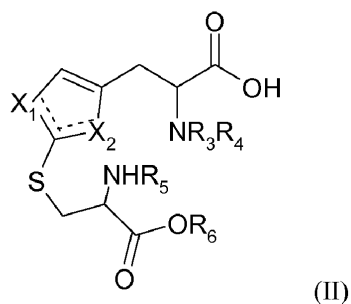
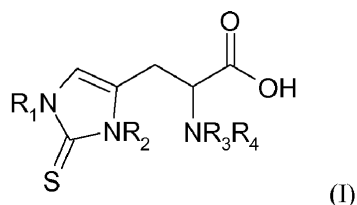
	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0100977 (43) 공개일자 2012년09월12일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>C07D 233/84</i> (2006.01) <i>A61K 31/4164</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2012-7011714 (22) 출원일자(국제) 2010년10월06일 심사청구일자 없음 (85) 번역문제출일자 2012년05월04일 (86) 국제출원번호 PCT/EP2010/064947 (87) 국제공개번호 WO 2011/042478 국제공개일자 2011년04월14일 (30) 우선권주장 0956968 2009년10월06일 프랑스(FR)		(71) 출원인 테트라에드롱 프랑스 에프-94300 뱅센느 알레 샤를 브이 4 비스 (72) 발명자 에르텔메이에르 이레느 프랑스 에프-75013 파리 튀 보빌로 81 도네이 실뱅 프랑스 에프-94130 노정 쉬르 마른 튀 뒤 포르 43 (74) 대리인 박장원

전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 2-티오히스티딘 및 이것의 유사체의 합성법

(57) 요약

본 발명은 티올 존재하에 60℃ 이상의 온도에서의 개열(開裂) 반응에 의하여 식 (II)의 화합물, 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물로부터 식 (I)의 2-티오히스티딘 또는 그 유도체 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물의 합성법에 관한 것이다.



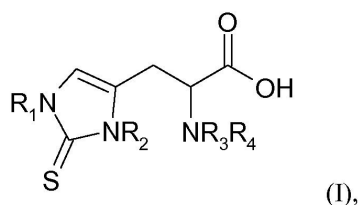
또한, 본 발명은 식 (II)의 화합물 및 그의 합성법에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1

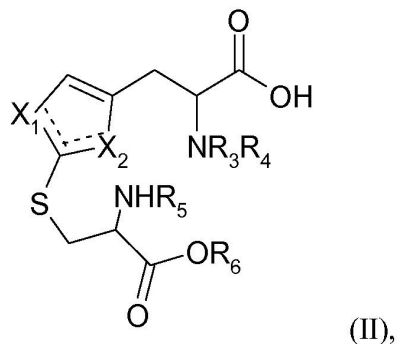
(i) 60℃ 이상의 온도에서, 종기로는 특히 물 등의 반응 용매에 용해성인 티올의 존재하에, 다음의 식 (II)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 개열(開裂) 반응에 의하여 다음의 식 (I)의 화합물을 얻는 단계와,

(ii) 상기 단계 (i)에서 얻은 다음 식 (I)의 화합물을 반응 매질로부터 분리하는 단계의 연속 단계를 포함하는, 다음 식 (I)의 2-티오히스티딘 유도체 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 합성 방법.



상기 식 중,

- R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 메틸 등의 (C₁-C₄)알킬기를 나타내는데, 상기 R₁ 및 R₂ 기들 중 적어도 하나는 수소 원자, 종기로는 각각 수소 원자를 나타내고,
- R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 메틸 등의 (C₁-C₄)알킬기를 나타낸다.



상기 식 중,

- X₁ 및 X₂는 R₁N-CH=CH-N 또는 N=CH-CH-NR₂ 이고,
- R₁, R₂, R₃ 및 R₄는 앞에서 정의한 바와 같으며,
- R₅는 수소 원자 또는 (C₁-C₄)알킬 또는 -CO-((C₁-C₄)알킬)기, 특히 수소 원자 또는 -COCH₃기, 특히 수소 원자를 나타내고,
- R₆는 수소 원자 또는 (C₁-C₄)알킬기, 특히 수소 원자를 나타낸다.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 티올은 식 R-SH인 티올이고, 여기서 R은 직쇄 또는 분지쇄, 종기로는 직쇄인, 탄소 원자 수가 1개 내지 8개, 특히 2개 내지 6개이며, OH, SH, NH₂ 및 COOH로부터 선택되는 1종 이상의 작용기로 치환된 알킬 사슬인 것인 방법.

청구항 3

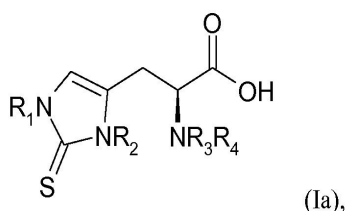
제2항에 있어서, 상기 티올은 시스테인, 디티오프레이톨, 2-메르캅토에탄올, 2-메르캅토프로피온산, 3-메르캅토프로피온산, 메르캅토아세트산, 메르캅토흐산산 및 티오글리콜산으로부터 선택되는 것이고, 종기로는 3-메르캅토프로피온산인 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 단계 (i)은 60℃ 내지 120℃, 특히 80℃ 내지 100℃의 온도에서 수행되는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 식 (I)의 화합물은 특히 다음의 식 (Ia)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물인 것인 방법.



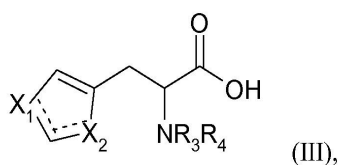
여기서 R_1 , R_2 , R_3 및 R_4 는 제1항에서 정의한 바와 같은 것인 방법.

청구항 6

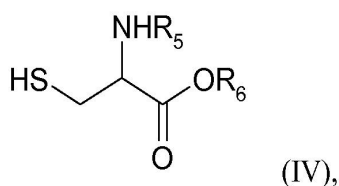
제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 식 (I)의 화합물은 2-티오히스티딘, α -메틸-2-티오히스티딘, α , α -디메틸-2-티오히스티딘 및 특히 L-2-티오히스티딘인 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 식 (II)의 화합물은 다음의 식 (III)의 화합물 또는 이것의 호변 이성질체 또는 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 산부가염 (요오드산 (III)의 염은 제외)을 브롬과 반응시키고, 이어서 다음의 식 (IV)의 시스테인 유도체 또는 이것의 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물과 연속적으로 반응시켜 그로부터 제조되는 것인 방법.



여기서, X_1 및 X_2 , R_3 및 R_4 는 제1항에서 정의한 바와 같다.

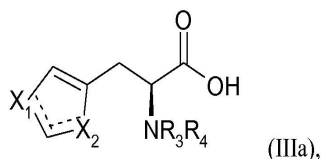


여기서, R_5 및 R_6 는 제1항에서 정의한 바와 같다.

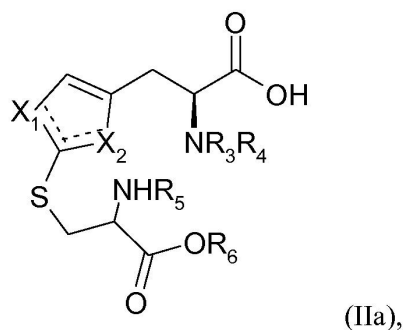
청구항 8

제7항에 있어서, 상기 식 (I)의 화합물은 제5항에서 정의한 바와 같은 식 (Ia)의 화합물이고, 상기 방법은 다음의 연속적인 단계들, 즉

(a2) 다음의 식 (IIIa)



의 화합물 (여기서, X_1 및 X_2 , R_3 및 R_4 는 제1항에서 정의한 바와 같다) 또는 이것의 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 산부가 염 (요오드산 (HI)의 염은 제외)을 브롬과 반응시키고, 이어서 제7항에서 정의한 바와 같은 식 (IV)의 시스테인 유도체 또는 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물 및 특히 시스테인, 특히 L-시스테인과 연속적으로 반응시켜 다음의 식 (II)



의 화합물 (여기서, X_1 및 X_2 , R_3 , R_4 , R_5 및 R_6 는 제1항에서 정의한 바와 같다) 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물을 얻는 단계와,

(b2) 상기 단계 (a2)에서 얻은 식 (IIa)의 화합물을 60℃ 이상의 온도에서, 티올의 존재하에서 개열 반응시켜 식 (Ia)의 화합물을 얻는 단계와,

(c2) 반응 매질로부터 상기 단계 (b2)에서 얻은 식 (Ia)의 화합물을 분리하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 식 (IV)의 시스테인 유도체는 식 (III)의 화합물에 대하여 2 내지 7 몰당량, 종기로는 3 내지 5 몰당량의 비율로 과량 사용되는 것인 방법.

청구항 10

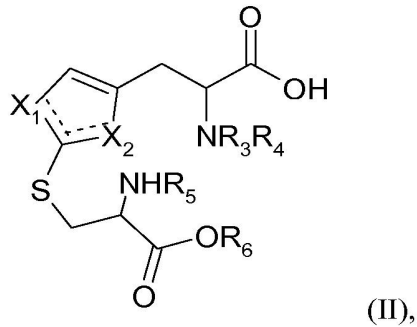
제7항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 브롬은 식 (III)의 화합물에 대하여 1 내지 1.5 몰당량의 비율로 사용되는 것인 방법.

청구항 11

제7항 내지 제10항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 화합물 (III)으로부터 화합물 (I)의 제조는 중간 화합물 (II)를 분리하지 않은 채로 하나의 반응기에서 수행되는 것인 방법.

청구항 12

다음 식 (II)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물.



상기 식 중,

- $X_1 \sim X_2$ 는 $R_1N=CHN$ 또는 $N=CHNR_2$ 이고,

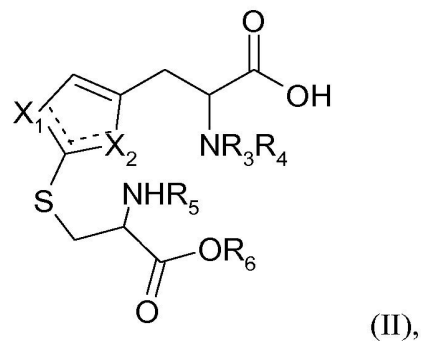
- R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 및 R_6 는 제1항에서 정의한 바와 같다.

단, $X_1 \sim X_2$ 가 $HN=CHN$ 또는 $N=CHNH$ 이면서, R_3 및 R_4 가 각각 수소 원자인 화합물은 제외한다.

청구항 13

제7항에서 정의한 바와 같은 식 (III)의 화합물의 산부가염 (요오드산염은 제외)을 브롬과 반응시키고, 이어서 식 (III)의 화합물에 대하여 2 내지 7 몰당량, 종기로는 3 내지 5 몰당량으로 제7항에서 정의한 바와 같은 식 (IV)의 시스테인 유도체 및 특히 시스테인, 특히 L-시스테인과 반응시켜서 다음의 식 (II)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물을 제조하는 제조 방법.

상기 식 중,



- $X_1 \sim X_2$ 는 $R_1N=CHN$ 또는 $N=CHNR_2$ 이고,

- R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 및 R_6 는 제1항에서 정의한 바와 같다.

청구항 14

제13항에 있어서, 브롬은 식 (III)의 화합물에 대하여 1 내지 1.5 몰당량의 비율로 사용되는 것인 방법.

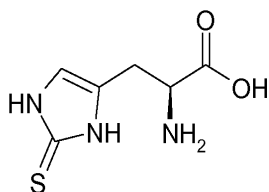
명세서

기술 분야

[0001] 이 특허 출원은 2-티오히스티딘 및 관련 유도체들의 신규 합성법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] L-2-메르캅토히스티딘 또는 α -아미노-2,3-디하이드로-2-티옥소-1H-이미다졸-4-프로피온산이라고도 부르는 L-2-티오히스티딘은 다음의 식 I-1로 나타낸다.



(I-1).

[0003]

[0004] 이 아미노산은 연체 동물 헤모시아린 또는 버섯 티로시나제 등의 구리 단백질의 산가수 분해에 의하여 얻었다. L-2-티오히스티딘은 Zn^{2+} 또는 Cu^{2+} 등의 2가 금속 이온에 대한 훌륭한 킬레이트제이다. 이것은 미백제 또는 방취제로서 미용 관리에 널리 사용되며, 제약용, 화장품용 또는 식이용 향산화제로서도 널리 사용된다. 이 화합물에 대한 흥미로운 견지에서 보면, 2-티오히스티딘 또는 이들의 유도체들에 대한 몇 가지 합성법들이 문헌들에 설명되어 있다.

[0005]

예컨대, 제1의 합성법은 L-히스티딘 메틸 에스테르의 디-*tert*-부톡시카복실 (di-Boc) 유도체로의 변환을 설명하고 있다. 이어서, 디-*tert*-부톡시카복실 유도체를 페닐 클로로티오노포르메이트로 처리하면, 모노- 및 디-Boc-2-티오히스티딘 메틸 에스테르의 혼합물을 생성한다. 탈보호 후에, 총수율 70%로 L-2-티오히스티딘을 얻는다 (*J. Xu, J.C. Yadan, J. Org. Chem. 60, 6296-6301 (1995)*).

[0006]

그러나, 이러한 합성법은 유리 상태로는 존재할 수 없는 히스티딘의 아미노기를 보호화하여야 할 필요가 있다. 더욱이, 페닐 클로로티오노포르메이트는 유독성이며 공업적 규모로 사용하기 위한 대량 생산이 쉽지 않은 시약인 티오포스겐 ($CSCl_2$)으로부터 제조되어야 한다.

[0007]

국제 출원 WO 95/18108 및 WO 95/00494는 Na, Na-디메틸-히스티딘 메틸 에스테르를 페닐 클로로티오포르메이트와 반응시키고, 그 후 필요에 따라 가수 분해하여 Na, Na-디메틸-2-티오히스티딘 또는 그 에스테르를 합성하는 것을 설명하고 있다.

[0008]

특허 출원 US 2009/093642도 역시 히스티딘의 이미다졸 고리를 개환한 후 KSCN 등의 티오시아나이드와의 반응에 의한 2-티오히스티딘의 합성을 설명하고 있다 (문헌 [Heath, H. *et al.*, *J. Chem. Soc.*, 1951, 2215]에 기재된 방법에 따름). 다량의 염산의 사용 외에도, 산매질 중에서 사용된 KSCN은 매우 유독성인 시약이다.

[0009]

쇼스케 이토 (Shosuke Ito) 역시 1985년에 히스티딘으로부터의 2-티오히스티딘의 합성법을 설명하였다 (*J. Org. Chem.* 1985, 50, 3636-3638). 따라서, 히스티딘을 브롬과 반응시켜 아마도 브로모락톤을 거쳐 시스테인과 반응한 후 2-티오히스티딘 티오에테르를 얻는다. 요오드산 (HI) 및 적린 (P)의 존재하에서 환원성 가수분해하면 목적하는 2-티오히스티딘 및 (D,L)-알라닌을 얻는다. 2-티오히스티딘은 Na_2S 와의 반응에 의하여 브로모락톤 중간체로부터 직접 얻을 수도 있다.

[0010]

그러나, 공업 수준에서 이토의 방법은 정제 문제에 봉착하는데, 그 까닭은 티오에테르 중간체 및 최종 생성물을 얻기 위하여 2개의 컬럼 크로마토그래피를 필요로 하기 때문이며, 얻게되는 2-티오히스티딘의 최종적인 총수율은 12%에 불과하다. 그 밖에, 적린을 사용하는 것은 그 적린이 매우 인화성이기 때문에 공업 수준의 이용에는 추천되지 않는다. 더욱이, 요오드산 (HI)과 적린 (P) 간의 이 반응 도중에 수소가 생성되는데, 이는 공업적 규모에서는 역시 매우 위험하다 (*J. Organomet. Chem.* 529, 295-299 (1997)).

[0011]

그러므로, 공업 수준에서 활용 가능하고, 즉 정제에 어려움이 없고, 인간이나 환경에 위험하거나 유독성인 생성물 또는 용매를 사용하지 않으며, 저비용, 고수율로 공업적 규모로 생성물을 생성할 수 있는 2-티오히스티딘 및 그 유도체의 신규한 합성법을 개발하는 것이 진정 필요하다.

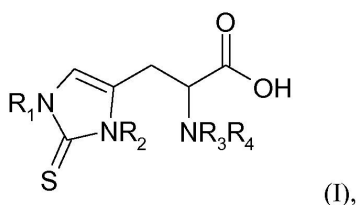
발명의 내용

과제의 해결 수단

[0012] 따라서, 본 발명이 목적으로 하는 바는,

[0013] (i) 60℃ 이상의 온도에서, 종기로는 특히 물 등의 반응 용매에 용해성인 티올의 존재하에, 다음의 식 (II)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 개열(開裂) 반응에 의하여 다음의 식 (I)의 화합물을 얻는 단계와,

[0014] (ii) 상기 단계 (i)에서 얻은 다음 식 (I)의 화합물을 반응 매질로부터 분리하는 단계의 연속 단계를 포함하는, 다음 식 (I)의 2-티오히스티딘 유도체 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 합성법이다.

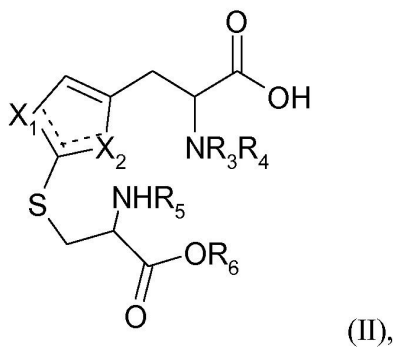


[0015]

[0016] 상기 식 중,

[0017] - R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 메틸 등의 (C₁-C₄)알킬기를 나타내는데, 상기 R₁ 및 R₂ 기들 중 적어도 하나는 수소, 종기로는 각각 수소 원자를 나타내고,

[0018] - R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 메틸 등의 (C₁-C₄)알킬기를 나타낸다.



[0019]

[0020] 상기 식 중,

[0021] - X₁ 및 X₂는 R₁N-CH=CH-N 또는 N=CH-CH-NR₂ 이고,

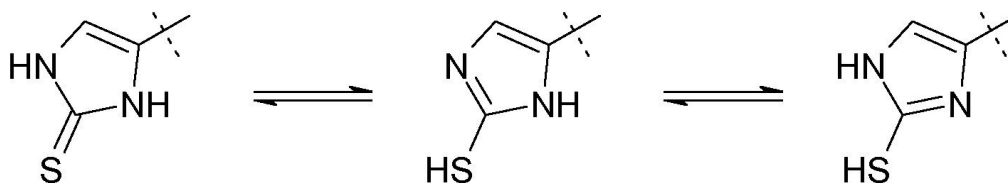
[0022] - R₁, R₂, R₃ 및 R₄는 앞에서 정의한 바와 같으며,

[0023] - R₅는 수소 원자 또는 (C₁-C₄)알킬 또는 -CO-((C₁-C₄)알킬)기, 특히 수소 원자 또는 -COCH₃기, 특히 수소 원자를 나타내고,

[0024] - R₆는 수소 원자 또는 (C₁-C₄)알킬기, 특히 수소 원자를 나타낸다.

[0025] 본 발명에 있어서, "호변 이성질체"는 프로토포트로피 (prototropy), 즉 수소 원자의 이동 및 이중 결합의 재배치에 의하여 얻게 되는 화합물의 구조 이성질체를 말한다. 한 가지 화합물의 여러 가지 호변 이성질체들은 일반적으로 상호 변환성이고, 사용된 용매, 온도 또는 pH에 따라 변화할 수 있는 비율로 용액 내에서 평형을 이루며 존재한다.

[0026] 본 발명의 화합물에 있어서, 2-티오이미다졸 고리는 다음과 같은 다양한 호변 이성질체형으로 존재할 수 있다.



[0027]

[0028] 본 발명에 있어서, "생리학적으로 허용 가능한"이라는 용어는 일반적으로 안전하고, 무독성이며, 생물학적으로 또는 달리 부적절한 것이 아니고, (인간 또는 동물에게) 제약용, 화장품용 또는 식이용 용도로 허용 가능한 것을 말한다.

[0029] 화합물의 "생리학적으로 허용 가능한 염"은 앞에서 정의한 바와 같이 생리학적으로 허용 가능하고, 모(母)화합물의 원하는 활성 (약리학적 활성, 화장품용 활성 또는 식이용 활성)이 있는 염을 말한다. 이러한 염으로서는 다음과 같은 것들을 들 수 있다.

[0030] (1) 수화물 및 용매화물,

[0031] (2) 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 및 이들의 동종류 등의 무기산; 또는 아세트산, 벤젠술폰산, 안식향산, 캄포술폰산, 구연산, 에탄술폰산, 푸마르산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루탐산, 글리콜산, 하이드록시나프토산, 2-하이드록시에탄술폰산, 젖산, 말레산, 말산, 만데르산, 메탄술폰산, 무콘산, 2-나프탈렌술폰산, 프로피온산, 살리실산, 숙신산, 디벤조일-1-타르타르산, 타르타르산, p-톨루엔술폰산, 피발산, 트리플루오로아세트산 및 이들의 동종류 등의 유기산에 의하여 생성된 산부가염, 또는

[0032] (3) 모화합물에 존재하는 산 양성자가 금속 이온, 예컨대 알칼리 금속 이온, 알칼리 토금속 이온 또는 알루미늄 이온에 의하여 교체되거나, 또는 유기 염기 또는 무기 염기와 배위 결합된 염. 허용 가능한 유기 염기들로서는 디에탄올아민, 에탄올아민, N-메틸글루카민, 트리에탄올아민, 트로메타민 및 이들의 동종류의 것이 있다. 허용 가능한 무기 염기들로서는 수산화알루미늄, 수산화칼슘, 수산화칼륨, 탄산나트륨과 수산화나트륨을 들 수 있다.

[0033] 본 발명에 있어서, "입체 이성질체"는 부분 입체 이성질체 및 거울상 이성질체를 말하는데, 따라서 이들은 광학 이성질체이다. 상호 거울상이 아닌 입체 이성질체들을 "부분 입체 이성질체"라고 부르며, 상호 거울상이지만 포겔 수 없는 입체 이성질체들을 "거울상 이성질체"라고 부른다.

[0034] 분자 키랄성 (chirality)이 반대인 두 가지 거울상 이성질체를 동량으로 함유하는 혼합물을 "라세미 혼합물"이라고 부른다.

[0035] 본 발명에 있어서, "(C₁-C₄)알킬"기는 탄소 원자가 1개 내지 4개인 선형 또는 분지형 포화 탄화수소를 말한다. 이들은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, sec-부틸 또는 tert-부틸기일 수 있다. 특히, 메틸기일 수 있다.

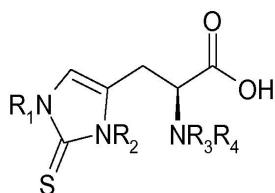
[0036] 본 발명에 있어서, "티올"은 그 분자 구조 내에 SH기를 함유하고 있는 임의의 화합물을 말한다. R은 C₁-C₈, 특히 C₂-C₆을 나타내고, 선형 또는 분지형 포화 탄화수소 사슬이며, 1개 이상의 극성 치환체로 치환된 식 R-SH의 화합물일 것이다.

[0037] 본 발명에 있어서, "포화 탄화수소 사슬"은 종기로는 탄소 원자가 1개 내지 8개인 선형 또는 분지형 포화 탄화수소 사슬을 말한다. 더 상세하게 말하자면, 이것은 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸 또는 헥실기 등의 선형 포화 탄화수소 사슬일 수 있다.

[0038] 본 발명에 있어서, "극성 치환체"는 OH, SH, NH₂ 및 COOH기와 같은 친수성 기능기를 말한다.

[0039] 본 발명에 있어서, "개열 반응"은 이 반응에 속하는 화합물이 반응 도중 2개의 부분으로 나뉘어 상기 식 (I)의 화합물의 티오카보닐 기능기를 형성할 수 있는 것을 의미한다.

[0040] 식 (I)의 화합물은, 특히 다음의 식 (Ia)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물일 수 있다.



(Ia),

[0041]

[0042]

상기 식 중 R₁, R₂, R₃ 및 R₄는 앞에서 정의한 바와 같다.

[0043]

상기 식 (I)의 화합물은 특히 2-티오히스티딘 (특히, D형 또는 L형 또는 D, L 라세미 혼합물형), α-메틸-2-티오히스티딘 및 α, α-디메틸-2-티오히스티딘일 수 있는데, 특히 2-티오히스티딘 및 특히 L-2-티오히스티딘일 수 있다.

[0044]

단계 (i):

[0045]

티올의 존재하에 수행되는 이 개열 반응에 의하면, 식 (I)의 화합물 및 피루브산 (CH₃C(O)-CO₂H) 또는 이들의 유도체, 특히 에스테르 (CH₃C(O)-CO₂R₆)나 티올과의 반응에 의하여 얻은 유도체, 예컨대 티오키탈 유도체 (2개의 티올 분자가 피루브산의 케톤 기능기와 반응)를 얻을 수 있게 된다.

[0046]

반대로, 전술한 이토 반응에서는 2-티오히스티딘과 (D,L)-알라닌을 얻을 수 있지만, 피루브산을 얻을 수 없는 환원성 가수 분해가 수반된다. 이러한 결과는 상기 개열 반응이 HI 및 적린의 존재하에 수행되어, 현장에서 수소를 생성한다는 사실에 의하여 설명될 수 있다 (J. Organomet. Chem. 529, 295-299 (1997)).

[0047]

이 개열 반응 중에 (D,L)-알라닌 (이토 방법 [J. Org. Chem. 1985, 50, 3636-3638]으로 얻음)을 대신하여 피루브산 또는 그 유도체를 얻는 것은 식 (I)의 화합물의 후속되는 정제를 수월하게 하는 이점이 있는데, 피루브산 (또는 그 유도체)는 유기 용매에 녹는 반면, (D,L)-알라닌은 식 (I)의 화합물과 같이 물에 녹기 때문이다. 더욱이, 이 반응 도중의 수소의 형성은 그 폭발성으로 인하여 공업 측면에서 특히 권장되지 않는다.

[0048]

또한, 티올은 특히 물 등의 반응 용매 내에서 좋기로는 용해성이 있는데, 이것은 더 친환경적이라는 추가적인 장점이다.

[0049]

단계 (i)에서 사용되는 티올은 특히 식 R-SH (여기서, R은 직쇄 또는 분지쇄, 좋기로는 직쇄인, 탄소 원자수가 1개 내지 8개, 더 좋기로는 2개 내지 6개, 더 더욱 좋기로는 2개 내지 4개이고, OH, SH, NH₂ 및 COOH로부터 선택되는 1종 이상의 작용기로 치환된 알킬 사슬을 나타낸다)인 티올이어도 좋다.

[0050]

친수성 작용기 (OH, SH, NH₂ 및 COOH)가 존재함으로써, 용매로 물이 사용되는 경우 티올은 물 중에서 특히 용해성으로 되게 된다.

[0051]

티올은 시스테인, 디티오프레이톨, 2-메르캅토에탄올, 2-메르캅토프로피온산, 3-메르캅토프로피온산 및 티오글리콜산으로부터 선택될 수 있는데, 3-메르캅토프로피온산이 좋다.

[0052]

또한, 티올은 메르캅토아세트산 및 메르캅토헥산산이어도 좋다.

[0053]

좋기로는, 화합물 (II)에 대하여 2 몰당량 이상의 티올, 즉 화합물 (II) 1 몰에 대하여 2 몰 이상의 티올이 사용된다. 화합물 (II)에 대하여, 특히 5 몰당량 이상의 티올, 특히 5 내지 10 몰당량의 티올이 사용될 수 있다.

[0054]

반응 혼합물은 60℃ 이상의 고온으로 가열되는데, 이것은 그 이하의 온도에서는 반응 속도가 지나치게 느릴 수 있기 때문이다. 상기 반응은 60℃ 내지 120℃, 특히 80℃ 내지 100℃의 온도에서, 특히 티올을 첨가한 후에 수행될 수 있다.

[0055]

특히, 상기 반응은 산성 매질 중에서 수행될 수 있다.

[0056]

단계 (ii):

[0057]

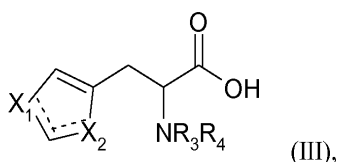
생성된 최종 생성물 (식 (I)의 화합물)은 이 기술 분야의 숙련자에게 잘 알려지고 공업적 수준에서 응용 가능한 기법에 의하여 반응 매질로부터 분리될 수 있는데, 특히 용액의 pH를 예컨대 5.5 내지 6.5, 좋기로는 약 6에 이르도록 맞추으로써 식 (I)의 화합물을 침전시키거나 (특히, 2-티오히스티딘의 경우에 해당), 용매를 증발시키거나 필요에 따라 부분 증발시킨 다음, 좋기로는 재결정화하여 생성물을 정제함으로써 분리된다.

[0058] 수용성의 식 (I)의 화합물을 에틸아세테이트 또는 *tert*-부틸-메틸에테르 등의 유기 용매로 1회 이상 예비 추출하면, 반응 중 생성된 유기 부생성물, 예컨대 피루브산 또는 그 유도체류와 과량의 티올을 제거할 수 있게 된다.

[0059] 필요하다면, 상기 생성물은 이 기술 분야의 숙련자에게 잘 알려진 기법, 예컨대 재결정화에 의하여 정제될 수 있다.

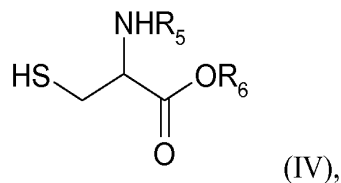
[0060] 이러한 단계 (ii)의 전후에, 필요하다면 진술한 바와 같은 생리학적으로 허용 가능한 산 또는 염기를 첨가함으로써 상기 생성 화합물의 염을 제조할 수 있다.

[0061] 식 (II)의 화합물은 다음의 식 (III)의 화합물 또는 이것의 호변 이성질체 또는 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 산부가염 (요오드산 (HI)의 염은 제외)을 브롬과 반응시키고, 이어서 다음의 식 (IV)의 시스테인 유도체 또는 이것의 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물과 연속적으로 반응시켜 그로부터 제조될 수 있다.



[0062]

[0063] 여기서, X_1 및 X_2 , R_3 및 R_4 는 앞에서 정의한 바와 같다.



[0064]

[0065] 여기서, R_5 및 R_6 는 앞에서 정의한 바와 같다.

[0066] 본 발명에 있어서, 식 (III)의 화합물의 산부가염은 요오드산 (HI) 이외의 산을 부가하여 얻은 식 (III)의 화합물의 염을 말한다. 산은 특히 염산 또는 황산이어도 좋다.

[0067] 이 반응에 있어서, 브롬은 식 (III)의 화합물에 대하여 1 내지 1.5 몰당량의 비율로 사용될 수 있다.

[0068] 좋기로는, 브롬은 10℃ 미만의 온도, 좋기로는 5℃ 미만의 온도에서 냉각 상태로 첨가된다 (좋기로는, 매우 신속하게 첨가). 따라서, 브롬의 첨가는 -10℃ 내지 10℃, 좋기로는 -5℃ 내지 5℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0069] 시스테인 유도체는 특히 N-아세틸시스테인 또는 시스테인 (특히, D, L 또는 라세미형), 특히 시스테인과 특히 L-시스테인이어도 좋다.

[0070] 시스테인 유도체는 좋기로는 과량으로 사용되고, 특히 식 (III)의 화합물에 대하여 2 내지 7 몰당량, 좋기로는 3 내지 5 몰당량의 비, 즉 식 (III)의 화합물 1 몰당 2 내지 7 몰, 좋기로는 3 내지 5 몰의 시스테인 유도체가 사용된다.

[0071] 이 반응은 물 등의 용매 중에서 수행될 수 있다.

[0072] 이 단계의 수율은 50% 이상, 심지어 70% 이상일 수 있다.

[0073] 좋기로는, 식 (II)의 화합물은 반응 매질로부터 분리되지 않고, 직접 다음 단계인 단계 (i)을 거친다. 그러므로, 화합물 (III)으로부터 화합물 (I)의 제조는 중간 화합물 (II)를 분리하지 않은 채로 단일 반응기에서 수행될 수 있다 (단일 용기 반응).

[0074] 그러므로, 본 발명에 따른 식 (I)의 화합물의 제법은 다음의 연속적인 단계들, 즉

[0075] (a1) 전술한 식 (III)의 화합물 또는 이것의 호변 이성질체 또는 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 산부가염 (요오드산염은 제외)을, 브롬 및 이어서 전술한 식 (IV)의 시스테인 유도체 또는 이것의 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물 및 특히 시스테인, 특히 L-시스테인과 반응시켜 전술한 식 (II)의 화합물을 얻는 단계와,

[0076] (b1) 60℃ 이상의 온도에서, 상기 단계 (a1)에서 얻은 식 (II)의 화합물을 종기로는 물 등의 반응성 용매 중에 용해성인 전술한 티올의 존재하에 개열 반응시켜 식 (I)의 화합물을 얻는 단계와,

[0077] (c1) 상기 반응 매질로부터 상기 단계 (b1)에서 얻은 식 (I)의 화합물을 분리하는 단계를 포함한다.

[0078] 상기 단계 (b1) 및 (c1)은 각각 전술한 단계 (i) 및 (ii)에 해당한다. 단계 (a1)은 전술한 식 (II)의 화합물의 제조 단계에 해당한다.

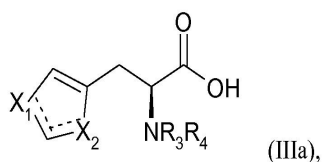
[0079] 종기로는, 단계 (a1) 및 (b1)은 물 등의 동일한 용매 중에서, 종기로는 동일한 반응기 내에서, 즉 중간 생성물 (특히, 상기 식 (II)의 화합물)을 분리함이 없이 수행되게 된다.

[0080] 이들 조건하에서, 상기 반응 매질은, 종기로는 단계 (a1)에서 과량으로 사용된 시스테인 유도체를 함유하게 될 것이다. 따라서, 반응 매질로부터 식 (I)의 화합물을 분리하기 전에 (단계 (c1)), 식 (I)의 화합물의 분리 및 정제를 용이하게 하기 위하여 과량의 시스테인 유도체를 제거할 필요가 있을 수 있다. 특히, $R_5=H$ 또는 (C_1-C_4)알킬인 시스테인 유도체, 예컨대 시스테인의 경우에는, 예를 들어 벤즈알데히드가 첨가되면 과량의 시스테인 유도체와 함께 2-페닐티아졸리딘-4-카복시산 유도체를 형성하게 되는데, 이것은 물 등의 용매 중에서 침전되는 화합물이다. 이러한 방식으로, 과량의 시스테인 유도체를 재순환시킬 수 있다.

[0081] 식 (III)의 화합물로부터 제조되는 식 (I)의 화합물의 총수율은 40% 이상일 수 있다.

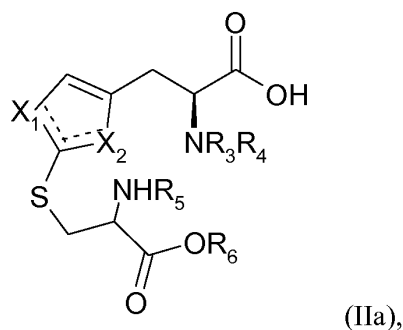
[0082] 본 발명의 특징의 실시 상태에 따르면, 식 (I)의 화합물은 식 (Ia)의 화합물인데, 이것의 제법은 다음의 연속적인 단계, 즉

[0083] (a2) 다음의 식 (IIIa)



[0084]

[0085] 의 화합물 (여기서, X_1-X_2 , R_3 및 R_4 는 앞에서 정의한 바와 같다) 또는 이것의 호변 이성질체 또는 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 산부가염 (요오드산 (HI)의 염은 제외)을 브롬과 반응시키고, 이어서 전술한 식 (IV)의 시스테인 유도체 또는 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물 및 특히 시스테인, 특히 L-시스테인과 연속적으로 반응시켜 다음의 식 (IIa)



[0086]

[0087] 의 화합물 (여기서, X_1-X_2 , R_3 , R_4 , R_5 및 R_6 는 앞에서 정의한 바와 같다) 또는 이것의 생리학적으로

허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물을 얻는 단계와,

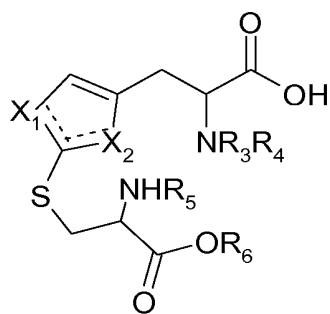
[0088] (b2) 60℃ 이상의 온도에서, 상기 단계 (a2)에서 얻은 식 (IIa)의 화합물을 물 등의 반응성 용매 중에 용해성인 전술한 티올, 특히 시스테인, 디티오프레이톨, 2-메르캅토에탄올, 2-메르캅토프로피온산, 3-메르캅토프로피온산 또는 티오글리콜산, 종기로는 3-메르캅토프로피온산으로 개열 반응시켜 식 (Ia)의 화합물을 얻는 단계와,

[0089] (c2) 반응 매질로부터 상기 단계 (b2)에서 얻은 식 (Ia)의 화합물을 분리하는 단계를 포함한다.

[0090] 상기 단계 (a2), (b2) 및 (c2)는 각각 전술한 단계 (a1), (b1) 및 (c1)에 해당한다.

[0091] 상기 식 (IIa)의 화합물들은 식 (II)의 화합물의 특징의 형태를 나타낸다. 이와 유사하게, 식 (IIIa)의 화합물들은 식 (III)의 화합물의 특징의 형태를 나타낸다.

[0092] 또한, 본 발명이 목적으로 하는 바는, 다음 식 (II)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물을 제공하는 것이다.



(II),

[0093]

[0094] 상기 식 중,

[0095] - $X_1 \sim X_2$ 는 $R_1N=CH-N$ 또는 $N=CH-NR_2$ 이고,

[0096] - R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 및 R_6 는 앞에서 정의한 바와 같다.

[0097] 단, $X_1 \sim X_2$ 가 $HN=CH-N$ 또는 $N=CH-NH$ 이면서, R_3 및 R_4 가 각각 수소 원자인 화합물은 제외한다.

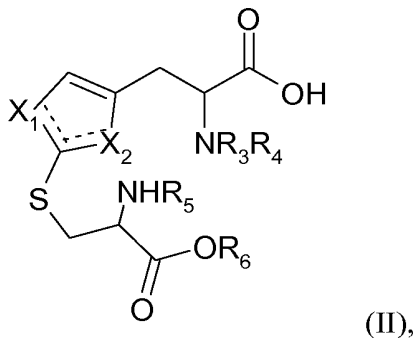
[0098] 상기 제외된 화합물은 이토 등의 문헌 [*J. Org. Chem.* 1985, 50, 3636-3638]에 기재되어 있다.

[0099] 이 화합물은 특히 2-{2-[(2-아미노-2-카복시에틸)티오]-1H-이미다졸-4-yl}-1-카복시-N,N-디메틸에탄아미늄 (HisNMe₂-Cys) 또는 이것의 2 염산염 및 2-{2-[(2-아미노-2-카복시에틸)티오]-1H-이미다졸-4-yl}-1-카복시-N-메틸에탄아미늄 (HisNHMe-Cys) 또는 이것의 2 염산염일 수 있다.

[0100] 또한, 본 발명의 목적은,

[0101] 전술한 식 (III)의 화합물 또는 이것의 호변 이성질체 또는 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 산부가염 (요오드산염은 제외)을 브롬과 반응시키고, 이어서 식 (III)의 화합물에 대하여 2 내지 7 몰당량, 종기로는 3 내지 5 몰당량으로 전술한 식 (IV)의 시스테인 유도체 및 특히 시스테인, 특히 L-시스테인과 반응시켜서 다음의 식 (II)의 화합물 또는 이것의 생리학적으로 허용 가능한 염, 호변 이성질체, 입체 이성질체 또는 이들의 임의 비율의 입체 이성질체 혼합물, 특히 거울상 이성질체 혼합물, 특히 이들의 라세미 혼합물의 제법을 제공하는 것이다.

[0102] 상기 식 중,



[0103]

[0104] - $X_1 \sim X_2$ 는 $R_1N \sim N$ 또는 $N \sim NR_2$ 이고,

[0105] - R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 및 R_6 는 앞에서 정의한 바와 같다.

[0106] 이 반응에 있어서, 브롬은 식 (III)의 화합물에 대하여 1 내지 1.5 몰당량의 비율로 사용될 수 있다.

[0107] 좋기로는, 브롬은 10℃ 미만의 온도, 좋기로는 5℃ 미만의 온도에서 냉각 상태로 첨가 (좋기로는, 매우 신속하게 첨가)된다. 따라서, 브롬의 첨가는 -10℃ 내지 10℃, 좋기로는 -5℃ 내지 5℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0108] 이 반응은 물 등의 용매 중에서 수행될 수 있다.

[0109] 본 발명은 이하의 실시예의 관점에서 더 양호하게 이해될 것이나, 이들 실시예는 설명의 목적일 뿐, 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

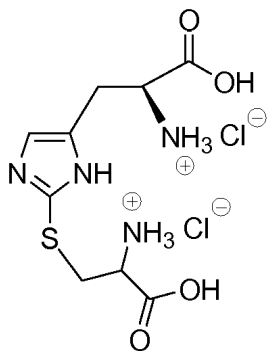
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0110] 실시예

[0111] 달리 표시하지 않은 한, 모든 반응은 외기(外氣) 중에서 수행되었다.

1- 본 발명의 식 (II)의 화합물의 제조

[0113] 실시예 1: 2-{2-[(2-암모니오-2-카복시에틸)티오]-1H-이미다졸-4-일}-1-카복시-에탄아미늄 2 염산염 (His-Cys, 2HCl)의 제조



[0114]

[0115] L-히스티딘 염산염 1수화물 1.57 g (7.5 mmol)을 물 15 ml에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 브롬 500 μ l (1.56 g, 9.75 mmol, 1.3 당량)를 적가(滴加)한다 (적가 시간 : 2분 10초). 반응 혼합물은 황색으로 변한다. 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 2.81 g (22.5 mmol, 3 당량)을 첨가한다. 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 0℃에서 1 시간 교반 후에, 반응 혼합물을 여과하고 침전을 물 2×0.5 ml로 세척한다.

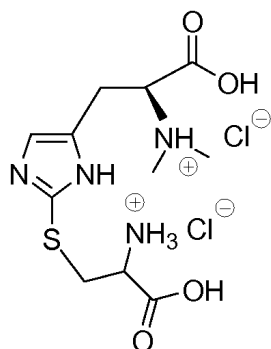
[0116] 여과액을 75 g의 Dowex[®] 50WX2-400을 채워넣어 1N 염산 (HCl)으로 미리 조절한 컬럼에 침적시킨다. 1N 염산

750 ml 및 이어서 2N 염산 500 ml로 용리시킨 후, 목적 생성물을 함유하고 있는 분획을 혼합한다. 증발 및 톨루엔 2×20 ml를 사용하여 2회의 공증발 후, 건조하여 황색 결정형의 목적 생성물 1.5 g (56%)을 얻는다.

[0117] $^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$, 400 MHz): δ (ppm)=3.32 (m, 2H); 3.63 (m, 2H); 4.22 (m, 2H); 7.39 (s, 1H).

[0118] UPLC-MS (ES⁺): 275.8 (MH⁺)

[0119] 실시예 2: 2-{2-[(2-암모니오-2-카복시에틸)티오]-1*H*-이미다졸-4-일}-1-카복시-*N,N*-디메틸에탄아미늄 2 염산염 (HisNMe₂-Cys, 2HCl)의 제조



[0120]

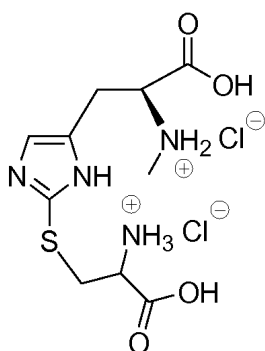
[0121] *N,N*-디메틸히스티딘 염산염 1수화물 4.753 g (20 mmol) (V.N. Reinhold et al., J. Med. Chem. 11, 258 (1968))을 물 40 ml에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 2℃를 넘지 않도록 하여 브롬 1.23 ml (3.835 g, 24 mmol, 1.2 당량)을 신속하게 적가한다 (적가 시간 : 1분 20초). 반응 혼합물은 황색으로 변하고 적색 고체가 형성된다. 브롬 첨가 종료 7분 후, 상기 적색 고체가 모두 용해되며, 이어서 L-시스테인 7.417 g (60 mmol, 3 당량)을 첨가한다. 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 0℃에서 1 시간 교반 후에, 백색 현탁액을 얻는다. 반응 혼합물을 여과하고 침전을 물 2×2 ml로 세척한다.

[0122] 여과액을 100 g의 Dowex® 50WX2-400을 채워넣어 1N 염산 (HCl)으로 미리 조절한 컬럼에 침적시킨다. 1N 염산 800 ml 및 이어서 2N 염산 1000 ml로 용리시킨 후, 목적 생성물을 함유하고 있는 분획을 혼합한다. 증발 및 톨루엔 2×50 ml를 사용하여 2회의 공증발 후, 건조하여 황색 결정형의 목적 생성물 4.84 g (63%)을 얻는다.

[0123] $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ (ppm)=2.86 (s, 6H); 3.32 (m, 2H); 3.61 (m, 2H); 4.21 (m, 1H); 4.32 (m, 1H); 7.37 (s, 1H).

[0124] UPLC-MS (ES⁺): 303.8 (MH⁺)

[0125] 실시예 3: 2-{2-[(2-암모니오-2-카복시에틸)티오]-1*H*-이미다졸-4-일}-1-카복시-*N*-메틸에탄아미늄 2 염산염 (HisNHMe-Cys, 2HCl)의 제조



[0126]

[0127] α -N-메틸히스티딘 염산염 1.187 g (5.656 mmol) (V.N. Reinhold et al., J. Med. Chem. 11, 258 (1968))을 탈염수 11.3 ml에 용해시킨다. 용액을 0℃로 냉각시키고, 매우 강력하게 교반하면서 브롬 377 μ l (1.175 g, 7.353 mmol, 1.3 당량)을 적가한다 (적가 시간 : 1분 45초). 반응 혼합물은 황색으로 변하며, 온도가 4℃까지 상승한다.

[0128] 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 2.119 g (16.96 mmol, 3 당량)을 첨가한다. 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 0℃에서 1 시간 교반 후에, 혼합물을 50 g의 Dowex® 50WX2-400을 채워넣어 0.5N 염산으로 미리 조절한 컬럼에 침적시킨다. 0.5N 염산 250 ml 및 이어서 1N 염산 250 ml로 용리시킨 후, 목적 생성물을 함유하고 있는 분획을 혼합한다. 진공·증발 건조 후, 황색 결정형의 목적 생성물 1.427 g (68%)을 얻는다.

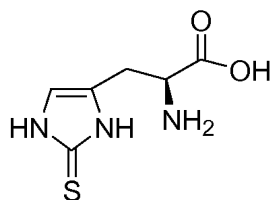
[0129] $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ (ppm)=2.71 (s, 3H); 3.33 (m, 2H); 3.62 (m, 2H); 4.08 (m, 1H); 4.28 (m, 1H); 7.40 (s, 1H).

[0130] UPLC-MS (ES+): 289.8 (MH⁺)

[0131] **2- 본 발명의 식 (I)의 화합물의 제조 (식 (II)의 중간체의 단리 없음)**

[0132] **2-1- 2-티오히스티딘의 제조**

[0133] **실시예 4: 단일 용기 반응에 의한 히스티딘으로부터 2-티오히스티딘의 제조**



[0134]

[0135] a) His-Cys 중간체 (식 (II)의 화합물)의 합성

[0136] L-히스티딘 염산염 1수화물 317.6 g (1.5 mol)을 탈염수 3 리터에 용해시킨다. 용액을 기계 교반기가 설치된 이중벽형 유리 반응기에 옮기고, -4℃로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 4℃를 넘지 않도록 하여 브롬 바이알을 통하여 브롬 2 ml (311.6 g, 1.95 mol, 1.3 당량)을 매우 신속하게 첨가한다 (첨가 시간 : 2분 50초). 반응 혼합물은 황색-주황색으로 변하지만, 맑고 균질한 상태를 유지한다. 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 562 g (4.5 mol, 3 당량)을 첨가하면, 내부 온도는 12℃로 상승한다. 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 수분 후에, 용액은 약간 황색으로 변한다.

[0137] 0℃에서 1 시간 교반 후에 $^1\text{H-NMR}$ (D_2O)에 의하여 시료를 분석한 결과는 70%의 반응 수율로 His-Cys 부가물이 형성되었음을 보여준다.

[0138] 냉각 시스템을 끄고 반응 혼합물을 1 시간 교반한다. 내부 온도는 12℃로 상승한다. His-Cys 부가물을 단리하지 않고 직접 다음 단계로 들어간다.

[0139] b) L-2-티오히스티딘의 합성

[0140] 이어서, 3-메르캅토프로피온산 793.4 ml (960 g, 9 mol, 6 당량)을 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 강력하게 교반하면서 100℃에서 18 시간 가열한다.

[0141] $^1\text{H-NMR}$ (D_2O)에 의하여 시료를 분석한 결과는 His-Cys 부가물이 전부 L-2-티오히스티딘으로 개질되었음을 나타낸다.

[0142] c) L-2-티오히스티딘의 단리

[0143] 실온에서 냉각한 후, 흑갈색 혼합물을 에틸아세테이트 4×3 L로 추출한다.

[0144] 액체상을 강한 질소 기류 조건하에서 40℃ 수조에 두어 유지한다. 20% 암모니아 수용액 (약 580 ml)을 신속히

가하여 상기 반응 혼합물의 pH를 8.5로 조절한다. 이어서, 여전히 질소 기류하에서, 37% 농염산을 적가하여 (약 120 ml) pH 6.5에 이르도록 한다. 상기 산이 첨가되는 동안 무색 침전이 형성되고, 교반하 (질소 조건) 현탁액을 40℃에서 1 시간 유지한다.

[0145] 여과 및 탈염수 3×300 ml에 의한 세척 후, 이어서 무수 에탄올 2×600 ml 및 n-펜탄 3×600 ml로 세척하고, 생성된 고체를 P₂O₅ 상에서 진공 (20 mbar) 건조한다. 백색 분말형의 L-2-티오히스티딘 130.1 g (45%)을 얻는다.

[0146] $[\alpha]_D^{25}$: -11.0 (c=1.0; 1 N HCl)

[0147] ¹H-NMR (D₂O/DCI, 400 MHz): δ (ppm)=3.10 (m, 2H); 4.20 (m, 1H); 6.77 (s, 1H).

[0148] UPLC-MS (ES⁺): 188.6 (MH⁺)

[0149] 이하의 실시예 5 내지 8은, 사용될 수 있는 식 (III)의 화합물의 다양한 산부가염 및 사용될 수 있는 다양한 티올을 보여준다. 이들 실시예들은 설명의 목적일 뿐, 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0150] **실시예 5: 단일 용기 반응에 의한 L-히스티딘으로부터 L-2-티오히스티딘의 제조 - 산부가염 가변성**

[0151] L-히스티딘 5 g (32.2 mmol)을 사용하여, 물 65 ml 및 98% 황산 900 μl (1.66 g, 16.1 mmol, 1 당량)에 용해시킨다는 점을 제외하고는 실시예 2에서 설명한 방법과 같다.

[0152] 백색 분말형의 L-2-티오히스티딘 2.72 g (45%)를 얻는다. ¹H-NMR (D₂O/DCI)에 의한 분석 결과는 실시예 1에 기재된 것과 동일하다.

[0153] **실시예 6: 단일 용기 반응에 의한 L-히스티딘으로부터 L-2-티오히스티딘의 제조 - 티올 (메르캅토아세트산)의 가변성**

[0154] L-히스티딘 염산염 1수화물 3.5 g (16.52 mmol)을 물 33 ml에 용해시키고, 용액을 -3℃로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 브롬 1.1 ml (3.433 g, 21.48 mmol, 1.3 당량)을 신속히 적가한다 (적가 시간 : 3분). 반응 혼합물은 황색으로 변한다. 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 6.19 g (49.58 mmol, 3 당량)을 첨가한다. 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 0℃에서 30분 교반 후에, 메르캅토아세트산 7.13 ml (9.4 g, 99.17 mmol)을 첨가하고, 교반하면서 용액을 80℃에서 40 시간 가열한다.

[0155] L-2-티오히스티딘의 분리 방법은 실시예 1에서 설명한 바와 같다. 크림-백색 분말형의 L-2-티오히스티딘 43%를 얻는다. ¹H-NMR (D₂O/DCI)에 의한 분석 결과는 실시예 1에 기재된 것과 동일하다.

[0156] **실시예 7: 단일 용기 반응에 의한 L-히스티딘으로부터 L-2-티오히스티딘의 제조 - 티올 (메르캅토헥산산)의 가변성**

[0157] L-히스티딘 염산염 1수화물 257 mg (1.21 mmol)을 물 2.4 ml에 용해시키고, 용액을 -3℃로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 브롬 80 μl (252 mg, 1.58 mmol, 1.3 당량)을 신속히 적가한다. 상기 반응 혼합물은 황색으로 변한다. 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 455 mg (3.64 mmol, 3 당량)을 첨가한다. 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 0℃에서 1 시간 교반 후에, 메르캅토헥산산 933 μl (1.0 g, 6.07 mmol)를 첨가하고, 교반하면서 용액을 80℃에서 40 시간 가열한다.

[0158] 시료의 ¹H-NMR (D₂O) 분석은 His-Cys 부가물이 전부 L-2-티오히스티딘으로 개열되었음을 보여준다.

[0159] **실시예 8: 단일 용기 반응에 의한 L-히스티딘으로부터 L-2-티오히스티딘의 제조 - 티올 (디티오프레이톨)의 가변성**

[0160] L-히스티딘 염산염 1수화물 10.72 g (50.62 mmol)을 물 100 ml에 용해시키고, 용액을 0℃로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 1℃를 넘지 않도록 하여 브롬 38 ml (10.51 g, 65.81 mmol, 1.3 당량)을 신속히 적가한다

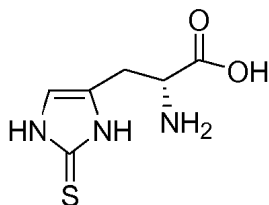
(적가 시간: 3분 20초). 상기 반응 혼합물은 황색으로 변한다. 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 18.96 g (151.8 mmol, 3 당량)을 첨가한다. 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 0℃에서 1 시간 교반 후에, 디티오프레이톨 47.08 g (303.7 mmol, 6 당량)을 첨가하고, 교반하면서 용액을 80℃에서 40 시간 가열한다.

[0161] L-2-티오히스티딘의 분리 방법은 실시예 1에서 설명한 바와 같다.

[0162] 백색 분말형의 L-2-티오히스티딘 41%를 얻는다.

[0163] $^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$)에 의한 분석 결과는 실시예 1에 기재된 것과 동일하다.

[0164] **실시예 9: 단일 용기 반응에 의한 D-히스티딘으로부터 D-2-티오히스티딘의 제조**



[0165]

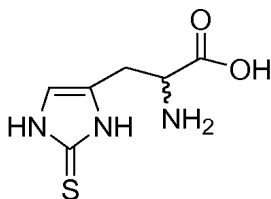
[0166] D-히스티딘 10.32 g (65.84 mmol)을 사용하며, 물 132 ml과 농염산 5.5 ml (6.48 g, 65.84 mmol)에 용해시킨다는 점을 제외하고는 실시예 2-1에 설명한 방법과 같다.

[0167] 백색 분말형의 D-2-티오히스티딘 4.4 g (41%)를 얻는다.

[0168] $^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$)에 의한 분석 결과는 실시예 1에 기재된 것과 동일하다.

[0169] $[\alpha]_D^{25}$: +10.5 ($c=1.0$; 1 N HCl)

[0170] **실시예 10: 단일 용기 반응에 의한 D,L-히스티딘으로부터 D,L-2-티오히스티딘의 제조**



[0171]

[0172] a) His-Cys 부가물의 합성

[0173] D,L-히스티딘 염산염 1수화물 10.65 g (50.8 mol)을 탈염수 100 ml에 용해시킨다. 용액을 -3℃로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 1℃를 넘지 않도록 하여 브롬 바이알을 통하여 브롬 3.43 ml (10.66 g, 66 mol, 1.3 당량)을 매우 신속히 첨가한다 (첨가 시간 : 2분 40초). 반응 혼합물은 황색-주황색으로 변하지만, 맑고 균질한 상태를 유지한다. 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 19.03 g (152.4 mol, 3 당량)을 첨가하면 내부 온도는 4℃로 상승한다. 상기 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 수분 뒤, 용액은 약간 황색으로 변한다. 0℃에서 1 시간 교반 후에 $^1\text{H-NMR}$ (D_2O)에 의하여 시료를 분석한 결과는 72%의 반응 수율로 His-Cys 부가물이 형성되었음을 보여준다.

[0174] 냉각 수조를 제거하고 상기 반응 혼합물을 30분 교반한다. 내부 온도는 10℃로 상승한다. His-Cys 부가물을 분리하지 않고 직접 다음 단계로 들어간다.

[0175] b) D,L-2-티오히스티딘의 합성

[0176] 이어서, 3-메르캅토프로피온산 27 ml (32.68 g, 304.8 mol, 6 당량)을 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 강력하게 교반하면서 80℃에서 30시간 가열한다.

[0177] $^1\text{H-NMR}$ (D_2O)에 의하여 시료를 분석한 결과는 His-Cys 부가물이 전부 2-티오히스티딘으로 개열되었음을 보여준다.

[0178] c) D,L-2-티오히스티딘의 단리

[0179] 실온에서 냉각한 후, 흑갈색 혼합물을 에틸아세테이트 4×100 ml로 추출한다.

[0180] 액체상을 강한 질소 기류 조건하에서 40°C 수조에 두어 유지한다. 20% 암모니아 수용액 (약 580 ml)을 신속히 가하여 반응 혼합물의 pH를 6로 맞춘다. 무색 침전이 형성되고, 교반하 (질소 조건) 현탁액을 40°C 에서 25분 유지한다.

[0181] 여과 및 탈염수 3×15 ml에 의한 세척 후, 이어서 무수 에탄올 2×15 ml 및 n-펜탄 3×15 ml로 세척하고, 생성된 고체를 P_2O_5 상에서 진공 (20 mbar) 건조한다. 약 10%의 시스테인을 함유하는 백색 분말형의 D,L-2-티오히스티딘 5.2 g를 얻는다.

[0182] 산업기 처리에 의하여 생성물을 정제한다: 디티오프레이틀 585 mg (3.79 mmol)을 물 100 ml에 용해시키고, 이어서 미리 얻은 생성물 (5.2 g)을 첨가한다. 질소 조건하에서, 현탁액을 40°C 수조에 위치시키고 농염산 10 ml (11.84 g)을 매우 천천히 적가하여 고체를 완전히 용해시킨다. 20% 암모니아 수용액 3 ml (2.735 g)을 첨가하여 pH를 6로 조절한다. 천천히 미세한 무색 침전이 형성되고 교반하 현탁액을 1 시간 교반한다.

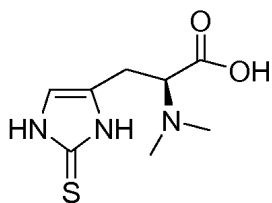
[0183] 여과 및 탈염수 3×10 ml에 의한 세척 후, 이어서 무수 에탄올 2×10 ml 및 n-펜탄 3×10 ml로 세척하고, 생성된 고체를 P_2O_5 상에서 진공 (20 mbar) 건조한다. 백색 분말형의 D,L-2-티오히스티딘 3.82 g (39%)를 얻는다.

[0184] $^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$)에 의한 분석 결과는 실시예 1에 기재된 것과 동일하다.

[0185] $[\alpha]_D$: 0 ($c=1.0$; 1 N HCl)

[0186] 2-2- 2-티오히스티딘 유도체의 제조

[0187] 실시예 11: 단일 용기 반응에 의한 α, α -디메틸-히스티딘으로부터 α, α -디메틸-2-티오히스티딘의 제조



[0188]

[0189] a) HisNMe₂-Cys 부가물 (식 (II)의 화합물)의 제조

[0190] α, α -디메틸히스티딘 염산염 1수화물 23.76 g (0.1 mol) (V.N. Reinhold et al., J. Med. Chem. 11, 258 (1968))을 물 200 ml에 용해시킨다. 용액을 -3°C 로 냉각시키고, 매우 강력하게 교반하면서, 3°C 를 넘지 않도록 하여 브롬 6.68 ml (20.77 g, 130 mmol, 1.3 당량)을 신속하게 적가한다 (적가 시간 : 4분). 반응 혼합물은 황색으로 변하며, 적색 고체가 형성된다. 브롬 첨가 종료 7분 후, 적색 고체가 모두 녹으면 L-시스테인 37.08 g (0.3 mol, 3 당량)을 첨가한다. 내부 온도는 0°C 에서 1°C 로 상승하고 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다.

[0191] 0°C 에서 1 시간 교반 후에, $^1\text{H-NMR}$ (D_2O)에 의하여 시료를 분석한 결과는 HisNMe₂-Cys 부가물이 63%의 반응 수율로 생성됨을 보여준다. 얼음 수조를 제거하고 상기 반응 혼합물을 1 시간 교반한다. 내부 온도는 10°C 로 상승한다.

[0192] b) α, α -디메틸-2-티오히스티딘의 제조

[0193] 이어서, 3-메르캅토프로피온산 87.7 ml (106 g, 10 당량)을 상기 혼합물에 첨가하고, 강력하게 교반하면서 80°C 에서 24 시간 가열한다.

[0194] $^1\text{H-NMR}$ (D_2O)에 의하여 시료를 분석한 결과는 $\text{HisNMe}_2\text{-Cys}$ 생성물이 완전히 개열되었음을 나타낸다.

[0195] c) α, α -디메틸-2-티오히스티딘의 단리

[0196] 실온 냉각 후, 주황색 혼합물을 에틸아세테이트 4×400 ml로 추출한다.

[0197] 액체상은 보관되고, 20% 암모니아 수용액 (약 21 ml)로 pH를 4.5~5로 조절한다. 매질 중에 존재하는 과량의 시스테인을 포집하기 위하여 벤즈알데히드 30.5 ml (31.8 g, 3 당량)을 첨가한다 (M.P. Schubert, *J. Biol. Chem.* 114, 341-350 (1936) 또는 M. Seki *et al.*, *J. Org. Chem.* 67 (16), 5532 (2002)에 따름). 상기 혼합물을 실온에서 15 시간 교반하면 연황색 고체형의 2-페닐티아졸리딘-4-카복시산이 침전된다. 고체를 여과하고 물 4×40 ml로 씻어 에틸아세테이트 2×200 ml로 추출한다.

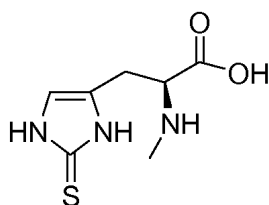
[0198] 액체상을 보관하고, 20% 암모니아 수용액 (약 2 ml)으로 pH를 6으로 조절한다. 이어서 혼합물을 증발 건조시키고 얻은 고체를 수증에서 재결정화한다. 백색 분말형의 목적 생성물 7.28 g (33%)를 얻는다.

[0199] 분석 결과는 문헌 (WO 95/18108)에 기재된 것과 동일하다.

[0200] $^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$, 400 MHz): δ (ppm)=2.87 (s, 6H); 3.20 (m, 2H); 4.19 (m, 1H); 6.78 (s, 1H).

[0201] UPLC-MS (ES⁺): 216.5 (MH⁺)

[0202] 실시예 12: 단일 용기 반응에 의한 α -메틸히스티딘으로부터 α -메틸-2-티오히스티딘의 제조



[0203]

[0204] α -메틸히스티딘 염산염 11.93 g (54.5 mmol) (V.N. Reinhold *et al.*, *J. Med. Chem.* 11, 258 (1968))을 물 109 ml에 용해시키고, 용액을 0°C로 냉각시킨다. 매우 강력하게 교반하면서, 5°C를 넘지 않도록 하여 브롬 3.64 ml (11.33 g, 70.9 mmol, 1.3 당량)을 적가한다 (적가 시간: 2분 30초). 상기 반응 혼합물은 황색으로 변한다. 브롬 첨가 종료 3분 후, L-시스테인 20.22 g (163.6 mmol, 3 당량)을 첨가하면 내부 온도가 8°C로 상승한다. 상기 반응 혼합물은 즉시 그의 색상을 잃는다. 0°C에서 1 시간 교반 후에, 3-메르캅토프로피온산 28.84 ml (34.9 g, 6 당량)을 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 강력하게 교반하면서 100°C에서 20 시간 가열한다.

[0205] 실시예 11로부터 유추하여 프로토콜을 계속함으로써, 백색 분말형의 α -메틸-2-티오히스티딘 5.398 g (48%)을 얻는다.

[0206] $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ (ppm)=2.65 (s, 3H); 3.15 (m, 2H); 4.12 (m, 1H); 6.77 (s, 1H).

[0207] $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ (ppm)=24.8; 32.3; 60.0; 116.4; 123.2; 156.9; 170.0.

[0208] UPLC-MS (ES⁺): 202.7 (MH⁺)